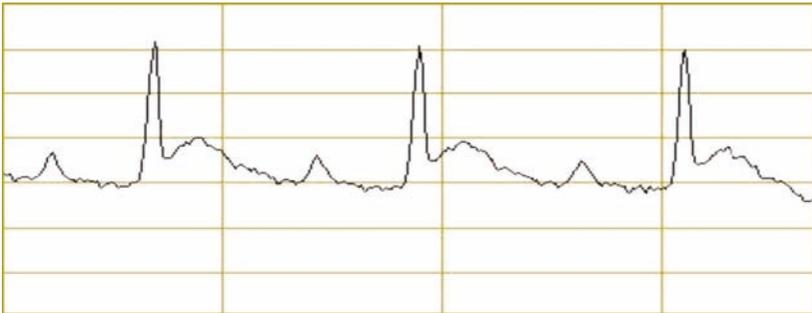


DIE AUSWIRKUNGEN DES KARDIALEN REMODELLINGS
NACH LINKSVENTRIKULÄREM INFARKT AUF LINKEN
UND RECHTEN VENTRIKEL, LUNGE UND NIEREN

PIA WEBER



INAUGURAL-DISSERTATION zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität, Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2012

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2012

© 2012 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie und -Biochemie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. J. Roth

und

dem Physiologischen Institut
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. K.-D. Schlüter

**Die Auswirkungen des kardialen Remodellings nach
linksventrikulärem Infarkt auf linken und rechten Ventrikel,
Lunge und Nieren**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität, Gießen

eingereicht von

Pia Weber

Tierärztin aus Wipperfürth

Gießen 2012

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

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c. M. Kramer

Gutachter: Prof. Dr. J. Roth
Prof. Dr. K.-D. Schlüter

Tag der Disputation: 13. Februar 2012

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
1. Einleitung	1
1.1 Herzinsuffizienz und Herzinfarkt	1
1.1.1 Definitionen, Epidemiologie, Folgen und Therapie	1
1.2 Herzerkrankungen in der Tiermedizin	7
1.2.1 Herzinfarkt bei Tieren	7
1.2.2 Dilatative Kardiomyopathie (DCM)	8
1.2.3 Hypertrophe Kardiomyopathie (HCM)	8
1.3 Herzinfarktmodelle (experimentell)	9
1.3.1 In vitro: Isoliertes Herz, Kardiomyozyten	9
1.3.2 In vivo: open vs. closed chest	10
1.4 Eingesetztes Medikament	11
1.4.1 Captopril	11
1.5 Molekulare Parameter pathophysiologischer Umbauprozesse nach Infarkt	11
1.5.1 Ornithindecaboxylase (ODC)	11
1.5.2 Endotheliale Stickstoffmonoxid Synthase (eNOS)	12
1.5.3 Arginase	13
1.6 Fragestellung dieser Arbeit	13
2. Material	14
2.1 Versuchstiere	14
2.2 Geräte	14
2.2.1 Allgemeine Laborgeräte	14
2.2.2 Spezielle Geräte und Gebrauchsgegenstände	15
2.3 Verbrauchsmaterial	16
2.3.1 Allgemeines Verbrauchsmaterial	16
2.3.2 Spezielles Verbrauchsmaterial	17
2.4 Chemikalien	17
2.4.1 Antikörper	20

2.4.2	Primer	20
2.5	EDV und Statistik.....	23
3.	Methoden	24
3.1	Studiendesign.....	24
3.2	Einstufung der Tiere nach Distress-Score-Schema	24
3.3	Operativer Eingriff.....	26
3.4	Medikamentengabe	27
3.5	Elektrokardiogramm (EKG)	27
3.6	Organentnahme und -präparation	28
3.7	Funktionsdatenerhebung mittels Langendorff-Apparatur.....	29
3.8	Real-time PCR am iCycler®	31
3.8.1	RNA-Isolierung	31
3.8.2	Bestimmung der RNA-Konzentration.....	31
3.8.3	cDNA-Synthese (Reverse Transkription).....	32
3.8.4	Real-time Polymerase-Kettenreaktion (Real-time PCR)	32
3.9	Western Blot	34
3.9.1	Isolierung von Proteinen aus Rattenherzen	34
3.9.2	SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE)	35
3.9.3	Western Blot Verfahren	36
3.9.4	Immunologischer Proteinnachweis.....	37
3.9.5	Auswertung.....	38
3.10	Bestimmung der Kreatinin-Konzentration aus Rattenplasma	38
3.11	Elektrolyt-Messung	40
3.12	Statistische Auswertung	41
4.	Ergebnisse	42
4.1	Distress-Score-Schema	42
4.2	Infarktprogression nach erfolgreicher Revaskularisierung.....	43
4.2.1	Entwicklung des Körpergewichtes.....	43
4.2.2	Entwicklung der Herzgewichte	43
4.2.3	Funktionsdaten.....	46

4.2.4	Molekularbiologische Analysen.....	50
4.3	Einfluss der Captoprilgabe nach erfolgreicher Revaskularisierung.....	54
4.3.1	Entwicklung des Körpergewichtes.....	54
4.3.2	Entwicklung der Herzgewichte.....	55
4.3.3	Funktionsdaten.....	58
4.3.4	Molekularbiologische Analysen.....	61
4.3.4.1	mRNA-Expression ausgewählter Markergene.....	61
4.3.4.2	Protein-Expression ausgewählter Markergene.....	63
4.4	Einfluss auf die renalen Parameter.....	64
4.4.1	Entwicklung des Nierengewichtes.....	64
4.4.2	Kreatininwerte und GFR.....	65
4.4.3	Plasmaelektrolyte.....	67
4.4.4	Molekularbiologische Analysen.....	69
4.4.5	Einfluss von Captopril.....	70
4.5	Einfluss auf die pulmonalen Parameter.....	71
4.5.1	Entwicklung des Lungengewichtes.....	71
4.5.2	Molekularbiologische Analysen.....	71
4.5.3	Einfluss von Captopril.....	73
5.	Diskussion.....	74
5.1	Beurteilung der Herzgewichtsdaten.....	74
5.2	Beurteilung der Funktionsdaten.....	75
5.3	Beurteilung der PCR und Western Blot Untersuchungen vom Herzen.....	76
5.3.1	Stammzellmarker.....	76
5.3.2	Quantitativer Vergleich der Expression im linken und rechten Ventrikel.....	77
5.3.3	Metabolische und Hypertrophie-Marker.....	77
5.3.4	Fibrose-Marker.....	79
5.3.5	Ca ²⁺ -Handling-Proteine.....	79
5.3.6	Apoptose-Marker.....	80
5.4	Beurteilung der renalen Parameter.....	81
5.5	Beurteilung der pulmonalen Parameter.....	82

Inhaltsverzeichnis

5.6	Einfluss von Captopril	83
5.7	Schlussfolgerung	84
6.	Zusammenfassung	85
7.	Summary	86
8.	Literaturverzeichnis	87

Abkürzungsverzeichnis

AA/BAA	Acrylamid/Bisacrylamid
ACE	Angiotensin Converting Enzym
Adm 2	Adrenomedullin 2
ADRP/Plin	Adipose Differentiation Related Protein
ANOVA	analysis of variance
Ang II	Angiotensin II
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
APS	Ammoniumpersulfat
ASS	Acetylsalicylsäure
a.b. (aqua bidest.)	zweifach destilliertes Wasser (steril)
B2M	β_2 -Mikroglobulin
bax	Bcl-2-associated-X-Protein
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
BCIP	5-Brom-4-Chloro-3-Indolyl Phosphat
BNP	Brain Natriuretic Peptide
BSA	Bovines Serum-Albumin
bp	Basenpaar
BPB	Bromphenolblau
CaCl ₂	Calciumchlorid
Calclr	Calcitonin like receptor
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CGRP	calcitonin gene-related peptide
cm ²	Quadratzenimeter
CR	Koronarwiderstand
CSE	Cholesterinsyntheseenzym
Ct-Wert	Cycle-Threshold (Schwellenwert Zyklus)
°C	Grad Celsius

Abkürzungsverzeichnis

Darst.	Darstellung
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphat
dP/dt	Maß der Kontraktionskraft des linken Ventrikels
DTT	Dithiotreitol
ECM	Extrazelluläre Matrixproteine
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
eNOS	endotheliale Stickoxid-Synthase
ESC	European Society of Cardiology
EtOH	Ethanol
fw-Primer	forward Primer
g	Gramm
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
h	Stunde
HF	Herzfrequenz
HPRT	Hypoxanthin-Phosphoribosyltransferase
HRP	horseradish peroxidase
HW	Herzgewicht
HW/BW	heart weight/body weight
IGF	Insulin-like growth factor
iNOS	induzierbare Stickoxid-Synthase
I/R	Infarkt/Reperfusion
KCl	Kaliumchlorid
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
KW/BW	kidney weight/body weight
l	Liter
VI	

LAD	Left Anterior Descending Artery
LV	Linker Ventrikel
LVDP	Left ventricular developed pressure
LW/BW	lung weight/body weight
M	Mol
mA	Milliampere
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesium-Chlorid
Mg ₂ SO ₄	Magnesiumsulfat
MHC	Major Histocompatibility Complex
min	Minute
ml	Milliliter
mM	Millimolar
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
M-MLV	Moloney Murine Leukemia Virus
mmol	Millimol
MMP-9	Matrix-Metalloproteinase 9
MMP-12	Matrix-Metalloproteinase 12
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
mw	molecular weight
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid (reduzierte Form)
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphat
NaN ₃	Natriumazid
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
NCX	Natrium-Calcium-Exchanger

Abkürzungsverzeichnis

ng	Nanogramm
NO	Stickstoffmonoxid
NRF-1	Nuclear Respiratory Factor-1
NSTEMI	Non ST-elevated myocardial infarction
NYHA	New York Heart Association
ODC	Ornithin-Decarboxylase
Oligo-dT	Oligo-desoxy-Thymidin
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase chain reaction
Perf.	Perfusion
PGC-1 α	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor gamma Coaktivator 1 α
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
PLB	Phospholamban
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
PPAR- γ	Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptoren-gamma
PTH	Parathormon
PTHrP	Parathormon-related protein
PVDF	Polyvinyliden-Difluorid
%	Prozent
RAMP	Receptor Activity-Modifying Protein
rev-Primer	reverse primer
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute
rcf	Relative Zentrifugalbeschleunigung
RT	Reverse Transkriptase
RV	Rechter Ventrikel

SD	Standardabweichung
SDF-1	Stromal cell-Derived Factor - 1
SDS	Natrium-Dodecylsulfat
SEM	Standardfehler des Mittelwerts
Serca 2A	Sarkoplasmatische Retikulum Ca-ATPase
s.o.	siehe oben
Stab.	Stabilisierung
STEMI	ST-elevated myocardial infarction
s.u.	siehe unten
TAE	Tris-Acetat/EDTA-Puffer
Taq	Termus aquaticus
TBS	Tris Buffered Saline
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin
TE-Puffer	Tris-EDTA-Puffer
TGF- β_1	Transforming growth factor- β_1
TL	Tibia Length
TNF	Tumor Nekrose Faktor
Tris	Tris-hydroxymethylaminomethan
u.a.	unter anderem
V	Volt
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
vol/vol	Volume/Volume-Volumenprozent
WHO	World Health Organisation
wt/vol	Weight/Volume-Gewichtsprozent
ZnCl ₂	Zinkchlorid

Darstellungsverzeichnis

Darst.1: NYHA-Klassifikation: Funktionelle Klassifizierung	2
Darst.2: ISACHC-Klassifikation: Funktionelle Klassifizierung	7
Darst.3: Distress-Score Schema zur Beurteilung des Gesundheitszustandes	25
Darst.4: Schema des Versuchsaufbaus	27
Darst.5: EKG vor Infarktsetzung	28
Darst. 6: EKG während Infarktsetzung mit ST-Streckenhebung	28
Darst.7: Perfusionsmodell Langendorff	30
Darst.8: Körpergewicht (g) 1, 3 und 7 Tage nach Infarkt	43
Darst.9: Gesamtherzgewicht bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) der 1- und 7-Tagesgruppen	44
Darst.10: Gewicht des linken Ventrikels bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) der 1- und 7-Tagesgruppe	44
Darst.11: Gewicht des rechten Ventrikels bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) der 1- und 7-Tagesgruppe	45
Darst.12: Gewicht der Vorhöfe bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) der 1- und 7-Tagesgruppe	46
Darst.13: Linksventrikulär aufgebauter Druck in mmHg (100%=172,8 mmHg) der 1- und 7-Tagesgruppe	47
Darst.14: dP/dt max (mmHg/s) der 1- und 7-Tagesgruppe	47
Darst.15: dP/dt min (mmHg/s) der 1- und 7-Tagesgruppe	48
Darst.16: Koronarwiderstand (mmHg/ml/min*gHG) der 1- und 7-Tagesgruppe	49
Darst.17: Veränderungen der Genexpression im linken Ventrikel in der 1-Tagesgruppe	50
Darst.18: Veränderungen der Genexpression im linken Ventrikel in der 7-Tagesgruppe	51
Darst.19: Veränderungen der Genexpression im rechten Ventrikel in der 1-Tagesgruppe	52
Darst.20: Veränderungen der Genexpression im rechten Ventrikel in der 7-Tagesgruppe	53
Darst.21: Entwicklung des Körpergewichtes (g) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe	54
Darst.22: Herzgewicht bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe	55
Darst.23: Linksventrikuläres Gewicht bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe	56
Darst.24: Rechtsventrikuläres Gewicht bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe	56
Darst.25: Gewicht der Vorhöfe bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe	57
Darst.26: Linksventrikulärer Druck (mmHg) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe	58
Darst.27: dP/dt max (mmHg/s) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe	59
Darst.28: dP/dt min (mmHg/s) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe	59

Darst.29: Koronarwiderstand (mmHg/ml/min*gHG) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe	60
Darst.30: Veränderungen der Genexpression im linken Ventrikel unter Captoprilbehandlung in der 1-Tagesgruppe	61
Darst.31: Veränderungen der Genexpression im rechten Ventrikel unter Captoprilbehandlung in der 1-Tagesgruppe	62
Darst.32: Darstellung der eNOS-Proteinexpression im linken Ventrikel in der 1-Tagesgruppe	63
Darst.33: x-fache eNOS-Expression in der 1-Tagesgruppe	63
Darst.34: Entwicklung des Nierengewichtes bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) in der 1- und 7-Tagesgruppe	64
Darst.35: Kreatininkonzentration im Plasma (mg/dl) in der 1- und 7-Tagesgruppe	65
Darst.36: Abgeschätzte glomeruläre Filtrationsrate (ml/min*g) in der 1- und 7-Tagesgruppe	66
Darst.37: Na⁺ aus Plasma (mmol/l) bei der 1- und 7-Tagesgruppe	67
Darst.38: K⁺ aus Plasma (mmol/l) bei der 1- und 7-Tagesgruppe	68
Darst.39: Ca²⁺ aus Plasma (mmol/l) in der 1- und 7-Tagesgruppe	68
Darst.40: Veränderungen der Genexpression in der 1- und 7-Tagesgruppe	69
Darst.41: Entwicklung des Nierengewichtes bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe	70
Darst.42: Entwicklung des Lungengewichtes bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) in der 1- und 7-Tagesgruppe	71
Darst.43: Veränderungen der Genexpressionen in den Lungen der 1-Tagesgruppe	72
Darst.44: Veränderungen der Genexpressionen in den Lungen der 7-Tagesgruppe	72
Darst.45: Entwicklung des Lungengewichtes bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe	73
Darst.46: Argininstoffwechselweg in Bezug auf die Enzyme eNOS, Arginase und ODC	79

1. Einleitung

1.1 Herzinsuffizienz und Herzinfarkt

1.1.1 Definitionen, Epidemiologie, Folgen und Therapie

In den Industrieländern gehören Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems nach wie vor zu den wichtigsten Todesursachen (WHO, 2011). Bei Patienten über dem 65. Lebensjahr ist eine Herzinsuffizienz die am häufigsten diagnostizierte Erkrankung.

Definition Herzinsuffizienz:

Man unterscheidet im Allgemeinen zwischen einer pathophysiologischen Definition einer Herzinsuffizienz und einer klinischen Definition.

Nach der *pathophysiologischen* Definition liegt eine Herzinsuffizienz dann vor, wenn das Herz nicht mehr in der Lage ist, die Gewebe mit genügend Blut und damit genügend Sauerstoff zu versorgen, um den Gewebestoffwechsel in Ruhe oder unter Belastung sicherzustellen.

Nach der *klinischen* Definition liegt eine Herzinsuffizienz dann vor, wenn typische Symptome (Dyspnoe, Müdigkeit, Flüssigkeitsretention) bestehen, denen ursächlich eine kardiale Funktionsstörung zugrunde liegt (Trappe, 2003).

Nach einer gebräuchlichen Klassifizierung (NYHA-New York Heart Association) wird sie wie folgt eingeteilt:

I.	Herzerkrankung ohne körperliche Limitation, alltägliche körperliche Belastung verursacht keine inadäquate Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
II.	Herzerkrankung mit leichter Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Alltägliche körperliche Belastung verursacht Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
III.	Herzerkrankung mit höhergradiger Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit bei gewohnter Tätigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Geringe körperliche Belastung verursacht Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
IV.	Herzerkrankung mit Beschwerden bei allen körperlichen Aktivitäten und in Ruhe, Bettlägerigkeit.

Darst.1: NYHA-Klassifikation: Funktionelle Klassifizierung (Hoppe et al., 2005)

Epidemiologie:

Ein geschätzter Anteil von 1 bis 2% der Gesamtbevölkerung in Europa ist von einer Herzinsuffizienz betroffen mit einem stark ansteigenden Anteil in den höheren Altersgruppen. In Deutschland sind es ca. 1,3 Millionen Menschen und die Neuerkrankungen liegen bei geschätzten 200.000 pro Jahr. Über 40% sterben im ersten Jahr nach der Diagnosestellung. Bei über 65-jährigen ist die Herzinsuffizienz der Hauptgrund eines Krankenhausaufenthaltes (Banz, 2005). Somit hat diese Erkrankung nicht nur eine hohe Mortalitäts- und Morbiditätsrate, sie ist zudem auch sehr kostenintensiv. Vom Syndrom der Herzinsuffizienz sind Männer häufiger betroffen als Frauen (Rickenbacher, 2001).

Mehrere Ursachen kommen für eine Herzinsuffizienz in Frage. In westlichen Ländern ist die Hauptursache eine koronare Herzerkrankung (54-70%) (McMurray et al., 2000).

Folgen:

Durch eine Herzinsuffizienz kommt es zu einer unzureichenden Organdurchblutung, da das Herzzeitvolumen abnimmt. Um eine ausreichende Blutversorgung der Organe gewährleisten zu können, werden verschiedene Kompensationsmechanismen aktiviert. Es kommt zu einer Aktivierung neuroendokriner

Gegenregulationsmechanismen mit Aktivierung des sympathischen Nervensystems und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS). Die Aktivierung des RAAS hat eine Vasokonstriktion zur Blutdruckaufrechterhaltung zur Folge. Durch die Sympathikusaktivierung kommt es zu einer gesteigerten Kontraktilität und zu einer Zunahme der Herzfrequenz. Dies hat eine Arrhythmieneigung und einen erhöhten Sauerstoffbedarf zur Folge. Das Zusammenwirken beider Systeme (Sympathikusaktivierung, Aktivierung RAAS) bedingt eine Zunahme des Oktapeptides Angiotensin II, welches aus Angiotensin I durch das Angiotensin Converting Enzym (ACE) gebildet wird. Es ist einer der stärksten Mediatoren zur Blutdrucksteigerung. Es kommt zu einer peripheren Vasokonstriktion mit Zunahme des Gefäßwiderstandes und somit zu einer Erhöhung der Nachlast. Der Angiotensin 1 (AT_1)-Rezeptor vermittelt folgende Wirkungen, die die Entstehung einer Herzinsuffizienz begünstigen:

1. arterielle und venöse Vasokonstriktion, entweder direkt oder indirekt (via Sympathikusaktivierung),
2. durch gesteigerte Aldosteronfreisetzung bedingte Natrium- und Wasserretention,
3. Hypertrophie und Hyperplasie von Herzmuskelfasern

Aus der Flüssigkeitsretention und der Vasokonstriktion resultiert dann ein erhöhter Füllungsdruck des Herzens (Vorlast) (Abraham et al., 2006).

Zunächst sind diese Mechanismen hilfreich, um die Organdurchblutung aufrecht zu halten. Auf lange Sicht aber kommt es zu einer Schädigung des Herzens und einem Fortschreiten der Herzinsuffizienz. Es entsteht ein *circulus vitiosus* (Cohn et al., 2000). Die o.g. Mechanismen führen zu einer Hypertrophie des Herzmuskels, welcher damit zunächst eine vermehrte Pumpleistung erbringen kann. Zusätzlich wird vermehrt Bindegewebe eingebaut. Diese Prozesse werden unter dem Begriff „kardiales Remodelling“ zusammengefasst und man spricht von einer kompensierten Herzinsuffizienz. Im weiteren Verlauf kommt es zu einer Dilatation der Ventrikel, da das Herz nicht mehr in der Lage ist einen großen Anteil des Blutes auszuwerfen. In diesem Stadium spricht man von einer dekompenzierten Herzinsuffizienz.

Da es sich hierbei um eine Multisystemerkrankung handelt, ist nicht nur die Herzfunktion betroffen, sondern weitere Organe wie z.B. Nieren und Lunge, die jeweils in ihrer Funktion eingeschränkt werden.

Therapie:

Hierzu gehören zunächst die Behandlungen koronarvaskulärer Risikofaktoren, wie z.B. arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus und außerdem die Behandlung einer Myokardischämie, die umgehende Revaskularisation bei akutem Myokardinfarkt und die Therapie von Rhythmusstörungen und Klappenfehlern.

Zur medikamentösen Therapie werden verschiedene Wirkstoffe eingesetzt wie Angiotensin Converting Enzyme (ACE)-Hemmer (in allen NYHA-Stadien), β -Blocker (ab NYHA-Stadium II), Aldosteron-Antagonisten (ab NYHA-Stadium III) und AT₁-Rezeptorblocker (bei Unverträglichkeit von ACE-Hemmern). Diuretika und Herzglykoside werden bei speziell vorliegenden Symptomen wie Ödembildung bzw. zusätzlich auftretendem Vorhofflimmern eingesetzt (Hoppe et al., 2005).

Definition Herzinfarkt:

Die Definition eines Herzinfarktes (Myokardinfarkt) ist nicht einheitlich. Er kann nach verschiedenen Kriterien definiert werden: in Bezug auf biochemische und pathologische Charakteristika, sowie klinische Symptome und Elektrokardiographiedaten (ST-Streckenhebung).

Aufgrund der fließenden Übergänge der klinischen Formen werden die Patienten anhand des EKG in Gruppen eingeteilt:

1. EKG mit ST-Streckenhebung (STEMI) und
2. EKG ohne ST-Streckenhebung (NSTEMI).

Daraus resultieren dann unterschiedliche therapeutische Maßnahmen (Hamm, 2004).

Allgemein akzeptiert wird aber die Beschreibung, dass es sich um den Zelltod von Myokard (Herzmuskel) aufgrund einer länger anhaltenden Ischämie (Durchblutungsstörung) handelt (Van de Werf et al., 2003).

Durch eine reduzierte oder ausbleibende Gewebepfusion entsteht der Zustand der Ischämie. Es kommt zu einer Imbalance zwischen dem Bedarf des Herzmuskels für

die Aufrechterhaltung physiologischer Funktionen und dem Angebot an Sauerstoff und Substraten. Daraufhin kommt es zu einer irreversiblen Zellschädigung im Gewebe. Dies geschieht ab einer 15- bis 30-minütigen Blutunterversorgung. Hauptursache sind koronare Herzkrankheiten, die meistens durch arteriosklerotische Gefäßveränderungen inkl. Thrombenbildung zustande kommen (Van de Werf et al., 2003).

Bei einer Infarktgröße von bis zu 10% der linksventrikulären Wand spricht man von einem kleinen Infarkt, bei einer Größe zwischen 10 und 30% von einem mittleren und ab 30% von einem großen Infarkt (Alpert et al., 2000).

Die Klassifikation erfolgt nach der „Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme“ (ICD). Dort wird unterteilt in „Akuter Myokardinfarkt“ und „Rezidivierender Myokardinfarkt“ (WHO, 2011).

Hauptrisikofaktoren sind Rauchen, Diabetes mellitus, Hypertonie, genetische Prädisposition und Störungen des Fettstoffwechsels. Weitere Faktoren sind Stress, Alkohol, ein erhöhter Homocystein- und ein niedriger Vitamin-D3-Blutspiegel (Giovannuchi et al., 2008).

Epidemiologie:

In den Industrienationen ist der Herzinfarkt eine der Haupttodesursachen. 2008 starben in Deutschland ca. 57.000 Menschen an einem Herzinfarkt. Davon waren ca. 31.000 männlichen und 26.000 weiblichen Geschlechts (Statistisches Bundesamt, 2008).

Folgen:

Die durch den Ischämieprozess hervorgerufenen Mechanismen sind sehr vielfältig, sowohl auf molekularer, als auch auf zellulärer Ebene. Es kommt zum Ventrikelumbau hinsichtlich Größe, Form und Struktur, dem sogenannte Remodelling (Swynghedauw, 1999). Die Funktion des Herzens wird durch den Infarkt eingeschränkt. Dies hat einen Abfall des Schlagvolumens und einen Anstieg des endsystolischen Volumens zur Folge. Da der linke Ventrikel sich nicht normal entleeren kann erhöht sich die Vorlast. Damit kann es zu einem Rückstau in die Lunge kommen, evtl. mit der Ausbildung von Lungenödemem.

Die langfristige Prognose nach der Reperfusion hängt von der Größe des Infarktgebietes und vom Remodelling des nichtischämischen Myokards ab. Als myokardiale Reperfusionsschäden werden die Schäden am Myokard bezeichnet, die erst durch die erfolgte Reperfusion induziert werden (Piper et al., 1998).

Häufigste Todesursache beim Infarkt sind ventrikuläre Tachykardien bis hin zum Kammerflimmern. Die zweithäufigste Todesursache ist der kardiogene Schock. Aufgrund der Wandschwäche nach einem Herzinfarkt kann es auch zu Herzwandaneurysmen kommen. Chronische Folgen sind Funktionsverlust und Thromben- (Blutgerinnsel-)bildung durch den gestörten Blutfluss, was wiederum arterielle Embolien begünstigt. Eine akute Mitralklappeninsuffizienz kann sich insbesondere bei Hinterwandinfarkten ausbilden, da es hierbei zu einer Nekrose der Papillarmuskeln kommt und infolgedessen zur Ruptur eines Sehnenfadens.

Therapie:

Oberstes Ziel bei einem Herzinfarkt ist die möglichst schnelle Eröffnung des verschlossenen Gefäßes. Je früher die sogenannte Reperfusionstherapie begonnen wird, desto erfolgreicher kann man die Ausdehnung des Infarktgebietes begrenzen. Zwei Behandlungsverfahren werden angewendet:

1. Die mechanische Behandlung: Hierbei wird das Gefäß mittels eines Ballons und anschließender Stentimplantation über einen Herzkatheter dilatiert und revaskularisiert.
2. Die medikamentöse Behandlung (Lysetherapie/Thrombolyse): Hierbei wird ein Gerinnsel auflösendes Medikament intravenös injiziert.

Trotz erfolgreicher Reperfusion erfordern mittel- und langfristige Umbauprozesse am Myokard (negatives Remodelling) oftmals eine lebenslange medikamentöse Intervention. Dazu stehen folgende Medikamente zur Verfügung, die oft lebenslang benötigt werden: β -Blocker, Acetylsalicylsäure, ACE-Hemmer und CSE-Hemmer (Statine).

Ein unvollständiges Verständnis der pathophysiologischen Vorgänge der Umbauprozesse am Herzen erschwert derzeit eine befriedigende kausal begründete Therapie.

1.2 Herzerkrankungen in der Tiermedizin

In der Tiermedizin werden zwei Schemata zur Einteilung des klinischen Schweregrades der Herzinsuffizienz herangezogen, zum einen das humanmedizinische, oben bereits erwähnte, Schema der New York Heart Association (Darst. 1) und zum anderen das unten dargestellte Schema des International Small Animal Cardiac Health Council (Darst. 2).

1	Zeichen einer Herzerkrankung ohne Symptome
1a	keine Vergrößerung des Herzens
1b	Größenveränderung des Herzens
2	Zeichen von leichter bis mittelgradiger Herzinsuffizienz, verminderte Anstrengungstoleranz und Leistungsfähigkeit, Dyspnoe bei Anstrengung, Husten, leichte Tachypnoe
3	Dyspnoe und Husten bei Ruhe, schwere Anstrengungstoleranz, Zeichen von Ödemen
3a	ambulante Behandlung möglich
3b	Hospitalisierung des Patienten

Darst.2: ISACHC-Klassifikation: Funktionelle Klassifizierung (Abraham et al., 2006)

1.2.1 Herzinfarkt bei Tieren

Der Herzinfarkt bei Tieren wird sehr selten beobachtet. Auslöser sind dort, anders als beim Menschen, vor allem infektiös bedingte Endokarditiden der Mitralklappe. Hierbei werden Thromben in die Herzkranzgefäße abgeschwemmt und verursachen so einen Myokardinfarkt. Bei Haustieren kommt es gelegentlich zu einer Atherosklerose, einer Lipidansammlung innerhalb der Media und Intima elastischer und muskulärer Arterien. Auch dies kann in sehr seltenen Fällen zu einem Herzinfarkt führen (McGavin und Zachary, 2009)

Außerdem wurde beim Hund eine reduzierte Sauerstoffzufuhr in kleinen Herzarterien aufgrund von Amyloidose als Zufallsbefunde bei pathologischen Untersuchungen beschrieben.

1.2.2 Dilatative Kardiomyopathie (DCM)

Diese Form der Kardiomyopathie tritt hauptsächlich beim Hund auf. Da vor allem große Rassen (Dogge, Bernhardiner, Dobermann, Boxer, etc.) und Cockerspaniel betroffen sind, kann man von einer dominierenden Rolle genetischer Faktoren ausgehen. Teilweise kommt es auch zu einer familiären Anhäufung der Erkrankung. Bei der DCM handelt es sich um eine chronische Erkrankung mit progressivem Verlauf. Es kommt zunächst zu einer Dilatation des linken Vorhofes und der linken Herzkammern, im weiteren Verlauf auch zu einer Dilatation des rechten Vorhofes und der rechten Kammer. Sie verläuft in der Regel lange subklinisch bevor es dann aufgrund ventrikulärer Arrhythmien oder kongestivem Herzversagen zum plötzlichen Tod kommt.

Ursachen für die DCM können Virusinfektionen, Autoimmunerkrankungen, Toxine, nutritive Mängel (Taurin, Carnitin), persistierende Tachykardien und genetische Prädispositionen sein (Vollmar, 2002).

Bei frühzeitigem Erkennen der Erkrankung kann eine lebenslange medikamentöse Therapie mit Kardiaka (z.B. mit dem Wirkstoff Pimobendan) und Angiotensin Converting Enzyme (ACE)-Hemmern eingeleitet werden. Außerdem kann unterstützend mit Diuretika gearbeitet werden (Busch, 2004).

