

An illustration of a hamster on a running wheel. The hamster is depicted in a stylized, flat-art style with orange and cream-colored fur. It is shown in profile, facing right, with its front paws gripping the inner rim of the grey running wheel. The background is a solid blue color. The wheel's spokes are represented by dark grey lines radiating from the center.

**NICHT-INVASIVE UNTERSUCHUNG DER
LEISTUNGSFÄHIGKEIT UND DER KARDIO-
VASKULÄREN FUNKTION IN EINEM IN-VIVO
HERZINSUFFIZIENZMODELL BEIM HAMSTER**

KATJA HÜRLAND

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

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 2006

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 2006

© 2006 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

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

www.doktorverlag.de

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

Betreuer: Prof. Dr. M. Diener

und

der Abteilung für Herz-Kreislauf Forschung der Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

Betreuer: Prof. Dr. W. Linz

**NICHT-INVASIVE UNTERSUCHUNG DER
LEISTUNGSFÄHIGKEIT UND DER KARDIO-
VASKULÄREN FUNKTION IN EINEM *IN-VIVO*
HERZINSUFFIZIENZMODELL BEIM HAMSTER**

INAUGURAL DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades eines

Dr.med.vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

KATJA HÜRLAND

Tierärztin aus Wuppertal

Giessen 2006

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

Dekan: Prof. Dr. M. Reinacher

Gutachter: Prof. Dr. M. Diener
Prof. Dr. W. Linz

Tag der Disputation: 06.07.2006

Meinen Eltern

Gregor und Roswitha Hürland

INHALTSVERZEICHNIS

1	<u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</u>	1
2	<u>EINLEITUNG</u>	5
2.1	ALLGEMEIN	5
2.2	DIE HERZINSUFFIZIENZ	6
2.2.1	Definition und Ätiologie	6
2.2.2	Pathogenese	8
2.2.3	Diagnose.....	13
2.2.4	Klassifikation.....	14
2.2.5	Körperliche Leistungsfähigkeit	15
2.2.6	Therapie	18
2.3	TIERMODELLE IN DER HERZINSUFFIZIENZ.....	20
2.4	TIERE MIT NATÜRLICHEM ANTRIEB ZU FREIWILLIGEM LAUFEN	23
2.5	ZIELSETZUNG DER ARBEIT	24
3	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	25
3.1	VERSUCHSTIERE UND DEREN HALTUNGSBEDINGUNGEN.....	25
3.2	VERWENDETE SUBSTANZEN	25
3.2.1	AT ₁ -Blocker	25
3.2.2	NHE-1-Inhibitor	26
3.2.3	K _{ATP} -Blocker	26
3.2.4	ACE-Hemmer	27
3.2.5	ACE-NEP-Inhibitor	28
3.3	STUDIENDESIGN – TIERMODELL-ENTWICKLUNG	28
3.3.1	Gruppenzusammensetzung.....	28
3.3.2	Allgemeiner Versuchsablauf.....	29
3.3.3	Messung der Laufradaktivität	29
3.3.4	Experimenteller Myokardinfarkt.....	31
3.3.5	Echokardiographie	33

Inhaltsverzeichnis

3.3.5.1	Methodik	33
3.3.5.2	Durchführung und Messparameter	34
3.3.6	Hämodynamikmessung <i>in-vivo</i>	35
3.3.7	Blutprobe, Herzentnahme und Infarktgrößenbestimmung.....	36
3.3.8	Bestimmung des Hydroxyprolin/Prolin Verhältnisses	37
3.4	TIERMODELL-VALIDIERUNG – BEHANDLUNGSSTUDIE.....	38
3.4.1	Behandlungsstudie.....	38
3.4.2	Senkung der akuten Mortalität	39
3.5	STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	40
4	<u>ERGEBNISSE.....</u>	<u>41</u>
4.1	MODELL-ENTWICKLUNG	41
4.1.1	Infarktgröße	41
4.1.2	Körpergewicht und Herzgewicht	42
4.1.3	Ergebnisse der Echokardiographie	43
4.1.3.1	Morphologische Parameter	43
4.1.3.2	Fractional Shortening	44
4.1.4	Ergebnisse der Laufradstudie.....	45
4.1.4.1	Zeitlicher Verlauf der Laufparameter	45
4.1.4.1.1	Gesamtstrecke	45
4.1.4.1.2	Spitzen- und Durchschnittsgeschwindigkeit.....	46
4.1.4.1.3	Längste und weiteste Laufperiode.....	48
4.1.4.1.4	Anzahl der Laufperioden.....	49
4.1.4.1.5	Gesamtlaufzeit.....	50
4.1.4.2	Die Laufradparameter im wöchentlichen Mittel	51
4.1.4.3	Das Aktogramm.....	53
4.1.4.4	Korrelation zwischen Laufleistung und Infarktgröße	55
4.1.5	Ergebnisse der Hämodynamik.....	56
4.1.6	Hydroxyprolin/Prolin-Verhältnis.....	59
4.2	BEHANDLUNGSSTUDIE	59
4.2.1	Infarktgröße	59
4.2.2	Ergebnisse der Laufradstudie.....	60

Inhaltsverzeichnis

5	<u>DISKUSSION.....</u>	<u>63</u>
5.1	LEISTUNGSFÄHIGKEIT IN KLINISCHEN STUDIEN ZUR CHRONISCHEN HERZINSUFFIZIENZ	63
5.2	DIE KORONARLIGATUR ZUR INDUKTION EINER CHRONISCHEN HERZINSUFFIZIENZ IM TIERMODELL.....	64
5.2.1	Allgemeine Bedeutung	64
5.2.2	Der Hamster	65
5.2.2.1	Besonderheiten der Koronararterie.....	65
5.2.2.2	Herzinsuffizienzsymptome.....	66
5.3	DIE LAUFLEISTUNG ALS PARAMETER IM TIERMODELL.....	68
5.4	DIE BEHANDLUNG MIT RAMIPRIL UND AVE 7688.....	69
5.5	ABSCHLIEßENDE BETRACHTUNG DES TIERMODELLS	70
5.6	AUSBLICK.....	71
6	<u>ZUSAMMENFASSUNG.....</u>	<u>72</u>
7	<u>SUMMARY</u>	<u>74</u>
8	<u>LITERATURÜBERSICHT</u>	<u>76</u>
9	<u>DANKSAGUNG</u>	<u>92</u>
10	<u>ERKLÄRUNG</u>	<u>94</u>

1 Abkürzungsverzeichnis

µg	Mikrogramm (10 ⁻⁶ Gramm)
A.	Arteria
Aa.	Arteriae
Abb.	Abbildung
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
ADH	antidiuretisches Hormon
Ang I	Angiotensin I
Ang II	Angiotensin II
ANP	atrial natriuretic peptid
AØ	Außendurchmesser
AT	Angiotensin II-Rezeptor
ATP	Adenosintriphosphat
AV-Block	Atrioventrikulärer Block
BNP	brain natriuretic peptid
°C	Grad Celcius
ca.	circa
Ca ²⁺	Kalziumionen
cm	Zentimeter (10 ⁻² Meter)
CONSENSUS-Study	Cooperative New Scandinavian Enalapril Survival Study
COPERNICUS-Study	Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival Study
d	day / Tag
Def.	Definition
dP/dtmax	maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit
dP/dtmin	maximale Druckabfallsgeschwindigkeit
EKG	Elektrokardiogramm
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
et al.	“et alii”
ET-1	Endothelin-1

Abkürzungsverzeichnis

Fa.	Firma
FS	Fractional Shortening / Verkürzungsfraction
g	Gramm
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	hour / Stunde
HG	Herzgewicht
HOPE	Heart Outcomes Prevention Evaluation
i.p.	intra peritoneal
IL	Interleukin
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
IVSed	interventrikuläres Septum enddiastolisch
IVSsys	interventrikuläres Septum endsystolisch
K ⁺	Kaliumionen
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
km	Kilometer (10 ³ Meter)
l	Liter
li.	links
Lsg.	Lösung
LV	linker Ventrikel
LVDed	linksventrikulärer Diameter enddiastolisch
LVDsys	linksventrikulärer Diameter endsystolisch
LVEDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LVEF	left ventricular ejection fraction / linksventrikuläre Auswurffraction
LVPmax	linksventrikulärer systolischer Druck
m	Meter
Merit-HF-Study	Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in Congestive Heart Failure
MHz	Megahertz

Abkürzungsverzeichnis

MI	Myokardinfarkt
min	Minute
ml	Milliliter (10^{-3} Liter)
Mm.	Muskuli
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
M-Mode	Motion display Modus
MW	Mittelwert
n	Anzahl
Na ⁺	Natriumionen
NaCl	Natriumchlorid
NEP	neutrale Endopeptidase
NHE	Na ⁺ -H ⁺ -exchanger / Na ⁺ -H ⁺ -Austauscher
NO	Stickstoffmonoxid
Nov.	November
NYHA	New York Heart Association
OCTAVE	Omapatrilat Cardiovascular Treatment Assessment Versus Enalapril
o.g.	oben genannt
OP	Operation
p	Signifikanzniveau
pH	potentia Hydrogenii □ negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
prof.	profundus
PWDed	Hinterwand enddiastolisch
PWDsys	Hinterwand endsystolisch
r	Korrelationskoeffizient
re.	rechts
s	Sekunde
S.	Seite
SEM	standard error of the mean / Standardfehler des Mittelwertes
SOLVD	Studies of Left Ventricular Dysfunction

Abkürzungsverzeichnis

supf.	superficialis
Tab.	Tabelle
TNF- α	Tumor necrosis factor alpha
V.	Vena
VO _{2max}	maximale Sauerstoffaufnahme
vs.	versus
WHO	World Health Organization/ Weltgesundheitsorganisation
z.B.	zum Beispiel

2 Einleitung

2.1 Allgemein

Die Gesamtheit der kardiovaskulären Erkrankungen zählt, trotz des medizinischen Fortschritts in der Grundlagenforschung sowie bei Diagnostik und Therapie, zu den erstrangigen Problemen im Gesundheitswesen der westlichen Industrienationen. Die Gründe für den weiteren Anstieg in Prävalenz und Inzidenz liegen auf der einen Seite in der demographischen Entwicklung, dem größer werdenden Anteil der älteren Bevölkerung und der Zunahme der klassischen geriatrischen Krankheitsbilder (Levy et al. 2002). Auf der anderen Seite nehmen die verschiedenen Faktoren weiter zu, die zum Teil für das kardiovaskuläre Risiko verantwortlich sind. Zu den primären Risikofaktoren zählen dabei: Fettstoffwechselstörungen, Hypertonie und Nikotinkonsum. Die sogenannten sekundären Faktoren, wie einseitige Ernährung, Übergewicht, Bewegungsmangel und diabetische Vorerkrankungen, aber auch psychosoziale Faktoren wie Stress steigern in Kombination das kardiovaskuläre Risiko (Salim et al. 2004).

Mittlerweile wird bei nahezu jedem zweiten Deutschen der Tod durch eine Erkrankung des Herz-Kreislaufsystems ausgelöst. Im Jahre 2004 waren das insgesamt 194.083 Verstorbene. Die chronisch ischämischen Herzkrankheiten stellen dabei mit 10% an allen Todesursachen die häufigste Todesursache dar (Statistisches Bundesamt Nov. 2005).

Durch verbesserte medizinische Versorgung in der akuten Therapie kommt es indes zu einer Reduktion der akuten Mortalität und zu einem längeren Überleben von Patienten, die dann eine chronische Herzinsuffizienz entwickeln mit dem Bedarf einer lebenslangen therapeutischen Betreuung. Mehr als ein Prozent der Bevölkerung westlicher Länder leidet an einer chronischen Herzinsuffizienz. Etwa die Hälfte der Patienten verstirbt innerhalb von vier Jahren nach Diagnosestellung (Roger et al. 2004).

Die Behandlung verursacht dabei hohe Kosten: Der Anteil der Herz-Kreislauf-Medikamente beträgt rund ein Viertel der gesamten Arzneimittelausgaben der gesetzlichen Krankenkassen in Deutschland. Hinzu kommen die Ausgaben für stationäre Aufenthalte und Rehabilitationsmaßnahmen. Jährlich werden etwa 250.000 Patienten wegen Herz-Kreislaufkrankungen stationär aufgenommen.

2.2 Die Herzinsuffizienz

2.2.1 Definition und Ätiologie

Pathophysiologisch wird die Herzinsuffizienz als ein Zustand beschrieben, in dem das Herz nicht mehr in der Lage ist, trotz ausreichenden Blutangebotes die Organe mit genügend Blut und damit Sauerstoff zu versorgen, um den Gewebestoffwechsel in Ruhe und unter Belastung sicherzustellen (Def. WHO).

Klinisch liegt dann eine Herzinsuffizienz vor, wenn typische Symptome der nachlassenden Pumpleistung auftreten. Dazu gehören Symptome des Vorwärtsversagens, wie Dyspnoe, eingeschränkte körperliche Belastbarkeit und Müdigkeit und auch Symptome, die durch das Rückwärtsversagen auftreten, wie Flüssigkeitsretention in Form von Beinödemen oder Lungenödemen (WHO 1995).

Die Herzinsuffizienz kann als akute, akut dekompensierte chronische, oder chronische Insuffizienz auftreten.

Die akute Herzinsuffizienz ist ein medizinischer Notfall, sie äußert sich durch plötzlich eingeschränkte Kontraktion des linken Ventrikels. Damit kommt es zu einer Verringerung der kardialen Auswurffraktion, einer verminderten Gewebedurchblutung und einer Stauung im Gewebe. Die klinischen Symptome sind Schwäche, Irritation, Blässe, Dyspnoe, schwacher Puls und niedriger Blutdruck bis hin zum kardiogenen Schock. Die häufigsten Ursachen sind Myokardischämie (Infarkt), unkontrollierte arterielle Hypertonie, Myokarditis und Ruptur des Klappenapparates. Aber auch Arrhythmien, Lungenembolien, pulmonale Hypertension oder Perikardtamponaden können eine akute

Herzinsuffizienz auslösen. Das primäre Therapieziel ist dabei die rasche hämodynamische Stabilisierung und die Verringerung der klinischen Symptome (Pözl & Pall 2003; Task Force on Acute Heart Failure 2005).

Die chronische Herzinsuffizienz entwickelt sich als ein komplexes Syndrom eines dynamischen, kardiovaskulären Prozesses über Monate und Jahre, dem zahlreiche Ursachen zugrunde liegen können. Nach einer primären myokardialen Dysfunktion des Ventrikels, in den meisten Fällen ausgelöst durch eine koronare Herzerkrankung, arterielle Hypertonie oder Kardiomyopathie, spielen im weiteren Verlaufe der Erkrankung auch nichtkardiale Mechanismen wie neurohormonale Stimulation und endotheliale Dysfunktion in den peripheren Gefäßen eine Rolle. Die chronische Herzinsuffizienz äußert sich in den verschiedenen unspezifischen Symptomen des Vorwärts- und Rückwärtsversagens (The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology 2005).

Man unterscheidet eine systolische von einer diastolischen Dysfunktion. Die systolische Herzinsuffizienz wird in der Regel definiert durch eine linksventrikuläre Auswurffraktion (LVEF) $\leq 40\%$. Weitere Kennzeichen sind erhöhte enddiastolische und endsystolische Volumina des Ventrikels (Waggoner 2000). Die diastolische Herzinsuffizienz wird deutlich seltener diagnostiziert, erfahrungsgemäß zuerst wenn Symptome einer Herzinsuffizienz auftreten, während die linksventrikuläre Ejektionsfraktion normal ist. Zur diastolischen Insuffizienz kommt es durch Abnormalitäten in der diastolischen Relaxation des Ventrikels mit veränderten Flussparametern in der Füllungsphase und einer verringerten Compliance des linken Ventrikels (Waggoner 2000). Trotz der selteneren Diagnose zeigen neue echokardiographische Studien, dass ungefähr die Hälfte der Herzinsuffizienzpatienten unter diastolischer Dysfunktion leidet. Dabei gibt es zugleich Überschneidungen; etwa 35% der Patienten mit systolischer Dysfunktion entwickeln auch eine diastolische Dysfunktion. Es betrifft häufiger weibliche als männliche Patienten, zudem sind eher Patienten mit arterieller Hypertonie als mit koronaren Herzkrankheiten betroffen. Die klinischen Symptome der reinen diastolischen Herzinsuffizienz sind größtenteils

nicht so stark ausgeprägt, und die Mortalität ist deutlich geringer (Vasan et al. 1999; McMurray et al. 2004).

Die häufig benutzte Unterscheidung in Rechts- und Linksherzinsuffizienz und die Kombination aus beiden, die Globalherzinsuffizienz, ist rein deskriptiv und sagt nichts über die Ätiologie aus. Damit soll beschrieben werden, ob die kardial bedingte Stauung eher den Lungenkreislauf oder den Körperkreislauf betrifft (The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology 2005).

2.2.2 Pathogenese

In den meisten Fällen entwickelt sich die Herzinsuffizienz nach einer initialen myokardialen Schädigung, wodurch es zu einer Einschränkung der Pumpfunktion kommt. Eine Vielzahl von neurohormonalen Kompensationsmechanismen führt zu strukturellen und funktionellen Veränderungen am Herzen und in der Peripherie, zunächst mit dem Ziel das bedarfsgerechte Schlagvolumen aufrecht zu erhalten.

Laut der Framingham-Studie ist das primär schädigende Ereignis in den meisten Fällen eine koronare Herzerkrankung oder die Schädigung des Ventrikels durch eine langjährige arterielle Hypertonie (Ho et al. 1993).

Beim sogenannten Remodelling kommt es danach zu außerordentlich komplexen Anpassungsvorgängen auf zellulärer Ebene im Myokard. Zunächst entwickelt sich, durch mechanische Dehnung des Myokardgewebes, ein Rückgang der Myofilamente und eine adaptive Myozytenhypertrophie mit Zunahme der Myokardmasse. Im weiteren Verlauf, in der Phase der Dekompensation, kommt es zu einer Unterversorgung des hypertrophierten Myokards bedingt dadurch, dass keine ausreichende Angiogenese stattfindet. Apoptose (programmierter Zelltod), Disorganisation des Cytoskeletts, vermehrte Kollagensynthese und Störungen in der Ca^{2+} -Homöostase tragen unmittelbar zur Progression der Herzinsuffizienz bei. Es entwickelt sich eine ventrikuläre Dilatation mit Fibrosierung des Gewebes (Cohn et al. 2000; Francis 2001).

Einleitung

Weiterhin kommt es durch die Minderperfusion lebenswichtiger Organe zu neurohormonalen Anpassungsvorgängen. Diese betreffen das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, das sympathisch-adrenerge System, sowie verschiedene Zytokine und vasoaktive Substanzen (Anand et al. 2003). Diese Mechanismen kompensieren zunächst die Insuffizienz, tragen jedoch langfristig zur Verschlechterung des Krankheitsbildes bei (Francis et al. 1984) (Abb.2-1).

