

Aus der Disease Group Cardiovascular Diseases  
der AVENTIS PHARMA Deutschland GmbH

Eingereicht über das Institut für Veterinär-Physiologie der  
Justus-Liebig-Universität Giessen

**Effekte von Ramipril und Metoprolol auf das  
ventrikuläre Remodelling in der  
chronischen Herzinsuffizienz  
im koronarligierten Kaninchen**

**Inaugural-Dissertation**  
zur Erlangung des Doktorgrades  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Giessen

Eingereicht von  
**Katrin Rungwerth**

Giessen 2002

Aus der Disease Group Cardiovascular Diseases  
der AVENTIS PHARMA Deutschland GmbH

Betreuer: PD Dr. M. Just

Eingereicht über das Institut für Veterinär-Physiologie der  
Justus-Liebig-Universität Giessen

Im Fachbereich vertreten durch: Prof. Dr. M. Diener

**Effekte von Ramipril und Metoprolol auf das  
ventrikuläre Remodelling in der  
chronischen Herzinsuffizienz  
im koronarligierten Kaninchen**

**Inaugural-Dissertation**  
zur Erlangung des Doktorgrades  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Giessen

Eingereicht von  
**Katrin Rungwerth**

Tierärztin aus Offenbach a.M.

Giessen 2002

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

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

1. Berichterstatter: PD Dr. M. Just
2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Diener

Tag der mündlichen Prüfung: 30.07.2002

Meinen Eltern

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b>	<b>Seite</b>
<b>1. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>1</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>5</b>
2.1 Allgemein	5
2.2 Definition der Herzinsuffizienz	5
2.3 Symptomatik und Diagnose der Herzinsuffizienz	7
2.4 Pathomechanismen der Herzinsuffizienz aufgrund kardialer Dysfunktion	8
2.4.1 Neurohormonale Mechanismen	8
2.4.2 Strukturelle Veränderungen; das ventrikuläre Remodelling	13
2.5 Therapie der Herzinsuffizienz	16
2.5.1 Allgemein	16
2.5.2 ACE-Hemmer	16
2.5.3 $\beta$ -Adrenorezeptorblocker	17
2.6 Echokardiographie	19
2.7 Tiermodelle	20
2.8 Fragestellung	21
2.8.1 Etablierung des Tiermodelles chronische Herzinsuffizienz im Kaninchen	21
2.8.2 Vergleich eines ACE-Hemmers und eines $\beta$ -Blockers in der Therapie der Herzinsuffizienz	22
2.8.3 Korrelation zwischen invasiv und nichtinvasiv ermittelten Parametern in der experimentellen Herzinsuffizienz	22
<b>3. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>23</b>
3.1 Tiere, Haltung und Fütterung	23
3.2 Versuchsplan	23
3.3 Substanzen	24
3.3.1 Ramipril	24
3.3.2 Metoprolol	25
3.4 Methoden	25
3.4.1 Experimenteller Myokardinfarkt	25
3.4.2 Bestimmung des Körpergewichtes	26
3.4.3 Blutuntersuchung	27
3.4.3.1 Durchführung der Blutentnahme	27
3.4.3.2 pro-ANP Bestimmung	27
3.4.4 Echokardiografie	27
3.4.4.1 Methodik	27
3.4.4.2 Durchführung der Echokardiografie	28
3.4.4.2.1 M-Mode Messungen	29
3.4.4.2.2 2D-Echokardiografie	29

3.4.4.2.3	Dopplerechokardiografie	29
3.4.5	Abschließende Untersuchung	30
3.4.5.1	Messung der hämodynamischen Parameter	30
3.4.5.2	Herzentnamhe, Gewichtsbestimmung	32
3.4.5.3	Bestimmung der Infarktgröße	32
3.5	Statistische Auswertung	32
<b>4.</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>33</b>
4.1	Überlebensraten und Gruppengrößen	33
4.2	Körper- und Herzgewichte	33
4.3	Infarktgröße	35
4.4	Ergebnisse der Echokardiografie	36
4.4.1	Morphologische Parameter	36
4.4.2	Parameter der linksventrikulären systolischen Funktion	40
4.4.3	Parameter der linksventrikulären diastolischen Funktion	44
4.4.3.1	E/A-Ratio	44
4.4.3.2	Abstiegszeit der E-Spitze	44
4.4.4	Herzfrequenz	46
4.5	Ergebnisse der Hämodynamik	47
4.5.1	Linksventrikulärer systolischer Druck	47
4.5.2	Linksventrikulärer enddiastolischer Druck	48
4.5.3	Kontraktilität	49
4.5.4	Aortenfluss	51
4.5.5	Messung des systemischen Blutdruckes und der Herzfrequenz	52
4.6	Plasmauntersuchung	53
4.6.1	pro-ANP Bestimmung	53
4.7	Korrelation zwischen nichtinvasiven und invasiven Daten	54
4.7.1	Funktionelle Parameter	54
4.7.1.1	Systolische Funktion	54
4.7.1.2	Diastolische Funktion	55
4.7.2	Morphologische Parameter	57
<b>5.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>59</b>
5.1	Fragestellung dieser Arbeit	59
5.2	Das Modell der chronischen Herzinsuffizienz nach Koronarligatur im Kaninchen	59
5.2.1	Funktionelle Veränderungen des Herzens	60
5.2.2	Morphologische Veränderungen des Herzens	62
5.2.3	Veränderungen der ANP Plasmaspiegel	63
5.2.3	Abschließende Betrachtung des Tiermodelles	63
5.3	Die Behandlung mit Ramipril	64
5.3.1	Einfluss von Ramipril auf die Funktion des infarzierten Herzens	64
5.3.2	Einfluss von Ramipril auf die Morphologie des infarzierten Herzens	66

5.3.3	Einfluss von Ramipril auf die ANP Plasmaspiegel	66
5.3.4	Wirkmechanismen der ACE-Hemmer	67
5.4	Die Behandlung mit Metoprolol	68
5.4.1	Einfluss von Metoprolol auf die Funktion des infarzierten Herzens	68
5.4.2	Einfluss von Metoprolol auf die Morphologie des infarzierten Herzens	70
5.4.3	Einfluss von Metoprolol auf die ANP Plasmaspiegel	71
5.4.4	Wirkmechanismen der $\beta_1$ -selektiven Adrenorezeptorblocker	72
5.5	Die Korrelation zwischen invasiven und nichtinvasiven Daten in dieser Studie	73
<b>6.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>75</b>
<b>7.</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>77</b>
<b>8.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>78</b>
<b>9.</b>	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>101</b>

## 1. Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Abb.	Abbildung
ACE	Angiotensin Converting Enzym
ADH	Antidiuretisches Hormon
AF	Aortenfluss
Ang	Angiotensin
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
BNP	Brain natriuretisches Peptid
BW	Körpergewicht
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
Ca	Calcium
Circ/sec	Umfangsveränderung pro Sekunde
cm	Zentimeter
C	Celsius
CHF	Congestive heart failure
CNP	Kardiale natriuretische Peptide
d	day/Tag
Decc.T	decceleration time/Abstiegszeit
d.h.	das heißt
dP/dt max	maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit
dP/dt min	maximale Druckabfallsgeschwindigkeit

EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure-Dinatriumsalz-Dihydrat
EF l.a.	Auswurffraktion lange Achse
eNOS	Endotheliale NO-Synthase
Fa.	Firma
FS	Fractional Shortening
g	Gramm
HG	Herzgewicht
Hz	Hertz
HZV	Herzzeitvolumen
i.m.	intramuskulär
iNOS	induzierbare NO-Synthase
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
Kontr.	Kontrolle
l	Liter
li	links
IVSed	Linksventrikuläres Septum enddiastolisch
LVedD	Linksventrikulärer enddiastolischer Diameter
LVEDP	Linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LVEF	Linksventrikuläre Auswurffraktion
LVET	Linksventrikuläre Auswurfzeit
LVSP	Linksventrikulärer Druck

LV <sub>sysD</sub>	Linksventrikulärer systolischer Diameter
LVW	Gewicht des linken Ventrikels
Metop.	Metoprolol
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
min	Minute
ml	Milliliter
M-Mode	Motion display Modus
MW	Mittelwert
nNOS	Neuronale NO-Synthase
NO	Stickstoffmonoxid
NYHA	New York Heart Association
op.	operationem
OP	Operation
p	Irrtumswahrscheinlichkeit / Signifikanz
PWed	Posteriore Wand enddiastolisch
RAAS	Renin Angiotensin Aldosteron System
Ramip.	Ramipril
S.	Seite
SAS	Sympathisch adrenerges System
sec	Sekunde
SEM	Mittlerer Fehler des Mittelwertes
Tab.	Tabelle

s.o.	Siehe oben
t	time / Zeit
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor alpha
u.a.	unter anderem
Vcf	Velocity of circumferential fiber shortening/ wandspannungsabhängige zirkumferentielle Verkürzungsgeschwindigkeit
vgl.	vergleiche
WHO	World Health Organization
Wo.	Woche
z.B.	zum Beispiel

## **2. Einleitung**

### **2.1 Allgemein**

Die Herzinsuffizienz ist trotz der Forschungsfortschritte der letzten Jahre ein ernstzunehmendes Gesundheitsproblem, das besonders die Industrienationen betrifft. Sie ist die einzige Herzerkrankung, die in der Inzidenz und Prävalenz ansteigt.

Nach der Definition der WHO stellt die Herzinsuffizienz eine eingeschränkte körperliche Belastbarkeit aufgrund einer nachweisbaren kardialen Funktionsstörung dar. Eine neuere und besser zum Verständnis dieser Erkrankung beitragende Definition besagt, dass die Herzinsuffizienz ein komplexes klinisches Syndrom darstellt, das durch eine Funktionsstörung des Herzens bedingt und durch hämodynamische, renale und neurohormonale Kompensationsmechanismen charakterisiert ist.

Während 1971 in der Framingham Studie der Bluthochdruck als Hauptauslöser der Herzinsuffizienz konstatiert wurde (Kannel et al. 1972; McKee et al. 1971), sind seit den letzten zwei Jahrzehnten die ischämischen Herzerkrankungen wie die koronare Herzkrankheit und der Myokardinfarkt ätiologisch von grösserer Bedeutung (Teerlink et al. 1990; Ho et al. 1993).

Die American Heart Association schätzt, dass 4,6 Millionen Amerikaner an Herzinsuffizienz leiden und jährlich 550 000 neue Fälle auftreten. Die Herzinsuffizienz ist bei Patienten über 65 Jahren die häufigste Ursache für Hospitalisation und verursacht jährliche Kosten von circa 21 Milliarden Dollar. Nach der initialen Diagnose beträgt die Überlebensrate nach 5 Jahren 50% und ist bei alten und dunkelhäutigen Patienten am niedrigsten (Waggoner 2000). Die Prognose ist bei Frauen geringfügig besser als bei Männern. Das Risiko des plötzlichen Herztodes ist bei herzinsuffizienten Patienten 6 bis 9 mal höher als bei der normalen Bevölkerung (American Heart Association 1998).

In dem Zeitraum von 1979 bis 1998 stieg die Anzahl von Todesfällen aufgrund von Herzinsuffizienz um 135%.

Mit der steigenden Lebenserwartung der Bevölkerung und der höheren Überlebensrate von Patienten mit akutem Myokardinfarkt oder instabiler Angina pectoris ist in den Industrieländern mit einem weiteren Anstieg dieser Zahlen zu rechnen (Braunwald 2001). Die Fortschritte in der akuten Therapie führen zur Senkung der Mortalität dieser Krankheitsbilder, so dass sich die Zahl der Patienten, die im Anschluss eine intensive therapeutische Betreuung benötigen, erhöht.

### **2.2 Definition der Herzinsuffizienz**

Als Herzinsuffizienz bezeichnet man die Unfähigkeit des Herzens, trotz ausreichenden Blutangebotes und Füllungsdruckes den Organismus in Ruhe und unter Belastung ausreichend mit Blut zu versorgen und den venösen Rückfluss wieder voll aufzunehmen (Roskamm u. Reindell 1996).

Es ist der Zustand des Herzens, in dem die Kompensationsmechanismen nicht mehr zur Aufrechterhaltung eines normalen Herzzeitvolumens ausreichen.

Die Herzinsuffizienz kann akut oder chronisch auftreten. Als Ursache für eine akute Herzinsuffizienz kommen akute Myokarditis, Asphyxie oder Kammer- und Vorhoffarrhythmien in Frage. Eine chronische Herzinsuffizienz hingegen entwickelt sich idiopathisch im Rahmen einer dilatativen Kardiomyopathie oder infolge koronarer Herzkrankheit, Myokardinfarkt, Hypertonie, Klappenfehlern oder chronischen Vergiftungen (Roskamm u. Reindell 1996).

Eine weitere Unterscheidung erfolgt in Rechts- und Linksherzinsuffizienz, wobei auch hier eine Kombination aus beiden, die sogenannte Globalherzinsuffizienz, auftreten kann. Eine Insuffizienz des rechten Ventrikels entsteht in der Regel durch eine chronische Überbelastung oder durch eine myokardiale Schädigung. Eine chronische Druck- und/oder Volumenbelastung des rechten Ventrikels tritt auf bei einer Insuffizienz des linken Ventrikels, beim Vorliegen einer Mitralisstenose, bei der Pulmonalstenose und bei der pulmonalen Hypertonie (Roskamm und Reindell 1982). Als Ursache für eine myokardiale Schädigung ist die Myokarditis zu nennen, die aber in der Regel beide Ventrikel betrifft oder ein Myokardinfarkt, der neben dem linken Ventrikel auch den rechten betreffen kann. Dies tritt jedoch relativ selten auf.

Die Linksherzinsuffizienz entwickelt ebenfalls infolge einer akuten myokardialen Schädigung oder einer chronischen Überbelastung. Die häufigste akute Schädigung stellt der Myokardinfarkt dar, der in der Regel die freie Wand des linken Ventrikels betrifft. Chronische Hypertonie oder Klappenfehler wie Aortenstenose oder Ductus Botalli persistens führen zu einer permanenten Überbelastung des linken Ventrikels, die ebenfalls in einer Linksherzinsuffizienz resultiert (Roskamm und Reindell 1982). Der linksventrikulären Dysfunktion ist eine grössere Bedeutung zuzusprechen, jedoch kann sie in ihrem Verlauf oft zu der Entwicklung einer Rechtsherzinsuffizienz führen.

Der zentrale Faktor der Herzinsuffizienz ist eine Beeinträchtigung der Fähigkeit des Herzens den linken Ventrikel richtig zu füllen und zu leeren. Es wird demnach die diastolische und die systolische Dysfunktion unterschieden.

Die linksventrikuläre systolische Dysfunktion wird in der Regel definiert durch eine Auswurffraktion  $< 40\%$  und ist bei 70% der Patienten die Ursache der Herzinsuffizienz. Sie ist weiterhin gekennzeichnet durch erhöhte enddiastolische und endsystolische Volumina des linken Ventrikels und einer erhöhten Ventrikelmasse bedingt durch exzentrische Hypertrophie (Waggoner 2000).

Die linksventrikuläre diastolische Dysfunktion ist charakterisiert durch Abnormalitäten in der diastolischen Relaxation des Ventrikels mit veränderten Flussparametern in der Füllungsphase und einer verringerten Compliance des linken Ventrikels. Sie tritt bei 30% der Patienten auf (Waggoner 2000).

Die Herzinsuffizienz ist als ein komplexes Syndrom anzusehen, in dem kardiale und nichtkardiale Faktoren von Bedeutung sind. Neben der myokardialen Dysfunktion des Ventrikels spielen nichtkardiale Mechanismen, wie neurohormonale Stimulation, endotheliale Dysfunktion und Störungen des vasomotorischen Tonus eine wichtige Rolle bei der Progression der Erkrankung. Die Aktivierung dieser nichtkardialen

Mechanismen kann, muss aber nicht durch die linksventrikuläre Dysfunktion verursacht werden (Cohn 1996).

Die Herzinsuffizienz sollte demnach nicht als ein Endstadium sondern als ein dynamischer Prozess betrachtet werden, in dem verschiedene mechanische, molekulare, immunologische, ischämische, proarrhythmische, vaskuläre und skelettmuskuläre Prozesse zu Symptomen und einer Verschlechterung des Krankheitszustandes führen (Kamran et al. 1998).

### 2.3 Symptomatik und Diagnose der Herzinsuffizienz

Das klinische Bild der Herzinsuffizienz kann stark in seinem Schweregrad variieren und korreliert nicht immer mit der kardialen Funktion.

Neben der Beeinträchtigung der Pumpfunktion des Herzens kommt es zu Veränderungen im peripheren Kreislauf, Störung der Atmung, der Nierenfunktion und des Elektrolytstoffwechsels und zu verminderter Leistungsfähigkeit der Skelettmuskulatur (Roche Lexikon 1993). Typische Symptome bei Patienten mit Herzinsuffizienz sind Atemnot, geringe Belastbarkeit, generelle Müdigkeit und Ödeme an den Gliedmaßen.

Die Herzinsuffizienz wird weltweit nach den Kriterien der New York Heart Association (NYHA) in vier Stadien eingeteilt (Siegenthaler 1979).

- **NYHA-Stadium I:** völlige Beschwerdefreiheit bei normaler körperlicher Belastung
- **NYHA-Stadium II:** leichte Einschränkung der körperlichen Belastbarkeit; in Ruhe und bei leichter körperlicher Belastung besteht Beschwerdefreiheit
- **NYHA-Stadium III:** starke Einschränkung der Belastbarkeit; Wohlbefinden in Ruhe, aber Beschwerden schon bei leichter körperlicher Tätigkeit
- **NYHA-Stadium IV:** Der Patient hat schon in Ruhe Beschwerden, zu körperlicher Belastung ist er kaum noch fähig, Bettlägerigkeit.

Bei der klinischen Untersuchung fällt inspektorisch häufig eine vertiefte und beschleunigte Atmung auf, die auf eine eingeschränkte Lungenfunktion zurückzuführen ist. Diese resultiert aus einem chronischen Blutrückstau in die Lunge aufgrund der verminderten Pumpleistung des linken Ventrikels und führt sowohl zu einem Lungenödem als auch zu morphologischen Veränderungen der Lunge, die mit einem Verlust der Dehnbarkeit und Elastizität einhergehen (Roskamm und Reindell 1982). Diese pulmonalen Veränderungen lassen sich röntgenologisch darstellen und sind auch in der Auskultation z.B. durch Rasselgeräusche feststellbar. Bei der auskultatorischen Untersuchung des Herzens sind häufig ein prä systolischer oder protodiastolischer Galopp zu hören, die aufgrund der Drucküberlastung auftreten (Roskamm und Reindell 1982). Bereits perkutorisch aber ganz deutlich röntgenologisch zeigt sich im fortgeschrittenen Stadium der Linksherzinsuffizienz eine Vergrößerung des linken Ventrikels. Der Herzspitzenstoß ist nach links und unten verlagert.

Neben der normalen klinischen Untersuchung kommen zusätzlichen Untersuchungsmethoden wie der Echokardiografie, der Herzkatheterisierung, der Radionuklid-Ventrikulographie oder der Magnetresonanztomografie eine große Bedeutung bei der exakten Diagnosestellung zu.

## **2.4 Pathomechanismen der Herzinsuffizienz**

### **2.4.1 Neurohormonale Mechanismen**

Im Herzkreislaufsystem existieren mehrere neurohormonale Kompensationsmechanismen, um auf das Versagen der Pumpfunktion des Herzens zu reagieren.

Als die Wichtigsten sind das sympathisch-adrenerge System (SAS), das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS), das Hormon Vasopressin, die natriuretischen Peptide und verschiedene endotheliale Hormone zu nennen.

Das sympathische Nervensystem wird beim Herzinsuffizienzgeschehen über Chemo-, Metabo- und Barorezeptoren aktiviert; es kommt zu einer Erhöhung des Sympathikustonos. Dieser führt über die Stimulation der myokardialen  $\beta$ -Rezeptoren zu einer erhöhten kardialen Kontraktilität, zu Tachykardie und zu arterieller und venöser Vasokonstriktion (Schrier et al. 1999). Diese norepinefrinvermittelten Effekte kompensieren kurzzeitig die insuffiziente Leistung des Herzens und bewirken zunächst, dass das Herzzeitvolumen aufrecht erhalten werden kann. Jedoch muss deutlich zwischen den akuten Effekten des aktivierten SAS, die sich günstig auf die Herzfunktion auswirken, und den langfristigen Effekten bei chronisch aktiviertem SAS, die sich negativ auf die kardiale Funktion auswirken, unterschieden werden. Die chronisch erhöhte Sympathikusaktivität fördert die Progression der Herzinsuffizienz und gilt als einer der primären Mechanismen für die Verschlechterung des Krankheitsgeschehens (Abraham 2000).

Durch die Erhöhung der Schlagfrequenz kommt es zu einer Verkürzung der Diastole und somit zu einer verminderten Durchblutung der Koronargefäße. Dies führt zu einer Minderversorgung des Myokards, dessen Energie- und Sauerstoffbedarf infolge der adrenergen Stimulation erhöht ist. Zusätzliche Belastung des Myokards durch oxidativen Stress und Unterversorgung sind die Folge (Abraham 2000). Des Weiteren wird durch die periphere arterielle und venöse Konstriktion die kardiale Vor- und Nachlast erhöht, was eine weitere Belastung für das Herz darstellt (Remme 1986).

In der Progression der Herzinsuffizienz setzen aufgrund der anhaltenden kardialen adrenergen Aktivierung zwei grundlegende schädigende Mechanismen ein, die zur Verschlechterung des insuffizienten Herzens führen. Zum einen kommt es zu Änderungen in der Signaltransduktion der  $\beta$ -Rezeptoren, die besonders durch eine Desensibilisierung des adrenergen Systems charakterisiert sind (Bristow et al. 1982). Untersuchungen an insuffizienten Herzen mit chronischer systolischer Dysfunktion zeigten, dass es zu einer Runterregulation der  $\beta_1$ -adrenergen Rezeptoren (Bristow 1993), zu einer Entkopplung der  $\beta_1$ -adrenergen und  $\beta_2$ -adrenergen Rezeptoren (Freedman et al. 1995; Roth et al. 1991) und zu einer Hochregulation der  $\beta$ -adrenergen

Rezeptorkinase (Ungerer et al. 1993; Ungerer et al. 1994) kommt. Dies führt zu einem 50-60%igem Verlust der Signalkapazität der  $\beta$ -Rezeptoren (Bristow 1997). Die klinische Konsequenz dieser verminderten Signaltransduktion ist ein Abfall der myokardialen Reserve (Fowler et al. 1986) und der maximalen kontraktiven Antwort auf Belastung (White et al. 1995).

Der zweite schädigende Mechanismus der einsetzt, beruht auf den direkten toxischen biologischen Effekten von erhöhten Katecholaminspiegeln auf Kardiomyozyten. Es ist bekannt, dass erhöhte Katecholaminspiegel zu Änderungen der kardiomyozytären Genexpression führen. Diese schließen die  $\beta$ -adrenerge Signaltransduktion, den Kalziumhaushalt (Arai et al. 1994; Hasenfuss et al. 1994; Mercadier et al. 1990), die Funktion der Sarkomere (Bristow et al. 1997; Lowes et al. 1997) und den zellulären Metabolismus (Raynolds et al. 1994) mit ein. Durch einen Anstieg von zyklischem Adenosinmonophosphat erhöht Norepinefrin den intrazellulären Kalziumgehalt (Sen et al. 1990), was zu einer Kalziumüberladung der Zelle führt. Daraus resultieren zum einen Störungen der Kontraktion und Relaxation der Myofibrillen, zum anderen kann die Kalziumüberladung der Zelle zu myozytären Nekrosen (Fleckenstein 1971; Mann et al. 1992) oder auch zum programmierten Zelltod (Apoptose) führen. Auch gibt es Hinweise, dass die  $\beta$ -adrenerge Aktivierung ein direkter Stimulus des programmierten Zelltodes ist (Geng et al. 1996). Der Einfluss des SAS auf den myokardialen Metabolismus bewirkt eine erhöhte anaerobe Glykolyse und einen erhöhten Verbrauch an freien Fettsäuren, beides führt zu einer reduzierten myokardialen Effizienz sowie zu einer Azidose in den Kardiomyozyten (Metra et al. 2000). Dieses saure Milieu in der Zelle wiederum resultiert in einer Desensibilisierung der Myofibrillen auf Kalzium (Metra et al. 2000).

Weiterhin wird das kardiale Remodelling (siehe S.13) direkt durch das aktivierte RAS beeinflusst. So ist bekannt, dass die mit der verstärkten Sympathikusaktivität einhergehenden erhöhten Spiegel von Norepinefrin die Hypertrophie der Kardiomyozyten fördern (Abraham et al.1997). Des weiteren wird das chronisch aktivierte SAS auch als ein Stimulus für die Hyperplasie von Fibroblasten im Myokard und der daraus resultierenden Fibrosierung des Ventrikels angesehen (Metra et al. 2000). Über welchen direkten oder indirekten Signalweg diese Stimulation abläuft, konnte noch nicht vollständig aufgeklärt werden.

Die Aktivierung des RAAS erfolgt zum einen norepinefrinvermittelt über  $\beta$ -Rezeptoren im juxtaglomerulären Apparat der Niere, zum anderen über renale Barorezeptoren, die eine verringerte Perfusion der Niere registrieren.

Die dadurch ausgelöste Ausschüttung von Renin aus der Macula densa katalysiert die Bildung von Angiotensin I, welches durch das Angiotensin-Konversions-Enzym (ACE) in die biologisch aktive Form, das Angiotensin II, überführt wird.

Angiotensin II (Ang II) bewirkt die Freisetzung von Aldosteron aus der Nebennierenrinde, das zu einer verstärkten Natrium- und Wasserretention in den Nieren führt und somit zu einer Zunahme des Blutvolumens. Ang II selbst erhöht das Blutvolumen durch eine Drosselung der glomerulären Filtrationrate. Durch den Volumenanstieg kommt es zum Blutdruckanstieg und zu einer Erhöhung der Vor- und Nachlast. Die Wirkung von Ang II wird über vier Rezeptoren vermittelt, im Vordergrund stehen allerdings der AT<sub>1</sub> und der AT<sub>2</sub> Rezeptor. Diese zwei Subtypen scheinen in ihren vermittelten Effekten gegensätzlich zu sein („negative crosstalk“).

Während über den AT<sub>1</sub> Rezeptor Hypertrophie, Zellproliferation und Vasokonstriktion vermittelt werden, bewirkt eine Bindung von Ang II an den AT<sub>2</sub> Rezeptor Vasodilatation und Hemmung der Zellproliferation (Brown et al. 1998; Kromer 2000). Auch wenn die AT<sub>2</sub>vermittelten Effekte einen Gegengewicht zu den AT<sub>1</sub>vermittelten bilden, wirkt Ang II als ein potenter Vasokonstriktor und fördert am Herzen und den Gefäßen strukturelle Umbauprozesse wie Hypertrophie und Fibrose (Unger 2000). Des weiteren erhöht es die Vasopressin- und Katecholaminfreisetzung (Unger 2000). Die Komponenten des Renin-Angiotensin-Systems (RAS) werden in mehreren Geweben synthetisiert, so dass man das gewebsständige und das zirkulierende RAS unterscheidet. Das gewebsständige RAS kann unabhängig vom zirkulierenden RAS reguliert sein (Wollert und Drexler 1999). Renin, Angiotensinogen, ACE und Angiotensinrezeptoren wurden auch im Herzgewebe gefunden, so dass davon ausgegangen werden kann, dass das lokale RAS im Myokard einen autokrinen/parakrinen Modulator der kardialen Funktion und Struktur darstellt (Baker et al. 1992; Dzau und Re 1994).

Neben der Aktivierung von Angiotensin II katalysiert das ACE auch die Inaktivierung von Bradykinin. Die Wirkung von Bradykinin wird über zwei Rezeptoren, den induzierbaren B<sub>1</sub> und den konstitutiv exprimierten B<sub>2</sub> Rezeptor, vermittelt (Regoli et al. 1998). Bradykinin bewirkt eine Vasodilatation durch eine vermehrte Bildung von Stickstoffmonoxid und Arachnidonsäuremetaboliten im vaskulären Endothel (Vanhoutte 1989). In der Niere wird durch direkte Effekte auf die Tubuli eine vermehrte Natriurese ausgelöst (Stein et al. 1972). Neben der Wirkung auf den Gefäßtonus und den Blutfluss aktiviert Bradykinin eine Reihe von Blut- und Gewebszellen im Rahmen eines entzündlichen Geschehens (Regoli et al. 1998). Der Großteil der biologischen Effekte von Bradykinin wird über die B<sub>2</sub>-Rezeptoren vermittelt (Regoli et al. 1998). In experimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass die Plasmalevel von Bradykinin nach Myokardischämie deutlich ansteigen (Baumgarten et al. 1993; Kimura et al. 1973).

Die Freisetzung von Vasopressin oder auch antidiuretisches Hormon (ADH) genannt, wird zum einen durch Angiotensin II stimuliert, zum anderen durch die bei der Herzinsuffizienz auftretende Hypovolämie und Hyperosmolarität (Lee et al. 1986; Phillips et al. 1985). Die erhöhten Vasopressinspiegel (Szatalowicz et al. 1981) bewirken in der Niere eine vermehrte Wasserresorption (Seibold et al. 1993) und somit einer Hypervolämie. Es kommt zu einer Erhöhung von Vor- und Nachlast des Herzens.

Weitere wichtige Hormone bei der Regulation des Herz-Kreislauf-Systems sind die kardialen natriuretischen Peptide (CNP). Hierzu zählen das atriale natriuretische Peptid (ANP) und das brain bzw. B-Typ natriuretische Peptid (BNP). ANP wird zum größten Teil in den Vorhöfen und zu einem geringen Teil in den Ventrikeln gebildet und während der atrialen Ausdehnungsphase in den Blutkreislauf abgegeben (Boland et al. 1998). Bei Patienten mit Herzinsuffizienz steigen die Plasmakonzentrationen von ANP aufgrund eines erhöhten atrialen Druckes an (Saito et al. 1987).

BNP wird hauptsächlich in den Ventrikeln synthetisiert, ist ebenfalls bei Patienten mit Herzinsuffizienz und linksventrikulärer Dysfunktion erhöht und scheint für den Schweregrad (NYHA I-IV) der Herzinsuffizienz ein sensitiverer Marker als ANP zu sein (McDonagh et al. 1998). Die Plasmaspiegel von BNP korrelieren direkt mit einem erhöhtem linksventrikulären Druck, dem Grad der Dyspnoe und dem Stadium neurohormonaler Aktivierung (Hystad et al. 2001).

Das primäre Zielorgan von ANP und BNP ist die Niere, wo sie eine vermehrte Natriumsekretion bewirken (Kim et al. 1989). Neben der Natriurese vermitteln sie eine Vasorelaxation; beide Mechanismen führen zu einer Senkung des Blutdruckes (Clerico et al. 2000).

Für ANP wurde weiterhin nachgewiesen, dass es die Sekretion von Renin und Aldosteron hemmt (Oelkens et al. 1988). Für BNP wird dieselbe Wirkung vermutet (Boland et al. 1998).

Während der Progression der Herzinsuffizienz kommt es auch zu einer Aktivierung verschiedener endothelialer Hormone. Diese Stoffe wirken sowohl direkt am Endothel als auch systemisch.

Zu nennen ist hier das Endothelin-1, ein sehr potentes bioaktives Peptid mit stark vasokonstriktorischer Wirkung. Die Wirkung von Endothelin-1 wird über zwei Rezeptoren, den ET<sub>A</sub>- und den ET<sub>B</sub>-Rezeptor, vermittelt. Erhöhte Plasmaspiegel von Endothelin-1 werden bei einer Reihe von Erkrankungen gefunden, unter anderem auch bei der Herzinsuffizienz. Verschiedene klinische und experimentelle Studien haben gezeigt, dass bei schwerer Herzinsuffizienz die Endothelinspiegel beim Patienten um das zwei- bis dreifache ansteigen können (Pacher et al. 1996, Wie et al. 1994). Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass erhöhte Plasmakonzentrationen von Endothelin mit einer schlechteren Prognose bei herzinsuffizienten Patienten assoziiert sind (Pacher et al. 1996). Die systemische und renale vasokonstriktorische Wirkung scheint hauptsächlich über lokale und weniger über systemische Effekte vermittelt zu werden (Schrier et al. 1999).

Ein weiterer sehr potenter Vasodilator ist das Stickstoffmonoxid (NO), ein biologisch aktives Molekül mit einer Reihe von physiologischen und pathophysiologischen Wirkungen. Die Bildung von NO aus L-Arginin wird durch drei NO-Synthasen (NOS) katalysiert (Moncada et al. 1993). Man unterscheidet zwei konstitutiv exprimierte NOS, die endotheliale NOS (eNOS) und die neuronale NOS (nNOS), und eine induzierbare Form, die iNOS. Im kardiovaskulären System sind besonders die eNOS und die iNOS von Bedeutung. Die im Herz vorherrschende Form ist die eNOS, welche im vaskulären Endothel und den Kardiomyozyten exprimiert wird. Das von ihr gebildete endotheliale NO spielt eine wichtige Rolle im kardiovaskulären System. Es reguliert den vasomotorischen Tonus und die Adhäsion von Zellen ans Endothel und hemmt die Proliferation der glatten Gefäßmuskulatur und die Plättchenaggregation (Andrew et al. 1999). Die Aktivität von eNOS kann infolge neurohormonaler Faktoren wie erhöhte Katecholamin-, Vasopressin- oder Bradykininlevel erhöht werden (Boulanger et al. 1997; Awolesi et al. 1995). Die Expression von eNOS hingegen wird z.B. durch Scherkräfte am Endothel, durch Östrogene und den Transforming Growth Factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) erhöht (Forstermann et al. 1995).

Die Induktion der Expression der iNOS erfolgt durch verschiedene Zytokine wie Tumornekrosefaktor alpha (TNF $\alpha$ ) oder Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ), die bei entzündlichen Prozessen im Körper ausgeschüttet werden (Andrew et al. 1999). Die iNOS kann in fast allen Zellen exprimiert werden. So wurde sie in Makrophagen, Hepatozyten, Chondrozyten, Fibroblasten, Kardiomyozyten und Epithel- und Endothelzellen gefunden (Moncada et al. 1991, Farrell et al. 1992, Langrehr et al. 1993). Über die Expression von iNOS im Herzen wurde zum ersten Mal bei Patienten mit dilatierter Kardiomyopathie nach Myokarditis berichtet (de Belder et al. 1993). Inzwischen wurde in verschiedenen Studien bei herzinsuffizienten Patienten eine erhöhte Expression der iNOS festgestellt (Haywood et al. 1996, Satoh et al. 1997). Während der Progression der Herzinsuffizienz kommt es zu einer erniedrigten NO-Freisetzung, die zum größten Teil auf einer verminderten Synthese durch die eNOS beruht (Indik et al. 2001, Kubo et al. 1991). Eine Studie mit eNOS-Knockout Mäusen zeigte, dass durch eine erniedrigte eNOS-Expression in der Herzinsuffizienz das ventrikuläre Remodelling verstärkt wird, bzw. dass NO das Remodelling nach Myokardinfarkt limitiert (Scherrer-Crosbie et al. 2001). Insgesamt wurden in den letzten zehn Jahren insgesamt 92 Studien zur Rolle von NO in der myokardialen Ischämie durchgeführt, von denen 73% einen kardioprotektiven Effekt von NO feststellten (Bolli 2001). Dies kann zum einen durch seine vasodilatierende Wirkung, die Vor- und Nachlast senkt (Furchgott et al. 1980) als auch durch seine Regulation der Angiogenese (Murohara et al. 1998), Fibrose (Kim et al. 1999) und der Hypertrophie (Ritchie et al. 1998) erklärt werden.