1.2.3 Hypertrophe Kardiomyopathie (HCM)

Diese Form der Kardiomyopathie tritt hauptsächlich bei der Katze auf. Auch hier liegt eine genetische Prädisposition bei verschiedenen Rassen vor. V.a. betroffen sind Maine Coon und Perser, sowie Amerikanisch und Britisch Kurzhaar (Kittleson et al., 1999, Meurs et al., 2005). Hierbei kommt es zu einer Verdickung der Herzwände (Hypertrophie). Hauptsächlich betroffen sind das linke Herz und das Septum (Glaus, 2003). Das Myokard wird starrer und die Füllungsfähigkeit des linken Ventrikels verschlechtert sich. Mit einer Steigerung der Herzfrequenz (Tachykardie) wird versucht, eine Kompensation der ungenügenden Ventrikelfüllung zu erreichen.

Unterschieden wird zwischen Primären und Sekundären Hypertrophen Kardiomyopathien. Bei der Primären liegt ein genetischer Defekt zugrunde, d.h. die Ursache liegt im Herzmuskel selbst.

Bei der Sekundären HCM kommt es aufgrund systemischer Erkrankungen, wie chronisches Nierenversagen oder Schilddrüsenüberfunktion, zu einer Hypertrophie (Wess et al., 2004).

Zu den medikamentösen Therapiemöglichkeiten zählen die Gabe von Beta-Blockern, ACE-Hemmern und Diuretika. Die jeweilige Therapie ist abhängig vom Patienten selber und vom Stadium der Erkrankung (Wess et al., 2004)

1.3 Herzinfarktmodelle (experimentell)

1.3.1 *In vitro*: Isoliertes Herz, Kardiomyozyten

Diese Methode ermöglicht Untersuchungen hinsichtlich einer globalen Ischämie nach Aortenokklusion, einer regionalen Ischämie nach Ligatur einer Koronararterie und einer Hypoxie durch eine Sauerstoffreduktion in der Perfusionslösung.

Hierfür wird einem anästhesierten Tier das Herz mittels Thorakotomie entnommen und an der sogenannten Langendorff-Apparatur mit Krebs-Henseleit-Bikarbonatpuffer-Lösung retrograd perfundiert. Dieses Perfusionsmodell eines Säugetierherzens wurde 1895 erstmals von Langendorff beschrieben und seitdem vielfach verwendet und modifiziert. Möglich sind auch Perfusionen mit einer oxygenierten blut-ähnlichen Lösung (Meyer et al., 2008) oder mit Vollblut (Weekers et al., 2000).

Auch zur Erforschung biochemischer, metabolischer und zellulärer Folgen nach myokardialer Ischämie ist das isoliert perfundierte Herz ein geeignetes Modell. Interaktionen, wie sie im kompletten Organismus erfolgen, finden hier keine Beachtung.

Mit isolierten ventrikulären Kardiomyozyten können auf zellulärer Ebene die Veränderungen von pH-Wert, Temperatur, Medium sowie die Wirkung endogener Katecholamine und die Anreicherung mit freien Radikalen untersucht werden. Auch die Folgen von Reperfusion und Hypoxie können mit dieser Methode untersucht werden. Je nach Fragestellung unterscheiden sich die Vorgehensweisen der Probenentnahme und Präparation, sowie die Versuchsbedingungen. Allgemeine Techniken zur Isolation adulter Kardiomyozyten und deren Anlage als Zellkultur werden von verschiedenen Autoren beschrieben (Piper et al., 1982, Schlüter und Schreiber, 2005).

Auch dieses Modell dient der Untersuchung der gewebespezifischen Anpassung an Stress, wie Ischämie, aber es fehlt die Interaktion mit anderen kreislaurelevanten Organen.

1.3.2 *In vivo*: open vs. closed chest

Beim open-chest Modell liegen die Instrumentierung und die Infarktsetzung zeitlich nah beieinander. Das Versuchstier wird narkotisiert, der Thorax eröffnet und die linke absteigende Koronararterie (LAD) ligiert (Nossuli et al., 2000).

Es entsteht eine signifikante Erhöhung des Entzündungslevels auch in sham-operierten Tieren, bei denen kein Infarkt gesetzt wird (Michael et al., 1985). Diese operationsbedingten Entzündungsreaktionen sind schwer von denjenigen zu trennen, die durch die Infarktsetzung entstehen.

Aus diesem Grund wurde das closed-chest Modell entwickelt. Bei diesem Modell sind Instrumentierung und Infarktsetzung zeitlich getrennt. Die Tiere werden narkotisiert, der Thorax wird eröffnet und ein Faden mit Okkluder wird um die LAD gelegt. Der Thorax wird wieder verschlossen und das Fadenende unter die Haut verbracht. Die eigentliche Infarktsetzung erfolgt zu einem späteren Zeitpunkt, durch Eröffnen der Haut und Zuziehen des Okkluders. Der Thorax bleibt geschlossen. Damit gewährleistet man vor der Infarktsetzung das Ausheilen der Entzündung, die durch die Operation entsteht (Nossuli et al., 2000).

Die Ergebnisse aus *in vivo* Studien sind am ehesten geeignet, die Reaktion des Gesamtorganismus auf ein kardiales Ereignis wie den Infarkt zu untersuchen, da in diesen Versuchen der komplette Organismus und die Organ/Organ-Interaktionen berücksichtigt werden. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit das closed-chest Modell gewählt.

1.4 Eingesetztes Medikament

1.4.1 Captopril

Captopril gehört zu der Gruppe der Angiotensin Converting Enzyme-(ACE-) Hemmer. Es ist der einzige ACE-Hemmer mit einer SH-Gruppe und ist ein Kondensationsprodukt aus (S)-3-Mercapto-2-methylpropionsäure und der Aminosäure (S)-Prolin. 1977 kam es als erster oral wirksamer ACE-Hemmer auf den Markt.

ACE-Hemmer haben ihren Angriffspunkt im Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS). Das Angiotensin konvertierende Enzym katalysiert die Bildung von Angiotensin II aus Angiotensin I. Wird es gehemmt, entsteht weniger Angiotensin II und damit weniger Aldosteron. Der Gefäßtonus nimmt ab und der Blutdruck sinkt. Zusätzlich kommt es durch die verminderte Aldosteronfreisetzung zu einer reduzierten Wasserretention.

Eingesetzt werden ACE-Hemmer somit zur Behandlung von arterieller Hypertonie (Bluthochdruck), Herzinsuffizienz und zur Behandlung nach einem Herzinfarkt.

Wird Captopril in Wasser gelöst ist es bis zu zehn Tagen bei Raumtemperatur stabil (Pereira et al., 1992). Für Ratten wird es in einer Konzentration von 300mg/l Trinkwasser (Amazonas et al., 2007) bis zu einer Konzentration von 2000mg/l Trinkwasser dosiert (Brooks et al., 1997).

1.5 Molekulare Parameter pathophysiologischer Umbauprozesse nach Infarkt

1.5.1 Ornithindecaboxylase (ODC)

Ein wichtiger Mechanismus zur Kontrolle der Konzentration der Polyamine (Putrescin, Spermidine, Spermin) in der Zelle, ist die Regulation der Ornithindecaboxylase (Cohen, 1998). Polyamine sind essentielle Faktoren bei der Zellproliferation und Zelldifferenzierung, d.h. bei Wachstum von Gewebe spielen sie eine entscheidende Rolle (Ask et al., 1992; Löser et al., 1999; Quemener et al., 1994; Seiler et al., 1990). Somit sind sie bei einem Infarktgeschehen und anschließendem

Remodelling von großer Bedeutung. ODC decarboxyliert Ornithin zu Putrescin. Ornithin selbst wird im Harnstoffzyklus aus Arginin gebildet.



1.5.2 Endotheliale Stickstoffmonoxid Synthase (eNOS)

Aus der Aminosäure L-Arginin katalysiert die Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS) das Stickstoffmonoxid unter Abspaltung von Citrullin. Eine Isoform der NOS ist die endotheliale NO-Synthase. Deren Expression findet beispielsweise in Endothelzellen, Kardiomyozten und Thrombozyten statt. Zum einen wird die Bildung der eNOS durch Scherkräfte die durch das vorbeifließende Blut ausgelöst werden, zum anderen durch bestimmte Wachstumsfaktoren (VEGF, TGF β 1) und Hormone (Insulin, Estrogen) gesteigert (Searles, 2006). Auch Hypoxie erhöht die Expression. eNOS, welches vasodilatierendes NO bildet, wirkt der sympathisch-adrenergen Vasokonstriktion entgegen. Damit wird der wichtigste Stoff für die endothelvermittelte Gefäßtonusmodulation geliefert (Panza et al., 1990). Lokalisiert ist die eNOS in Mikrodomänen in der Plasmamembran, den Caveolae. NO hat viele gefäßschützende Eigenschaften, z.B. hemmt es die Thrombozytenaggregation, die Anheftung von Leukozyten und die Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen (Förstermann et al., 1994). D.h. eine verringerte NO-Produktion durch eNOS begünstigt Gefäßerkrankungen. Für die maximale NO-Produktion muss ausreichend Arginin zur Verfügung stehen (Hardy et al., 2002). Reguliert wird die eNOS Aktivität durch Ca²⁺ und Calmodulin. Für die maximale katalytische eNOS-Aktivität ist die Calmodulin-Bindung Voraussetzung. Ist die Ca²⁺-Konzentration intrazellulär niedrig ist die Calmodulin-Bindung beeinträchtigt (Fleming et al, 2001).

1.5.3 Arginase

Arginasen sind Isoenzyme die den Abbau der Aminosäure Arginin zu Ornithin und Harnstoff katalysieren. Die Arginase konkurriert mit der NO-Synthase um das gleiche Substrat, das Arginin (Gobert et al. 2004). Es wird vermutet, dass Arginase 1-Genpolymorphismen das Risiko für Artherosklerose und somit für einen Herzinfarkt erhöhen (Dumont et al., 2007).

1.6 Fragestellung dieser Arbeit

Bei einem Herzinfarkt kommt es zu einer eingeschränkten Funktion des linken Ventrikels. Da das Herz alle Organe versorgt, wirkt sich diese Beeinträchtigung auf den gesamten Organismus aus.

In dieser Arbeit wird im Speziellen die Frage bearbeitet, inwieweit eine Infarzierung des linken Ventrikels Konsequenzen für die Funktion des rechten Ventrikels hat. Hierzu werden zum einen die Gewichtsveränderungen der Organe untersucht. Zum anderen wird zur weiteren Charakterisierung der infarktbedingten Veränderungen eine umfassende Analyse des Expressionsmusters einer Vielzahl von Genen durchgeführt, die in einem unmittelbaren Zusammenhang zum Infarktgeschehen und der daraus resultierenden Herzinsuffizienz stehen. Hierzu gehören sowohl die metabolischen Marker und die Calcium-Handling-Proteine, als auch die Hypertrophie-, Fibrose- und Apoptose-Marker. Besonderes Augenmerk liegt hierbei bei einem direkten Vergleich des rechten und linken Ventrikels.

Außerdem wird die Interaktion der Arginin-abhängigen NO-Bildung und des Arginin-abhängigen Polyaminstoffwechsels untersucht.

Da es bei einer Linksherzinsuffizienz zu einem Rückwärtsversagen und damit aufgrund der verminderten Auswurfleistung zu einer passiven Lungenstauung kommen kann, wird auch die Lunge näher betrachtet. In diesem Fall werden die Gewichtsdaten und Fibrose- und Hypertrophie-Marker beurteilt.

Eine erweiterte Fragestellung beschäftigt sich zudem mit den Auswirkungen eines Herzinfarktes auf die Nierenfunktion. Diese wird anhand der Kreatininkonzentration im Plasma und der abgeschätzten glomerulären Filtrationsrate untersucht.

2. Material

2.1 Versuchstiere

Ratten

Für die Versuche wurden 3-5 Monate alte weibliche Wistar Hannover-Ratten verwendet, deren Gewicht zu Versuchsbeginn zwischen 200 und 250g lag.

Die Tiere wurden im Physiologischen Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen gehalten. Vor Versuchsbeginn wurden sie in Gruppen mit maximal 7 Tieren auf Einstreu in Polycarbonat Kunststoffkäfigen (L: 595 x B: 380 x H: 200mm) mit um 70mm erhöhten Gitterdeckeln aus Edelstahl gehalten, während der Versuchsdauer erfolgte die Haltung einzeln in Rattenkäfigen mit den Maßen 425 x 265mm oben außen, 375 x 215mm unten innen und 180mm Höhe mit 50mm erhöhtem Gitterdeckel.

Gefüttert wurden sie mit Harlan Teklad Global 18% Protein Rodent Diet und sie bekamen frisches Leitungswasser zur freien Aufnahme. Die Haltung erfolgte bei einem natürlichen Tag-Nacht-Rhythmus, einer Temperatur von $23 \pm 2^\circ\text{C}$ und einer Luftfeuchtigkeit von $50 \pm 10\%$

2.2 Geräte

2.2.1 Allgemeine Laborgeräte

Bulk Beads 1,4mm	Bertin, Frankreich
Demineralisierungsanlage	Millipore, Eschborn
Glasware	Schott, Mainz
Laborwaage	Kern & Sohn GmbH, Balingen
Langendorff-Apparatur	Physiologisches Institut, Giessen
Micro Tubes 2 ml	Sarstedt, Nürnberg
pH-Meter	WTW, Weilheim
Pipetten	Eppendorf-Netheler-Hinz, Hamburg
Präparationsbesteck	Aesulap, Heidelberg
Precellys 24	PEQLAB, Erlangen
Reaktionsgefäße (0,5/1,5/2,0ml)	Sarstedt, Nürnberg

Schüttler	Biometra, Göttingen
Vakuum-Pumpe Vacusafe	IBS INTEGRA Biosciences, Fernwald
Vortexer	Heidolph, Kelheim
Zentrifugen	Beckman Coulter, USA

2.2.2 Spezielle Geräte und Gebrauchsgegenstände

Operationsgeräte

Mikroskop	WILD, Heerbrugg
+ Ringbeleuchtung	Carl Zeiss, Jena
Beatmungsgerät für kleine Labortiere RUS-1321-RA	FMI Föhr Medical Instruments GmbH, Ober- Beerbach
Temperaturkontrollmodul + Wärmeplatte + Rektalsensor	FMI Föhr Medical Instruments GmbH, Ober- Beerbach
Fluovac System	FMI Föhr Medical Instruments GmbH, Ober- Beerbach
IMS Fluosorber Canister	FMI Föhr Medical Instruments GmbH, Ober- Beerbach
Transformator zur Drehzahl-/ Saug- gebläse Regulierung von Fluovac	
Anästhesiegas-Scavenger	FMI Föhr Medical Instruments GmbH, Ober- Beerbach
Inhalationsnarkotika Verdampfer (Vet. Med. Vapor)	FMI Föhr Medical Instruments GmbH, Ober- Beerbach
Gasgemischregulator	FMI Föhr Medical Instruments GmbH, Ober- Beerbach
Germinator 500 Dry Sterilizer	CellPoint Inc.; USA

Western Blot:

Blotkammer	biotec-Fischer, Reiskirchen
Chemilumineszenz System	PEQLAB, Erlangen
Elektrophoresekammer	Biometra, Göttingen

Material

Filterpapier	Biotec Fischer, Reiskirchen
Flachbettscanner	Hewlett Packard, Böblingen
Glasplatten	Biometra, Göttingen
Klemmen	Biometra, Göttingen
Hamiltonspritze (50µl)	Hamilton, Schweiz
Immobilon P (PVDF-Membran)	Millipore, Schwalbach
Netzgerät	Biometra, Göttingen
Profilformer	Biometra, Göttingen
Spacer	Physiologisches Institut, Giessen
Thermoblock Dri-Block DB.2D	Labtech International, UK
Ultraschallgerät (Sonoplus GM70)	Bandelin, Berlin

PCR:

Thermo Cycler	Techne, Wertheim-Bestenheid
iCycler	BioRad, München
Nano Drop® ND-1000	PEQLAB, Erlangen

Kreatinin-Bestimmung:

Kreatinin Test; PAP, enzymatisch	E. Lehmann, Labor+Technik, Berlin
ELISA-Reader	Tecan GmbH, Crailsheim

Elektrolyt-Messung:

Rapidlab 348	Bayer Diagnostics, Fernwald
Glaskapillaren	Bayer, USA

Elektrokardiogramm

EKG, PC-Livestream	biovision+LabView, Wehrheim
--------------------	-----------------------------

2.3 Verbrauchsmaterial

2.3.1 Allgemeines Verbrauchsmaterial

Pipettenspitzen	Sarstedt, Nümbrecht
0,2 ml Thermo-strip	ABgene®, Hamburg

2.3.2 Spezielles Verbrauchsmaterial

Operationsmaterial

Ethilon 5.0	Johnson & Johnson, USA
Klemme	Aesculap, Heidelberg
Kodan Desinfektionsmittel	Schülke & Mayr, Norderstedt
Kanülen Microlance 26G ½"	BD Bioscience, Heidelberg
Laryngoskop	Physiologisches Institut, Giessen
Leukofix	BSN medical GmbH, Hamburg
Metzenbaum-Schere	Eickemeyer, Tuttlingen
Nadelhalter	Heiland, Hamburg
Pinzetten	Aesculap, Heidelberg
Prolene 6.0	Johnson & Johnson, USA
Spritzen	Braun AG, Melsungen
Tubus	Physiologisches Institut, Giessen

Tierhaltung

Einstreu WH-Grade 6	Altromin, Lage-Lippe
Kunststoffkäfige aus Polycarbonat	Tecniplast GmbH, Hohenpeißenberg
Gitterdeckel aus Edelstahl	Tecniplast GmbH, Hohenpeißenberg
Polycarbonat-Tränkeflaschen (720ml)	Tecniplast GmbH, Hohenpeißenberg
Teklad Global 18% Prot. Rodent Diet	Harlan Europe, Rossdorf
Tränkekappen aus Edelstahl	Tecniplast GmbH, Hohenpeißenberg
Zellstoff	Hartmann, Heidenheim

2.4 Chemikalien

Absolute QPCR SYBR® Green Mix	ABgene, Hamburg
Acrylamid	Roth, Karlsruhe
Ammoniumpersulfat	Serva, Heidelberg
Bisacrylamid	Merck, Darmstadt
Bovines Serum-Albumin	Sigma, Taufkirchen
Bromphenolblau	Sigma, Taufkirchen

Material

Calciumchlorid	Roth, Karlsruhe
Captopril	Fagron GmbH & Co. KG, Barsbüttel
Carbogen [®]	Linde, Pullach
Chloroform	Roth, Karlsruhe
Diethylaether	Roth, Karlsruhe
dNTPs	Invitrogen, Karlsruhe
Dithiotreitol	Sigma, Taufkirchen
EDTA-Natriumsalz	Sigma, Taufkirchen
Ethanol	Roth, Karlsruhe
Glucose	Merck, Darmstadt
Glycerin	Roth, Karlsruhe
Glycin	Roth, Karlsruhe
Isopropanol	Roth, Karlsruhe
Isofluran	Baxter, Unterschleißheim
Kaliumchlorid	Roth, Karlsruhe
KH ₂ PO ₄	Roth, Karlsruhe
Methanol	Roth, Karlsruhe
MgCl ₂	Roth, Karlsruhe
MgSO ₄	Merck, Darmstadt
M-MLV Reverse Transkriptase	Invitrogen, Karlsruhe
Molekulargewichtsmarker	Thermo Scientific, USA
NaCl	Roth, Karlsruhe
NaHCO ₃	Roth, Karlsruhe
NaH ₂ PO ₄	Roth, Karlsruhe
NaN ₃	Merck, Darmstadt
Oligo-dt	Roche, Mannheim

PBS	bioline, Luckenwalde
PeqGold TriFast™	PEQLAB, Erlangen
PMSF	Roth, Karlsruhe
Puffer A (Anodenpuffer)	Roth, Karlsruhe
Puffer K (Kathodenpuffer)	Roth, Karlsruhe
6,3 Puffer	Siemens, Marburg
7,3 Puffer	Siemens, Marburg
Rapid Step™ ECL Reagent	Calbiochem, USA
RNA-sin	Promega, Madison
5x RT-Puffer	Invitrogen, Karlsruhe
Sodium-Dodecylsulfat	Merck, Darmstadt
Spüllösung	Siemens, Marburg
Super Signal®	Thermo Scientific, USA
Temed	Serva, Heidelberg
Temgesic	Essex Pharma, München
Tris/HCl	Merck, Darmstadt
Triton X-100	Serva, Heidelberg
Tween 20	Sigma, Taufkirchen

Alle übrigen Salze und Chemikalien wurden in der jeweils höchsten Qualität bezogen und entsprechend den Herstellerangaben gelöst und aufbewahrt. Die Anbieter waren Invitrogen (Karlsruhe), Merck (Darmstadt), Roche (Mannheim), Sigma (Taufkirchen) und Calbiochem (Darmstadt). Soweit nicht anders angegeben, wurde aqua bidest als Lösungsmittel für Lösungen, Medien und Puffer verwendet.

2.4.1 Antikörper

Primäre Antikörper:

Aktin	1:1000	Sigma, Taufkirchen
eNOS	1:10.000	Sigma, Taufkirchen

Sekundäre Antikörper:

Anti-Rabbit IgG 1:1000	Affinity Biologicals, Kanada
------------------------	------------------------------

2.4.2 Primer

Die verwendeten Primer wurden von der Firma Invitrogen GmbH, Karlsruhe bezogen. Angegeben sind jeweils das untersuchte Gen, die Annealing-Temperatur (°C) und die Primersequenzen (obere forward, untere reverse).

Gen	Annealing °C	Sequenz
α-MHC	55,0	5'-CAC CCT GGA GGA CCA GAT TA-3' 5'-TGG ATC CTG ATG AAC TTC CC-3'
Adm	65,0	5'-GCA TGA ACC AGG GGT CCC GC-3' 3'-CAC AGT CCG GGC TCG GAG GA-5'
Adm 2	64,5	5'-TGC CTC AGG GTG GTG GCT CA ACT-3' 5'-GTG GGG GCT GCT GGG AT-3'
ADRP/Plin	65,0	5'-GCC CGA GTC ACA ACC CCA CG-3' 3'-AGA GTC GAC AGC CGC TCG GT-5'
ANP	58,0	5'-ATG GGC TCC TTC TCC ATC AC-3' 5'-TCT TCG GTA CCG GAA GCT G-3'
Arginase1	68,0	5'-GGA AGC ATC TCT GGC CAC GCC-3' 3'-CAC CGG TTG CCC GTG CAG AT-5'
Arginase2	62,0	5'-TGA GGA GCA GCG TCT CCC GT-3' 3'-GCT TCT CGG ATG GCG GCT GG-5'
B2M	65,0	5'-GCC GTC GTG CTT GCC ATT C-3' 3'-CTG AGG TGG GTG GAA CTG AGA C5'

Bax	58,0	5`-ACT AAA GTG CCC GAG CTG ATC CAC 3` 5`-TGT CTG CCA TGT GGG G-3`
Bcl-2	56,0	5`-ATC TTC TCC TTC CAG CCT GA-3` 5`-TCA GTC ATC CAC AGA GCG AT`-3`
Biglycan	59,0	5`-TGA TTG AGA ATG GGA GCC TGA G-3` 5`-CCT TGG TGA TGT TGT TGG AGT G-3`
BNP	58,0	5`-ATG ATT CTG CTC CTG CTT TTC C-3` 5`-TCT GCA TCG TGG ATT GTT CTG-3`
Calclr	65,0	5`-AGT CGG AAG AAG GCG CGA ACC-3` 3`-CTC GGT TCC TGC TGC AAC GTC A-5`
Collagen 1	62,0	5`-GCG AAC AAG GTG ACA GAG-3` 5`-CCA GGA GAA CCA GCA GAG-3`
Collagen 3	49,0	5`-TGG AGT CGG AGG AAT G-3` 5`-GCC AGA TGG ACC AAT AG-3`
Decorin	59,0	5`-GGC AGT CTG GCT AAT GTT C-3` 5`-CTT CGG AGA TGT TGT TGT TAT G-3`
Elastin	56,0	5`-TGC TAC TGC TTG GTG GAG AAT G-3` 5`-CGT GGC TGC TGC TGT CTG-3`
eNOS	56,0	5`-AGC CCG GGA CTT CAT CAA TCA G-3` 5`-GCC CCA AAC ACC AGC TCA CTC TC-3`
Fibronectin	60,0	5`-TGG AGC AAG AAG GAC AAC-3` 5`-CGG ACA TCT GTG AAG GAG-3`
HPRT	63,0	5`-CCA GCG TCG TGA TTA GTG AT-3` 5`-CAA GTC TTT CAG TCC TGT CC-3`
IGF2R	64,0	5`-TGG ACC CAC CAA CAG GCC CA-3` 3`-GGT GCA TTC CGT CGC CTG CT-5`
iNOS	60,0	5`-AAG AGA CGC ACA GGC AGA G-3` 5`-CAG CAG GCA CAC GCA ATG-3`
Laminin	56,0	5`-CGA GGA TGT CAG CGT TGT C-3` 5`-TCA CAG CCG TCT CCA GTC-3`
MMP 9	62,5	5`-CAA TCC TTG CAA TGT GGA TG-3` 5`-AAA TCT TCT TGG ACT GCG GA-3`
MMP 12	62,5	5`-TGC AGC TGT CTT TGA TCC AC-3` 5`-GCA TCA ATT TTT GGC CTG AT-3`

Material

NCX	53,0	5'-CCG TAA TCA GCA TTT CAG AG-3' 5'-GCC AGG TTC GTC TTC TTA AT-3'
NRF 1	66,0	5'-GGC ATC ACT GGC AGA GGC CG-3' 5'- GCT GCT GCG GTT TCC CCA GA-3'
ODC	58,0	5'-GAA GAT GAG TCA AAC GAG CA-3' 5'-AGT AGA TGT TTG GCC TCT GG-3'
PGC-1 α	64,5	5'-AGT GCT CAG CCG AGG ACA CGA-3' 5'-TGC CCC TGC CAG TCA CAG GA-3'
PLB	57,5	5'-TAT GTC TGC TGC TGA TAT GC-3' 5'-ACT CTT AAA TCG TGA CCC TTC-3'
PPAR- γ	64,0	5'-GCC GCA CGG ACG CAC ATT G-3' 3'-GCC TCA CAC GAC CCG GTA CC-5'
PTHrP	64,0	5'-AGC TAC TCC GTG CCC TCC CG-3' 3'-AGG AAG AAA CGG CGG CGC AA-5'
PTH-2R	65,0	5'-GGC CAC AGG TAC GGC TCG GT-3' 3'-GGC AGT CTT GGC GGG TTT GCT-5'
RAMP 1	58,0	5'-AGC ATC CTC TGC CCT TTC ATT-3' 5'-GAC CAC CAG GGC AGT CAT G-3'
RAMP 2	60,0	5'-GCA GCC TAC CTT CTC CGA TCC-3' 5'-TCC TCC ACA CCA CAA GCG TAA C-3'
RAMP 3	58,0	5'-CAA CCT GTC GGA GTT CAT CGT-3' 5'-TGT CTC CAT CTC CGT GCA GTT-3'
SERCA	57,0	5'-CGA GTT GAA CCT TCC CAC AA-3' 5'-AGG AGA TGA GGT AGC GGA TGA A-3'
SDF-1	64,0	5'-CCA AGG TCG TCG CCG TGC TG-3' 3'-GGC TCT GGC GAC ATG GCT CT-5'
TIP39-PTH2	65,0	5'-TCT GCC CCT CGC TGG TGT GT-3' 3'-CGT CGT CAG CTA GCG CCA GG-5'
TGF- β_1	61,0	5'-ATT CCT GGC GTT ACC TTG G-3' 5'-CCT GTA TTC CGT CTC CTT GG-3'
VEGF	63,0	5'-TGC CCC TAA TGC GGT GTG CG-3' 3'-GGC TCA CAG TGA ACG CTC CAG G-5'

2.5 EDV und Statistik

ChemiCapt 5000	Vilber Lourmat, Frankreich
Cyberlink Power Director 4	Cyberlink, Niederlande
ELISA Reader	Tecan GmbH, Crailsheim
HP DeskScan II	Hewlett Packard, Böblingen
i-control	Tecan GmbH, Crailsheim
iCycler™ iQ Optical System Software	BioRad, München
Image Quant	Molecular Dynamics
Magellan	Tecan GmbH, Crailsheim
Microsoft Office®	Microsoft Deutschland, Unterschleißheim
Microsoft Windows® (XP, 7)	Microsoft Deutschland, Unterschleißheim
Nano Drop 100v 3.5.1	Coleman, München
QuantityOne	BioRad, München
SPSS	SPSS Statistics 17.0

3. Methoden

3.1 Studiendesign

Es wurden für diese Arbeit 48 weibliche Wistar Ratten untersucht.
Die Gruppeneinteilung (n=8 für die Infarkttiere und n=8 für die Kontrollen)
ist wie folgt:

1 Tag nach Infarkt (n=16)

7 Tage nach Infarkt (n=16)

1 Tag nach Infarkt + Captopril (n=16)

3.2 Einstufung der Tiere nach Distress-Score-Schema

Die Tiere wurden nach einem speziell entwickelten Distress-Score-Schema eingestuft, um eine einheitliche Beurteilung des Gesundheitszustandes gewährleisten zu können:

Appearance	
Normal	0
General lack of grooming, dull, yellowing coat	1
Coat staring, ocular/nasal discharge	2
Pinched features, dehydrated, pale eyes	3
Bodyweight	
Normal (stagnation is already a sign of illness)	1
Body wt. ↓ < 5%	2
Body wt. 5 – 10%	3
Body wt. 10 – 15%	4
Clinical Signs	
Normal respiratory rate and pattern	0
Slight changes, increased rate	1
Dyspnea, Tachypnea with abdominal breathing	2
Marked abdominal breathing with cyanosis	3
Natural Behaviour	
Normal	0
Minor changes	1
Less alert	2
Isolation or very still	3
Provoked Behaviour	
Normal	0
Minor depression or exaggerated response	1
Moderate change	2
Reacts on handling violently/ vocalisation or very still	3
Score Adjustment	
If scored 3 more than once score 1 point for each 3	
Total	

Darst.3: Distress-Score-Schema zur Beurteilung des Gesundheitszustandes der Versuchstiere. Modifiziert nach Lloyd und Wolfensohn (1999).

Die Versuchsbedingungen wurden so definiert, dass die jeweiligen Ratten ab einer Summe von 5 Punkten aus dem Versuch genommen worden wären.

3.3 Operativer Eingriff

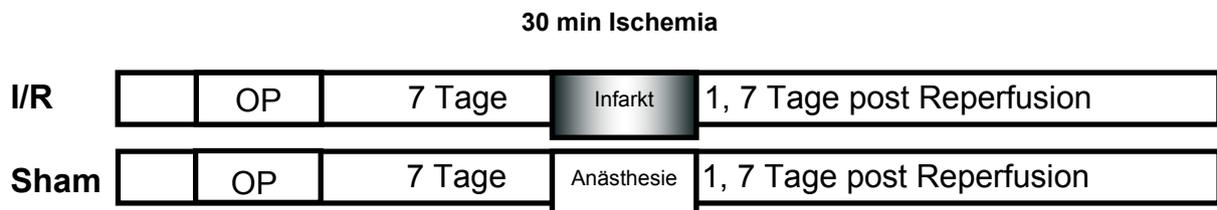
Die Genehmigung des Tierversuchs ist durch das Regierungspräsidium Giessen erteilt worden (Aktenzeichen: GI 20/1 Nr. 40/2008).