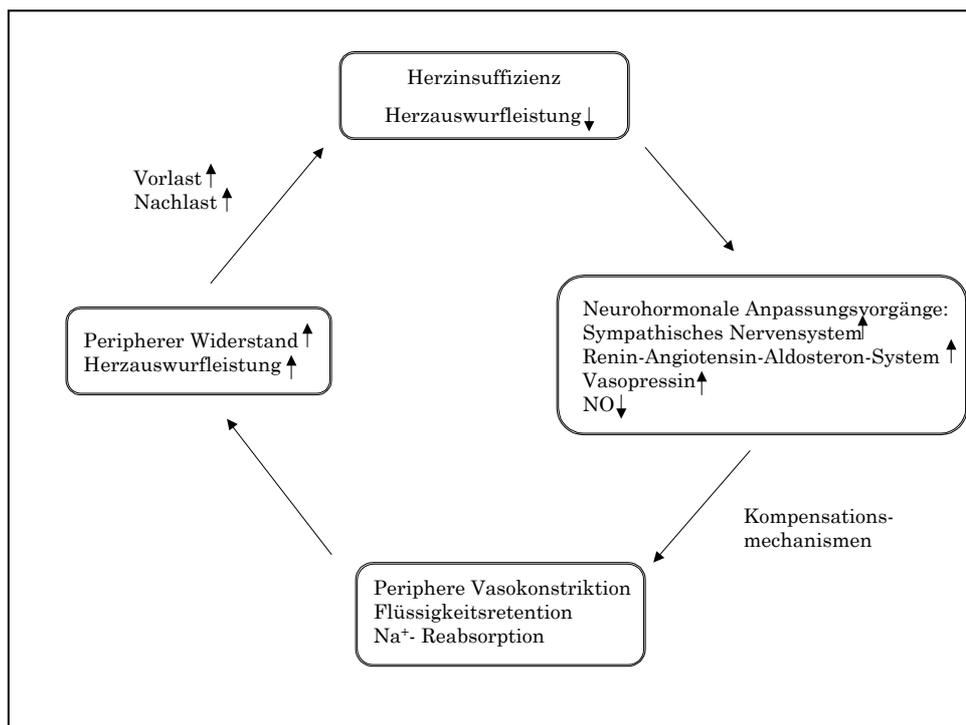


Abb. 2-1: Circulus vitiosus bei chronischer Herzinsuffizienz

Sympathisch-adrenerges System

Über Barorezeptoren im linken Ventrikel, im Carotissinus, im Aortenbogen und in Arteriolen der Niere werden Druck- und Volumenverminderungen registriert, und es kommt zu sofortiger Aktivierung des sympathischen Nervensystems. In wachsendem Maße zirkulierende Katecholamine führen mit ihrer positiv inotrop und chronotropen Wirkung zu einer erhöhten kardialen Kontraktilität und Tachykardie. In der Niere wird die Natrium-Reabsorption gesteigert und das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System aktiviert. An den peripheren Gefäßen bewirken die Katecholamine eine Vasokonstriktion (Schrier et al. 1998). Nach

einer anfänglichen Kompensation der verminderten kardialen Förderleistung führen die Effekte der andauernden sympathischen Aktivierung über eine Verkürzung der diastolischen Füllungsphase zu einer zusätzlichen Minderversorgung des Myokards (Abraham 2000).

Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System wird zum einen über sympathisch stimulierte β -Rezeptoren im Juxtaglomerulären Apparat der Niere als auch direkt über Barorezeptoren in den Nierengefäßen aktiviert. Eine Erhöhung der Plasma-Renin-Aktivität ist dabei einer der prognostischen Faktoren für die Schwere der Herzinsuffizienz, da man bei milder Herzinsuffizienz fast keinen Anstieg von Renin oder Angiotensin messen kann (Schrier et al. 1998; Böhm 2002). Durch Renin wird vermehrt Angiotensin I gebildet, das durch das Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) in das aktive Angiotensin II überführt wird. Angiotensin II hat auf periphere Gefäße und Niere ähnliche Effekte wie die Katecholamine. Es wirkt als potenter Vasokonstriktor und fördert am Herzen und an den Gefäßen strukturelle Umbauprozesse wie Hypertrophie und Fibrose. Über die Freisetzung von Aldosteron bewirkt es eine verstärkte Natrium- und Wasserretention in der Niere und damit eine Erhöhung des Blutvolumens und insgesamt eine Erhöhung der Vor- und Nachlast (Dzau 1987; Unger 2000). Neben der systemischen Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems kommt es auch zur lokalen Synthese von Angiotensin II mit autokrinen und parakrinen Wirkungen in verschiedenen Organen, wie z.B. dem Herzen.

Endothelin-1 und Vasopressin

Zwei weitere Hormone werden ausgeschüttet, die als Vasokonstriktoren wirken und damit die Nachlast des Herzens weiter erhöhen. Zum einen das Endothelin-1, neben dem Angiotensin II der potenteste Vasokonstriktor, das im Endothel gebildet wird und autokrin wirkt (Yanagisawa et al. 1988). Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz weisen abhängig vom Schweregrad der Erkrankung deutlich erhöhte Endothelin-Plasmaspiegel auf, einhergehend mit erhöhter Mortalität und Morbidität (McMurray et al. 1992; Pacher et al. 1996). Neben vasokonstriktorischen Eigenschaften hat ET-1 auch Einfluss auf die

Kollagensynthese. Es stimuliert die Zellproliferation, Fibrose und myokardiale Hypertrophie (Remuzzi & Benigni 1993).

Des Weiteren wird Vasopressin (antidiuretisches Hormon, ADH) bei Herzinsuffizienz ausgeschüttet, vermittelt über Chemorezeptoren und Angiotensin II. Es wirkt über zwei verschiedene Rezeptortypen an den Gefäßen und der Niere. Neben den vasokonstriktorisches Eigenschaften, vermittelt über V1-Rezeptoren, induziert Vasopressin auch eine weitere Flüssigkeitsretention durch V2-Rezeptoren im distalen Nephron (Schrier et al. 1998; Francis et al. 1990). Während Vasopressin im gesunden Organismus für die Osmoregulation wichtig ist, trägt es bei Herzinsuffizienzpatienten zur weiteren Progression der Erkrankung bei (Mohr & Richter 1994).

Natriuretische Peptide

Unter physiologischen Bedingungen werden diese o.g. vasokonstriktorisches und flüssigkeitsretinierenden Faktoren durch antagonistische Systeme in einem komplexen und empfindlichen Gleichgewicht gehalten. Zu denen zählt unter anderem die Gruppe der natriuretischen Peptide mit den Vertretern ANP (atriales natriuretisches Peptid) und BNP (brain natriuretisches Peptid). Das ANP wird bei Vorhofdehnung primär aus den Vorhöfen und das BNP bei vermehrter Wandspannung durch Füllungsdruck aus dem Ventrikelmyokard sezerniert. Beide Peptide bewirken als kompensatorische Mechanismen eine Vasorelaxation an den Gefäßen und eine vermehrte Diurese mit Natriumsekretion in der Niere. In der Herzinsuffizienz werden sie vermehrt ausgeschüttet, man beobachtet einen Anstieg der Serumkonzentration vor allen Dingen an BNP, und über die vasorelaxierenden sowie natriuretischen Effekte werden Vor- und Nachlast gesenkt (Mair et al. 2001; Langenickel et al. 2000).

Stickstoffmonoxid

Ein weiteres potentes Vasorelaxans ist das Stickstoffmonoxid (NO), das im vaskulären Endothel unter physiologischen Bedingungen von der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) aus der Aminosäure L-Arginin gebildet wird und parakrin wirkt. Neben den vasorelaxierenden Eigenschaften hemmt NO die

Plättchenadhäsion und –aggregation und die Proliferation glatter Muskelzellen (Andrew & Meyer 1999).

In der chronischen Herzinsuffizienz sind die Verhältnisse allerdings verändert. In den Kardiomyozyten wird durch proinflammatorische Zytokine die induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS) exprimiert. Bei der Bildung von NO durch iNOS entstehen toxische Metaboliten, die die Kardiomyozyten schädigen (Fuchs & Drexler 2000). Insgesamt kommt es jedoch zu einer geringeren Verfügbarkeit von NO, da die Bildung von NO durch die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase stark reduziert wird. Zirkulierende Zytokine bewirken eine vermehrte Apoptose von Endothelzellen, die Bildung freier Radikale und eine Verminderung von endothelalem NO. Das führt zusammen zur endothelialen Dysfunktion (Rossig et al. 2000; Hornig et al. 1998). Damit ist dieser wichtige Kompensationsmechanismus, die endothelvermittelte Vasodilatation der peripheren Gefäße, beeinträchtigt (Katz et al. 1992). Diese Gefäßveränderungen haben auch Einfluss auf die Mikrozirkulation in der Skelettmuskulatur, und gehören damit zu den peripheren Faktoren für eine eingeschränkte körperliche Leistungsfähigkeit bei Herzinsuffizienz (Cohen-Solal et al. 2004). Gerade diese Endothelfunktion in den Gefäßen kann durch körperliches Training verbessert werden, indem durch regelmäßige Erhöhung des Blutflusses die Expression von eNOS erhöht wird, und durch die vermehrte Bildung von Antioxidantien freie Radikale abgefangen werden, die sonst NO oxidieren können (Ennezat et al. 2001).

Zytokine

Wie im vorhergehenden Abschnitt beschrieben, spielen Zytokine bei der Progression der Herzinsuffizienz eine wichtige Rolle. Man beobachtet einen erhöhten Plasmaspiegel von Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) und den verschiedenen Interleukinen (IL-1, IL-6), deren Expression über TNF- α gesteuert wird. Während im gesunden Herzen gar kein TNF- α exprimiert wird, produziert das insuffiziente Herz bemerkenswerte Mengen. Die Zytokine wirken negativ inotrop über eine Entkopplung der β -Adrenorezeptoren von der intrazellulären Signalkaskade und sie verursachen eine Apoptose der Myozyten und

Endothelzellen sowie eine vermehrte Fibrose des Myokards (Staudt et al. 2002; Feldmann et al. 2000).

2.2.3 Diagnose

Die wichtigsten Leitsymptome einer Herzinsuffizienz sind Leistungsminderung, Belastungsdyspnoe, paroxysmal nächtliche Dyspnoe und periphere Ödeme (The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology 2005). Diese typische Symptomatik des Patienten ist das erste Warnsignal für eine Herzinsuffizienz. Wegen fehlender oder nur geringer Beschwerden und Symptome oder falscher Interpretation, vor allen Dingen bei älteren oder adipösen Personen, besteht dabei die Gefahr, dass eine leichte oder beginnende Herzinsuffizienz unerkannt bleibt, obwohl auch eine milde Herzinsuffizienz der konsequenten Therapie bedarf.

Zu den immer noch aktuellen Framingham Kriterien für eine klinische Diagnose einer Herzinsuffizienz gehören weiterhin: Halsvenenstauung, pulmonale Rasselgeräusche, akutes Lungenödem, Kardiomegalie, 3. Herzton, Tachykardie und nächtlicher Husten (Mc Kee et al. 1971; Hoppe et al. 2005). Für die Sicherung der Diagnose muss die Herzinsuffizienz neben den charakteristischen Symptomen durch verschiedene objektive Untersuchungen bestätigt und der Schweregrad bestimmt werden.

Die transthorakale Echokardiographie ist dabei die wichtigste nicht-invasive Methode, bei der über verschiedene Parameter sowohl die systolische als auch die diastolische Dysfunktion beurteilt werden können. Mit Hilfe von Ultraschallwellen werden Herzmuskelfunktion und Herzklappenmorphologie dargestellt. Das erlaubt sowohl eine quantitative als auch qualitative Aussage über Kammerdimensionen und Wanddicken, systolische und diastolische Ventrikelfunktion und regionale Motilität des Herzens. Die prognostisch bedeutsame linksventrikuläre Auswurffraktion kann anhand der enddiastolischen und endsystolischen Kammervolumina berechnet werden. Mit der ergänzenden Dopplerechokardiographie kann der Blutfluss anhand valvulärer Gradienten beurteilt werden (Rickenbacher 2001).

Zur weiteren Routinediagnostik zählen das EKG, zur Untersuchung der zugrunde liegenden Ursache (z.B. Myokardinfarkt) der Herzinsuffizienz, und Thorax-Röntgen-Aufnahmen, zum Nachweis von Pleuraergüssen oder pulmonalen Stauungen. Laboruntersuchungen dienen vor allen Dingen zur Untersuchung von Begleiterkrankungen. Wichtigste Parameter sind dabei die Nierenwerte zur Beurteilung der Nierenfunktion (Hoppe et al. 2005). Die Plasmabestimmung von BNP oder proBNP zur Diagnosestellung Herzinsuffizienz wird in den letzten Jahren immer häufiger hinzugezogen. Da erhöhte BNP Spiegel beim Patienten in der Klinik verschiedene Ursachen haben können (arterielle Hypertonie, Niereninsuffizienz) und die Werte teilweise sehr schwanken, hat die Untersuchung allerdings hauptsächlich ausschließenden Charakter. Niedrige BNP-Konzentrationen machen eine Herzinsuffizienz unwahrscheinlich. Zusätzlich lässt die Verlaufsuntersuchung von BNP Spiegeln Rückschlüsse auf den Erfolg einer medikamentösen Therapie zu (Packer 2003). Als weiterführende Diagnostik steht zum einen noch die invasive Herzkatheteruntersuchung zur Verfügung, um die zugrunde liegende Ätiologie abzuklären. Zum anderen werden körperliche Belastungstests durchgeführt, um die Leistungsfähigkeit zu beurteilen, ein Ansprechen auf die Behandlung festzustellen und eine eventuelle Risikoabschätzung zu ermöglichen (Hoppe et al. 2005).

2.2.4 Klassifikation

Unverzichtbar für die Wahl der Therapieform ist es, den Schweregrad einzuschätzen. Der Schweregrad der Herzinsuffizienz wird nach der Empfehlung der New York Heart Association seit 1964 anhand klinischer Kriterien in vier Klassen eingeteilt (New York Heart Association Classification, NYHA I-IV):

- I. Keine Beschwerden. Nur bei außergewöhnlichen körperlichen Anstrengungen kann es zu Beschwerden wie vermehrter Luftnot kommen.
- II. Keine Beschwerden bei normalen täglichen körperlichen Belastungen. Bei höheren Belastungen kommt es zu leichten (IIa) bis mittleren (IIb) Beschwerden. Die Leistungsfähigkeit ist eingeschränkt.

III. Schon bei alltäglichen durchschnittlichen Belastungen kommt es zu Beschwerden. Nur in Ruhe keine Beschwerden. Die Leistungsfähigkeit ist deutlich eingeschränkt.

IV. Bereits in Ruhe kommt es zu Beschwerden, die bei körperlichen Belastungen deutlich zunehmen. Es besteht eine schwere Einschränkung der Leistungsfähigkeit.

Trotz des Vorhandenseins von neueren diagnostischen Möglichkeiten und obwohl die NYHA-Klassifikation nach dem subjektiven Empfinden der Patienten eingeteilt wird, ist die einfache semiquantitative Selbsteinschätzung des Patienten doch entscheidend für die Art der Behandlung und ist vor allem eins der wichtigsten Kriterien für die Prognosestellung (Jones et al. 2004).

2.2.5 Körperliche Leistungsfähigkeit

Für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit von Herzinsuffizienzpatienten gibt es weiterhin zwei standardisierte Belastungstests, die nicht zur Diagnosestellung herangezogen werden, die aber über das Ansprechen der Therapie Auskunft geben und eine Abschätzung des Risikos möglich machen.

Zum einen wird die Spiroergometrie angewandt, bei der die Atemgase unter ansteigender Belastung auf einem Ergometer gemessen werden. Der Parameter der maximalen Sauerstoffaufnahme (VO_{2max}) unter Belastung ist dabei aussagekräftiger und reproduzierbarer als die maximale gemessene Belastungsintensität (Working group on cardiac rehabilitation & exercise physiology 2001). VO_{2max} ist ein Index für die aerobe Leistungsfähigkeit und für die kardiorespiratorische Funktion. Eine maximale Sauerstoffaufnahme geringer als 10 ml/kg/min. ist nach der Weber-Klassifizierung ein Hinweis für eine schwere Herzinsuffizienz. Ab einer VO_{2max} 16-20 ml/kg/min. kann man von einer Herzinsuffizienz mit leichterem bis moderatem Schweregrad sprechen (Wonisch et al. 2003; Weber et al. 1987). Zur Abschätzung des Risikos geht man davon aus, dass ein $VO_{2max} < 14$ ml/kg/min. mit einer erhöhten Mortalität einhergeht (Mancini et al. 1991).

Bei schwer herzinsuffizienten Patienten wird der 6-min.-Gehtest nach Guyatt angewandt (Guyatt et al. 1984). Dieser Test ist sehr einfach in der Durchführung. Dabei werden Patienten aufgefordert in 6 min. soviel Strecke wie möglich zurückzulegen. Durch verbale Anspornung wird eine Leistungssteigerung um ca. 10 % beobachtet (Hien & Morr 2002).

Mehrere Faktoren spielen bei den Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit eine Rolle, die eine Einschränkung der Belastbarkeit zur Folge haben. Die Leistungsfähigkeit ist dabei nicht nur von der Herzleistung abhängig, sondern man kann kardiale von peripheren Faktoren unterscheiden (Cohen-Solal et al. 2004).

Kardiale Faktoren

Das insuffiziente Herz verliert die Fähigkeit, die **Herzfrequenz** einer vermehrten körperlichen Belastung anzupassen. Zu diesem Effekt kommt es durch eine gestörte autonome Funktion des Herzens und eine Desensibilisierung von β -adrenergen Rezeptoren. Von einer sogenannten chronotropen Inkompetenz spricht man, wenn sich die Ruheherzfrequenz nur noch maximal um 40 % steigern lässt, oder eine Frequenz von 120 /min. bei Belastung nicht mehr überschritten wird (Sandvik et al. 1995; Colucci et al. 1989).

Auch der Anstieg des pro Systole ausgeworfenen Blutvolumens, die sogenannte **Ejektionsfraktion**, ist unter Belastung vermindert. Während im gesunden Herzen die durch Belastung herbeigeführte Erhöhung der linksventrikulären Nachlast durch verbesserte Kontraktilität ausgeglichen wird und die Ejektionsfraktion leistungsangepasst ansteigt, ist die kontraktile Reserve im Herz mit systolischer Insuffizienz vermindert. Dadurch steigt das endsystolische Volumen, und die Ejektionsfraktion sinkt meistens ab (Cohen-Solal et al. 2004).

Die kardiale Dysfunktion bei Herzinsuffizienz äußert sich schon in Ruhe in einem verminderten **Herzzeitvolumen**. Vor allem ist das Herz aber nicht mehr imstande, das Herzzeitvolumen an körperliche Belastung anzupassen und entsprechend zu erhöhen. Während unter physiologischen Bedingungen das Herz in der Lage ist, die ausgeworfene Blutmenge von 5-7 l/min. in Ruhe um 300 % zu

erhöhen, ist diese Reserve im insuffizienten Herzen nicht mehr möglich (Sullivan & Cobb 1992).

Periphere Faktoren

Die peripheren Faktoren haben sehr wichtige und nicht zu unterschätzende Einflüsse auf die körperliche Fitness. Diese Faktoren werden sowohl durch die kardiale und endotheliale Dysfunktion als auch durch die Einflüsse des aktivierten neurohormonalen Systems verändert.

Bei Belastung ist zunächst einmal die **Vasodilatation** in der beanspruchten Skelettmuskulatur gestört. Die Ursache dafür scheint eher die eingeschränkte NO-vermittelte endothelabhängige Relaxation zu sein als das aktivierte neurohormonale System (Drexler et al. 1992). Dadurch wird die Durchblutung der Muskulatur nicht schnell genug an die Belastung angepasst. Die Sauerstoffbereitstellung und -aufnahme in die Muskelzellen wird beeinträchtigt. In den **Skelettmuskelzellen** wird daraufhin bei fortschreitendem Verlauf der Herzinsuffizienz, welches etwa einer Schwere der Insuffizienz der NYHA-Klassifikation III entspricht, eine Veränderung der Muskelfaserverteilung hin zu einem sauerstoffunabhängigen Metabolismus beobachtet. Es werden vermehrt rasch erschöpfbare glycolytische TypIIB-Fasern gebildet, auf Kosten der oxidativen Typ-I-Muskelfasern. Damit kommt es zunehmend zum anaeroben Metabolismus in den Myozyten mit starkem Abfall des intrazellulären pH-Wertes. Die Mitochondrienzahl und die Konzentration an oxidativen Enzymen nehmen ab und die Sauerstoffverwertung ist eingeschränkt (Vescovo et al. 1998). Durch die toxische Aktivität von Zytokinen kommt es zusätzlich in wachsendem Maße zu einer **Skelettmuskelatrophie** (Sharma et al. 2001). Infolgedessen ist die maximal erreichbare Kraft reduziert.

Ähnliche Veränderungen wie in der Skelettmuskulatur werden auch in der **Atemmuskulatur** beobachtet. Dadurch ist das Atemzugvolumen der Patienten eingeschränkt und kann nicht auf erhöhte Leistungsanforderung reagieren. Reflektorisch erhöht sich die Atemfrequenz und es kommt bei körperlicher Belastung zur übersteigerten Frequenz (Witte et al. 2003).

2.2.6 Therapie

Bei der Herzinsuffizienz ist es zunächst wichtig die Ursache abzuklären, damit die Grunderkrankung wenn möglich kausal behandelt werden kann.

Bei einer zugrundeliegenden arteriellen Hypertonie ist deshalb eine antihypertensive Therapie sehr wichtig. Nach einem Myokardinfarkt ist eine Revaskularisation, z.B. durch Lyse, PTCA oder Bypassoperation, von entscheidender Bedeutung, so wie bei einem vorliegenden Diabetes mellitus die Blutzuckereinstellung überprüft und optimiert werden muss (Schmid et al. 2004).