Weitere Hormone mit vasodilatatorischer Wirkung sind das Prostacyclin und Prostaglandin E, welche in einer Vielzahl von Zellarten gebildet werden. Aktivierend auf deren Bildung wirken Angiotensin II, Norepinephrin und renale Nervenstimulation (Satoh et al. 1981). Diese vasodilatativen Prostaglandine scheinen eine Art Gegengewicht zu der neurohormonal-induzierten renalen Vasokonstriktion bei der Herzinsuffizienz zu bilden (Schrier et al. 1999).

In den letzten Jahren immer mehr Aufmerksamkeit haben die Zytokine im Zusammenhang mit der Herzinsuffizienz erhalten. Man sieht die Bedeutung dieser inflammatorischen Komponente nicht nur hinsichtlich ihrer Rolle als prognostische Marker sondern auch als Mitverursacher der Herzinsuffizienz (Rauchhaus et al. 2001). Am besten erforscht sind hier der Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- $\alpha$ ) und verschiedene Hormone aus der Gruppe der Interleukine wie das Interleukin-6 oder Interleukin-1 $\beta$ .

Die Plasmaspiegel von TNF- $\alpha$  steigen kontinuierlich mit zunehmendem Schweregrad der chronischen Herzinsuffizienz an (Torre-Amione et al. 1993). Zytokine können zur linksventrikulären Dysfunktion ebenso beitragen wie zum strukturellen Umbau der linksventrikulären Myokard, dem sogenannten Remodelling (Rauchhaus et al. 2001).

#### 2.4.2 Strukturelle Veränderungen, das ventrikuläre Remodelling

Das fortschreitende funktionelle Versagen des Herzens wird begleitet von Veränderungen der Ventrikelform und -größe sowie dem Aufbau des Myokards. Dieser Prozess wird als Remodelling bezeichnet (Kamran et al. 1998).

Die Veränderungen können definiert werden als ein reaktiver Prozess auf genetischer, molekularer, zellulärer und interstitieller Ebene infolge einer kardialen Schädigung, der zu deutlichen strukturellen und funktionellen Änderungen des Herzens führt (Cohn et al. 2000).

Auch wenn das Remodelling physiologisch als adaptiver Prozess auftreten kann, wie z.B. bei Hochleistungssportlern, ist es als ein pathologischer Prozess anzusehen. In der Regel bewirken chronische pathologische Zustände oder akute Schädigungen das Einsetzen des Remodellings am Herzen. So treten die strukturellen Veränderungen zum Beispiel infolge eines Myokardinfarktes oder bei chronisch erhöhten Druckverhältnissen im Herzen wie bei Hypertension und Aortenstenose auf (Cohn et al. 2000). Unabhängig von der Ätiologie der Herzschädigung sind sich die einsetzenden pathologischen Prozesse sehr ähnlich, so dass ein gemeinsamer Mechanismus für die Entwicklung der Herzinsuffizienz vermutet wird (Florea et al. 1999).

Die Hauptmerkmale des beginnenden Remodellings sind die myozytäre Hypertrophie (Anversa et al. 1986) und die Zunahme fibrotischen Gewebes im Myokard (Weber et al. 1995). Dieser adaptive Prozess ist charakterisiert durch Neuorientierung der Wandstruktur, myozytäre Hypertrophie mit Zunahme der Myokardmasse und progressive Ventrikeldilatation (Bolognese et al. 1999).

Auch wenn mit dem Begriff des Remodellings oft morphologische Veränderungen wie z.B. Ventrikeldilatation oder die Verformung des Herzens von der Ellipse zur Kugel (Douglas et al. 1989; Mitchell et al. 1992) beschrieben werden, handelt es sich eigentlich um einen Prozess auf zellulärer, genetischer und molekularbiologischer Ebene.

Primär versucht das Herz der erhöhten Druck- und Volumenbelastung des linken Ventrikels und dem damit verbundenen Abfall des Schlagvolumens entgegenzuwirken. Auslösende Faktoren sind hier der Verlust kontraktile Elemente (Chareonthaitawee et al. 1995), die plötzliche Änderung systolischer und diastolischer Druckverhältnisse (Gaudron et al. 1993), neurohormonale Aktivierung und lokale autokrine trophische Faktoren (Colucci 1997).

Infolge dieser pathogenen Stimuli wird die Reexpression fetaler Gene ausgelöst, die zur Synthese fetaler Proteine führt (Colucci 1997; Swynghedauw 1999). Diese bewirken eine myozytäre Hypertrophie, die in einer Erhöhung der myokardialen Masse resultiert (Weber 1997). Es kommt es zu einer Zunahme der ventrikulären Wanddicke (Anversa et al. 1991). Die Ventrikelhypertrophie wird begleitet von einer herabgesetzten koronaren Flussreserve (Vatner et al. 1990), einer verminderten subendokardialen Durchblutung (Vatner et al. 1990), einem reduzierten Koronarfluss pro Gramm Gewebe (Weiss et al. 1976) und einem erhöhtem myokardialen Sauerstoffbedarf (Hasenfuss et al. 1989). Diese Faktoren führen wiederum zu Ischämie und Energieunterversorgung im hypertrophierten Gebiet, so dass der Prozess der Hypertrophie in einem Circulus vitiosus endet, in dem die Belastung auf das Myokard

immer mehr ansteigt (Dhalla et al.1996). Es kommt zu fortschreitendem Zelluntergang der Kardiomyozyten durch Apoptose und Nekrose und somit zu verringerter Kontraktilität (Willenheimer 2000).

Neben diesen Prozessen sind in den Kardiomyozyten auch Störungen des  $Ca^{2+}$ -Stoffwechsels zu beobachten, die zu Störungen im Ablauf von Kontraktion und Relaxation im Myokard führen. Im remodellierten Myokard ist der Gehalt des sarkoplasmatischen Retikulums und der  $Ca^{2+}$ -Kanäle und -Pumpen relativ zur Masse erniedrigt (Arai et al. 1993; Beuckelmann et al. 1992). Dies führt zu einer Kalziumüberladung der Zelle, wodurch die Aktion der Myofilamente entscheidend gestört wird. Eine Dysfunktion sowohl in der Diastole als auch in der Systole ist die Folge.

Des Weiteren führt die geänderte Genexpression zu einer veränderten Qualität und Quantität der extrazellulären Matrix (Willenheimer 2000). Aktivierte Fibroblasten synthetisieren vermehrt Kollagen, was zu diffuser interstitieller Fibrose, perivaskulärer Fibrose und fokaler reparativer Fibrose führt (Weber et al. 1991; Weber et al. 1992, Volders et al. 1993). Aus dieser Fibrosierung resultiert eine verringerte Compliance des Myokards, die von einer diastolischen Dysfunktion begleitet wird (Willenheimer 2000).

Beim akuten Myokardinfarkt, besonders bei großen transmuralen Infarkten, kommt es zu strukturellen Änderungen sowohl der infarzierten als auch der nichtinfarzierten Region des Ventrikels (Pfeffer et al. 1990, Bolognese et al. 1999). Im nichtinfarzierten Gebiet setzen aufgrund des erhöhten mechanischen Stresses und der neurohormonalen Aktivierung die oben genannten Prozesse des Remodellings ein. Im infarzierten Gebiet beginnt die Reparatur und Separation des nekrotischen Gebietes und durch Einwanderung von Fibroblasten bildet sich Narbengewebe. Dies führt zu einer regionalen Ausdünnung und Dilatation des Myokards, ein Prozess, der schon innerhalb eines Tages nach Infarkt einsetzt (Weismann et al. 1985).

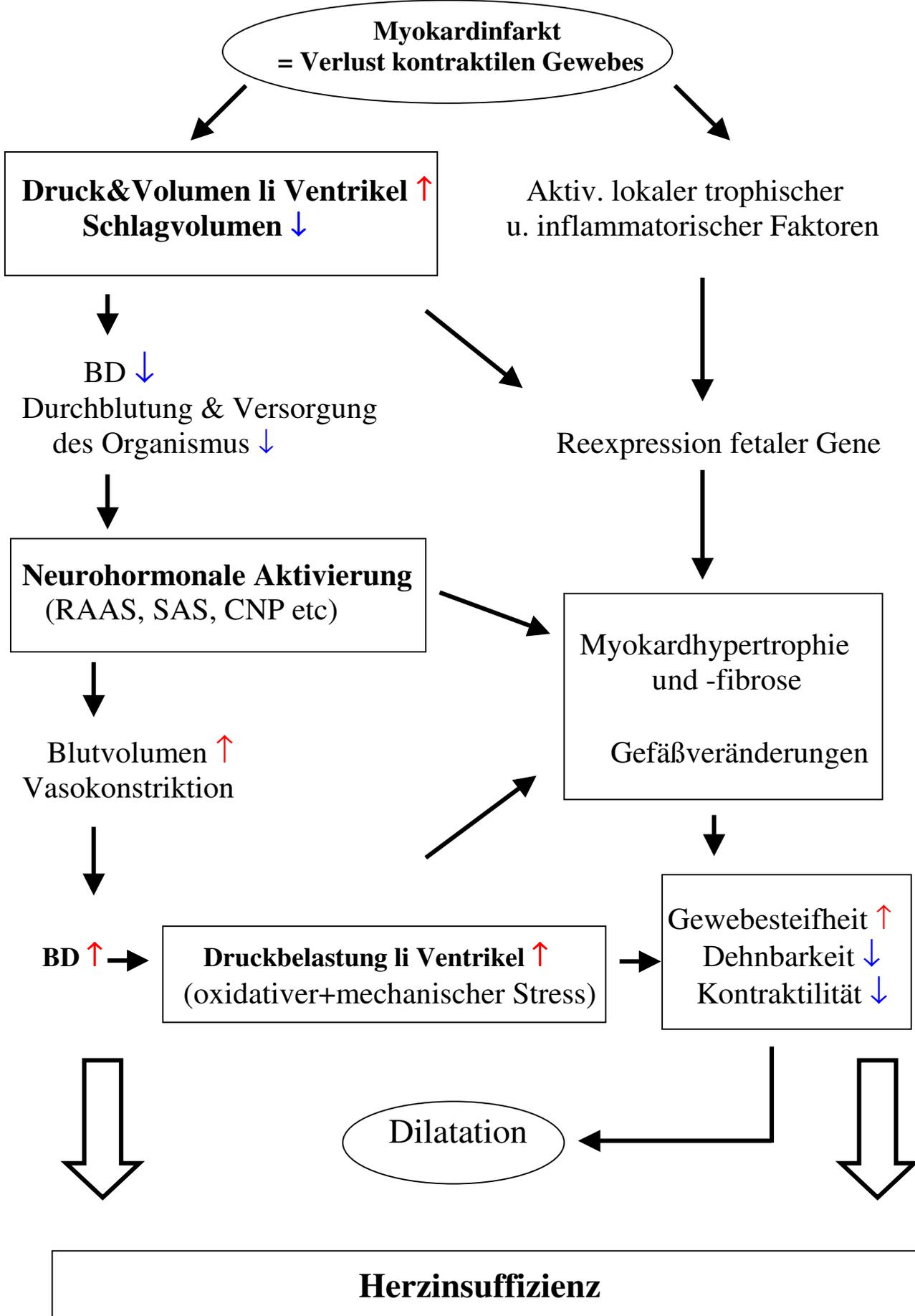
In verschiedenen Infarktmodellen konnte gezeigt werden, dass das linksventrikuläre Remodelling schon sehr rasch nach dem Infarkt beginnt. Bereits in den ersten Stunden kommt es zu strukturellen Veränderungen, die sich progressiv fortsetzen (Hochmann et al. 1982; Korup et al. 1997).

Abb.1: Vereinfachte Darstellung der Pathomechanismen, die nach einem Myokardinfarkt zur Entstehung und Progression der Herzinsuffizienz beitragen.

BD= Blutdruck,  $\uparrow$  = steigt an,  $\downarrow$  = fällt ab,  $\rightarrow$  = führt zu

K  
o  
m  
p  
e  
n  
s  
a  
t  
i  
o  
n

D  
e  
k  
o  
m  
p  
e  
n  
s  
a  
t  
i  
o  
n



**Herzinsuffizienz**

## 2.5 Therapie der Herzinsuffizienz

### 2.5.1 Allgemein

Das heutige therapeutische Management der Herzinsuffizienz darf sich nicht nur nach der Symptomatik richten. Es ist bekannt, dass die Symptome oft nur schwach mit dem Schweregrad der ventrikulären Dysfunktion korrelieren, während diese aber sehr eng mit der Mortalität korreliert (Cohn 1996).

Eine adäquate medikamentöse Versorgung der herzinsuffizienten Patienten muss auf ein therapeutisches Kurz- und Langzeitziel ausgerichtet sein.

Die Therapie sollte demnach zum einen die Symptome des Patienten lindern und seine Lebensqualität verbessern, zum anderen aber auch das Fortschreiten der Herzinsuffizienz verlangsamen, wenn nicht sogar aufhalten und somit die Mortalität vermindern.

Während früher hauptsächlich positiv inotrope Substanzen (Digitalis) eingesetzt wurden, um die Pumpleistung des Herzens zu verstärken, hat sich aufgrund der eindeutigen Ergebnisse klinischer Studien der letzten 20 Jahre ein Wandel in dem therapeutischen Konzept vollzogen (Mutschler 2001). Heute werden vorwiegend Wirkstoffgruppen eingesetzt, die zum einen die Herzarbeit ökonomisieren und zum anderen die einsetzenden Kompensationsreaktionen des Körpers wie die erhöhte Aktivität des Sympathikus und des RAAS vermindern oder sogar aufheben (Mutschler 2001).

Zu diesen Wirkstoffgruppen gehören die Diuretika, welche der Flüssigkeits- und Kochsalzretention des Körpers entgegenwirken und somit die Vor- und Nachlast des Herzens senken. Sie gehören deshalb zu den Standardtherapeutika der Herzinsuffizienz.

Von großer Bedeutung sind auch die Wirkstoffe, welche in das RAAS eingreifen. An erster Stelle stehen hier die ACE-Hemmer. Aber auch AT1-Rezeptorblocker und Aldosteronantagonisten finden vermehrt therapeutischen Einsatz.

Erst seit kurzer Zeit sind auch  $\beta$ -Adrenorezeptorblocker ein Teil der Therapie der Herzinsuffizienz, während sie vor wenigen Jahren aufgrund ihrer negativ inotropen Wirkung noch als kontraindiziert galten.

Die eben genannten Wirkstoffgruppen werden selten als Monotherapien sondern in der Regel als Kombinationstherapie eingesetzt. Die American Heart Association empfiehlt als Therapie der Herzinsuffizienz die 4er-Kombination eines Diuretikums, eines Digitalispräparat, eines ACE-Hemmers und eines  $\beta$ -Blockers.

### 2.5.2 ACE-Hemmer

ACE-Hemmer wurden anfangs der Achtziger entwickelt und dienten ursprünglich der Therapie des Bluthochdruckes. Die erste Substanz dieser Wirkstoffgruppe war das Captopril. Seit dieser Zeit sind für die ACE-Hemmer eine Reihe weiterer klinischer Indikationen entdeckt und entwickelt worden.

Die ACE-Hemmer unterscheiden sich in der chemischen Struktur ihrer aktiven Gruppe, in ihrer Pharmakokinetik, in ihrer Potenz und in ihrer Darreichungsform

(Brown et al. 1998). Außer bei Captopril und Lisinopril handelt es sich bei allen Substanzen dieser Wirkstoffgruppe um Prodrugs, welche erst durch Esterhydrolyse in die eigentliche Wirksubstanz überführt werden (Mutschler, 2001).

Das Angiotensin-Konversions-Enzym ist eine bivalente Dipeptidylcarboxyl-metalloproteinase. Es kommt in membrangebundener Form in Endothel-, Epithel- und Neuroepithelzellen und dem Gehirn vor und in löslicher Form im Blut und in verschiedenen Körperflüssigkeiten (Skidgel et al. 1993).

ACE spaltet von Angiotensin I, Bradykinin und einer Reihe weiterer kleiner Peptide wie Substanz P das C-terminale Dipeptid ab. Während Angiotensin I somit in seine biologische aktive Form Angiotensin II überführt wird, werden Bradykinin und weitere Kinine in eine inaktive Form degradiert. Durch die Hemmung der katalytischen Wirkung von ACE kommt es zu einer verminderten Bildung von Angiotensin II und zu einer Akkumulation von aktivem Bradykinin und anderen Kininen.

ACE-Hemmer verändern somit die Balance zwischen den vasokonstriktiven, salzretentiven und hypertrophen Effekten von Angiotensin II und den vasodilatativen und natriuretischen Effekten von Bradykinin. Gleichzeitig greifen sie in den Stoffwechsel einer Reihe weiterer vasoaktiver Substanzen ein (z.B. Endothelin, NO).

In der Therapie der Herzinsuffizienz nehmen die ACE-Hemmer eine herausragende Stellung ein, da sie die Aktivierung des RAAS effektiv vermindern und die damit verbundene Progredienz der Herzinsuffizienz durchbrechen.

In Tierexperimenten als auch im Menschen konnte gezeigt werden, dass ACE-Hemmer den Sympathikustonus senken (Hirsch et al. 1991), Vor- und Nachlast des Herzens vermindern (Wollert et al. 1994) und sowohl das kardiale als auch das vaskuläre Remodeling verringern (Michel et al. 1994; Mulder et al. 1996).

Mehrere große Therapiestudien belegen, dass ACE-Hemmer die Mortalität der herzinsuffizienten Patienten unabhängig von der kardialen Grundkrankheit hochsignifikant senken und die Symptome dieser Patienten entscheidend verbessern.

So wurde in der Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Studie durch die Behandlung mit Ramipril eine hochsignifikante Senkung der Mortalität um 27% erreicht (AIRE Investigators 1993). Ähnlich waren die Ergebnisse des Survival and Ventricular Enlargement (SAVE) Trial, bei der die Behandlung mit Captopril die Mortalität um 19% senkte (Rutherford et al. 1994). Der Einfluss von Enalapril auf die Prognose von schwer herzinsuffizienten Patienten wurde in der CONSENSUS Studie (Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study) untersucht. Nach 6 Monaten war die Mortalität in der enalaprilbehandelten Patientengruppe hochsignifikant um 40% gesenkt (Sleight 2002).

### 2.5.3 $\beta$ -Adrenorezeptorblocker

Die  $\beta$ -Adrenorezeptorblocker finden ihre Anwendung insbesondere bei Erkrankungen, bei denen das  $\beta$ -adrenerge System maßgeblich zur Entstehung oder Progression beiträgt.

Das sympathische Nervensystem wird unabhängig von dem auslösenden Faktor schon sehr früh im Verlauf der Herzinsuffizienz aktiviert (Abraham 2000). Während dies kurzzeitig zu einer Verbesserung der Herzfunktion führt, gibt es heute keine Zweifel mehr darüber, dass die chronische Erhöhung des Sympathikustonus entscheidend zur

Verschlechterung des Krankheitsbildes beiträgt. Dies macht deutlich, warum  $\beta$ -Blocker ein wichtiger Teil der Therapie der Herzinsuffizienz sein sollten.

Eingesetzt werden  $\beta$ -Adrenorezeptorblocker heute bei den Indikationen koronare Herzkrankheit, Herzrhythmusstörungen, Hypertonie, funktionelle Herz-Kreislaufstörungen und Herzinsuffizienz (Mutschler 2001).

$\beta$ -Adrenorezeptorblocker hemmen kompetitiv  $\beta$ -Adrenorezeptoren und heben durch Blockade der  $\beta_1$ -Rezeptoren die positiv inotrope und chronotrope Wirkung am Herzen und durch Blockade der  $\beta_2$ -Rezeptoren die vasodilatierende Wirkung der Katecholamine an der glatten Muskulatur auf (Mutschler 2001). Bei den meisten Indikationen ist die  $\beta_1$ -Blockade erwünscht. Neben den Wirkungen am Herzen blockieren  $\beta$ -Adrenorezeptorblocker auch Stoffwechseleffekte der Katecholamine wie z.B. Lipolyse und Glykogenolyse.

Allen Substanzen aus der Gruppe der  $\beta$ -Blocker ist gemein, dass sie initial negativ inotrop wirken und zunächst zu einer Verschlechterung der Symptomatik führen können (Krukmeyer 1990; Steering Committee in Heart Failure 1999). Die positiven Effekte der adrenergen Inhibition sind teilweise erst nach ein bis zwei Monaten feststellbar (Hall et al. 1995).

Man unterscheidet zwischen  $\beta_1$ -selektiven und nichtselektiven  $\beta$ -Blockern. Die nichtselektiven wie z.B. Carvedilol bewirken einen kompletteren antiadrenergen Effekt, da sie drei adrenerge ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  und  $\alpha_1$ ) Rezeptoren am Herzen blockieren (Gilbert et al. 1996). Des Weiteren scheinen sie zusätzlich antiproliferative, antioxidante und vasodilatierende Eigenschaften zu haben, die sich nicht nur auf die  $\beta$ -Blockade zurückführen lassen (Yue et al. 1992; Ohlstein et al. 1993). Carvedilol senkte in der Multicenter Oral Carvedilol Heart Failure Assessment (MOCHA) Studie signifikant die Mortalität und die Rate der Hospitalisationen. Gleichzeitig bewirkte die Gabe von Carvedilol einen signifikanten Anstieg der linksventrikulären Auswurffraktion (MOCHA Investigators 1996). In dem Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival (COPERNICUS) Trial bewirkte die Gabe von Carvedilol bei Patienten der NYHA Klasse III-IV eine signifikante Senkung der Mortalität um 35% (Eichhorn et al. 2001).

Jedoch auch die  $\beta_1$ -selektiven Rezeptorblocker wie Metoprolol und Bisoprolol haben in mehreren großen Studien gezeigt, dass sie nicht nur die Symptomatik der Herzinsuffizienz lindern, sondern auch das Fortschreiten der Erkrankung verlangsamen. So senkte im Metoprolol Randomized Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF) die zusätzliche Gabe von Metoprolol zur Standardtherapie die Mortalität signifikant um 34% (MERIT-HF Study Group 1999).

## 2.6 Die Echokardiografie

Unter dem Begriff der Echokardiografie fasst man verschiedene Ultraschalluntersuchungen am Herzen mit unterschiedlicher Aussagekraft und Anwendung zusammen. In der Diagnostik von Herz-Kreislaufkrankungen werden die 2D-, die M-Mode-, die Doppler-, die Farbdoppler-, die Kontrast- und die Stressechokardiografie verwandt (Strom et al. 1998). Sie sind als nichtinvasive Verfahren von großer Bedeutung und erlauben eine quantitative sowie qualitative Aussage über Dimension und Funktion des Herzens.

Die 2D-Echokardiografie ermöglicht die Beurteilung der Bewegungsabläufe der Herzstrukturen und die Erfassung relativer Grössenverhältnisse (Strom et al. 1998). Mit der M-Mode Echokardiografie hingegen erhält man quantitative Aussagen über Ventrikel- und Vorhofgröße sowie Wanddicken. Die Dopplerechokardiografie wird herangezogen, um eine quantitative und qualitative Beurteilung des Blutflusses innerhalb des Herzens vorzunehmen. Sie erlaubt die Diagnose von Dysfunktionen in der Diastole sowie von Klappenfehlern.

Kombiniert mit dem heutigen Wissen über die strukturellen und funktionellen Veränderungen des Herzens während der Progression der Herzinsuffizienz, bietet die Echokardiografie nicht nur ein diagnostisches sondern auch ein prognostisches Potential.

Die echokardiografisch zu bestimmende linksventrikuläre Auswurffraktion (LVEF) gilt heute als eine der wichtigsten prognostischen Faktoren der Mortalität (Cohn et al. 1988; Keogh et al. 1990). Sie ist ein Maß der linksventrikulären Funktion mit sowohl klinischer als auch prognostischer Signifikanz (Nelson et al. 1975). Echografisch bestimmte Parameter, insbesondere die LVEF, dienen heute nicht nur im klinischen Alltag sondern besonders auch in großen Studien wie z.B. der Studies of left ventricular function (SOLVD) der prognostischen Einschätzung der Patienten. Auch die Größe der linksventrikulären Fläche in Enddiastole und Endsystole bei Patienten mit bestehendem Remodelling nach Myokardinfarkt erlaubt eine unabhängige Einschätzung der Prognose. Dies konnte in der echokardiographischen Substudie des Survival and Ventricular Enlargement (SAVE) Trials nachgewiesen werden (Sutton et al. 1991). Neben der Beurteilung funktioneller systolischer Parameter sind auch die Messungen der diastolischen Funktion von großer Relevanz. So korrelieren die Parameter, die eine eingeschränkte diastolische Füllung des Ventrikels beschreiben wie z.B. Flussmessungen im Stromgebiet der Mitralklappe, eng mit einer schlechten Prognose bei herzinsuffizienten Patienten (Bettencourt et al. 2000). Generell konnten mehrere Gruppen zeigen, dass die Befunde der diastolischen Funktion, die mittels Doppler-Echokardiografie erhoben wurden, eine hohe Aussagekraft über Mortalität und Morbidität haben, die teilweise ganz unabhängig von der ermittelten Auswurffraktion ist (Lee et al. 1997; Pinamonti et al. 1993).

Das Erkennen einer dekompensierten Herzinsuffizienz erfolgt heute oft zu spät, da die klinischen und radiografischen Anzeichen nicht immer direkt mit den erhöhten ventrikulären Druckverhältnissen und mit dem herabgesetzten Schlagvolumen korrelieren (Stevenson et al. 1989; Chakko et al. 1991). Diese oftmals schwache Korrelation zwischen körperlichen Anzeichen bzw. Symptomen und der kardialen

Funktion kann dazu führen, dass die betroffenen Patienten keine rechtzeitige adäquate Therapie der Herzinsuffizienz erhalten (Sanders et al. 2000).

## 2.7 Tiermodelle

Der Fortschritt in dem Verständnis der Pathophysiologie und in der Entwicklung neuer Behandlungsstrategien der Herzinsuffizienz wäre ohne eine Reihe verschiedener Tiermodelle nicht möglich gewesen.

Bei der Auswahl eines Tiermodelles hinsichtlich der Spezies und der Methode sind neben dem wissenschaftlichen Hintergrund auch Faktoren wie ethische und ökonomische Überlegungen sowie Durchführbarkeit und Reproduktivität der Ergebnisse von Bedeutung (Hasenfuss 1998). In der pharmakologischen Forschung ist die Übertragbarkeit der Daten von dem Tier auf den Menschen das wichtigste Kriterium. Nur ein valides Tiermodell erlaubt die qualitative Beurteilung der therapeutischen Effekte einer Substanz.

Es existiert kein ideales Modell, welches alle pathophysiologischen Faktoren und klinischen Symptome beim Menschen exakt nachstellt. Nachteile, die fast allen Tiermodellen gleich sind, sind das meist junge Alter der Tiere, der plötzliche Beginn der Herzinsuffizienz durch chirurgische oder pharmakologische Intervention und die monofaktorielle Genese der Erkrankung (Mulders et al. 1999). Dies widerspricht den Umständen beim Menschen, wo das Patientengut meist alt ist, die Krankheit schleichend beginnt und oft begleitet wird von anderen Krankheiten wie Arteriosklerose, Diabetes oder Übergewicht.

Die meisten tierexperimentellen Studien der Herzinsuffizienz wurden und werden mit Ratten durchgeführt. Besonders bei Langzeitüberlebensstudien und pharmakologischen Langzeitstudien werden Ratten benutzt (Pfeffer et al. 1979; Sakai et al. 1996). Verwendet werden zum einen spezielle Tierstämme wie z.B. die Spontane Hypertensive Ratte (Li et al. 1997; Bing et al. 1991). Bei diesen Tieren kommt es aufgrund eines speziellen Genotyps zu chronischem Bluthochdruck, in dessen Folge sich eine Herzinsuffizienz entwickelt. Zum anderen werden verschiedene Methoden zur Erzeugung der Herzinsuffizienz angewandt wie z.B. die Koronarligatur (Liu et al. 1997), die toxische Kardiomyopathie (Teerlink et al. 1994; Capasso et al. 1992) und das Aortic Banding (Weinberg et al. 1994; Feldmann et al. 1993).

Der Vorteil der Ratte als Versuchstier liegt besonders in den niedrigen Kosten. Allerdings wird der Einsatz der Ratte bei Studien der Herzinsuffizienz durch verschiedene tierartige Besonderheiten begrenzt. So dominiert bei der Ratte im Gegensatz zum Menschen die  $\alpha$ -myosin heavy chain Isoform im Myokard (Swynghedauw et al. 1986), die Herzfrequenz in Ruhe ist fünfmal höher als beim Menschen und die Kraft-Frequenz-Beziehung ist umgekehrt (Bers et al. 1991).

Ein weiteres wichtiges Versuchstier aus der Gruppe der Nager ist das Kaninchen. Als Vorteile des Kaninchens sind die Möglichkeit der chronischen Instrumentation, die Körpergröße, die die Entnahme größerer Proben erlaubt, und die relativ niedrigen Haltungskosten zu nennen. Des Weiteren dominiert beim Kaninchen die  $\beta$ -myosin

heavy chain Isoform im Myokard, der Kalziumausschleusung aus der Zelle läuft zu 70% über das sarkoplasmatische Retikulum und zu 30% über den  $\text{Na}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher (Bers et al. 1991) und die Kraft-Frequenz-Beziehung ist positiv (Hasenfuss et al. 1991; Ezzaher-A et al. 1992). Dies alles sind Gemeinsamkeiten mit der humanen Physiologie.

Es existieren mehrere Kaninchenmodelle der Herzinsuffizienz. Sie unterscheiden sich hinsichtlich der Ätiologie des Krankheitsbildes; so gibt es Modelle der Myokardischämie, der Tachykardie, des systemischen Bluthochdruckes, der Druck- und Volumenüberbelastung, der Kardiomyopathie oder Myokarditis.

Von Bedeutung in der heutigen Forschung sind die Modelle der Koronarligatur (Currie et al. 1999; Pennock et al. 1997), des chronischen Pacings (Masaki et al. 1993; Freeman et al. 1992; Porsa et al. 1994) und der toxischen Kardiomyopathie (Kelso et al. 1997; Arnolda et al. 1985). Die Vorteile der Koronarligatur im Kaninchen, gerade im Vergleich zu kleineren Nagern, liegen in der niedrigeren perioperativen Mortalität, der besseren Konsistenz der Infarktgrößen, den grösseren Kammerdimensionen und der niedrigeren Herzfrequenz (Pennock et al. 1997). Des weiteren verfügt das Koronarsystem des Kaninchens, ähnlich wie das des Menschen, über eine schwache Kollateraldurchblutung (Pye et al. 1996). Dadurch erhält dieses Modell zusätzlich klinische Relevanz und ermöglicht es, konsistente und reproduzierbare Infarktgrößen zu produzieren. Mit diesem Modell können sowohl akute als auch chronische Versuche durchgeführt werden, wobei bei chronischer Myokardischämie bereits nach drei Wochen eine Verschlechterung funktioneller und struktureller Parameter eintritt (Pennock et al. 1996; Mahaffey et al. 1995).

Neben der Ratte und Kaninchen werden auch andere kleine Nagetiere wie das Meerschweinchen (Malhotra et al. 1992), der syrische Hamster (Bajusz 1969) und die Maus (Hoit et al. 1995) verwendet.

Ein weiteres Versuchstier in der Herz-Kreislauf-Forschung ist der Hund, der in den Modellen des Pacings (O'Leary et al. 1992; Pak et al. 1997), der Koronarligatur (Sabbah et al. 1991; Gupta et al. 1997) sowie der toxischen Kardiomyopathie (Magovern et al. 1992) verwendet wird. Vorteilhaft sind beim Hund die Möglichkeit zur chronischen Instrumentation sowie das Vorherrschen der  $\beta$ -myosin heavy chain Isoform im Myokard. Andererseits erzeugen Hunde als Versuchstier enorme Kosten im Erwerb und in der Haltung und werden auch hinsichtlich des ethischen Standpunktes als kritisch angesehen.

## **2.8 Fragestellung**

### **2.8.1 Etablierung des Tiermodells chronische Herzinsuffizienz im Kaninchen**

Das Thema dieser Arbeit war, ein neues Tiermodell der chronischen Herzinsuffizienz zu etablieren, das es erlaubt, sowohl die Wirkung neuer Substanzen als auch die vielfältigen Pathomechanismen dieses Krankheitsbildes zu untersuchen. Mittels Messung verschiedener Parameter sollte gezeigt werden, ob in diesem Tiermodell die typischen funktionellen und morphologischen Veränderungen der Herzinsuffizienz

auftreten. Hierzu wurde bei den Tieren durch Koronarligatur ein linksventrikulärer Myokardinfarkt gesetzt, in dessen Folge sich eine mittelschwere Herzinsuffizienz entwickelte.

### 2.8.2 Vergleich eines ACE-Hemmers und eines $\beta$ -Blockers in der Therapie der Herzinsuffizienz

Die Gabe von ACE-Hemmern gilt als die Standardtherapie bei Herzinsuffizienz, und ihre therapeutische Wirkung ist in mehreren großen klinischen Studien belegt (siehe S.16). Die Gabe von Ramipril, einem Vertreter dieser Substanzklasse, diente somit in dieser Studie zur Validierung des Versuchsmodells.

Des Weiteren wurde eine infarzierte Gruppe mit einer Substanz aus der Gruppe der  $\beta$ -Adrenorezeptorblocker, dem Metoprolol, behandelt. Diese Wirkstoffgruppe wird nach den überzeugenden Ergebnissen großer klinischer Studien seit wenigen Jahren in der Therapie der Herzinsuffizienz erfolgreich beim Menschen eingesetzt (siehe S.17). Jedoch liegen bisher nur wenige Daten aus Tierstudien vor, die teilweise nicht die positiven Effekte der humanen Studien bestätigen konnten.

Die Tiere wurden in eine Gruppe der Scheinoperierten, eine koronarligierte Kontrollgruppe, eine koronarligierte ramiprilbehandelte und eine koronarligierte metoprololbehandelte Gruppe eingeteilt. Die Behandlung mit Ramipril erfolgte ab dem dritten Tag täglich über zwölf Wochen. Die Behandlung mit Metoprolol erfolgte direkt nach Myokardinfarkt konstant über zwölf Wochen.

Es wurden die Effekte auf die kardiale Funktion als auch auf die Morphologie des Herzens untersucht.

### 2.8.3 Korrelation zwischen invasiv und nichtinvasiv ermittelten Parametern in der experimentellen Herzinsuffizienz

In der klinischen Kardiologie sind verschiedene Untersuchungsmethoden im Einsatz, sowohl zur Diagnose als auch zur Bewertung der medikamentellen Therapie. Von Bedeutung ist als nichtinvasive Methode die Echokardiografie, die sowohl über Funktion als auch Morphologie des insuffizienten Herzens Auskunft gibt.

Eine wichtige invasive Untersuchungsmethode stellt die Katheterisierung des Herzens dar, mit der Daten über die Druckverhältnisse im Herzen erfasst werden können.

Beide Methoden fanden in dieser Studie Anwendung und wurden hinsichtlich ihrer Aussagekraft miteinander verglichen. Die Frage war, ob die erhobenen Daten mittels Echokardiografie eine ausreichend hohe Verlässlichkeit bei der Beurteilung von Herzfunktion und -morphologie bieten.