Das Versuchstier wurde in eine Plexiglaskammer gesetzt, die dann mit Isofluran geflutet wurde. Sobald das Anästhesiestadium III (Erlöschen des Augenlidreflexes) erreicht wurde, wurde das Tier mit einem speziell angefertigten Tubus aus einer Venenverweilkanüle intubiert und an das Kleintierbeatmungsgerät angeschlossen. Die Beatmung erfolgte mit einer Frequenz von 60 Atemzügen pro Minute und einer Inspirationsdauer von 40% des Atemzyklus. Die Narkose wurde mit 2-3% Isofluran aufrechterhalten. Präoperativ wurden 0,05mg/kg Temgesic i.p. injiziert. Das Tier wurde in Rückenlage auf einer per Rektalsonde gesteuerten Wärmeplatte mit Leukofix fixiert (die Vordergliedmaßen im 90° Winkel zum Körper, der caudale Körperteil wurde gegenüber dem cranialen Teil um 45° gedreht und die linke Hintergliedmaße auf der rechten Seite fixiert). Der Brustkorb wurde geschoren und die Haut mit Kodanlösung dreimal desinfiziert. Linksseitig wurde die Haut durchtrennt, die Muskelschicht angehoben und jeweils seitlich mit Haltezügeln (Ethilon 5.0) fixiert. Die Freilegung des Herzens erfolgte durch Eröffnung des Brustkorbes im vierten Intercostalraum und dessen Aufspreizen mit weiteren Haltezügeln. Nach Aufsuchen des absteigenden Astes der linken Koronararterie (LAD) wurde diese mit einem Prolenefaden 6.0 umstoßen. Zur Kontrolle, ob dieser richtig liegt, wurde ein EKG aufgezeichnet und die ST-Hebung bei kurzem Anziehen des Fadens dokumentiert. Anschließend wurde der Thorax mit Einzelknopfheften mit einem Ethilonfaden 5.0 verschlossen und der Prolenefaden 6.0 in eine Subkutantascche verbracht. Zum Schluss wurde die Haut intrakutan ebenfalls mit Ethilon 5.0 vernäht.

Das Tier wurde anschließend in Einzelhaltung auf Zellstoff im hauseigenen Tierstall untergebracht, um die Wundheilung abzuwarten.

Nach einer Woche erfolgte die Infarktsetzung in der Infarktgruppe. Das Tier wurde wieder mit Isofluran in Narkose gelegt. Die Aufrechterhaltung der Anästhesie erfolgte über Maske und bei erhaltener Spontanatmung. Die Haut wurde eröffnet und der Subkutanfaden freigelegt. Unter EKG-Kontrolle wurde dieser über 30 Minuten gespannt und so der Infarkt gesetzt. Anschließend wurde reperfundiert und der

Subkutanfaden wieder in die Tasche zurückgelegt und die Haut verschlossen. Die sham-operierten Tiere wurden über denselben Zeitraum nur in Narkose gelegt. Je nach Gruppe wurden die Tiere für einen Tag oder sieben Tage unter täglicher Kontrolle wieder in den Tierstall gebracht und nach der angegebenen Zeit getötet.



Darst.4: Schema des Versuchsaufbaus

3.4 Medikamentengabe

Um die Auswirkung eines ACE-Hemmers auf das post-Infarkt-Remodelling zu untersuchen, wurde Captopril verabreicht. Die Gabe erfolgte über das Trinkwasser, um eine kontinuierliche Wirkstoffaufnahme über den Tag verteilt zu gewährleisten. Captopril ist eine in wässriger Lösung stabile Substanz, die bei Bedarf alle zwei Tage neu angesetzt wurde.

Die Captoprildosis betrug 300mg/l. Die Tiere hatten ein Gewicht von ca. 250g und die tägliche Wasseraufnahme lag bei 20-25ml, so dass eine ungefähre Aufnahme von 30 mg/kg KGW/Tag stattfand.

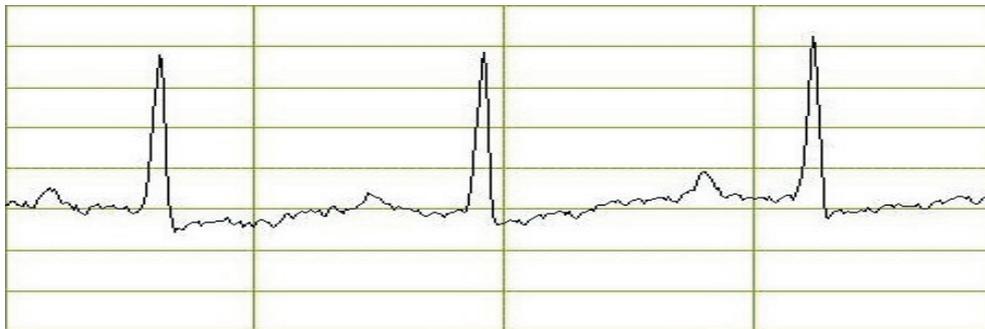
3.5 Elektrokardiogramm (EKG)

Elektrokardiogramme (EKG) des Menschen wurden 1902 erstmals von Willem Einthoven veröffentlicht. Mit diesen konnte seitdem die elektrische Aktivität des Herzens analysiert werden (von Knorre, 2002).

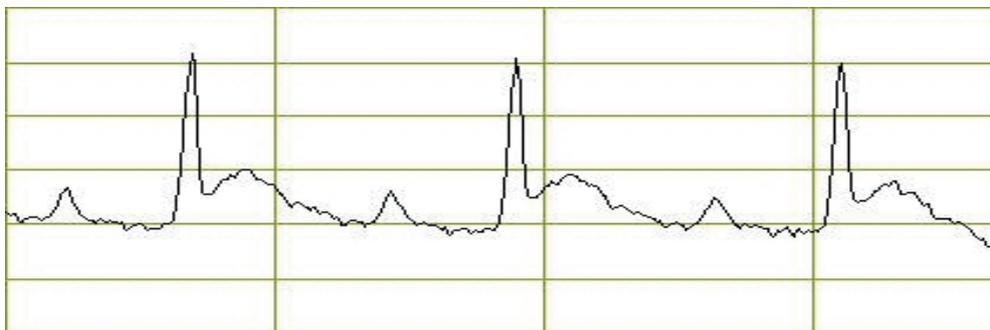
Aufgezeichnet werden, mit Hilfe der Elektrokardiographie, die bei der Herztätigkeit auftretenden elektrischen Potentiale. Das Elektrokardiogramm kann keine Auskunft über die Kontraktion und Pumpleistung des Herzens geben, aber über die Herzlage, den Erregungsrhythmus und dessen Ursprung, die Herzfrequenz und über die Impulsausbreitung, die Erregungsrückbildung und deren Störungen (Silbernagel et al., 2001).

Durchführung:

Eine Woche nach der Operation wurde der Faden mobilisiert, der um die LAD gelegt wurde. Die Elektroden wurden am linken Vorderbein und am rechten Hinterbein unter die Haut gestochen. Durch Anziehen des Fadens wurde ein 30-minütiger Infarkt gesetzt, der durch die ST-Streckenhebung auf dem EKG zu belegen war. Anschließend wurde der Faden wieder gelockert und eine Reperfusion fand statt. Dies wurde anhand der Normalisierung des QRS-Komplexes sichtbar. Das EKG wurde auf dem Computer aufgezeichnet.



Darst.5: EKG vor Infarktsetzung



Darst. 6: EKG während Infarktsetzung mit ST-Streckenhebung

3.6 Organentnahme und -präparation

Die Betäubung der Tiere erfolgte mittels Diethylether und die anschließende Tötung erfolgte durch zervikale Dislokation. Nach dem Wiegen der Tiere wurde das Abdomen eröffnet, das Zwerchfell durchtrennt und Herz und Lunge entnommen, um sie dann in 4°C kalte physiologische Kochsalzlösung zu legen. Durch dieses Vorgehen erreichte man eine Verlangsamung der Stoffwechselprozesse und eine Reduzierung der Schädigung des Herzens durch Hypoxie. Das sich in der Brusthöhle sammelnde Blut wurde aspiriert und mittels Lithiumheparin ungerinnbar gemacht.

Anschließend wurde es bei 12.500rpm für zwei Minuten zentrifugiert. Das so gewonnene Plasma wurde bei -20°C weggefroren. Die Lunge wurde vom Herzen getrennt. Die Aorta ascendens wurde freipräpariert und das umliegende Gewebe (Oesophagus, Trachea, Thymus) wurde entfernt. Die Lunge wurde gewogen und in flüssigem Stickstoff zwischengelagert. Das Herz wurde an die Langendorff-Anlage angehängt und retrograd perfundiert. Nach der Erhebung der Funktionsdaten (s.u.) wurde das Herz gewogen und die Vorhöfe entfernt. Der rechte und linke Ventrikel wurden voneinander getrennt, wobei das Septum am linken Ventrikel verblieb, und ebenfalls gewogen. Außerdem wurden die Nieren entnommen, gewogen und in flüssigem Stickstoff zwischengelagert. Die Endlagerung aller gefrorenen Proben erfolgte bei -80°C.

Um die individuellen Organgewichtsveränderungen der Tiere beurteilen zu können, wurde als Bezugsgröße die Länge der Tibia nach Freipräparation gemessen.

3.7 Funktionsdatenerhebung mittels Langendorff-Apparatur

Entwickelt wurde diese Methode 1895 von Oscar Langendorff zur Untersuchung isoliert perfundierter Herzen.

Methode

Das Herz wird über die Aorta ascendens retrograd perfundiert. Das Myokard wird über die Koronararterien versorgt. Die Ventrikel bleiben leer, da es durch die retrograde Perfusion zu einem Verschluss der Aortenklappe kommt (Döring et al., 1985). An der Perfusionskanüle und am Latexballon, welcher sich im linken Ventrikel befindet, sind Druckaufnehmer angeschlossen. Der linksventrikulär entwickelte Druck (LVDP) ergibt sich aus der Differenz zwischen systolischem und diastolischem Druck. Der Koronarwiderstand errechnet sich aus der Division des Quotienten aus Aortendruck und Flussgeschwindigkeit mit dem Herzgewicht.

Ermittelt werden mit dieser Methode:

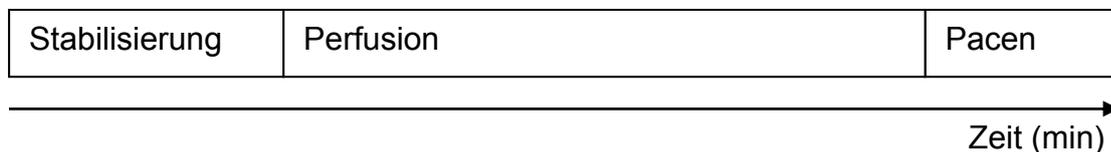
1. Flussrate
2. Perfusionsdruck
3. Herzfrequenz
4. Systolischer und diastolischer Druck

Durchführung

Das Herz wurde in die Wärmekammer der Langendorff-Apparatur angehängt, wobei in die Aorta eine Perfusionskanüle aus Edelstahl (Innendurchmesser: 1,8mm, Außendurchmesser: 3,0mm) so eingeführt wurde, dass ein ungehinderter Schluss der Aortenklappe möglich war und es zu keinem Verschluss der Koronarostien kam. Fixiert wurde die Kanüle mit einem Operationsfaden Nr. 40. Perfundiert wurde das Herz mit einer 37°C warmen, mit Carbogen[®] begasten modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung, welche einen pH-Wert von 7,4 aufwies. Die Regulation des Aortendrucks fand über die Flussgeschwindigkeit statt, die sich über eine Rollenpumpe einstellen ließ. Diese befand sich zwischen Pufferreservoir und Herz.

In den linken Ventrikel wurde über die abgetrennte Vena pulmonalis ein Latexballon Größe 5 eingeführt, über dessen Füllungszustand der diastolische Druck eingestellt wurde.

Die Analyse erfolgte unter flusskonstanten Bedingungen. Begonnen wurde mit einer Stabilisierungsphase von ca. zehn Minuten, wobei der Aortendruck auf 50mmHg und der diastolische Druck auf ca. 10mmHg bis 12mmHg eingestellt wurden. Darauf folgte die Perfusionsphase von fünf Minuten. Anschließend wurde mittels Stimulator die Herzfrequenz auf 240 Schläge pro Minute erhöht (4 Hz).



Darst.7: Perfusionsmodell Langendorff

Krebs-Henseleit-Lösung	NaCl	140mM
	KCl	2,7mM
	NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O	0,4mM
	MgCl ₂ x 6 H ₂ O	1,0mM
	Glucose	5,0mM
	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	1,8mM
	NaHCO ₃	24mM

3.8 Real-time PCR am iCycler®

3.8.1 RNA-Isolierung

Zu den in Microtubes mit bulk beads eingefrorenen Teilen der Ventrikel, Lungen und Nieren wurde 1ml TriFast® Reagenz gegeben und dann im Precellys24 homogenisiert: der linke Ventrikel und die Nieren bei 6.500rpm für zwei mal 20 Sekunden, der rechte Ventrikel bei 6000rpm für drei mal zehn Sekunden und die Lungen bei 6000rpm für zwei mal 20 Sekunden. Diese Organsuspension wurde mit 200µl Chloroform überschichtet und gevortext bis es zu einer milchigen Trübung kam. Anschließend wurde das Gemisch 15 Minuten bei 4°C und 12.500rpm zentrifugiert was zu einer 3-Phasenbildung führte, bei der die oberste klare Schicht die RNA enthielt. Diese wurde in ein neues 1,5ml Reaktionsgefäß pipettiert und im Verhältnis 1:1 mit Isopropanol gemischt. Die Microtubes mit den unteren zwei Phasen (Proteine und DNA) wurden entsorgt. Die Reaktionsgefäße wurden nun bei -20°C über Nacht eingefroren, damit die RNA ausfällen konnte. Am darauffolgenden Tag wurde erneut zentrifugiert (15min; 4°C; 12.500rpm) und die RNA als Pellet gewonnen. Der Überstand wurde abpipettiert und das verbleibende Pellet mit 1ml 70%igem Ethanol nochmals zentrifugiert (15min; 4°C; 12.500rpm) und so gewaschen. Dann wurde das Ethanol abpipettiert, das Pellet für ca. eine Stunde luftgetrocknet und anschließend in 50µl aqua bidest. beim linken Ventrikel, in 25µl aqua bidest. beim rechten Ventrikel, in 20 µl aqua bidest. bei der Lunge und in 500µl aqua bidest. bei den Nieren gelöst.

3.8.2 Bestimmung der RNA-Konzentration

Um die RNA-Konzentration zu bestimmen wurde das Gerät Nano Drop® ND-1000 verwendet. Mit Hilfe dieses UV/Vis-Spektralphotometers konnten RNA-, DNA- und Protein Konzentrationen ermittelt werden. Dafür musste das RNA-Pellet vollständig in aqua bidest. gelöst sein. 2µl aus der Probenlösung wurden anschließend auf den Nano Drop-Sensor pipettiert und die Messung gestartet. Die Werte sollten für die Weiterbearbeitung zwischen 200 und 1000ng/µl liegen. Durch Verdünnung mit aqua bidest. wurde die RNA-Konzentration so eingestellt, dass sie in diesem Bereich lag.

Pro Ventrikel wurden 4µg RNA in 20µl H₂O in cDNA umgeschrieben, die anschließend bei der Real Time Polymerase-Kettenreaktion als Matrize diente.

3.8.3 cDNA-Synthese (Reverse Transkription)

Für die Polymerase-Kettenreaktion gibt es keine spezifischen RNA-Polymerasen, also musste die isolierte RNA zunächst in komplementäre DNA (cDNA) umgeschrieben werden.

Zuerst wurden die Proben in den Thermocycler gestellt. Dann lief die reverse Transkription in drei Schritten ab:

1. Denaturierung bei 60°C für 15 Minuten, damit sich die im Reaktionsmix enthaltene reverse Transkriptase im nachfolgenden Schritt optimal an die RNA anlagern kann.
2. Inkubation bei 37°C für 60 Minuten unter Zugabe der gleichen Menge des reverse Transkriptase enthaltenden Reaktionsmix.
3. Inaktivierung der reversen Transkriptase bei 95°C für fünf Minuten.

Reaktionsmix

5xRT-Puffer	8µl
Oligo dt	4µl (0,1 mg/ml)
dNTP's	4µl(10mmol/l je Nukleotid)
DTT	2µl (0,1mol/l)
RNAsin	0,8µl (25U/µl)
M-MLV-RT	1,2µl (200U/µl)

Die hergestellte cDNA wurde 1:10 mit aqua bidest. verdünnt und bis zur Verwendung in der RT-PCR bei -20°C eingefroren.

3.8.4 Real-time Polymerase-Kettenreaktion (Real-time PCR)

Für die Real-Time Polymerase-Kettenreaktion wurden jeweils 3µl der 1:10 verdünnten cDNA in spezielle PCR-Tubes pipettiert und 17µl Master-Mix zugegeben.

Es wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt. Als Laufkontrolle diente eine Doppelbestimmung mit 3µl aqua bidest., anstelle der Probe.

Master-Mix	SYBR Green Mix	10µl
	Primer (fw + rev)	0,6µl (10µmol)
	aqua bidest.	6,4µl

Der SYBR[®] Green Supermix enthielt bereits alle wichtigen Ingredienzien in den benötigten Konzentrationen. Zusätzlich enthielt er einen Fluoreszenz-Farbstoff, der emittierte, sobald er an doppelsträngige DNA gebunden hat. So konnte anhand der Emissionsstärke nach jedem Zyklus die vorhandene DNA Menge bestimmt werden. Die Auflösung der Primer erfolgte nach Herstellerangaben getrennt für forward und reverse. Sie wurden in aqua bidest. gelöst, im Verhältnis 1:1 gemischt und dann auf 1:10 mit aqua bidest. verdünnt.

Die Tubes mit Reaktionsansatz und Proben wurden in den iCycler gestellt und die PCR mit dem jeweils primer-spezifischen Protokoll gestartet.

1. Zyklus (1x):	Enzymaktivierung	95°C für 15 Minuten
2. Zyklus (45x):	Denaturierung	95°C für 30 Sekunden
	Annealing	x°C für 30 Sekunden
	Elongation	72°C für 30 Sekunden
3. Zyklus (100x)	Schmelzkurve (Temperatursteigerung in 0,5°C-Schritten bis 100°C)	50°C für 10 Sekunden

Um im 1. Zyklus die im Supermix enthaltene „Hot-Start“-Polymerase zu aktivieren wird das Proben-MasterMix-Gemisch auf 95°C erhitzt. Außerdem liegen die beiden DNA-Stränge getrennt voneinander vor, da die DNA bei dieser Temperatur denaturiert. Während des Annealing binden die Primer an den jeweils komplementären Strang der DNA.

Bei 72°C findet nun die Elongation statt. Es kommt zur Neusynthese des zwischen den Primern liegenden DNA-Abschnitts durch die im Supermix enthaltene DNA-

Polymerase. So kommt es zu einer Verdopplung der spezifisch gesuchten DNA in jedem PCR-Zyklus, wodurch die DNA Gesamtmenge exponentiell zunimmt.

Zur Normierung der ermittelten Ct-Werte der analysierten Gene wurde ein Referenz-Gen („housekeeping“-Gen) verwendet. Im vorliegenden Fall handelt es sich um B2M (β 2-Mikroglobulin). Dieses unterlag keiner Regulierung im Hinblick auf die Versuchsbedingungen. Somit ist eine semiquantitative Aussage über die Expression der untersuchten Gene möglich.

3.9 Western Blot

3.9.1 Isolierung von Proteinen aus Rattenherzen

Die in Microtubes mit bulk beads eingefrorenen Organproben wurden zur Proteingewinnung mit Lysis-Puffer versetzt. Ein Teil des linken Ventrikels und ein Teil der Lunge wurden jeweils mit 1ml versetzt. Anschließend wurden die Proben im Precellys24 homogenisiert. Der linke Ventrikel bei 6.500rpm, zwei mal 20 Sekunden und die Lungen bei 5000rpm, zwei mal 20 Sekunden.

Lysis-Puffer	Tris-HCl (pH 7,5)	20mM
	NaCl	150mM
	Na ₂ EDTA	1mM
	EGTA	1mM
	Triton	1%
	Sodium Phosphate	2,5mM
	β - glycerophosphate	1mM
	Na ₃ VO ₄	1mM
	Leupeptin	1 μ g/ml
	PMSF	1mM

Anschließend wurden die Proben mit Ultraschall weiter aufgespalten. Danach wurde die Organsuspension bei 4°C und 14.000rcf für zehn Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein 1,5ml Reaktionsgefäß gegeben. 100 μ l Überstand wurden mit je 20 μ l Lämmli-Puffer versetzt und für fünf Minuten bei 95°C gekocht.

Lämmli-	SDS	0,2g
Puffer	Dithiotreitol	0,154g
	Glycerin (100%)	2ml
	BPB	0,2ml
	Tris	0,5M
	Aqua bidest.	1,8ml
	pH 6,8	

3.9.2 SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE)

Um Proteine anhand ihrer Größe im elektrischen Feld aufzutrennen, wurde die SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese benutzt. Hierfür wurde zuerst das Trenngel in zwei durch Spacer getrennte Glasplatten, die aufrecht in die Elektrophoresekammer gestellt wurden, gegossen und mit aqua bidest. überschichtet. Das Gel polymerisierte dann über Nacht aus. Das aqua bidest. wurde dekantiert und die Glasplatten an der Elektrophoresekammer fixiert. Das Trenngel wurde im Anschluss daran mit Polyacrylamid-Sammelgel überschichtet. In dieses wurden für 30 Minuten Profilformer eingesetzt und anschließend Laufpuffer oben und unten eingefüllt. Die Proben wurden zur Denaturierung erneut für fünf Minuten bei 95°C gekocht, die Profilformer wurden entfernt, die so entstandenen Taschen mit Laufpuffer gespült und dann mit jeweils 20µl Probe gefüllt.

Ein Trenngel wurde in 7,5- oder 12,5%iger Konzentration gegossen, je nach Größe der zu untersuchenden Proteine. Die folgenden Angaben beziehen sich jeweils auf die Menge für ein Gel.

		<u>7,5%</u>	<u>12,5%</u>	
Trenngel	AA/BA	7,5	12,5	ml
	Trenngelpuffer	7,5	7,5	ml
	Aqua bidest.	15	10	ml
	10% APS	200	200	µl
	TEMED	25	25	µl
	10% SDS	300	300	µl

Methoden

Trenngelpuffer	Tris/HCl pH 8,6	1,5mol/l
Sammelgel	AA/BA	1,2ml
	Sammelgelpuffer pH6,8	2,5ml
	Aqua bidest.	6,4ml
	APS	100µl
	TEMED	12µl
	SDS	50µl
Sammelgelpuffer	Tris/HCl pH 6,8	0,5mol/l

In die erste Tasche wurden 20µl Marker (von 10kDa bis 250kDa) pipettiert, um das Molekulargewicht der Proben bestimmen zu können. Bei einer Spannung von 200V fand in drei bis fünf Stunden (je nach Proteingröße) die Gelelektrophorese statt.

5 x Laufpuffer	Glycin	360g
	Tris/HCl	75g
	SDS	25g
	Aqua bidest.	ad 5l

3.9.3 Western Blot Verfahren

Hierbei wurden die nach Molekulargewicht aufgetrennten Proteine auf eine PVDF (Polyvinyliden-Difluorid) Membran übertragen („Semi Dry Blotting-Verfahren“ nach Khyse-Andersen, 1984). Hierfür wurden je drei Filterpapiere auf Membrangröße zugeschnitten, in Puffer A getaucht und luftblasenfrei in einer Blotkammer geschichtet. Die PVDF Membran wurde vorher zur Aktivierung 20 Minuten in 100% Methanol eingelegt und wurde dann in Puffer A geschwenkt und auf die Filterpapiere gelegt. Auf die Membran wurde nun das Gel gelegt und mit in Puffer K getauchten Filterpapieren überschichtet.

Der Boden der Blotkammer diente als Anode, der Deckel als Kathode. Die Proteine wurden dann bei konstanter Spannung von 90mA in zwei Stunden vom

Polyacrylamid-Gel auf die PVDF-Membran transferiert. Die angelegte Spannung wurde je nach Größe der Membran mit der Formel $a \times b \times 0,8 = x \text{ mA}$ berechnet.

3.9.4 Immunologischer Proteinnachweis

Mittels Antigen-Antikörperreaktion wurden im Anschluss an den elektrophoretischen Transfer der Proteine auf die PVDF-Membran, die gesuchten Proteine sichtbar gemacht. Zuerst wurden hierbei die noch verbliebenen freien Bindungsstellen auf der PVDF-Membran durch Zugabe von 1x TBS, mit 5% BSA und 0,1% Tween20 versetzt, abgesättigt und für eine Stunde bei Raumtemperatur auf den Schüttler gestellt.

10x TBS-Puffer	Tris/HCl	10mmol/l
	NaCl	150mmol/l
	pH 7,4	

Danach wurde der Erstantikörper (in 1x TBS mit 5% BSA und 0,1% Tween20) auf die Membran gegeben und über Nacht auf dem Schüttler im Kühlraum belassen. In dieser Zeit reagierte er spezifisch mit dem zugehörigen Antigen auf der Membran und bildete einen Antigen-Antikörper-Komplex. Danach wurde die Membran drei mal zehn Minuten in 1x TBS plus 0,1% Tween20 gewaschen, um den ungebundenen restlichen Erstantikörper zu entfernen.

Enhanced Chemilumineszenz (ECL)-Detektion

Methode

Bei der Peroxidase-katalysierten Oxidation von Luminol wird ein schwacher Lichtimpuls der Wellenlänge 425 erzeugt. Die verwendete Reaktion ist die verstärkte Meerrettichperoxidase (HRP)-katalysierte Oxidation von Luminol. Es handelt sich hierbei um eine komplexe Mehrstufenreaktion. Luminol wird durch das Enzym HRP in Anwesenheit von Hydrogenperoxid zu Licht emittierenden Zwischenprodukten umgesetzt. Über ein entsprechendes Chemilumineszenzsystem wird die Emission detektiert.

Durchführung

Die Membran wurde für eine Stunde mit dem Zweitantikörper, der an konjugiertes HRP (Horseradish Peroxidase) gekoppelt war, inkubiert, der zuvor in 1x TBS mit 5% BSA und 0,1% Tween20 gegeben wurde. Nun kam es zu einer Bindung des Zweitantikörpers an den ersten. Anschließend fanden wieder drei Waschschriffe statt. Die ersten beiden jeweils zehn Minuten mit 1x TBS plus 0,1% Tween20, der dritte zehn Minuten ohne 0,1% Tween20.

3.9.5 Auswertung

Die Auswertung der ECL-Detektion erfolgte über Quantity One. Aktin diente als Referenzprotein.

3.10 Bestimmung der Kreatinin-Konzentration aus Rattenplasma

Aus Kreatin und Kreatinphosphat entsteht endogen im Muskelstoffwechsel Kreatinin. Die Ausscheidung erfolgt bei normaler Nierenfunktion durch glomeruläre Filtration. Zur Diagnose und Verlaufskontrolle von Nierenerkrankungen wird die Kreatininbestimmung durchgeführt.

Methode

Um den Kreatinin-Gehalt im Plasma der Versuchstiere zu bestimmen, wurde ein enzymatischer Fertig-Test (Labor+Technik) verwendet.

Unter Zugabe von Kreatininase, Kreatinase und Sarcosinoxidase reagiert Kreatinin in mehreren Schritten zu Wasserstoffperoxid, welches im letzten Reaktionsschritt mit 4-Aminoantipyrin und ADPS (N-Ethyl-N-(3-sulphopropyl)-3-methoxyanilin) einen roten Chinonimin-Farbstoff bildet. Die Bestimmung erfolgt dann photometrisch mittels eines ELISA-Readers.

Durchführung

Anhand der Anleitung des Fertig-Tests wurden die Reagenzlösungen 1 und 2 hergestellt. Die Standardlösung enthält 2mg/dl (177µmol/l) Kreatinin.

<i>Lösung 1:</i>	Phosphatpuffer	100mmol/l (pH 8,0)
	ADPS	1mmol/l
	Kreatinase	20kU/l
	Sarcosinoxidase	10kU/l
	Peroxidase	20kU/l
	Ascorbatoxidase	5kU/l
	Kaliumhexacyanoferrat	10µmol/l

<i>Lösung 2:</i>	Phosphatpuffer	100mmol/l (pH 8,0)
	ADPS	1mmol/l
	4-Aminoantipyrin	0,2mmol/l
	Kreatininase	60kU/l

Bei Raumtemperatur wurden die Reagenzlösungen und Proben in die Messküvetten pipettiert:

1. Position	Leerwert	200µl Lösung 1
2. Position	Standard	200µl Lösung 1 + 10µl Standardlösung
Restl. Positionen	Analyse	200µl Lösung 1 + 10µl Plasma-Probe

Ebenfalls bei Raumtemperatur wurden die durch schütteln gemischten Proben und Lösungen für fünf Minuten inkubiert. Dann wurde in jede Küvette 40µl der Lösung 2 pipettiert, gemischt und weiter bei Raumtemperatur für 2 Minuten inkubiert.

Danach wurde die Extinktion E_1 abgelesen und nach weiteren 2 Minuten die Extinktion E_2 .

Berechnung: $\Delta E = E_2 - E_1$

Serum-Kreatinin = Standardkonzentration x (ΔE) Analyse / (ΔE) Standard

Berechnung der glomerulären Filtrationsrate (GFR)

Formel:

$$\text{GFR} = 186 \times [\text{Kreatinin}_{\text{Serum}}]^{-1,154} \times [\text{Alter}_{\text{in Jahren}}]^{-0,203} / \text{Gewicht}_{\text{in Gramm}}$$

(für weibliche Tiere zusätzlich noch $\times 0,742$)

(Modifiziert nach MDRD [= Modification of Diet in Renal Disease] nach Levey et al., 2003).

3.11 Elektrolyt-Messung

Natrium ist das im extrazellulären Körperbereich am häufigsten vertretene Kation. Es ist bei der Osmose ein ausschlaggebender Faktor und spielt eine wesentliche Rolle beim Flüssigkeitsaustausch.

Kalium ist eines der wichtigsten intrazellulären Kationen und spielt eine wichtige Rolle bei der Erhaltung des Zellmembranpotentials in neuro-muskulärem Gewebe.

Calcium kommt zu etwa 50% in freier Form vor und zu etwa 50% ist es im Plasma an Proteine gebunden. Im Intrazellulärraum liegt es aufgrund einer niedrigen Proteinkonzentration überwiegend in freier Form vor. Es spielt eine zentrale Rolle bei der Regulation der Zellfunktionen (Silbernagl, 1991).

Methode:

Das Messprinzip der Sensoren basiert auf der ISE-Technologie und bildet mit der Referenz-Elektrode eine komplette Messbrücke.

-Na⁺: Im Na⁺-Sensor befindet sich eine Ableitung aus Silber/Silber-Chlorid, umgeben von einer Elektrolytlösung mit einer bekannten Natrium-Chlorid-Ionen-Konzentration. Eine hochsensitive Glasmembran, spezifisch auf Natrium-Ionen, trennt das Probengut von der Lösung. Zwischen Probengut und Membran erfolgt ein Austausch von Natrium-Ionen wodurch ein Potential aufgebaut und von der Silber/Silber-Chlorid-Elektrode abgeleitet wird. Die gemessene Potential-Differenz (verglichen mit dem konstanten Potential des Referenz-Sensors) ist proportional zur Natrium-Aktivität der Probe.

-K⁺: Im K⁺-Sensor befindet sich eine Ableitung aus Silber/Silber-Chlorid, umgeben von einer Elektrolytlösung mit einer bekannten Kalium-Chlorid-Ionen-Konzentration. Eine PVC-Matrix, in der eine „Ionophore“ (Valinomycin-Membran) eingebracht ist, trennt das Probengut von der Lösung. Diese Membran reagiert hochempfindlich und spezifisch auf Kalium-Ionen. Das zwischen Probengut und der Membran entstehende Potential wird von der Silber/Silber-Elektrode abgeleitet. Die gemessene Potential-Differenz (verglichen mit dem konstanten Potential des Referenz-Sensors) ist proportional zur Kalium-Aktivität der Probe.