Das Ziel der Herzinsuffizienztherapie ist in erster Linie die Senkung der akuten Mortalität. Der Patient mit einer chronischen Herzinsuffizienz bedarf darüber hinaus einer lebenslangen Therapie, die die Symptome lindert und die Lebensqualität steigert. Weitere Ziele der Therapie sind die hämodynamischen Parameter zu verbessern und die Progression der kardialen Funktionsstörung zu verhindern oder zu verlangsamen.

Eine medikamentöse Therapie muss soweit möglich von allgemeinen Maßnahmen unterstützt werden. Ein wichtiger Punkt ist die Ernährung. Eventuelles Übergewicht sollte reduziert werden, bei der Nahrung muss auf Salzreduktion geachtet werden und die Flüssigkeitszufuhr auf 2 l reduziert werden. Ergänzend ist es erwünscht, dass der Patient mit regelmäßiger Gewichtskontrolle sensibel für plötzliche Flüssigkeitsretentionen wird. Alkohol darf nur in Maßen genossen werden. Bis zum NYHA-Stadium III sollte ein ganz moderates Ausdauertraining je nach Leistungsfähigkeit absolviert werden (Belardinelli et al. 1999), während Patienten im NYHA-Stadium IV zu Bettruhe geraten wird.

Die medikamentöse Therapie richtet sich nach den Symptomen und der NYHA-Klassifikation der Patienten. Zur Standard-Therapie gehören ACE-Hemmer, β -Blocker und Diuretika.

ACE-Hemmer wurden in den achtziger Jahren ursprünglich gegen Bluthochdruck entwickelt. Sie inhibieren das Angiotensin-Converting-Enzyme und damit die Umwandlung von Angiotensin I zu Angiotensin II, einem potenten

Vasokonstriktor. Daneben hemmen sie auch den Abbau des Vasodilatators Bradykinin (Linz et al 1995). Somit ergibt sich neben der Blutdrucksenkung auch die wichtige Senkung der Vor- und Nachlast des Herzens durch Vasodilatation.

In vielen randomisierten klinischen Studien wurde die Wirksamkeit der ACE-Hemmer untersucht und bestätigt. In allen Stadien der Herzinsuffizienz gibt es eine signifikante Reduktion der Mortalität gegenüber Placebo-behandelten Patienten. Während zunächst der Überlebensbenefit mit dem ACE-Hemmer Enalapril bei den NYHA Klassen II-IV bestätigt wurde (CONSENSUS Study Group 1987; SOLVD-Treatment 1991), ist selbst für asymptotische Patienten mit eingeschränkter linksventrikulärer Funktion eine Reduktion der Mortalität unter Behandlung mit Enalapril bewiesen worden (SOLVD-Prevention 1991). In der Hope Studie wurde schließlich gezeigt, dass der ACE-Hemmer Ramipril signifikant die Morbidität und Mortalität von Herzinsuffizienzpatienten reduziert und vor allen Dingen auch als Vorbeugung die Gefahr von tödlichen Herzinfarkten und Schlaganfällen bei Patienten mit hohem kardiovaskulären Risiko reduziert (The HOPE Study Investigators 2000).

β -Blocker hemmen kompetitiv die β -Adrenorezeptoren. Man unterscheidet β_1 -selektive Blocker von nichtselektiven β -Blockern, bei denen zu der negativ inotropen und chronotropen Wirkung der β_1 -Blockade am Herzen noch ein vasodilatierender Effekt durch β_2 -Blockade an den glatten Muskelzellen der Gefäße kommt. Sowohl für Medikamente aus der Gruppe der nichtselektiven β -Blocker, dem Carvedilol (COPERNICUS 2001), als auch für Metoprolol und Bisoprolol als β_1 -selektive Blocker (MERIT-HF 1999), ist in großen klinischen Studien die Linderung der Symptome und die Reduktion der Mortalität bei systolischer Herzinsuffizienz nachgewiesen worden. Eine Therapie mit β -Blockern ist allerdings nur bei einer stabilen Herzinsuffizienz zusätzlich zur ACE-Hemmer Basismedikation angezeigt, wenn kein AV-Block oder eine symptomatische Hypertonie vorliegen (Hoppe et al. 2005).

Eine Therapie mit Diuretika ist bei jeder Herzinsuffizienz mit Flüssigkeitsretention angezeigt, allerdings nur in Kombination mit ACE-Hemmern. Diuretika senken die Flüssigkeits- und Kochsalzretention und damit

die Vor- und Nachlast des Herzens und führen somit zu einer Verbesserung der Symptomatik (Channer-Studie 1994).

Auch AT₁-Rezeptorblocker und Aldosteron-Antagonisten finden vermehrt therapeutischen Einsatz. Es wird empfohlen Aldosteron-Antagonisten bei schwerer Herzinsuffizienz additiv zu einer Basistherapie zu geben, während AT₁-Rezeptorblocker in der Regel nur alternativ bei Unverträglichkeit von ACE-Hemmern gegeben werden (Hoppe et al. 2005).

2.3 Tiermodelle in der Herzinsuffizienz

Für die Untersuchungen neuer Substanzen, die nach umfangreichen molekularbiologischen Analysen in Frage kommen in der Behandlung der Herzinsuffizienz eingesetzt zu werden, bedarf es aussagekräftiger präklinischer Tiermodelle. Diese sollen in *in-vivo* Versuchen die klinische Situation des Patienten so genau wie möglich widerspiegeln. Sie müssen auch unter chronischen Bedingungen messbare und reproduzierbare Ergebnisse liefern und ökonomisch und ethisch vertretbar sein.

Es gibt verschiedene Verfahren experimentell eine chronische Herzinsuffizienz zu erzeugen, jedoch existiert kein ideales Modell, welches die multikausale Ätiologie und die Vielzahl der klinischen Symptome der Erkrankung nachstellen kann.

Das bedeutendste Modell ist sicherlich die **ischämisch bedingte Herzinsuffizienz**. Nach dem häufig angewandten Verfahren von Pfeffer wird die linke Koronararterie ligiert, was zu einer Ischämie des linksventrikulären Myokards führt (Pfeffer et al. 1979). Eine Verschärfung der Situation kann durch die Anwendung dieses Modells an spontan hypertensiven Ratten erreicht werden (Itter et al. 2004).

Als weiteres Verfahren wird durch **chronische Hypertension** eine Herzinsuffizienz erzeugt. Eine Methode ist das Aortic Banding, bei dem durch

Einengung der Aorta zwischen den beiden Nierenarterien nach 2-3 Tagen eine Renin-abhängige Hypertension auftritt. Bei der Transverse Aortic Constriction wird die Aorta zwischen den Abgängen der rechten und linken Aa. carotis im Aortenbogen ligiert, dadurch entsteht eine Renin-unabhängige Hypertension (Rockman et al. 1991). Des Weiteren kann durch Injektion von Doxorubicin oder Alkohol eine **toxische Herzinsuffizienz** ausgelöst werden (Li et al. 2006). Schließlich gibt es noch eine Vielzahl an Modellen, in denen bei Mäusen oder Hamstern durch **genetische Mutation** eine dilatative Herzinsuffizienz hervorgerufen wird (Khalife et al. 2005).

Mit weiteren Faktoren können diese Modelle kombiniert werden. Spezielle Diäten, die eine besonders fettreiche Nahrung anbieten, simulieren die Situation beim Patienten, die häufig mit Übergewicht und Fehlernährung gekoppelt ist. Durch die Resektion einer Niere kann die Problematik des speziellen Zusammenhangs zwischen Herz- und Niereninsuffizienz untersucht werden.

Die Schwere der Herzinsuffizienz wird dann durch die Messung der Kontraktionskraft des Myokards bestimmt. Dabei wird das Herz entweder isoliert im Working Heart *ex-vivo* untersucht, oder hämodynamische Parameter werden *in-vivo* am narkotisierten Tier bestimmt. Allerdings muss man durch Narkose oder Isolation eine Veränderung der physiologischen Parameter in Kauf nehmen. Zusätzlich kann in allen Modellen auch die neurohormonale Aktivierung und die endotheliale Funktion bestimmt werden.

Bisher sind zwei prinzipielle Tiermodelle mit Ratten und Mäusen etabliert, bei denen die körperliche Leistungsfähigkeit der wichtigste Messparameter der Herzinsuffizienz ist.

Einerseits werden, nach verschiedenen Modifikationen der Methode von Davies (Davies et al. 1984), Laufbänder eingesetzt an deren Ende ein Gurt gespannt ist der elektrische Stromstöße abgibt. Nach einer (vor allen Dingen bei Ratten aufwendigen) Trainings- und Eingewöhnungszeit, wird auf dem Laufband bei verschiedenen Steigungen und Geschwindigkeiten die Laufzeit bis zur Erschöpfung gemessen und die Leistungen von gesunden und insuffizienten Tieren verglichen. Als Endpunkt der Erschöpfung wird dabei definiert, wenn die

Tiere trotz Stromstößen nicht mehr auf das Laufband zurückkehren (Yamaguchi et al. 1999).

Andererseits wird gelegentlich die Methode des forcierten Schwimmens nach Porsolt angewandt (Porsolt et al. 1977), die ursprünglich als Tiermodell für Antidepressiva entwickelt wurde. Je nach Methoden-Modifikation werden die Tiere mit oder ohne angebundenes Gewicht in ein Becken mit angewärmtem Wasser verbracht, aus dem sie sich nicht befreien können. Dann wird die Zeit gemessen, die sich die Tiere über Wasser halten können. Die Verminderung der Ausdauer und die Unterschiede im Muskelstoffwechsel der insuffizienten Tiere können bestimmt werden (Musch et al. 1988).

Beide Modelle haben den Nachteil, dass sie keine kontinuierlichen Messungen erlauben, sondern von jedem Tier mit beträchtlichem Aufwand immer nur Einzelwerte maximal einmal täglich erfasst werden können. Überdies ist die Zeit bis zur Erschöpfung der einzige messbare Parameter. Das entscheidende Problem der Modelle ist aber, dass sie mit außergewöhnlichem Stress für die Tiere verbunden sind, der mit Sicherheit zu Veränderungen in den Messergebnissen führt. Mit diesen Modellen misst man nämlich neben der körperlichen Leistungsfähigkeit vor allen Dingen den Umgang der einzelnen Individuen mit Stress und Überlebensangst (Nekaya et al. 2005). Der Porsolt-Schwimm-Test wurde entwickelt, um die Wirkung antidepressiver Medikamente zu untersuchen, und wird auch heute noch angewandt (Xu et al. 2005). Dabei wird beschrieben, dass die Tiere in einer Art Hoffnungslosigkeit plötzlich bewegungslos erstarren, welches den Test ungeeignet macht, die reine körperliche Leistungsfähigkeit zu bestimmen. Das Modell des forcierten Schwimmens wird mittlerweile auch eingesetzt, um stress-induzierte Magenulzera zu erzeugen (Yamamoto et al. 2000).

2.4 Tiere mit natürlichem Antrieb zu freiwilligem Laufen

In der Verhaltensforschung wird schon seit vielen Jahren der Drang der unterschiedlichsten Tierarten zum freiwilligen Laufen im Laufrad untersucht. Es handelt sich dabei um ein Verhalten, das nicht in direktem Zusammenhang mit einer natürlichen Verhaltensweise steht und damit sicher eine Anpassung der Tiere an die Haltungsbedingungen darstellt. Die Laufradleistung kann eine überraschende Intensität annehmen und die Tiere entwickeln eine hohe Motivation, Zugang zu ihrem Laufrad zu bekommen, wofür sie sogar bereit sind einige Aufgaben zu bewältigen (Sherwin 1996). Das lässt darauf schließen, dass es sich beim Laufen nicht um eine Stereotypie, eine zwanghafte immer wiederkehrende und unbeeinflussbare Verhaltensweise, handelt. Die Leistung ist abhängig von genetischen und hormonellen Faktoren. Einflüsse wie Hunger und Durst können die Laufleistung verstärken (Sherwin 1998), während die Käfigeinrichtung keinen entscheidenden Einfluss auf die Benutzung des Laufrades hat. Auch in ausgestalteten Käfigen mit Tunneln, Klettermöglichkeiten und anderen Beschäftigungsmöglichkeiten besteht eine hohe Motivation zu laufen (Reebs & Maillet 2003).

Während Hamster und Mäuse eine beachtliche Laufleistung im Rad erreichen, sind Ratten eher phlegmatisch. In bisherigen Studien kommen die verschiedenen Stämme kaum über eine Leistung von 132 m/h (Klante et al. 1999). Außerdem gibt es eine hohe Variabilität innerhalb jedes Stammes, was die tägliche Laufleistung angeht. Die einzelnen Tiere weisen untereinander bis zu 50-fache Abweichungen der freiwilligen Laufleistung auf (Lambert et al. 1996). Obwohl es bei Mäusen durchaus lauffreudige Individuen gibt, sind die inter-individuellen Unterschiede innerhalb der einzelnen Stämme sehr hoch. Während einige Tiere mit einer respektablen Geschwindigkeit eine Laufleistung von 11 km am Tag erreichen, laufen andere Tiere nur 1 km (eigene Beobachtungen).

Hamster

Vor allem in der Chronobiologie ist der Hamster bereits ein beliebtes Modell. Der tägliche Aktivitätsrhythmus eines Hamsters der verschiedenen Rassen (Hashimoto

et al. 2004; Weinert et al. 2001), die Veränderungen der Laufleistung im Alter (Penev et al. 1997), die metabolischen Veränderungen durch den positiven Einfluss des Laufens (Gattermann et al. 2004) und der Einfluss der Hormone (Pieper et al. 1999; Coutinho et al. 2006) und des Tag-/Nachtrhythmus (Scarborough et al. 1997) sind bereits sehr gut untersucht. Diese Tiere zeichnen sich durch sehr geringe inter-individuelle Unterschiede und tagesabhängige Schwankungen aus. Auch Störungen durch Käfigreinigung und Wecken der Tiere in der Schlafphase haben fast keine Einflüsse auf die tägliche Laufleistung (eigene Beobachtungen).

2.5 Zielsetzung der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit war es, ein neues Tiermodell in der Herz-Kreislaufforschung zu etablieren, das die reduzierte Leistungsfähigkeit als Leitsymptom und unabhängigen prognostischen Faktor der chronischen Herzinsuffizienz in den Mittelpunkt rückt. Im Vergleich zu der Leistungseinschränkung bei humanmedizinischen Patienten sollte gezeigt werden, ob und in welchem Ausmaß auch im Tiermodell eine Leistungsminderung durch eine Herzinsuffizienz auftritt. Es sollte gezeigt werden, welche unterschiedlichen Leistungsparameter davon betroffen sind und wie diese kontinuierlich gemessen werden können.

Das Modell sollte die typischen pathophysiologischen Veränderungen in der Herzinsuffizienz aufweisen. Es wurde in dieser Studie die chronische Herzinsuffizienz nach Koronarligatur untersucht, da der Myokardinfarkt und die myokardiale Ischämie auch in der humanmedizinischen Klinik die häufigste Einzelursache für die Herzinsuffizienz darstellt.

3 Material und Methoden

3.1 Versuchstiere und deren Haltungsbedingungen

Im Rahmen der Studie wurden männliche syrische Goldhamster (HsdHan:Aura) untersucht. Sie wurden im Alter von 8-10 Wochen aus der Versuchstierzucht Harlan-Winkelmann GmbH (Borchen) geliefert.

Die Tiere wurden einzeln in Makrolonkäfigen auf wenig Einstreu gehalten. Die Käfige waren permanent mit einem Laufrad ausgestattet. Das Rad war aus Plexiglas, mit einem Durchmesser von 17 cm und einem Gewicht von 665 g.

Die Tiere wurden unter konstanten, kontrollierten Bedingungen gehalten. Ein 12:12 h Hell-Dunkel-Zyklus wurde während der Versuche eingehalten, mit einer Lichtperiode von 8-20 Uhr. Die Temperatur lag zwischen 19-22 °C und die Luftfeuchtigkeit bei 50-55%.

Futter und Wasser wurden den Tieren ad libitum angeboten.

3.2 Verwendete Substanzen

3.2.1 AT₁-Blocker

Das Losartan ist ein AT₁-Blocker der Firma Merck Sharp & Dohme mit dem Handelsnamen LORZAAR®, der Summenformel C₂₂H₂₂ClKN₆O und dem systematischen Namen 1H-Imidazole-5-methanol-2-butyl-4-chloro-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-yl)[1,1'-biphenyl]-4-yl]methyl]. Das Molekulargewicht beträgt 461,01 g/mol.

Losartan blockiert einen der zwei zur Zeit bekannten Angiotensin-II-Rezeptoren (AT₁) selektiv und kompetitiv. Dadurch wird die vasokonstriktorische Wirkung von Angiotensin II antagonisiert. Die Blutgefäße bleiben auf Dauer erweitert, der Blutdruck sinkt und das Herz wird entlastet.

Im Gegensatz zu den ACE-Hemmern lassen sich mit dem AT₁-Blocker auch die ACE-unabhängigen Seitenpfade des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems inhibieren, bei denen zum Beispiel durch das Konversionsenzym Chymase Ang I in Ang II überführt wird. Vor allen Dingen bei Menschen, Affen, Hunden und Hamstern kann in Blutgefäßen und im Myokard Ang I bis zu 80 % durch Chymase in Ang II umgewandelt werden (Jin et al. 2001).

3.2.2 NHE-1-Inhibitor

Der NHE-1-Inhibitor Cariporide der Firma Sanofi-Aventis hat die Summenformel C₃₁H₂₁N₃O₆S₂, die systematische Bezeichnung 4-isopropyl-3-methyl-sulphonylbenzoyl-guanidinmethansulphonat und das Molekulargewicht beträgt 379,46 g/mol. Cariporide hemmt den Na⁺-H⁺-Austauscher NHE-1 in der myokardialen Plasmamembran und nimmt damit Einfluss auf die Regulation des intrazellulären pH-Wertes.

In der Ischämie bei einem Myokardinfarkt kommt es durch den anaeroben Stoffwechsel zu einer intrazellulären Acidose in deren Verlauf der Na⁺-H⁺-Austauscher NHE-1 aktiviert wird. Dadurch werden vermehrt H⁺-Ionen im Austausch gegen Na⁺-Ionen aus der Zelle ausgeschleust. Durch den vermehrten Na⁺ Gehalt der Zelle wird wiederum der Na⁺-Ca²⁺-Austauscher aktiviert und durch den Anstieg der intrazellulären Ca²⁺-Konzentration kommt es zum sogenannten Kalzium-overload mit Hyperkontraktilität, Arrhythmien und Zellnekrosen. Der NHE-1-Inhibitor Cariporide schwächt diese Prozesse ab.

3.2.3 K_{ATP}-Blocker

Der K_{ATP}-Blocker HMR 1098 der Firma Sanofi-Aventis, ist ein kardioselektiver Inhibitor des ATP-abhängigen Kaliumkanals mit der systematischen Bezeichnung 1-[[5-[2-(5-chloro-o-anisamido)-etyl]-2-methoxy-phenyl]-sulfonyl]-3-methylthiourea.

Wenn in der akuten Phase der myokardialen Ischämie die intrazelluläre ATP-Konzentration abfällt, kommt es zu einer Aktivierung der unter normalen Bedingungen geschlossenen ATP-abhängigen Kaliumkanäle und damit zum Ausstrom des intrazellulären K^+ entlang des Konzentrationsgradienten. Dadurch kommt es zu einer Hyperpolarisation des Membranpotentials, das Aktionspotential wird verkürzt. In der verkürzten Dauer des Aktionspotentials tritt weniger Ca^{2+} über spannungsabhängige Ca^{2+} -Kanäle in die Zelle ein und die kontraktile Funktion wird eingeschränkt. Das hat verschiedene Folgen. Zum einen ist es zwar ein Schutz für das ischämische Myokard, indem der Sauerstoffverbrauch eingeschränkt wird. Auf der anderen Seite kann es allerdings durch die Verkürzung des Aktionspotentials auch zu gefährlichen „re-entries“ kommen, die zu Arrhythmien und Kammerflimmern führen können (Flagg et al. 2005). Im Therapieansatz wirken die K_{ATP} -Blocker gegen diese Mechanismen (Billman et al. 1998).