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1 Tiere, Haltung, Fütterung**

Die zur Versuchsdurchführung verwendeten Kanichen gehörten der Rasse Weiße Neuseeländer an. Die Tiere stammten aus homogenen Zuchten, so dass bei diesen Tieren ein individueller Vergleich sehr gut möglich war. Lieferant der Tiere war die Versuchstierzucht HaarlanWinkelmann, USA.

Die Tiere waren männlich und wogen 2,5 - 3,5kg .

Sie wurden einzeln in Käfigen unter konstanten, kontrollierten Bedingungen gehalten: Temperatur 19-22°C, Luftfeuchtigkeit 50-55%, Helldunkelrhythmus 6-18 Uhr hell, 18-6 Uhr dunkel.

Futter (Altromin Standardfutter Kaninchen, Fa. Altrogge, Lage) und Wasser wurden den Tieren ad libitum angeboten.

#### **3.2 Versuchsplan**

Das Regierungspräsidium in Darmstadt hat das Versuchsvorhaben gemäß §8 des Tierschutzgesetzes unter dem Aktenzeichen H1-4a/44 zugelassen.

Zur Untersuchung der Effekte von Ramipril und Metoprolol am herzinsuffizienten Kaninchen wurden vier Gruppen gebildet: Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Gabe von Ramipril begann am 3.Tag über das Trinkwasser in einer Dosierung von 1 mg/kg KGW/d. Die Behandlung mit Metoprolol begann am Tag der initialen Operation mittels einer subkutan implantierten osmotischen Minipumpe mit einer Dosis von 0,35 mg/kg KGW/d.

Die Abb. zeigt den zeitlichen Ablauf der Studie. In der dritten, achten und elften postoperativen Woche wurden die Tiere unter Narkose mittels Echokardiografie untersucht.

In der zwölften postoperativen Woche wurden die abschließenden Untersuchungen an den Tieren vorgenommen. Hierbei wurden verschiedene hämodynamische Parameter invasiv gemessen. Zudem wurde ihnen Blut zur Bestimmung von pro-ANP abgenommen. Nach Abschluss der Messungen wurde das Herz entnommen

In Abbildung 2 ist das Versuchsprotokoll dieser Studie grafisch dargestellt.

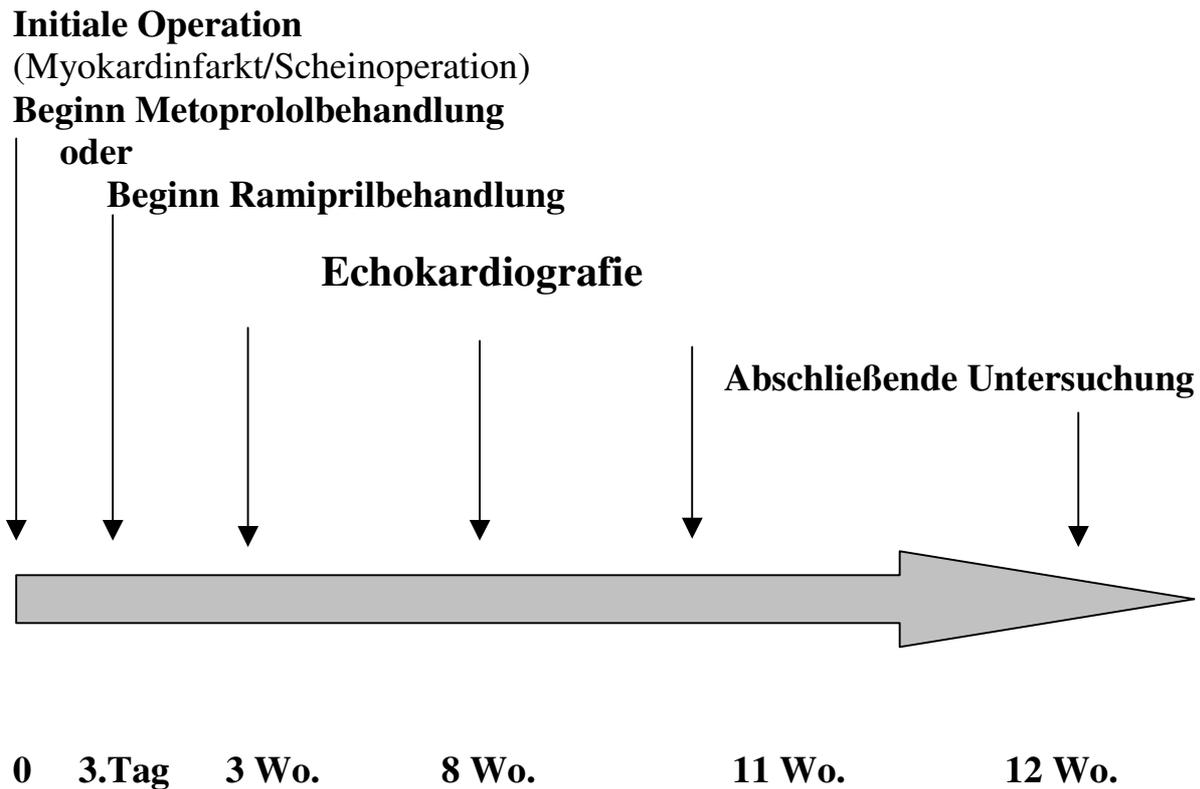


Abb.2: Verlaufsplan der Studie mit Zeitpunkten der Behandlung und der Untersuchungen

### 3.3 Substanzen

#### 3.3.1 Ramipril

Bei Ramipril handelt es sich um eine Substanz der zweiten Generation aus der Klasse der ACE-Hemmer. Die chemische Bezeichnung ist: 2-[N-[(S)-1-Ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl]-L-alanyl]-(1S,3S,5S)-2-azabicyclo [3.3.0] octane-3-Carboxylsäure.

Die Substanzklasse der ACE-Hemmer hemmt die Spaltung des inaktiven Angiotensin I zum aktiven Angiotensin II, was durch das Angiotensin-Konversions-Enzym katalysiert wird. Die Hemmung erfolgt durch Bindung mit einer Carboxylgruppe an das Zink im aktiven Zentrum des Enzyms.

Ramipril gehört zu den Prodrugs und wird im Körper zu dem biologisch aktiven Metaboliten Ramiprilat hydrolysiert. In der klinischen Anwendung beim Patienten erfolgt die Gabe oral. Die anschließende Resorption erfolgt rasch und mit einer Rate von mindestens 55% (Eckert et al. 1984). Die Halbwertszeit von Ramipril ist sehr lang, so dass die einmalige tägliche Gabe beim Patienten ausreicht, um einen

ausreichend hohen Wirkspiegel zu erreichen. Die Ausscheidung des resorbierten Anteils erfolgt zum größten Teil renal.

### 3.3.2 Metoprolol

Metoprolol gehört zu der Substanzklasse der  $\beta$ -Adrenorezeptorblocker. Seine chemische Bezeichnung lautet: (1-[Isopropylamino]-3-[p-( $\beta$ -methoxyethyl)phenoxy]-2-propanol) Tartrat. Es handelt sich um einen  $\beta_1$ -selektiven  $\beta$ -Blocker, welche eine höhere Affinität zu  $\beta_1$ - als zu  $\beta_2$ -Rezeptoren besitzen. Diese Selektivität ist zumeist aber nur relativ und geht bei höheren Dosierungen verloren.

Hinsichtlich der Pharmakokinetik ist die Lipophilie von Metoprolol von Bedeutung. Lipophile  $\beta$ -Blocker werden sehr rasch und fast vollständig resorbiert und weisen meist einen sehr starken First-pass Effekt auf. Auch die Halbwertszeit ist bei lipophilen  $\beta$ -Blocker kürzer und liegt bei Metoprolol bei ca. 3-4 Stunden.

Metoprolol wird in der klinischen Anwendung oral dem Patienten verabreicht. Eine Einmalgabe reicht aus, um einen ausreichend hohen Wirkspiegel aufrechtzuerhalten.

## 3.4 Methoden

### 3.4.1 Experimenteller Myokardinfarkt

#### *Chirurgisches Instrumentarium:*

Das gesamte Operationsbesteck wurde von der Firma Aesculap, Tuttlingen bezogen.  
1 Nadelhalter nach Mathieu; 1 Wundspreizer nach Weitlaner; 1 chirurgische Pinzette, 1 anatomische Pinzette, 1 Nadelhalter nach Hegar-Mayo; 1 Arterienklemme; 2 Präparierscheren; 1 feine Schere

#### *Nahtmaterial:*

Das gesamte Nahtmaterial wurde von der Firma Ethicon, Norderstedt bezogen

- 5/0 Prolene monofil für Gefäßligatur
- 0 Vicryl geflochten für Muskelnähte
- 0 Mersilene geflochten für Hautnaht

Zur Intubation wurde eine Ultrakurzarkose mit 20 bis 30 mg/kg Körpergewicht Propofol 1%ig (Disoprivan®, Fa. AstraZeneca, Caponoga, Italien) vorgenommen.

Nach Narkoseeintritt wurden die Tiere auf einem Kleintieroperationstisch (Heiland Vet GmbH, Hamburg ) in Rückenlage gebracht und mit einem Trachealtubus (Willy Rüscher AG, Kernen) intubiert. Anschließend wurden die Tiere auf der rechten Seite gelagert. Die Beatmung erfolgte über eine Atempumpe (NEMI Scientific, Medway, USA) mit reinem Sauerstoff und 5% Sevofluran (SEVOrane®, Abbott GmbH, Wiesbaden), das entspricht ca. 1,5 MAC (minimale alveoläre Narkotikumkonzentration bei 1atm). Das Atemvolumen wurde je nach Größe des Kaninchens auf 25 bis 30 ml und die Atemfrequenz auf 28 bis 33 Züge/min eingestellt.

Die Kontrolle der Atemgase erfolgte über einen Atemgasmonitor (5250 RGM, Fa. Datex-Ohmeda, Louisville USA).

In dem Bereich der nachfolgenden lateralen Thorakotomie im dritten Interkostalraum wurde die Haut geschoren, gereinigt und mit einem Antiseptikum desinfiziert.

Circa 1cm caudal des Ellenbogengelenkes wurde ein ca. 5 cm langer Schnitt mit dem Skalpell in dorsoventraler Richtung gelegt. Die oberflächliche und tiefe Pectoralmuskulatur wurde mittels eines Kauters durchtrennt. Nach Eröffnung der Brusthöhle und Spreizung der Rippen mittels eines Wundspreizers wurde vorsichtig das Perikard mit einer Präparierschere eröffnet. Der linke Teil der Lunge wurde mit einem Tupfer aus dem Operationsfeld in den Thorax gedrückt. Nun erfolgte die Ligatur des absteigenden Astes der A. coronaria sinistra etwa 2-5 mm distal des linken Herzohres. Nach Abbinden des Gefäßes wurde für 15 min abgewartet, um bei etwaig auftretendem Kammerflimmern das Herz zu defibrillieren. Anschließend wurde der Tupfer wieder entnommen und die Lunge für 2 Atemzüge überbläht. Der Thorax wurde durch Adaption der dritten und vierten Rippe mittels zweier Knopfnähte mit resorbierbarem Faden während der Inspiration verschlossen. Mit dem gleichen Nahtmaterial wurde anschließend die Pektoralmuskulatur mit Knopfnähten adaptiert.

Danach wurde die Haut mit Knopfnähten mit nichtresorbierbarem Faden verschlossen. Nach Verschluss der Haut wurde das Inhalationsnarkotikum abgedreht, und nach Kontrolle des Schluckreflexes wurden die Tiere extubiert. Die Op-Wunde wurde zur besseren Wundheilung mit Mirfulan Spray N (Fa. Merckle, Blaubeuren) besprüht, sterile Wundgaze wurde mittels Klebestreifen auf der Wunde fixiert.

Die Tiere wurden analgetisch mit 20 mg/kg KGW Novalgin (Fa. Hoechst Roussel Vet, Unterschleißheim) i.m. und antibiotisch mit 15 mg/kg KGW Terramycin (Fa. Pfizer, Karlsruhe) s.c. für 2 Tage versorgt.

Bei den Tieren aus der Gruppe der Scheinoperierten wurden mit Ausnahme der Ligatur der Arterie die gleichen chirurgischen Maßnahmen durchgeführt.

Bei den Tieren, die zufällig für die Behandlung mit Metoprol ausgesucht wurden, wurde im Anschluss der OP eine osmotische Pumpe (alzet® osmotic pump, alza corporation Palo Alto, USA) subcutan eingesetzt. Es erfolgte im Nackenbereich ein ca. 3cm langer Hautschnitt. Anschließend wurde durch stumpfes Spreizen eine subcutane Hauttasche gebildet, in die die Pumpe eingesetzt wurde. Der Hautschnitt wurde mit nichtresorbierbaren Faden verschlossen.

Nach 8-10 Tagen wurden die nichtresorbierbaren Fäden der Thoraxwunde und der Wunde im Nackenbereich gezogen.

### 3.4.2 Bestimmung des Körpergewichtes

Das Körpergewicht der Tiere wurde am Tag der Operation, nach 3, 8, 11 Wochen und am Tag der abschließenden Untersuchung gemessen.

### 3.4.3 Blutuntersuchungen

#### 3.4.3.1 Durchführung der Blutentnahme

Den Tieren wurde nach 12 Wochen ca. 2-3ml Blut aus der A.auricularis entnommen. Verwendet wurden EDTA-Plasmaröhrchen. Direkt nach Entnahme wurde das Blut zentrifugiert, das Plasma abpipettiert und zur späteren Untersuchung tiefgefroren.

#### 3.4.3.2 proANP Bestimmung

Das Prohormon ANP wird zum Zeitpunkt seiner Freisetzung in das biologisch aktive  $\alpha$ -ANP und den N-terminalen Teil von 98 Aminosäuren, das proANP, gespalten.  $\alpha$ -ANP bindet an spezifische Rezeptoren und hat deshalb nur eine sehr kurze Halbwertszeit. proANP zirkuliert deutlich länger und spiegelt somit wesentlich besser die Gesamtmenge des sezernierten ANP wieder. Der hier verwendete Sandwichenzymimmunoassay (Biomedica Wien, Österreich) misst proANP direkt in biologischen Flüssigkeiten. Ein für proANP spezifischer Antikörper ist an die Mikrotiterplatte gebunden, auf welche die Probe pipettiert wird. Anschließend wird ein mit Biotin markierter Detektionsantikörper aufgetragen. Durch eine enzymkatalysierte Farbreaktion kann proANP mit einem Mikrotiterplattenphotometer sichtbar gemacht werden, wobei die Farbentwicklung direkt proportional zu der Konzentration von proANP in der Probe ist.

### 3.4.4 Echokardiografie

#### 3.4.4.1 Methodik

Die Echokardiografie ist eine Ultraschalluntersuchung des Herzens mit Messung und Darstellung von Herzmuskelfunktion und Herzklappen. Sie bietet sich als nichtinvasive Methode in der kardiologischen Diagnostik an und erlaubt die Dokumentation des Verlaufes einer Herzerkrankung.

Unter Ultraschall versteht man Schallwellen, deren Frequenz über 20000 Hz liegt. Die Frequenz, des in der Kardiologie angewandten diagnostischen Ultraschalls, liegt zwischen 1-10 MHz.

Erzeugt wird der Ultraschall durch einen piezoelektrischen Kristall, der im Schallkopf sitzt. Durch einen elektrischen Spannungsimpuls wird der Kristall in Schwingungen versetzt, woraufhin Schallwellen erzeugt werden. Treffen diese Ultraschallimpulse auf eine Übergangszone zweier Medien mit unterschiedlicher akustischer Impedanz, wird ein Teil der Ultraschallwellen reflektiert, wobei Knochen und freie Luft eine komplette Reflektion hervorrufen.

Die auf den Kristall einfallenden Schallwellen, die vom Gewebe reflektiert werden, versetzen diesen in Schwingungen, wobei an der Oberfläche des Kristalles die dabei entstehende Wechsellspannung abgegriffen werden kann. Der Schallkopf dient sowohl als Sender als auch als Empfänger.

Da die Fortleitungsgeschwindigkeit in den Weichteilen annähernd konstant ist, besteht eine Proportionalität zwischen der Laufzeit des Impulses und der Distanz zwischen Schallkopf und reflektierender Fläche.

Die zurückkehrenden Echos verändern während der Herzaktion ihre Laufzeit infolge der Bewegung der angeschallten Herzstrukturen vom Schallkopf weg oder auf diesen zu. Diese Veränderungen werden als Weg-Zeit-Kurve erfasst und als Echokardiogramm M-Mode (von motion-display) bezeichnet. Die M-Mode Echokardiografie dient besonders zur quantitativen Bestimmung von Ventrikel- und Vorhofgröße sowie Wanddicken.

Bei der zweidimensionalen Echokardiografie wird dieselbe Methode benutzt, allerdings wird der Schallstrahl noch zusätzlich in einer Ebene hin- und herbewegt. Dies geschieht durch eine mechanische sektorförmige oder lineare Bewegung des Kristalls im Schallkopf. Dadurch ist die Anfertigung eines Schnittbildes des Herzens möglich, wobei die Schnittebene des Schallstrahls den diagnostisch wichtigen Herzstrukturen angepasst wird.

In der 2D-Echokardiografie ist sowohl die qualitative Beurteilung der Bewegungsabläufe des Herzens als auch eine quantitative Bestimmung von Größenverhältnissen möglich.

Unter dem Dopplereffekt versteht man die Veränderung des Frequenz eines Tonsignals bei relativer Bewegung von Tonquelle und Tonempfänger. Dopplersignale werden bei der echokardiografischen Untersuchung durch Reflexionen von Ultraschall an bewegten Strukturen, hauptsächlich an Erythrozyten, erzeugt. Beim gepulsten Doppler werden abwechselnd Schallsignale gesendet und empfangen, was eine Zuordnung hinsichtlich der Tiefe, aus der die Dopplerverschiebung kommt, ermöglicht. Damit ist noch zusätzlich der Aufbau eines 2D-Bildes möglich. Durch die Spektraldarstellung beider Verfahren kann neben der qualitativen auch eine quantitative Beurteilung des Blutflusses vorgenommen werden.

Für die Untersuchungen wurde ein kommerziell erhältliches Ultraschallsystem (HDI® 3000, ATL, Solingen) benutzt. Verwendet wurde ein 5-8 MHz Schallkopf.

Alle Messungen und Aufnahmen in M-Mode, 2D und Doppler Modus wurden über ein spezielles Datenverarbeitungsprogramm (SonoWin®-2000, MESO Ingenieurbüro, Mittweida) auf Computer abgespeichert. Ausserdem wurden die Daten auf Papier ausgedruckt.

Die Untersuchungen erfolgten alle transthorakal.

#### 3.4.4.2 Durchführung der Echokardiografie

Die Kaninchen wurden unter leichter Narkose geschallt. Dafür wurde eine Kombinationslösung aus 10mg/kg KGW Xylazin (Rompun®, BayerVital, Leverkusen) und 50mg/kg KGW Ketamin (Hostaket®, Intervet GmbH, Unterschleissheim) intramuskulär injiziert. Anschließend wurden die Tiere in Rückenlage gelagert und die ventrale Fläche des Thorax rasiert. Ultraschallgel wurde aufgebracht und die Untersuchung durchgeführt.

#### 3.4.4.2.1 M-Mode Messungen

Der Schallkopf wurde rechtsseitig parasternal aufgesetzt und die Messung in der kurzen Achse auf halber Höhe des linken Ventrikels im Bereich der Papillarmuskeln durchgeführt.

Gemessen wurden:

- linksventrikulärer endsystolischer Diameter (LVDes)
- linksventrikulärer enddiastolischer Diameter (LVDeD)
- Wanddicke des interventrikulären Septums enddiastolisch (IVSed)
- Dicke der posterioren Wand des linken Ventrikels enddiastolisch (PWed)

#### 3.4.4.2.2 2D-Echokardiografie

Zur Messung in der langen Achse wurde individuell bei jedem Tier unterschiedlich der Schallkopf rechts-oder linksseitig parasternal aufgesetzt.

Gemessen wurden:

- Fläche des linken Ventrikels diastolisch, lange Achse (AIVes, long axis)
- Fläche des linken Ventrikels systolisch, lange Achse (AIVed, long axis)

#### 3.4.4.2.3 Dopplerechokardiografie

Zur Messung der Flussparameter in der Aorta wurde der Schallkopf individuell bei jedem Tier unterschiedlich rechts-oder linksseitig parasternal aufgesetzt und die Messung im Bereich des Bulbus aortae durchgeführt.

Gemessen wurden:

- Zeitdauer einer Flussspitze, gemessen an der Basis von Beginn des Anstieges bis Ende des Abstieges (LVET)
- Herzfrequenz

Zur Messung der Flussparameter an der Mitralklappe wurde der Schallkopf substernal in dorsokranieler Richtung mit einem Winkel von ca. 45° aufgesetzt. In diesem apikalen sogenannten Vierkammerblick wurde direkt hinter den Zipfeln der Mitralklappe der Blutfluss gemessen.

Gemessen wurden:

- Geschwindigkeit der frühdiastolischen Füllungswelle (E für early)
- Geschwindigkeit der spätdiastolischen Füllungswelle (A für atrial)
- E/A Ratio
- Dezelerationszeit der frühdiastolischen Füllungswelle (DeccT)

Zur Bestimmung des Herzzeitvolumens (HZV) wurde der Blutfluss in der A.pulmonalis sowie deren Durchmesser im Messbereich in der langen Achse bestimmt. Hierzu erfolgte die Andockung des Schallkopfes linksseitig parasternal.

Aus den gemessenen Werten wurden noch folgende Parameter rechnerisch bestimmt.

- *Auswurffraktion des linken Ventrikels in der langen Achse (EF long axis)*

$$EF\% \text{ long axis} = (Aed - Aes) / Aed \times 100$$

- *Vcf (Velocity of circumferential fiber shortening)*

$$VcF = (LVDed - LVDes) / LVDed \times 1000 / LVET$$

- *Fractional Shortening (FS)*

$$FS\% = (LVDed - LVDes) / LVDed \times 100$$

### 3.4.5 Abschließende Untersuchung

#### 3.4.5.1 Messung der hämodynamischen Parameter

Die Messung der hämodynamischen Parameter erfolgte unter Narkose.

Zur Intubation wurde eine Ultrakurzarkose mit 20 bis 30 mg/kg KGW Propofol 1%ig (Fa. AstraZeneca, Caponoga, Italien) vorgenommen.

Nach Narkoseeintritt wurden die Tiere auf einem Kleintieroperationstisch (Heiland Vet GmbH, Hamburg) in Rückenlage gebracht und mit einem Trachealtubus (Willy Rüscher AG, Kernen) intubiert. Anschließend wurden die Tiere auf der rechten Seite gelagert und über eine Atempumpe (NEMI Scientific, Medway, USA) mit Sauerstoff und 5% Sevofluran (SEVOrane®, Abbott GmbH, Wiesbaden) beatmet. Das Atemvolumen wurde je nach Größe des Kaninchens auf 25 bis 30 ml und die Atemfrequenz auf 28 bis 33 Züge/min eingestellt. Die Kontrolle der Atemgase erfolgte über einen Atemgasmonitor (5250 RGM, Fa. Datex-Ohmeda, Louisville USA).

Anschließend wurde ein ca. 6 cm grosser medianer Hautschnitt entlang ventralen Halsseite geführt und die V.jugularis dextra freipräpariert. Die Vene wurde inzidiert

und ein Mikrokatheter aus Polyethylen (Fa. Vygon) eingeführt. Dieser wurde zwecks intravenöser Substanzgabe mit einer 50ml-Spritze in einem Perfusor (Fa. B. Braun, Melsungen) verbunden.

Danach erfolgte das Freipräparieren der A.carotis sinistra. Diese wurde inzisiert und ebenfalls ein Mikrokatheter aus Polyethylen eingeführt, der mit 0,9%iger Natriumchloridlösung gefüllt und mit einem Druckmessdom verbunden war.

Anschließend wurde ein ca. 10cm langer medianer Hautschnitt entlang der ventralen Brustwand geführt und das Brustbein median der Länge nach durchtrennt und der Brustkorb aufgespreizt.

Die Aorta wurde an ihrem Ursprung an der Herzbasis freipräpariert und ein Flussmesskopf Transonic® Flowprobe (Fa. Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten) angelegt. Dieses System misst mittels Schallwellen den Durchfluss im Gefäß.

Das linke Herzohr wurde im ventralen Randbereich inzisiert und ein Millar® Mikro Tip® Katheter der Stärke 4F (Fa. Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten) eingeführt und bis in den linken Ventrikel vorgeschoben.

Beide Druckkatheter und der Flussmesskopf waren mit einem Druckumwandler (Biopac Systems, Santa Barbara, USA) verbunden, der den Blutdruck in elektrische Signale umwandelte und diese an ein elektronisches Differenzierungssystem Plugsys (Fa. Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten) weiterleitete, dessen analoge Signale digitalisiert und mit Hilfe einer geeigneten Software (Aqknowledge) verarbeitet und gespeichert wurden.

Nach vollständiger Instrumentierung wurde fünfzehn Minuten abgewartet, damit sich die Tiere von der chirurgischen Manipulation erholen konnten.

Dann erfolgte für 30 Sekunden die Messung folgender Parameter:

- systemischer Blutdruck (BP)
- linksventrikulärer Druck (LVP)
- enddiastolischer linksventrikulärer Druck (LVedP)
- Parameter der Kontraktilität (dP/dt min, dP/dt max)
- Aortenfluss (AF)
- Herzfrequenz (HR)

#### 3.4.5.2 Herzentnahme, Herzgewichtsbestimmung

Nach Beendigung der Messungen wurde das Herz entnommen. Fett und Bindegewebe im Bereich der Basis wurden wegpräpariert und das ganze Herz gewogen. Danach wurden die Vorhöfe und der rechte Ventrikel abgetrennt, wobei das Septum am linken Ventrikel blieb. Dieser wurde anschließend gewogen.

#### 3.4.5.3 Bestimmung der Infarktgröße

Nach dem Wiegen wurde der linke Ventrikel im Septum von der Basis bis zur Spitze aufgeschnitten und aufgeklappt. Die Innenseite wurde in einer Petrischale fotografiert. Mittels eines Bildanalyseprogramms (Leica Qwin, Leica Imaging Systems, Cambridge, Großbritannien) wurden Gesamtfläche und Infarktfläche planimetrisch ermittelt. Die Infarktgröße wurde als prozentualer Anteil der Infarktfläche an der Gesamtfläche angegeben.

Anschließend wurde der linke Ventrikel in 2 Proben geteilt und jeweils eine Probe wurde in 4%igem Formalin fixiert und eine in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert.

### **3.5 Statistische Auswertung**

Die Einzelwerte der Tiere wurde zu Gruppenwerten zusammengefasst. Es erfolgte die Berechnung des Mittelwertes (MW) und des mittleren Fehlers des Mittelwertes (SEM). Mithilfe des Computerprogrammes SigmaStat wurden die Ergebnisse auf signifikante Unterschiede hin untersucht. Dies erfolgte mit einem one-way ANOVA und anschliessendem Dunnett Test. Als signifikant wurde Unterschiede mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  gewertet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Überlebensraten und Gruppengrößen

Für diese Studie wurden insgesamt 66 Tiere operiert. Von diesen Tieren überlebten 49 bis zur abschließenden invasiven Untersuchung. Dies entspricht einem Prozentsatz von 74,2%. Der überwiegende Teil der verstorbenen Tiere entwickelte ein nicht zu terminierendes Herzflimmern direkt nach Koronarligatur oder verstarb in den folgenden 24 Stunden.

Von den 49 Tieren in der Abschluss-OP wurden 11 Tiere aufgrund von Komplikationen während der chirurgischen Präparation (unstillbare Blutungen, starke Verklebungen, Narkosezwischenfälle) oder wegen zu kleiner Infarkte (<30%) nicht ausgewertet.

Die Einteilung der infarzierten Tiere in die ramiprilbehandelte Gruppe, die metoprololbehandelte Gruppe und in die Kontrollgruppe erfolgte zufällig.

In den Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Metoprolol und Infarkt/Ramipril kamen jeweils 9 Tiere in die Gesamtauswertung, in der Gruppe Infarkt/Kontrolle waren es 11 Tiere.

### 4.2 Körper- und Herzgewichte

Die Körpergewichte (KG) der Tiere unterschieden sich zum Zeitpunkt der initialen Operation nicht signifikant voneinander. Das durchschnittliche Körpergewicht lag bei  $2,93 \pm 0,05$  kg KG. Auch in der achten und elften Woche post OP gab es keine signifikanten Unterschiede im Körpergewicht zwischen den einzelnen Gruppen.

Zum Zeitpunkt der abschließenden Untersuchung in der zwölften Woche unterschied sich das durchschnittliche Körpergewicht der infarzierten Kontrollgruppe ( $3,49 \pm 0,09$  kg KG) und der Gruppen Scheinoperiert ( $3,37 \pm 0,11$  kg KG) nicht signifikant voneinander. Auch das durchschnittliche Körpergewicht der Gruppe Infarkt/Metoprolol ( $3,42 \pm 0,14$  kg KG) zeigte keinen signifikanten Unterschied zu den anderen Gruppen. Das Durchschnittskörpergewicht der ramiprilbehandelten Tiere ( $3,08 \pm 0,08$  kg KG) war jedoch signifikant niedriger als das der infarzierten Kontrolltiere.

Zwischen den Herzgewichten ergaben sich ebenfalls signifikante Unterschiede. Das durchschnittliche Herzgewicht der infarzierten Kontrollgruppe ( $10,98 \pm 0,23$  g) lag signifikant über dem der scheinoperierten Tiere ( $8,26 \pm 0,37$  g). Das Herzgewicht der metoprololbehandelten Infarktgruppe ( $10,01 \pm 0,50$  g) war ebenfalls signifikant höher als das der scheinoperierten Tiere. Hingegen unterschied sich das durchschnittliche Herzgewicht der mit Ramipril behandelten Tiere ( $8,8 \pm 0,28$  g) sich nicht von dem der Scheinoperierten. Des weiteren hatten die mit Ramipril behandelten Tiere ein

signifikant niedrigeres Herzgewicht im Vergleich zur Infarkt/Kontrollgruppe. Die Herzgewichte sind in Abbildung 3 grafisch dargestellt.

Das Gewicht des linken Ventrikels der Infarkt-Kontrollgruppe ( $5,18 \pm 0,13$  g) war gering jedoch statistisch nicht signifikant höher als das der Scheinoperierten ( $4,87 \pm 0,20$  g). Das durchschnittliche Gewicht des linken Ventrikels der mit Ramipril behandelten Tiere ( $4,32 \pm 0,14$  g) war signifikant geringer im Vergleich zu den Infarktkontrolltieren. Unter der Behandlung mit Metoprolol kam es zu einem leichten Anstieg des linksventrikulären Gewichts ( $4,96 \pm 0,21$  g) gegenüber den scheinoperierten Tiere. Das Verhältnis zwischen Gewicht des linken Ventrikels und des Körpers zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier Gruppen (Tabelle 1).

Die infarzierten Kontrolltiere wiesen ein signifikant höheres Verhältnis zwischen Herz- zu Körpergewicht gegenüber den Scheinoperierten auf. Gegenüber der infarzierten Kontrollgruppe führte die Behandlung mit Ramipril oder Metoprolol zu einer signifikanten Verminderung im Verhältnis Herz- zu Körpergewicht

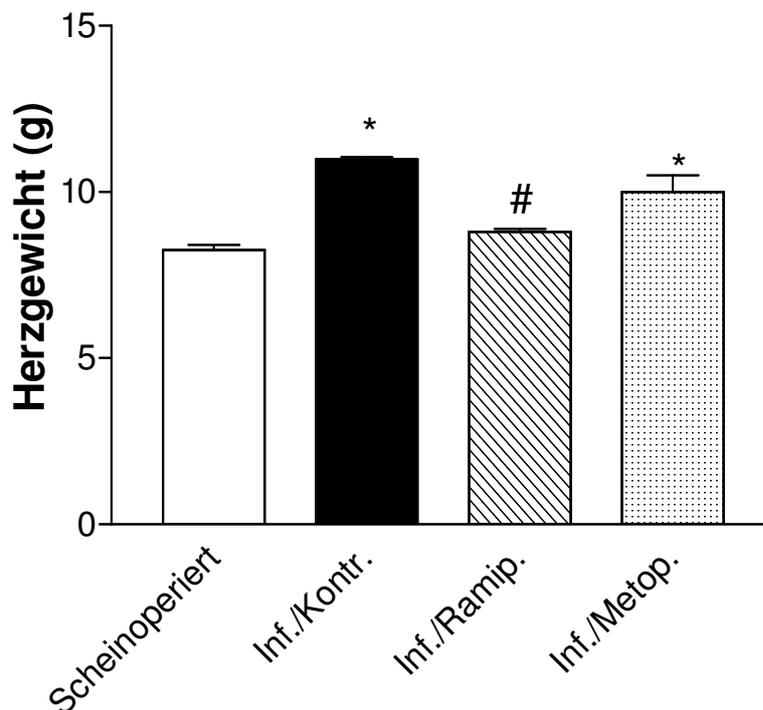


Abb.3: Herzgewichte der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol nach 12 Wochen. Die Werte sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt (\*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert, #:  $p < 0,05$  vs. Inf./Kontr.).

	Scheinoperiert	Infarkt/Kontr.	Infarkt/Ramip.	Infarkt/Metop.
<b>HG/KG (g/kg)</b>	2,45 ± 0,08	3,14 ± 0,10 *	2,87 ± 0,11 *	2,95 ± 0,15 *
<b>LVG/KG (g/kg)</b>	1,45 ± 0,01	1,48 ± 0,01	1,41 ± 0,04	1,46 ± 0,05

Tab.1: HG/KG Ratio und LVG/KG Ratio der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol nach 12 Wochen. Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt. (\*: p< 0,05 vs. Scheinoperiert)

### 4.3 Infarktgrösse

Bei der planimetrischen Bestimmung der Infarktgröße wiesen die Tiere der Infarktkontrollgruppe eine durchschnittliche Infarktgröße des linken Ventrikels von  $37,7 \pm 1,5 \%$  auf. Die Behandlung mit Ramipril ( $40,1 \pm 1,2 \%$ ) und Metoprolol ( $38,3 \pm 1,9 \%$ ) hatte keinen Einfluss auf die Infarktgröße.

Abbildung 4 zeigt den infarzierten linken Ventrikel eines Herzens mit einer Infarktgröße zwischen 30 und 40%.