-Ca²⁺: Im Sensor befindet sich eine Ableitung aus Silber/Silber-Chlorid, umgeben von einer Elektrolytlösung mit einer bekannten Calcium-Chlorid-Ionen-Konzentration. Eine PVC-Matrix, in die eine derivatisierte quartäre Ammoniumverbindung eingebracht ist, stellt die Membran dar und trennt das Probengut von der Lösung. Diese Membran reagiert hochempfindlich und spezifisch auf Calcium-Ionen. Das zwischen Probengut und der Membran entstehende Potential wird von der Silber/Silber-Elektrode abgeleitet. Die gemessene Potential-Differenz (verglichen mit dem konstanten Potential des Referenz-Sensors) ist proportional zur Calcium-Konzentration der Probe.

Durchführung:

Das Probenplasma wurde in eine Kapillare gezogen. Das Probenvolumen betrug 95µl. Die Kapillare wurde auf die Ansaugnadel gesetzt und das Plasma wurde aspiriert. Danach begannen der Probentransport und die anschließenden Messungen.

3.12 Statistische Auswertung

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte als Mittelwert ± Standardabweichung. Statistische Differenzen wurden mittels zweiseitiger Varianzanalyse ANOVA mit nachfolgendem Tukey-Test als post-hoc-Analyse analysiert.

Als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ als statistisch signifikant angesehen.

Die Kennzeichnung signifikanter Veränderungen erfolgte durch das * -Symbol.

4. Ergebnisse

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt in mehreren Abschnitten. Zunächst wird die kardiale Beeinflussung nach erfolgreicher Revaskularisierung dargestellt. Anschließend erfolgt die Darstellung der Ergebnisse der Revaskularisierung unter Einfluss von Captopril und die Darstellung der Einflüsse auf die renalen und die pulmonalen Parameter.

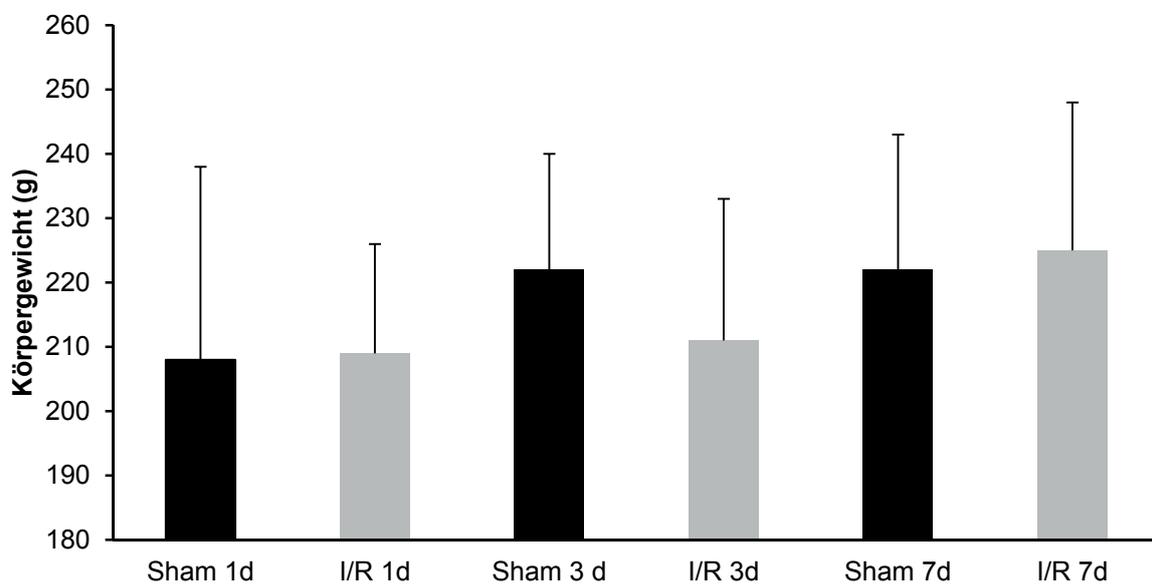
4.1 Distress-Score-Schema

Während der siebentägigen Nachbeobachtung der Infarkt- und Kontrolltiere erfolgt täglich eine Beurteilung des Gesundheitszustandes mit Hilfe eines Distress-Score-Schemas. Zu keinem Zeitpunkt erreicht ein Tier aus einer der Gruppen den kritischen Wert von fünf, der ein vorzeitiges Töten des Tieres gemäß Protokoll zur Folge gehabt hätte.

4.2 Infarktprogression nach erfolgreicher Revaskularisierung

4.2.1 Entwicklung des Körpergewichtes

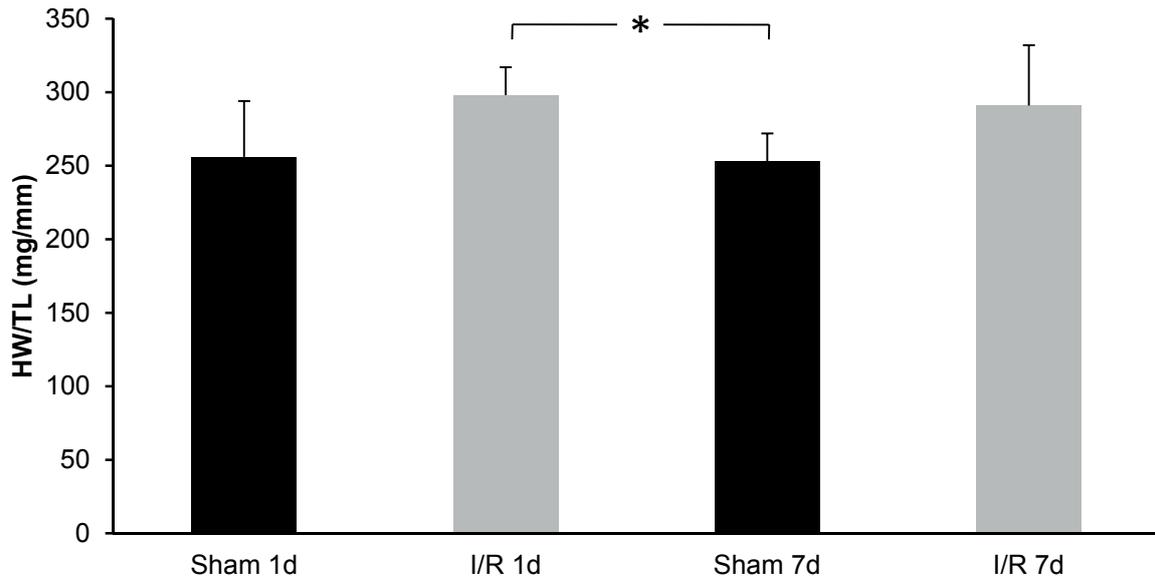
Einer der gemessenen Parameter des oben genannten Distress-Score Schemas ist das Körpergewicht. In der nächsten Darstellung wird deutlich, dass nach drei Tagen eine geringere Gewichtszunahme bei den Infarkttieren zu beobachten ist, im Vergleich zu den Kontrolltieren (sham-operierte). Diese Diskrepanz ist nicht signifikant (Darst.8).



Darst.8: Körpergewicht (g) 1, 3 und 7 Tage nach Infarkt. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$. Sham=scheinoperiert/Kontrolle; I/R=Ischämie/Reperfusion

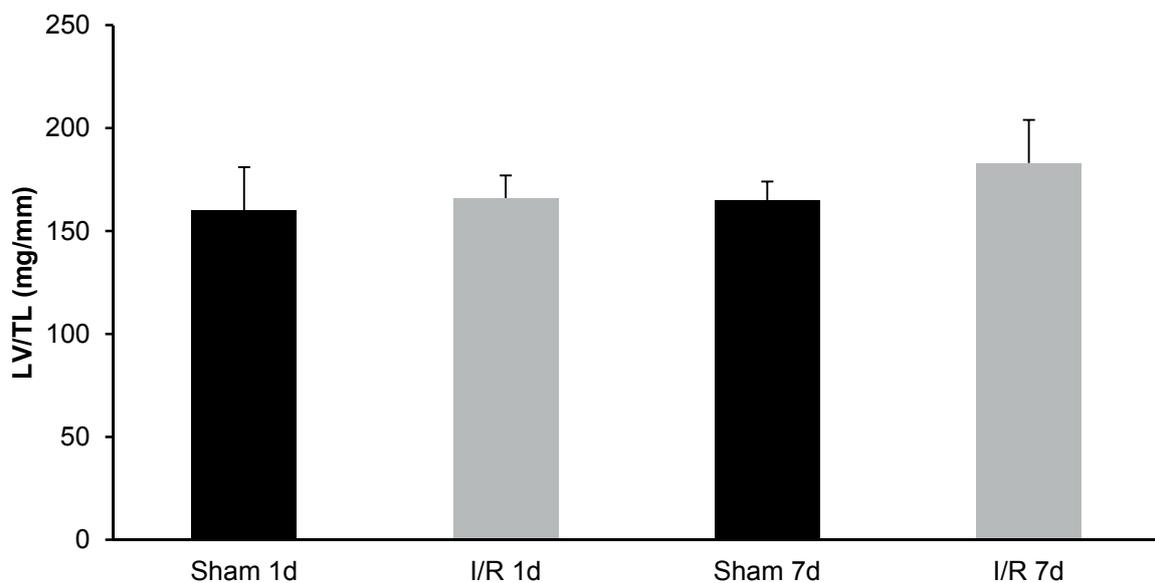
4.2.2 Entwicklung der Herzgewichte

Um die individuellen Gewichtsveränderungen am Herzen der Versuchstiere beurteilen zu können, werden die jeweiligen Parameter auf die Tibiallänge normiert. In der folgenden Darstellung sieht man eine tendenzielle Zunahme des Gesamtherzgewichtes beim Vergleich der Infarkttiere mit den Kontrolltieren (Darst.9).



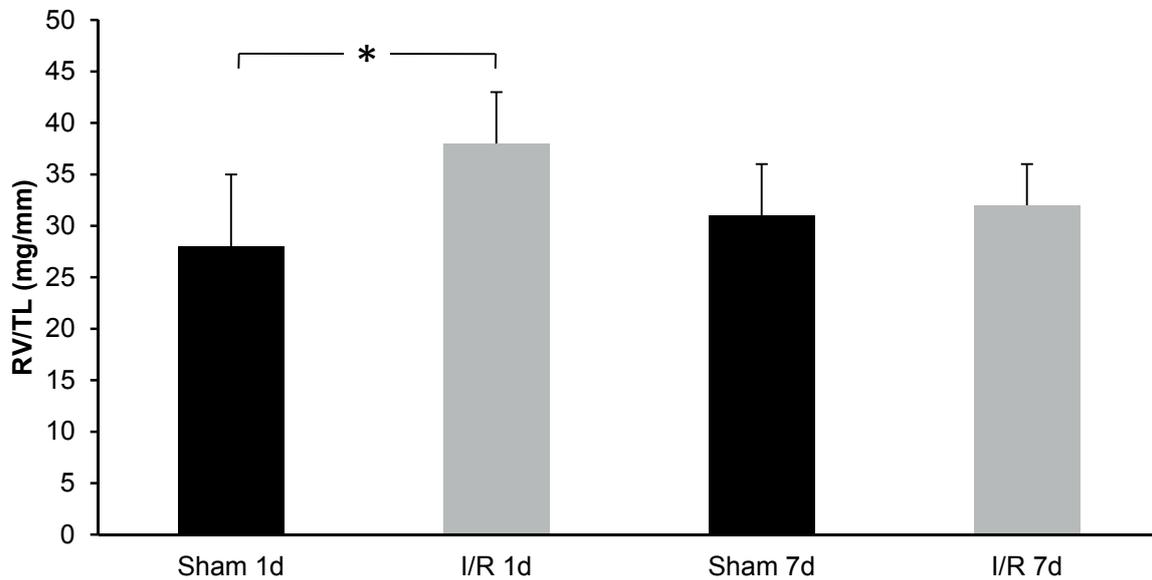
Darst.9: Gesamtherzgewicht bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) der 1- und 7-Tagesgruppen. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$.

Im Gegensatz dazu werden die Gewichte des linken Ventrikels verglichen. Die Verhältnisse der ventrikulären Gewichte zur Tibialänge dienen unter anderem als Parameter für eine Hypertrophie des Herzens. Beim Vergleich der Gruppen untereinander sind im linken Ventrikel keine Veränderungen erkennbar (Darst.10).



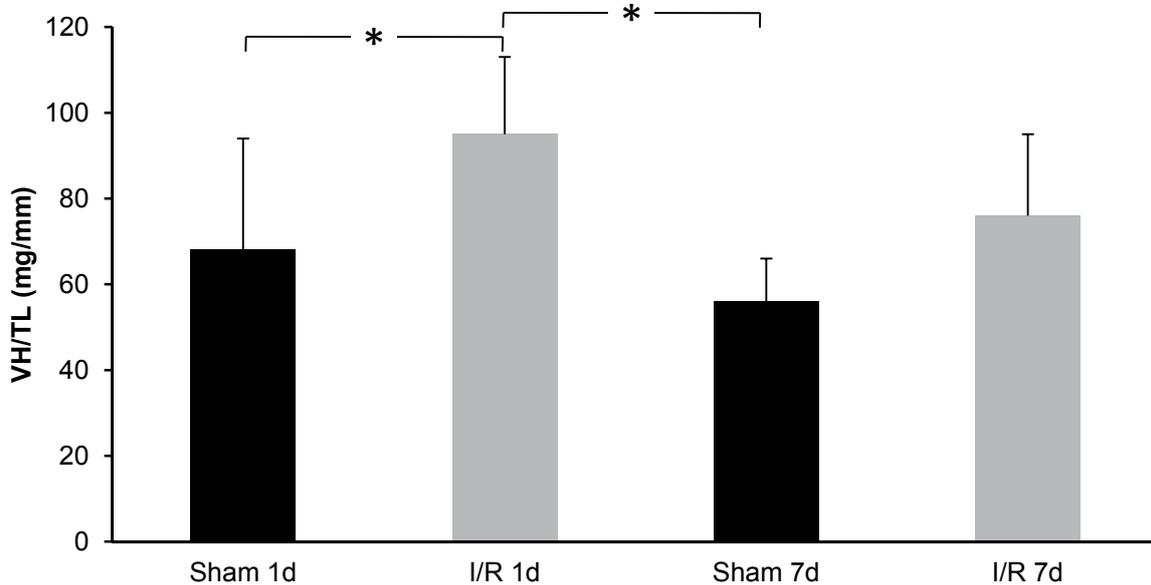
Darst.10: Gewicht des linken Ventrikels bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$.

Im rechten Ventrikel dagegen ist eine signifikante Erhöhung des Gewichtes in der Infarktgruppe der 1-Tagestiere im Vergleich zu ihrer Kontrollgruppe zu erkennen (Darst.11).



Darst.11: Gewicht des rechten Ventrikels bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$.

Auch bei der Beurteilung der Vorhofgewichte gibt es einen signifikanten Anstieg des Gewichtes in der 1-Tagesinfarktgruppe in Bezug auf die dazugehörige Kontrollgruppe (Darst.12).

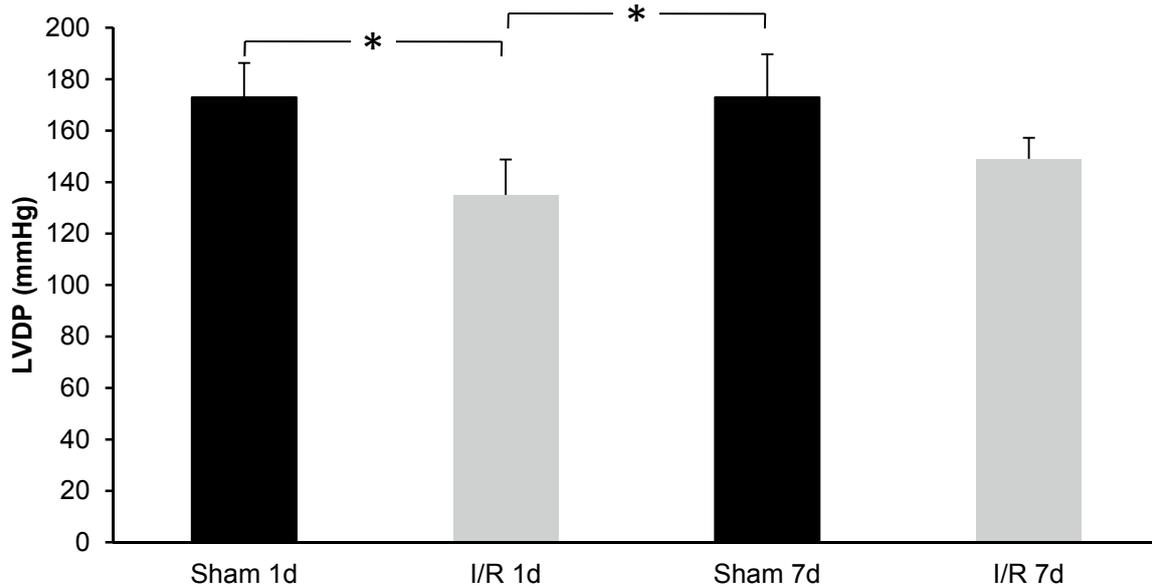


Darst.12: Gewicht der Vorhöfe bezogen auf die Tibiallänge (mg/mm) der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$.

4.2.3 Funktionsdaten

Um eine funktionelle Beeinträchtigung des Infarktgeschehens auf den infarzierten linken Ventrikel zu untersuchen wird der linksventrikulär aufgebaute Druck (LVDP) *ex vivo* mithilfe der Langendorff-Apparatur untersucht. Hierbei wird die Kontraktionskraft gemessen, die das Herz in der Lage ist zu erzeugen. Bei diesem Verfahren können Einflüsse anderer Anteile des Kreislaufsystems ausgeschlossen werden. Unter flusskonstanten Bedingungen wird bei einem initialen Perfusionsdruck von 50mmHg und einem enddiastolischen Druck von 10mmHg gearbeitet. Die Herzen werden mit 4Hz stimuliert.

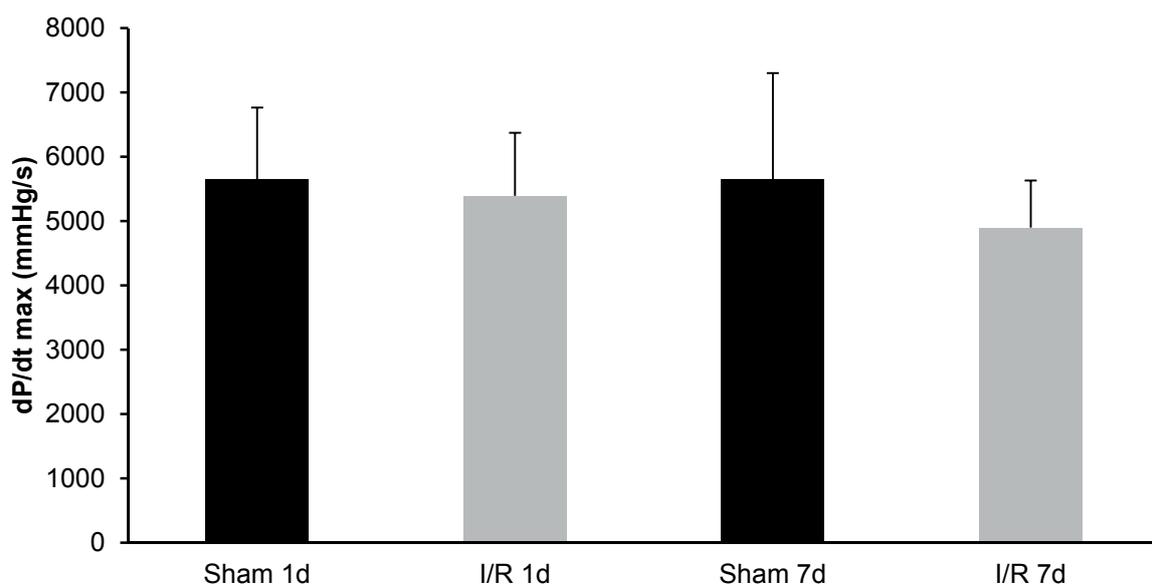
Der LVDP der 1-Tagesgruppe ist signifikant reduziert im Vergleich zu den Kontrolltieren, wohingegen bei der 7-Tagesgruppe eine Normalisierung der Kontraktionskraft zu sehen ist, da zu diesem Zeitpunkt kein signifikanter Unterschied mehr zwischen Infarkt- und Kontrolltieren vorliegt (Darst.13).



Darst.13: Linksventrikulär aufgebauter Druck in mmHg der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$.

Um die Kontraktilität des linken Ventrikels besser beurteilen zu können, werden dP/dt max und min bestimmt. dP/dt max ist ein Maß für die Kontraktionskraft des linken Ventrikels und dP/dt min für die Relaxationsfähigkeit des linken Ventrikels.

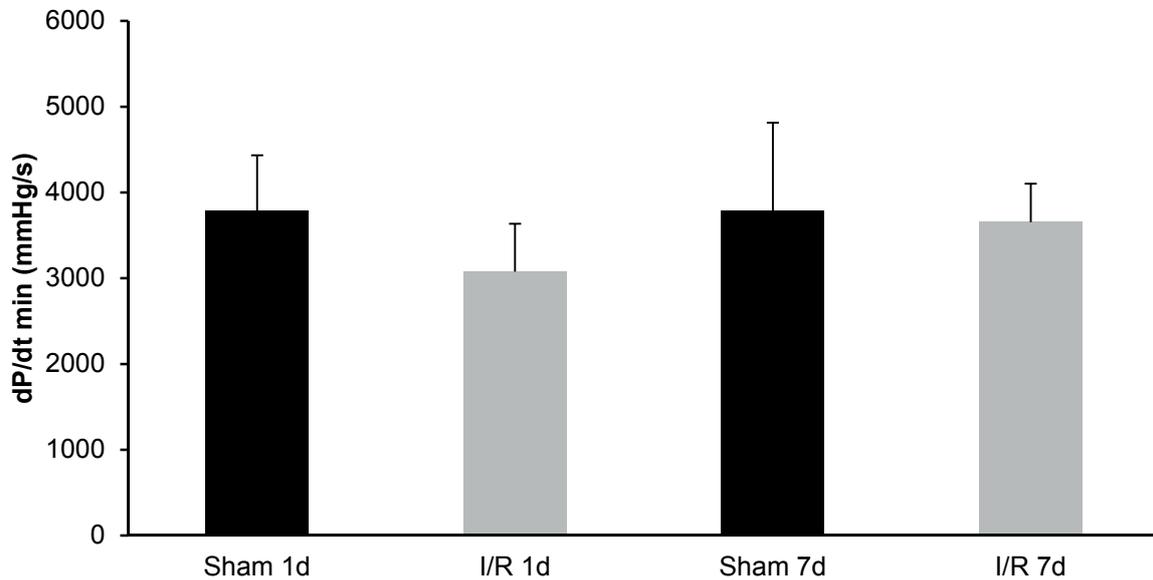
Bei der Berechnung des dP/dt max sieht man einen tendenziellen Rückgang bei den Infarkttieren der 1- und 7-Tagesgruppe in Bezug auf die Kontrollgruppen (Darst.14).



Darst.14: dP/dt max (mmHg/s) der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$.

Ergebnisse

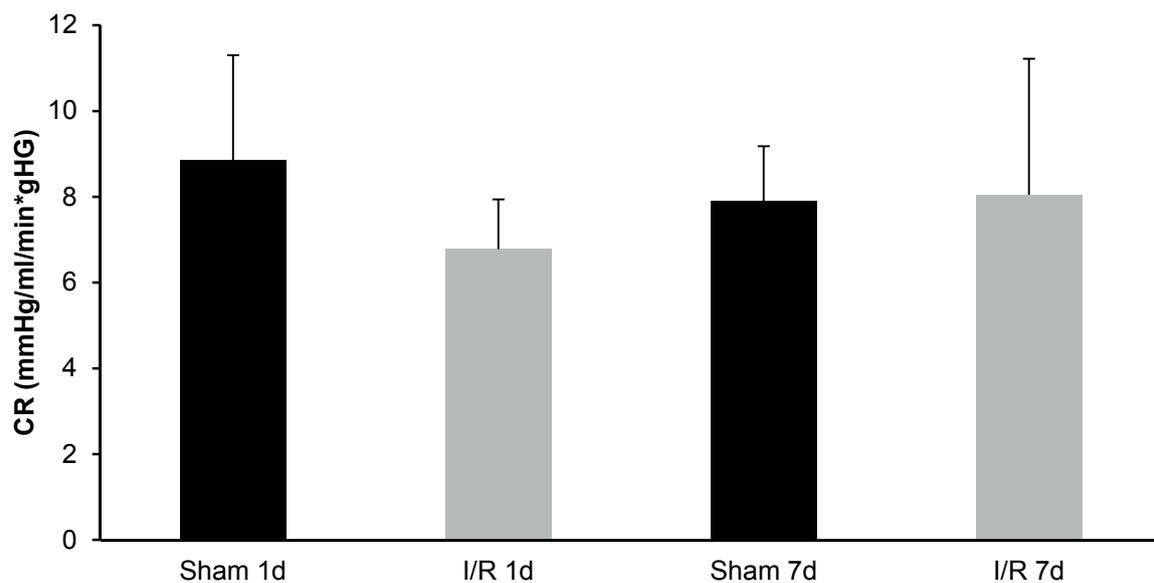
Auch die Messung des dP/dt min zeigt einen tendenziellen Rückgang bei den jeweiligen Infarktgruppen in Bezug auf ihre Kontrollen (Darst.15).



Darst.15: dP/dt min (mmHg/s) der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$.

Außerdem wird der Koronarwiderstand (CR) bestimmt. Errechnet wird dieser mittels Division des Quotienten aus Aortendruck und Flussgeschwindigkeit durch das Herzgewicht. Je weniger Widerstand der Perfusionslösung durch die perfundierten Gefäße entgegengebracht wird, umso niedriger ist der Koronarwiderstand.

Die 1-Tagesinfarktgruppe zeigt tendenziell einen niedrigeren Koronarwiderstand im Vergleich zu ihrer Kontrollgruppe. Eine derartige Tendenz liegt bei den 7-Tagesgruppen nicht mehr vor (Darst.16).

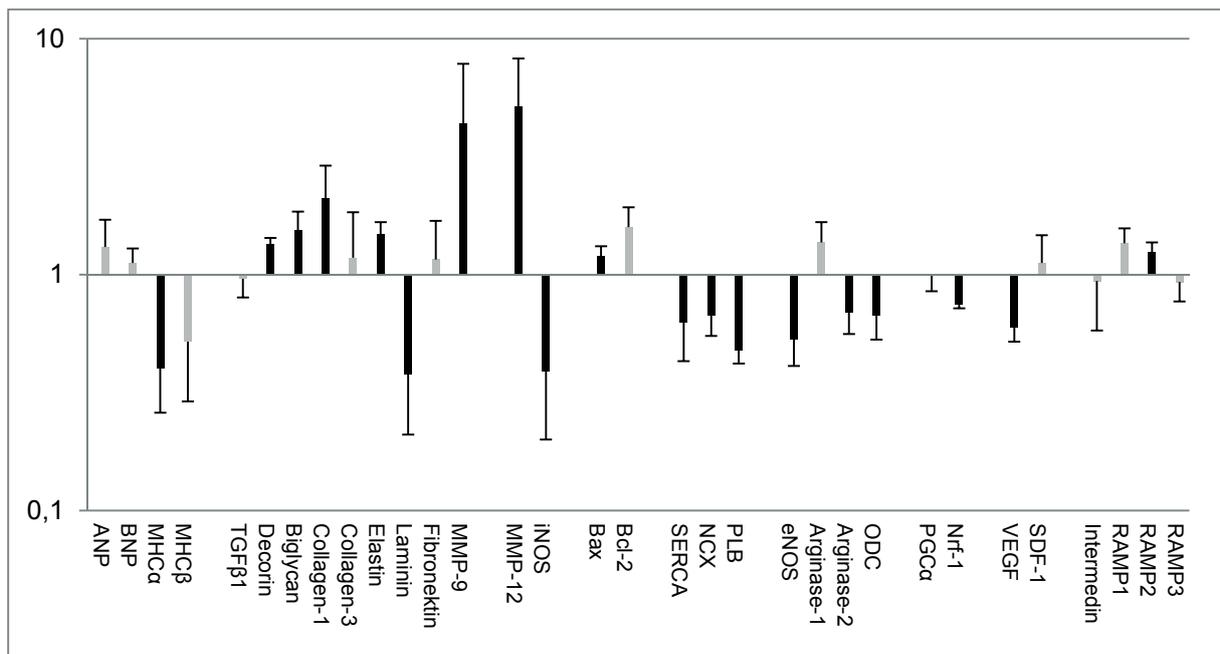


Darst.16: Koronarwiderstand (mmHg/ml/min*gHG) der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$.

4.2.4 Molekularbiologische Analysen

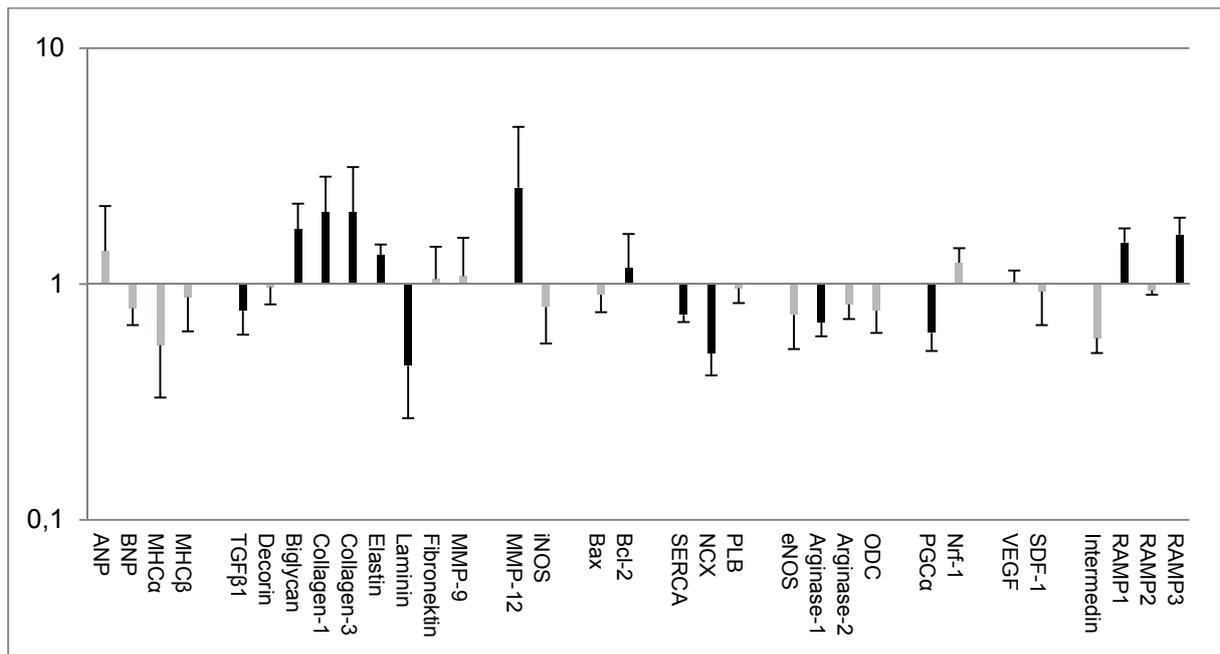
Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der PCR Untersuchungen zuerst für den linken und dann für den rechten Ventrikel dargestellt.