3.2.4 ACE-Hemmer

Ramipril ist ein ACE-Hemmer der Firma Sanofi-Aventis mit der Summenformel $C_{23}H_{32}N_2O_5$, der systematischen Bezeichnung 2-[N-[(S)-1-Ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl] -L-alanyl] -(1S,3S,5S) -2-azabicyclo [3.3.0]octane-3-carboxylsäure und einem Molekulargewicht von 416,5 g/mol. Ramipril wird als Prodrug in der Leber in die Wirkform Ramiprilat überführt und hemmt dann das Angiotensin-Converting-Enzyme durch kompetitive Bindung an das aktive Zentrum. Es bildet sich ein stabiler Komplex und das Enzym ist nicht mehr in der Lage die Umwandlung vom Ang I in das aktive Ang II zu katalysieren. Die Folge ist eine Vasodilatation und verminderte Wasser-Rückresorption in der Niere. Ramipril ist für die Behandlung der Hypertonie und bei allen Stadien der Herzinsuffizienz zugelassen.

3.2.5 ACE-NEP-Inhibitor

Der ACE-NEP-Inhibitor AVE 7688 ist eine Entwicklungssubstanz von Sanofi-Aventis mit der systematischen Bezeichnung 7[[[(2S)- 2-(acetylthio -1-oxo-3-methyl-propyl) amino] -1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxo-, (4S,7S,12bR)-pyrido-[2,1-a][2] benzozepine -4- carbonsäure und der Summen-formel $C_{22}H_{28}N_2O_5S$.

Auch AVE 7688 ist eine Prodrug. In der Leber wird es in den aktiven Metaboliten MDL 108,048 mit einem Molekulargewicht von 390,50 g/mol überführt.

Es wirkt als dualer Vasopeptidase-Hemmer, neben dem Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) wird in diesem therapeutischen Ansatz auch die neutrale Endopeptidase (NEP) gehemmt. Die neutrale Endopeptidase spaltet und inaktiviert die natriuretischen Peptide ANP und BNP und Bradykinin. Durch die vermehrte Aktivität der natriuretischen Peptide wird der vasodilatatorische Effekt der ACE-Hemmer weiter verstärkt. Bei der Kombinationshemmung können zusätzlich synergistische Effekte genutzt werden, denn hier ist die Reduktion des Blutdrucks und die Herzentlastung deutlicher als bei alleiniger ACE-Hemmung (Kostis et al. 2004).

3.3 Studiendesign – Tiermodell-Entwicklung

3.3.1 Gruppensammensetzung

In der Studie zur Tiermodellentwicklung wurden 38 Hamster eingesetzt. Sie wurden nach Infarktgröße in drei Gruppen eingeteilt. Scheinoperiert (n=10), Tiere mit großem Myokardinfarkt über 15% (n=14) und Tiere mit kleinem Myokardinfarkt unter 15% (n=14) (Abb. 3-1).

3.3.2 Allgemeiner Versuchsablauf

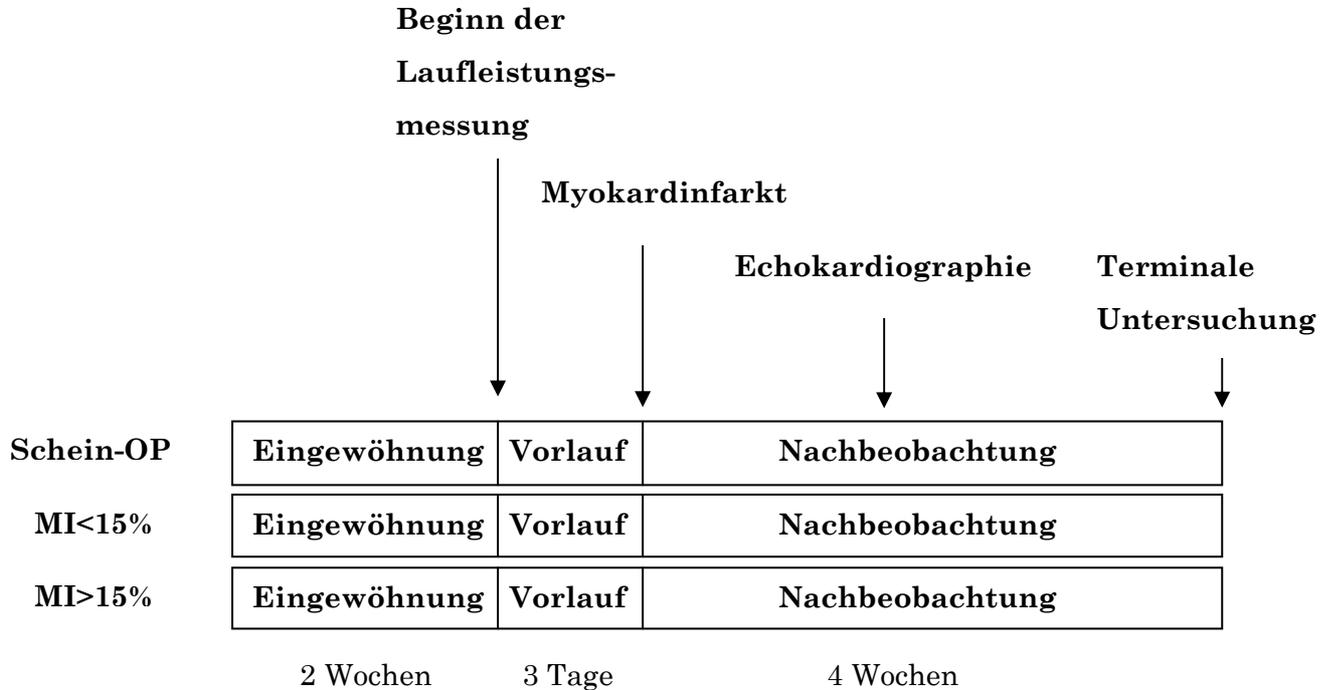


Abb. 3-1: Verlaufsplan der Studie

3.3.3 Messung der Laufradaktivität

Um die Einschränkung der Leistungsfähigkeit der Tiere nach Myokardinfarkt zu bestimmen, wurde ihre Betätigung im Laufrad vor und nach der Operation gemessen (Abb. 3-2).

Die Laufradaktivität der Tiere wurde kontinuierlich durch ein an das Laufrad angeschlossenes Datenerfassungssystem (Laufrad V1.48, Ingenieurbüro Jäckel, Hanau) ermittelt. Mit diesem Computerprogramm wurden die Drehungen des Laufrades durch elektromagnetische Induktion gezählt, fortlaufend in 5 min. Abständen aufgezeichnet und in einer Excel-Datei gespeichert.

Den Tieren wurde eine Eingewöhnungszeit von mindestens 14 Tagen gegeben, um sich an das Laufrad zu gewöhnen. In dieser Zeit wurde eine Steigerung der Laufintensität beobachtet, die sich zwischen dem 10. und 14. Tag auf einem

Material und Methoden

stabilen Niveau einpendelte. Erst nach dieser Zeit wurde die Ausgangsleistung bestimmt, dafür wurde ein Mittelwert aus drei Tagen gebildet. Nach dem experimentell erzeugten Myokardinfarkt wurden die Tiere dann direkt wieder in ihre Käfige verbracht und die Laufleistung für die nächsten 4 Wochen ermittelt.

Ein Tier galt als wirklich laufaktiv, wenn mehr als 20 Umdrehungen in 5 min. aufgezeichnet wurden. Geringere Umdrehungszahlen wurden als Artefakte gewertet, die durch andere Käfigaktivität wie Wühlen oder Stöbern zustande gekommen sein könnten.

Aus den reinen Umdrehungszahlen wurden täglich folgende Parameter berechnet, um das Laufverhalten der Tiere umfassend zu analysieren:

- Tägliche Gesamtleistung in km
- Spitzengeschwindigkeit in km/h
- Durchschnittsgeschwindigkeit in km/h
- Längste Laufperiode ohne Pause in min
- Weitesten Laufperiode ohne Pause in km
- Anzahl der Laufperioden
- Gesamtleistungszeit, das heißt gesamte aktive Zeit im Rad, in h

Dabei wurde als Pause definiert, wenn das Tier über mindestens 5 Minuten keine Aktivität zeigte.

Zur statistischen Auswertung wurden bei jedem Parameter die Werte über eine Woche gemittelt und die einzelnen Gruppen miteinander verglichen.

Zusätzlich wurde für jedes Tier nach 28 Tagen ein 24-Stunden Muster der Laufradaktivität (Aktogramm) erstellt, um ein Bild davon zu erhalten, wie sich die Leistung der Tiere über den Tag verteilt. Dazu wurde die Aktivität in 24 Stunden in einer horizontalen Linie aufgetragen, und die laufaktive Zeit durch schwarze Balken hervorgehoben.



Abb. 3-2: Hamster im Laufrad

3.3.4 Experimenteller Myokardinfarkt

Das Operationsbesteck wurde vor Beginn der Operationen in einem Autoklav (MELAtronik 15, Melag, Berlin) bei 2 bar und 134 °C für 30 min. hitzesterilisiert und zwischen den Operationen mit steriler NaCl gereinigt und Cutasept F® (Bode Chemie, Hamburg) sterilisiert.

Die Tiere wurden nach dem Wiegen mit 3 Vol% Isofluran (Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim) in einer Narkosebox anästhesiert. Zur Analgesie wurde intra-peritoneal zusätzlich 33 µg/kg Fentanyl (Essex Pharma, München) gegeben. Nach Narkoseeintritt wurde das Tier auf einem Kleintieroperationstisch in Rückenlage fixiert, mit einem manuell gefertigten Tubus aus einer abgeschnittenen und von Hand gebogenen Knopfkanüle AØ: 8 mm intubiert und über eine Atempumpe (BMT Messtechnik, Berlin) mit Luft und 3 Vol% Isofluran beatmet. Das Atemvolumen wurde bei einem 100 g schweren Hamster auf 1,2 ml und die Atemfrequenz auf 60 Züge pro Minute eingestellt. Die Haut im gesamten linken Thoraxbereich wurde geschoren, gereinigt und mit Cutasept F® desinfiziert. Anschließend wurden EKG-Elektroden in der Gliedmaßenableitung nach Einthoven angeschlossen, um die

Material und Methoden

unmittelbaren EKG-Veränderungen nach Infarkt aufzuzeichnen. Die Aufzeichnung des EKG erfolgte mit einem Plugsys Modular System der Firma HSE (Typ 689; Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten). Als Computer-Software für Darstellung und Speicherung des EKG wurde Notocord HEM (Notocord Systems, Croissy sur Seine, Frankreich) verwendet.

Es wurde ein Hautschnitt von 2 cm Länge an der linken Thoraxseite von cranio-dorsal nach caudo-ventral geführt. Die Mm. pectorales supf. und prof. wurden stumpf abpräpariert und mit gebogenen Klammern seitlich fixiert. Die Intercostalmuskulatur wurde im 3. Intercostalraum mit einer stumpfen, gebogenen Schere vorsichtig durchtrennt und damit die Brusthöhle eröffnet. Die Rippen wurden mit selbst gebogenen Klammern gespreizt. Das Perikard wurde mit 2 gebogenen Mikropinzetten vorsichtig an der Stelle der späteren Ligatur eröffnet. Nun erfolgte die Ligatur des absteigenden Astes der linken Koronararterie ca. 5 mm distal ihres Ursprungs aus der Aorta und 2 mm distal des linken Herzohres. Als Faden wurde Perma-Hand Seide (Ethicon, Norderstedt) 5-0 mit einer TF-4 Nadel verwendet. Eine ST-Streckenhebung mit monophasischer Deformierung als EKG-Befund war das Kriterium für eine erfolgte Okklusion der A. coronaria sinistra. Bei den scheinoperierten Tieren wurde auch ein Faden durch das Myokard gezogen, aber keine Ligatur gelegt. Nach Reposition des Herzens und der Lungenflügel wurden die dritte und vierte Rippe durch zwei Einzelhefte mit Vicryl rapid 5-0 (Ethicon, Norderstedt) adaptiert, während kurzfristig die Ausatmung blockiert wurde. Damit wurde gewährleistet, dass die Lunge ausgedehnt war, während der Thorax verschlossen wurde. Die Pectoralmuskulatur wurde dann mit dem gleichen Faden leicht adaptiert. Die Haut wurde anschließend mit Perma-Hand Seide 3-0 (Ethicon, Norderstedt) Einzelheften verschlossen. Nach Verschluss der Haut wurde das Isofluran abgeschaltet und so lange mit Luft weiterbeatmet, bis die Spontanatmung der Tiere wieder einsetzte und die ersten Abwehrbewegungen beobachtet wurden.

Als Analgesie wurde den Tieren eine Einmal-Injektion von Buprenorphin (Temgesic, 0,1 mg/kg i.p. Essex Pharma, München) gegeben. Die OP-Wunde wurde mit Braunol® (Povidon-Jod- Lsg., B.Braun, Melsungen) versorgt.

Für die nächsten 4 Tage wurde die Analgesie mit Metamizol (Novalgin, 400 mg/kg/Tag, Sanofi-Aventis) über das Trinkwasser fortgeführt. Antibiotisch wurden die Tiere mit Enrofloxazin (Baytril, 2,5 mg/kg/Tag, Bayer, Leverkusen) 4 Tage über das Trinkwasser versorgt. Da in Vorversuchen gezeigt wurde, dass die post-operative Mortalität mit der Gabe von Diuretika gesenkt werden konnte, wurde die Nachsorge durch die Gabe von Furosemid (Lasix, initial 6 mg/kg per os., 4 mg/kg/Tag, Sanofi-Aventis) für 3 Tage im Trinkwasser ergänzt.

3.3.5 Echokardiographie

Die Echokardiographie wurde als einfache nicht-invasive Methode genutzt, um die Herzmuskelfunktion darzustellen. Zwei Wochen post OP wurden die Tiere mittels Ultraschall auf die Schwere der Herzinsuffizienz hin untersucht.

3.3.5.1 Methodik

Beim Ultraschall werden im Schallkopf durch einen piezoelektrischen Kristall longitudinale Schalldruckwellen erzeugt. Durch elektrische Spannung wird dieser Kristall im Schallkopf in Schwingungen versetzt und sendet die Schallwellen ins Gewebe aus, die beim diagnostischen Ultraschall in der Kardiologie eine Frequenz von 1-10 MHz haben.

Diese Schallwellen werden im Körper dann je nach Gewebeart und akustischer Impedanz entweder absorbiert oder reflektiert. Die vom Gewebe reflektierten Schallwellen werden vom Schallkopf wiederum empfangen, versetzen den Kristall erneut in Schwingung und die entstehenden elektrischen Impulse können abgegriffen und auf einem Bildschirm dargestellt werden. Der Schallkopf fungiert also gleichzeitig als Schallsender und –empfänger.

Für Weichteile gilt, dass die Fortleitungsgeschwindigkeit annähernd konstant ist. Daher besteht eine Proportionalität zwischen der Laufzeit des Impulses und der Entfernung zwischen Schallkopf und reflektierender Fläche.

Während der Herzaktion verändern die Schallwellen indes auf Grund der Bewegung der angeschallten Herzstrukturen ihre Laufzeit. Diese Veränderungen werden mit dem Echokardiogramm M-Mode als Weg-Zeit-Kurve erfasst. Dadurch können quantitative Bestimmungen von Ventrikeldimensionen und Wanddicken zu verschiedenen Zeiten der Herzaktion gemacht werden.

3.3.5.2 Durchführung und Messparameter

Für die Untersuchungen wurde ein Ultraschallgerät (HDI®3000, ATL, Solingen) mit einem 5-10 MHz Schallkopf verwendet. Alle Aufnahmen wurden auf Papier ausgedruckt. Die Untersuchungen erfolgten transthorakal.

Die Hamster wurden unter leichter und schonender Isofluran Narkose geschallt. Dazu wurden sie in einer Narkosebox bei 3 Vol% Isofluran anästhesiert. Nach Narkoseeintritt wurden sie in Rückenlage auf eine Wärmematte umgelagert und zur Aufrechterhaltung der Narkose mit 1,5 Vol% Isofluran über eine Maske beatmet. Der Thorax wurde rasiert und zur Untersuchung Ultraschallgel aufgebracht.

Für die M-Mode Untersuchung wurde der Schallkopf parasternal aufgesetzt und die Messung in der kurzen Achse auf halber Höhe des linken Ventrikels im Bereich der Papillarmuskeln durchgeführt.

Folgende Parameter wurden erhoben:

- Linksventrikulärer endsystolischer Diameter (LVDsys)
- Linksventrikulärer enddiastolischer Diameter (LVDed)
- Wanddicke des interventrikulären Septums enddiastolisch (IVSed)
- und endsystolisch (IVSsys)
- Dicke der Hinterwand des linken Ventrikels enddiastolisch (PWDed)
- und endsystolisch (PWDsys)

Aus den gemessenen Werten wurde noch der folgende Parameter rechnerisch bestimmt:

Fractional Shortening (FS)

$$\text{FS}(\%) = ((\text{LVDed} - \text{LVDsys}) / \text{LVDed}) * 100$$

Nach der Aufwachphase wurden die Tiere noch eine Stunde unter einer Wärmelampe betreut, wieder in ihre Käfige verbracht und die Laufleistungsmessung unverändert fortgesetzt.

3.3.6 Hämodynamikmessung *in-vivo*

Vier Wochen nach Myokardinfarkt wurden die terminalen Untersuchungen durchgeführt. Dazu wurden die Tiere mit 3,5 Vol% Isofluran in der Narkosebox anästhesiert. Zur Analgesie wurde zusätzlich 33 µg/kg Fentanyl (Essex Pharma, München) i.p. gegeben. Nach Narkoseeintritt wurden die Tiere auf einer Wärmeplatte (FMI GmbH, Seeheim/Ober-Beerbach) in Rückenlage fixiert. Über ein Temperatur-Kontrollmodul (TKM-0902, FMI GmbH, Seeheim/Ober-Beerbach) wurde die Körperkerntemperatur konstant zwischen 37 und 38 °C gehalten. Wie bei dem experimentellen Myokardinfarkt wurden die Tiere intubiert und mit Hilfe der Atempumpe zunächst zur Präparation mit 3 Vol%, später zur Messung mit 1,5 Vol% Isofluran beatmet.

Dann wurden die Tiere ventral am Hals rasiert und ein 2 cm langer Hautschnitt rechts der Medianen geführt. Die A. carotis dextra wurde freipräpariert und ein Micro Tip Katheter (Millar Instruments Inc., Houston, Texas) der Größe 1,4 F eingeführt. Damit wurde zunächst der periphere Blutdruck in der A. carotis gemessen und der Katheter dann in den linken Ventrikel vorgeschoben. Der Katheter wurde mit einem Druckumwandler (Biopac Systems, Santa Barbara, USA) verbunden, der den gemessenen Blutdruck in elektrische Signale umwandelte und an den Modulator Plugsys (Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten) übermittelte. Seine analogen Signale wurden schließlich digitalisiert und über die Software Notocord Hem (Notocord-Systems, Croissy-sur-Seine, Frankreich) bearbeitet und gespeichert.

Nach vollständiger Präparation wurde vor den Messungen 10 Minuten gewartet, damit sich die Messparameter auf stabile Basalwerte einstellten.

Dann erfolgte für 60 Sekunden die Messung der folgenden Parameter:

- Linksventrikulärer systolischer Druck (LVP_{max}) in mmHg
- Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP) in mmHg
- Maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}) in mmHg/s
- Maximale Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt_{min}) in mmHg/s

Ferner sollte untersucht werden, ob es zu Unterschieden in der Anpassung an Belastung zwischen Scheinoperierten und Myokardinfarkttieren bei zusätzlicher adrenerger Stimulation kommt.

Dafür wurde bei den ersten Tieren die V. jugularis für eine intravenöse Dauerinfusion freipräpariert. Dazu wurde die Vene inzidiert und ein Mikrokatheter aus Polyethylen eingeführt. Über diesen Katheter wurde später, nach der Messung der Basalwerte, Isoprenalin aus einer 5 ml Spritze infundiert, wozu die Spritze in eine Infusionspumpe (Harvard Apparatus, FMI GmbH, Seeheim/Ober-Beerbach) eingespannt war. Den Tieren wurde jeweils für 3 Minuten eine steady-state Dauerinfusion Isoproterenol in den folgenden Konzentrationen gegeben: 0,03 µg/kg/min., 0,1 µg/kg/min., 0,3 µg/kg/min. Dabei erhielten die Tiere ein Volumen von 0,1 ml pro Minute in der kleinsten Konzentration, bis hin zu 1 ml pro Minute in der stärksten Stimulationsstufe.