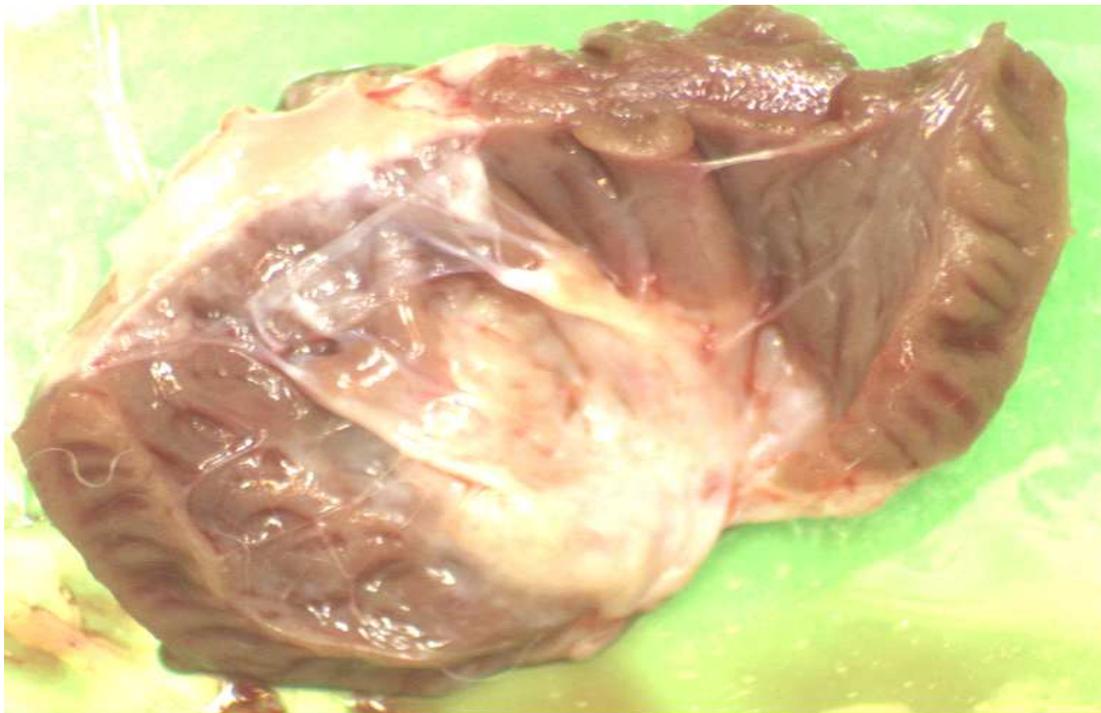


Abb.4: Beispielhaft ein infarzierter linker Ventrikel nach 12 Wochen

## 4.4 Ergebnisse der Echokardiografie

### 4.4.1 Morphologische Parameter

Die in M-Mode gemessenen Parameter beschreiben die Geometrie des Ventrikels. Besondere Aussagekraft besitzen hierbei die Durchmesser des linken Ventrikels in Diastole und Systole. Weiterhin sind Daten über die Wanddicke des linken Ventrikels in der Diastole aufgeführt.

Der enddiastolische und -systolische Durchmesser des linken Ventrikels vergrößerte sich bei den infarzierten Kontrolltieren bereits nach 3 Wochen signifikant gegenüber den Scheinoperierten. Die Vergrößerung des Ventrikels war progressiv und schritt bei der infarzierten Kontrollgruppe voran, so dass nach elf Wochen die Unterschiede zu den scheinoperierten Tieren hochsignifikant waren (Tabellen 2-4, Abbildung 5). Die linksventrikulären Durchmesser der mit Metoprolol und Ramipril behandelten Tieren waren ebenfalls in der dritten Woche signifikant gegenüber den Scheinoperierten erhöht. Dieser signifikante Unterschied blieb bei der Metoprololgruppe auch in der achten und elften Woche bestehen. Ab der achten Woche waren jedoch die gemessenen Durchmesser der Ramiprilgruppe signifikant geringer als die der infarzierten Kontrollgruppe. Trotz Behandlung blieb allerdings eine signifikante Durchmesserzunahme gegenüber den Scheinoperierten über den gesamten Zeitraum bestehen (Tabellen 2-4, Abbildung 5).

Die Größe des Ventrikels der Scheinoperierten blieb über die elf Wochen annähernd gleich. Hier war nur eine minimale Vergrößerung des Ventrikels festzustellen.

Die Dicke der Septumwand des linken Ventrikels zeigten im Verlauf der elf Wochen keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier Gruppen. Die Hinterwand verdickte sich allerdings in der infarzierten Ramiprilgruppe nach der dritten und achten Woche signifikant gegenüber der infarzierten Kontrollgruppe und der Gruppe der Scheinoperierten (Tabellen 2-4).

*Untersuchung nach 3 Wochen*

	<b>LVDed (cm)</b>	<b>LVDsys (cm)</b>	<b>LVSed (cm)</b>	<b>PWDed (cm)</b>
<b>Scheinoperiert</b>	1,45 ± 0,07	0,94 ± 0,06	0,24 ± 0,01	0,23 ± 0,01
<b>Infarkt/Kontrolle</b>	1,81 ± 0,06 *	1,27 ± 0,05 *	0,26 ± 0,01	0,23 ± 0,01
<b>Infarkt/Ramipril</b>	1,72 ± 0,04 *	1,16 ± 0,02 *	0,25 ± 0,01	0,28 ± 0,02 **
<b>Infarkt/Metop.</b>	1,75 ± 0,08 *	1,23 ± 0,07 *	0,23 ± 0,01	0,28 ± 0,02

Tab.2: Linksventrikulärer enddiastolischer (LVDed) und endsystolischer Durchmesser (LVDsys), linksventrikuläre enddiastolische Dicke des Septums (LVSed) und der Hinterwand (PWDed) gemessen in M-Mode der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol nach 3 Wochen. Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt. (\*: p< 0,05 vs. Scheinoperiert, #: p< 0,05 vs. Infarkt/Kontrolle)

*Untersuchung nach 8 Wochen*

	<b>LVDed (cm)</b>	<b>LVDsys (cm)</b>	<b>LVSed (cm)</b>	<b>PWDed (cm)</b>
<b>Scheinoperiert</b>	1,54 ± 0,06	1,0 ± 0,06	0,23 ± 0,01	0,22 ± 0,01
<b>Infarkt/Kontrolle</b>	1,93 ± 0,06 *	1,45 ± 0,05 *	0,22 ± 0,02	0,23 ± 0,01
<b>Infarkt/Ramipril</b>	1,74 ± 0,05 **	1,21 ± 0,04 **	0,25 ± 0,02	0,28 ± 0,01 **
<b>Infarkt/Metop.</b>	1,86 ± 0,06 *	1,28 ± 0,06 *	0,27 ± 0,01 #	0,3 ± 0,02 **

Tab.3: Linksventrikulärer enddiastolischer (LVDed) und endsystolischer Durchmesser (LVDsys), linksventrikuläre enddiastolische Dicke des Septums (LVSed) und der Hinterwand (PWDed) gemessen in M-Mode der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol nach 8 Wochen. Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt. (\*: p< 0,05 vs. Scheinoperiert, #: p< 0,05 vs. Infarkt/Kontrolle)

*Untersuchung nach 11 Wochen*

	<b>LVDed (cm)</b>	<b>LVDsys (cm)</b>	<b>LVSed (cm)</b>	<b>PWDed (cm)</b>
<b>Scheinoperiert</b>	1,52 ± 0,05	0,97 ± 0,05	0,26 ± 0,02	0,25 ± 0,02
<b>Infarkt/Kontrolle</b>	1,97 ± 0,08 *	1,43 ± 0,06 *	0,27 ± 0,02	0,24 ± 0,02
<b>Infarkt/Ramipril</b>	1,71 ± 0,05 #	1,21 ± 0,04 *#	0,26 ± 0,01	0,26 ± 0,02
<b>Infarkt/Metop.</b>	1,87 ± 0,06 *	1,31 ± 0,04 *	0,26 ± 0,01	0,26 ± 0,01

Tab.4: Linksventrikulärer enddiastolischer (LVDed) und endsystolischer Durchmesser (LVDsys), linksventrikuläre enddiastolische Dicke des Septums (LVSed) und der Hinterwand (PWDed) gemessen in M-Mode der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol nach elf Wochen. Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt. (\*: p< 0,05 vs. Scheinoperiert, #: p< 0,05 vs. Infarkt/Kontrolle)

## Zeitlicher Verlauf des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers

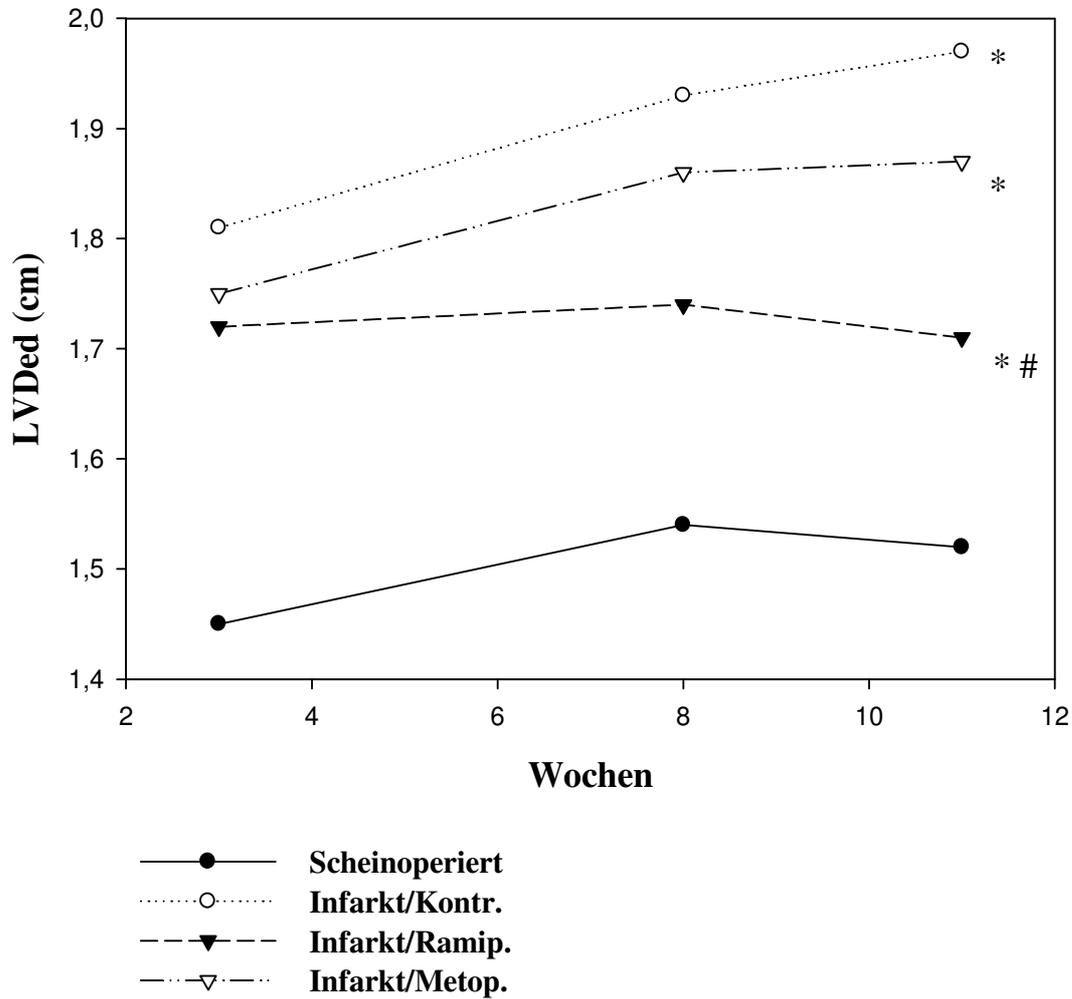


Abb.5: Der enddiastolische Durchmesser des linken Ventrikels (LVDed) im Verlauf über 11 Wochen nach Koronarligatur in den Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/ Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als MW dargestellt. (\*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert, #:  $p < 0,05$  vs. Infarkt/Kontrolle)

#### 4.4.2 Parameter der linksventrikulären systolischen Funktion

In den Tabellen 5-7 sind echokardiografische Parameter wie Fractional Shortening (FS), Velocity of circumferential fiber shortening (Vcf), Herzzeitvolumen (HZV) und Auswurffraktion in der langen Achse (EF l.a.) zu den Zeitpunkten 3, 8 und 11 Wochen nach Initial-OP aufgelistet, welche eine Aussage über die systolische Funktion des linken Ventrikels erlauben.

Bereits drei Wochen nach OP zeigte sich bei den infarzierten Kontrolltieren eine signifikante Verschlechterung in den systolischen Parametern und Indizes (FS, Vcf, HZV und EF l.a.) im Vergleich zu den scheinoperierten Tieren. Die Verschlechterung schritt in der achten und elften Woche fort, so dass die Werte über den gesamten Untersuchungszeitraum signifikant unter denen der scheinoperierten Tiere blieben.

Unter der Behandlung mit Ramipril kam es zu einer signifikanten Verbesserung des HZV über den gesamten Beobachtungszeitraum. Ausserdem wurde die Vcf und die EF l.a. durch die Behandlung mit Ramipril verbessert, jedoch nicht über den gesamten Untersuchungszeitraum (Tabelle 5-7). Im Gegensatz zu Ramipril verbesserte Metoprolol nur in der Anfangsphase nach Op die systolische Funktion in den infarzierten Tieren. So war das HZV nach 3 Wochen und die Vcf nach 8 Wochen signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe verbessert (Tabellen 5-7).

##### *Untersuchung nach 3 Wochen*

	<b>Scheinoperiert</b>	<b>Infarkt/Kontr.</b>	<b>Infarkt/Ramip.</b>	<b>Infarkt/Metop.</b>
<b>FS (%)</b>	35,5 ± 2,0	29,3 ± 1,95	32,3 ± 1,0	30,2 ± 1,82
<b>Vcf (circ/sec)</b>	2,34 ± 0,23	1,81 ± 0,15 *	2,05 ± 0,08	1,89 ± 0,17
<b>HZV (ml/min)</b>	284,4 ± 7	201,2 ± 12,0 *	237 ± 8,4 *#	244,2 ± 14,6 #
<b>EF l.a. (%)</b>	43,3 ± 2,3	20,5 ± 2,3 *	35,4 ± 2,2 #	33,7 ± 2,71 *#

**Tab.5:** Fractional Shortening (FS), Velocity of circumferential fiber shortening (Vcf), Herzzeitvolumen (HZV) und Auswurffraktion in der langen Achse (EF l.a.) gemessen mittels Echokardiografie in der 3.Woche nach OP in den Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt. (\*: p< 0,05 vs. Scheinoperiert, #: p< 0,05 vs. Infarkt/Kontrolle)

*Untersuchung nach 8 Wochen*

	<b>Scheinoperiert</b>	<b>Infarkt/Kontr.</b>	<b>Infarkt/Ramip.</b>	<b>Infarkt/Metop.</b>
<b>FS (%)</b>	35,2 ± 1,7	24,7 ± 2,5 *	30,5 ± 1,6	31,3 ± 1,2
<b>Vcf (circ/sec)</b>	2,4 ± 0,14	1,5 ± 0,14 *	2,0 ± 0,13 #	2,0 ± 0,08 #
<b>HZV (ml/min)</b>	291,7 ± 10,3	210,9 ± 14,5 *	277,9 ± 13,7 #	225,6 ± 19,1 *
<b>EF l.a. (%)</b>	44,7 ± 3,0	23,4 ± 1,8 *	27,4 ± 2,5 *	29,3 ± 2,2 *

**Tab.6:** Fractional Shortening (FS), Velocity of circumferential fiber shortening (Vcf), Herzzeitvolumen (HZV) und Auswurfraction in der langen Achse (EF l.a.) gemessen mittels Echokardiografie in der 8.Woche nach OP in den Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt. (\*: p< 0,05 vs. Scheinoperiert, #: p< 0,05 vs. Infarkt/Kontrolle)

*Untersuchung nach 11 Wochen*

	<b>Scheinoperiert</b>	<b>Infarkt/Kontr.</b>	<b>Infarkt/Ramip.</b>	<b>Infarkt/Metop.</b>
<b>FS (%)</b>	35,9 ± 2,3	27,3 ± 1,6 *	29 ± 1,6 *	29,9 ± 1,3*
<b>Vcf (circ/sec)</b>	2,6 ± 0,17	1,6 ± 0,1 *	2,0 ± 0,1 *	1,9 ± 0,1*
<b>HZV (ml/min)</b>	314,4 ± 20,6	228,4 ± 11,6 *	281,3 ± 10,8 #	246,1 ± 11,8*
<b>EF l.a. (%)</b>	42,7 ± 2,7	22,0 ± 1,7 *	29,4 ± 2,9 *	26,1 ± 2,1*

**Tab.7:** Fractional Shortening (FS), Velocity of circumferential fiber shortening (Vcf), Herzzeitvolumen (HZV) und Auswurfraction in der langen Achse (EF l.a.) gemessen mittels Echokardiografie in der 11.Woche nach OP in den Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt. (\*: p< 0,05 vs. Scheinoperiert, #: p< 0,05 vs. Infarkt/Kontrolle)

## Zeitlicher Verlauf der Velocity of circumferential fiber shortening

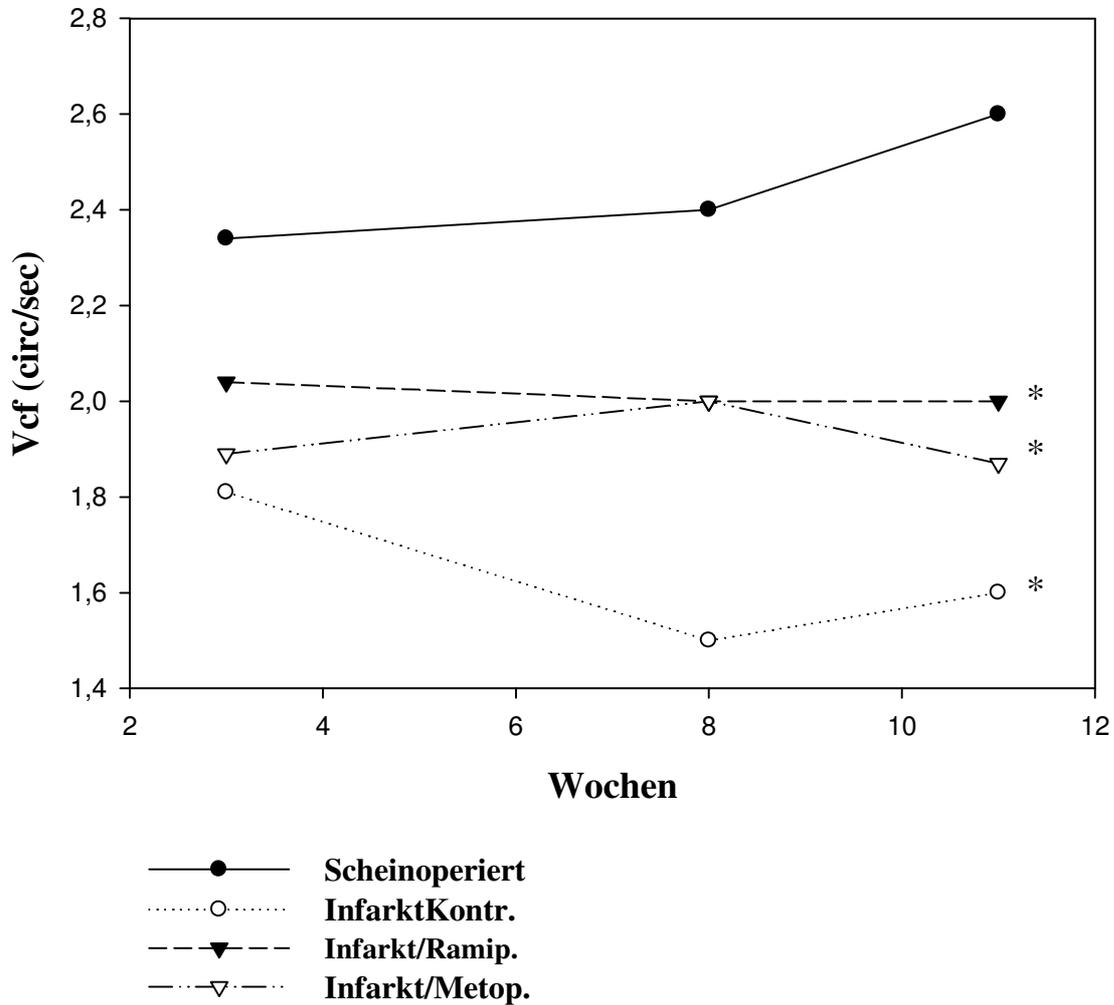


Abb.6: Die Velocity of circumferential fiber shortening (Vcf), gemessen in der langen Achse in ihrem Verlauf nach 3, 8 und 11 Wochen der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt. (\*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert, #:  $p < 0,05$  vs. Infarkt/Kontrolle)

## Zeitlicher Verlauf des Herzzeitvolumens

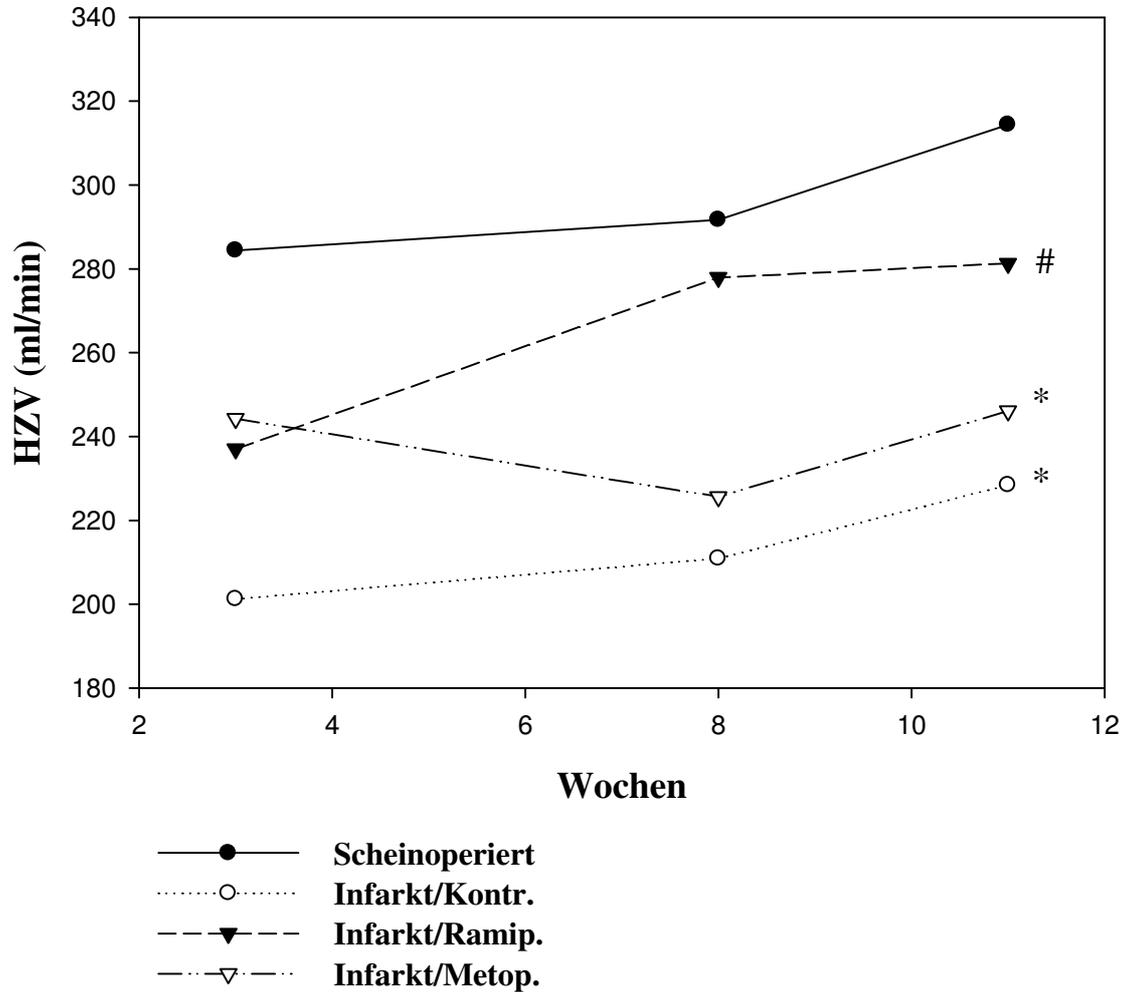


Abb.7: Das Herzzeitvolumen in seinem Verlauf nach 3, 8 und 11 Wochen der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als  $MW \pm SEM$  dargestellt. (\*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert, #:  $p < 0,05$  vs. Infarkt/Kontrolle)

#### 4.4.3 Parameter der linksventrikulären diastolischen Funktion

Die Darstellung E/A-Ratio beschreibt das Verhältnis zwischen der maximalen Geschwindigkeit der frühdiastolischen und der spätdiastolischen Füllungswelle, welche während der Bluteinstromphase in den linken Ventrikel in der Diastole direkt hinter der Mitralisklappe gemessen wurden. Die E/A-Ratio war in den infarzierten Kontrolltieren im Vergleich zu den scheinoperierten Tieren über den gesamten Untersuchungszeitraum erhöht. Sowohl die Behandlung mit Ramipril als auch mit Metoprolol führte zu einer signifikanten Verminderung der E/A-Ratio (Tabelle 8) Messungen wurden bei allen Tieren nach 3, 8 und 11 Wochen durchgeführt.

##### 4.4.3.1 E/A-Ratio

	<b>3 Wochen</b>	<b>8 Wochen</b>	<b>11 Wochen</b>
<b>Scheinoperiert</b>	1,8 ± 0,2	1,83 ± 0,1	1,78 ± 0,1
<b>Infarkt/Kontr.</b>	2,41 ± 0,1 *	1,91 ± 0,2	2,10 ± 0,2 *
<b>Infarkt/Ramip.</b>	1,92 ± 0,1 #	1,67 ± 0,1 #	1,68 ± 0,1 #
<b>Infarkt/Metop.</b>	1,77 ± 0,1 #	1,75 ± 0,1 #	1,76 ± 0,1 #

Tab.8: Das Verhältnis in den echografisch bestimmten Geschwindigkeiten der mitralen E-Spitze und A-Spitze deren der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol nach 3, 8 und 11 Wochen. Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt. (\*: p< 0,05 vs. Scheinoperiert, #: p< 0,05 vs. Infarkt/Kontrolle)

##### 4.4.3.2 Dezelerationszeit der frühdiastolischen Füllungswelle

Die Dezelerationszeit (in ms) der frühdiastolischen Füllungswelle gibt die Zeitspanne vom Gipfel der E-Welle bis zu ihrer Basis an. Erst 11 Wochen nach OP war eine signifikante Verlängerung der Dezelerationszeit der frühdiastolischen Füllungswelle in der infarzierten Kontrollgruppe im Vergleich zur scheinoperierten Gruppe zu beobachten. Während die Behandlung mit Ramipril keinen Einfluss auf die Dezelerationszeit der frühdiastolischen Füllungswelle hatte, führte die Behandlung mit

Metoprolol zu einer signifikanten Verlangsamung der Dezelerationszeit gegenüber der infarzierten Kontrollgruppe (s. Tabelle 9).

	<b>3 Wochen</b>	<b>8 Wochen</b>	<b>11 Wochen</b>
<b>Scheinoperiert</b>	61,3 ± 7,9	65,6 ± 3,7	63,9 ± 4,6
<b>Infarkt/Kontrolle</b>	52,5 ± 6,8	52,0 ± 8,4	34,6 ± 3,3 *
<b>Infarkt/Ramipril</b>	65,0 ± 6,1	46,7 ± 3,3	47,2 ± 4,6 *
<b>Infarkt/Metoprolol</b>	46,7 ± 4,1	60,0 ± 4,3	59,4 ± 3,8 #

Tab.9: Die Abstiegszeit der frühdiastolischen Füllungswelle (ms) nach 3, 8 und 11 Wochen aller vier Gruppen. Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt. (\*: p< 0,05 vs. Scheinoperiert, #:p< 0,05 vs. Infarkt/Kontrolle)

#### 4.4.4 Herzfrequenz

Die Herzfrequenz (Schläge/min) wurde ebenfalls bei den echokardiografischen Untersuchungen ermittelt. Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen der Scheinoperierten, der infarzierten Kontrollgruppe und der mit Ramipril behandelten Gruppe ermittelt. Jedoch führte die Behandlung mit Metoprolol erwartungsgemäß zu einer signifikanten Reduktion der Herzfrequenz (Tabelle 10).

	<b>3 Wochen</b>	<b>8 Wochen</b>	<b>11 Wochen</b>
<b>Scheinoperiert</b>	189 ± 10,1	177 ± 8,6	182 ± 8,2
<b>Infarkt/Kontrolle</b>	193 ± 9,7	183 ± 8,5	188 ± 8,5
<b>Infarkt/Ramipril</b>	184 ± 6,0	183 ± 6,5	191 ± 4,5
<b>Infarkt/Metoprolol</b>	166 ± 6,7*	154 ± 6,5*	156 ± 6,0*

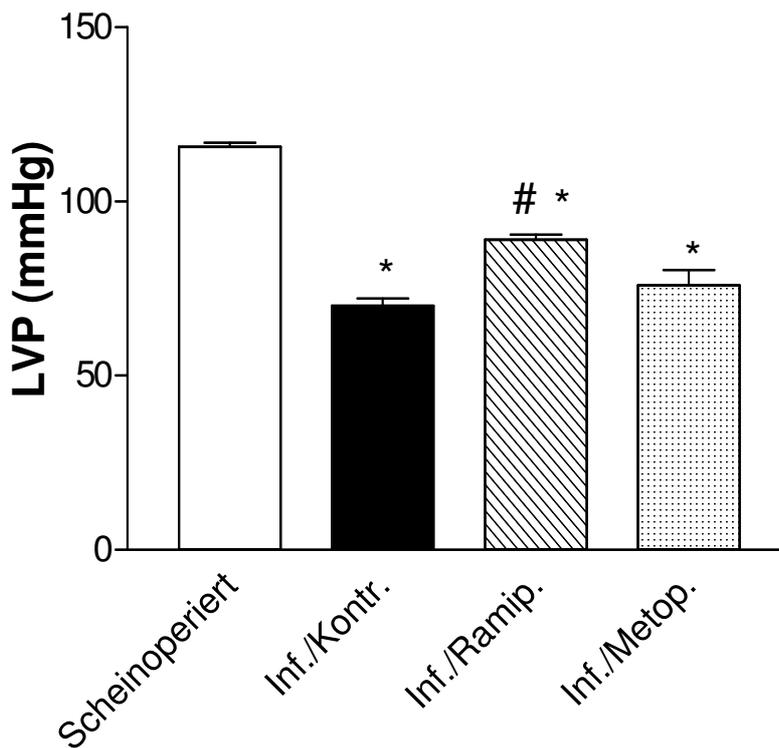
Tab.10: Echokardiografisch bestimmte Herzfrequenz (Schläge/min) nach 3, 8 und 11 Wochen post op. der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt. (\* p< 0,05 vs. alle anderen Gruppen).

## 4.5 Ergebnisse der Hämodynamik

### 4.5.1 Linksventrikulärer systolischer Druck (LVSP)

Bei der Messung des linksventrikulären systolischen Druckes (LVSP) ergaben sich signifikante Unterschiede unter den vier Gruppen.

Der LVSP der infarzierten Kontrollgruppe ( $70,1 \pm 6,6\text{mmHg}$ ) lag signifikant unter dem der scheinoperierten Tiere ( $115,7 \pm 2,9\text{mmHg}$ ). Der durchschnittliche Wert der mit Ramipril behandelten Tiere ( $89,1 \pm 4,7\text{mmHg}$ ) lag ebenfalls signifikant unter dem der Scheinoperierten, war jedoch signifikant höher als der der Infarkt-Kontrollgruppe. Unter der Behandlung der Metoprolol ( $75,9 \pm 4,4\text{mmHg}$ ) kam es bei den infarzierten Tieren zu einer signifikanten Senkung des LVSP gegenüber den scheinoperierten Tieren.



**Abb.8:** Der linksventrikuläre systolische Druck (LVSP) gemessen mittels Katheter in der 12. Woche post op. der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol nach 12 Wochen post OP. Die Werte sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt (\*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert, #:  $p < 0,05$  vs. Infarkt/Kontrolle)

#### 4.5.2 Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP)

Der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP) betrug bei Scheinoperiert  $3,8 \pm 0,46$  mmHg, bei Infarkt/Kontrolle  $5,9 \pm 1,14$  mmHg, bei Infarkt/Ramipril  $3,8 \pm 0,26$  mmHg bei Infarkt/Metoprolol  $4,9 \pm 0,4$  mmHg.

Die Infarkt/Kontrollgruppe zeigte somit einen erhöhten enddiastolischen Druck gegenüber der scheinoperierten Gruppe, jedoch war der Unterschied nicht signifikant. Unter der Behandlung mit Ramipril kam es zu einer deutlichen, unter der Behandlung mit Metoprolol zu einer leichten Absenkung des LVEDP, der Unterschied blieb dennoch ohne Signifikanz.

In Abbildung 9 sind die Ergebnisse der Messung des linksventrikulären enddiastolischen Druckes grafisch dargestellt.

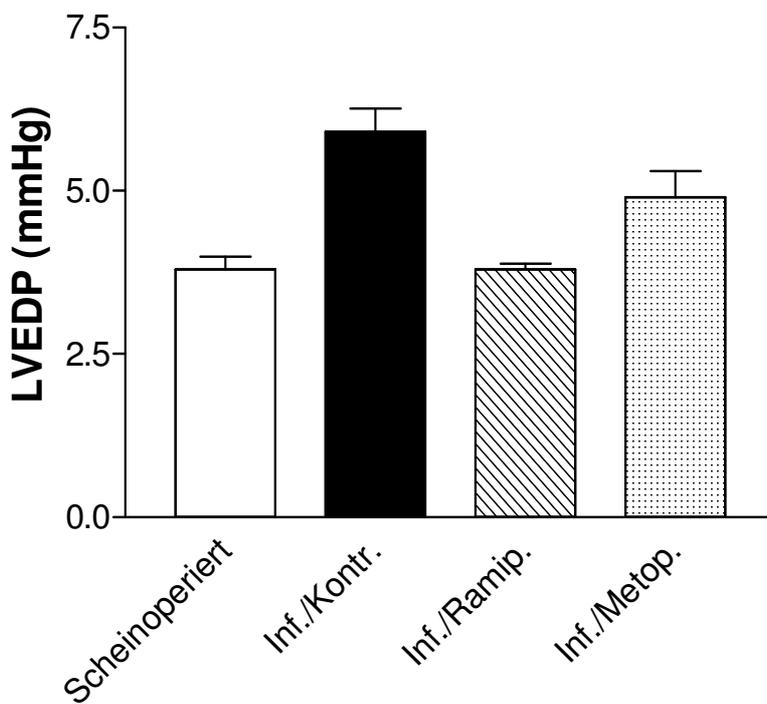


Abb.9: Der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP) gemessen mittels Katheter der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol nach 12 Wochen post OP. Die Werte sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt.

### 4.5.3 Kontraktilität

Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit [dP/dt (max)] und die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit [dP/dt (min)] als Maß für die Kontraktilität sind in der Tabelle 11 zusammengefasst. Beide Parameter verschlechterten sich bei den infarzierten Kontrolltieren signifikant gegenüber der Gruppe der Scheinoperierten. Bei den mit Ramipril und Metoprolol behandelten Tieren kam es zwar ebenfalls zu einer signifikanten Verminderung der Druckabfalls- und Druckanstiegsgeschwindigkeit des linken Ventrikels, jedoch führte die Behandlung mit Ramipril zu einer signifikanten Verbesserung gegenüber der unbehandelten Infarkt-Kontrollgruppe.

Eine grafische Darstellung des dP/dt max erfolgte in der Abbildung 10.