Die erste Darstellung zeigt die Veränderungen der Genexpression im linken Ventrikel in der 1-Tagesgruppe. Untersucht werden 32 Gene mit einer zu erwartenden Relation zur infarktbedingten Herzinsuffizienz. Davon sind knapp 60% signifikant in ihrer Expression verändert. Acht Gene sind signifikant hochreguliert, elf sind signifikant herunterreguliert in Bezug auf die Kontrollgruppe. Signifikant erhöht sind v.a. Fibrosemarker und der pro-apoptotische Apoptosemarker Bax, signifikant erniedrigt sind die Ca^{2+} -Handling-Proteine (Darst.17).



Darst.17: Veränderungen der Genexpression im linken Ventrikel in der 1-Tagesgruppe bezogen auf die Kontrollgruppe (19 von 32=59,4%; schwarz: signifikant verändert). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p < 0,05$. Der Wert 1 ist hierbei die Genexpression der Kontrollgruppe.

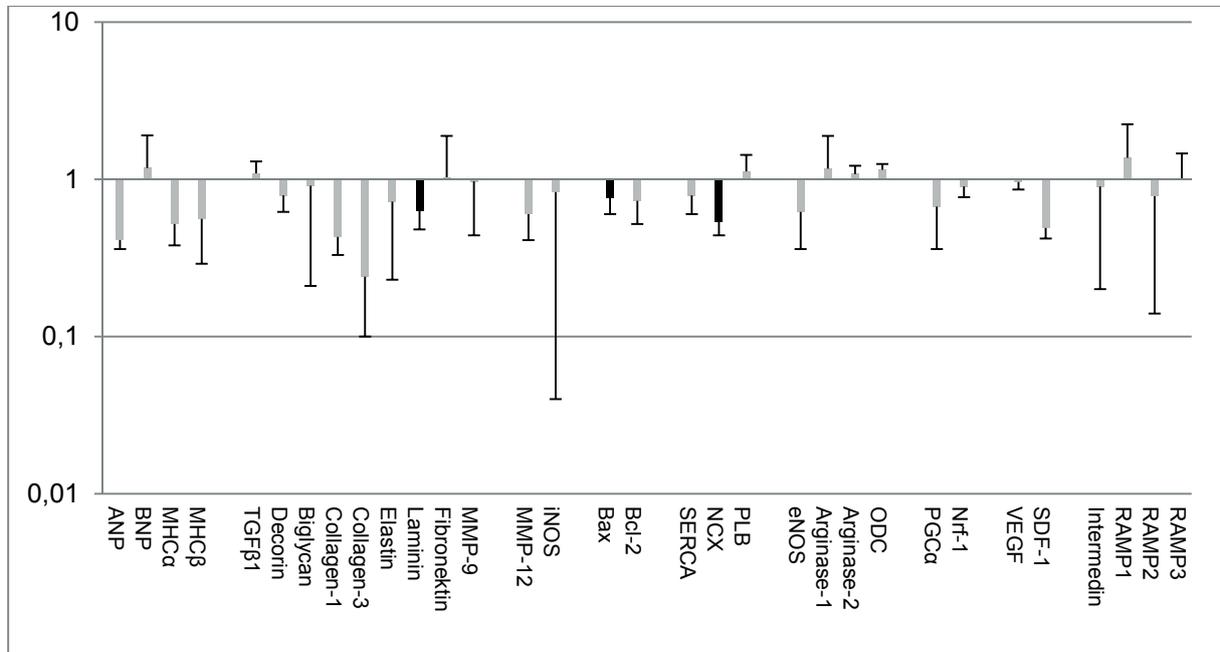
Die folgende Darstellung (Darst.18) zeigt die Genexpression im linken Ventrikel in der 7-Tagesgruppe. Hier sind acht Gene signifikant hochreguliert, sechs sind signifikant herunterreguliert. Biglycan, Collagen-1 und Elastin als Fibrosemarker und MMP12 als inflammatorischer Marker sind, wie in der 1-Tagesgruppe auch, signifikant erhöht. Laminin als Fibrosemarker und Serca2a und NCX als Ca^{2+} -Handling-Proteine sind signifikant erniedrigt.



Darst.18: Veränderungen der Genexpression im linken Ventrikel in der 7-Tagesgruppe bezogen auf die Kontrollgruppe (14 von 32=43,8%; schwarz: signifikant verändert). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p < 0,05$.

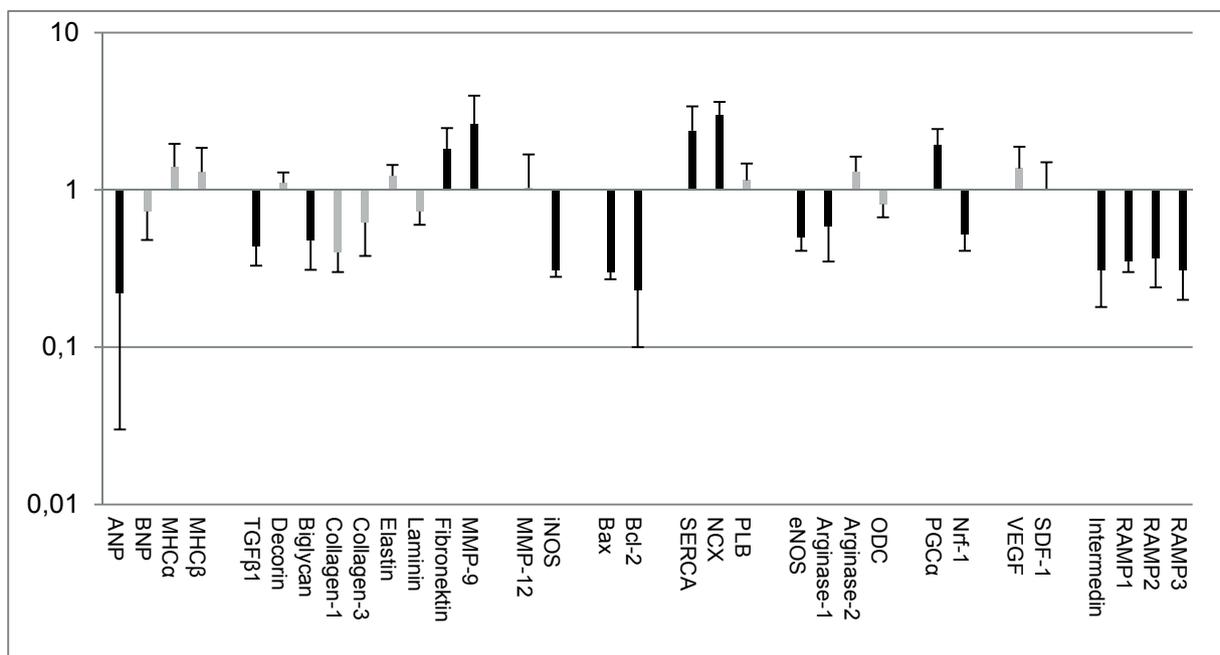
Ergebnisse

Im rechten Ventrikel sind in der 1-Tagesgruppe drei Marker signifikant herunterreguliert, von denen zwei, das Laminin als Fibrosemarker und das NCX als Ca^{2+} -Handling-Protein, auch im linken Ventrikel signifikant herunterreguliert sind (Darst.19).



Darst.19: Veränderungen der Genexpression im rechten Ventrikel in der 1-Tagegruppe bezogen auf die Kontrollgruppe (3 von 32=9,4%; schwarz: signifikant verändert). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p < 0,05$.

In der 7-Tagesgruppe sind im rechten Ventrikel fünf Gene signifikant hochreguliert und 13 signifikant herunterreguliert. Hierbei sind, anders als im linken Ventrikel, die Ca^{2+} -Handling-Proteine Serca2a und NCX signifikant herauf- und die Apoptosemarker Bax (pro-apoptotisch) und Bcl-2 (anti-apoptotisch) signifikant herunterreguliert. Dafür sind, wie im linken Ventrikel in der 7-Tagesgruppe auch, der Fibrosemarker TGF- β und der metabolische Marker Arginase-1 signifikant herunterreguliert (Darst.20).



Darst.20: Veränderungen der Genexpression im rechten Ventrikel in der 7-Tagesgruppe bezogen auf die Kontrollgruppe (18 von 32=56,3%; schwarz: signifikant verändert). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p < 0,05$.

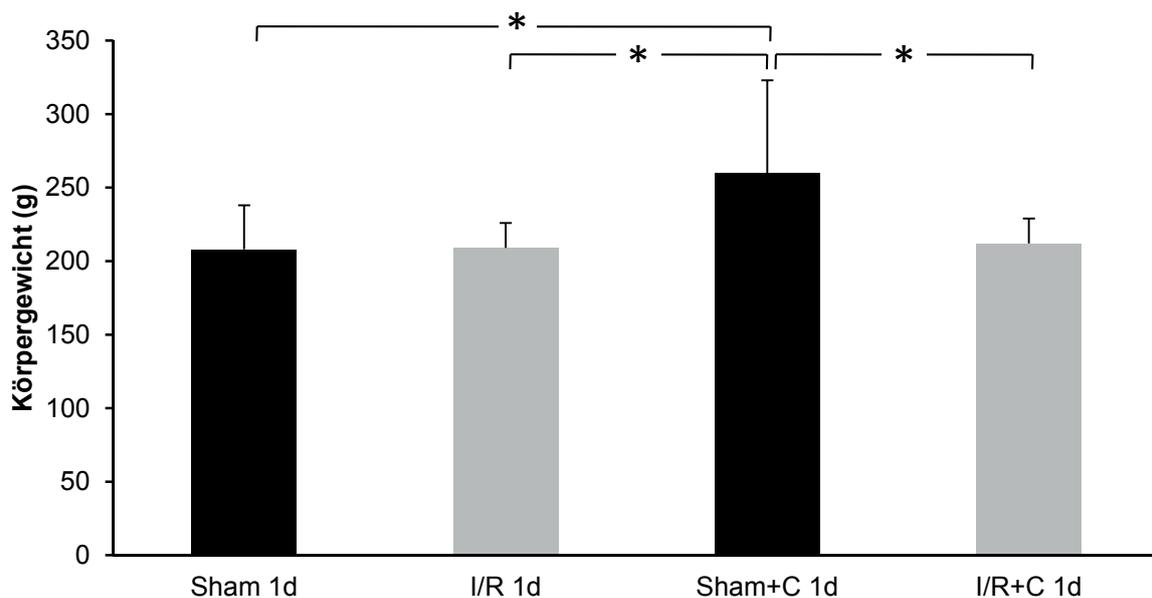
4.3 Einfluss der Captoprilgabe nach erfolgreicher Revaskularisierung

Der nächste Abschnitt zeigt die oben genannten Messungen (ohne die 7-Tagesgruppe), diesmal unter dem Einfluss des ACE-Hemmers Captopril. Dieses wird den Tieren nach Infarktsetzung einen Tag lang über das Trinkwasser verabreicht.

4.3.1 Entwicklung des Körpergewichtes

Die nächste Darstellung zeigt die Entwicklung des Körpergewichtes in der 1-Tagesgruppe unter dem Einfluss von Captopril im Vergleich mit den nicht behandelten Tieren.

In der behandelten 1-Tageskontrollgruppe sieht man einen signifikanten Anstieg im Vergleich zur behandelten Infarktgruppe (Darst.21).

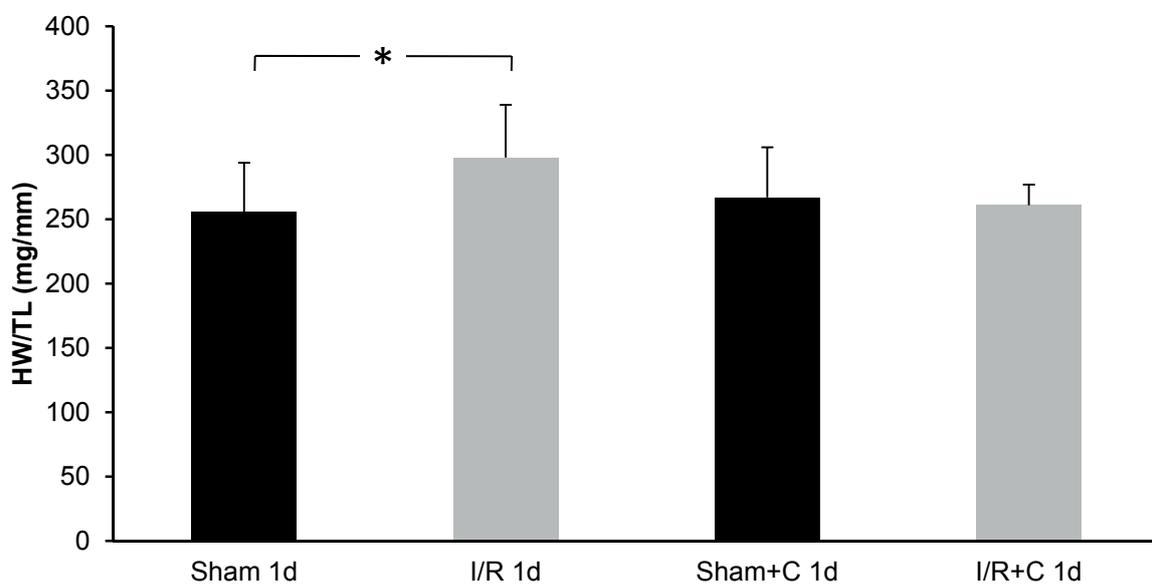


Darst.21: Entwicklung des Körpergewichtes (g) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$; C=Captopril.

4.3.2 Entwicklung der Herzgewichte

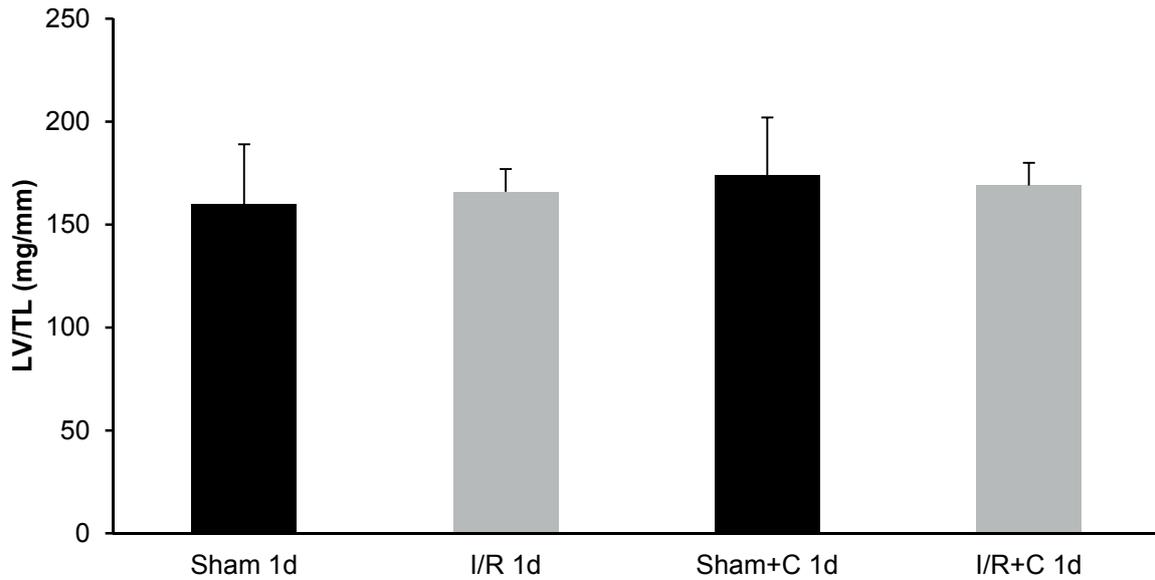
Zur Beurteilung der individuellen Veränderungen der Gewichte am Herzen der Versuchstiere wurden die Parameter wieder auf die Tibiallänge normiert.

Bei der Betrachtung des Herzgewichtes zeigte sich wieder eine signifikante Zunahme bei der 1-Tagesinfarktgruppe in Bezug auf die Kontrollgruppe auf. Dieser Anstieg bleibt bei der mit Captopril behandelten Gruppe aus (Darst.22).



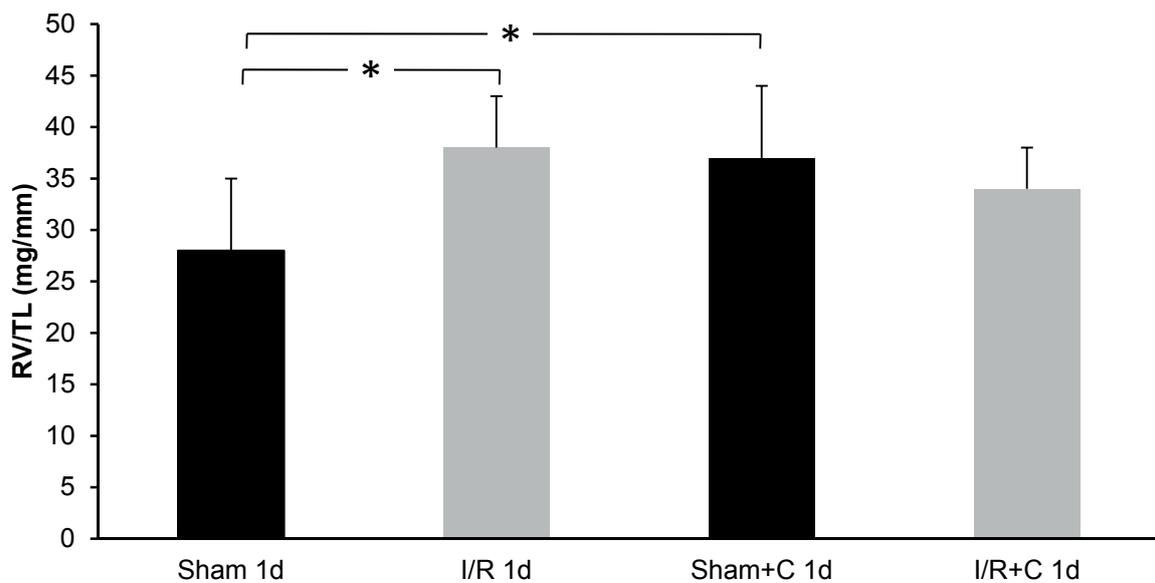
Darst.22: Herzgewicht bezogen auf die Tibiallänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$; C=Captopril.

Die Untersuchung des Gewichtes des linken Ventrikels zeigt keine signifikanten Veränderungen der Gruppen untereinander (Darst.23).



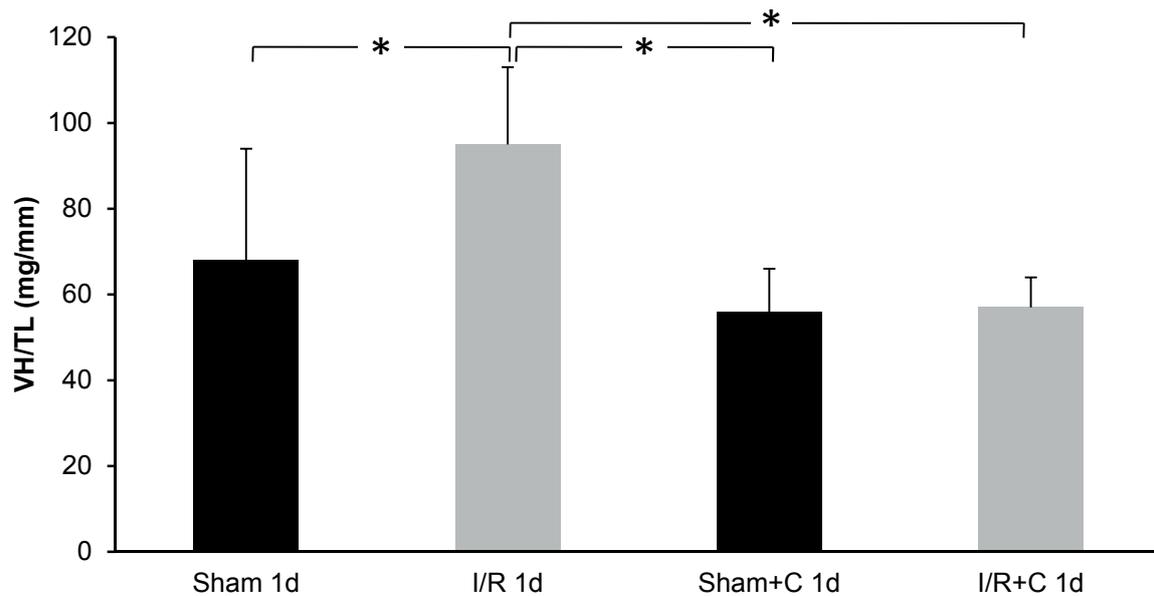
Darst.23: Linksventrikuläres Gewicht bezogen auf die Tibiallänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$; C=Captopril.

Dafür zeigt das rechtsventrikuläre Gewicht, wie zuvor gezeigt, eine signifikante Zunahme bei den 1-Tagesinfarktieren bezogen auf ihre Kontrollgruppe. Bei den behandelten Infarktieren dagegen kommt es zu einem tendenziellen Rückgang des Gewichtes (Darst.24).



Darst.24: Rechtsventrikuläres Gewicht bezogen auf die Tibiallänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$; C=Captopril.

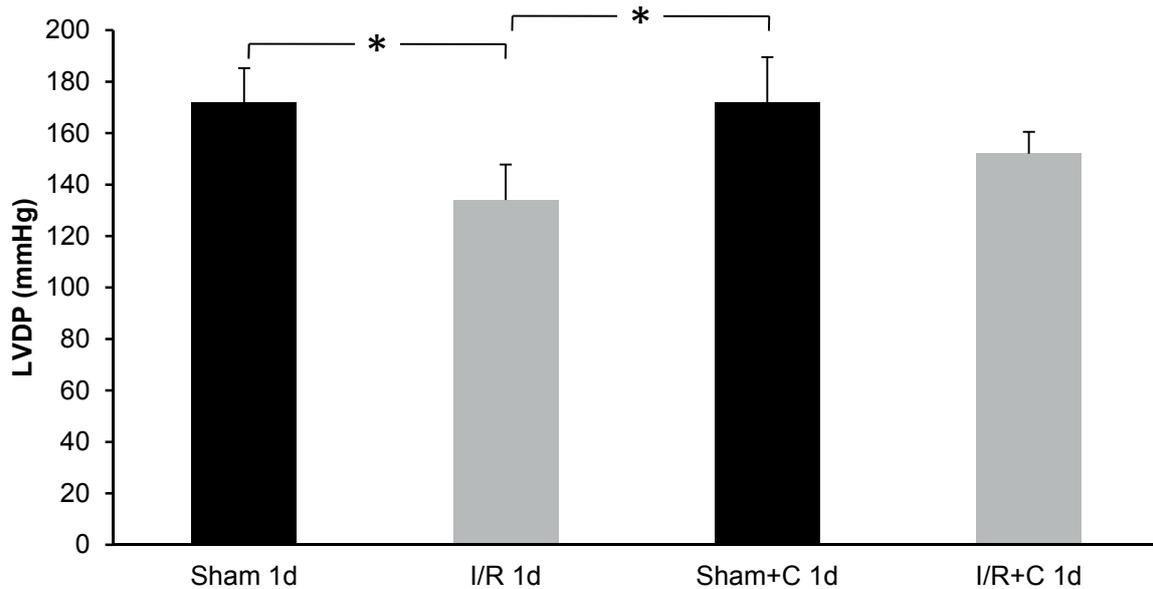
Beim Vergleich der Vorhofgewichte wird ein signifikanter Anstieg in der unbehandelten 1-Tagesinfarktgruppe sichtbar im Vergleich zu den anderen Gruppen. Auch hier wird wieder eine Auswirkung des Captoprils deutlich, da sowohl die behandelten Kontrolltiere, als auch die behandelten Infarkttiere niedrigere Vorhofgewichte haben als die unbehandelten Tiere (Darst.25).



Darst.25: Gewicht der Vorhöfe bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, p < 0,05; C=Captopril.

4.3.3 Funktionsdaten

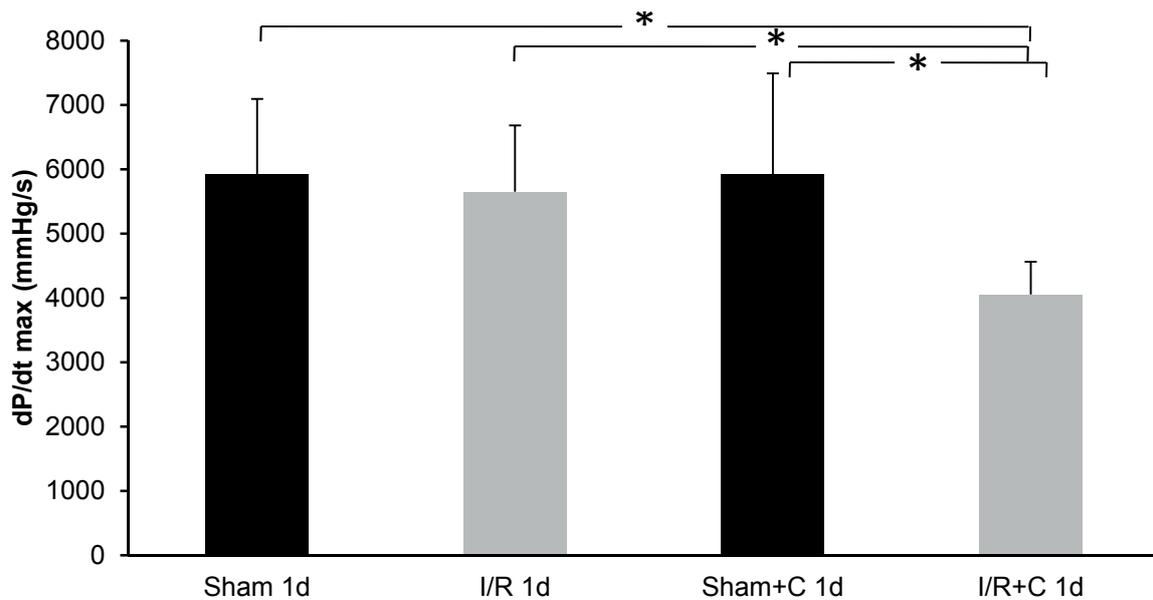
Bei der Entwicklung des linksventrikulären Druckes fällt auf, dass bei den unbehandelten Infarkttieren ein signifikanter Rückgang stattfindet, bezogen auf ihre Kontrollgruppe. Bei den mit Captopril behandelten Tieren ist der Rückgang nicht signifikant (Darst.26).



Darst.26: Linksventrikulärer Druck (mmHg) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$; C=Captopril.

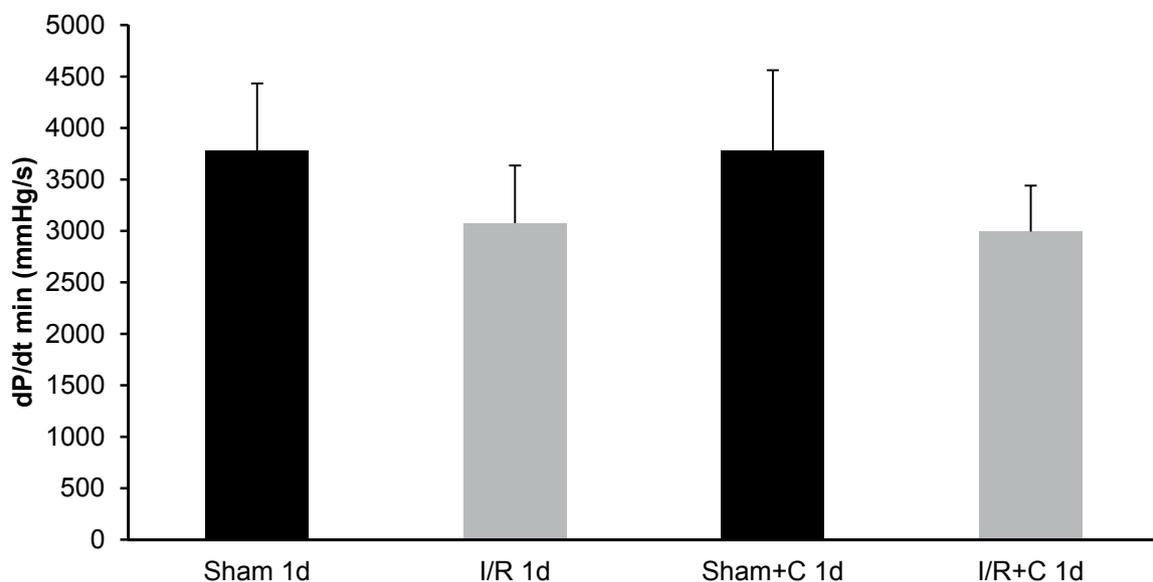
Die nächsten zwei Darstellungen zeigen dP/dt max als Indikator für die Kontraktionsfähigkeit und dP/dt min als Indikator für die Relaxationsfähigkeit.

Beim dP/dt max sieht man einen signifikanten Rückgang in der mit Captopril behandelten Infarktgruppe (Darst.27).



Darst.27: dP/dt max (mmHg/s) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$; C=Captopril.

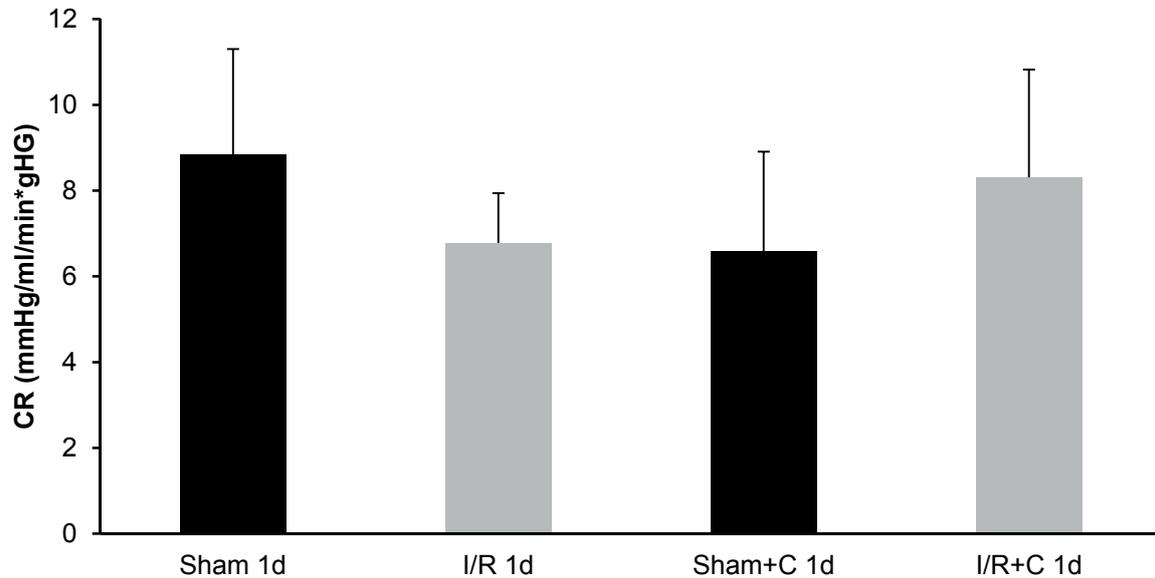
Der dP/dt min zeigt in beiden Infarktgruppen (unbehandelt und behandelt) einen leichten Rückgang, jeweils bezogen auf ihre Kontrollgruppen, der jedoch nicht signifikant ist (Darst.28).