Da jedoch durch die Wahl des Isoflurans als Anästhetikum das adrenerge System bereits aktiviert war, konnte keine weitere Modifikation der Messparameter zwischen Infarkttieren und scheinoperierten Tieren festgestellt werden und die Isoprenalin-Stimulation wurde nicht weiter fortgeführt.

3.3.7 Blutprobe, Herzentnahme und Infarktgrößenbestimmung

Am Ende des Versuches wurde den Tieren aus der V. cava caudalis eine Blutprobe entnommen. Danach wurden sie mit Pentobarbital (Narcoren®, Merial, Hallbergmoos) abgetötet und die Herzen entnommen. Die Ventrikel wurden freipräpariert und der rechte und linke Ventrikel getrennt gewogen, wobei das Septum am linken Ventrikel verblieb.

Nach dem Wiegen wurde der linke Ventrikel im Septum von der Basis zur Spitze aufgeschnitten und die Ränder blumenförmig eingeschnitten. Innen- und Außenseite wurden in einer Petrischale fotografiert und mittels des Bildanalyse-Systems Leica Qwin (Leica Imaging Systems, Cambridge, Großbritannien) wurde der prozentuale Anteil der Infarktfläche an der Gesamtfläche jeweils außen und innen planimetrisch ermittelt. Als Bezugspunkt 100% diente die Fläche des linken Ventrikels inklusive Septum. Der Mittelwert aus Infarktgebiet innen und außen wurde dann als Infarktgröße angegeben. Herzgewebestücke vom nicht-infarzierten Teil des linken Ventrikels wurden entnommen und sofort in flüssigem Stickstoff bei -195°C schockgefroren. Bei -80°C aufbewahrt, wurden sie später zur Bestimmung des Hydroxyprolin/Prolin Verhältnisses verwendet.

Die Blutprobe wurde abzentrifugiert und das Serum zur späteren Untersuchung bei -18°C tiefgefroren. Aus diesem Serum wurde nachfolgend versucht natriuretische Peptide oder deren Vorläufer (ANP, BNP, proANP, proBNP) mit Hilfe eines Sandwichenzymimmunoassays (Biomedica Wien, Österreich) zu bestimmen. Da kein Assay mit Hamster-spezifischen ANP oder BNP-Antikörpern kommerziell erhältlich ist, wurden Assays mit humanen Antikörpern verwendet, da die Aminosäuresequenz der natriuretischen Peptide dieser beiden Spezies noch die größte Homologie aufwies. Trotzdem war es mit diesem Verfahren nicht möglich, die natriuretischen Peptide im Hamsterserum zu bestimmen.

3.3.8 Bestimmung des Hydroxyprolin/Prolin Verhältnisses

Als Maß für eine fortschreitende Fibrose auch im nicht-infarzierten linken Ventrikel nach Myokardinfarkt wurde das Verhältnis von Hydroxyprolin zu Prolin 4 Wochen nach dem experimentellen Myokardinfarkt im Labor Dr. M. Gerl untersucht. Dazu wurde eine Probe des nicht-infarzierten Myokardgewebes vollständig hydrolysiert und die beiden Aminosäuren mit Hilfe des HPLC chromatographisch bestimmt.

3.4 Tiermodell-Validierung – Behandlungsstudie

3.4.1 Behandlungsstudie

Bei der Studie zur Behandlung der chronischen Herzinsuffizienz wurde nach dem gleichen Versuchsablauf wie bei 3.3 verfahren, mit Eingewöhnungszeit der Tiere und Messung der Ausgangsleistung. Der experimentelle Myokardinfarkt wurde nach dem gleichen Verfahren erzeugt, jedoch mit einer Veränderung in der OP-Technik.

Harmonisierung der Infarktgröße

Da in der vorangegangenen Studie die Infarktgröße stark schwankte und Herzinsuffizienzsymptome erst ab einer Infarktgröße von 15% auftraten, wurde versucht die Infarkte einheitlicher und insgesamt größer zu erzielen. Dazu wurde die linke Koronararterie näher an ihrem Ursprung aus der Aorta ligiert, indem das linke Herzohr hochgeklappt und unterhalb des Herzohres ligiert wurde. Dadurch erhöhte sich allerdings drastisch die akute Mortalität der Tiere während der Operation oder unmittelbar postoperativ. Während sie in der Studie zur Tiermodellentwicklung bei ca. 40 % lag, erhöhte sie sich auf ca. 65%.

Gruppenzusammensetzung

Die überlebenden Tiere wurden je nach Behandlung in vier Gruppen unterteilt. Scheinoperiert (n=9), Gruppe mit Placebo-behandlung (n=4), Behandlung mit Ramipril in der Dosierung 1 mg/kg/d (n=3), Behandlung mit AVE 7688 in der Dosierung 10 mg/kg/d (n=3). Mit der jeweiligen Behandlung wurde am Tag 7 nach der Operation begonnen.

Da die Zahl der überlebenden Hamster mit Myokardinfarkt nur bei 3-4 Tieren pro Gruppe lag, wurden keine weiteren Untersuchungen zur Herzfunktion vorgenommen und nur die Laufleistung weiter bestimmt.

3.4.2 Senkung der akuten Mortalität

Nach den Erkenntnissen aus der Behandlungsstudie wurde in einem weiteren Versuch erprobt, das Studiendesign zu optimieren und die hohe intraoperative Mortalität zu senken.

In der vorangegangenen Studie war durch ein angeschlossenes EKG sichtbar geworden, dass die Tiere an einem AV-Block mit anschließendem Kammerflimmern verstarben. Daraufhin wurden drei verschiedene Therapieansätze getestet.

Die Tiere wurden in 4 Gruppen mit je 10 Tieren unterteilt. 3 Gruppen bekamen jeweils 10 Minuten vor dem experimentellen Myokardinfarkt eine der folgenden protektiven Therapien. Eine Gruppe erhielt stattdessen nur NaCl als Placebo.

AT₁-Blocker

Einer Gruppe von 10 Tieren wurde 10 Minuten vor Occlusion der Koronararterie der AT₁-Blocker Losartan in der Dosierung 10 mg/kg intra peritoneal verabreicht. Im Anschluss an die Operation wurden die Tiere 5 Tage mit 10 mg/kg Losartan über das Trinkwasser weiter behandelt. In diesem Ansatz sollte das Herz durch eine Blockade des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems entlastet werden. Dabei wurde auf die Besonderheit des Hamsters eingegangen, der eine ebenso hohe Chymase-Aktivität aufweist wie der Mensch. Auch beim Hamster werden bis zu 80% des Angiotensin I durch das Enzym Chymase in Angiotensin II überführt, welches mit der klassischen ACE-Hemmung nicht inhibiert wird (Nishimura et al. 1998).

NHE-1-Inhibitor

Weiteren 10 Tieren wurde 10 Minuten vor Occlusion der Koronararterie der NHE-1-Inhibitor Cariporide in der Dosierung 1 mg/kg intra peritoneal verabreicht.

Mit der Blockade des Na⁺-H⁺-Austauschers NHE-1 sollte der Ischämie-bedingte Na⁺ Ausstrom aus der Zelle und der damit verbundene Ca²⁺ Einstrom unterbunden werden. Damit sollte die Hyperkontraktilität und Gefahr von Arrhythmien durch den Kalzium-overload in der akuten Ischämie verhindert

werden. In akuten Ischämie/Reperfusionen-Versuchen an Ratten und Kaninchen sind durch Cariporide Verbesserungen in der Überlebensrate dokumentiert (Jung et al. 2004).

K_{ATP}-Blocker

Schließlich wurde 10 Tieren der K_{ATP}-Blocker HMR 1098 in der Dosierung 3 mg/kg 10 Minuten vor der Ligatur der Koronararterie i.p. gegeben. Das war ein weiterer Ansatz, um die Gefahr von Arrhythmien und Kammerflimmern zu reduzieren, da die Verkürzung des Aktionspotentials durch aktivierte Kaliumkanäle in der akuten Ischämie vermieden werden sollte. Auch HMR 1098 hat bisher gute Erfolge in Ischämie/Reperfusionen-Studien an Ratten und Kaninchen gezeigt (Jung et al. 2000).

Trotzdem konnte in keinem der Therapieansätze eine Verbesserung der Mortalität gegenüber Placebotieren gezeigt werden. Die intra operative Mortalität lag in allen Gruppen bei ca. 65 %.

3.5 Statistische Auswertung

Zur statistischen Berechnung wurden jeweils die Werte der Einzeltiere zu Gruppenwerten zusammengefasst, die jeweiligen arithmetischen Mittelwerte (MW) sowie die Standardfehler des Mittelwertes (SEM) berechnet. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Software-Programms GraphPadPrism 4.03 (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA), mit welchem die Ergebnisse auf signifikante Unterschiede hin untersucht wurden. Dies erfolgte mittels einer one-way ANOVA mit Bonferroni-korrigierter Varianzanalyse. Beim Vergleich verschiedener Gruppen zu verschiedenen Zeitpunkten wurde die two-way ANOVA Varianzanalyse mit post hoc Bonferroni Korrektur angewandt.

Die Tests wurden auf einem Signifikanzniveau von 5% Irrtumswahrscheinlichkeit pro Parameter durchgeführt, d.h. eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als signifikant betrachtet.

4 Ergebnisse

4.1 Modell-Entwicklung

4.1.1 Infarktgröße

Bei der planimetrischen Bestimmung der Infarktgröße der Tiere zeigten sich sehr große Unterschiede der Größe des infarzierten Gebietes des linken Ventrikels zwischen 5% und 30%, verbunden mit einer Variabilität der Herzinsuffizienzsymptome. Tiere mit einem Infarkt größer als 30 % waren nicht überlebensfähig und verstarben zumeist akut während der Operation oder in der folgenden Nacht. Daraufhin wurden die überlebenden Tiere mit Myokardinfarkt in 2 Gruppen unterteilt.

Gruppe 1: Tiere mit kleinem Infarkt bis zu 15 %, mit einer durchschnittlichen Infarktgröße von $6,4 \pm 1,6$ %

Gruppe 2: Tiere mit großem Infarkt über 15% (durchschnittliche Infarktgröße $21,6 \pm 1,2$ %). Die Abbildung zeigt beispielhaft einen infarzierten linken Ventrikel aus der Gruppe der großen Infarkte (Abb. 4-1).

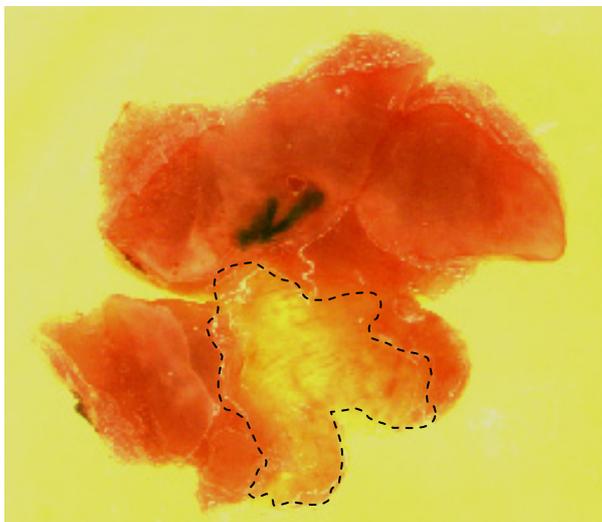


Abb. 4-1: Infarzierter linker Ventrikel 4 Wochen post OP mit einer Infarktgröße von 20 %.

Ergebnisse

4.1.2 Körpergewicht und Herzgewicht

Zu Studienbeginn unterschieden sich die Körpergewichte der Tiere nicht voneinander. Das mittlere Körpergewicht aller Hamster der Studie (n=38) lag bei 107 ± 10 g. Auch zum Studienende, 4 Wochen nach der initialen Operation, gab es keine signifikanten Unterschiede des Körpergewichts zwischen den einzelnen Gruppen. Im Mittel lag es bei 119 ± 12 g (n=38).

Zwischen den Herzgewichten gab es allerdings signifikante Unterschiede. Bei beiden Infarktgruppen war das durchschnittliche Herzgewicht signifikant gegenüber der Gruppe der Scheinoperierten erhöht, in der Gruppe der großen Infarkte war diese Erhöhung noch deutlicher ausgeprägt. Das Verhältnis von linkem Ventrikel zum Körpergewicht bzw. Herz- zu Körpergewicht war in der Gruppe der kleinen Infarkte leicht und in der Gruppe der großen Infarkte stärker erhöht, aber die Unterschiede waren nicht signifikant (Tab. 4-1).

	Schein-OP	Infarkt<15%	Infarkt>15%
KG	$117 \pm 3,54$	$123 \pm 3,38$	$116 \pm 2,80$
HG (mg)	$398 \pm 8,34$	$431 \pm 10,94^*$	$445 \pm 12,48^*$
LV/KG (mg/g)	$2,79 \pm 0,08$	$2,89 \pm 0,06$	$2,97 \pm 0,1$
HG/KG (mg/g)	$3,48 \pm 0,09$	$3,53 \pm 0,08$	$3,90 \pm 0,17$

Tab. 4-1: Körpergewichte (KG), Herzgewichte (HG), Verhältnis von linkem Ventrikel zum Körpergewicht (LV/KG) und Verhältnis von Herzgewicht zum Körpergewicht (HG/KG) in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. Mittelwert \pm SEM; *: $p < 0,05$ vs Schein-OP; Schein-OP n=10, Infarkt<15% n=14, Infarkt>15% n=14.

4.1.3 Ergebnisse der Echokardiographie

Nach zwei Wochen wurde mit Hilfe einer sonographischen Untersuchung die Schwere der Herzinsuffizienz der operierten Tiere bestimmt. Die im M-Mode der kurzen Achse gemessenen Parameter charakterisierten dabei die Durchmesser des linken Ventrikels während der Systole und Diastole und die Wanddicke des Ventrikels (Abb. 4-2).

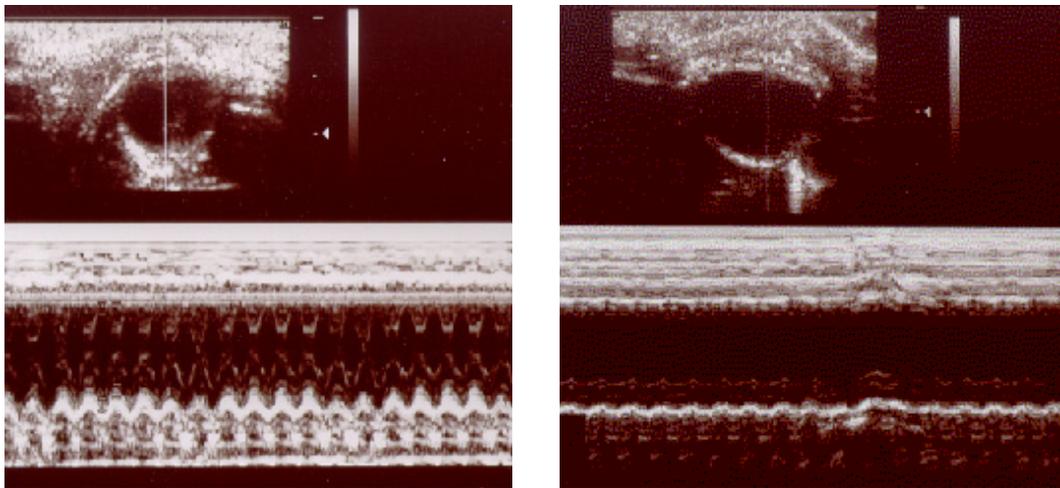


Abb. 4-2: Darstellung des linken Ventrikels im M-Mode der sonographischen Untersuchung eines scheinoperierten Tieres (li.) und eines Tieres mit großem Myokardinfarkt (re.) 2 Wochen nach Myokardinfarkt.

4.1.3.1 Morphologische Parameter

Während die Vergrößerung des enddiastolischen Durchmessers des linken Ventrikels bei den Infarkttieren gegenüber scheinoperierten Tieren nur leicht ausgeprägt war, vergrößerte sich der endsystolische Durchmesser deutlich. Dabei waren die Veränderungen bei Tieren mit großem Infarkt eindeutiger ausgeprägt als bei Tieren mit Infarkten unter 15 %. Der endsystolische Durchmesser war bei den Tieren mit großen Infarkten signifikant sowohl gegenüber Scheinoperierten als auch gegenüber Tieren mit kleinen Myokardinfarkten erhöht.

Ergebnisse

Die jeweiligen Wanddicken des linken Ventrikels waren in beiden Infarktgruppen ungefähr gleich und in allen Fällen signifikant erniedrigt gegenüber den scheinoperierten Tieren (Tab. 4-2).

	Schein-OP	Infarkt<15%	Infarkt>15%
LVDed (cm)	0,53 ± 0,01	0,53 ± 0,02	0,57 ± 0,02
LVDsys (cm)	0,39 ± 0,02	0,44 ± 0,03	0,51 ± 0,01*#
LVSed (cm)	0,08 ± 0,00	0,06 ± 0,00*	0,06 ± 0,00*
PWDed (cm)	0,09 ± 0,00	0,06 ± 0,00*	0,06 ± 0,00*
LVSsys (cm)	0,12 ± 0,00	0,07 ± 0,00*	0,06 ± 0,00*
PWDsys (cm)	0,12 ± 0,01	0,08 ± 0,01*	0,07 ± 0,00*

Tab. 4-2: Linksventrikulärer enddiastolischer (LVDed) und endsystolischer Durchmesser (LVDsys), linksventrikuläre enddiastolische Dicke des Septums (LVSed) und der Hinterwand (PWDed) und endsystolische Dicke des Septums (LVSsys) und der Hinterwand (PWDsys) gemessen bei den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt (MI) nach 2 Wochen. Mittelwert ± SEM; *: p<0,05 vs. Schein-OP; #: p<0,05 vs. MI<15%; Schein-OP n=10, MI<15% n=14, MI>15% n=14.

4.1.3.2 Fractional Shortening

Das FS ist als systolischer Parameter ein Maß für die Kontraktionsfähigkeit des linken Ventrikels. Sowohl in der Gruppe der Tiere mit kleinem Infarkt, und noch in viel stärkeren Maße bei den Tieren mit großem Infarkt, ist die Verkürzungsfraction signifikant erniedrigt (Tab. 4-3).

Ergebnisse

	Schein-OP	Infarkt<15%	Infarkt>15%
FS (%)	28,7 ± 2,43	16,0 ± 2,34*	10,4 ± 2,22*

Tab. 4-3: Fractional Shortening in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt 2 Wochen post OP. MW ± SEM; * p<0,05 vs. Schein-OP; Schein-OP n=10, MI<15% n=14, MI>15% n=14.

4.1.4 Ergebnisse der Laufradstudie

4.1.4.1 Zeitlicher Verlauf der Laufparameter

Der zeitliche Verlauf der verschiedenen Laufradparameter zeigte die tägliche Entwicklung des Laufverhaltens der einzelnen Gruppen. Der Ausgangswert wurde an drei Tagen vor der Operation bestimmt und die Nachbeobachtung lief bis vier Wochen danach. Durch die 7 verschiedenen Parameter wurde das genaue Laufverhalten charakterisiert. Es wurden sowohl durchschnittliche und maximale Geschwindigkeit, als auch Ausdauer und Tageslaufleistung erfasst.

4.1.4.1.1 Gesamtstrecke

Unmittelbar nach der Operation liefen die Tiere fast gar nicht in ihrem Laufrad. Bedingt durch die Beeinträchtigungen durch die Operation und den Wundschmerz kam es weiterhin zu einem ganz unregelmäßigen Laufverhalten der Tiere aller Gruppen in der ersten Woche nach der Operation. Die scheinoperierten Tiere erholten sich dann aber in der zweiten Woche post OP deutlich besser, als die Infarkttiere. Nach ca. 14 Tagen pendelte sich die täglich zurückgelegte Laufstrecke in allen Gruppen auf einen stabilen Wert ein. Während die scheinoperierten Tiere ihre Ausgangslaufstrecke wieder erreichten, zeigte sich in den Gruppen mit Myokardinfarkt, abgestuft nach der Größe des Infarktes, eine Verkürzung der täglich zurückgelegten Wegstrecke im Laufrad.