	<b>Scheinoperiert</b>	<b>Infarkt/Kontr.</b>	<b>Infarkt/Ramip.</b>	<b>Infarkt/Metop.</b>
<b>dP/dt (max) (mmHg/sec)</b>	6913 ± 452	3077 ± 417*	4973 ± 371*#	3373 ± 437*
<b>dP/dt (min) (mmHg/sec)</b>	-5212 ± 214	-2796 ± 284*	-4063 ± 120*#	-2732 ± 226*

Tab.11: Maximale Druckanstiegs- und abstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max, dP/dt min) gemessen mittels Katheter in der 12. Woche nach OP der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontroll, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als MW ± SEM angegeben (\*: p<0,05 vs. Scheinoperiert, #: p<0,05 vs. Infarkt/Kontrolle).

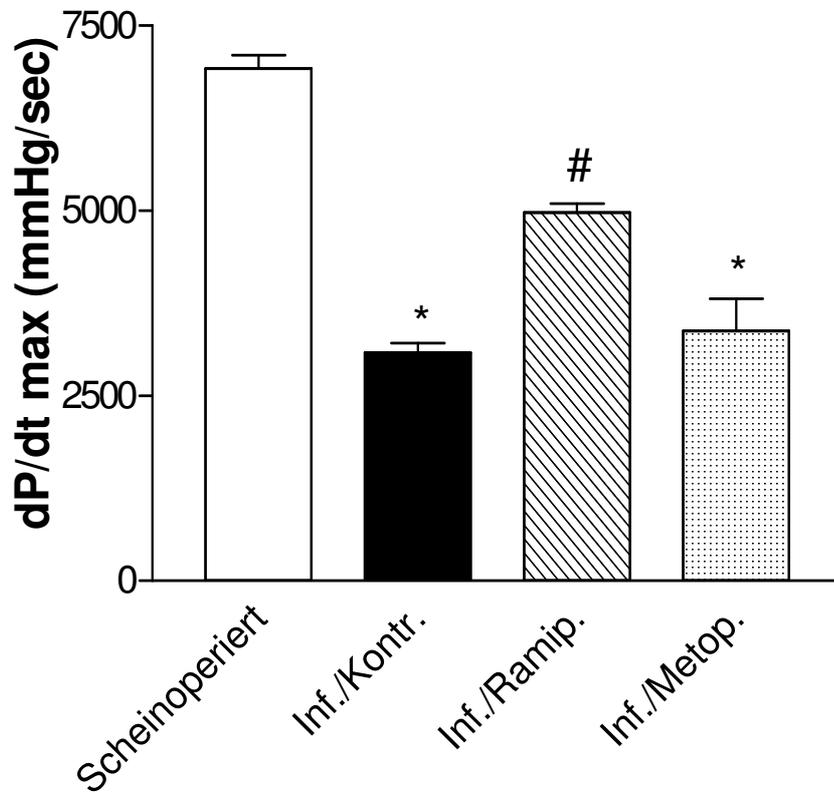


Abb.10:Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max) gemessen mittels Katheter in der 12.Woche nach OP der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt (\*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert, #:  $p < 0,05$  vs. Infarkt/Kontrolle).

#### 4.5.4 Aortenfluss

Die Bestimmung des Aortenflusses (AF, s. Abb.11 ) ergab einen signifikanten Abfall der Werte der Infarkt/Kontrollgruppe ( $234,3 \pm 13,9$ ml/min) gegenüber den scheinoperierten Tieren ( $341,8 \pm 17,9$ ml/min). Die Behandlung mit Ramipril ( $324,9 \pm 19,9$ ml/min) und mit Metoprolol ( $288 \pm 20,6$ ml/min) führte bei den infarzierten Tieren zu einem signifikanten Anstieg des AF verglichen mit den unbehandelten infarzierten Tieren.

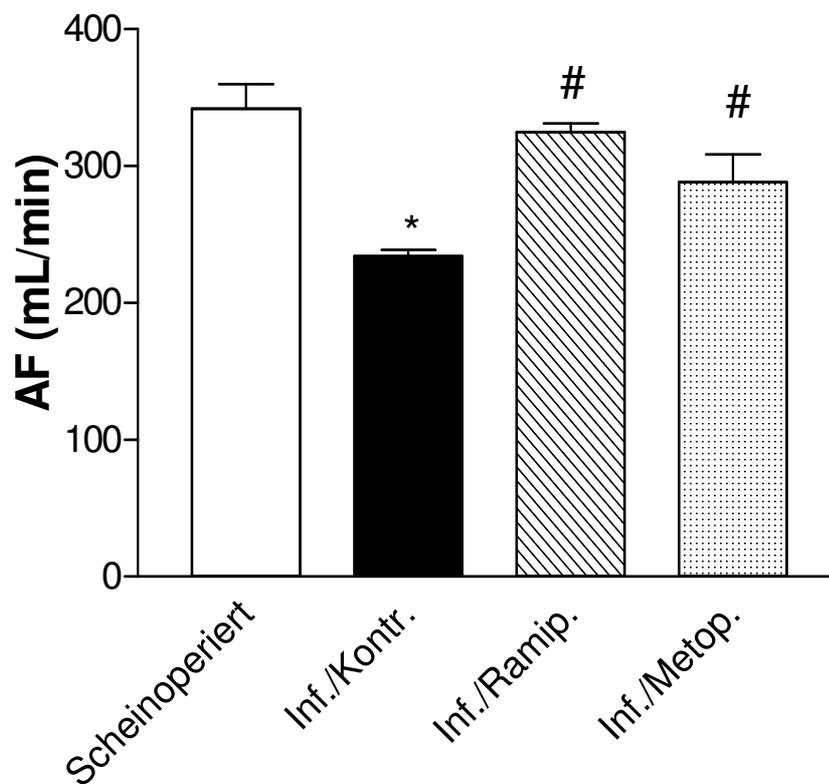


Abb.11:Der Aortenfluss gemessen mittels Aortenflussmesskopf in der 12.Woche nach OP der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als MW ± SEM dargestellt (\*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert, #:  $p < 0,05$  vs. Infarkt/Kontrolle).

#### 4.5.5 Ergebnisse der Blutdruck- und Herzfrequenzmessung

Die Ergebnisse der arteriellen Blutdruckmessung in der A.carotis communis in der 12.Woche nach OP können der Tabelle 12 entnommen werden. Sowohl der systolische als auch der diastolische Blutdruck war bei der infarzierten Kontrollgruppe signifikant niedriger als bei den scheinoperierten Tieren. Unter der Behandlung mit Ramipril und Metoprolol kam es ebenfalls zu einem signifikanten Abfall des systolischen und diastolischen systemischen Blutdruckes.

Bei der Herzfrequenzmessung wurde bei Scheinoperiert  $283,4 \pm 8,6$  Schläge/min, bei Infarkt/Kontrolle  $266,9 \pm 7,8$  Schläge/min, bei Infarkt/Ramipril  $281,4 \pm 14,9$  Schläge/min und bei Infarkt/Metoprolol  $221,4 \pm 6,9$  Schläge/min registriert. Die metoprololbehandelte Gruppe wies somit eine signifikant niedrigere Herzfrequenz verglichen mit den drei anderen Gruppen auf, während diese drei keine signifikanten Unterschiede zeigten.

	<b>Scheinoperiert</b>	<b>Infarkt/Kontr.</b>	<b>Infarkt/Ramip.</b>	<b>Infarkt/Metop.</b>
<b>BP (max) (mmHg)</b>	$121,6 \pm 2,9$	$75,8 \pm 6,6^*$	$86,6 \pm 4,5^*$	$78,6 \pm 4,6^*$
<b>BP (min) (mmHg)</b>	$89,9 \pm 2,0$	$49,9 \pm 6,9^*$	$64,7 \pm 6,2^*$	$51,4 \pm 2,9^*$

Tab.12: Der systolische [BP (max)] und diastolische Blutdruck [BP (min)] gemessen mittels Katheter in der 12.Woche nach OP der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als MW  $\pm$  SEM angegeben (\*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert).

## 4.6 Plasmauntersuchungen

### 4.6.1 proANP Bestimmung

Der durchschnittliche Wert der proANP Plasmaspiegel der infarzierten Kontrolltiere ( $5160 \pm 1630$  fmol/ml) lag in der elften Woche hochsignifikant über dem der scheinoperierten Tiere ( $950 \pm 337$  fmol/ml). Die mit Ramipril behandelten Tiere ( $1860 \pm 590$  fmol/ml) wiesen signifikant niedrigere Werte als die Infarkt/Kontrollgruppe auf. Die Behandlung mit Metoprolol hingegen führte zu keiner signifikanten Absenkung der Plasmaspiegel im Vergleich zu den infarzierten Kontrolltieren. Der Durchschnittswert der Infarkt/Metoprololgruppe ( $3000 \pm 1060$  fmol/ml) lag signifikant über dem der scheinoperierten Gruppe.

Eine grafische Darstellung der proANP Spiegel erfolgte in der Abbildung 12.

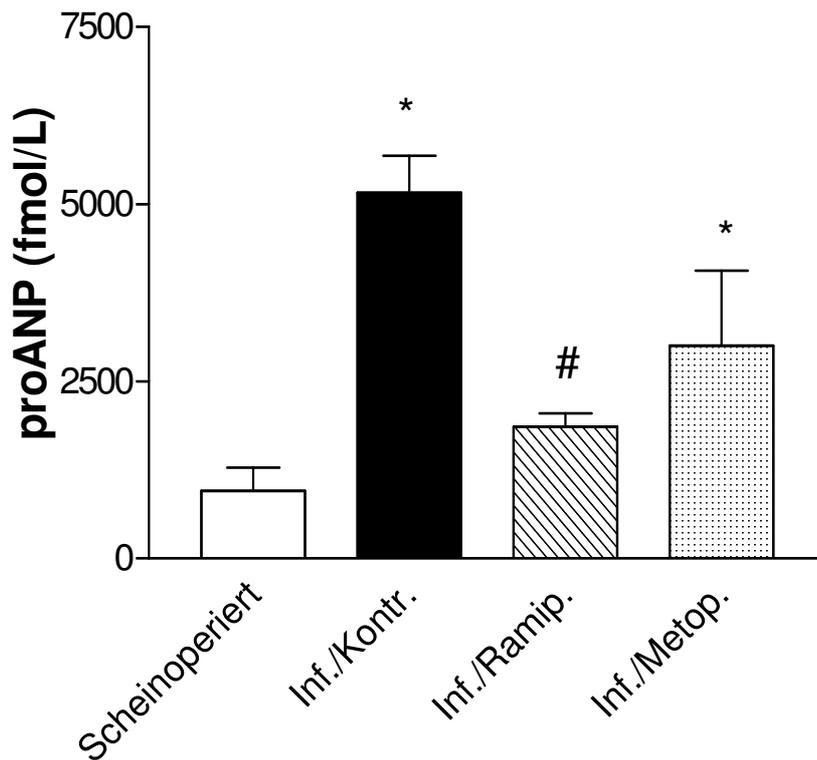


Abb.12:Die proANP Plasmaspiegel gemessen in der 12.Woche nach OP der Gruppen Scheinoperiert, Infarkt/Kontrolle, Infarkt/Ramipril und Infarkt/Metoprolol. Die Werte sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt (\*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert, #:  $p < 0,05$  vs. Infarkt/Kontrolle).

## 4.7 Korrelation zwischen nichtinvasiven und invasiven Daten

### 4.7.1 Funktionelle Parameter

#### 4.7.1.1 Systolische Funktion

Zur Untersuchung der Korrelation zwischen Kontraktilitätsparametern der invasiven Herzkatheterisierung und der nichtinvasiven Echokardiografie wurden die Einzelwerte der Tiere aller Gruppen (n=38) gegeneinander aufgetragen. Untersucht wurden die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max) in der 12. Woche nach OP und das Fractional Shortening (FS) in der 11. Woche nach OP (s. Abb.13). Die Parameter korrelierten schwach positiv miteinander; der Korrelationskoeffizient lag bei 0,38.

Weiterhin wurde die Korrelation zwischen dP/dt max und der Velocity of circumferential fiber shortening (Vcf) untersucht (s. Abb.14). Auch hier bestand eine positive Korrelation; der Korrelationskoeffizient betrug 0,51.

### Korrelation dP/dt max und FS

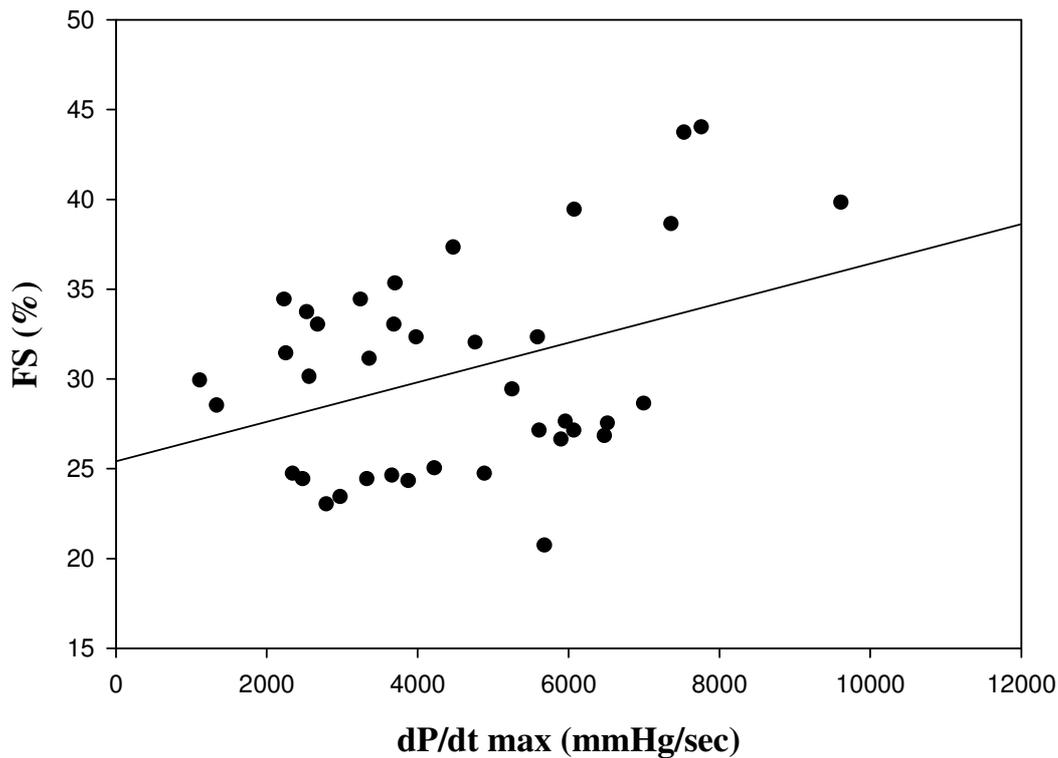


Abb.13: Die Korrelation der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max, gemessen in der 12. Woche post op.) und des Fractional Shortenings (FS, gemessen in der 11. Woche post op.) aller untersuchten Tiere (n=38). Korrelationskoeffizient  $r = 0,38$

## Korrelation dP/dt max und Vcf

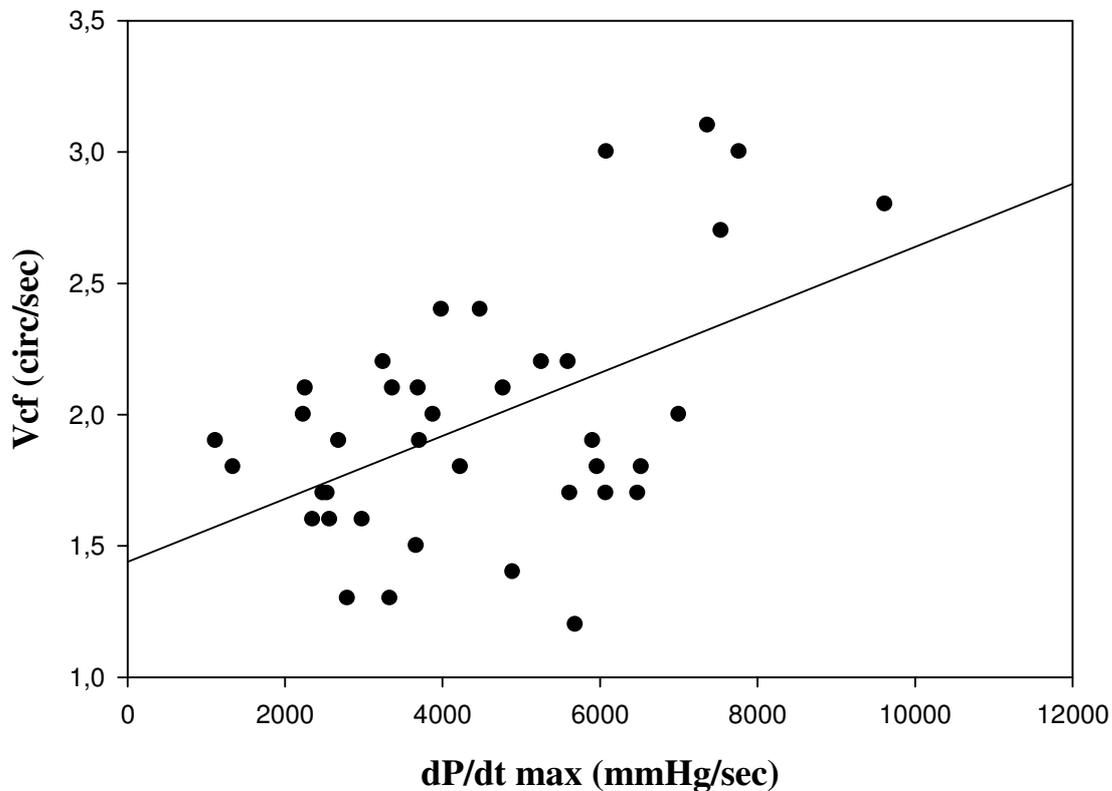


Abb.14: Die Korrelation der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max, gemessen in der 12. Woche post op.) und der Velocity of circumferential fiber shortening (Vcf, gemessen in der 11. Woche post op.) aller untersuchten Tiere (n=38). Korrelationskoeffizient  $r=0,51$

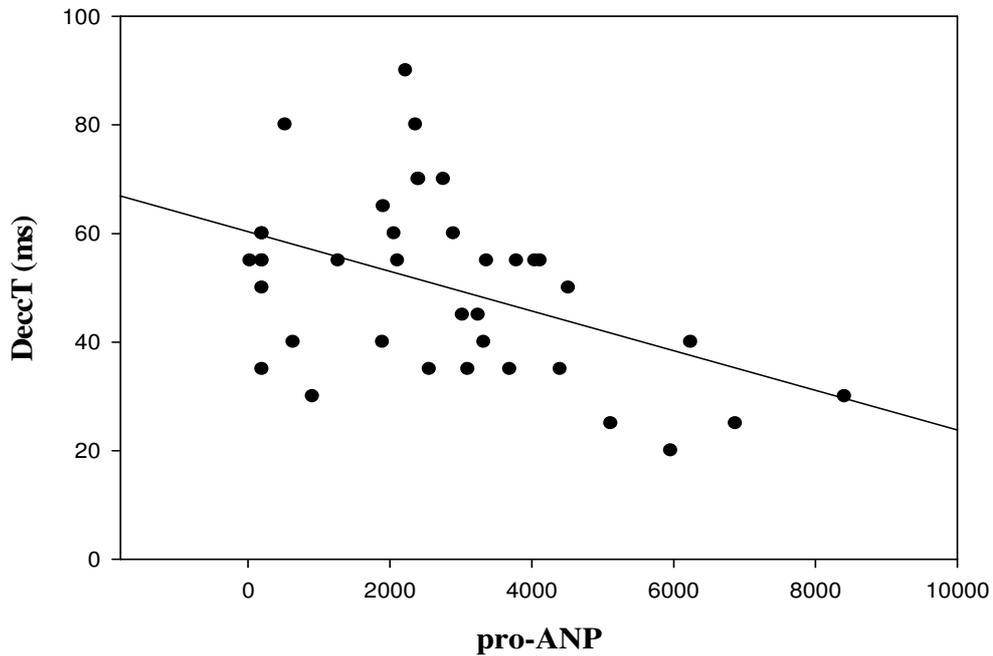
### 4.7.1.2 Diastolische Funktion

Die Dezelerationszeit der frühdiastolischen Füllungswelle (DeccT) und die maximale Druckabstiegsgeschwindigkeit (dP/dt min) sind aussagekräftige direkte Parameter der Relaxationsphase des Ventrikels. Der pro-ANP Spiegel hingegen gilt als ein indirekter Parameter der diastolischen Funktion (Yu et al. 1996). DeccT und pro-ANP Spiegel waren negativ miteinander korreliert (s. Abb.15A), der Korrelationskoeffizient betrug  $-0,45$ .

DeccT und dP/dt min korrelierten ebenfalls negativ miteinander (s. Abb.15B), der Korrelationskoeffizient betrug allerdings nur  $-0,24$ .

A

### Korrelation DeccT und pro-ANP



B

### Korrelation dP/dt min und DeccT

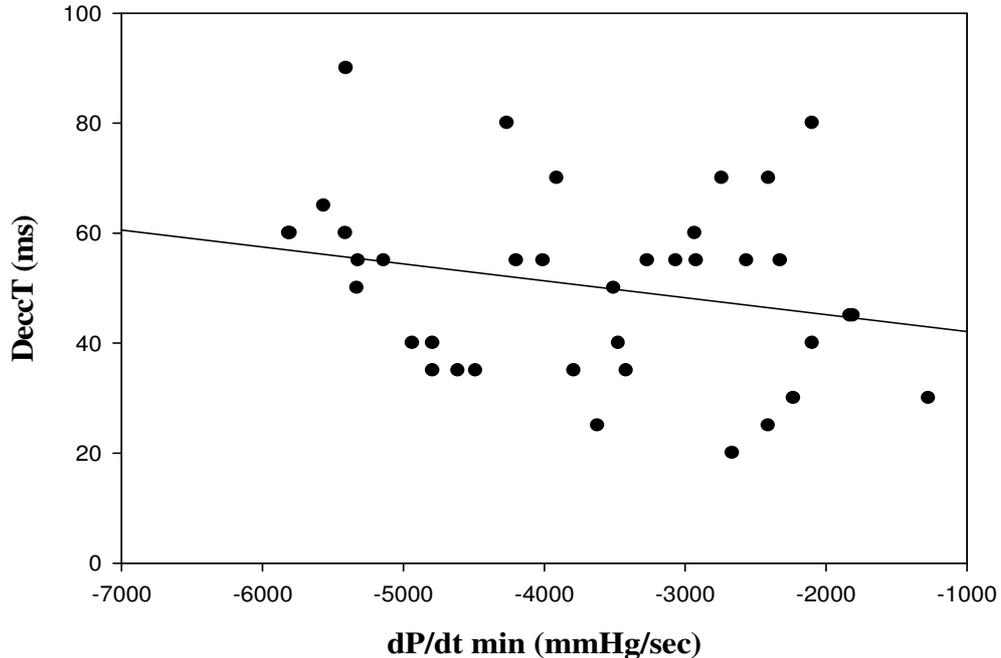


Abb.15:Die Korrelation der Dezelerationszeit der frühdiastrischen Füllungswelle (DeccT, gemessen in der 11.Woche post op.) und dem pro-ANP Spiegel (gemessen in der 11.Woche post op.) (s. Abb.15A) und der maximalen Druckabstiegsgeschwindigkeit (dP/dt min, gemessen in der 12.Woche post op.) (s. Abb.15B) aller untersuchten Tiere (n=38). A: Korrelationskoeffizient  $r=-0,45$  B: Korrelationskoeffizient  $r=-0,24$

#### 4.7.2 Morphologische Parameter

Der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVDed) ist ein direkter morphologischer Parameter, während der pro-ANP Spiegel als ein indirekter Parameter der Morphologie gilt. Die Korrelation der Einzelwerte aller untersuchten Tiere (n=38) ist in der Abbildung 16 grafisch dargestellt. Die Parameter sind positiv miteinander korreliert; der Korrelationskoeffizient lag bei 0,56.

Weiterhin ergab sich eine positive Korrelation zwischen LVDed und dem linksventrikulären Gewicht (LVG). Der Korrelationskoeffizient betrug 0,43 (s. Abb.17).

### Korrelation pro-ANP und LVDed

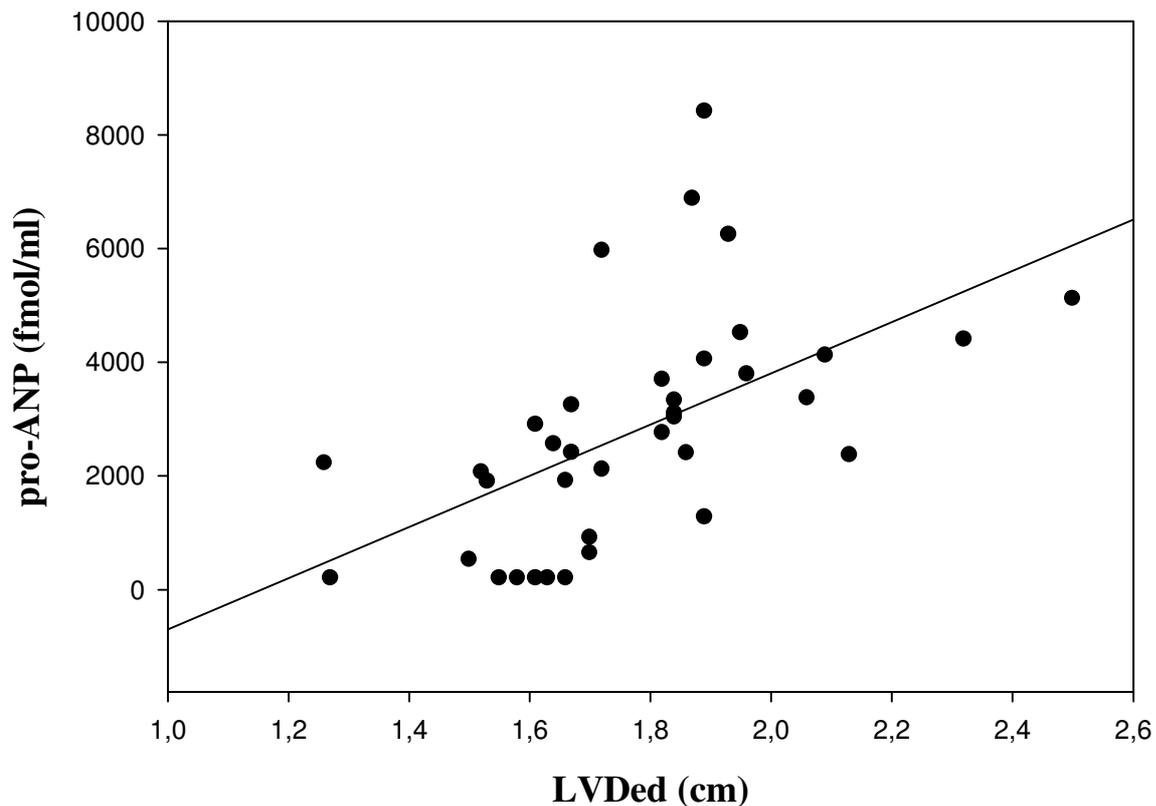


Abb.16:Die Korrelation der pro-ANP Spiegel (gemessen in der 12.Woche post op.) und des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers (LVDed, gemessen in der 11.Woche post op.) aller untersuchten Tiere (n=38). Korrelationskoeffizient  $r=0,56$

## Korrelation LVG und LVDed

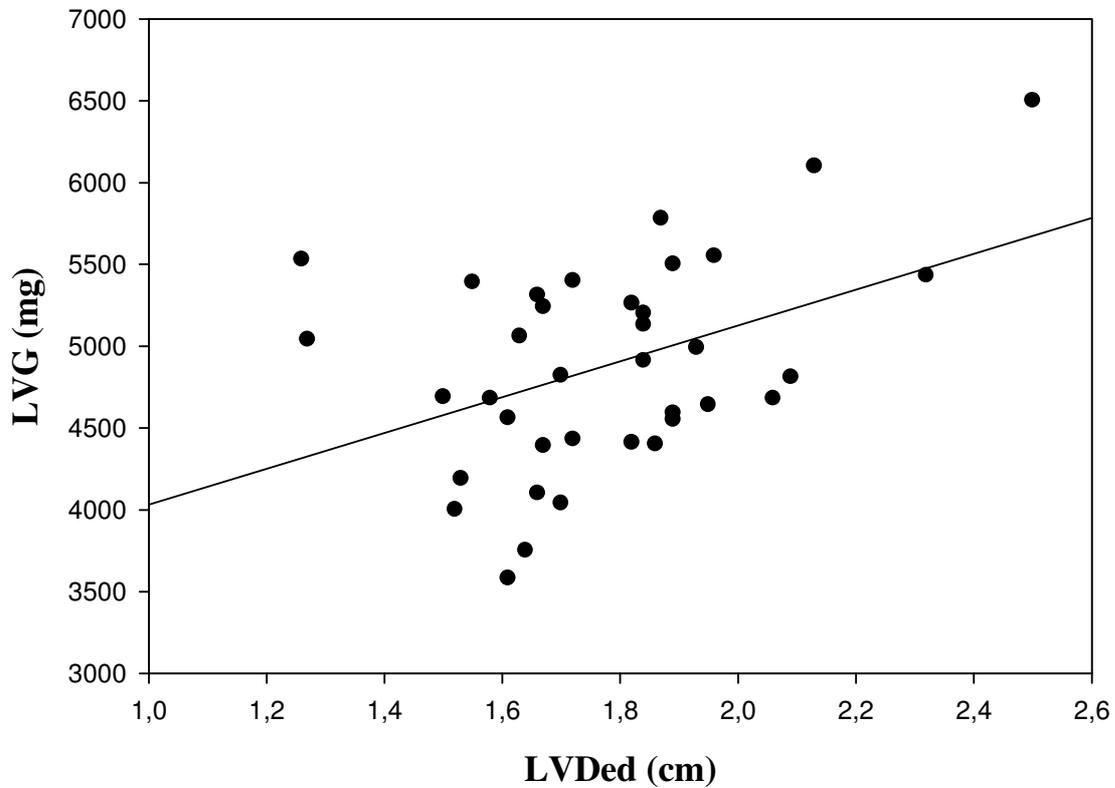


Abb.17: Die Korrelation des linksventrikulären Gewichtes (LVG, gemessen in der 12. Woche post op.) und des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers (LVDed, gemessen in der 11. Woche post op.) aller untersuchten Tiere (n=38). Korrelationskoeffizient  $r=0,43$

## **5. Diskussion**

### **5.1 Fragestellung dieser Arbeit**

Das Ziel dieser Arbeit war die Etablierung eines klinisch relevanten Tiermodelles der chronischen Herzinsuffizienz, in welchem die beim Menschen beschriebenen Pathomechanismen einsetzen. Zu diesem Zweck wurde das Kaninchen als Versuchstier ausgewählt und als initialer Auslöser der Herzinsuffizienz ein Myokardinfarkt durch Koronarligatur verursacht.

Zur Validierung des Versuchsmodelles wurde eine Gruppe koronarligierter Tiere mit einem Standardtherapeutikum der Herzinsuffizienz, einem Angiotensin-Konversionsenzym-Hemmer (ACE-Hemmer), behandelt. Gleichzeitig wurde eine weitere Gruppe koronarligierter Tiere mit einem  $\beta$ -Adrenorezeptorblocker ( $\beta$ -Blocker) therapiert, und die Wirkungen der zwei unterschiedlichen Substanzklassen wurden miteinander verglichen.

Abschließend sollte untersucht werden, ob die nichtinvasive Echokardiografie und die invasive Herzkatheterisierung hinsichtlich ihrer Aussagekraft über den Schweregrad der Herzinsuffizienz und über die Behandlungseffekte der Substanzen miteinander korrelieren.

### **5.2 Das Modell der chronischen Herzinsuffizienz nach Koronarligatur im Kaninchen**

Die ischämischen Herzerkrankungen stehen als Auslöser der chronischen Herzinsuffizienz heutzutage deutlich im Vordergrund. Neben der koronaren Herzkrankheit kommt hierbei dem Myokardinfarkt (MI) die größte Bedeutung zu (Teerlink et al. 1990; Ho et al. 1993). Aus diesem Grund wird auch in vielen tierexperimentellen Studien der MI durch Koronarligatur als initiale Schädigung des Herzens zur Erzeugung einer chronischen Herzinsuffizienz verwendet. Der MI wird durch Abbinden des Hauptastes der linken Koronararterie induziert und betrifft die freie Wand des linken Ventrikels einschließlich der Herzspitze. Die durch Koronarligatur induzierte Herzinsuffizienz stellt ein zuverlässiges und reproduzierbares Tiermodell dar, dessen klinische Relevanz offensichtlich ist (Millner et al. 1991).

Durch den MI kommt es zu einem Verlust von kontraktilem Gewebe des Ventrikels und somit zu einem Abfall des Schlagvolumens. Dies löst unmittelbar über Baro-, Chemo- und Metaborezeptoren eine Reihe von Kompensationsmechanismen im Körper aus. Hierzu zählen das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS), das Sympathoadrenerge System (SAS) und eine Reihe biologisch aktiver Peptide. Diese neurohormonale Regulierung kompensiert anfangs durch Hypervolämie und myokardiale Hypertrophie die verminderte Pumpleistung des Herzens, resultiert jedoch in einen Circulus vitiosus, der mit fortschreitender Dilatation und Dysfunktion des Ventrikels endet (Abraham 2000; Kluger et al. 1982; Packer 1992; Unger 2000).

Dies geht mit deutlichen Veränderungen der Morphologie und der Funktion des Herzens einher. Dieser Prozess wird auch als Remodelling (siehe S.13) bezeichnet. Mehrere tierexperimentelle Studien haben gezeigt, dass das ventrikuläre Remodelling schon sehr rasch nach MI einsetzt und der Schweregrad der funktionellen und morphologischen Veränderungen stark von der Infarktgröße abhängt (Pye et al. 1996). In dieser Studie wurde die minimale Infarktgröße auf 30% festgesetzt, um sicherzustellen, dass sich eine mittelschwere Herzinsuffizienz bei den Tieren entwickelt.

### 5.2.1 Funktionelle Veränderungen des Herzens

Die echokardiografisch bestimmten Parameter und Indizes, welche die kardiale Funktion des linken Ventrikels beschreiben, zeigten schon früh nach MI signifikante Veränderungen.

Die Auswurfraction (EF), die heute als einer der aussagekräftigsten Marker der Herzinsuffizienz gilt (Cohn et al. 1993; Lee et al. 1995; Pfeffer et al. 1992), war nach drei Wochen bereits signifikant niedriger im Vergleich zu den scheinoperierten Tiere und blieb auch bei den Untersuchungen nach acht und elf Wochen konstant niedrig. Dies korreliert mit den Ergebnissen einer echokardiografischen Studie von Pennock und Kollegen (Pennock et al. 1997) an chronisch herzinsuffizienten Kaninchen nach MI, die ebenfalls einen signifikanten Abfall der Auswurfraction bereits nach drei Wochen zeigten. Die linksventrikuläre EF stellt einen wesentlichen Parameter der kardialen Pumpkraft dar, ebenso gilt die wandspannungsabhängige zirkumferentielle Verkürzungsgeschwindigkeit (Vcf) als ein wichtiger Kontraktilitätsindex des linken Ventrikels (Sjaastad et al. 2000; Wessel et al. 1999). Dieser Parameter ist weitgehend lastunabhängig (Colan et al. 1984). Die Vcf der infarzierten Tiere war bereits nach drei Wochen signifikant niedriger als die der scheinoperierten Tiere. Auch hier besteht eine Korrelation zu der bereits erwähnten Studie von Pennock und Kollegen. Die niedrige Vcf zeigt, dass zu diesem Zeitpunkt der linke Ventrikel bereits deutlich an Pumpkraft verloren hatte. Der durch das Remodelling bedingte Verlust an Elastizität und Kontraktilität des infarzierten Ventrikels war fortschreitend, so dass die Vcf nach acht und elf Wochen weiter absank und weiterhin deutlich signifikant unter dem Wert der scheinoperierten Tiere lag. Auch das Fractional Shortening (FS), ebenfalls ein Parameter der die Wandbewegungen und somit Kontraktilität des linken Ventrikels beschreibt (Wong et al. 1993), war schon nach drei Wochen signifikant verändert bei den infarzierten Tieren. Das FS der Infarktkontrollgruppe war über den gesamten Zeitraum von zwölf Wochen signifikant niedriger als das der scheinoperierten Tiere.