Darst.28: dP/dt min (mmHg/s) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$; C=Captopril.

Ergebnisse

Die nächste Darstellung zeigt den Koronarwiderstand. Bei den unbehandelten Infarkttieren ist er tendenziell niedriger, als in der Kontrollgruppe. Im Gegensatz dazu ist der Koronarwiderstand in den behandelten Infarkttieren tendenziell höher, als in der dazugehörigen Kontrollgruppe (Darst.29).



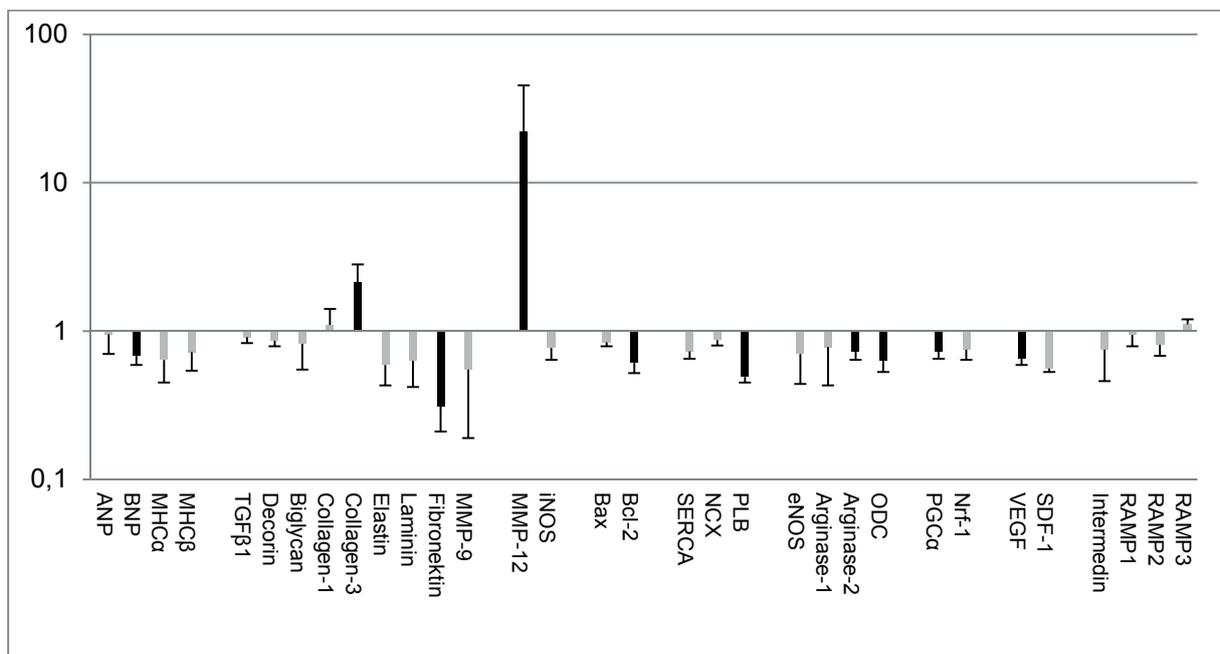
Darst.29: Koronarwiderstand (mmHg/ml/min*gHG) in der mit Captopril behandelten/ unbehandelten 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$; C=Captopril.

4.3.4 Molekularbiologische Analysen

4.3.4.1 mRNA-Expression ausgewählter Markergene

In den zwei folgenden Darstellungen werden die Veränderungen im linken bzw. rechten Ventrikel nach einem Behandlungstag mit Captopril gezeigt (Darst.30, 31).

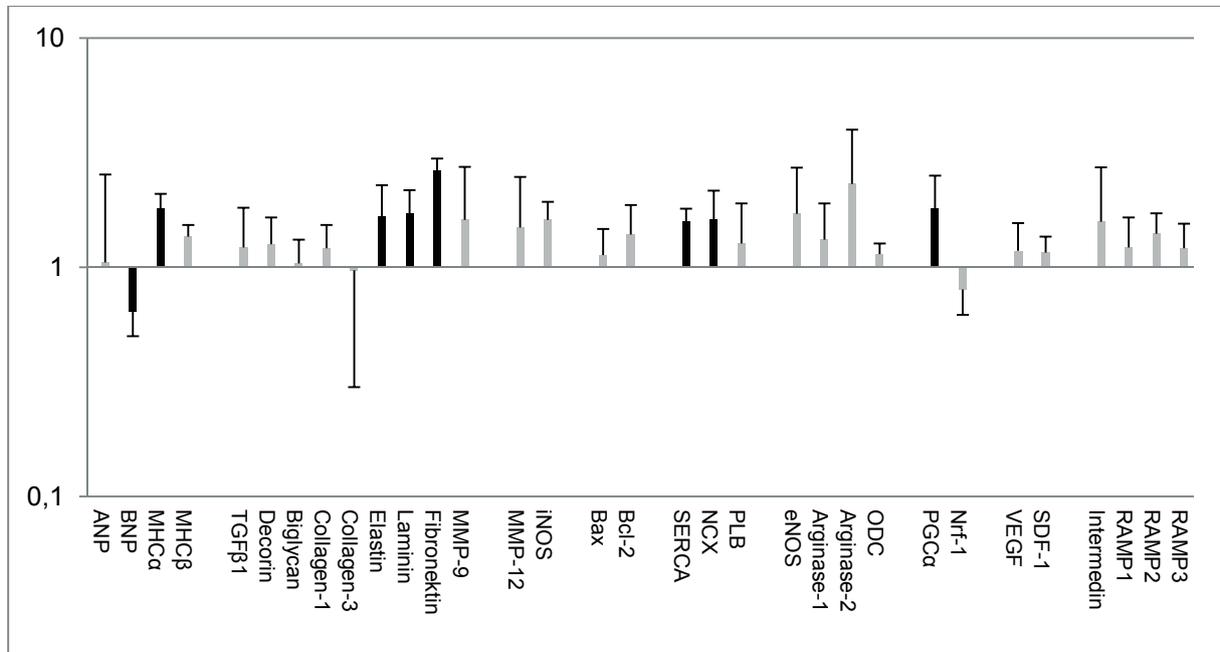
Im linken Ventrikel sind zwei Gene (Collagen-3, MMP-12) signifikant hochreguliert. Der signifikante Anstieg der MMP-12 ist unabhängig von der Captoprilgabe, da sie auch in der 1- und 7-Tagesgruppe der unbehandelten Tiere signifikant erhöht ist. Bei den anderen findet eine Herabregulation statt. PLB, Arginase-2, ODC und VEGF sind auch in der 1-Tagesgruppe im linken Ventrikel signifikant herunterreguliert.



Darst.30: Veränderungen der Genexpression im linken Ventrikel unter Captoprilbehandlung in der 1-Tagesgruppe bezogen auf die Kontrollgruppe (10 von 32=31,3%; schwarz=signifikant verändert). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p < 0,05$.

Ergebnisse

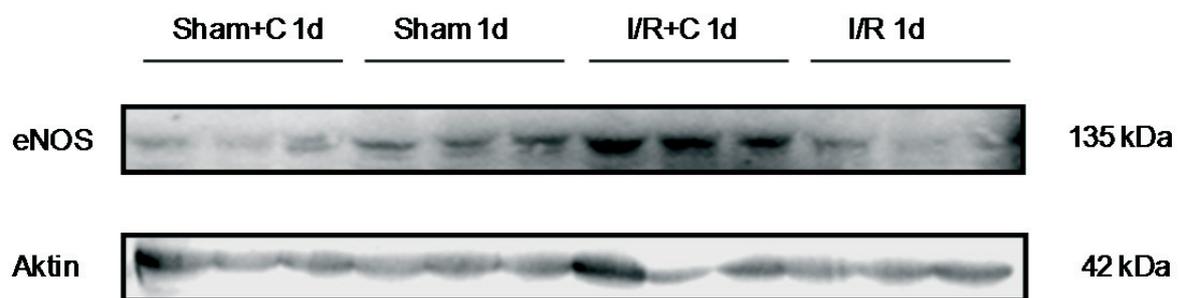
Im rechten Ventrikel sieht man unter Captoprilgabe eine überwiegende Hochregulation der untersuchten Gene im Gegensatz zu den unbehandelten Tieren in der 1-Tagesgruppe. Wie auch im linken Ventrikel ist BNP unter Captoprilbehandlung auch im rechten Ventrikel signifikant herunterreguliert.



Darst.31: Veränderungen der Genexpression im rechten Ventrikel unter Captoprilbehandlung in der 1-Tagesgruppe bezogen auf die Kontrollgruppe (8 von 32=25%; schwarz=signifikant verändert). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p < 0,05$.

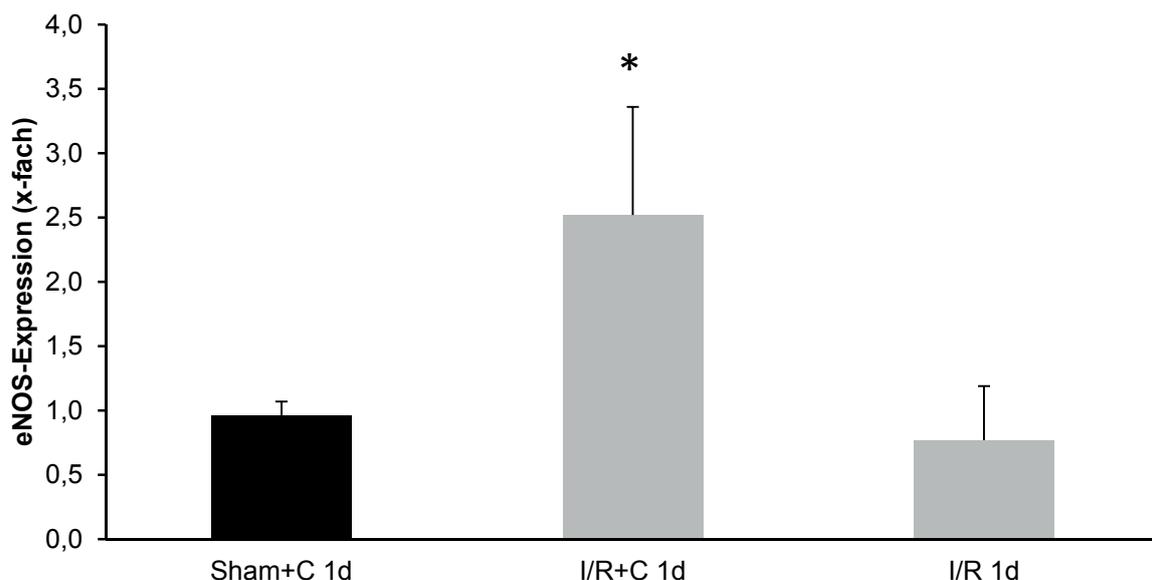
4.3.4.2 Protein-Expression ausgewählter Markergene

Zur Darstellung der eNOS-Proteinexpression auf zellulärer Ebene unter dem Einfluss von Captopril werden Western Blot-Analysen des linken Ventrikels in der 1-Tagesgruppe durchgeführt. Hier sieht man eine deutlich gesteigerte Proteinexpression in der mit Captopril behandelten Infarktgruppe (Darst.32). Das in der jeweiligen Probe enthaltene Aktin dient hier als Bezugsgröße für die Expression.



Darst.32: Darstellung der eNOS-Proteinexpression im linken Ventrikel in der 1-Tagesgruppe; C=Captopril

Die quantitative Auswertung (Darst.33) zeigt eine 1,5-fache erhöhte eNOS-Expression in der mit Captopril behandelten Infarktgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe und zur unbehandelten Infarktgruppe.

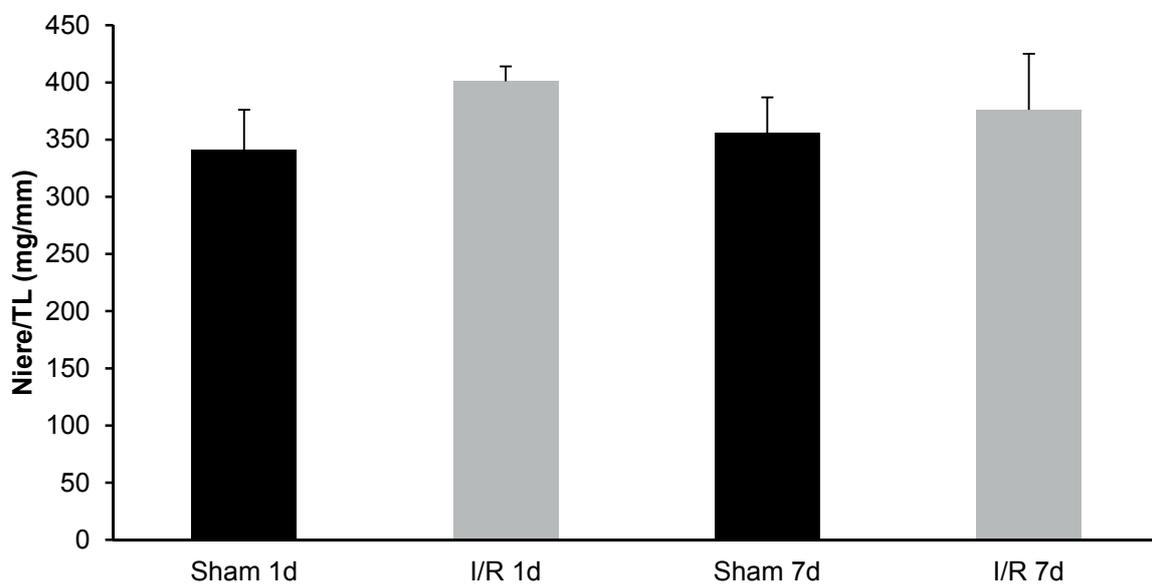


Darst.33: x-fache eNOS-Expression in der 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=3 Tieren. *, $p < 0,05$; C=Captopril.

4.4 Einfluss auf die renalen Parameter

4.4.1 Entwicklung des Nierengewichtes

Um den Einfluss des Infarktgeschehens auf die Niere zu untersuchen, werden die Nieren entnommen, gewogen und zur Normierung auf die Tibiallänge bezogen. Man kann bei der Auswertung einen tendenziellen Anstieg der Nierengewichte in den jeweiligen Infarktgruppen der 1- und 7-Tagesgruppe erkennen (Darst.34).



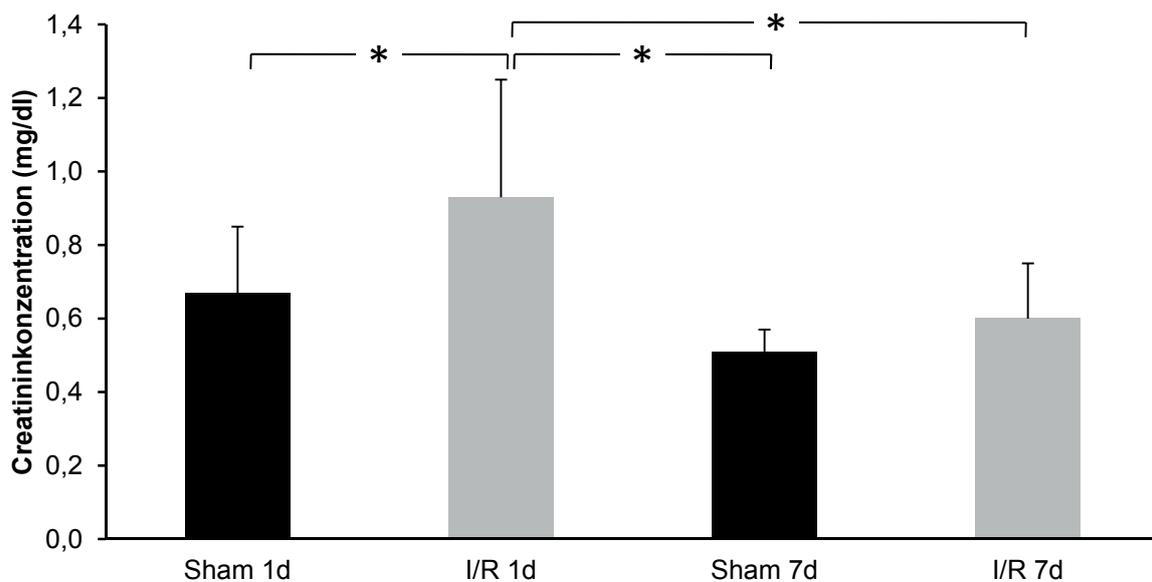
Darst.34: Entwicklung des Nierengewichtes bezogen auf die Tibiallänge (mg/mm) in der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$.

4.4.2 Kreatininwerte und GFR

Im nächsten Schritt wird die Kreatininkonzentration im Plasma gemessen und die glomeruläre Filtrationsrate errechnet, um die Nierenfunktion beurteilen zu können.

Durch Abbau von Kreatin entsteht im Muskelgewebe Kreatinin, welches im Plasma eine relativ konstante Konzentration aufweist. Es wird in den Nieren weder sezerniert noch rückresorbiert. Mit zunehmender Einschränkung der Nierenfunktion steigt das Serum-Kreatinin an.

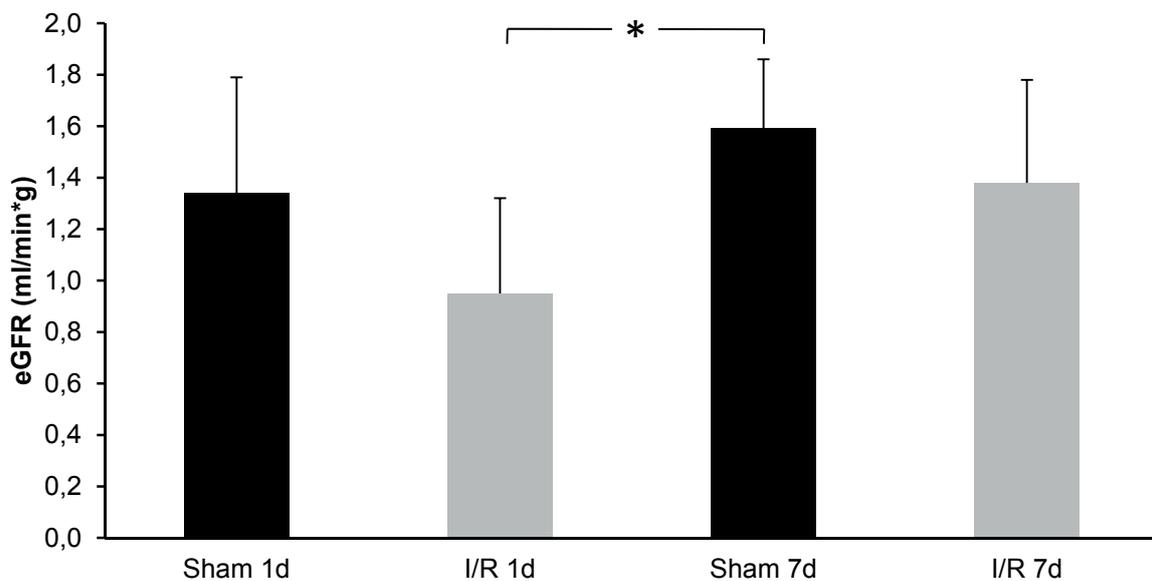
Bei der Kreatininkonzentration sieht man einen signifikanten Anstieg in der 1-Tagesinfarktgruppe bezogen auf die übrigen Gruppen. Auch in der 7-Tagesinfarktgruppe sieht man einen Anstieg der Konzentration im Vergleich zu den 7-Tageskontrolltieren, der aber nicht mehr signifikant erhöht ist (Darst.35).



Darst.35: Kreatininkonzentration im Plasma (mg/dl) in der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$.

Ergebnisse

Das Gesamtvolumen des Plasmas, welches in einer definierten Zeiteinheit von den Glomeruli der Nieren gefiltert wird, wird durch die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) angegeben. Für die Abschätzung der Nierenfunktion ist sie die wichtigste Größe und wird durch die Kreatininclearance ermittelt. Zur Ermittlung der GFR wird der endogene Marker Kreatinin (s.o.) verwendet. Die folgende Darstellung zeigt, dass es in beiden Infarktgruppen jeweils zu einem Rückgang der glomerulären Filtrationsrate kommt im Vergleich zu ihren Kontrollgruppen (Darst.36).



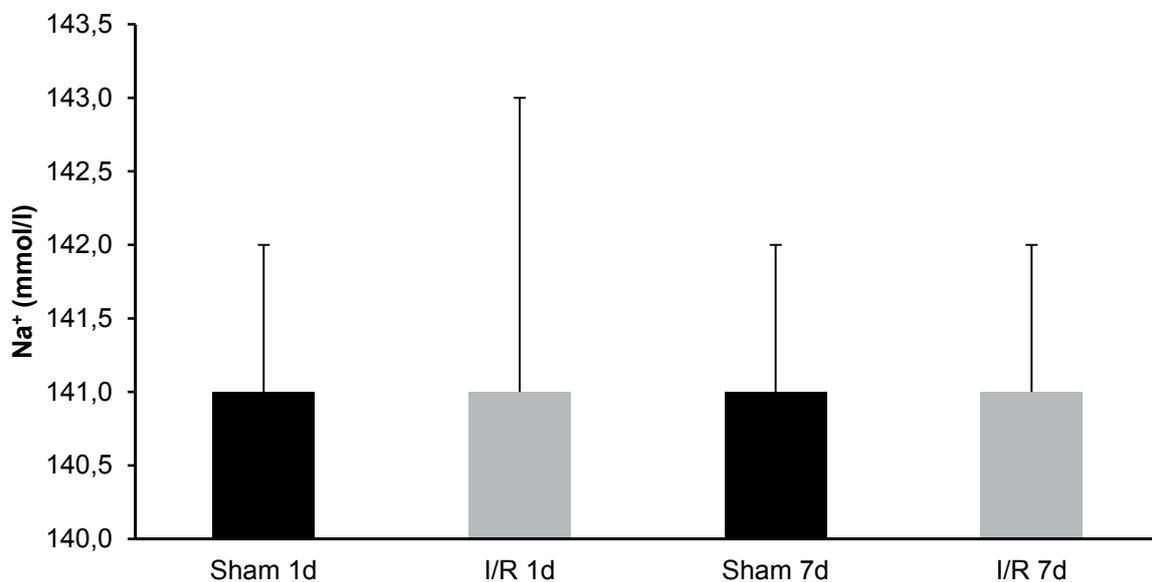
Darst.36: Abgeschätzte glomeruläre Filtrationsrate (ml/min*g) in der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$.

4.4.3 Plasmaelektrolyte

Elektrolyte sind für die Funktion der Zellen lebenswichtig. Sie sind im Zytosol und in den extrazellulären Flüssigkeitsräumen in unterschiedlichen Konzentrationen vorhanden. Sie regulieren den Blut-pH-Wert und den Wasserhaushalt des Körpers und spielen eine wichtige Rolle für Muskel- und Nervenzellen, die elektrisch erregbar sind.

Aus dem gewonnenen Blutplasma werden die Elektrolyte Na^+ , K^+ und Ca^{2+} bestimmt.

Bei der Bestimmung des Na^+ im Plasma der 1- und 7-Tagestiere ist kein Unterschied zwischen den Gruppen sichtbar (Darst.37).

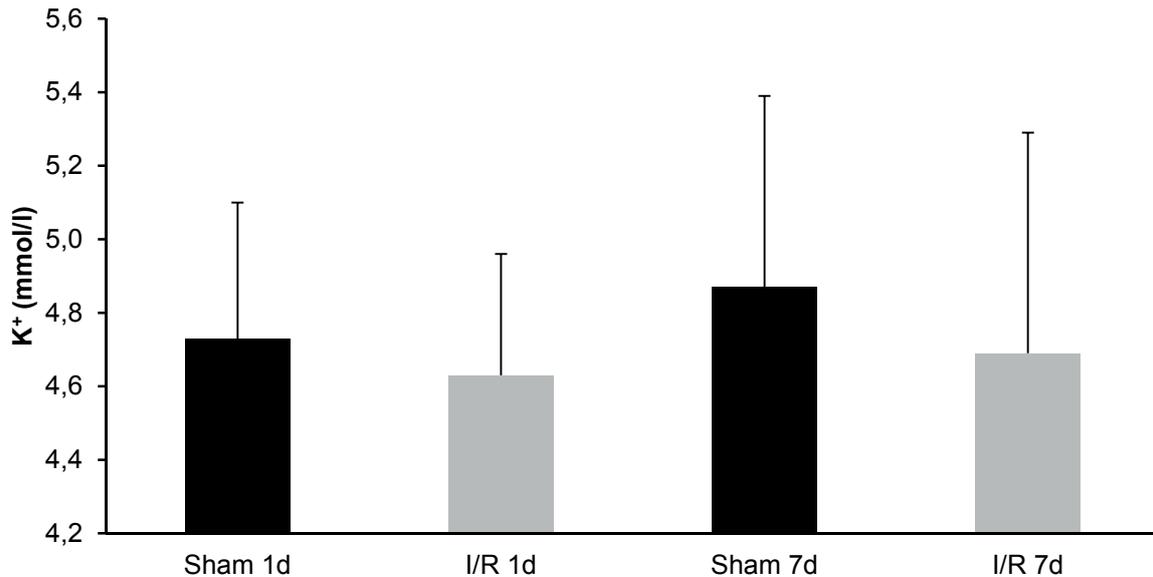


Darst.37: Na^+ aus Plasma (mmol/l) bei der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$.

Intrazellulär ist K^+ das quantitativ wichtigste Kation. Die Kaliumkonzentration ist intrazellulär ca. 40-fach höher als extrazellulär. Die Na^+ - K^+ -Pumpe ist für die Aufrechterhaltung dieses Gradienten verantwortlich. Konzentrationsänderungen des K^+ im Blutplasma führen zu Funktionsstörungen in den Zellen. Eine Hyperkaliämie kann zu einer Depolarisation glatter Muskelzellen führen und somit ihre Erregbarkeit steigern. Damit nimmt auch der Gefäßtonus zu und es kommt zu einem gesteigerten Blutdruck (Klinke et al., 2005).

Beim K^+ sieht man keinen Unterschied in den verschiedenen Gruppen (Darst.38).

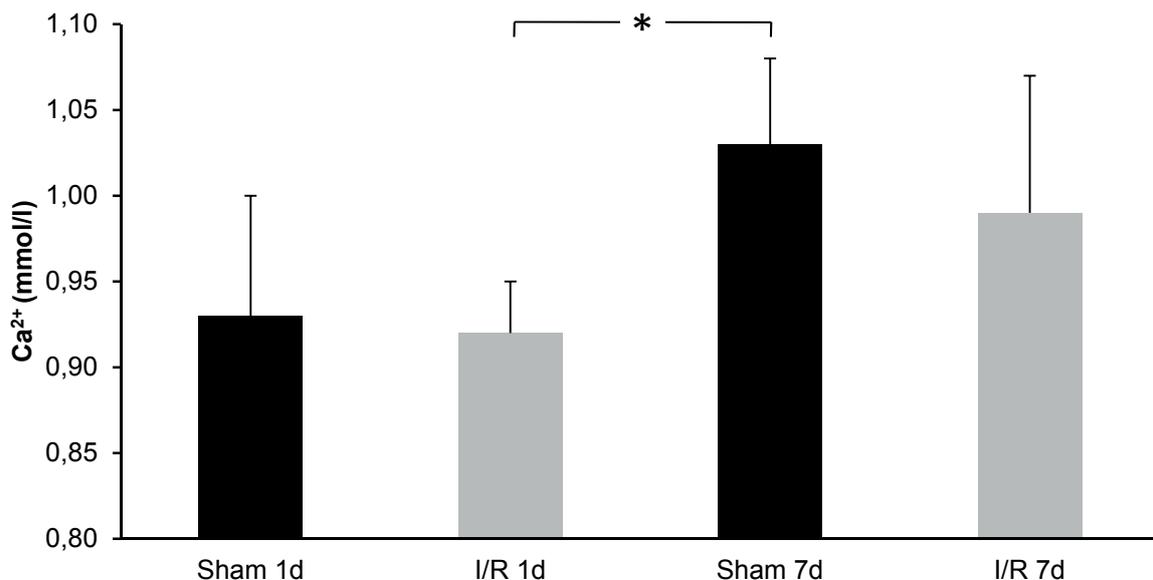
Ergebnisse



Darst.38: K^+ aus Plasma (mmol/l) bei der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$.

Calcium bestimmt durch Regulation von Ionenkanälen die Funktion erregbarer und epithelialer Zellen. Mehr als 99% des Calciums befinden sich im Knochen und unter ein Prozent befindet sich in der Extrazellulärflüssigkeit.

Beim Calcium sieht man eine höhere Konzentration in der 7-Tagesgruppe, aber keinen Unterschied zwischen Infarkt- und Kontrolltieren (Darst.39).

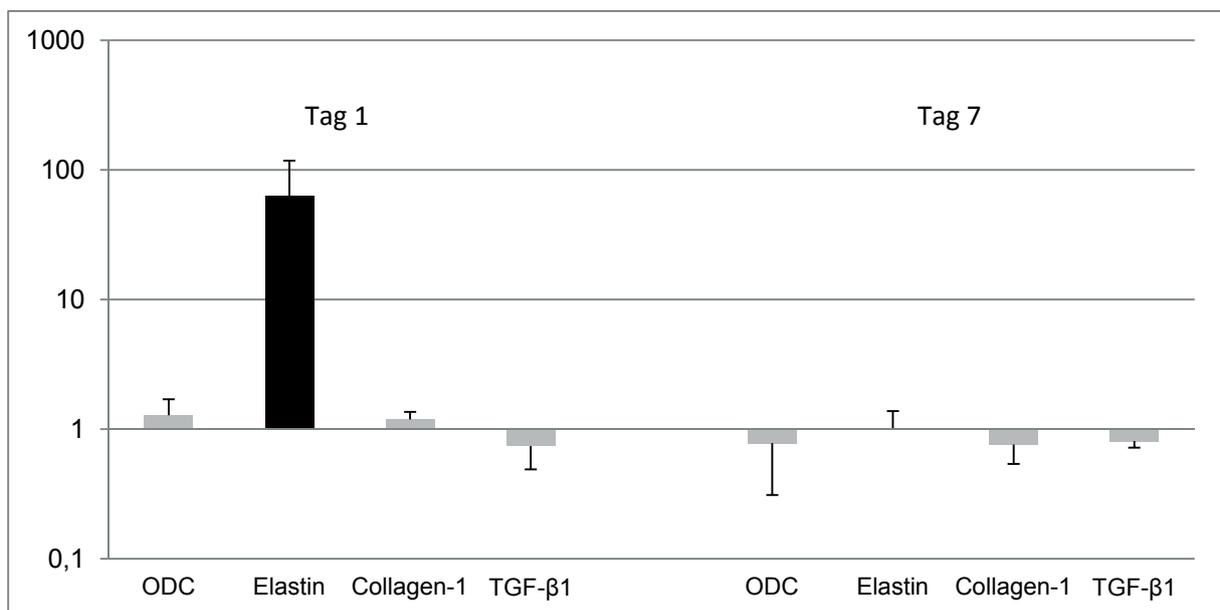


Darst.39: Ca^{2+} aus Plasma (mmol/l) in der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. *, $p < 0,05$.

4.4.4 Molekularbiologische Analysen

In der Niere werden vier Gene untersucht. Drei Fibrosemarker (Elastin, Collagen-1 und TGF- β) und ein Hypertrophiemarker (ODC).