Die Tiere mit großem Myokardinfarkt erreichten nur noch etwa die Hälfte ihrer Ausgangslaufleistung (Abb. 4-3).

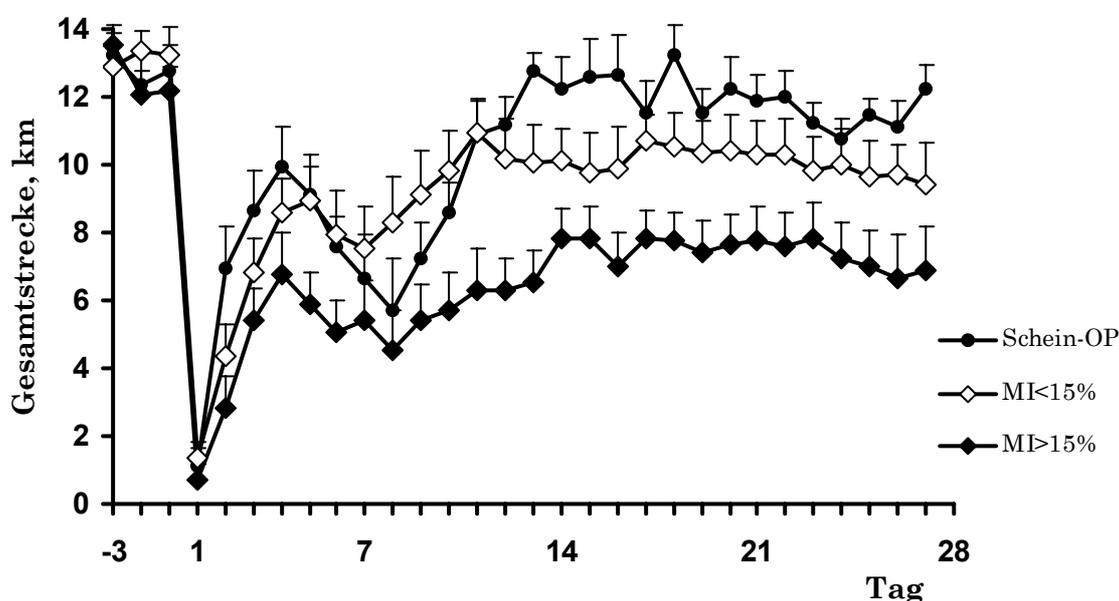


Abb. 4-3: Tägliche Gesamtstrecke in km, dargestellt 3 Tage vor der Operation (-3 bis -1) und bis 28 Tage danach (1 bis 28) in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner (MI<15%) und großer Myokardinfarkt (MI>15%). MW \pm SEM, Schein-OP n=10, MI<15% n=14, MI>15% n=14. Statistik siehe Kap. 4.1.4.2.

4.1.4.1.2 Spitzen- und Durchschnittsgeschwindigkeit

Nach der Operation war bei den Tieren aller Gruppen sowohl ihre tägliche Spitzen- als auch die Durchschnittsgeschwindigkeit stark reduziert. Nach einer Erholungsphase von ca. 12 Tagen zeigte sich für jede Gruppe ein spezifischer Wert für Spitzen- und Durchschnittsgeschwindigkeit mit einer sehr geringen Streuung innerhalb der Gruppen. In der Gruppe der Tiere mit großem Myokardinfarkt waren die Geschwindigkeiten dabei deutlicher reduziert als in der Gruppe der Tiere mit kleinem Myokardinfarkt (Abb. 4-4; Abb. 4-5).

Ergebnisse

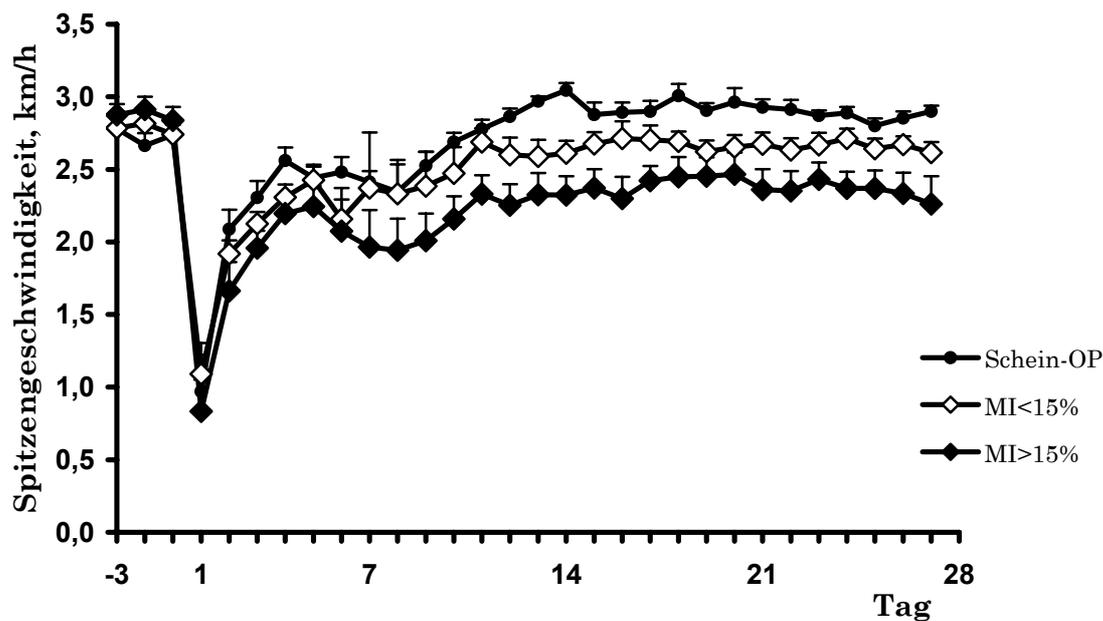


Abb. 4-4: Täglich ermittelte Spitzengeschwindigkeit in km/h in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM, Schein-OP n=10, MI < 15% n=14, MI > 15% n=14. Statistik siehe Kap. 4.1.4.2.

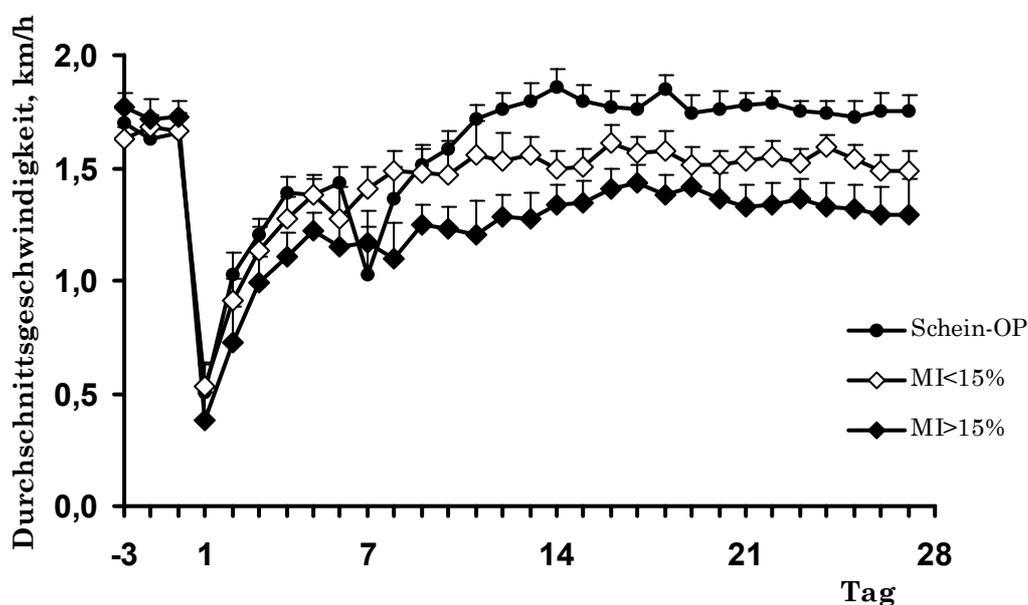


Abb. 4-5: Täglich ermittelte Durchschnittsgeschwindigkeit in km/h in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM, Schein-OP n=10, MI < 15% n=14, MI > 15% n=14.

4.1.4.1.3 Längste und weiteste Laufperiode

Die beiden Parameter längste und weiteste Laufperiode wurden als Maß für die Ausdauer der Tiere gemessen. Sie hatten einen ähnlichen Verlauf in den vier Wochen nach der Operation und es zeigte sich, dass die Tiere mit Myokardinfarkt nur kürzere Perioden am Stück und ohne Pause zurücklegen konnten als die scheinoperierten Tiere. Dabei waren die Tiere mit großen Infarkten noch stärker eingeschränkt als die Tiere mit kleinen Infarkten. Beide Parameter waren allerdings stärkeren täglichen und inter-individuellen Schwankungen unterworfen (Abb. 4-6; Abb. 4-7).

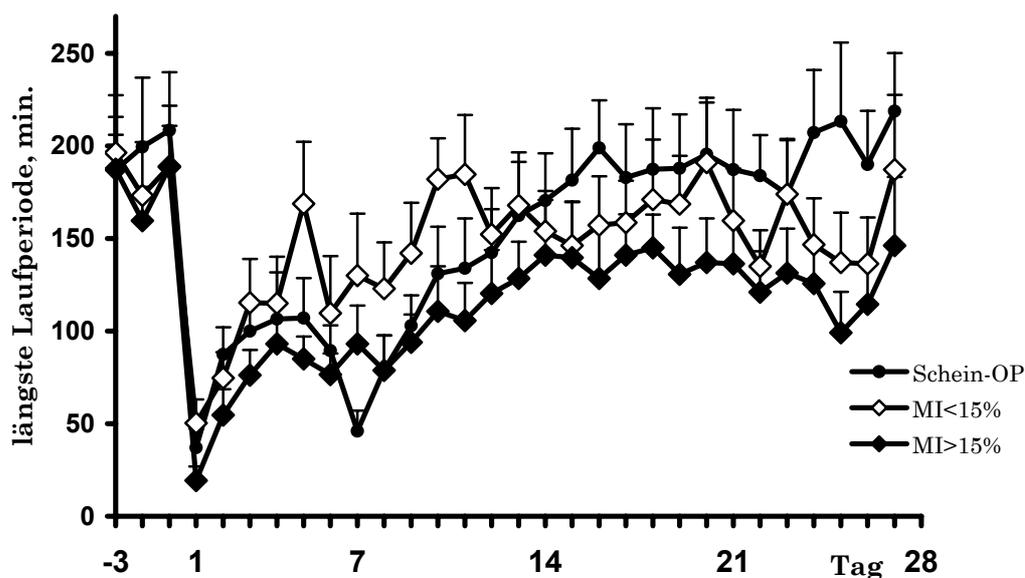


Abb. 4-6: Längste Laufperiode ohne Pause in min. an drei Tagen vor der Operation und 28 Tagen danach in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM, Schein-OP n=10, MI < 15% n=14, MI > 15% n=14.

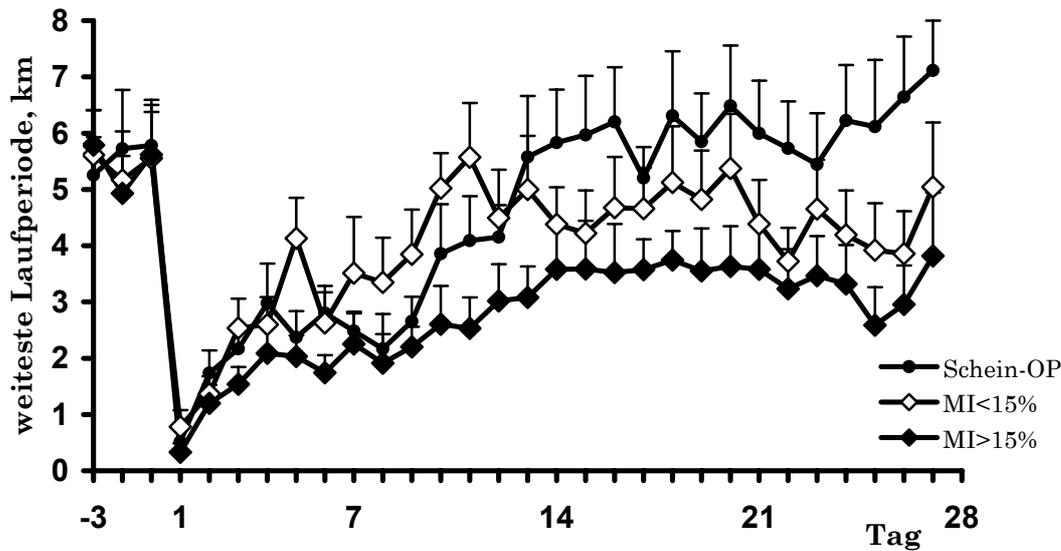


Abb. 4-7: Weitesten Laufperiode ohne Pause in km in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM, Schein-OP n=10, MI<15% n=14, MI>15% n=14. Statistik siehe Kap. 4.1.4.2.

4.1.4.1.4 Anzahl der Laufperioden

In den ersten drei Tagen nach der Operation stieg die Anzahl der Laufperioden in allen drei Gruppen. Obwohl die Tiere in Geschwindigkeit und Ausdauer eingeschränkt waren, benutzten sie am Tag häufiger ihr Laufrad. Nach ca. 12 Tagen war die Anzahl der Laufperioden wieder auf Ausgangsniveau, mit einer leichten Erhöhung in den Gruppen der Infarkttiere (Abb. 4-8).

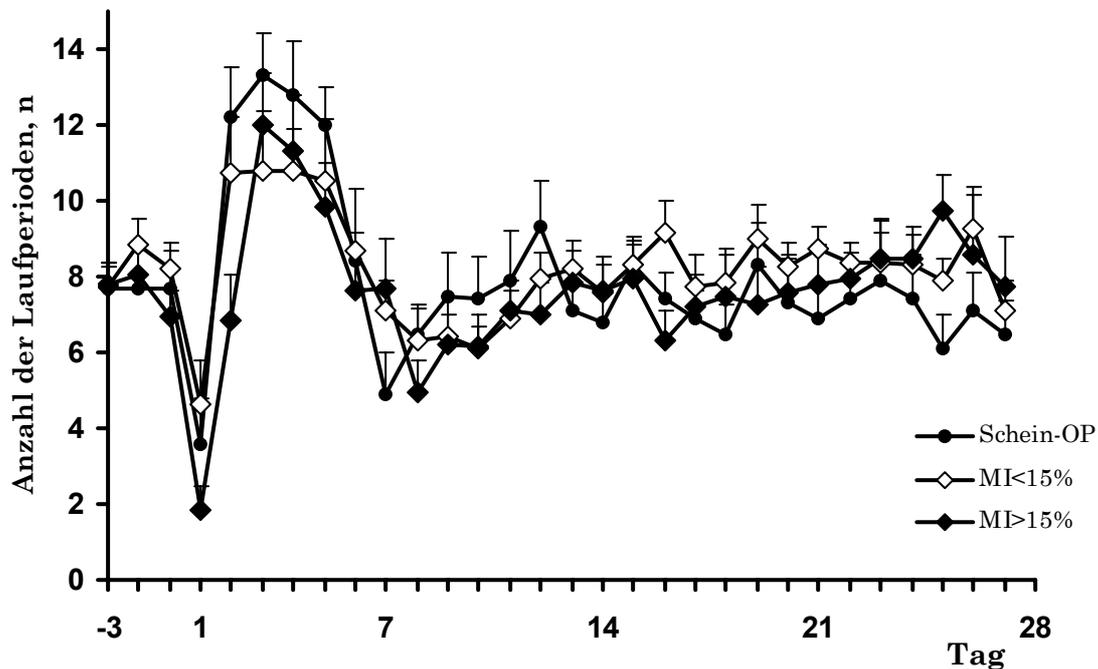


Abb. 4-8: Anzahl der Laufperioden am Tag, dargestellt 3 Tage vor der Operation und bis 28 Tage danach, in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM, Schein-OP n=10, MI<15% n=14, MI>15% n=14.

4.1.4.1.5 Gesamtlaufzeit

Die Zeit pro Tag, die die Hamster in ihrem Laufrad verbrachten, stieg relativ schnell nach der Operation wieder an. Sie war bei scheinoperierten Tieren nach 12 Tagen wieder nahezu am Ausgangswert und bei Tieren mit großem Myokardinfarkt stärker und bei Tieren mit kleinem Myokardinfarkt weniger stark eingeschränkt (Abb. 4-9).

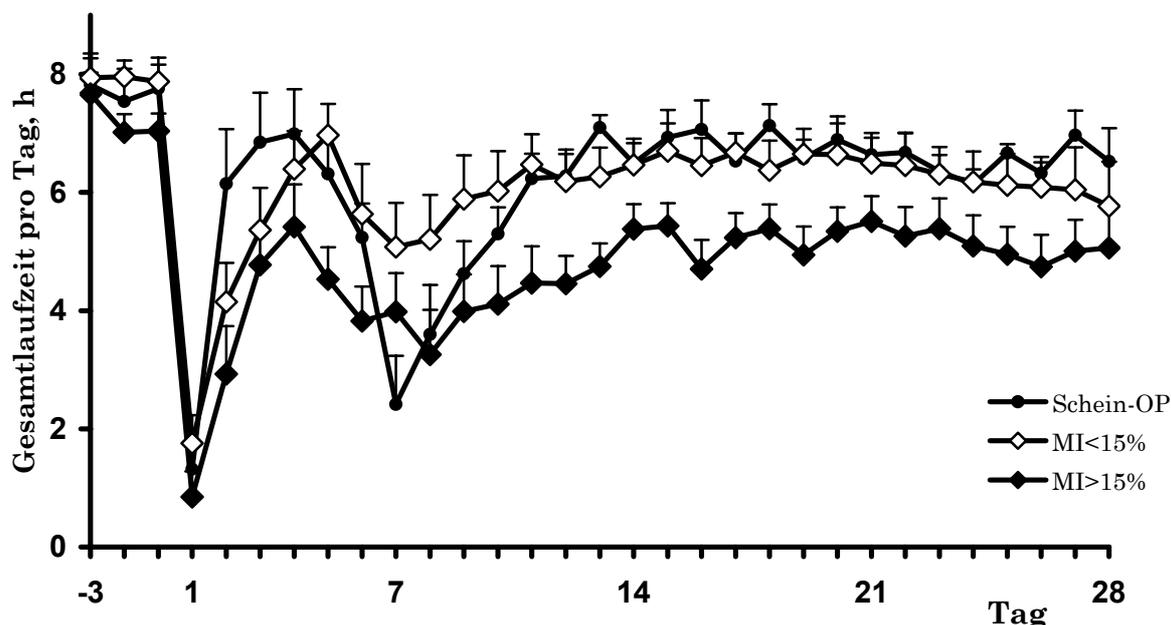


Abb. 4-9: Gesamte aktive Zeit der Tiere im Laufrad pro Tag in Stunden in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM, Schein-OP n=10, MI<15% n=14, MI>15% n=14.

4.1.4.2 Die Laufradparameter im wöchentlichen Mittel

Für die statistische Auswertung wurden die täglichen Einzelwerte der wichtigsten drei Parameter der verschiedenen Gruppen jeweils über eine Woche gemittelt.

Es zeigte sich, dass die gesamte Laufleistung pro Tag bei Tieren mit großem Myokardinfarkt ab der zweiten Woche post OP (6.06 ± 0.87 km; n=14) signifikant gegenüber den scheinoperierten Tieren (9.80 ± 0.64 km; n=10) reduziert war. Ab der dritten Woche wurde diese Differenz noch deutlicher, mit einer durchschnittlichen Gesamtstrecke der Tiere mit großem Myokardinfarkt von 7.65 ± 0.81 km pro Tag (n=14) und einer deutlich besseren Erholung bei den scheinoperierten Tieren mit 12.25 ± 0.78 km pro Tag (n=10). In den Wochen zwei und drei war die Laufleistung der Tiere mit großem Infarkt auch gegenüber der

Ergebnisse

Leistung der Tiere mit kleinen Infarkten (9.55 ± 0.96 bzw. 10.55 ± 0.92 ; $n=14$) signifikant reduziert (Abb. 4-10).