Die ermittelten Kontraktilitätsparameter wiesen alle auf eine deutlich herabgesetzte Pumpfunktion des Herzens hin, was sich auch in einem erniedrigten Herzzeitvolumen zeigte. Dies war, wie die eben beschriebenen Indizes der systolischen kardialen Funktion, ebenfalls bereits in der dritten Woche nach MI signifikant vermindert und blieb auch in den folgenden zwei Messungen signifikant unter dem Wert der scheinoperierten Tiere. Zusammenfassend kann man sagen, dass bereits ab der dritten Woche die Einschränkung der linksventrikulären Pumpfunktion und ein damit verbundener Abfall des Schlagvolumens in Folge des MI mittels Echokardiografie diagnostiziert werden konnte, und dass dieser Prozess progressiv war.

Diese typischen pathologischen Befunde bei herzinsuffizienten Patienten und ihre diagnostische und prognostische Relevanz sind bereits in zahlreichen klinischen echokardiografischen Studien untersucht worden. In einer Studie von Cicoira und Kollegen konnte anhand der Messung des FS eine verlässliche Vorhersage über die Mortalität und die NYHA Klasse der Patienten getroffen werden (Cicoira et al. 2001). Dies korreliert mit den Ergebnissen der Cardiovascular Health Study, die ebenfalls eine hohe prognostische Zuverlässigkeit für das FS als auch für die EF in Bezug auf die Manifestation einer chronischen Herzinsuffizienz zeigen konnte (Aurigemma et al. 2001).

Auch in der abschließenden Herzkatheterisierung zeigten sich in den systolischen Parametern signifikante Unterschiede zwischen den scheinoperierten und den koronarligierten Tiere.

Der maximale systolische Druck sowie die maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit [dP/dt (max)] und maximale Druckabfallsgeschwindigkeit [dP/dt (min)] des linken Ventrikels waren bei den infarzierten Tieren signifikant vermindert im Vergleich zu der Gruppe der Scheinoperierten. Diese Ergebnisse stimmen mit denen aus Infarktstudien an Ratten von Pfeffer und Kollegen (Pfeffer et al. 1981) sowie Studien am chronisch koronarligierten Kaninchen (Mahaffey et al. 1995, Pennock et al. 2000) überein. Die Daten weisen auf eine gravierende Einschränkung der kardialen Pumpfunktion hin, die auf eine deutlich verringerte myokardiale Kontraktilität und Elastizität der infarzierten Herzen zurückzuführen ist. Korrelierend dazu kam es aufgrund der verminderten Pumpkraft des Herzens zu einem herabgesetzten Schlagvolumen, wie der signifikant niedrigere Aortenfluss der infarzierten Tiere zeigt. Jedoch bleibt zu beachten, dass dP/dt (max) und (min) nur eine Aussage über die globale Kontraktilität des Ventrikels geben und keine Unterscheidung zwischen der Kontraktilität des infarzierten und nichtinfarzierten Myokards erlauben. Somit kann die kontraktile Funktion des nichtinfarzierten Myokards mit diesem Parameter nicht genau bewertet werden und sollte demnach nicht als einer der Hauptkriterien für die Einschätzung der Herzinsuffizienz verwendet werden (Sjaastad et al. 2000).

Die Parameter der diastolischen Funktion, sowohl in den Untersuchungen der Echokardiografie als auch der Herzkatheterisierung, zeigten ebenfalls deutliche Veränderungen bei den infarzierten Tieren verglichen mit der Gruppe der Scheinoperierten.

Die Parameter E/A-Ratio und Absteigszeit der E-Spitze, welche die Füllung des linken Ventrikels in der Relaxation beschreiben, waren bereits nach drei Wochen verändert, was auf eine bereits einsetzende diastolische Dysfunktion hinweist (Steen et al. 1999; Vitarelli und Georghiade 1998). Eine verspätete linksventrikuläre Relaxation, verminderte Elastizität des linken Ventrikels und des Vorhofes sowie eine reduzierte Saugwirkung des linken Ventrikels sind Teil der Pathologie der Herzinsuffizienz und werden als ursächlich für die diastolische Dysfunktion angesehen (Vitarelli und Georghiade 1998). Durch einen erhöhten Füllungsdruck im linken Ventrikel wird die Vorlast für den linken Vorhof erhöht, was zu einer Verschiebung der ventrikulären Füllung zur frühen Diastole führt. Daraus resultiert die auch hier beobachtete signifikante Verkürzung der Absteigszeit der E-Spitze und die Erhöhung der

E/A-Ratio, welche Zeichen einer restriktiven diastolischen Füllung sind. Diese bereits kurz nach MI auftretenden pathologischen Füllungsmuster korrelieren nach einer Studie von Steen et al (1999) beim Patienten direkt mit vermehrter Hospitalisation, höherer NYHA-Klasseneinstufung und signifikanter Ventrikeldilatation nach einem Jahr. Nach dieser Studie gilt besonders die Abstiegszeit der mitralen E-Spitze als unabhängiger prognostischer Marker für eine erhöhte Mortalität in dem ersten Jahr nach MI. In dieser Studie kam es allerdings erst nach elf Wochen zu einer signifikanten Verkürzung der Abstiegszeit, woraus sich schlussfolgern lässt, dass sich eine diastolische Dysfunktion erst zu diesem Zeitpunkt manifestierte.

Traditionell dient tierexperimentell der mittels Herzkatheter gemessene linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP) als ein wichtiges Kriterium für die Herzinsuffizienz und wird als ein Maß für die Vorlast angesehen. In dieser Studie, im Gegensatz zu in der Literatur beschriebenen Studien (Mahaffey et al. 1991; Pennock et al. 2000), kam es zwar zu einer Erhöhung aber zu keinem signifikanten Anstieg des LVEDP in der infarzierten Tiergruppe. Es gibt jedoch mehrere Faktoren, die den LVEDP beeinflussen können und somit zu einer grossen Varianz der Daten führen. Hierzu gehören z.B. die Lage und Qualität des Katheters, die Tiefe der Narkose sowie der Einfluss der Atmung besonders bei künstlicher Beatmung.

### 5.2.2 Morphologische Veränderungen des Herzens

Bereits nach drei Wochen waren echokardiografisch bei den koronarligierten Kontrolltieren signifikante morphologische Veränderungen und funktionelle Einschränkungen des linken Ventrikels festzustellen.

Hinsichtlich der Morphologie war schon in der dritten Woche in der Infarktkontrollgruppe in Systole und Diastole eine signifikante Vergrößerung des linksventrikulären Diameters festzustellen. Die Ausweitung der linksventrikulären Dimensionen spiegelt die einsetzende Dilatation bei beginnender Dekompensation der Herzinsuffizienz wider. Dieser Prozess der Ventrikeldilatation war fortschreitend, so dass nach elf Wochen die Unterschiede zwischen der scheinoperierten und der koronarligierten Gruppe hochsignifikant waren. Diese Ergebnisse korrelieren mit den aus der Literatur bekannten echokardiografischen Daten chronisch koronarligierter Tiere. Studien an chronisch herzinsuffizienten Kaninchen nach Myokardinfarkt zeigten ebenfalls bereits nach drei Wochen eine signifikante Vergrößerung der enddiastolischen und enddiastolischen Durchmesser des linken Ventrikels (Pennock et al. 1997; Pennock et al. 2000). Die Größe des linken Ventrikels erlaubt eine zuverlässige Vorhersage über die Langzeitüberlebensrate herzinsuffizienter Patienten, wie mehrere tierexperimentelle und humane Studien gezeigt haben (Chalmers et al. 1987; Pfeffer et al. 1992; Pye et al. 1996; Sjøgaard et al. 2000; Sutton et al. 1997; White et al. 1987). Der leichte Anstieg des Diameters bei den Scheinoperierten in der achten Woche im Vergleich zur dritten Woche lässt sich durch das Aufschneiden des Herzbeutels bei der initialen Operation erklären. Dadurch entfällt der äußere Druck auf das Herz, so dass es zu einer leichten Ausweitung des Herzens kommt. Die Messung der Wanddicke des ventrikulären Septums ergab hingegen keine signifikanten Unterschiede. Limitiert wird die Aussagekraft dieser Parameter durch die anatomisch bedingte erschwerte Durchführung der Echokardiografie beim Kaninchen sowie die zu niedrige optische Auflösung des verwendeten Ultraschallgerätes.

Die im Herzultraschall festgestellte Ventrikelvergrößerung korrelierte mit den Ergebnissen aus der Herz- und Ventrikelgewichtsbestimmung nach zwölf Wochen. Auch hier gab es signifikante Unterschiede zwischen den scheinoperierten und koronarligierten Tieren. Die Unterschiede bestanden sowohl in den absoluten Gewichten als auch in den errechneten Verhältnissen von linkem Ventrikel- zu Körpergewicht und Herz- zu Körpergewicht. Die signifikante Gewichtszunahme des chronisch infarzierten linken Ventrikels wurde ebenfalls bereits in anderen Kaninchenstudien gezeigt (Litwin und Bridge 1997).

### 5.2.3 Veränderungen der ANP Plasmaspiegel

Bei der Bestimmung der Plasmaspiegel des Atrialen Natriuretischen Peptids (ANP) zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen der Gruppe der scheinoperierten und der infarzierten Tiere. In klinischen Studien wurde bereits bewiesen, dass die Bestimmung von proANP einen hohen diagnostischen Wert bei der Früherkennung kardialer Dysfunktionen besitzt (Numata et al. 1998).

Teil der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz ist eine abnormale Natrium- und Wasserretention des Körpers, um durch Erhöhung des Blutvolumens dem Abfall des Schlagvolumens aufgrund verminderter Pumpkraft des Herzens entgegenzuwirken. Diese Hypervolämie führt zu einer verstärkten Dehnung des atrialen Myokards und somit zu erhöhter Sekretion von ANP. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die Plasmaspiegel von ANP im Blut direkt proportional zum Schweregrad der Herzinsuffizienz entsprechend der NYHA Klassifizierung ansteigen (Daggubati et al. 1997; Winters et al. 1989). In der Survival And Ventricular Enlargement (SAVE) Studie konnte gezeigt werden, dass proANP ein unabhängiger Marker für die Entwicklung von Herzinsuffizienz und für kardiovaskuläre Mortalität nach Myokardinfarkt ist (Hall et al. 1994).

Die bei den infarzierten Tieren gefundenen signifikant erhöhten Plasmaspiegel weisen somit auf ein bereits fortgeschrittenes Stadium der Herzinsuffizienz hin und zeigen eine deutliche Korrelation zur Pathophysiologie des Menschen.

### 5.2.4 Abschließende Betrachtung des Tiermodelles

Bei den in dieser Studie durchgeführten Untersuchungen, die die Funktion und die Morphologie des Herzens sowie den Blutstatus der Tiere umfassten, zeigten die infarzierten Tiere die für die Herzinsuffizienz typischen pathologischen Befunde. Die experimentell durch Koronarligatur verursachte Herzinsuffizienz beim Kaninchen korreliert demnach eng mit dem klinischen Bild beim Patienten. Mit diesem Versuchsmodell kann eine mittelgradige Herzinsuffizienz vom Schweregrad NYHA II-III induziert werden. Zwar konnten an den Tieren keine Belastungstests durchgeführt werden, um gemäß den Kriterien der NYHA eine exakte Einstufung vorzunehmen, jedoch deuten die echokardiografischen Daten sowie die der Herzkatheterisierung auf eine mittelgradige Herzinsuffizienz hin. Des weiteren zeigten die infarzierten Tiere nicht die für NYHA Klasse IV typischen klinischen Symptome wie Kurzatmigkeit, zyanotische Schleimhäute oder Ödeme an den Gliedmaßen.

In diesem Versuchsmodell ist besonders die Korrelation der in der Echokardiografie ermittelten Befunde zwischen Tiermodell und Patient als ein großer Vorteil anzusehen, da somit wiederholt nichtinvasive Untersuchungen zur Dokumentation des Krankheitsverlaufes vorgenommen werden können. Hinsichtlich der echokardiografischen Untersuchung bleibt allerdings zu beachten, dass die Messungen bei den Tieren nur unter Narkose möglich sind. Auch wenn in dieser Studie eine niedrigdosierte Narkose gewählt wurde, bleibt der Einfluss der Narkose auf das kardiovaskuläre System von Relevanz. Narkotika können zum einen eine direkte Wirkung, ob positiv oder negativ, auf das Herzkreislaufsystem haben, zum anderen kann sich die Pharmakokinetik von Tier zu Tier individuell unterscheiden. Das in dieser Studie verwendete Xylazin besitzt negativ inotrope Eigenschaften und führt somit zu einer Verschlechterung der kardialen Pumpfunktion. Dies engt zum einen generell den Bereich der funktionellen Unterschiede ein und kann zum anderen durch individuell bedingte unterschiedliche Pharmakokinetik des Narkotikums zu einer erhöhten Varianz der Daten führen.

Auch bei der abschließenden invasiven Herzkatheterisierung ist ein individuell unterschiedlicher Einfluss der Narkose auf die ermittelten Daten als kritisch anzusehen. Besonders Parameter, die stark abhängig von Vor- und Nachlast sind, müssen demnach mit Vorsicht gewertet werden.

### **5.3 Die Behandlung mit Ramipril**

Der ACE-Hemmer Ramipril wurde in dieser Studie als Validierungssubstanz eingesetzt. ACE-Hemmer gelten seit Jahren als Standardtherapeutikum beim herzinsuffizienten Patienten und ihre hohe therapeutische Wirksamkeit ist in zahlreichen großen klinischen Studien bewiesen worden. In einem Tiermodell, welches die humane Herzinsuffizienz nachstellt, sollten demnach ACE-Hemmer ebenfalls eine deutliche Verbesserung des Krankheitsbildes zeigen.

#### **5.3.1 Einfluss von Ramipril auf die Funktion des infarzierten Herzens**

In dieser Studie wurde sowohl bei den invasiven als auch bei den nichtinvasiven Untersuchungen eine deutliche Verbesserung der linkventrikulären Funktion unter der chronischen Behandlung mit Ramipril festgestellt.

Die echokardiografischen Messungen zeigten, dass im Vergleich zu der bereits nach drei Wochen deutlich eingeschränkten linksventrikulären Funktion der Infarktkontrollgruppe die funktionellen Parameter der ramiprilbehandelten Tiere verbessert waren. Eine verbesserte systolische Funktion der ramiprilbehandelten Tiere zeigte sich zum einen in dem signifikant erhöhten Herzzeitvolumen. Ebenso waren die kontraktilitätsbeschreibenden Parameter wie die wandspannungsabhängige zirkumferentielle Verkürzungsgeschwindigkeit ( $V_{cf}$ ), das Fractional Shortening (FS) und die Auswurfraction gegenüber den unbehandelten infarzierten Tieren verbessert.

Die Verbesserung der systolischen Funktion zeigte sich auch in der abschließenden Herzkatheterisierung. Hier deutete die signifikante Erhöhung der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit ( $dp/dt \max$ ) gegenüber den unbehandelten Infarkttieren

auf eine deutliche Verbesserung der Kontraktilität des linken Ventrikels hin. Die maximale Druckentwicklung in der Systole war ebenfalls signifikant verbessert. Diese Verbesserung der Pumpfunktion spiegelt sich auch in dem signifikant erhöhten Aortenfluss wider.

Auch die Parameter, welche die Funktion der Diastole beschreiben, waren in den Untersuchungen mittels Herzultraschall und Herzkatheterisierung unter der Behandlung mit Ramipril gegenüber den unbehandelten Infarkttieren verbessert. Das Muster der Füllungsphase des linken Ventrikels, das durch die echokardiografischen Parameter E/A-Ratio und die Abstiegszeit der E-Spitze beschrieben wird, wurde durch die Behandlung mit Ramipril weitgehend normalisiert.

Bei den Untersuchungen der diastolischen Ventrikelfunktion durch den Herzkatheter konnte eine Normalisierung des linksventrikulären enddiastolischen Druckes festgestellt werden. Auch die maximale Druckabstiegsgeschwindigkeit ( $dp/dt$  min) war signifikant gegenüber den unbehandelten Tieren verbessert. Dies weist auf eine verbesserte Relaxation in der Diastole hin.

Die in dieser Arbeit festgestellten günstigen Effekte von ACE-Hemmern auf die gestörte systolische Funktion in der Herzinsuffizienz stimmen mit den Ergebnissen zahlreicher tierexperimenteller und klinischer Studien überein (Gavras et al. 1978; Maslowski et al. 1981; Tarazi et al. 1979; Turini et al. 1979). Die Arbeitsgruppe um Pfeffer (Pfeffer et al. 1985; Pfeffer et al. 1985), aber auch andere Forschungsgruppen (Gay 1990; Mulder et al. 1997; Wollert et al. 1994) zeigten in tierexperimentellen Studien an Ratten, dass die chronische Gabe von ACE-Hemmer bei durch Koronarligatur induzierter Herzinsuffizienz zu einer signifikanten Verbesserung der hämodynamischen Parameter führt.

Die beim Versuchstier gesammelten Erkenntnisse wurden durch große klinische Studien am herzinsuffizienten Patienten bestätigt. In der Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Studie wurden Patienten mit akutem Myokardinfarkt ab dem dritten bis zehnten Tag für einen Zeitraum von mindestens sechs Monaten mit Ramipril behandelt. Dies führte zu einer hochsignifikanten Senkung der Mortalität um 27% (The AIRE Investigators 1993). Auch Studien mit anderen Vertretern der Klasse der ACE-Hemmer wie die Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS) oder die Study of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) führten zu einer signifikanten Senkung der Mortalität, der Hospitalisationsrate und des Schweregrades der Herzinsuffizienz (Sleight 2002).

Über die therapeutischen Effekte von ACE-Hemmern auf die diastolische Funktion liegen verhältnismässig wenige Daten vor (Brown und Vaughan 1998). In tierexperimentellen Studien besonders an der Ratte konnte jedoch durch die Gabe von ACE-Hemmern der linksventrikuläre enddiastolische Druck signifikant gesenkt und die maximale Druckabstiegsgeschwindigkeit signifikant verbessert werden (Mulder et al. 1997; Sanbe et al. 1995).

### 5.3.2 Einfluss von Ramipril auf die Morphologie des infarzierten Herzens

Die pathologischen strukturellen Veränderungen des linken Ventrikels nach Myokardinfarkt wurden in dieser Studie durch die Behandlung mit Ramipril günstig beeinflusst. Während in der Gruppe der unbehandelten Tiere die Dilatation des infarzierten Ventrikels über den Zeitraum von elf Wochen progressiv zunahm, veränderte sich der linksventrikuläre Durchmesser der mit Ramipril behandelten Tiere ab der dritten Woche nicht mehr und war ab der achten Woche signifikant kleiner im Vergleich zu den unbehandelten Tieren. Die trotz der Ramiprilbehandlung signifikante Ventrikelvergrößerung gegenüber den scheinoperierten Tieren lässt sich durch die Narbenbildung des infarzierten Myokardes erklären. Dadurch kommt es in diesem Bereich zu einer Wandverdünnung und -ausweitung, was zwangsläufig zu einer Volumenzunahme des Ventrikels führt.

Das zu Versuchsende bestimmte Gewicht des Herzens und des linken Ventrikels war, korrelierend zu den Ergebnissen der Echokardiografie, bei den mit Ramipril behandelten Tieren signifikant niedriger als das der unbehandelten infarzierten Tiere. Im Verhältnis zu Körper- und Herzgewicht gesetzt, verloren die Ergebnisse zwar ihre Signifikanz, die Unterschiede zu den unbehandelten Infarkttieren waren jedoch noch offensichtlich.

Wie bereits für die funktionellen Parameter aufgeführt, konnte auch die Verbesserung der morphologischen Parameter schon in mehreren Infarktstudien an der Ratte belegt werden (Pfeffer et al. 1985). Sabbah und Kollegen zeigten auch an Hunden mit kardialer Dysfunktion nach Mikroembolisation, dass die chronische Therapie mit Enalapril über drei Monate die Ventrikelvergrößerung und die Verformung des Herzens zur ellipsoiden Form im Vergleich zur Placebogruppe verhindern konnte (Sabbah et al. 1994). Neben den tierexperimentellen Studien wurde auch beim Menschen z.B. in der CONSENSUS und SAVE Studie gezeigt, dass ACE-Hemmer den Prozess der fortschreitenden Ventrikeldilatation und somit der linksventrikulären Dysfunktion verlangsamen können (Pfeffer et al. 1992; The CONSENSUS Trial Study Group 1987). Auch in einer Substudie der Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Studie wurde festgestellt, dass das linksventrikuläre enddiastolische und endsystolische Volumen durch die chronische Gabe von Ramipril signifikant verkleinert werden konnte (Lonn et al. 2001). Substudien der SOLVD Studie zeigten ebenfalls, dass bei Patienten mit leichter bis mittlerer Herzinsuffizienz durch die chronische Gabe eines ACE-Hemmers die Vergrößerung der enddiastolischen und endsystolischen linksventrikulären Volumina verhindert werden kann (Greenberg et al. 1995; Konstam et al. 1992).

### 5.3.3 Einfluss von Ramipril auf die ANP Plasmaspiegel

Auch die Bestimmung der Plasmaspiegel von proANP beweist die therapeutische Wirksamkeit der ACE-Hemmung in diesem Modell. Wie bereits erwähnt, gilt ANP als ein zuverlässiger Marker für eine Volumen- und Drucküberlastung des Herzens und somit als ein früher Indikator für eine kardiale Dysfunktion. Die Plasmaspiegel von proANP konnten durch die Behandlung mit Ramipril signifikant gegenüber den unbehandelten infarzierten Tieren gesenkt werden. Dies korreliert mit Ergebnissen klinischer Studien am herzinsuffizienten Patienten, die nach chronischer ACE-

Hemmung eine signifikante Senkung der ANP Spiegel belegen (Brunner La Rocca et al. 1999; Ogino et al. 1997).

#### 5.3.4 Wirkmechanismen der ACE-Hemmer

Die Verbesserung der in dieser Arbeit untersuchten Parameter durch die chronische Gabe von Ramipril in der Herzinsuffizienz lässt sich durch verschiedene Wirkmechanismen der ACE-Hemmer erklären.

ACE-Hemmer haben verschiedene akute und verzögerte hämodynamische und zelluläre Effekte, welche die Entwicklung und die Progression der linksventrikulären Dysfunktion verlangsamen. Der Mechanismus, der hinter der therapeutischen Wirksamkeit der ACE-Hemmer steht, ist multifaktoriell und umfasst die Prävention des fortschreitenden linksventrikulären Remodellings, des plötzlichen Herztodes und der erhöhten Arrhythmogenität des insuffizienten Herzens (Khalil et al. 2001).

Ein wichtiger Faktor der herausragenden Wirkung der ACE-Hemmer ist die Senkung von Vor- und Nachlast sowie des peripheren Gefäßwiderstandes.

Durch die Blockade des RAAS kommt es zu einer verminderten Salz- und Wasserretention durch Reduktion der Aldosteronsynthese (Tarazi et al. 1979). Somit wird eine Hypervolämie verhindert, die einen typischen Kompensationsmechanismus bei kardialer Dysfunktion darstellt. Die Senkung der Vor- und Nachlast wird des weiteren durch die durch ACE-Hemmer vermittelte Vasodilatation bedingt. Neben der verminderten Bildung des vasokonstriktorischen Angiotensin II bewirkt eine Hemmung der Kinase ACE eine Akkumulation von biologisch aktivem Bradykinin (Hornig und Drexler 1997; Mancini 2000; Schoelkens und Linz 1988; Taddei et al. 1998). Bradykinin vermittelt über eine vermehrte Bildung von Stickstoffmonoxid und von Arachnidonsäuremetaboliten eine Vasodilatation am Gefäßendothel (Vanhoutte 1989). Diese Wirkungen auf den peripheren Kreislauf treten schon sehr rasch nach Beginn der Therapie ein und bleiben fortbestehend (Khalil et al. 2001).

Die Hemmung der durch das RAAS vermittelten Hypervolämie wirkt sich langfristig auch positiv auf das ventrikuläre Remodelling aus. Die Hypervolämie und der damit verbundene erhöhte Füllungsdruck im linken Ventrikel erhöhen den mechanischen Stress auf das Myokard und stellen einen wichtigen pathologischen Stimulus der Hypertrophie dar. Die Volumenzunahme des linken Ventrikels stellt einen kardialen Kompensationsmechanismus dar, der vorübergehend das Schlagvolumen normalisieren kann. Allerdings führt dieser Prozess entsprechend dem La Place'schen Gesetz zu einer zunehmenden Belastung des nichtinfarzierten Myokards, was letztendlich eine weitere Dilatation und schließlich weitere Abnahme des Schlagvolumens initiiert. Somit kommt es zu einer deutlichen Vergrößerung der ventrikulären Dimensionen und Masse sowie einer Veränderung der Herzgeometrie. Dieser Teufelskreislauf kann mit einer Hemmung des RAAS zumindest teilweise durchbrochen werden, so dass unter ACE-Hemmern die morphologischen und geometrischen Veränderungen des insuffizienten Herzens vermindert werden können. Des weiteren wirkt sich die Senkung des Füllungsdruckes im linken Ventrikel günstig auf die diastolische Funktion aus. Der durch RAAS Blockade normalisierte Druck im linken Ventrikel führt auch dazu, dass es zu keiner Vorlasterrhöhung des Vorhofes kommt. Dadurch bleiben die Füllungsmuster in der Diastole weitgehend physiologisch.

Auch auf zellulärer Ebene wirkt sich eine Blockade des RAAS hemmend auf den pathologischen Prozess der Herzinsuffizienz aus. Das aktivierte RAAS fördert die Bildung von Kollagen und somit die Fibrosierung des Myokards (Weber 2000; Weber und Brilla 1991). Dieser wichtige Pathomechanismus der Herzinsuffizienz kann durch die Gabe von ACE-Hemmern blockiert werden und verhindert somit den fortschreitenden Verlust an Elastizität des Ventrikels (Spinale et al. 1995; Taylor et al. 1998). Diese antifibrotische Wirkung der ACE-Hemmer wirkt sich günstig auf die systolische und die diastolische Funktion aus. Die erhaltene Elastizität verbessert sowohl die Kontraktilität in der Systole als auch die rasche Relaxation und die Saugwirkung des Ventrikels in der Diastole.

Neben der bereits erwähnten Prävention der myokardialen Hypertrophie verbessern ACE-Hemmer auch direkt auf zellulärer Ebene die kontraktile Funktion der Kardiomyozyten (Spinale et al. 1995). Die Wirkungen von ACE-Hemmern auf zellulärer Ebene sind von besonderer Relevanz, da in der Herzinsuffizienz nicht nur das zirkulierende sondern auch das gewebsständige, unter anderem das myokardiale, RAAS aktiviert ist und autokrin/parakrin strukturelle Umbauprozesse im Ventrikel reguliert.

## **5.4 Die Behandlung mit Metoprolol**

Metoprolol gehört zu der Substanzklasse der  $\beta$ -Blocker und ist ein selektiver  $\beta_1$ -Adrenorezeptorblocker.

Während  $\beta$ -Blocker wegen ihrer negativ inotropen Wirkung vor einigen Jahren noch als kontraindiziert bei herzinsuffizienten Patienten galten, haben in den letzten Jahren mehrere klinische Studien ihre therapeutische Wirksamkeit in der Herzinsuffizienz belegt, so dass sie heute zur Standardtherapie der Herzinsuffizienz gehören. Tierexperimentell allerdings liegen nur wenige Studien vor, die eindeutig eine Verbesserung der klinischen Symptome der Herzinsuffizienz durch die Behandlung mit  $\beta$ -Blockern zeigen. Die Diskrepanz zwischen humanen und tierexperimentellen Studien kann nicht vollständig erklärt werden.

In dieser Arbeit sollten die therapeutischen Effekte von Metoprolol in einem Tiermodell der chronischen Herzinsuffizienz nach experimentellem Myokardinfarkt untersucht werden.

### **5.4.1 Einfluss von Metoprolol auf die Funktion des infarzierten Herzens**

Unter der Behandlung mit Metoprolol zeigte sich in der systolischen und besonders in der diastolischen Herzfunktion der infarzierten Tiere eine leichte Verbesserung gegenüber den unbehandelten Tieren. Jedoch waren die Unterschiede der funktionellen Parameter gegenüber der Infarkt/Kontrollgruppe weder in den nichtinvasiven noch in den invasiven Messungen signifikant.

Die zu allen Zeitpunkten der invasiven und nichtinvasiven Untersuchungen gemessene signifikant niedrigere Herzfrequenz der mit Metoprolol behandelten Tiere gegenüber den drei anderen Gruppen beweist, dass der negativ chronotrope  $\beta$ -Blocker einen ausreichend hohen Wirkspiegel im Tier erreichte.

In der Echokardiografie wiesen die metoprololbehandelten Tiere zu allen drei Zeitpunkten der Messung eine leicht verbesserte systolische Funktion gegenüber der Infarkt/Kontrollgruppe auf. So lagen die Werte der kontraktilitätsbeschreibenden Parameter wie die Vcf und das FS nach drei, acht und elf Wochen über denen der unbehandelten infarzierten Tiere. Auch das Herzzeitvolumen und die EF, Parameter die Auskunft über das Schlagvolumen geben, waren unter Metoprolol leicht erhöht.

In der abschließenden invasiven Herzkatheterisierung konnten sich jedoch diese Befunde nur zum Teil bestätigen. Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit des linken Ventrikels war nur schwach gegenüber den unbehandelten Infarkttieren verbessert und lag deutlich signifikant unter dem Wert der Scheinoperierten. Ein ähnliches Ergebnis brachte die Messung des maximalen systolischen Druckes im linken Ventrikel. Jedoch konnte unter Metoprololbehandlung der Aortenfluss signifikant erhöht werden gegenüber den unbehandelten Infarkttieren.

Die Parameter hingegen, welche die Diastole beschreiben, konnten unter Behandlung des selektiven  $\beta_1$ -Adrenorezeptorblockers weitgehendst normalisiert werden. Die E/A Ratio wurde deutlich gesenkt und die Dezelerationszeit (DeccT) der frühdiastolischen Füllungswelle signifikant verlängert. Dieser vorteilhafte Einfluss von Metoprolol auf das diastolische Füllungsmuster zeigte sich in der echokardiografischen Untersuchung besonders deutlich ab der elften Woche.

In der Abschlussuntersuchung mittels Herzkatheter kam es in der Infarkt/Metoprololgruppe zu einer Absenkung des enddiastolischen Druckes im linken Ventrikel. Im Widerspruch dazu stehen die Ergebnisse der Messung der maximalen Druckabstiegsgeschwindigkeit, ebenfalls ein Parameter der diastolischen Funktion, die keinen Unterschied zu den unbehandelten infarzierten Tieren zeigten.

Wie bereits erwähnt, findet man in der Literatur sehr unterschiedliche Aussagen über die Wirksamkeit von  $\beta$ -Blockern in tierexperimentellen Studien der Herzinsuffizienz. Von besonderer Relevanz ist hier die Substanz, die aus dieser Wirkstoffklasse untersucht wird, da die verschiedenen Generationen der  $\beta$ -Blocker unterschiedliche pharmakologische Eigenschaften besitzen.

Jedoch liegen auch mehrere Studien vor, die zwar die Wirkung derselben Substanz untersuchten, trotzdem aber zu unterschiedlichen Ergebnissen führten. Auch das in dieser Studie untersuchte Metoprolol zeigte in den Untersuchungen verschiedener Forschergruppen unterschiedliche Effekte. Während Prabhu und Kollegen in einer Infarktstudie an Ratten nach zwölfwöchiger Behandlung mit Metoprolol eine Verbesserung sowohl der Funktion als auch der Morphologie des Herzens zeigten (Prabhu et al. 2000), konnte eine Gruppe um Cherng im selben Tiermodell keinerlei Effekt der dreiwöchigen Metoprololbehandlung auf die linksventrikuläre Dysfunktion feststellen (Cherng et al. 1994). Ein entscheidender Unterschied der zwei Studien lag allerdings in der Dauer der Behandlung. Dieser Faktor ist bei der Therapie mit  $\beta$ -Blockern von großer Relevanz, da man zwischen akuten (bis zu drei Monaten) und langfristigen (ab drei Monaten) Effekten unterscheiden muss. Bei der initialen Gabe eines  $\beta$ -Blockers kann es zu einer depressiven Wirkung auf die kardiale Funktion kommen (Haber et al. 1993; Waagstein et al. 1989). Durch die Blockade der  $\beta_1$ -Rezeptoren wird eine negativ inotrope und chronotrope Wirkung im Myokard vermittelt (Packer 1998), die bei vielen Patienten zu einem deutlichen Abfall der

Schlagkraft des Herzens führt. Dies zeigte deutlich eine Studie von Hall und Kollegen, die die Wirkung der beta-adrenergen Blockade auf die kardiale Funktion im Zeitverlauf zeigten (Hall et al. 1995). Während es nach einmonatiger Therapie zu einer Verschlechterung der ventrikulären Funktion kam, zeigte sich erst nach zwei bis drei Monaten eine deutliche Verbesserung der funktionellen Parameter. Korrelierend dazu zeigen alle humanen Studien mit einer Dauer länger als ein Monat eine deutliche Verbesserung der ventrikulären Funktion bei herzinsuffizienten Patienten, wobei der Anstieg der Auswurffraktion den konsistentesten Befund der verbesserten Hämodynamik darstellt (Doughty et al. 1994; Eichhorn 1994). Eine klinische Studie von Hara et al. konnte nach mindestens sechsmonatiger Gabe von Metoprolol einen signifikanten Anstieg des FS der chronisch herzinsuffizienten Patienten belegen (Hara et al. 2000). Doch auch bei dreimonatiger Therapie lassen sich die überzeugenden Ergebnisse klinischer Studien nicht immer tierexperimentell reproduzieren. In einer groß angelegten zwölfwöchigen Rattenstudie von Yaoita und Kollegen wurden Carvedilol, Metoprolol und Propranolol vergleichend hinsichtlich ihrer Wirksamkeit bei ventrikulärer Dysfunktion nach koronarer Stenose oder koronarer Okklusion untersucht. Eine Verbesserung der kardialen Funktion unter beta-adrenerger Blockade konnte lediglich bei den Tieren mit Koronarstenose festgestellt werden, jedoch nicht bei den koronarligierten infarzierten Tieren (Yaoita et al. 2002). Diese Ergebnisse korrelieren mit meinen eigenen Untersuchungen aus dieser Studie. Es kann jedoch mit dem in dieser Arbeit verwendeten Versuchsprotokoll nicht geklärt werden, ob die Ursache für die mangelnde Wirksamkeit des  $\beta$ -Blockers hinsichtlich einer Verbesserung der systolischen Funktion in der Dauer der Behandlung lag, oder andere Faktoren eine Rolle spielten.