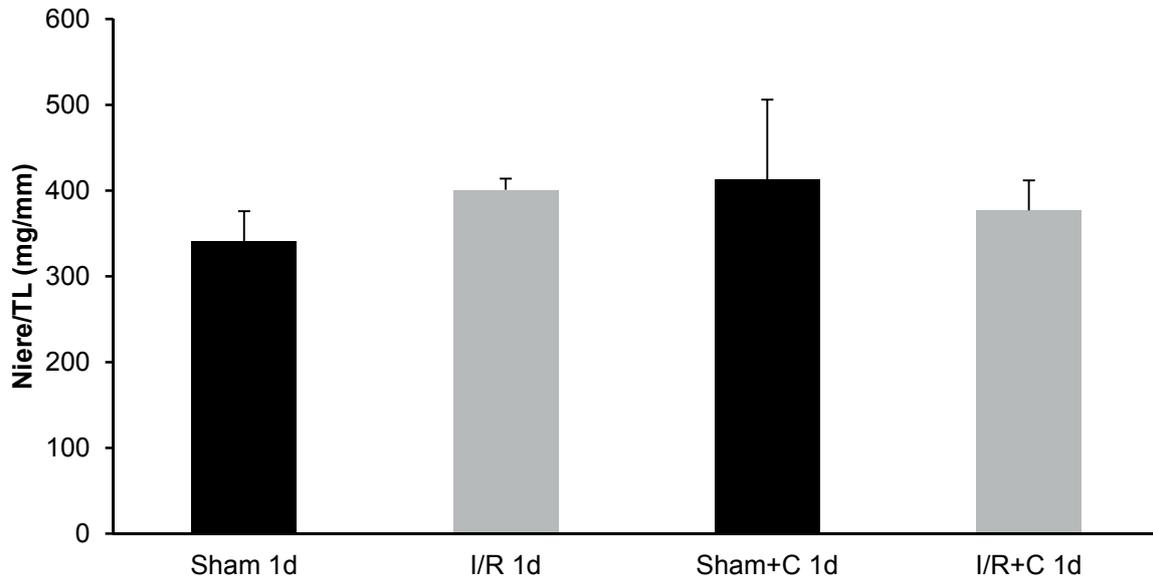
Außer dem Elastin, welches in der 1-Tagesgruppe signifikant erhöht ist, sieht man in Bezug auf die Kontrollgruppen nur geringgradige Veränderungen in den Expressionen. Allerdings fällt auf, dass in der 1-Tagesgruppe ODC und Collagen-1 jeweils erhöht sind und in der 7-Tagesgruppe erniedrigt (Darst.40).



Darst.40: Veränderungen der Genexpression in der 1- und 7-Tagesgruppe bezogen auf die Kontrollgruppe (1 von 8=12,5%; schwarz=signifikant verändert). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p < 0,05$.

4.4.5 Einfluss von Captopril

Unter Captoprileinfluss sind keine signifikanten Veränderungen im Nierengewicht zu erkennen (Darst.41).

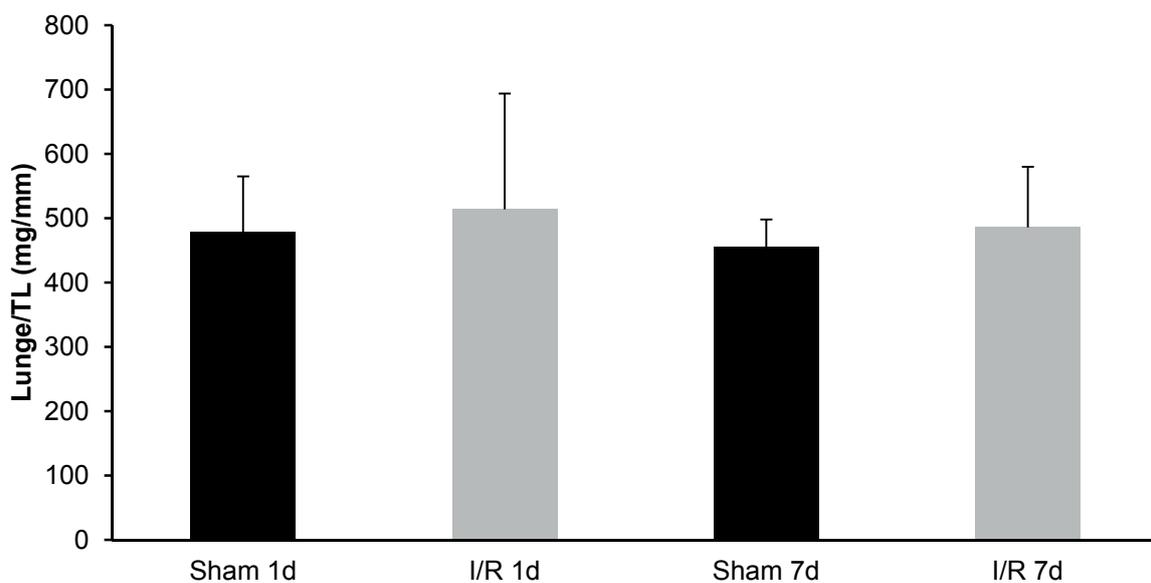


Darst.41: Entwicklung des Nierengewichtes bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$; C=Captopril.

4.5 Einfluss auf die pulmonalen Parameter

4.5.1 Entwicklung des Lungengewichtes

Beim Wiegen der Lungen sieht man eine tendenzielle Zunahme des Gewichtes bei den Infarkttieren der 1- und 7-Tagesgruppe in Bezug zu ihren Kontrollen (Darst.42). Die Gewichtszunahmen sind aber nicht signifikant.

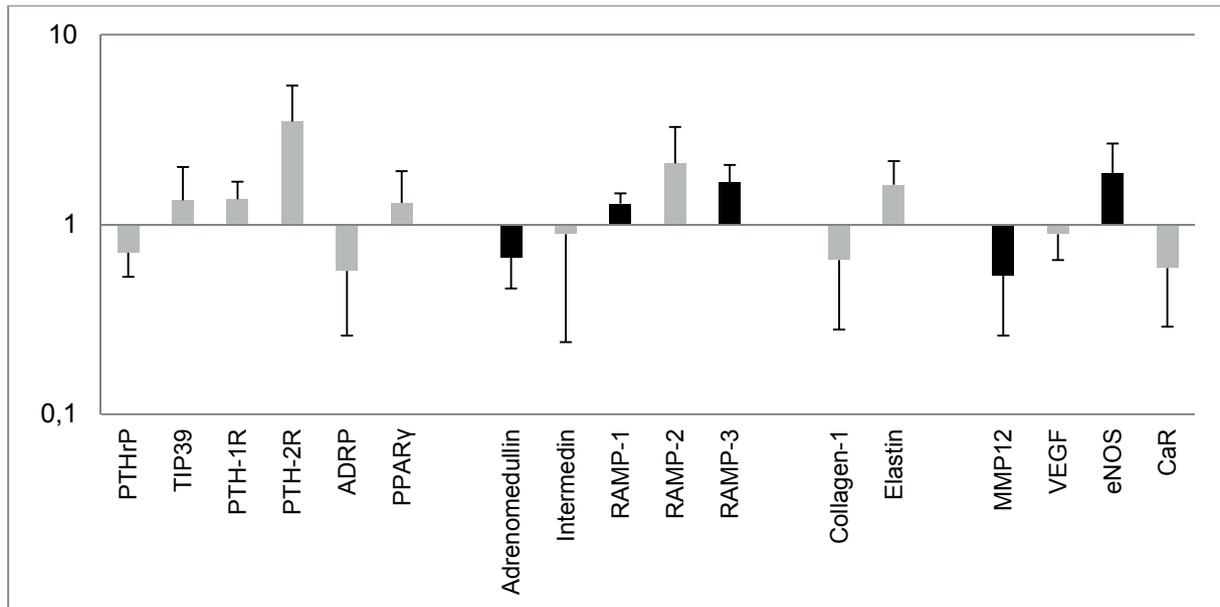


Darst.42: Entwicklung des Lungengewichtes bezogen auf die Tibiallänge (mg/mm) in der 1- und 7-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$.

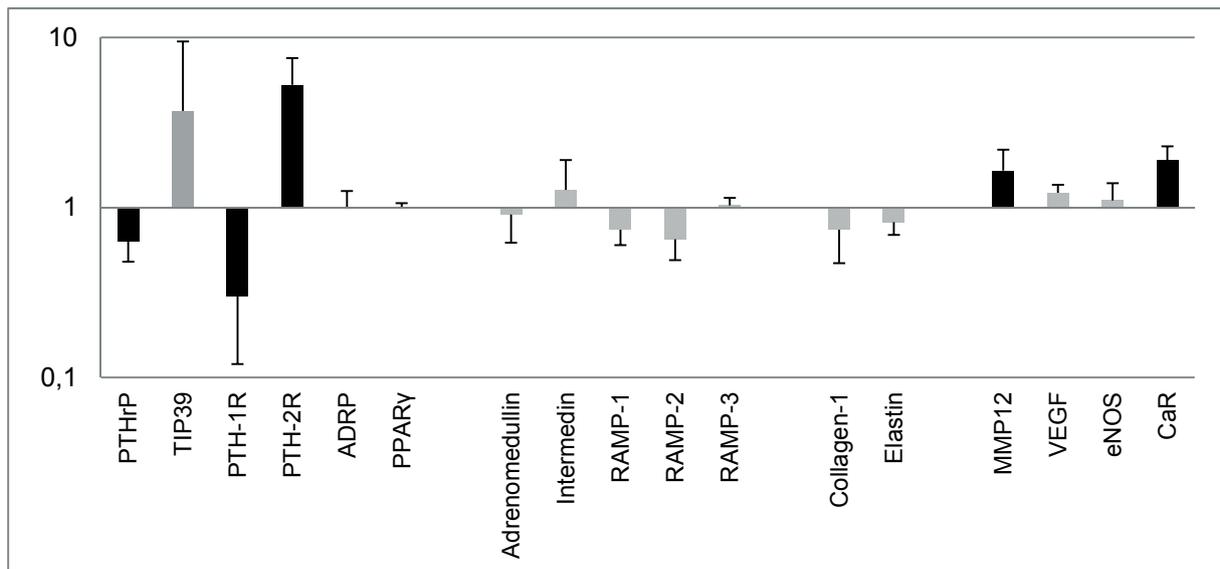
4.5.2 Molekularbiologische Analysen

In der Lunge werden 17 Gene untersucht. Das Parathormon-related peptide (PTHrP) ist in beiden Gruppen herunterreguliert, wohingegen das PTH-2R in beiden Gruppen hochreguliert ist. Je mehr PTHrP vorhanden ist, desto weniger Fibrose ist sichtbar. Außerdem ist PTHrP wichtig für die Surfactant-Bildung (Torday et al., 2007).

Das in beiden Gruppen herunterregulierte Adrenomedullin hat vasodilatierende Wirkung und beeinflusst das Herz-Kreislaufsystem (Darst.43, 44).



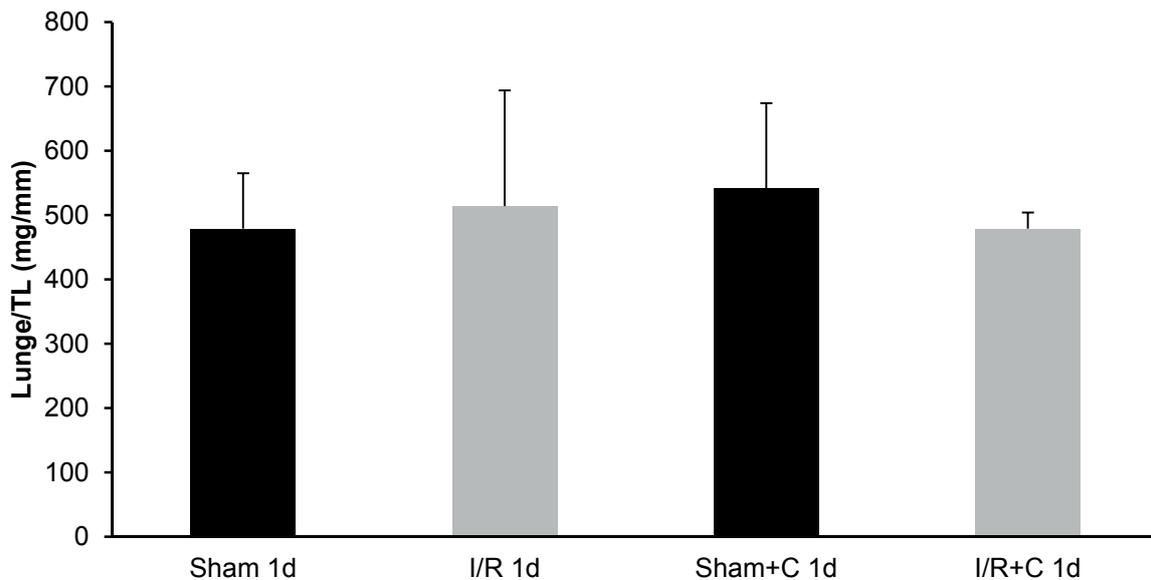
Darst.43: Veränderungen der Genexpressionen in den Lungen der 1-Tagesgruppe bezogen auf die Kontrollgruppe (5 von 17=29,31%; schwarz=signifikant verändert). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p < 0,05$.



Darst.44: Veränderungen der Genexpressionen in den Lungen der 7-Tagesgruppe bezogen auf die Kontrollgruppe (3 von 17=17,65%; schwarz=signifikant verändert). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p < 0,05$.

4.5.3 Einfluss von Captopril

Bei der Infarktgruppe, die einen Tag mit Captopril behandelt werden, sieht man einen tendenziellen Rückgang im Lungengewicht im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei der Infarktgruppe der unbehandelten Tiere sieht man dagegen eine leichte Gewichtszunahme in der Lunge. Diese ist jedoch nicht signifikant (Darst.45).



Darst.45: Entwicklung des Lungengewichtes bezogen auf die Tibialänge (mg/mm) in der mit Captopril behandelten/unbehandelten 1-Tagesgruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von n=8 Tieren. $p > 0,05$; C=Captopril.

5. Diskussion

In dieser Arbeit wird untersucht, welche Auswirkungen ein linksventrikulärer Infarkt auf den linken und rechten Ventrikel, die Lunge und die Nieren hat.

Hierfür wird das closed-chest-Modell als Operationsmethode gewählt. Dieses hat, im Gegensatz zum open-chest-Modell, den Vorteil, dass zwischen der Operation, in der ein Faden um den absteigenden Ast der linken Koronararterie (LAD) gelegt wird, und der eigentlichen Infarktsetzung eine Zeitspanne von einer Woche liegt. Somit sind die Auswirkungen, die der operative Eingriff mit sich gebracht hat, zeitlich abgegrenzt von den Auswirkungen, welche die Infarktsetzung mit sich bringt. Vergleichsdaten aus der Literatur liegen dazu nicht vor, da die Methode hier erstmals auf Ratten übertragen wurde.

5.1 Beurteilung der Herzgewichtsdaten

Um die Veränderungen der Herzgewichte beurteilen zu können, wird jeweils die Tibialänge der Tiere ausgemessen, um diese als Bezugsgröße zu verwenden.

Die Verhältnisse der ventrikulären Gewichte zur Tibialänge dienen unter anderem als Parameter für eine Hypertrophie des Herzens. Erfahrungsgemäß ist die Zunahme der Muskelmasse des Herzens mit dem Risiko einer Entgleisung der Entwicklung in Richtung einer Herzinsuffizienz verbunden. Die strukturelle Anpassung mit Zunahme der Muskelmasse ist eine Reaktion auf eine chronische Mehrbelastung des Herzens. Mit dieser Zunahme wird versucht, die Wandspannung im Normbereich zu halten. Sowohl die akute Volumen- als auch die akute Druckbelastung bedingen eine pathologisch überhöhte Wandspannung, welche anhand des Laplace-Gesetzes erkennbar ist (Hellige, 1996).

In der 1-Tagesgruppe sieht man eine signifikante Gewichtszunahme im rechten Ventrikel bei den Infarkttieren. Das könnte darauf hindeuten, dass es hier zu einer Hypertrophie im rechten Ventrikel kommt, welche durch einen Rückstau in die Lunge verursacht wird. Andererseits sieht man bei der 7-Tagesgruppe nur noch eine minimale Gewichtszunahme des rechten Ventrikels der Infarkttiere im Vergleich zu den Kontrolltieren, welches eher dafür spricht, dass es sich nach einem Tag um eine Ödembildung im rechten Ventrikel handelt und es deswegen zu einer vorübergehenden Gewichtszunahme kam. Dafür spricht auch, dass dies nicht durch

einen signifikanten Anstieg der Expression des atrialen natriuretischen Peptides (ANP) begleitet wird.

Beim Betrachten der Vorhofgewichte sieht man auch wieder eine signifikante Gewichtszunahme der Infarkttiere in der 1-Tagesgruppe, welches für eine Stauung im Ventrikel spricht, entweder durch eine Hypertrophie, fibrotische Veränderungen oder durch Ödembildung. In der 7-Tagesgruppe ist hierbei diesmal eine deutliche Gewichtszunahme bei den Infarkttieren zu sehen.

5.2 Beurteilung der Funktionsdaten

Der linksventrikulär aufgebaute Druck (LVDP) wird *ex vivo* gemessen, mithilfe der Langendorff-Apparatur, um eine funktionelle Beeinträchtigung des Infarktgeschehens auf den infarzierten linken Ventrikel zu untersuchen. Widergespiegelt wird mit diesem Parameter die Kontraktionskraft des Herzens.

Man sieht einen signifikanten Rückgang bei den Infarkttieren der 1-Tagesgruppe in Bezug auf die Kontrollgruppen. Beim LVDP der Infarkttiere in der 7-Tagesgruppe ist ein leichter Rückgang zu beobachten. Man kann daraus schließen, dass man bei kleinen linksventrikulären Infarkten einen akuten Funktionsverlust hat, der durch den infarktbedingten Verlust von Herzmuskelmasse bedingt ist. Im vorliegenden Fall führt dies zu einer Volumenbelastung des rechten Ventrikels und der Vorhöfe. Im Laufe einer Woche tritt dann eine Verbesserung auf.

Die Kontraktionsfähigkeit des linken Ventrikels lässt bei den Infarkttieren der 7-Tagesgruppe nach. Bestimmt wird hierfür $dP/dt \max$. Die Relaxationsfähigkeit des linken Ventrikels, angegeben durch $dP/dt \min$, lässt in beiden Infarktgruppen nach, was auch wiederum ein Zeichen für eine funktionelle Maladaptation sein kann. Außerdem kommen fibrotische Veränderungen in Betracht, auf die im nächsten Kapitel (5.3.2) eingegangen wird.

Bei der Berechnung des Koronarwiderstandes (CR) sieht man einen Rückgang bei den Infarkttieren der 1-Tagesgruppe. Der Koronarwiderstand ist umso niedriger, je weniger Widerstand der Perfusionslösung in den nach Langendorff perfundierten Herzen durch die Gefäße entgegengebracht wird. D.h. dieser Widerstand ist unter anderem als Indikator für die Kapillarisation des Herzens zu betrachten.

5.3 Beurteilung der PCR und Western Blot Untersuchungen vom Herzen

5.3.1 Stammzellmarker

Bei denen in dieser Arbeit betrachteten Stammzellmarkern handelt es sich um den Vascular endothelial growth factor (VEGF) und den Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1).

VEGF differenziert u.a. Stammzellen zu Kardiomyozyten. Außerdem wirkt es bei der Angio- und Vaskulogenese mit.

SDF-1 wird konstitutiv in ventrikulären Herzmuskelzellen exprimiert. Außerdem wird er in Stammzellen gebildet und von diesen konstitutiv freigesetzt. SDF-1 spielt auch eine wichtige Rolle bei der Angiogenese indem es endotheliale Progenitorzellen aus dem Knochenmarkt rekrutiert. Es dirigiert diese Zellen dann zum Ischämiegebiet des infarzierten Herzens. Dabei handelt es sich um einen hypoxie-abhängigen Mechanismus. Es kommt zu einem Anstieg des SDF-1 in ischämischen Herzen (Schlüter et al., 2009).

Im linken Ventrikel der 1-Tagesgruppe sieht man einen nicht signifikanten Anstieg der SDF-1- und einen signifikanten Rückgang der VEGF-Genexpression. In der 7-Tagesgruppe sind keine Abweichungen mehr von der Kontrollgruppe zu sehen. Dies kann bedeuten, dass es erst nach einer Woche zu einer beginnenden Angiogenese im Ischämiegebiet kommt.

Unter Captoprilbehandlung ist dagegen SDF-1 im linken Ventrikel der 1-Tagesgruppe herunterreguliert worden.

Zusammenfassend finden sich in der vorliegenden Arbeit keine Evidenzen für eine autonome oder Captopril-unterstützte Reparatur des infarzierten Myokards durch Stammzellen.

5.3.2 Quantitativer Vergleich der Expression im linken und rechten Ventrikel

Um einen Anhaltspunkt zu bekommen, wie sich die Genexpressionen im rechten und linken Ventrikel entwickeln, wird der prozentuale Anteil der sich verändernden Gene ermittelt.

Wie nicht anders bei einem linksventrikulären Infarkt zu erwarten, verändern sich in der 1-Tagesgruppe im linken Ventrikel knapp 60% der untersuchten Gene, im rechten Ventrikel dagegen nur 10%.

In der 7-Tagesgruppe dagegen kommt es zu einer Verlagerung. Die Veränderung der Genexpression im linken Ventrikel fällt auf 35% zurück, wohingegen die Veränderungen der Genexpression im rechten Ventrikel auf 50% der untersuchten Gene ansteigen.

Daran wird eine verzögerte Reaktion des rechten Ventrikels auf einen linksventrikulären Infarkt deutlich, wohingegen der Rückgang der Veränderungen im linken Ventrikel auf eine Erholung nach einer Woche hindeutet.

Es wird vermutet, dass die in dieser Arbeit dokumentierte transiente Funktionseinschränkung des linken Ventrikels über das Septum hämodynamischen Stress auf den rechten Ventrikel überträgt. Alternativ kann vermutet werden, dass der durch den transienten Funktionsverlust des linken Ventrikels erzeugte Rückstau in die pulmonale Strombahn eine Widerstandserhöhung für den rechten Ventrikel hervorruft. Der genaue Mechanismus bedarf weiterer Untersuchungen, insbesondere über die langfristige Auswirkung auf das Herz. In jedem Fall ist die hier beobachtete massive Veränderung im Transkriptom des rechten Ventrikels ein wesentlicher und neuer Befund, den diese Arbeit erbracht hat.

5.3.3 Metabolische und Hypertrophie-Marker

In der vorliegenden Arbeit handelt es sich um die endotheliale Stickstoffmonoxid Synthase (eNOS), Arginase I, Arginase II und Ornithindecaboxylase (ODC).

eNOS wirkt der sympathisch-adrenergen Vasokonstriktion entgegen, da sie NO bildet. So wird der wichtigste Stoff für die Endothel-vermittelte Gefäßtonusmodulation geliefert (Panza et al., 1990). NO hat viele gefäßschützende Eigenschaften, wie z.B. Hemmung der Thrombozytenaggregation, der Leukozytenanheftung und der

Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen (Förstermann et al., 1994). D.h. Gefäßerkrankungen werden durch eine verringerte NO-Produktion durch eNOS begünstigt. Außerdem muss für die maximale NO-Produktion ausreichend Arginase zur Verfügung stehen (Hardy et al., 2002).

Die Regulation der ODC Aktivität wiederum ist ein wichtiger Mechanismus zur Kontrolle der Polyaminkonzentration (Putrescin, Spermidin, Spermin) in der Zelle (Cohen, 1998). Beim Wachstum von Gewebe spielen sie eine entscheidende Rolle, da sie essentielle Faktoren bei der Zellproliferation und Zelldifferenzierung sind (Ask et al., 1992; Löser et al., 1999; Quemeneret al., 1994; Seiler et al., 1990).

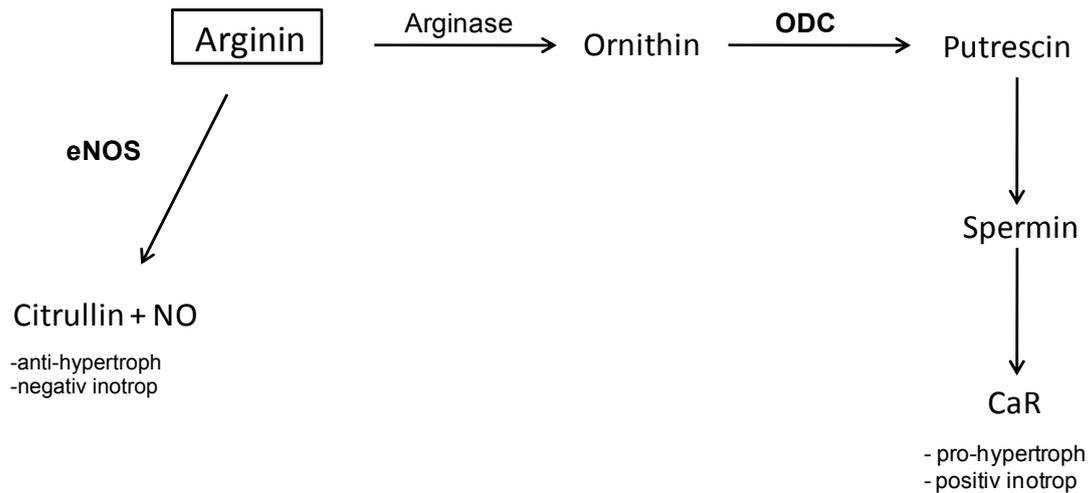
Die Arginasen katalysieren den Abbau der Aminosäure Arginin zu Ornithin und Harnstoff. Vermutet wird, dass Polymorphismen der Arginase I das Risiko für Artherosklerose und somit für einen Herzinfarkt erhöht (Dumont et al., 2007).

Unter Abspaltung von Citrullin katalysiert die Stickstoffmonoxid-(NO-) Synthase das Stickstoffmonoxid aus der Aminosäure L-Arginin. Dieses ist sowohl das Substrat für die endotheliale NO-Synthase als auch für die ODC (indirekt über Ornithin). Somit stellt sich auch die Frage, inwieweit die Enzyme um dieses Substrat konkurrieren und welche Auswirkungen eine Herzinsuffizienz darauf hat.

Im linken Ventrikel sieht man bei den Infarkttieren eine signifikante Herunterregulation von eNOS und Arginase II in der 1-Tagesgruppe. In der 7-Tagesinfarktgruppe ist Arginase I signifikant herabreguliert. Auch auf der Proteinebene sieht man in der 1-Tagesgruppe eine geringere eNOS-Expression bei den Infarkttieren. Bei den Infarkttieren der 1-Tagesgruppe ist ODC im linken Ventrikel signifikant herabreguliert, nach sieben Tagen hat es sich normalisiert.

Im linken Ventrikel liegt in der 1-Tagesgruppe ein ODC/eNOS-Verhältnis von 2,16 vor. In der 7-Tagesgruppe ist es nahezu eins.

Die Ergebnisse dieser Arbeit suggerieren einen Wechsel des Argininverbrauchs von der NO-Bildung hin zur Polyaminsynthese.



Darst.46: Argininstoffwechselweg in Bezug auf die Enzyme eNOS, Arginase und ODC

5.3.4 Fibrose-Marker

Es werden neun Fibrose-Marker im Herzen untersucht, von denen im linken Ventrikel in der 1-Tagesinfarktgruppe fünf (Decorin, Biglycan, Collagen-1, Elastin, MMP-9) signifikant erhöht sind. Im linken Ventrikel der 7-Tagesgruppe sind noch vier signifikant erhöht, und zwar Biglycan, Collagen-1, Collagen-3 und Elastin. Im rechten Ventrikel dagegen sind die Fibrose-Marker zum größten Teil herunterreguliert.

Das lässt darauf schließen, dass der rechte Ventrikel in den ersten sieben Tagen noch nicht auf hämodynamische Veränderungen reagiert, die durch den linksventrikulären Infarkt bedingt sind.

5.3.5 Ca²⁺-Handling-Proteine

Die Calcium-Handling-Proteine Serca2a, der Natrium-Calcium-Austauscher (NCX) und das Phospholamban (PLB) sind im linken Ventrikel in der 1-Tagesinfarktgruppe alle signifikant erniedrigt, in der 7-Tagesinfarktgruppe sind Serca2a und NCX signifikant und das PLB tendenziell erniedrigt.

Im rechten Ventrikel dagegen, sind in der 1-Tagesinfarktgruppe NCX signifikant und Serca2a gering erniedrigt, wohingegen das PLB tendenziell erhöht ist.

In der 7-Tagesinfarktgruppe sind Serca2a und NCX signifikant und das PLB tendenziell erhöht.

Die Serca2a ist eine Calcium-ATPase die dafür zuständig ist, während der Muskelrelaxation, Calcium vom Zytosol der Zellen ins sarkoplasmatische Retikulum

zu transferieren. Im Gegensatz dazu ist der Natrium-Calcium-Austauscher ein Antiporter-Membran-Protein, welches das Calcium aus den Zellen heraus transportiert. Aber beide sind verantwortlich für den Calciumtransport aus dem Zytosol am Ende der Kontraktionsphase. Den mengenmäßig größeren Anteil des in der Kontraktion freigesetzten Calciums pumpt dabei die Serca2a in das sarkoplasmatische Retikulum. Dort steht es dann für den folgenden Kontraktionszyklus zur Verfügung. Die Serca2a transportiert dabei, speziesabhängig, 70-92% des intrazellulären Calciums (Bers et al., 1996). Bei einer Herzinsuffizienz kommt es in den Herzmuskelzellen zu einer verminderten Expression von Serca2a, was in verschiedenen Studien gezeigt wird (La Basti et al., 1990; Mercadier et al., 1990). Normalerweise ist eine kompensatorische Heraufregulation der NCX-Expression zu erwarten, damit am Ende der Kontraktion durch das Ausschleusen des Calciums aus der Zelle die Relaxation ermöglicht wird. Dies ist in der vorliegenden Arbeit nicht der Fall. Im Gegenteil, NCX ist in seiner Expression ebenfalls herunterreguliert.

Außerdem ist das PLB herunterreguliert. Dieses hat im nicht-phosphorylierten Zustand eine inhibitorische Wirkung auf die Serca2a.

Insgesamt deuten die genannten Expressionsveränderungen auf eine funktionelle Beeinträchtigung des postinfarzierten linksventrikulären Gewebes hin, welches sich durch die tendenziell verschlechterten Relaxationsparameter auch andeutet. Die schlechte Relaxation führt dann zu Füllungsproblemen, die sich in Rückstauphänomenen zeigen, wie sie anhand der Zunahme der Lungen- und rechtventrikulären Gewichte auch nachweisbar sind.

5.3.6 Apoptose-Marker

Untersucht werden die Apoptose-Marker Bcl2-associated x Protein (Bax) und B-cell-Lymphoma-2 (Bcl-2). Beide gehören zur Bcl-2-Familie und spielen eine Rolle bei der Regulation des programmierten Zelltodes (Apoptose). Bcl-2 wirkt anti-apoptotisch indem es Bax bindet, Bax wirkt pro-apoptotisch. Aktiviert werden sie u.a. durch eine Überexpression des Tumorsuppressorproteins p53. Die Apoptoseexekution hat im Zentrum die Caspase-Kaskade. Diese und damit die Apoptose wird durch das Angiotensin II in den Zellen ausgelöst. Die Aktivierung wird durch das Cytochrom C vermittelt, welches u.a. von Bcl-2 kontrolliert wird. Es dichtet die

Mitochondrienmembran ab und verhindert so das Austreten von Cytochrom C aus dem Mitochondrium (Zeiger, 2006).