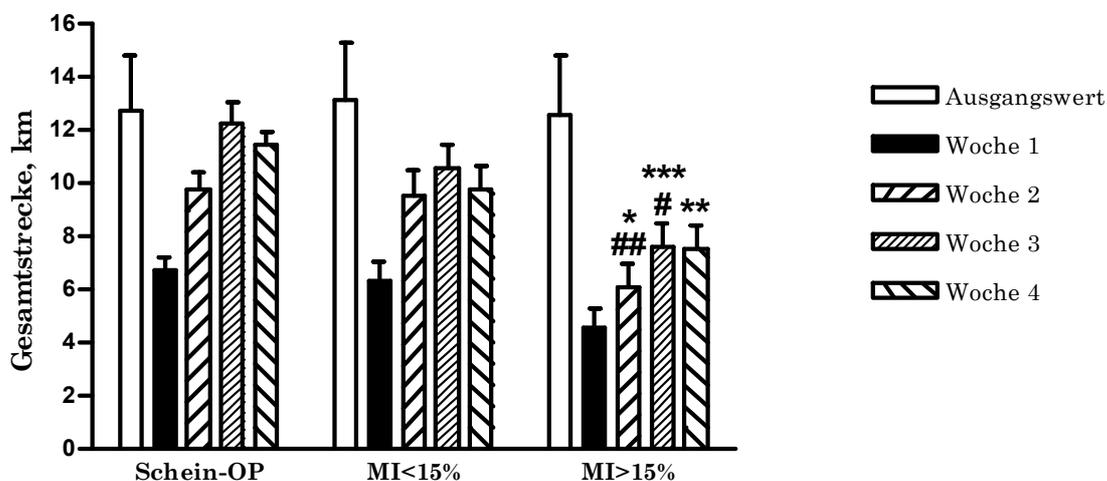


Abb. 4-10: Gesamtstrecke in km im wöchentlichen Mittel der Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt (MI). MW \pm SEM; *: $p<0,05$ vs. Schein-OP, **: $p<0,01$ vs. Schein-OP, ***: $p<0,001$ vs. Schein-OP, #: $p<0,05$ vs. MI<15%, ##: $p<0,01$ vs. MI<15%; Schein-OP $n=10$, MI<15% $n=14$, MI>15% $n=14$.

Die wöchentlichen Mittelwerte der Spitzengeschwindigkeit unterschieden sich in den einzelnen Gruppen nicht so stark voneinander, waren aber so wenig gestreut, dass es ab der zweiten Woche zu einer signifikanten Reduktion der Spitzengeschwindigkeit in der Gruppe der großen Myokardinfarkte (2.20 ± 0.12 km/h; $n=14$) gegenüber den scheinoperierten Tieren (2.75 ± 0.04 km/h; $n=10$) kam (Abb. 4-11).

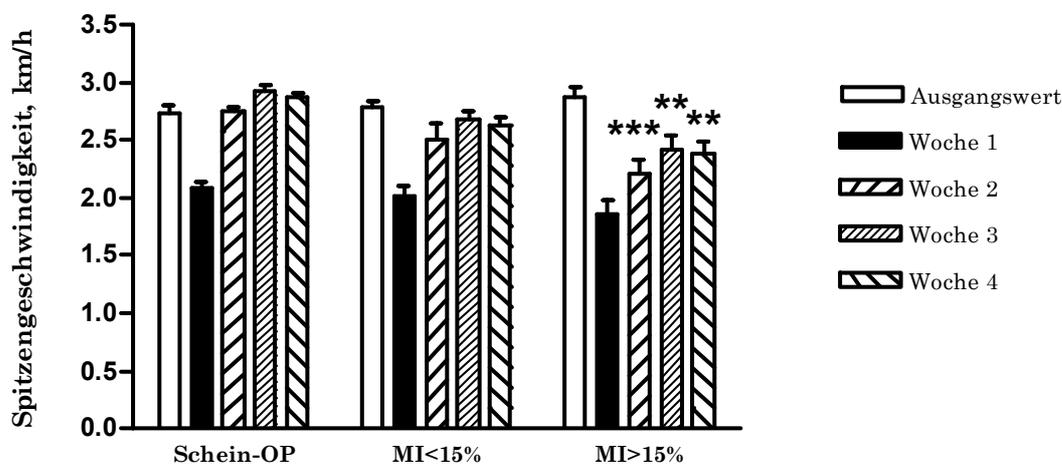


Abb. 4-11: Spitzengeschwindigkeit in km/h im wöchentlichen Mittel der Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM; **: $p<0,01$ vs. Schein-OP, ***: $p<0,001$ vs. Schein-OP; Schein-OP $n=10$, MI<15% $n=14$, MI>15% $n=14$.

Ergebnisse

Die weiteste tägliche Laufperiode war ab der dritten Woche bei den Tieren mit großen Myokardinfarkten (3.59 ± 0.61 km; $n=14$) signifikant gegenüber den scheinoperierten Tieren (6.00 ± 0.68 km; $n=10$) erniedrigt (Abb. 4-12).

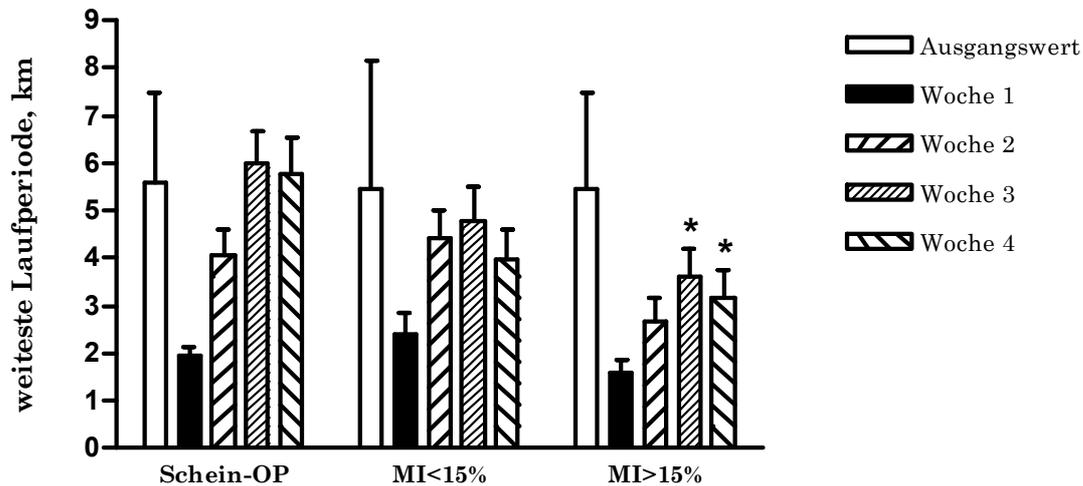


Abb. 4-12: Weiteste tägliche Laufperiode in km im wöchentlichen Mittel der Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM; *: $p < 0,05$ vs. Schein-OP; Schein-OP $n=10$, MI<15% $n=14$, MI>15% $n=14$.

4.1.4.3 Das Aktogramm

Um die tägliche Aktivität im Laufrad sichtbar darzustellen, wurde am Tag 28 nach Myokardinfarkt von jedem einzelnen Hamster ein Aktogramm erstellt. Die Tiere mit Myokardinfarkt zeigten ein mehr fragmentiertes Aktivitätsverhalten als scheinoperierte Tiere. Dabei wiesen Tiere mit großen Infarkten im Mittel noch kürzere Aktivitätsperioden und eine höhere Anzahl an Pausen auf als Tiere mit kleinen Infarkten (Abb. 4-13).

Ergebnisse

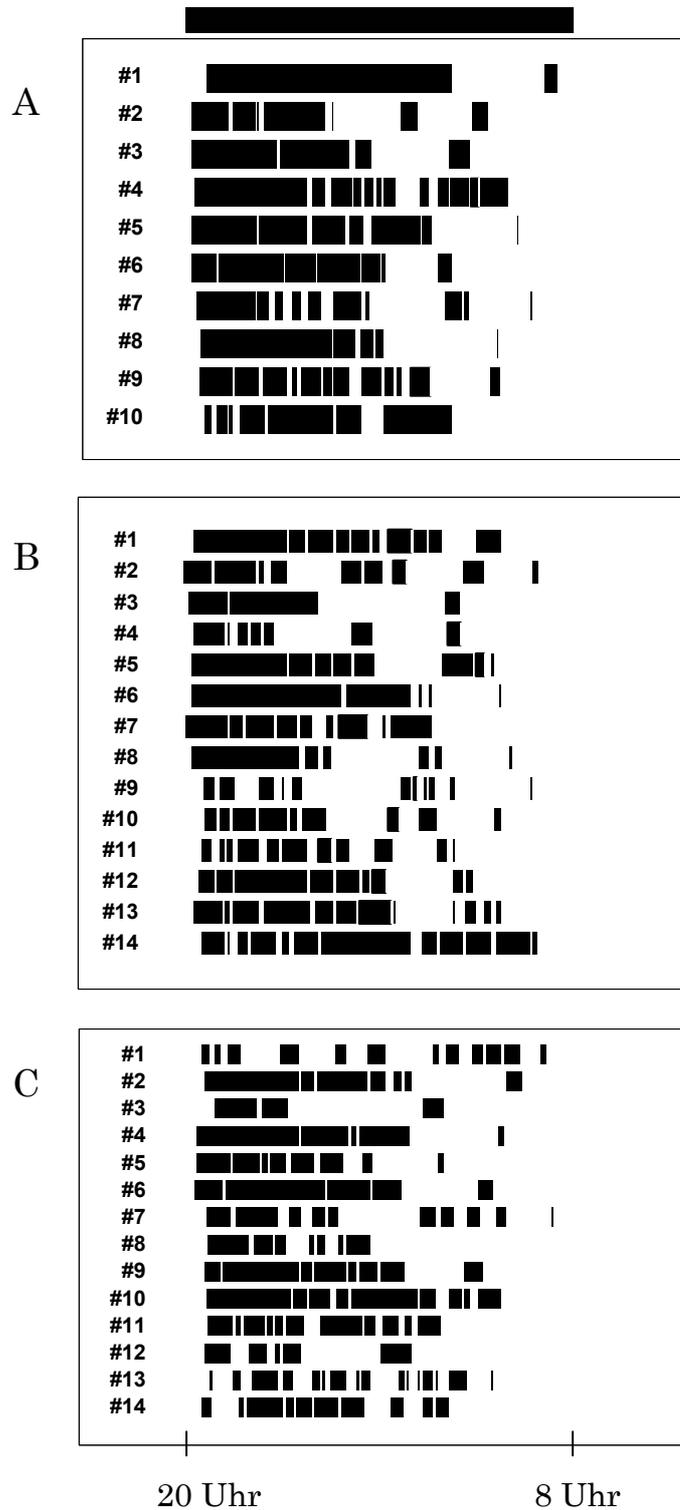


Abb. 4-13: Laufleistungs-Aktogramm am Tag 28 nach der Operation von jedem einzelnen Hamster in den Gruppen Scheineroperiert (A), kleiner (B) und großer (C) Myokardinfarkt. Der schwarze Balken oberhalb des Diagramms zeigt die Dunkelperiode (12h) an. Schwarze Balken in den einzelnen Linien stehen für Laufleistungsaktivität, weiße Balken stellen Pausen dar.

4.1.4.4 Korrelation zwischen Laufleistung und Infarktgröße

Zur Untersuchung, inwieweit die Unterschiede in den Laufleistungsparametern von den Infarktgrößen abhängig waren, wurden Korrelationen zwischen Gesamtstrecke und Spitzengeschwindigkeit auf der einen und Infarktgröße auf der anderen Seite errechnet. Dazu wurden die Durchschnittswerte der Laufleistungsparameter in der vierten Woche nach Myokardinfarkt der Tiere aller Gruppen gegen die jeweilige Infarktgröße aufgetragen.

Die Gesamtstrecke in km pro Tag korrelierte negativ mit der Infarktgröße mit einem Korrelationskoeffizienten von $r=-0,503$ (Abb. 4-14).

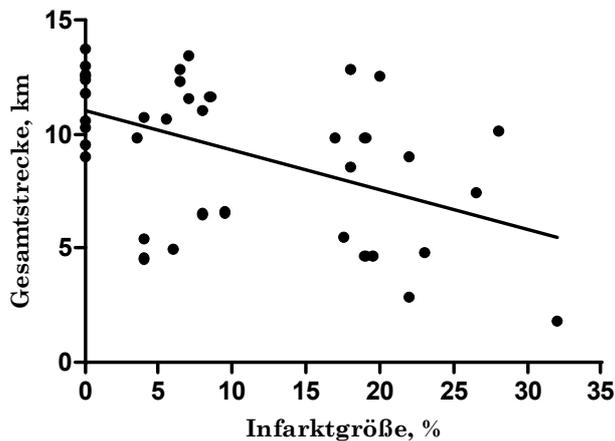


Abb. 4-14: Die Korrelation der durchschnittlichen Gesamtstrecke in km pro Tag in der 4. Woche nach Operation und der Infarktgröße in % aller untersuchten Tiere (n=38). Korrelationskoeffizient $r=-0,503$.

Die Spitzengeschwindigkeit korrelierte ebenfalls negativ mit der Infarktgröße, mit einem Korrelationskoeffizienten von $r=-0,558$ (Abb. 4-15).

Ergebnisse

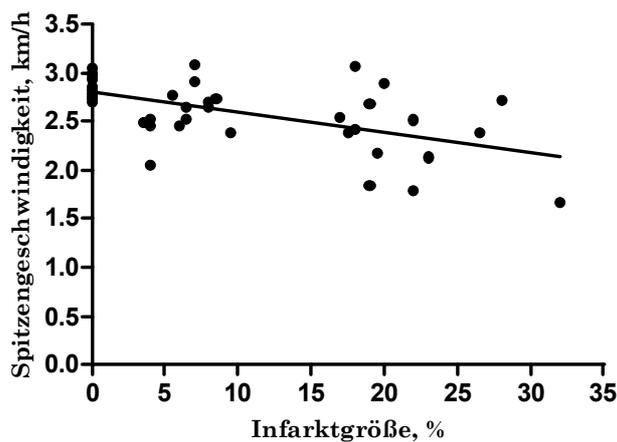


Abb. 4-15: Die Korrelation der durchschnittlichen Spitzengeschwindigkeit in km/h in der 4. Woche nach Operation und der Infarktgröße in % aller untersuchten Tiere (n=38). Korrelationskoeffizient $r=-0,558$.

4.1.5 Ergebnisse der Hämodynamik

Im Finalversuch wurden *in-vivo* die hämodynamischen Parameter der einzelnen Tiere bestimmt, um eine Aussage über die linksventrikulären Druckverhältnisse und Kontraktionsfähigkeit zu bekommen.

Der linksventrikuläre maximale Druck war in der Gruppe der Tiere mit kleinen Infarkten etwas ($109 \pm 4,2$ mmHg; n=12) und in der Gruppe mit großen Infarkten tendenziell stärker erniedrigt ($102 \pm 4,0$ mmHg; n=14) gegenüber den scheinoperierten Tieren ($117 \pm 4,3$ mmHg; n=8) (Abb. 4-16).

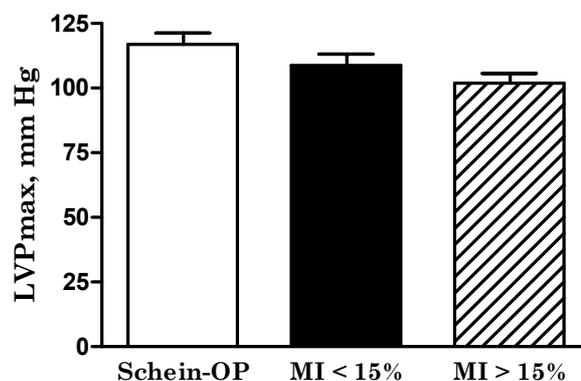


Abb. 4-16: Linksventrikulärer systolischer Druck (LVPmax) in mmHg gemessen 28 Tage post OP in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM; Schein-OP n=8, MI<15% n=12, MI>15% n=14.

Ergebnisse

Der linksventrikuläre enddiastolische Druck betrug bei den Scheinoperierten $5,0 \pm 3,2$ mmHg (n=8), bei den Tieren mit kleinen Infarkten $9,2 \pm 6,9$ mmHg (n=12) und bei den Tieren mit großen Infarkten $14 \pm 6,2$ mmHg (n=14) und war damit in der Gruppe der Tiere mit großen Myokardinfarkten hoch signifikant gegenüber den Scheinoperierten erhöht (Abb. 4-17).

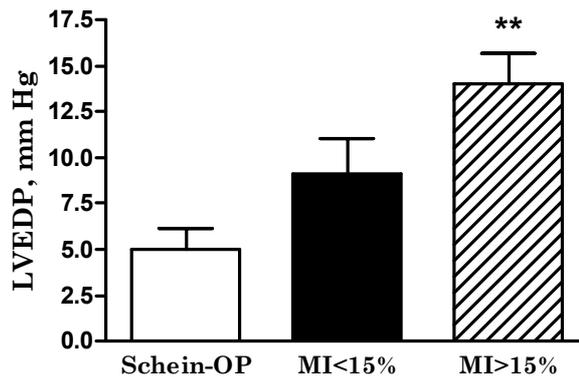


Abb. 4-17: Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP) in mmHg gemessen 28 Tage post OP in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM; **: $p < 0,01$ vs. Schein-OP; Schein-OP n=8, MI<15% n=12, MI>15% n=14.

Die beiden Parameter, die als Maß für die Kontraktilität des linken Ventrikels gemessen wurden, waren die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}) und die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt_{min}). Beide Parameter waren in der Gruppe der Tiere mit kleinen Infarkten leicht und in der Gruppe der Tiere mit großen Infarkten hoch signifikant verschlechtert.

Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit betrug bei den scheinoperierten Tieren $7,80 \cdot 10^3 \pm 0,76 \cdot 10^3$ mmHg/s (n=8), in der Gruppe mit kleinen Infarkten $6,37 \cdot 10^3 \pm 0,40 \cdot 10^3$ mmHg/s (n=12) und in der Gruppe mit großen Infarkten $5,01 \cdot 10^3 \pm 0,30 \cdot 10^3$ mmHg/s (n=14) (Abb. 4-18).

Ergebnisse

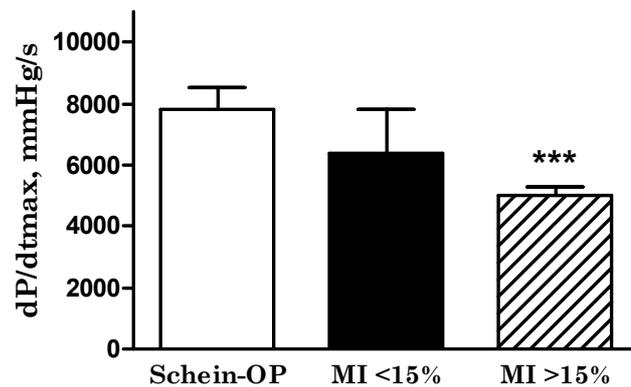


Abb. 4-18: Maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}) gemessen 28 Tage post OP in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM; ***: $p < 0,001$ vs. Schein-OP; Schein-OP $n=8$, MI<15% $n=12$, MI>15% $n=14$).

Die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit betrug bei den scheinoperierten Tieren $-5,95 \cdot 10^3 \pm 0,66 \cdot 10^3$ mmHg/s ($n=8$), in der Gruppe mit kleinen Infarkten $-4,79 \cdot 10^3 \pm 0,42 \cdot 10^3$ mmHg/s ($n=12$) und in der Gruppe mit großen Infarkten $-3,85 \cdot 10^3 \pm 0,27 \cdot 10^3$ mmHg/s ($n=14$) (Abb. 4-19).

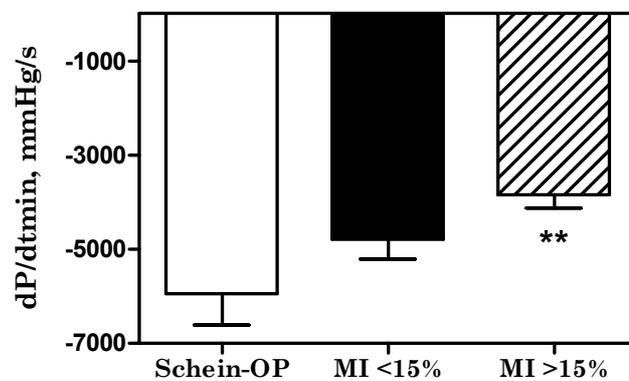


Abb. 4-19: Maximale Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt_{min}) gemessen 28 Tage post OP in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt. MW \pm SEM; **: $p < 0,01$ vs. Schein-OP; Schein-OP $n=8$, MI<15% $n=12$, MI>15% $n=14$).