Die Normalisierung des diastolischen Füllungsmuster, wie es in dieser Studie mittels Echokardiografie festgestellt wurde, ist bereits von Omerovic et al. an der Ratte gezeigt worden (Omerovic et al. 2001). In ihrer Studie konnten sie unter  $\beta$ -Blockade eine Senkung der E/A-Ratio sowie eine Verlangsamung der DeccT feststellen. Diese tierexperimentellen Daten korrelieren mit denen aus klinischen Studien. In einer Studie von Eichhorn und Kollegen führte die chronische beta-adrenerge Blockade zu einer deutlich verbesserten Relaxation des Ventrikels sowie einer Normalisierung der diastolischen Funktion bei herzinsuffizienten Patienten (Eichhorn et al. 1990).

#### 5.4.2 Einfluss von Metoprolol auf die Morphologie des infarzierten Herzens

Die Ergebnisse der morphologischen Untersuchungen korrelieren mit denen der Funktion. Unter der Behandlung mit Metoprolol kam es bereits nach drei Wochen zu einer signifikanten Vergrößerung der enddiastolischen und der endsystolischen Durchmesser des linken Ventrikels. Im Gegensatz zu den mit Ramipril behandelten Tieren war dieser Prozess deutlich fortschreitend. Jedoch lagen die Werte der Diameter zu jedem Zeitpunkt der Messung unter denen der infarzierten Kontrolltiere, auch wenn die Unterschiede nicht signifikant waren.

Ähnlich waren die Ergebnisse der Herzgewichtsbestimmung. Auch hier zeigte sich eine deutliche Massenzunahme der infarzierten Herzen trotz Metoprololbehandlung. Trotzdem lag die ventrikuläre Masse unter der der unbehandelten Tiere, wenn auch kein signifikanter Unterschied bestand. Diese Ergebnisse korrelieren mit denen aus der

bereits diskutierten Studie von Yaoita und Kollegen. In dieser Studie wurde ebenfalls eine deutliche Vergrößerung des linksventrikulären Durchmessers trotz beta-adrenerger Blockade festgestellt (Yaoita et al. 2002). Ähnlich waren die Ergebnisse einer Studie von Omerovic et al., die ebenso keinen positiven Effekt von Metoprolol auf die Morphologie des infarzierten Herzens zeigen konnten (Omerovic et al. 2001). Hingegen konnte McDonald et al. in einer Studie am herzinsuffizienten Hund eine signifikante Reduktion der ventrikulären Masse und der Ventrikeldimensionen unter der Gabe von Metoprolol nachweisen (McDonald et al. 1994). Dieser am Hund festgestellte positive Einfluss von  $\beta$ -Blockern auf die Herzgeometrie korreliert mit den Ergebnissen klinischer Studien am herzinsuffizienten Patienten. Hall et al. und Gilbert et al. konnten in klinischen Langzeitstudien zeigen, dass unter chronischer beta-adrenerger Blockade die linksventrikulären Volumina verkleinert, die linksventrikuläre Masse vermindert sowie die geometrische Form des Herzens normalisiert werden konnten (Gilbert et al. 1996; Hall et al. 1995).

Die partielle Diskrepanz zwischen den Ergebnissen tierexperimenteller und klinischer Studien sowie die unterschiedlichen Ergebnisse zum Teil identischer Tierstudien sind nicht geklärt. Auch die in meinen Untersuchungen festgestellte mangelnde Wirksamkeit eines  $\beta$ -Blockers hinsichtlich einer Verbesserung der kardialen Morphologie ließe sich nur, wie bereits diskutiert, auf die eventuell zu kurz gewählte Behandlungsdauer zurückführen.

#### 5.4.3 Einfluss von Metoprolol auf die ANP Plasmaspiegel

Auch auf hämatologischer Ebene konnte ein Trend des therapeutischen Effektes der chronischen beta-adrenergen Blockade festgestellt werden. Die Plasmaspiegel des kardialen Markers proANP konnten durch die Gabe von Metoprolol gesenkt werden, jedoch wiesen die Unterschiede keine Signifikanz auf. Die Senkung der proANP Spiegel deutet allerdings auf eine Minderung der Druck- und Volumenüberlastung des infarzierten Herzens durch die beta-adrenerge Blockade hin. In klinischen Studien allerdings führte die chronische Betablockade zu einer signifikanten Reduktion der neurohormonalen Aktivierung. Hara und Kollegen konnten in einer klinischen Studie zeigen, dass nach mindestens sechsmonatiger Gabe von Metoprolol die ANP Spiegel chronisch herzinsuffizienter Patienten signifikant gesenkt werden konnten (Hara-Yhamada et al. 2000).

#### 5.4.4 Wirkmechanismen der $\beta_1$ -selektiven Adrenorezeptorblocker

Die Mechanismen, die der hohen therapeutischen Wirksamkeit der  $\beta$ -Adrenorezeptorblocker in der Herzinsuffizienz des Menschen zugrunde liegen, sind bis heute nicht eindeutig geklärt. Erschwert wird das vollständige Verstehen der Wirkmechanismen durch die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen humaner und tierexperimenteller Studien.

Wie bereits beschrieben hat das in der chronischen Herzinsuffizienz anhaltend aktivierte sympathische adrenerge System (SAS) mehrere schädigende Effekte auf das Myokard. Eine Blockade des SAS durch selektive oder nichtselektive  $\beta$ -Blocker stellt somit einen wichtigen therapeutischen Ansatz dar, die Progression der Herzinsuffizienz zu verlangsamen.

Die physiologische Wirkung der Katecholamine (positive Inotropie) wird bei chronischer Stimulation des SAS über eine veränderte  $\beta$ -adrenerge Signaltransduktion vermindert. Eine Therapie mit  $\beta$ -Blockern kann diesen Signalweg partiell normalisieren, so dass die myokardiale kontraktile Reserve erhöht wird. So konnte für Metoprolol gezeigt werden, dass die Runterregulation der  $\beta_1$ -adrenergen Rezeptoren aufgehoben werden kann und somit die intrinsische linksventrikuläre Funktion verbessert werden konnte (Hall et al. 1990; Waagstein et al. 1989). Weitere molekulare Veränderungen wie die Entkopplung der  $\beta_2$ -adrenergen Rezeptoren konnten ebenfalls durch  $\beta_1$ -selektive  $\beta$ -Blocker normalisiert werden (Hall et al. 1990). Die „Rekopplung“ der  $\beta_2$ -adrenergen Rezeptoren wird über einen kreuzregulatorischen Mechanismus durch die Blockade der  $\beta_1$ -adrenergen Rezeptoren vermittelt (Hall et al. 1990). Die verbesserte intrinsische systolische Funktion im Myokard erhöht die Kontraktilität des Ventrikels, was sich in einem erhöhten Schlagvolumen äußert (Eichhorn und Bristow 1994). Die verbesserte Kontraktilität des Myokards kann neben der Normalisierung des Signaltransduktionsweges auch durch einen direkten Einfluss der  $\beta$ -Blocker auf die kontraktile Funktion der Kardiomyozyten erklärt werden. Glass et al. konnten in einer tierexperimentellen Studie nachweisen, dass beta-adrenerge Blockade zu einer Normalisierung des gestörten Kalziumhaushaltes der Zelle führte und die Dysfunktion des sarkoplasmatischen Retikulums des insuffizienten Myokards vermindert werden konnte (Glass et al. 1993). Tsutsui und Kollegen stellten in einem Herzinsuffizienzmodell am Hund weiterhin fest, dass die Behandlung mit einem  $\beta$ -Blocker in einem erhöhten Myofibrillengehalt auf myozytärer Ebene resultierte und somit die Anzahl der kontraktilen Elemente im Myokard erhöht werden konnte (Tsutsui et al. 1994).

Einen weiteren Wirkmechanismus, der auch klinisch offensichtlich ist, stellt die Absenkung der Herzrate dar. Die negativ chronotrope Wirkung von  $\beta$ -Blockern wirkt sich im Krankheitsbild der Herzinsuffizienz günstig auf das Myokard aus. Bei erniedrigter Herzfrequenz kommt es prinzipiell zu einer Verlängerung der Diastole. Dies wiederum führt zu einer verbesserten Versorgung des Myokards, da die Durchblutung der Koronargefäße in der Diastole geschieht (Ferro et al. 1991). Durch die Verlängerung der Diastole kommt ebenfalls zu einer Normalisierung des Füllungsmusters in der Relaxationsphase des Ventrikels. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass durch die normalisierte diastolische Füllung das Herz den Frank-Starling Mechanismus besser nutzen kann (Gilbert et al. 1990, Metra et al. 1994; Olsen et al. 1995).

Eine weitere Folge der Blockade des SAS ist eine Veränderung des Stoffwechsels im Myokard. Das metabolische Muster verschiebt sich von der Fett- zur Kohlenhydratverbrennung, was zu einer erhöhten Energieeffizienz bei niedrigerem Sauerstoffbedarf führt (Neubauer et al. 1992). So kommt es durch die Absenkung der Herzrate und die Änderung des Energiestoffwechsels in der Zelle zu einer Senkung des oxidativen und des metabolischen Stress des Myokards. Dadurch kann ein Zelluntergang durch Nekrose oder Apoptose im insuffizienten Myokard vermindert werden.

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, kommt dem chronisch aktivierten SAS eine Schlüsselrolle bei dem Prozess der Hypertrophie im Myokard zu. Dieser wichtige auslösende Faktor des kardialen Remodellings kann durch die Blockade des SAS abgeschwächt werden. Dies beweist eine Studie am herzinsuffizienten Patienten von Hall und Kollegen, die nach 18-monatiger Therapie mit einem  $\beta$ -Blocker eine Reduktion der linksventrikulären Masse zeigen konnten (Hall et al. 1995). Des Weiteren normalisierte sich die kugelige Form des insuffizienten Herzens zurück zur ellipsoiden Form.  $\beta$ -Blocker verlangsamten demzufolge nicht nur die morphologischen Veränderungen des insuffizienten Herzens, sondern können als einzige Wirkstoffklasse die pathologischen Prozesse des ventrikulären Remodellings rückgängig machen (Eichhorn und Bristow 1994; Lowes et al. 1996).

Neben dem direkten hemmenden Einfluss auf das SAS werden auch indirekte Wirkungen der  $\beta$ -Adrenorezeptorblocker diskutiert. So gibt es Hinweise, dass diese Substanzklasse einen hemmenden Effekt auf das Renin-Angiotensin-System besitzt, die Freisetzung von Endothelin vermindert und den linksventrikulären Wandstress reduziert (Eichhorn und Bristow 1994).

### **5.5 Die Korrelation zwischen invasiven und nichtinvasiven Daten in diesem Versuchsmodell**

In dieser Studie, welche die Etablierung eines Tiermodells der chronischen Herzinsuffizienz sowie die Prüfung zweier medikamentheller Interventionen umfasste, wurden sowohl invasive als auch nichtinvasive Untersuchungsmethoden eingesetzt. Insbesondere bei chronischen Erkrankungen sind nicht invasive Untersuchungsmethoden wünschenswert, weil sie wiederholt am gleichen Patienten bzw. Versuchstier angewandt werden können und somit eine Verlaufsbeobachtung ermöglichen. Grundvoraussetzung ist jedoch, dass die eingesetzten nicht-invasiven Methoden eine verlässliche Aussage über den Schweregrad der Erkrankung erlauben. Daher wurden in dieser Studie die nicht-invasiv erhobenen echokardiografischen Daten, welche die systolische und diastolische Funktion des Herzens beschreiben, mit denen aus der Herzkatheteruntersuchung verglichen, um die Zuverlässigkeit der echokardiografischen Daten zu eruieren.

Bei den Parametern der systolischen Funktion zeigte sich eine mäßige bis gute Korrelation zwischen den echokardiografischen Daten und denen der Herzkatheterisierung. DP/dt max ist ein Maß für die Kontraktilität des Ventrikels und

sein Abfall gilt als ein Hauptkriterium der systolischen Dysfunktion bei herzinsuffizienten Patienten (Haber et al. 1993). Im Herzultraschall werden die Parameter Vcf und FS zur Beurteilung der Kontraktilität herangezogen (Sjaastad et al. 2000, Wong et al. 1993). In diesem Versuchsmodell zeigte sich eine bessere Korrelation zwischen  $dP/dt$  max und Vcf, so dass Vcf bei der Interpretation der echokardiografischen hinsichtlich der Kontraktilität der Vorrang gegeben werden sollte. Dies ist von besonderer Bedeutung, da Vcf als ein weitgehend lastunabhängiger Parameter (Colan et al. 1984) gilt und somit der Einfluss der verwendeten Narkotika auf diesen Parameter zu vernachlässigen ist.

Nachdem mehrere klinische Studien gezeigt haben, dass eine Verschlechterung des diastolischen Füllungsmusters eng mit erhöhter Hospitalisation und NYHA Grad korreliert (Steen et al. 1999), sind die diastolischen Parameter in einem Modell der Herzinsuffizienz ebenfalls von großer Bedeutung. Meine Untersuchungen zeigten, wie zu erwarten, eine negative Korrelation zwischen DeccT und  $dPdt$  min, die jedoch relativ schwach war. Die diastolische Funktion des Ventrikels in der Relaxationsphase ist stark abhängig vom Füllungsgrad der Ventrikels, so dass hier der Einfluss verschiedener Narkotika von großer Relevanz sein kann. Da es sowohl bei der Durchführung der Echokardiografie als auch bei der abschließenden invasiven Herzkatheteruntersuchung praktisch nicht möglich ist bei allen Tieren eine exakt vergleichbare Narkosetiefe zu erzielen, ist eine lastabhängige Beeinflussung der funktionellen Parameter durch die Narkose nicht auszuschließen.

In meiner Studie konnte allerdings die gute Korrelation zwischen DeccT und pro-ANP Spiegel bestätigt werden, wie sie bereits von Yu und Kollegen gezeigt wurde (Yu et al. 1996).

Die in der Herzinsuffizienz einsetzenden morphologischen Veränderungen spiegeln sich sowohl in einer Massenzunahme als auch in einer Umfangsvergrößerung des linken Ventrikels wider. In meiner Studie konnte eine gute Korrelation zwischen LVDeD und pro-ANP bestätigt werden (Saito et al. 1987). Dies belegt, dass pro-ANP ein guter Surrogatmarker zur Bestimmung des Schweregrads der Herzinsuffizienz ist. Es fand sich ebenfalls eine wenn auch nicht so gute Korrelation zwischen dem linksventrikulären Gewicht und dem LVDeD. Da das linksventrikuläre Gewicht nur in tierexperimentellen Studien und nicht beim Patienten bestimmt werden kann, kommt dieser Korrelation nur eine untergeordnete Bedeutung zu.

Abschließend lässt sich aus meinen Ergebnissen ableiten, dass nicht alle nichtinvasiven Parameter eine gute Korrelation zu den invasiven Daten aufwiesen. Trotzdem war anhand der echokardiografischen Daten eine zuverlässige Aussage nicht nur über die Morphologie, sondern auch die Funktion des Herzens zu treffen. Die im Herzultraschall festgestellten Unterschiede zwischen den vier Gruppen wurden durch die invasiven Messungen bestätigt. Es bleibt zu erwähnen, dass besonders bei der Durchführung der Echokardiografie die Erfahrung des Untersuchers eine große Rolle spielt.

## 6. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht die klinische Relevanz des Tiermodells der chronischen Herzinsuffizienz nach Koronarligatur im Kaninchen sowie die therapeutischen Effekte der chronischen ACE-Hemmung und  $\beta$ -Blockade.

Die chronische Herzinsuffizienz (CHF) stellt trotz der medizinischen Fortschritte der letzten Jahrzehnte weiterhin eines der bedeutendsten Gesundheitsprobleme der zivilisierten Länder dar. Daher ist ein weitreichendes Verständnis der komplexen Pathomechanismen dieser Erkrankung sowie die Entwicklung neuer Therapieansätze notwendig. Das Ziel dieser Dissertation war die Etablierung eines klinisch relevanten Tiermodell der chronischen Herzinsuffizienz, das die präklinische Prüfung von neuen Therapieansätzen erlaubt. Daher wurde das Modell mit einem Standardtherapeutikum der CHF, ein ACE-Hemmer, validiert. Weiterhin wurden die Effekte der chronischen  $\beta$ -Blockade in diesem Modell untersucht. Auch wenn  $\beta$ -Blocker heute zur Standardmedikation herzinsuffizienter Patienten gehören, sind die zugrundeliegenden Wirkmechanismen bis heute nicht eindeutig geklärt, und es besteht eine Diskrepanz zwischen den Ergebnissen präklinischer und klinischer Studien. Die abschließende Untersuchung der Korrelation zwischen invasiven und nichtinvasiven Daten sollte den Wert des Herzultraschalls in diesem Versuchsmodell beurteilen. Anhand der echokardiografischen Untersuchungen konnte eine zuverlässige Aussage sowohl über Morphologie als auch über die Funktion des linken Ventrikels getroffen werden, die durch die späteren invasiven Untersuchungen bestätigt wurde.

In der Entwicklung der dekompensierten Herzinsuffizienz kommt es zu einer Reihe neurohormonaler, funktioneller und struktureller Veränderungen des kardiovaskulären Systems, die mittels invasiver und nichtinvasiver Untersuchungen dokumentiert werden können. Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag in der Beurteilung der Morphologie und der Funktion des Herzens mittels Herzultraschall und Herzkatheterisierung. Infolge des Myokardinfarktes kam es bei den koronarligierten Kaninchen zu einer fortschreitenden Ventrikeldilatation sowie einer signifikanten Verschlechterung der linksventrikulären systolischen und diastolischen Funktion. Klinische Symptome wie Kurzatmigkeit, Zyanose oder periphere Ödeme traten bei den Tieren nicht auf, so dass dieses Versuchsmodell einer CHF der NYHA Klasse II-III entsprach.

Die chronische Gabe eines ACE-Hemmers führte zu einer signifikanten Verbesserung der systolischen Dysfunktion und einer Verlangsamung der progressiven Umfangsvergrößerung des linken Ventrikels. Durch den Nachweis der therapeutischen Wirksamkeit dieses Standardtherapeutikums der CHF in meiner Studie konnte das Modell validiert werden. Die chronische Gabe eines selektiven  $\beta_1$ -Adrenorezeptorblocker führte in dieser Arbeit zu keiner signifikanten Verbesserung der systolischen Funktion und konnte die Progression der Ventrikeldilatation nicht aufhalten. Hier war lediglich ein Trend zu beobachten. Die gestörte diastolische Funktion hingegen konnte durch die betaadrenerge Blockade weitgehendst normalisiert werden. Ungeklärt blieb somit die mangelnde Wirksamkeit des  $\beta$ -Blockers auf die systolische Funktion des Herzens, wobei der relativ kurz gewählten Behandlungsdauer eine entscheidende Rolle zukommt.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass das Herzinsuffizienzmodell im Kaninchen geeignet ist, um die Pathomechanismen der CHF zu erforschen und neue medikamentelle Interventionen zu prüfen. Ausserdem konnte die Validität des nicht-invasiven Herzultraschalls zur Untersuchung nicht nur der Morphologie, sondern auch der Funktion des Herzens belegt werden.

## 7. Summary

The aim of this study was to investigate the clinical relevance of the animal model of chronic heart failure after myocardial infarction in the rabbit and to examine the effects of treatment with an angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI) and a  $\beta$ -blocker in this model.

Despite of recent advances in medical treatment, congestive heart failure (CHF) remains a serious public health problem responsible for 30% of worldwide mortality. This shows the importance of extensive understanding of the complex pathophysiology of the disease and the need for development of new therapeutic concepts. Therefore, the aim of this thesis was the establishment of a clinical relevant model of CHF and its validation with an ACEI, which is a standard therapy in CHF. In addition, I investigated the effects of chronic beta-adrenergic blockade in this model. Today,  $\beta$ -blocker are part of the standard medication in CHF patients but there is a discrepancy in experimental and clinical observations and the precise mechanisms responsible for the therapeutic effect of  $\beta$ -blockers have not completely been understood. The progression of CHF is accompanied by an enlargement of the left ventricle and a progressive systolic and diastolic dysfunction as well as activation of the neurohormonal system. The morphological and functional alterations can be analyzed by invasive and non-invasive methods. This study focussed on the examination of left ventricular morphology and function by echocardiography and catheterization. The final investigation of the correlation between invasive and non-invasive parameters proved the high value of echocardiography for the non-invasive assessment of morphological and functional changes in congestive heart failure over time.

Myocardial infarction in the rabbits was induced by coronary ligation. Consequently these animals developed progressive left ventricular dilation and systolic and diastolic dysfunction. The developed CHF in this animal model is equivalent to NYHA class II-III as clinical symptoms such as fatigue, shortness of breath, and congestion were not observed.

Treatment with the ACEI ramipril slowed down the left ventricular enlargement, significantly improved systolic dysfunction and normalized diastolic dysfunction in the infarcted animals. The therapeutic efficacy is equal to CHF patients and thus validated this animal model.

In my investigations the  $\beta_1$ -selective adrenergic blockade with metoprolol could not prevent the left ventricular enlargement and showed no significant improvement of systolic dysfunction. However, it normalized the impaired diastolic function. The short duration of treatment could be an explanation for the lack of efficacy on systolic function by metoprolol.

Thus, I established a validated animal model of CHF by coronary artery ligation in the rabbit and demonstrated that echocardiography is a valid non-invasive method to assess not only morphological but also functional alterations in CHF. In addition, I demonstrated the usefulness of this animal model of CHF in the rabbit for the evaluation of new pharmacological approaches for the treatment of congestive heart failure.

## 8. Literaturverzeichnis

### **Abraham-WT**

*β-Blockers*

Arch Intern Med 2000; 160: 1237-1247

### **Abraham-WT; Port-JD; Bristow-MR**

*Neurohormonal receptors in the failing heart.*

Heart failure, Churchill Livingstone 1997: 127-41

### **AIRE Study Investigators**

*Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure*

Lancet 1993; 342: 821-828

### **American Heart Association**

*1998 heart and stroke statistical update*

Dallas: American Heart Association; 18-19

### **Andrew-PJ; Mayer-B**

*Enzymatic function of nitric oxide synthases*

Cardiovasc Res 1999; 43: 521-531

### **Anversa-P; Ricci-R; Olivetti-G**

*Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: a review*

J Am Coll Cardiol 1987; 7: 1140-9

### **Anversa-P; Olivetti-G; Capasso-JM**

*Cellular basis of ventricular remodeling after myocardial infarction*

Am J Cardiol 1991; 68: 7D-11D

### **Arai-M; Alpert-NR; MacLennan-DH; Barton-P; Periasamy-M**

*Alterations in sarcoplasmic reticulum gene expression in human heart failure. A possible mechanism for alterations in systolic and diastolic properties of the failing myocardium*

Circ Res 1993; 72: 463-469

### **Arai-M; Matsui-H; Periasamy-M**

*Sarcoplasmic reticulum gene expression in cardiac hypertrophy and heart failure*

Circ Res 1994; 74: 555-564

**Arnolda-L; McGrath-B; Cocks-M; Sumithran-E; Johnston-C**

*Adriamycin cardiomyopathy in the rabbit: an animal model of low output cardiac failure with activation of vasoconstrictor mechanisms*

Cardiovasc Res 1985; 19: 378-382

**Aurigemma-GP; Gottdiener-JS; Shemanski-L; Gardin-J; Kitzman-D**

*Predictive value of systolic and diastolic function for incident congestive heart failure in the elderly: the cardiovascular health study*

J Am Coll Cardiol 2001; 37: 1042-1048

**Awolesi-MA; Sessa-WC; Sumpio-BE**

*Cyclic strain upregulates nitric oxide synthase in cultured bovine aortic endothelial cells*

J Clin Invest 1995; 90: 2092-2096

**Bajusz-E**

*Hereditary cardiomyopathy: a new disease model*

Am Heart J 1969; 26: 153-161

**Baker-KM; Booz-GW; Dostal-DE**

*Cardiac actions of angiotensin II. Role of an intracardiac renin-angiotensin system*

Annu Rev Physiol 1992; 54: 227-241

**Baumgarten-CR; Linz-W; Kunke-G; Schoelkens-BA; Wiemer-G**

*Ramiprilat increases bradykinin outflow from isolated rat hearts*

British J of Pharmacol 1993; 108: 293-295

**Bers-DM**

*Control of cardiac contraction by SR-Ca release and sarcolemmal-Ca fluxes*

Developments in cardiovascular medicine 1991; 122: 149-170

**Bettencourt-P; Ferreira-A; Dias-P; Pimenta-J; Frioies-F; Martins-L; CerqueiraGomes-M**

*Predictors of prognosis in patients with stable mild to moderate heart failure*

J Cardiac Fail 2000; 6: 306-313

**Beuckelmann-DJ; Nabauer-M; Erdmann-E**

*Intracellular calcium handling in isolated ventricular myocytes from patients with terminal heart failure*

Circulation 1992; 85: 1046-1055

**Bing-OH; Brooks-WW; Conrad-CH et al.**

*Intracellular calcium transients in myocardium from spontaneously hypertensive rats during the transition to heart failure*

Circ Res 1991; 68: 1390-1400

**Boland-DG; Abraham-WT**

*Natriuretic peptides in heart failure*  
Congestive Heart Fail 1998; 4: 23-33

**Bolognese-L; Cerisana-G**

*Early predictors of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction*  
Am Heart J 1999; 138: S79-S83

**Boulanger-CM; Vanhoutte-PM**

*G-proteins and endothelium-dependent relaxations*  
J Vasc Res 1997; 34: 175-185

**Braunwald-E**

*Congestive heart failure: a half century perspective*  
Europ Heart J 2001; 22: 825-836

**Bristow-MR**

*Mechanism of action of beta-blocking agents in heart failure*  
Am J Cardiol 1997; 80: 26L-40L

**Bristow-MR**

*Changes in myocardial and vascular receptors in heart failure*  
J Am Coll Cardiol 1993; 22: 61A-71A

**Bristow-MR; Gilbert-EM; Lowes-BD; Minobe-W; Shakar-J; Quaife-RA; Abraham-WT**

*Changes in myocardial gene expression associated with betablocker related improvement in ventricular systolic function*  
Circulation 1997

**Bristow-MR; Ginsburg-R; Minobe-A; Cubicotti-RS; Sagemann-WS; Lurie-K; Billingham-ME; Harrison-DC; Stinson-EB**

*Decreased catecholamine sensitivity and beta-adrenergic receptor density in failing human hearts*  
N Engl J Med; 1982; 307: 205-211

**Brown-N; Vaughan-DE**

*Angiotensin-converting enzyme inhibitors*  
Circulation 1998; 97: 1411-1420

**Brunner La Rocca-HP; Weilenmann-D; Kiowski-W; Maly-FE; Candinas-R; Follath-F**

*Within-patient comparison of effects of different dosages of enalapril on functional capacity and neurohormone levels in patients with chronic heart failure*  
Am Heart J 1999; 138: 654-662

**Capasso-JM; Li-P; Guideri-G et al.**

*Myocardial mechanical, biochemical and structural alterations induced by chronic ethanol ingestion in rats*

Circ Res 1992; 71: 346-356

**Chakko-S; Wosaka-D; Martinez-H, de Marchena-E; Futterman-L; Kessler-KM; Myerberg-RJ**

*Clinical, radiographic and hemodynamic correlations in chronic congestive heart failure: conflicting results may lead to inappropriate care*

Am J Med 1991; 90: 353-359

**Chalmers-JP; West-MJ; Cyran-J**

*Placebo-controlled study of lisinopril in congestive heart failure: a multicentre study*

J Cardiovasc Pharmacol 1987; 9: S89-S97

**Chareonthaitawee-P; Christian-TF; Hirose-K et al.**

*Relation of initial infarct size to extent of left ventricular remodeling in the year after acute myocardial infarction*

J Am Coll Cardiol 1995; 25: 567-73

**Cherng-WJ; Liang-CS; Hood-WB**

*Effects of metoprolol on left ventricular function in rats with myocardial infarction*

Am J Physiol 1994; 35: H787-H794

**Clerico-A; Iervasi-G; Pilo-A**

*Turnover studies on cardiac natriuretic peptides: methodological, pathophysiological and therapeutical considerations*

Curr Drug Metab 2000; 1: 85-105

**Cohn-JN**

*The management of chronic heart failure*

N Engl J Med 1996; 335: 490-498

**Cohn-JN; Ferrari-R; Sharpe-N**

*Cardiac remodeling – Concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling*

J Am Coll Cardiol 2000; 35:569-582

**Cohn-JN; Johnson-GR; Shabetai-R; Loeb-H; Tristani-F; Rector-T; Smith-R; Fletcher-S for the V-heFT VA Cooperative Studies Group**

*Ejection fraction, peak exercise oxygen consumption, cardiothoracic ratio, ventricular arrhythmias, and plasma norepinephrine as determinants of prognosis in heart failure*

Circulation 1993; 87: VI5-VI16

**Cohn-JN; Rector-TS**

*Prognosis of congestive heart failure and predictors of mortality*  
Am J Cardiol 1988; 62: 25A-30A

**Colucci-WS**

*Molecular and cellular mechanisms of myocardial failure*  
Am J Cardiol 1997; 80: 15L-25L

**Currie-S; Smith-GL**

*Enhanced phosphorylation of phospholamban and downregulation of sarco/endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  ATPase type 2 (SERCA2) in cardiac sarcoplasmic reticulum from rabbits with heart failure*  
Cardiovasc Res 1999; 41: 135-141

**Daggubati-S; Parks-JR; Overton-RM; Cintron-G; Schokken-DD; Vesely-DL**

*Adrenomedullin, endothelin, neuropeptide Y, atrial brain and C-natriuretic prohormone peptides compared as early heart failure indicators*  
Cardiovasc Res 1997;36: 246-255

**De Belder-AJ; Radomski-M; Why-H; Richardson-PJ; Bucknall-CA; Salas-E; Martin-J**

*Nitric oxide synthase activities in human myocardium*  
Lancet 1993; 341: 84-85

**Dhalla-NS; Kaura-D; Liu-X; Beamish-RE**

*Mechanisms of subcellular remodeling in postinfarct heart failure*  
*Myocardial Ischemia: Mechanisms, Reperfusion, Protection*  
Birkhäuser Verlag Basel 1996: 463-477

**Doughty-RN; MacMahon-S; Sharpe-N**

*Beta-blockers in heart failure: promising or proved?*  
J Am Coll Cardiol 1994; 23: 814-821

**Douglas-PS; Morrow-R; Ioli-A; Reichek-N**

*Left ventricular shape, afterload and survival in idiopathic dilated cardiomyopathy*  
J Am Coll Cardiol 1989; 13: 311-315

**Dzau-VJ und Re-R**

*Tissue angiotensin system in cardiovascular medicine. A paradigm shift?*  
Circulation 1994; 89:493-498

**Eckert-HG; Badian-MJ; Gantz-D**

*Pharmacokinetics and biotransformation of 2-[N-[(S)-1-ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl]-L-alanyl]-(1S,3S,5S)-2-azabicyclo [3.3.0] octane-3-carboxylic acid (HOE 498) in rat, dog and man*  
Arzneimittelforschung 1984; 34: 1435-1447

**Eichhorn-EJ**

*Do  $\beta$ -blockers have a role in patients with congestive heart failure?*  
Cardiol Clin 1994; 12:133-142

**Eichhorn-EJ; Bedotto-JB; Malloy-CR; Hatfield-BA; Deitchman-D; Brown-M; Willard-JE; Grayburn-PA**

*Effect of beta-adrenergic blockade on myocardial function and energetics in congestive heart failure: improvements in hemodynamic, contractile and diastolic performance with bucindolol*  
Circulation 1990; 82: 473-483

**Eichhorn-EJ und Bristow-MR**

*The Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival (COPERNICUS) trial*  
Curr Control Trials Cardiovasc Med 2001; 2: 20-23

**Eichhorn-EJ und Bristow-MR**

*Evidence that medical therapy can improve the inherent biological function of the failing heart*  
Circulation 1994; 9: 2285-2313

**Ezzaher-A,; el Houda Bouanani-N; Crozatier-B**

*Force-frequency relations and response to ryanodine in failing rabbit hearts*  
Am J Physiol 1992; 263: H1710-1715

**Farrell-AJ; Blake-DR; Palmer-RM; Moncada-S**

*Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases*  
Ann Rheum Dis 1992; 51: 1219-1222

**Feldmann-AM; Weinberg-EO; Ray-PE; Lorell-BH**

*Selective changes in cardiac gene expression during compensated hypertrophy and the transition to cardiac decompensation in rats with chronic aortic banding*  
Circ Res 1993; 73: 184-192

**Florea-VG; Mareyev-VY; Samko-AN; Orlova-IA; Coats-AJS; Belenkov-YN**

*Left ventricular remodeling: common process in patients with different primary myocardial disorders*  
Int J Cardiol 1999; 68: 281-287

**Forstermann-U; Kleinert-H**

*Nitric oxide synthase: expression and expressional control of the three isoforms*  
Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1995; 352: 351-364

**Fowler-MB; Laser-JA; Hopkins-JL; Minobe-W; Bristow-MR**

*Assessment of the  $\beta$ -adrenergic receptor pathway in the intact failing human heart: progressive receptor down-regulation and subsensitivity to agonist response*  
Circulation 1986; 74: 1290-1302

**Freedman-NJ; Liggett-SB; Drachman-DE; Pei-G; Caron-MJ; Lefkowitz-RJ**

*Phosphorylation and desensitization of human  $\beta_1$ -adrenergic receptor*  
J Biol Chem 1995; 270: 17953-17961

**Furchgott-RF; Zawadzki-JV**

*The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine*  
Nature 1980; 288: 373-376

**Gaudron-P; Eiles-C; Kugler-I et al.**

*Progressive left ventricular dysfunction and remodeling after myocardial infarction: potential mechanisms and early predictors*  
Circulation 1993; 87: 755-763

**Gavras-H; Faxon-DP; Berkoben-J; Brunner-HR; Ryan-TJ**

*Angiotensin converting enzyme inhibition in patients with congestive heart failure*  
Circulation 1978; 58: 770-776

**Gay-RG**

*Early and late effects of captopril treatment after large myocardial infarction in rats*  
J Am Coll Cardiol 1990; 16: 967-977

**Gilbert-EM; Abraham-WT; Olsen-S; Hattler-B; White-M; Mealy-P; Larrabee-P; Bristow-MR**

*Comparative hemodynamic, left ventricular functional, and anti-adrenergic effects of chronic treatment with metoprolol versus carvedilol in the failing heart*  
Circulation 1996; 94: 2817-2825

**Gilbert-EM; Anderson-JL; Deitchman-D; Yanowitz-FG; O'Connell-JB; Renlund-DG; Bartholomew-M; Mealey-PC; Larrabee-P; Bristow-MR**

*Long-term  $\beta$ -blocker vasodilator therapy improves cardiac function in idiopathic dilated cardiomyopathy: a double-blind, randomized study of bucindolol versus placebo*  
Am J Med 1990; 88: 223-229

**Glass-MG; Reis-I; Cory-CR; O'Brien-PJ; Gwathmey-JK**

*Reversal of the negative Treppe with beat-blockers: role of sarcoplasmic reticulum function and myocardial energetics*  
Circulation 1993; 88: I-526

**Greenberg-B ; Quinones-MA ; Koilpillai-C ; Limacher-M ; Shindler-D ; Benedict-C ; Shelton-B ; for the SOLVD investigators**