In der 1-Tagesinfarktgruppe sind im linken Ventrikel sowohl Bax signifikant, als auch Bcl-2 hochreguliert. In der 7-Tagesinfarktgruppe sind nur Bcl-2 signifikant hochreguliert, Bax ist erniedrigt.

Im rechten Ventrikel sieht man dann eine Herabregulation in beiden Gruppen jeweils beider Gene. V.a. in der 7-Tagesinfarktgruppe sind beide signifikant herunterreguliert.

Insgesamt lässt sich aus diesen Befunden kein Hinweis auf eine Dominanz pro-apoptotischer Prozesse finden.

5.4 Beurteilung der renalen Parameter

Bei der Auswertung der Nierengewichte sieht man jeweils eine nicht signifikante Gewichtszunahme bei den Infarkttieren, sowohl in der 1-, als auch in der 7-Tagesgruppe. Dies könnte auch wieder ein Zeichen für Stauungsphänomene sein, die die Umbauprozesse begünstigen. In der 1-Tagesinfarktgruppe wird dies durch einen signifikanten Anstieg des Elastins belegt.

Desweiteren wird das Kreatinin im Plasma untersucht. Dabei ist ein signifikanter Anstieg in der 1-Tagesinfarktgruppe zu sehen und ein nicht-signifikanter Anstieg in der 7-Tagesinfarktgruppe.

Im Muskelgewebe entsteht durch den Abbau von Kreatin Kreatinin, welches im Plasma eine relativ konstante Konzentration besitzt. In den Nieren wird es weder sezerniert, noch rückresorbiert. Mit zunehmender Einschränkung der Nierenfunktion steigt das Serum-Kreatinin an, wie es auch in der vorliegenden Arbeit beschrieben wird.

Außerdem wird die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) abgeschätzt. Diese gibt das Gesamtvolumen des Plasmas an, welches in einer definierten Zeiteinheit von den Glomeruli der Nieren gefiltert wird. Sie ist die wichtigste Größe für die Abschätzung der Nierenfunktion und wird durch die Kreatininclearance ermittelt. Es wird der endogene Marker Kreatinin verwendet. Mit zunehmendem Alter oder bei Nierenerkrankungen sinkt die GFR, wie auch in der vorliegenden Arbeit, wo die jeweilige Infarktgruppe eine verminderte glomeruläre Filtrationsrate zeigt.

D.h., dass ein moderater linksventrikulärer Infarkt auch Auswirkungen auf die Nierenfunktion hat.

5.5 Beurteilung der pulmonalen Parameter

Bei den Lungen ist in beiden Infarktgruppen eine Zunahme der Gewichte zu erkennen, die allerdings nicht signifikant ist. Dies kann auf eine ödematöse, hypertrophe oder fibrotische Veränderung des Lungengewebes hinweisen. Aufgrund von hämodynamischen Veränderungen im Herzen durch den linksventrikulären Infarkt ist es am wahrscheinlichsten, von einem Rückstau in die Lunge auszugehen.

In der Lunge beider Infarktgruppen ist das Adrenomedullin herunterreguliert, in der 1-Tagesgruppe signifikant. Dieses Gen wird u.a. in der Lunge, in der Niere und im Nebennierenmark gebildet. Es hat vasodilatierende Wirkung und beeinflusst das Herz-Kreislauf-System, die Atmung und die Hormonsekretion.

Außerdem ist in den Lungen der Infarkttiere jeweils das Parathormon-related peptide (PTHrP) herunterreguliert, in der 7-Tagesgruppe signifikant. Dies spricht für eine fibrotische Veränderung des Lungengewebes. PTHrP wird von den Typ-II-Zellen der Lunge gebildet (Ganten et al., 2006). Das PTHrP aktiviert, über Bindung an den PTHrP-Rezeptor der Lipofibroblasten, den cAMP-abhängigen PKA-vermittelten Signalweg. PPAR γ wird hochreguliert. Dieses wiederum führt zu einer Hochregulation von ADRP und Leptin und sorgt dafür, dass keine Transdifferenzierung von Lipofibroblasten zu Myofibroblasten stattfindet (Rehan et al., 2007). Je mehr PTHrP also vorhanden ist, desto weniger Fibrose ist sichtbar. Außerdem ist das PTHrP für die Surfactantbildung wichtig, welches die Oberflächenspannung in den Alveolen herabsetzt (Torday et al., 2007). Der Parathormon-2-Rezeptor (PTH-2R) ist in beiden Gruppen hochreguliert, in der 7-Tagesgruppe wieder signifikant. PTH wird in der Nebenschilddrüse gebildet und die Sekretion wird durch die Konzentration an ionisiertem Calcium im Blutplasma reguliert. Dies spiegelt sich in den Ergebnissen der Elektrolytuntersuchungen wieder. D.h. wenn die Calcium Konzentration im Plasma abfällt, steigt das cyclische Adenosinmonophosphat (cAMP) und die PTH-Sekretion wird gesteigert (Klinke et al., 2005). Der PTH-2R erkennt zwar PTH, aber nicht das lokal gebildete PTHrP.

5.6 Einfluss von Captopril

Da die Behandlung mit dem ACE-Hemmer Captopril nur für einen Tag stattfindet, sind alle aufgeführten Daten auf die 1-Tagesgruppen bezogen (Sham 1d, I/R 1d, Sham+C 1d, I/R+C 1d). Unter dem Einfluss von Captopril normalisiert sich das Herzgewicht. Es ist kein Unterschied mehr zu sehen zwischen den Kontrollgruppen und der mit Captopril-behandelten Infarktgruppe. Die linksventrikulären Gewichte zeigen auch unter Captoprilbehandlung keinen Unterschied zwischen der Kontroll- und der Infarktgruppe.

Das rechtsventrikuläre Gewicht allerdings zeigt unter Captoprilbehandlung einen tendenziellen Rückgang, im Gegensatz zur unbehandelten Infarktgruppe, deren rechtsventrikuläres Gewicht signifikant höher ist, als das der Kontrollgruppe. Auch das Gewicht der Vorhöfe ist in der Infarktgruppe nicht mehr signifikant erhöht, wie es in der unbehandelten Gruppe der Fall ist.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass das Captopril einen positiven Einfluss auf das Remodelling nach einem linksventrikulären Infarkt hat.

Bei der Untersuchung der Funktionsdaten sieht man folgendes: Der linksventrikulär aufgebaute Druck (LVDP) hat sich unter Therapie normalisiert. Allerdings ist die Kontraktionsfähigkeit des linken Ventrikels ($dP/dt \text{ max}$) signifikant unter Captoprilbehandlung erniedrigt. Diese zeigt bei den unbehandelten Infarkttieren keine Differenz zu den Kontrollen. Die Relaxationsfähigkeit ($dP/dt \text{ min}$) ist in beiden Infarktgruppen jeweils tendenziell reduziert in Bezug auf die Kontrollgruppen.

Unterschiede zeigten sich im Koronarwiderstand (CR), der umso niedriger ist, je weniger Widerstand der Perfusionslösung durch die Gefäße entgegengebracht wird. Bei den unbehandelten Infarkttieren geht der Koronarwiderstand im Vergleich zur Kontrollgruppe zurück, bei den behandelten Tieren steigt der Widerstand an. Da man bei der Expression der PCR Daten eine Herabregulation des atrialen natriuretischen Peptides (ANP) und des Brain Natriuretic Peptides (BNP) sieht, könnte das der Grund für den erhöhten Widerstand sein, da beide eine vasodilatierende Wirkung haben.

Die Fibrosemarker sind im Gegensatz zur unbehandelten Gruppe herunterreguliert, was die Ursache für die Angleichung des Gewichtes an die Kontrollgruppe sein könnte. Auch die metabolischen Marker wie eNOS, Arginase I und II, sowie die Hypertrophiemarker und die Apoptosemarker Bcl-2 und Bax sind herunterreguliert.

Bei der Untersuchung auf Proteinebene sieht man einen signifikanten Anstieg der eNOS-Expression. Sie ist 1,5-fach höher in der behandelten Infarktgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe und zur unbehandelten Infarktgruppe. Dieser Effekt des Captoprils auf die eNOS wird auch in der Literatur beschrieben (Pechanova, 2007). Im rechten Ventrikel dagegen sind die meisten Markergene hochreguliert. Die Fibrosemarker Elastin, Laminin und Fibronectin und die Calcium-Handling-Proteine Serca2a und NCX sind signifikant erhöht.

5.7 Schlussfolgerung

Ein linksventrikulärer Infarkt verursacht nicht nur Schäden im linken Ventrikel, sondern hat auch Auswirkungen auf den rechten Ventrikel und auf andere Organe, wie Lunge und Nieren. Eine Beeinträchtigung der Funktion geht einher mit einer Veränderung der Expressionsmuster ausgewählter Gene, was auf unterschiedliche metabolische und strukturelle Anpassungsvorgänge hinweist.

Es kommt im rechten und im linken Ventrikel zu einer Verschiebung des Argininstoffwechselweges hin zum Putrescin und damit zu einem pro-hypertrophen Stoffwechsel. Außerdem kommt es im linken Ventrikel und in der Lunge zu fibrotischen Veränderungen. Auch die Relaxationsparameter sind tendenziell verschlechtert, so dass es zu einer eingeschränkten Relaxation und damit zu einem Füllungsproblem kommt. Dieses führt wiederum zu einem Rückstauphänomen, welches sich durch Zunahme des Lungen- und des rechtsventrikulären Gewichtes äußert.

In den Nieren sind erhöhte Nierengewichte zu messen, evtl. durch Stauungen und die Nierenfunktion ist eingeschränkt.

Die Therapie mit Captopril hat eine Funktionsverbesserung im linken Ventrikel zur Folge und eine Angleichung der Herzgewichte. Die fibrotischen und hypertrophen Veränderungen gehen unter Therapie zurück. Die eNOS-Expression steigt an.

Es kann geschlussfolgert werden, dass dem linksventrikulären Arginin-Stoffwechsel eine initiale Bedeutung für diese pathophysiologischen Prozesse zukommt und er deshalb im Fokus einer medikamentösen Therapie stehen sollte.

6. Zusammenfassung

Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems gehören in den Industrieländern zu den wichtigsten Todesursachen. Der Herzinfarkt gehört hierbei zu den Haupttodesursachen.

Die Schäden, die ein Herzinfarkt im linken Ventrikel verursacht, sind bekannt, sowohl auf molekularer, als auch auf zellulärer Ebene. Es kommt zum Ventrikelumbau hinsichtlich Größe, Form und Struktur, dem sogenannte Remodelling. Außerdem kommt es zu einer Funktionseinschränkung des linken Ventrikels. Schließlich führt ein Abfall des linksventrikulären Schlagvolumens zu einem Anstieg des endsystolischen Volumens unter einer entsprechenden Erhöhung der Nachlast.

In der vorliegenden Arbeit werden weiterhin die Veränderungen im rechten Ventrikel, der Lunge und der Nieren näher betrachtet. Außerdem werden die Effekte des ACE-Hemmers Captopril auf den rechten Ventrikel untersucht.

Um diese Einflüsse eines moderaten linksventrikulären Infarktes auf das Gesamt-Organismus untersuchen zu können, werden *in vivo* Versuche mit dem closed-chest-Infarktmodell durchgeführt. Bei rechtem Ventrikel, Lunge und Nieren sieht man jeweils eine Gewichtszunahme, was ein erstes Anzeichen für eine Auswirkung des Infarktes ist.

Bei Erhebung der Expressionsdaten ausgewählter, für das Infarktgeschehen relevanter, Gene fällt auf, dass einen Tag nach Infarktsetzung hauptsächlich der linke Ventrikel von Veränderungen betroffen ist, sieben Tage nach Infarktsetzung jedoch der rechte Ventrikel vermehrt von Genexpressionsveränderungen betroffen ist.

Untersucht werden die Expressionsmuster von Matrixproteinen, hypertrophen und apoptotischen Markern, sowie von Proteinen, die an der Regulation des Calcium-Haushaltes beteiligt sind.

Bei den Nieren wird die Funktionsfähigkeit anhand der glomerulären Filtrationsrate und des Kreatininspiegels im Plasma näher untersucht. Die Ergebnisse weisen auf eine direkte Funktionseinschränkung in Folge des Infarktgeschehens hin.

Unter dem Einfluss von Captopril kann man einen positiven Einfluss, auch auf das Remodelling des rechten Ventrikels, feststellen.

7. Summary

Diseases of the cardiovascular system are some of the most important causes of death in industrialized countries, with myocardial infarction in particular being one of the main causes.

Damage due to left ventricular myocardial infarction is well known on the molecular level as well as on the cellular level. Remodelling of the left ventricle in terms of size, form, and structure takes place. There is also a reduction in left ventricular function: a fall in left ventricular stroke volume leads to an increase in end systolic volume with an increase in afterload.

In the present study, changes occurring in the right ventricle, the lungs, and the kidneys were examined more closely. In addition, the effects of the ACE inhibitor captopril on the right ventricle were investigated.

To determine the effects of a moderate left ventricular infarction on the entire organ system, we used an *in vivo* closed-chest model. Kidney function was determined by measuring the glomerular filtration rate and creatinine clearance in blood plasma. An increase in the weight of right ventricle, lungs, and kidneys was observed, which is the first sign of the impact of a left ventricular infarction.

It was apparent upon analysis of gene expression data that one day after left ventricular infarction, changes in gene expression occurred mainly in the left ventricle. Seven days after infarction, however, there were alterations in gene expression in the right ventricle. The expression patterns of matrix proteins, hypertrophic and apoptotic markers, and proteins involved in the regulation of calcium homeostasis were examined.

The results are consistent with a direct reduction in organ function as a result of left ventricular infarction. Captopril was found to have a positive effect, also on remodelling of the right ventricle.

8. Literaturverzeichnis

Abraham G., Ungemach F. R. (2006): Pharmakotherapie der chronischen Herzinsuffizienz bei Hund und Katze. Online verfügbar unter <http://www.uni-leipzig.de/~vetppt/pdfs/pub25.pdf>, zuletzt aktualisiert am 17.08.2006, zuletzt geprüft am 04.11.2011.

Alpert, J. S.; Thygesen, K.; Antman, E.; Bassand, J. P. (2000): Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. In: *J. Am. Coll. Cardiol.* 36 (3), S. 959–969.

Amazonas, R.; Almeida Sanita, R. de; Kawachi, H.; Lopes Faria, J. de (2007): Prevention of Hypertension with or without Renin-Angiotensin System Inhibition Precludes Nephron Loss in the Early Stage of Experimental Diabetes Mellitus. In: *Nephron Physiol.* 107(2), S. p57-64

Ask, A.; Persson, L.; Heby, O. (1992): Increased survival of L1210 leukemic mice by prevention of the utilization of extracellular polyamines. Studies using a polyamine-uptake mutant, antibiotics and a polyamine-deficient diet. In: *Cancer Lett.* 66 (1), S. 29–34.

Banz, K.: Cardiac resynchronization therapy (CRT) in heart failure--a model to assess the economic value of this new medical technology. In: *Value Health* 8 (2), S. 128–139.

Bers, D. M.; Bassani, J. W.; Bassani, R. A. (1996): Na-Ca exchange and Ca fluxes during contraction and relaxation in mammalian ventricular muscle. In: *Ann. N. Y. Acad. Sci* 779, S. 430–442.

Brooks, W. W.; Bing, O. H.; Robinson, K. G.; Slawsky, M. T.; Chaletsky, D. M.; Conrad, C. H. (1997): Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on myocardial fibrosis and function in hypertrophied and failing myocardium from the spontaneously hypertensive rat. In: *Circulation* 96 (11), S. 4002–4010.

Busch, A. (2004): Dilatative Kardiomyopathie beim Hund. Online verfügbar unter <http://alex.busch.cc/dcm-herz.pdf>, zuletzt aktualisiert am 03.01.2004, zuletzt geprüft am 04.11.2011.

Cohen, Seymour S. (1998): A guide to the polyamines. New York, NY: Oxford Univ. Press.

Cohn, J. N.; Ferrari, R.; Sharpe, N. (2000): Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. In: *J. Am. Coll. Cardiol.* 35 (3), S. 569–582.

Ducommun, D. (2007): HCM: Hypertrophe Kardiomyopathie (der Katze). Online verfügbar unter http://www.laupeneck.ch/d/dienstl/pdf/d_hypertrophe_cardiomyopathie_katze.pdf, zuletzt aktualisiert am 13.02.2007, zuletzt geprüft am 07.11.2011.

Davalli, P.; Carpenè, E.; Astancolle, S.; Viviani, R.; Corti, A. (1992): Cadmium induction of renal and hepatic ornithine decarboxylase activity in the rat. Effects of sex hormones and involvement of the renin-angiotensin system. In: *Biochem. Pharmacol.* 44 (4), S. 721–726.

Döring, H. J.; Dehnert, H. (1985): "Das isolierte perfundierte Warmblüter-Herz nach Langendorff". Methoden der experimentellen Physiologie und Pharmakologie. Biomesstechnik Heft. 1. Aufl. (V).

Dumont, J.; Zureik, M.; Cottel, D.; Montaye, M.; Ducimetière, P.; Amouyel, P.; Brousseau, T. (2007): Association of arginase 1 gene polymorphisms with the risk of myocardial infarction and common carotid intima media thickness. In: *J. Med. Genet.* 44 (8), S. 526–531. Online verfügbar unter doi:10.1136/jmg.2006.047449.

Fleming, I.; Fisslthaler, B.; Dimmeler, S.; Kemp, B. E.; Busse, R. (2001): Phosphorylation of Thr(495) regulates Ca(2+)/calmodulin-dependent endothelial nitric oxide synthase activity. In: *Circ. Res.* 88 (11), S. E68-75.

Förstermann, U.; Closs, E. I.; Pollock, J. S.; Nakane, M.; Schwarz, P.; Gath, I.; Kleinert, H. (1994): Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. In: *Hypertension* 23 (6 Pt 2), S. 1121–1131.

Ganten, D.; Köhrle, J.; Ruckpaul, K. (2006): Molekularmedizinische Grundlagen von para- und autokrinen Regulationsstörungen. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag

-
- Giovannucci, E.; Liu, Y.; Hollis, B. W.; Rimm, E. B. (2008): 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. In: *Arch. Intern. Med.* 168 (11), S. 1174–1180. Online verfügbar unter doi:10.1001/archinte.168.11.1174.
- Glaus T. (2009): Erworbene Herzkrankheiten (Kardiomyopathien). Online verfügbar unter http://www.kleintiermedizin.ch/katze/herz2/herz2_2.htm, zuletzt aktualisiert am 17.08.2009, zuletzt geprüft am 04.11.2011.
- Gobert, A. P.; Cheng, Y.; Akhtar, M.; Mersey, B. D.; Blumberg, D. R.; Cross, R. K. et al. (2004): Protective role of arginase in a mouse model of colitis. In: *J. Immunol.* 173 (3), S. 2109–2117.
- Hamm, C. (2004): Leitlinien: Akutes Koronarsyndrom. Online verfügbar unter http://leitlinien.dgk.org/images/pdf/leitlinien_volltext/2004-02_acs_teil_1.pdf, zuletzt aktualisiert am 13.01.2004, zuletzt geprüft am 02.11.2011.
- Hardy, T. A.; May, J. M. (2002): Coordinate regulation of L-arginine uptake and nitric oxide synthase activity in cultured endothelial cells. In: *Free Radic. Biol. Med.* 32 (2), S. 122–131.
- Hellige, G. (1996): Koronare Herzkrankheit. Von A bis Z. 2., erw. München: Medikon.
- Hoppe, U. C.; Böhm, M.; Dietz, R.; Hanrath, P.; Kroemer, H. K.; Osterspey, A. et al. (2005): Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz. In: *Z Kardiol*, S. 488–509.
- Kittleson, M. D.; Meurs, K. M.; Munro, M. J.; Kittleson, J. A.; Liu, S. K.; Pion, P. D.; Towbin, J. A. (1999): Familial hypertrophic cardiomyopathy in maine coon cats: an animal model of human disease. In: *Circulation* 99 (24), S. 3172–3180.
- Klinke, R.; Pape, H.-C.; Silbernagl, S. (2005): Physiologie. 5., komplett überarb. Stuttgart: Thieme. Online verfügbar unter <http://www.thieme.de/ebooklibrary/inhalte/3137960053/index.html>.
- Knorre, G. H. von (2002): 100 Jahre klinische Elektrokardiographie. In: *Herzschrittmachertherapie und Elektrophysiologie* 13 (2), S. 110–116.
- Kyhse-Andersen, J. (1984): Electroblothing of multiple gels: a simple apparatus without buffer tank for rapid transfer of proteins from polyacrylamide to nitrocellulose. In: *J. Biochem. Biophys. Methods* 10 (3-4), S. 203–209.

- La Bastie, D. de; Levitsky, D.; Rappaport, L.; Mercadier, J. J.; Marotte, F.; Wisnewsky, C. et al. (1990): Function of the sarcoplasmic reticulum and expression of its Ca²⁺(+)-ATPase gene in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in the rat. In: *Circ. Res* 66 (2), S. 554–564.
- Levey, A. S.; Coresh, J.; Balk, E.; Kausz, A. T.; Levin, A.; Steffes, M. W. et al. (2003): National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. In: *Ann. Intern. Med.* 139 (2), S. 137–147.
- Löser, C.; Eisel, A.; Harms, D.; Fölsch, U. R. (1999): Dietary polyamines are essential luminal growth factors for small intestinal and colonic mucosal growth and development. In: *Gut* 44 (1), S. 12–16.
- McGavin, D.M.; Zachary, J.F. (2009): Pathologie der Haustiere: Allgemeine, spezielle und funktionelle Veterinärpathologie, 1. Auflage, München: Elsevier Urban
- McMurray, J. J.; Stewart, S. (2000): Epidemiology, aetiology, and prognosis of heart failure. In: *Heart* 83 (5), S. 596–602.
- Mercadier, J. J.; Lompre, A. M.; Duc, P.; Boheler, K. R.; Fraysse, J. B.; Wisnewsky, C. et al. (1990): Altered sarcoplasmic reticulum Ca²⁺(+)-ATPase gene expression in the human ventricle during end-stage heart failure. In: *J Clin Invest* 85 (1), S. 305–309.
- Meurs, K. M.; Sanchez, X.; David, R. M.; Bowles, N. E.; Towbin, J. A.; Reiser, P. J. et al. (2005): A cardiac myosin binding protein C mutation in the Maine Coon cat with familial hypertrophic cardiomyopathy. In: *Hum. Mol. Genet* 14 (23), S. 3587–3593.
- Meyer, K.; Schipke, J. D.; Klocke, R. C.; Gams, E.; Korbmacher, B. (2008): Inotropic, vasodilating and preconditioning actions of levosimendan in the heart. In: *Thorac Cardiovasc Surg* 56 (7), S. 379–385. Online verfügbar unter doi:10.1055/s-2008-1038729.
- Meyer, K.; Klocke, R. C.; Schipke, J. D.; Gams, E.; Korbmacher, B. (2008): Ca²⁺ sensitizer superior to catecholamine during myocardial stunning? In: *Eur J Cardiothorac Surg* 34 (2), S. 326–331. Online verfügbar unter doi:10.1016/j.ejcts.2008.04.042.

- Michael, L. H.; Hunt, J. R.; Weilbaecher, D.; Perryman, M. B.; Roberts, R.; Lewis, R. M.; Entman, M. L. (1985): Creatine kinase and phosphorylase in cardiac lymph: coronary occlusion and reperfusion. In: *Am. J. Physiol.* 248 (3 Pt 2), S. H350-9.
- Nossuli, T. O.; Lakshminarayanan, V.; Baumgarten, G.; Taffet, G. E.; Ballantyne, C. M.; Michael, L. H.; Entman, M. L. (2000): A chronic mouse model of myocardial ischemia-reperfusion: essential in cytokine studies. In: *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 278 (4), S. H1049-55.
- Panza, J. A.; Quyyumi, A. A.; Brush, J. E.; Epstein, S. E. (1990): Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. In: *N. Engl. J. Med.* 323 (1), S. 22–27. Online verfügbar unter doi:10.1056/NEJM199007053230105.
- Pechánová, O. (2007): Contribution of captopril thiol group to the prevention of spontaneous hypertension. In: *Physiol Res* 56 Suppl 2, S. S41-8.
- Pereira, C. M.; Tam, Y. K. (1992): Stability of captopril in tap water. In: *Am J Hosp Pharm* 49 (3), S. 612–615.
- Piper, H. M.; Garcia-Dorado, D.; Ovize, M. (1998): A fresh look at reperfusion injury. In: *Cardiovascular Research* (38), S. 291–300.
- Piper, H. M.; Probst, I.; Schwartz, P.; Hütter, F. J.; Spieckermann, P. G. (1982): Culturing of calcium stable adult cardiac myocytes. In: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 14 (7), S. 397–412.
- Quemener, V.; Blanchard, Y.; Chamaillard, L.; Havouis, R.; Cipolla, B.; Moulinoux, J. P.: Polyamine deprivation: a new tool in cancer treatment. In: *Anticancer Res.* 14 (2A), S. 443–448.
- Rehan, V. K.; Sakurai, R.; Wang, Y.; Santos, J.; Huynh, K.; Torday, J. S. (2007): Reversal of Nicotine-Induced Alveolar Lipofibroblast-to-Myofibroblast Transdifferentiation by Stimulants of Parathyroid Hormone-Related Protein Signaling. In: *Lung* 185: 151-159. Online verfügbar unter doi: 10.1007/s00408-007-9007-0.
- Rickenbacher, P. (2001): Herzinsuffizienz: Epidemiologie, Pathophysiologie. Online verfügbar unter http://www.medicalforum.ch/pdf/pdf_d/2001/2000-01/2001-01-246.pdf, zuletzt aktualisiert am 04.01.2001, zuletzt geprüft am 08.09.2011.

- Schlüter, K. D.; Maxeiner, H.; Wenzel, S. (2009): Mechanisms that regulate homing function of progenitor cells in myocardial infarction. In: *Minerva Cardioangiol* 57 (2), S. 203–217.
- Schlüter, K.-D.; Schreiber, D. (2005): Adult ventricular cardiomyocytes: isolation and culture. In: *Methods Mol. Biol* 290, S. 305–314.
- Searles, C. D. (2006): Transcriptional and posttranscriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase expression. In: *Am. J. Physiol., Cell Physiol.* 291 (5), S. C803-16. Online verfügbar unter doi:10.1152/ajpcell.00457.2005.
- Seiler, N.; Sarhan, S.; Grauffel, C.; Jones, R.; Knödgen, B.; Moulinoux, J. P. (1990): Endogenous and exogenous polyamines in support of tumor growth. In: *Cancer Res.* 50 (16), S. 5077–5083.
- Silbernagl, S.; Despopoulos, A.; Gay, R. (2001): Taschenatlas der Physiologie. 5., komplett überarb. und neu gestaltete Aufl. Stuttgart: Thieme (Flexibles Taschenbuch).
- Silbernagl, S.; Despopoulos, A. (1991): Taschenatlas der Physiologie. 4., überarb., Stuttgart: Thieme (Flexibles Taschenbuch).
- Statistisches Bundesamt: Todesursachen 2008. Online verfügbar unter www.destatis.de.
- Swynghedauw, B. (1999): Molecular mechanisms of myocardial remodeling. In: *Physiol. Rev.* 79 (1), S. 215–262.
- Torday, J. S.; Rehan, V. K. (2007): The evolutionary continuum from lung development to homeostasis and repair. In: *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol* 292 (3), S. L608-11.
- Trappe, H. J. (2003): Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie-Herz- und Kreislaufforschung. In: *Z Kardiol*, S. 689–693.
- van de Werf, F.; Ardissino, D.; Betriu, A.; Cokkinos, D. V.; Falk, E.; Fox, K. A. A. et al. (2003): Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. The Task Force on the Management of Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. In: *Eur. Heart J.* 24 (1), S. 28–66.

Vollmar A.C. (2011): Die dilatative Kardiomyopathie beim Hund. Online verfügbar unter http://www.vetline.de/first_site.htm?id=235509&p=dpt_2002_08_0680.pdf, zuletzt aktualisiert am 04.11.2011, zuletzt geprüft am 04.11.2011.

Weekers, F.; van Herck, E.; Isgaard, J.; van den Berghe, G. (2000): Pretreatment with growth hormone-releasing peptide-2 directly protects against the diastolic dysfunction of myocardial stunning in an isolated, blood-perfused rabbit heart model. In: *Endocrinology* 141 (11), S. 3993–3999.

Wess G.; Killich M. (2004): Hypertrophe Kardiomyopathie Katze. Online verfügbar unter <http://www.tierkardiologie.lmu.de/downloads/HypertropheKardiomyopathieKatze-Besitzerinformationen.pdf>, zuletzt aktualisiert am 20.02.2004, zuletzt geprüft am 07.11.2011.

WHO (2011): Kapitel IX Krankheiten des Kreislaufsystems (I00-I99). Ischämische Herzkrankheiten (I20-I25). Hg. v. WHO. Deutschen Institut für Medizinische Dokumentation und Information. Online verfügbar unter <http://www.dimdi.de/static/de/klassi/diagnosen/icd10/index.htm>.

Wiesmann, F.; Frydrychowicz, A.; Rautenberg, J.; Illinger, R.; Rommel, E.; Haase, A.; Neubauer, S. (2002): Analysis of right ventricular function in healthy mice and a murine model of heart failure by in vivo MRI. In: *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 283 (3), S. H1065-71. Online verfügbar unter doi:10.1152/ajpheart.00802.2001.

Zeihner, A. (2006): Apoptose. Online verfügbar unter <http://www.klinikundforschung.de/sup/weimar/zeihner.htm>, zuletzt aktualisiert am 22.11.2006, zuletzt geprüft am 05.10.2011.



Veröffentlichungen

Poster:

1. **P. Weber**, R. Schreckenberger, K.-D. Schlüter (2010)
“Comparison of left and right ventricular remodelling in a closed-chest in vivo ischemic-reperfusion rat model”
Workshop Cardiac Physiology, Schloss Rauschholzhausen
2. **P. Weber**, R. Schreckenberger, K.-D. Schlüter (2011)
„Remodelling in non-fatal ischemia-reperfusion-dependent myocardial infarction: The forgotten right ventricle”
Deutscher Physiologen Kongress, Regensburg

Vortrag:

- P. Weber**, R. Schreckenberger, S. Wenzel, K.-D. Schlüter (2011)
„Chronische Umbauprozesse bei kleinen linksventrikulären Infarkten der Ratte: Kompensatorische Beteiligung des rechten Ventrikels“
Deutsche Gesellschaft für Kardiologie- Herz und Kreislaufforschung e.V.
77. Jahrestagung, Congress Centrum Mannheim (V118)

Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Gießen, 24. November 2011

Pia Weber

Danksagung

Hiermit möchte ich mich ganz herzlich bei allen bedanken, die zum Gelingen meiner Doktorarbeit beigetragen haben.

Bei Herrn Prof. Schlüter und Herrn Prof. Roth bedanke ich mich für die gute wissenschaftliche Betreuung.

Bei Herrn Dr. Schreckenberg bedanke ich mich für die kompetenten Ratschläge.

Meiner Arbeitsgruppe und allen Kollegen, speziell Frau Nadine Woitasky, Herrn Peter Volk, Frau Svenja Forst, Frau Sandra Scheufen und Herrn Manuel Rebelo, danke ich für die tatkräftige Unterstützung.

Schließlich möchte ich mich noch ganz herzlich bei meiner Familie bedanken, die immer für mich da ist und mich in jeglicher Lebenslage unterstützt.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5837-1



9 1783835 1958371