*Effects of long-term enalapril therapy on cardiac structure and function in patients with left ventricular dysfunction: results of the SOLVD Echocardiography Substudy*  
Circulation 1995; 91: 2573-2581

**Gupta-RC; Shimoyama-H; Tanimura-M et al.**

*SR CA-ATPase activity and expression in ventricular myocardium of dogs with heart failure*

Am J Physiol 1997; 273: H12-18

**Haber-HL; Christopher-LS; Gimple-MW; Bergin-JD; Subbiah-ME; Jayaweera-AR; Powers-ER; Feldman-MD**

*Why do patients with congestive heart failure tolerate the initiation of  $\beta$ -blocker therapy?*

Circulation 1993; 88: 1610-1619

**Hall-S; Cigarroa-CG; Marcoux-L; Risser-CG; Grayburn-PA; Eichhorn-EJ**

*Time course of improvement of left ventricular function, mass and geometry in patients with congestive heart failure treated with beta-adrenergic blockade*

J Am Coll Cardiol 1995; 25: 1154-1161

**Hall-S; Kaumann-AJ; Brown-MJ**

*Selective  $\beta_1$ -adrenoreceptor blockade enhances positive inotropic responses to endogenous catecholamines mediated through  $\beta_2$ -adrenoreceptors in human atrial myocardium*

Circ Res 1990; 66: 1610-1623

**Hall-C; Rouleau-JL; Moyer-L et al.**

*N-terminal proatrial natriuretic factor. An independent predictor of long-term prognosis after myocardial infarction*

Circulation 1994; 89: 1934-1942

**Hara-Yhamada-M; Shigematsu-Y; Suzuki-M; Kuwahara-T; Hashida-H; Ikeda-S; Ohtsuka-T; Hiasa-G; Hiwada-K**

*Effect of beta-blocker on left ventricular function and natriuretic peptides in patients with chronic heart failure treated with angiotensin-converting enzyme inhibitor*

Jpn Circ J 2000; 64: 365-369

**Hasenfuss-G**

*Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy*

Cardiovasc Res 1998; 39: 60-76

**Hasenfuss-G; Holubarsch-C; Heiss-HW**

*Myocardial energetics in patients with dilated cardiomyopathy. Influence of nitroprusside and enoximone*

Circulation 1989; 80: 51-64

**Hasenfuss-G; Mulieri-LA; Blanchard-EM et al.**

*Energetics of isometric force development in control and volume-overload human myocardium. Comparison with animal species*

Circ Res 1991; 68: 836-846

**Haywood-GA; Tsao-PS; von der Leyen-HE; Mann-DE; Keeling-PJ; Trindade-PT; Cooke-JP; Byrne-CD; Rickenbacher-PR; Bishopric-NH, McKenna-WJ; Fowler-MB**

*Expression of inducible nitric oxide synthase in human heart failure*

Circulation 1996; 93: 1087-1094

**Hirsch-AT; Talsness-CE; Schunkert-H; Paul-M; Dzau-VJ;**

*Tissue specific activation of the cardiac angiotensin converting enzyme in experimental heart failure*

Circ Res 1991; 69: 475-482

**Ho-KK; Anderson-KM; Kannel-WB; Grossmann-W; Levy-D**

*Survival after the onset of congestive heart failure in Framingham Heart Study subjects*

Circulation 1993; 88:107-115

**Hochmann-JS; Bulkley-BH**

*Expansion of acute myocardial infarction; an experimental study*

Circulation 19982; 65: 1446-1450

**Hoit-BD; Khoury-SF; Kranias-EG; Ball-N; Walsh-RA**

*In vivo echocardiographic detection of enhanced left ventricular function in gene-targeted mice with phospholamban deficiency*

Circ Res 1995; 77: 632-3-637

**Hornig-B; Drexler-H**

*Endothelial function and bradykinin in humans*

Drugs 1997; 54: 42-47

**Hystad-ME; Geiran-OR; Attramadal-H; Spurkland-A; Vege-A; Simonsen-S; Hall-C**

*Regional cardiac expression and concentration of natriuretic peptides in patients with severe chronic heart failure*

Acta Physiol Scand 2001; 171: 395-403

**Indik-JH; Goldman-S; Gaballa-MA**

*Oxidative stress contributes to vascular endothelial dysfunction in heart failure*  
Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001; 281: H1767-H1770

**Kamran Baig-M; Mahon-N; McKenna-WJ; Caforio-A; Bonow-R; Francis-G; Gheorghiade-M**

*The pathophysiology of advanced heart failure*  
Am Heart J 1998; 135: S216-S230

**Kannel-WB; Castelli-WP; McNamara-P; McKee-PA; Feinlieb-M**

*Role of blood pressure in the development of congestive heart failure*  
N Engl J Med 1972; 287: 781-787

**Keogh-AM; Baron-DW; Hickie-JB**

*Prognostic guides in patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy assessed for cardiac transplantation*  
Am J Cardiol 1990; 65: 903-908

**Khalil-ME; Basher-AW; Brown-EJ; Alhaddad-IA**

*A remarkable medical story: benefits of angiotensin-converting enzyme inhibitors in cardiac patients*  
J Am Coll Cardiol 2001; 37: 1757-1764

**Kim-JK; Summer-SN; Dürr-J; Schrier-RW**

*Enzymatic and binding effects of atrial natriuretic factor in glomeruli and nephrons*  
Kidney Int 1989; 35: 799-805

**Kim-NN, Villegas-S; Summerour-SR; et al.**

*Regulation of cardiac fibroblast extracellular matrix production by bradykinin and nitric oxide*  
J Mol Cell Cardiol 1999; 31: 457-466

**Kimura-E; Hashimoto-K; Furakaw-H**

*Changes in bradykinin level in coronary sinus blood in experimental coronary artery occlusion*  
Jap Heart J 1973; 85: 635-647

**Kluger-J; Cody-RJ; Laragh-JH**

*The contributors of sympathetic tone and the renin-angiotensin system to severe chronic congestive heart failure: response to specific inhibitors*  
Am J Cardiol 1982; 49: 1667-1674

**Konstam-MA; Roussaeu-MF; Kronenberg-MW; Udelson-JL; Melin-J; Stewart-D; Dolan-N; Edens-TR; Ahn-S; Kinan-D; Howe-DM; Kilcoyne-L; Metherall-J; Benedict-C; Yusuf-S; Pouleur-H; for the SOLVD Investigators**

*Effects of angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril on the long-term progression of left ventricular dysfunction in patients with heart failure*

Circulation 1992; 86: 431-438

**Korup-E; Dalsgaard-D; Nyvad-O; Jensen-TM; Toft-E; Berning-J**

*Comparisons of degrees of left ventricular dilatation within 3 hours and up to 6 days after onset of first acute myocardial infarction*

Am J Cardiol 1997; 80:449

**Kromer-EP**

*Angiotensin-II-Rezeptor Antagonisten bei Herzinsuffizienz*

Internist 2000; 9: 917-924

**Krukmeier-JJ**

*Use of beta-adrenergic blocking agents in congestive heart failure*

Clin Pharmacol 1990; 9: 853-863

**Kubo-SH; Rector-TS; Bank-AJ; Williams-RE; Heifetz-EM**

*Endothelium-dependent vasodilation is attenuated in patients with heart failure*

Circulation 1991; 84: 1589-1596

**Langrehr-JM; Hoffmann-RA; Lancaster-JR; Simmons.RL**

*Nitric oxide – a new endogenous immunomodulator*

Transplantation 1993; 55: 1205-1212

**Lee-WH; Packer-M**

*Prognostic importance of serum sodium concentration and its modification by converting-enzyme inhibition in patients with severe congestive heart failure*

Circulation 1986; 73: 257-267

**Lee-D; Oh-JK; Osborn-SL; Mahoney-DW; Seward-JB;**

*Repeat evaluation of diastolic filling pattern after treatment of congestive heart failure in patients with restrictive diastolic filling: implication for long term prognosis*

J Am Soc Echocardiogr 1997; 10:431

**Lee-OH; Eisenberg-MJ; Sciller-NB**

*Serial assessment of left ventricular function after myocardial infarction*

Am Heart J 1995; 130: 999-1002

**Li-Z; Bing-OH; Long-X; Robinson-KG; Lakatta-EG**

*Increased cardiomyocyte apoptosis during the transition to heart failure in the spontaneously hypertensive rat*

Am J Physiol 1997; 272: H2313-2319

**Litwin-SE; Bridge-JHB**

*Enhanced  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchange in the infarcted heart*  
Circ Res 1997; 81: 1083-1093

**Liu-YH; Yang-XP; Nass-O**

*Chronic heart failure induced by coronary artery ligation in Lewis inbred rats*  
Am J Physiol 1997; 272: H722-727

**Lonn-EM; Shaishkoleslami-R; Yi-Q; Bosch-J; Magi-A; Yusuf-S**

*Effects of ramipril on left ventricular mass and function in normotensive, high-risk patients with normal ejection fraction. A substudy of HOPE*  
J Am Coll Cardiol 2001; 37: 165A

**Lowes-BD; Minobe-WA; Abraham-WT; Rizeq-MN; Bohlmeyr-TJ; Quaife-RA; Roden-RL; Dutcher-DL; Roberston-DA; Voelkl-NF; Badesch-DB; Groves-BM; Bristow-MR**

*Changes in gene expression in the intact human heart : downregulation of  $\alpha$ -myosin heavy chain in hypertrophied failing ventricular myocardium*  
J Clin Invest 1997

**Lowes-BD; Gill-EA; Rodriguez-Larrain-J; Abraham-WT; Bristow-MR; Gilbert-EM**

*Carvedilolis associated with a reversal of remodeling in chronic heart failure*  
Circulation 1996; 94: I-407

**Magovern-JA; Christlieb-IY; Badylak-SF; Lantz-GC; Kao-RL**

*A model of left ventricular dysfunction caused by intracoronary adriamycin*  
Ann Thorac Surg 1992; 53: 861-863

**Mahaffey-KW; Raya-TE; Pennock-GD; Morkin-E; Goldmann-S**

*Left ventricular performance and remodeling in rabbits after myocardial infarction: the effects of a thyroid hormone analogue*  
Circulation 1995; 91: 794-805

**Malhotra-A; Siri-FM; Aronson-R**

*Cardiac contractile proteins in hypertrophied and failing guinea pig heart*  
Cardiovasc Res 1992; 26: 153-161

**Mancini-GB**

*Long-term use of angiotensin-converting enzyme inhibitors to modify endothelial dysfunction: a review of clinical investigations*  
Clin Invest Med 2000; 23: 144-161

**Mann-DL; Kent-RL; Parsons-B; Cooper- G IV**

*Adrenergic effects on the biology of the adult mammalian cardiocyte.*  
Circulation 1992; 85: 790-804

**Maslowski-AH ; Nicolls-MG ; Ikram-H ; Espiner-EA**

*Haemodynamic, hormonal, and electrolyte responses to captopril in resistant heart failure*

Lancet 1981; 1: 71-74

**McDonagh-TA; Robb-SD; Murdoch-DR; et al.**

*Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction*

Lancet 1998; 351: 9-13

**McDonald-KM; Rector-T; Carlyle-PF; Francis-JS; Cohn-JN**

*Angiotensin-converting enzyme inhibition and beta-receptor blockade regress established ventricular remodeling in a canine model of discrete myocardial damage*

J Am Coll Cardiol 1994; 24: 1762-1768

**McKee-PA; Castelli-WP; McNamara-PM; Kannel-WB**

*The natural history of congestive heart failure: The Framingham Study*

N Engl J Med 1972; 285: 1441-1448

**MERIT-HF Study Group**

*Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF)*

Lancet 1999; 353: 2001-2007

**Metra-M; Nardi-M; Giubbini-R; DeiCas-L**

*Effects of short- and long-term carvedilol administration on rest and exercise hemodynamic variables, exercise capacity and clinical conditions in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy*

J Am Coll Cardiol 1994; 24: 1678-1687

**Metra-M; Nodari-S; D'Aloia-A; Bontempi-L; Boldi-E; Dei Cas-L**

*A rationale for the use of  $\beta$ -blockers as standard treatment for heart failure*

Am Heart J 2000; 139: 511-521

**Michel-JB; Heudes-D; Michel-O; Poitevin-P; Philippe-M; Scalbert-E; Corman-B; Levy-B**

*Effect of chronic Ang I-converting enzyme inhibition on aging process: large arteries*

Am J Physiol 1994; 267: R124-R135

**Mitchell-GF; Lamas-GA, Vaughan-DE, Pfeffer-MA**

*Left ventricular remodeling in the year after first anterior myocardial infarction: a quantitative analysis of contractile segment lengths and ventricular shape*

J Am Coll Cardiol 1992; 19: 1136-1144

**MOCHA Investigators**

*Carvedilol produces dose-related improvements in left ventricular function and survival in subjects with chronic heart failure*

Circulation 1996; 94: 2807-2816

**Moncada-S; Palmer-RM; Higgs-EA**

*Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology*  
Pharmacol Review 1991; 43: 109-142

**Moncada-S; Higgs-A**

*The L-arginine-nitric oxide pathway*  
N Engl J Med 1993; 329: 2002-2012

**Mulders-F; Elsner-D**

*Animal models of chronic heart failure*  
Pharmacol Res 2000; 41:606-612

**Mulder-P; Devaux-B; Richard-V; Henry-JP; Wimart-CC; Thibout-E; Mace-B; Thuillez-C**

*Early versus delayed angiotensin-converting enzyme inhibition in experimental chronic heart failure*  
Circulation 1997; 95: 1314-1319

**Mulder-P; Elfertak-L; Richard-V; Compagnon-P; Devaux-B; Henry-JP; Scalbert-E; Desche-B; Mace-B; Thuillez-C**

*Peripheral artery structure and endothelial function in heart failure: effects of ACE inhibition*  
Am J Physiol 1996; 271: H469-H477

**Murohara-T; Asahara-T; Silver-M**

*Nitric oxide synthase modulates angiogenesis in response to tissue ischemia*  
J Clin Invest 1998; 101: 2567-2578

**Nakamura-M; Funakoshi-T; Arakawa-N; et al.**

*Effect of angiotensin converting enzyme inhibitors on endothelium-dependent peripheral vasodilation in patients with chronic heart failure*  
J Am Coll Cardiol 1994; 24: 1321-1327

**Nelson-GR; Cohn-PF; Gorlin-R**

*Prognosis in medically-treated coronary artery disease*  
Circulation 1975; 52: 408-412

**Nussler-AK; Billiar-TR**

*Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase*  
J Leukoc Biol 1993; 54: 171-178

**Oelkens-W; Kleiner-S; Bähr-V**

*Effects of incremental infusions of atrial natriuretic factor on aldosterone, renin, and blood pressure in humans*  
Hypertension 1988; 12: 462-467

**Ogino-K; Kato-M; Noguchi-N; Kitamura-H; Osaki-S; Omodani-H; Matsumoto-T; Kinugawa-T; Miyakoda-H; Kotake-H; Mashiba-H**

*Effects of enalapril on the exercise capacity and neurohormonal factors during exercise in patients with chronic heart failure*

Cardiology 1997; 88: 6-13

**Ohlstein-EH; Douglas-SA; Sung-CP; et al.**

*Carvedilol, a cardiovascular drug, prevents vascular smooth muscle cell proliferation, migration, and neointimal formation following vascular injury*

Proc Natl Acad Sci USA 1993; 90: 6189-6193

**O'Leary-EL; Colston-JT; Freeman-GL**

*Maintained length-dependent activation of skinned myocardial fibers in tachycardia heart failure*

Circulation 1992; 86: 284

**Olsen-SL; Gilbert-EM; Renlund-DG; Taylor-DO; Yanowitz-FD; Bristow-MR**

*Carvedilol improves left ventricular function and symptoms in chronic heart failure: a double blind randomized study*

J Am Coll Cardiol 1995; 25: 1225-1231

**Omerovic-E; Bollano-E; Mobini-R; Madhu-B; Kujacic-V; Soussi-B; Hjalmarson-A; Waagstein-F**

*Selective  $\beta_1$ -blockade improves cardiac bioenergetics and function and decreases neuroendocrine activation in rats during early postinfarct remodeling*

Bioch Biophys Res Comm 2001; 281: 491-498

**Pacher-R; Stanek-B; Hulsman-M et al.**

*Prognostic impact of big endothelin-1 plasma concentrations compared with invasive hemodynamic evaluation in severe heart failure*

Am Coll Cardiol 1996; 27: 633-641

**Packer-M**

*$\beta$ -blockade in heart failure*

Am J Hypertens 1998; 11: 23S-37S

**Packer-M**

*The neurohormonal hypothesis: a theory to explain the mechanism of disease progression in heart failure*

J Am Coll Cardiol 1992; 20: 248-254

**Pak-PH; Nuss-HB; Kaab-SL et al.**

*Repolarization abnormalities, arrhythmia and sudden death in canine tachycardia induced cardiomyopathy*

J Am Coll Cardiol 1997; 30: 576-584

**Pennock-GD; Spooner-PH; Summers-CE; Litwin-SE**

Prevention of abnormal sarkoplasmic reticulum calcium transport and protein expression in post-infarction heart failure using 3,5-Diiodothyropionic acid  
J Mol Cell Cardiol 2000; 32: 1939-1953

**Pennock-GD; Yun-DD; Agarwal-PG; Spooner-PH; Goldmann-S**

*Echocardiographic changes after myocardial infarction in an model of left ventricular diastolic dysfunction*  
Am J Physiol 1997; 273: H2018-2019

**Pfeffer-MA; Braunwald-E**

*Ventricular remodeling after myocardial infarction*  
Circulation 1990; 81: 1161-1172

**Pfeffer-MA; Braunwald-E, Moye-LA**

*Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction: results of the Survival and Ventricular Enlargement Trial*  
N Engl J Med 1992; 327: 669-677

**Pfeffer-MA; Pfeffer-JM; Braunwald-E**

*Influence of chronic captopril therapy on th infarcted left ventricle in rats*  
Circ Res 1985; 57: 84-95

**Pfeffer-MA; Pfeffer-JM; Fishbein-MC et al.**

*Myocardial infarct size and ventricular function in rats*  
Circ Res 1979; 83: 503-512

**Philips-PA; Rolls-BJ; Ledingham-JGG; Morton-JJ; Forsling-ML**

*Angiotensin II-induced thirst and vasopressin release in man*  
Clin Sci 1985; 68: 669-674

**Pinamonti-B; Di Lenardi-A; Sinagra-D; Camericini-F and the Heart Muscle Study Group**

*Restrictive left ventricular filling patterns in dilated cardiomyopathy assessed by Doppler echocardiography: clinical, echocardiographic and hemodynamic correlations and prognostic implications*  
J Am Coll Cardiol 1993; 22: 808-815

**Porsa-E; Freeman-GL; Herlihy-JT**

*Tachycardia heart failure alters rabbit aortic smooth muscle responsiveness to angiotensin II*  
Am J Physiol 1994; 266: H1228-1232

**Prabhu-SD; Chandrasekar-B; Murray-DR; Freeman-GL**

*$\beta$ -adrenergic blockade in developing heart failure*  
Circulation 2000; 101: 2103-2109

**Pye-MP; Black-M; Cobbe-SM**

*Comparison of in vivo and in vitro haemodynamic function in experimental heart failure: use of echocardiography*

Cardiovasc Res 1996; 31: 873-881

**Rauchhaus-M; Müller-Werdan-U**

*Zytokine bei Herzerkrankungen*

Internist 2001; 42: 75-84

**Regoli-D; Allogho-SN; Rizzi-A; Gobeil-FJ**

*Bradykinin receptors and their antagonists*

Eur J of Pharmacol 1998; 348: 1-10

**Regoli-D; Barabe-J**

*Pharmacology of bradykinin and related kinins*

Pharmacol Rev 1980; 32: 1-46

**Remme-WJ**

*Congestive heart failure: pathophysiology and medical treatment*

J Cardiovasc Pharmacol 1986; 8: S36-S52

**Ritchie-RH; Schiebinger-RJ; LaPointe-MC; et al.**

*Angiotensin II-induced hypertrophy of adult rat cardiomyocytes is blocked by nitric oxide*

Am J Physiol 1998; 275: H1370-H1374

**Roche Lexikon Medizin**

3.Aufl. Urban&Schwarzenberg 1993, München

**Roskamm-H; Reindell-H**

*Herzkrankheiten*

4.Aufl. Springer-Verlag 1996, Berlin

**Roth-NS; Campbell-PT; Caron-MG; Lefkowitz-RJ; Lohse-MJ**

*Comparative rates of desensitization of  $\beta$ -adrenergic receptor by the  $\beta$ -adrenergic receptor kinase and the cyclic AMP-dependent protein kinase*

Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 6201-6204

**Rutherford-JD; Pfeffer-MA; Moye-LA; Davis-BR; Flaker-GC; Kowey-PR; Lamas-GA; Miller-HS; Packer-M; Rouleau-JL; et al.**

*Effects of captopril on ischemic events after myocardial infarction. Results of the Survival and Ventricular Enlargement trial*

Circulation 1994; 90: 1731-1738

**Sabbah-HN; Shimoayama-H; Kono-T; Gupta-RC; Sharov-VG; Scicli-G; Levine-TB; Goldstein-S**

*Effects of long-term monotherapy with enalapril, metoprolol, and digoxin on the progression of left ventricular dysfunction and dilation in dogs with reduced ejection fraction*

Circulation 1994; 89: 2852-2859

**Sabbah-HN; Stein-PD; Kono-T**

*A canine model of chronic heart failure produced by multiple sequential coronary microembolizations*

Am J Physiol 1991; 260: H1379-1384

**Saito-Y; Nakao-K; Arai-H**

*Atrial natriuretic polypeptide (ANP) in human ventricle: increased gene expression of ANP in dilated cardiomyopathy*

Biochem Biophys Res Commun 1987; 148: 211-217

**Sakai-S; Miyauchi-T; Kobayashi-M**

*Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long-term survival in heart failure*

Nature 1996; 384: 353-355

**Sanbe-A; Tanonaka-K; Kobayasi-R; Takeo-S**

*Effects of long-term therapy with ACE inhibitors, captopril, enalapri and tandolapril, on myocardial energy metabolism in rats with heart failure following myocardial infarction*

J Mol Cell Cardiol 1995; 27: 2209-2222

**Sanders-GP; Mendes-LA; Colucci-WS; Givertz-MM**

*Noninvasive methods for detecting elevated left-sided cardiac filling pressure*

J Card Fail 2000; 6:157-164

**Satoh-M; Nakamura-M; Tamura-G; Makita-S; Segawa-I; Tashiro-A; Satodate-R; Hiramori-K**

*Inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor-alpha in myocardium in human dilated cardiomyopathy*

J Am Coll Cardiol 1997; 29: 716-724

**Scherrer-Crosbie-M; Ullrich-R; Bloch-KD; Nakajima-H**

*Endothelial nitric oxide synthase limits left ventricular remodeling after myocardial infarction in mice*

Circulation 2001; 104: 1286-1291

**Schoelkens-BA; Linz-W**

*Local inhibition of angiotensin II formation and bradykinin degradation in isolated hearts*

Clin Exp Hypertens 1988; 10: 1259-1270

**Schrier-RW; Abraham-WT**

*Hormones and hemodynamics in heart failure*

The New England Journal of Medicine 1999; 341: 577-585

**Seibold-A; Rosenthal-W; Barberis-C; Birnbaumer-M**

*Cloning of the human type-2 vasopressin receptor gene*

Ann N Y Acad Sci 1993; 689: 570-572

**Siegenthaler-W**

*Klinische Pathophysiologie*

Thieme Verlag 1979

**Sjaastad-I; Sejersted-OM; Ilebakk-A; Bjornerheim-R**

*Echocardiographic criteria for detection of postinfarction congestive heart failure in rats*

J Appl Physiol 2000; 89: 1445-1454

**Skidgel-RA; Erdos-E**

*Biochemistry of angiotensin I-converting enzyme*

The Renin-Angiotensin System; Raven Press Ltd. 1993: 10.1-10.10

**Sleight-P**

*Angiotensin II and trials of cardiovascular outcome*

Am J Cardiol 2002; 89: 11A-17A

**Stehen-HP; Jensen-SE; Egstrup-K**

*Longitudinal changes and prognostic implications of left ventricular diastolic function in first acute myocardial infarction*

Am Heart J 1999; 137: 910-918

**Steering Committee and membership of the Advisory Council to Improve Outcomes Nationwide in Heart Failure**

*Consensus recommendations for the management of chronic heart failure*

Am J Cardiol 1999; 83: 2-38A

**Stein-JH; Congbalay-RC; Karsh-DL; Osgood-RW; Ferris-TF**

*The effect of bradykinin on proximal tubular sodium reabsorption in the dog: evidence of functional nephron heterogeneity*

J Clin Invest 1972; 51: 1709-1721

**Stevenson-LW; Perloff-JK**

*The limited reliability of physical signs for estimating hemodynamics in chronic heart failure*

JAMA 1989; 261: 884-889

**Sutton-M; Pfeffer-MA; Plappert-T; Rouleau-JL; Moya-LA; Dagenais-GA; Lamas-GA; Klein-M; Sussex-B; Goldmann-S; Menapace-FJ; Parker-JO; Lewis-**

**S; Sestier-F; Gordon-DF; McEwan-P; Berstein-V, Braunwald-E for the SAVE investigators**

*Quantitative two-dimensional echocardiographic measurements are major predictors of adverse cardiovascular events after acute myocardial infarction*

Circulation 1994; 89: 68-75

**Sutton-M; Pfeffer-MA; Moye-L; Plappert-T; Rouleau-JL; Lamas-G; Rouleau-J; Parker-JO; Arnold-MO; Sussex-B; Braunwald-E for the SAVE Investigators**

*Cardiovascular death and left ventricular remodeling two years after myocardial infarction*

Circulation 1997; 96: 3294-3299

**Swynghedauw-B**

*Developmental and functional adaptation of contractile proteins in cardiac and skeletal muscles*

Physiol Rev 1986; 66: 710-771

**Swynghedauw-B**

*Molecular mechanisms of myocardial remodeling*

Physiol Rev 1999; 79: 215-262

**Szatalowicz-VL; Arnold-PE; Chaimovitz-C; Bichet-D; Berl-T; Schrier-RW**

*Radioimmunoassay of plasma arginine vasopressin in hyponatremic patients with congestive heart failure*

N Engl J Med 1981; 305:263-266

**Taddei-S; Viridis-A; Ghiadoni-L; et al.**

*Effects of angiotensin converting enzyme inhibition on endothelium-dependent vasodilation in essential hypertensive patients*

J Hypertens 1998; 16: 447-456

**Tarazi-RC; Fouad-FM; Ceimo-JK; Bravo-EL**

*Renin, aldosterone and cardiac decompensation: studies with an oral converting enzyme inhibitor in heart failure*

Am J Cardiol 1979; 44: 101-1019

**Teerlink,-J-R; Goldhaber,-S-Z; Pfeffer,-M-A**

*An overview of contemporary etiologies of congestive heart failure*

Am-Heart-J. 1991 Jun; 121: 1852-3

**Teerlink-JR; Pfeffer-JM; Pfeffer-MA**

*Progressive ventricular remodeling in response to diffuse isoproterenol-induced myocardial necrosis in rats*

Circ Res 1994; 75: 105-113

**The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators**

*Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure*

Lancet 1993; 342: 821-828

**Torre-Amione-G; Kapadia-S; Lee-J; Durand-JB; Ries-RD; Young-JB; Mann-DL**

*Tumor necrosis factor factor-alpha and tumor necrosis factors in the failing human heart*

Circulation 1993; 4: 704-711

**Tsutsui-H; Spinale-FG; Nagatsu-M; schmid-PG; Ishihara-K; DeFreyte-G; Cooper-G; Carabello-BA**

*Effects of chronic beta-adrenergic blockade on the left ventricular and cardiocyte abnormalities of chronic canine mitral regurgitation*

J Clin Invest 1994; 93: 2639-2648

**Turini-GA; Brunner-HR; Gribic-M; Waeber-B; Gavras-H**

*Angiotensin converting enzyme inhibition in patients with congestive heart failure*

Circulation 1978; 58: 770-776

**Unger-T**

*Neurohormonal modulation in cardiovascular disease*

Am Heart J 2000; 139: S2-S8

**Ungerer-M; Böhm-M; Elce-JS; Erdmann-E; Lohse-JM**

*Altered expression of  $\beta$ -adrenergic receptor kinase and  $\beta$ -adrenergic receptors in the failing human heart*

Circulation 1993; 89: 454-463

**Ungerer-M; Parruti-G; Böhm-M; Puzicha-M; DeBlasi-A; Erdmann-E; Lohse-MJ**  
*Expression of  $\beta$ -arrestins and  $\beta$ -adrenergic receptors kinases in the failing human heart*

Circ Res 1994; 74: 206-213

**Urata-H; Healy-B; Stewart-W; Bumpus-FM; Husain-A**

*Angiotensin II receptors in normal and failing human hearts*

J Endocrinol Metab 1989; 69: 54-66

**Vanhoutte-PM**

*Endothelium and control of vascular function: state of the art lecture*

Hypertension 1989; 13: 658-667

**Vatner-SF; Shannon-R; Hittinger-L**

*Reduced subendocardial coronary reserve: a potential mechanism for impaired diastolic function in the hypertrophied and failing heart*

Circulation 1990; 81 Suppl.III: III-8-14

**Vitarelli-A; Gheorghiade-M**

*Diastolic heart failure: Standard doppler approach and beyond*  
Am J Cardiol 1998; 81: 115G-121G

**Volders-PGA; Willems-IEMG; Cleutjens-JPM**

*Interstitial collagen is increased in the noninfarcted human myocardium after myocardial infarction*  
J Mol Cell Cardiol 1993; 25: 1317-1323

**Waagstein-F; Caidahl-K; Wallentin-I; Bergh-CH; Hjalmarson-A**

*Long-term  $\beta$ -blockade in dilated cardiomyopathy*  
Circulation 1989; 80: 551-563

**Waggoner-AD**

*Congestive heart failure and the role of two-dimensional Doppler echocardiography: a primer of cardiac sonographers*  
J Am Soc Echocardiogr 2000; 13: 157-163

**Weber-KT; Sun-Y; Campbell-SE**

*Structural remodelling of the heart by fibrous tissue: role of circulating hormones and locally produced peptides*  
Eur Heart J 1995; 16: 12-18

**Weber-KT**

*Extracellular matrix remodeling in heart failure. A role for de novo angiotensin II generation*  
Circulation 1997; 96: 4065-4082

**Weber-KT; Brilla-CG**

*Pathological hypertrophy and cardiac interstitium: fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system*  
Circulation 1991; 83: 1849-1865

**Weber-KT; Brilla-CG**

*Factors associated with reactive and reparative fibrosis of the myocardium*  
Basic Res Cardiol 1992; 87: 291-301

**Wei-CM; Lerman-A; Rodeheffer-RJ; McGregor-CGA; Brandt-RR; Wright-S; Heublin-DM; Kao-PC; Edwards-WB; Burnett-JC**

*Endothelin in human congestive heart failure*  
Circulation 1994; 89: 1580-1586

**Weinberg-EO; Schoen-FJ; George-D**

*Angiotensin-converting enzyme inhibition prolongs survival and modifies the transition to heart failure in rats with pressure overload hypertrophy due to ascending aortic stenosis*  
Circulation 1994; 90: 14101-1422

**Weismann-H; Bush-DE; Mannisi-JA; Bulkley-BH**

*Global cardiac remodeling after acute myocardial infarction: a study in the rat model*  
Am J Cardiol 1985; 5: 1355-1362

**Weiss-MB; Ellis-K; Sciacca-RR; Johnson-LL; Schmidt-DH; Canon-PJ**

*Myocardial blood flow in congestive and hypertrophic cardiomyopathy: relationship to peak wall stress and mean velocity of circumferential fiber shortening*  
Circulation 1976; 54: 484-494

**White-M; Yanowitz-F; Gilbert-EM; Larrabee-T; O'Connell-JB; Anderson-JL; Renlund-D; Mealey-P; Abraham-WT; Bristow-MR**

*Role of beta-adrenergic receptor downregulation in the peak exercise response of patients with heart failure due to idiopathic dilated cardiomyopathy*  
Am J Cardiol 1995; 76: 1271-1276

**Winters-CJ; Sallman-AL; Baker-BJ; Meadows-J; Rico-DM; Veseley-DL**

*The N-terminus and a 4000molecular weight peptide from the mid portion of the N-terminus of the atrial natriuretic factor prohormone each circulate in humans and increase in congestive heart failure*  
Circulation 1989; 80: 438-449

**Wollert-KC; Drexler-H**

*The rein-angiotensin system and experimental heart failure*  
Cardiovasc Res 1999; 43: 838-849

**Wollert-KC; Studer-R; Just-H; Drexler-H**

*Influence of lisinopril on long-term mortality in rats with chronic myocardial infarction: role of blood pressure reduction and tissue ACE inhibition*  
Circulation 1994; 90: 2457-2467

**Yaoita-H ; Sakabe-A ; Maehara-K ; Maruyama-Y**

*Different effects of carvedilol, metoprolol, and propranolol on left ventricular remodeling after coronary stenosis or after permanent coronary occlusion in rats*  
Circulation 2002; 105: 975-980

**Yu-CM ; Sanderson-JE ; Shum-IO ; Chang-S ; Yeung-LY ; Hung-YT ; Cockram-CS ; Woo-KS**

*Diastolic dysfunction and natriuretic peptides in systolic heart failure. Higher ANP and BNP levels are associated with the restrictive filling pattern*  
Eur Heart J 1996 ; 17 : 1694-1702

**Yue-TL; Cheng-HY; Lysko-PG**

*Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoreceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger*  
J Pharmacol Exp Ther 1992; 263: 92-98

## **9. Danksagung**

Ganz herzlich möchte ich mich bei Frau PD Dr. Melitta Just und Herrn Dr. Hartmut Rütten (beide Aventis Pharma Deutschland GmbH) für die Überlassung dieses Themas, das Lehren der Methodik sowie ihre profunde und stets freundliche Betreuung bei der Durchführung der Experimente und bei der Anfertigung dieser Dissertationsschrift bedanken.

Bei Herrn Prof. Dr. Martin Diener (Institut für Veterinär-Physiologie der Justus-Liebig Universität Giessen) bedanke ich mich für die freundliche und hilfsbereite Betreuung und für die Begutachtung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Andreas E. Busch möchte ich besonders danken, da er mir die Anfertigung dieser Arbeit in den exzellenten Einrichtungen der Firma Aventis Pharma Deutschland GmbH ermöglichte.

Mein herzlicher Dank gilt auch allen Mitarbeitern des Labors von Herrn Dr. Rütten, besonders Herrn Thomas Heibel, Frau Karen Menning und Frau Roswitha Dunkel, die mir während der Anfertigung dieser Arbeit stets freundlich mit Rat und Tat zur Seite standen und für ein ausgesprochen gutes Arbeitsklima sorgten.

Bei Herrn Dr. Martin Gerl und Frau Renate Müller (Aventis Pharma Deutschland GmbH) möchte ich mich für die Messung der proANP Plasmaspiegel bedanken.

Herzlich möchte ich mich auch bei meinem Freund Michael Hiss bedanken, der mir bei allen Höhen und Tiefen dieser Arbeit zur Seite stand.

Schließlich danke ich von Herzen meiner Familie, im besonderen meinen Eltern, die mir während des Studiums und der Promotion stets mit ihrer Unterstützung und Liebe beigestanden haben.