4.1.6 Hydroxyprolin/Prolin-Verhältnis

Das Hydroxyprolin/Prolinverhältnis wurde als Maß für die Fibrosierung des Gewebes gemessen. Durch eine Kaskade von Entzündungsmediatoren werden Fibroblasten im insuffizienten Herzen aktiviert, in welchen über eine Hydroxylierung von Prolin zu Hydroxyprolin letztlich eine Vorstufe des Kollagens gebildet wird. Zur Bestimmung der Fibrosierung des Herzmuskels wurde das Verhältnis von Hydroxyprolin zu Prolin im nichtinfarzierten Myokard gemessen. Dabei wurde eine signifikante Erhöhung des Hydroxyprolingehaltes im Vergleich zum Prolingehalt des Myokards festgestellt. Es war also auch im nicht direkt infarzierten Herzmuskel eine Fibrosierung und eine Zunahme des Kollagens festzustellen (Tab. 4-4).

	Schein-OP	Myokardinfarkt
Hydroxyprolin/Prolin	0,111 ± 0,006	0,133 ± 0,008*

Tab. 4-4: Das Verhältnis von Hydroxyprolin zu Prolin in den Gruppen Scheinoperiert, kleiner und großer Myokardinfarkt 2 Wochen post OP. MW ± SEM; * p<0,05 vs. Schein-OP; Schein-OP n=10, Myokardinfarkt n=14.

4.2 Behandlungsstudie

4.2.1 Infarktgröße

Die Infarktgrößen, die 28 Tage post OP gemessen wurde, waren in allen Gruppen ungefähr gleich. Bei den Tieren aus der Placebogruppe lagen sie bei $17,5 \pm 2,39$ %, die Tiere mit Ramiprilbehandlung hatten eine durchschnittliche Infarktgröße von $15,8 \pm 1,09$ % und die Infarktgröße der Tiere aus der Behandlungsgruppe mit AVE 7688 lag bei $16,7 \pm 1,86$ %.

Ergebnisse

4.2.2 Ergebnisse der Laufradstudie

Bei den Ergebnissen der Laufradleistung wurden die täglichen Einzelwerte der wichtigsten drei Parameter der verschiedenen Gruppen jeweils über eine Woche gemittelt. Bei allen Parametern erkennt man einen Trend, bedingt durch die geringe Gruppengröße gibt es allerdings in keinem Fall signifikante Unterschiede. Die n-Zahl der Gruppen wurde dann aber bewusst nicht erhöht, da die hohe intra-operative Mortalität gegen die weitere Anwendung dieses Modells sprach.

Gesamtstrecke

In der vierten Woche nach OP war die Gesamtstrecke in km pro Tag in der Placebogruppe gegenüber den scheinoperierten Tiere erniedrigt. Die Tiere mit Ramipril-Behandlung erreichten fast die gleiche Gesamtstrecke wie die Gruppe der Scheinoperierten. Die Tiere mit AVE 7688 Behandlung waren etwas schlechter, aber auf jeden Fall erreichten sie tendenziell eine größere Gesamtstrecke als die Placebo-behandelten Tiere.

	Schein-OP	Placebo	Ramipril	AVE 7688
Ausgangswert	11,66 ± 0,94	13,19 ± 1,02	12,38 ± 1,04	13,40 ± 1,02
Woche 1	4,44 ± 1,00	3,84 ± 1,03	4,38 ± 1,81	4,84 ± 0,86
Woche 2	8,86 ± 1,07	6,53 ± 1,79	9,69 ± 1,07	8,93 ± 0,33
Woche 3	10,91 ± 0,89	7,69 ± 1,73	11,40 ± 1,84	10,91 ± 1,14
Woche 4	10,93 ± 0,64	7,92 ± 1,22	10,40 ± 2,90	9,65 ± 1,07

Tab. 4-5: Gesamtstrecke in km im wöchentlichen Mittel der Gruppen Scheinoperiert, Placebo, Ramipril (1 mg/kg/d) behandelt und AVE 7688 (10 mg/kg/d) behandelt. MW ± SEM; Schein-OP n=9, Placebo n=4, Ramipril n=3, AVE 7688 n=3.

Ergebnisse

Spitzengeschwindigkeit

Die maximal erreichbare Spitzengeschwindigkeit war in der Placebogruppe gegenüber den scheinoperierten Tieren reduziert. Die Behandlung mit Ramipril zeigte tendenziell eine Verbesserung der Spitzengeschwindigkeit gegenüber Placebo-behandelten Tieren, während die Behandlung mit AVE 7688 keine Verbesserung der Spitzengeschwindigkeit bewirkte.

	Schein-OP	Placebo	Ramipril	AVE 7688
Ausgangswert	2,55 ± 0,11	2,69 ± 0,04	2,60 ± 0,10	2,77 ± 0,06
Woche 1	1,64 ± 0,14	1,68 ± 0,20	1,60 ± 0,28	1,77 ± 0,20
Woche 2	2,50 ± 0,08	2,19 ± 0,13	2,46 ± 0,05	2,28 ± 0,03
Woche 3	2,76 ± 0,07	2,35 ± 0,18	2,68 ± 0,10	2,40 ± 0,17
Woche 4	2,72 ± 0,07	2,40 ± 0,16	2,65 ± 0,10	2,32 ± 0,15

Tab. 4-6: Spitzengeschwindigkeit in km/h im wöchentlichen Mittel der Gruppen Scheinoperiert, Placebo, Ramipril behandelt (1 mg/kg/d) und AVE 7688 behandelt (10 mg/kg/d). MW ± SEM; Schein-OP n=9, Placebo n=4, Ramipril n=3, AVE 7688 n=3.

Ergebnisse

Weiteste Laufperiode

Die weiteste Laufperiode ohne Pause war in der Placebogruppe gegenüber den scheinoperierten Tieren reduziert. Bei beiden Behandlungen wurde eine tendenzielle Verbesserung der weitesten Laufperiode erreicht.

	Schein-OP	Placebo	Ramipril	AVE 7688
Ausgangswert	6,06 ± 1,07	7,24 ± 1,04	5,98 ± 0,86	8,60 ± 0,30
Woche 1	1,26 ± 0,27	1,22 ± 0,36	1,43 ± 0,55	1,35 ± 0,38
Woche 2	3,69 ± 0,68	2,25 ± 0,50	5,08 ± 1,84	3,99 ± 0,86
Woche 3	4,38 ± 0,55	2,92 ± 0,83	5,49 ± 1,37	5,29 ± 1,07
Woche 4	4,75 ± 0,74	2,62 ± 0,37	4,03 ± 1,30	4,12 ± 1,19

Tab. 4-7: Weiteste Laufperiode in km im wöchentlichen Mittel der Gruppen Scheinoperiert, Placebo, Ramipril behandelt (1 mg/kg/d) und AVE 7688 behandelt (10mg/kg/d). MW ± SEM; Schein-OP n=9, Placebo n=4, Ramipril n=3, AVE 7688 n=3.

5 Diskussion

Das Thema dieser Arbeit war, ein neues Tiermodell der chronischen Herzinsuffizienz zu entwickeln, in dem die reduzierte Leistungsfähigkeit analysiert wird.

Während in klinischen Studien die reduzierte Leistungsfähigkeit sowohl als Marker für die Schwere der Herzinsuffizienz als auch für prognostische Aussagen zur Mortalität verwendet wird, existiert bisher kein etabliertes Tiermodell auf dieser Grundlage.

Bislang wird in Tiermodellen der Erfolg einer medikamentösen Therapie schwerpunktmäßig durch die Verbesserung der linksventrikulären Funktion bestimmt. Die Komplexität des Syndroms Herzinsuffizienz macht es allerdings notwendig, dass nicht nur dieser einzelne Messparameter erfasst wird. Schließlich ist die Herzinsuffizienz eine multisystemische Erkrankung, die das Herz, die Nieren, neurohormonale Veränderungen, die periphere Durchblutung und metabolische Veränderungen in der Skelettmuskulatur einschließt. Da bisher kein perfektes Tiermodell entwickelt wurde, das praktikabel ist und alle Aspekte der menschlichen Herzinsuffizienz vereinen kann, ist die Messung der reduzierten Leistungsfähigkeit eine ideale Ergänzung der vorhandenen Modelle.

5.1 Leistungsfähigkeit in klinischen Studien zur chronischen Herzinsuffizienz

In internationalen Studien zur chronischen Herzinsuffizienz spielt die Leistungsfähigkeit der Patienten eine große Rolle. Schon für den Einschluss der Patienten in die Studie ist die NYHA-Klassifikation neben der Ejektionsfraktion eins der wichtigsten Kriterien. Über diese Einteilung in die NYHA-Klassifikation wird die Schwere der Herzinsuffizienz vor Studienbeginn bestimmt (CONSENSUS Study Group 1987; Packer et al. 2002). Außerdem wird eine Verbesserung der funktionalen NYHA-Klasse (Hjalmarson & Fagerberg 2000),

oder die Verbesserung bei körperlichen Belastungstests (Rouleau et al. 2001) als primärer Endpunkt einer Studie angesehen. Damit kann der eventuelle Behandlungserfolg eines neuen Medikamentes bewiesen werden.

Auch als wichtiger prognostischer Faktor für die Mortalität ist eine Einschränkung der körperlichen Belastung in klinischen Studien anerkannt, wobei die Senkung der Mortalität als sekundärem Endpunkt das Ziel der Herzinsuffizienztherapie darstellt.

In klinischen Studien wurde bewiesen, dass genau wie die zurückgelegte Strecke im 6-Minuten-Gehtest (Bittner et al. 1993) auch die maximale Sauerstoffaufnahme bei der Spiroergometrie (Corra et al. 2006) zusätzlich zur linksventrikulären Ejektionsfraktion unabhängige prognostische Aussagen über Mortalität und Morbidität geben kann. Bei chronischer Herzinsuffizienz mit erhaltener linksventrikulärer Funktion, wie sie häufig bei Frauen auftritt (Martinez-Selles et al. 2003), ist somit die Einschränkung der körperlichen Belastung der wichtigste prognostische Faktor (Jones et al. 2004).

5.2 Die Koronarligatur zur Induktion einer chronischen Herzinsuffizienz im Tiermodell

5.2.1 Allgemeine Bedeutung

In den meisten Tiermodellen wird der Myokardinfarkt zur Erzeugung einer chronischen Herzinsuffizienz benutzt, da er auch beim humanmedizinischen Patienten mit die häufigste Ursache für die Herzinsuffizienz ist (Ho et al. 1993). Ursprünglich von Pfeffer als Modell bei Ratten beschrieben (Pfeffer et al. 1979) wird das Verfahren der durch Herzinfarkt induzierten Herzinsuffizienz heute an vielen Tierarten, wie Mäusen, Ratten, Kaninchen und Hunden angewandt, und gehört zum Standard der Tiermodelle in der chronischen Herzinsuffizienz (Michael et al. 1995; Rungwerth et al. 2004, Itter et al. 2004).

In diesen Modellen wird der Hauptast der linken Koronararterie nach dem Ursprung aus der Aorta ligiert und es kommt zur Ischämie in großen Teilen der

freien Wand des linken Ventrikels unter Einbeziehung der Herzspitze. Nach sehr schnell einsetzenden Remodelling-Prozessen kommt es zur Einschränkung der Kontraktionskraft des Herzens und zu den vielfältigen neurohormonalen Anpassungsvorgängen. Die Tiere entwickeln eine chronische Herzinsuffizienz (Siehe Kap. 2.2.2).

5.2.2 Der Hamster

5.2.2.1 Besonderheiten der Koronararterie

Obwohl der experimentelle Myokardinfarkt beim Hamster beschrieben wurde (Jin et al. 2001), gibt es doch einige anatomische Besonderheiten der Koronararterie, die die Induktion eines Herzinfarktes erschweren.

Zunächst einmal verläuft die Koronararterie beim Hamster direkt nach ihrem Ursprung aus der Aorta im Vergleich zu anderen Spezies intramural und nicht epimyokardial und ist daher bei geöffnetem Thorax nicht sichtbar (Sans-Coma et al. 1993).

Zum anderen gibt es Studien über die Anomalien beim Hamster im Verlauf der Koronararterien. Es gibt speziell gezüchtete Familien, die für vererbte Anomalien der Koronararterie bekannt sind, und an denen Studien zur Morphologie von Koronararterien, Herzklappen und Aortenklappen vorgenommen werden (Cardo et al. 1994).

Bei einem normalen Muster entspringt die linke Koronararterie aus dem Bulbus aortae und teilt sich individuell unterschiedlich in drei oder vier Gefäße: einen Ramus interventrikularis, der am stumpfen Rand des Ventrikels nahe des Septums entlangläuft, einen Ramus circumflexus, der parallel zum Vorhof am dorsalen Rand des Ventrikels verläuft und einen Ramus ventrikularis dorsalis, der schräg über die gesamte freie Fläche des linken Ventrikels läuft. Zusätzlich tritt bei vielen Tieren ein Ramus interventrikularis ventralis auf, der die verschiedensten Verlaufsformen haben kann. Entweder existiert er nur im dorsalen Drittel des Ventrikels, oder aber er verläuft stark entwickelt bis zum Apex. Die linke Koronararterie kann sich aber auch als ganz anderes Muster

kurz nach ihrem Ursprung fächerartig über den gesamten Ventrikel ausbreiten (Sans-Coma et al. 1993). Damit ist die linke Koronararterie des Hamsters deutlich verzweigter als beispielsweise bei der Maus, bei der in den meisten Fällen nur ein bedeutender Ast der linken Koronararterie auftritt, oder sie sich einmal distal des linken Herzohres verzweigt (Michael et al. 1995).

In dem vorliegenden Modell wurde der Ramus ventrikularis dorsalis der Koronararterie ligiert, der über die freie Wand des linken Ventrikels bis zur Herzspitze läuft. Durch die unterschiedlichen Verlaufsformen und die starke Verzweigung der Koronararterie konnte nicht immer ein geeigneter Myokardinfarkt von über 15% Größe erzeugt werden.

5.2.2.2 Herzinsuffizienzsymptome

Ab einer Infarktgröße von 15 % entwickelten die Hamster relativ schnell eine mittelschwere chronische Herzinsuffizienz, die etwa einem Schweregrad NYHA II-III entsprach. Das zeigte sich schon nach zwei Wochen in signifikanten Veränderungen der echokardiographischen Parameter. Die Tiere befanden sich bereits im Stadium der Dekompensation mit beginnender ventrikulärer Dilatation. Die freie Wand des Ventrikels war deutlich verdünnt und der Durchmesser des linken Ventrikels vor allem zum Zeitpunkt der Systole erweitert. Der enddiastolische Durchmesser war nur leicht erweitert, wahrscheinlich hätte man zu einem späteren Zeitpunkt eine stärkere enddiastolische Dilatation feststellen können. Die Kontraktionsfähigkeit war stark vermindert, der Ventrikel konnte sich in der Systole kaum kontrahieren. Auch an einem signifikant verschlechterten Fractional Shortening wurde die verminderte Kontraktionsfähigkeit deutlich. Die Tiere mit kleinerem Infarkt hatten keine so deutliche Dilatation des linken Ventrikels, waren aber in ihrer Kontraktionsfähigkeit auch schon eingeschränkt.

Diese echokardiographischen Daten passen zu den in der Literatur beschriebenen von gesunden (Salemi et al. 2005) und kardiomyopatischen syrischen Hamstern (Iwanaga et al. 2004).

Diskussion

Nach vier Wochen konnte festgestellt werden, dass das Herzgewicht der infarzierten Tiere signifikant zugenommen hatte. Durch die Hypertrophie kam es zu einer Erhöhung des absoluten Herzgewichtes sowie zu einer tendenziellen, aber nicht signifikanten Erhöhung des Herzgewichtes im Verhältnis zum Körpergewicht. Durch die Dilatation, bedingt durch Unterversorgung des hypertrophierten Myokards, kam es dann zur Verschlechterung der Kontraktion.

Auch bei der abschließenden Herzkatheterisierung nach vier Wochen zeigten sich bei Tieren mit großen Myokardinfarkten die hämodynamischen Veränderungen einer chronischen Herzinsuffizienz. Der linksventrikuläre maximale Druck war mit steigender Infarktgröße leicht vermindert, was durch die Dilatation und mangelnde Kontraktilität und Elastizität des Ventrikels zustande kam. Der enddiastolische Druck war im Verhältnis zu den scheinoperierten Tieren erhöht, da durch die verminderte Pumpkraft das endsystolische und enddiastolische Volumen zugenommen hatte. Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit, als Maß für die systolische Kontraktion, und die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit, als Maß für die diastolische Relaxation, waren durch die verminderte Kontraktilität des Herzens in der Gruppe der großen Infarkte hoch signifikant verschlechtert.

Bei diesen hämodynamischen Messungen muss, wie bei den echokardiographischen Daten auch, beachtet werden, dass die Untersuchungen grundsätzlich unter Narkose durchgeführt werden mussten, welche die Messdaten beeinflusst. Obwohl speziell Isofluran als Narkotikum ausgewählt wurde, da es kaum kardiodepressiv wirkt, führt es doch durch Vasodilatation zu einer leichten sekundären Hypotension und kann die Messdaten verändern.

Bei der Untersuchung der Fibrosierung des Gewebes wurde nach vier Wochen eine signifikante Zunahme der Kollagenvorstufe Hydroxyprolin festgestellt. Es kam also auch im nicht direkt infarzierten Myokard durch Remodelling-Prozesse zu Bindegewebszubildung.

5.3 Die Laufleistung als Parameter im Tiermodell

Die Laufleistung konnte als einziger Parameter durchgängig vor und nach der Operation gemessen werden und damit ein lückenloses Bild über den Verlauf der Leistungseinschränkung geben. Durch die Auswahl der verschiedenen Parameter konnte die Art des Laufens genau charakterisiert werden.

Die Gesamtstrecke, als Maß für die gesamte Leistungsfähigkeit der Tiere, liegt als Ausgangswert beim gesunden Hamster bei erstaunlich gleichmäßigen 13 km pro Tag. Als Resultat der Herzinsuffizienz reduziert sie sich je nach Infarktgröße um bis zu 50%. Als Maß für die maximale Leistungsfähigkeit wurde die Spitzengeschwindigkeit der Tiere ermittelt. Bei herzinsuffizienten Tieren ist sie um ca. 20% eingeschränkt. Die weiteste Laufperiode wurde als Maß für die Ausdauer beurteilt. Sie ist in der Herzinsuffizienz um ca. 40% eingeschränkt.

Interessant ist ein Vergleich mit der Einschränkung der Laufleistung beim alten Hamster, den Penev et al. im Unterschied zum jungen Hamster untersucht haben (Penev et al. 1997). Hier ist die Ausdauer deutlich stärker eingeschränkt. Die älteren Hamster mit 17 bis 18 Monaten erreichen nur ca. 35% der Laufstrecke am Stück im Vergleich zu jungen, 3 Monate alten Hamstern. Sie müssen deutlich häufiger Pausen machen. Die maximale Leistungsfähigkeit ist bei den älteren Tieren allerdings gar nicht eingeschränkt. Sie erreichen die gleiche Spitzengeschwindigkeit wie die jüngeren Tiere, nur in der Durchschnittsgeschwindigkeit sind sie deutlich langsamer. Die maximale Leistungsfähigkeit scheint also ein Parameter zu sein, der eindeutig als Marker einer eingeschränkten Herzfunktion bei Herzinsuffizienz zuzuordnen ist.

Das Aktogramm (S. 54) zeigt noch einmal anschaulich den Tagesverlauf der Aktivität. Die Aktivität ist sowohl beim scheinoperierten Tier als auch bei den Tieren mit Herzinsuffizienz ausschließlich auf die Dunkelperiode beschränkt. Tiere mit größeren Infarkten absolvieren dabei nur kürzere Aktivitätsintervalle im Rad und brauchen dann immer wieder auch Pausen, während die scheinoperierten Tiere längere Zeit am Stück laufen und zwischendurch meist nur kürzere Pausen einlegen. Dieser Unterschied ist laut Penev et al. auch bei

jungen und alten Hamstern zu beobachten und ist bei diesen sogar noch stärker ausgeprägt.

Um den Zusammenhang zwischen Infarktgröße und Laufleistung herauszustellen, wurden die Korrelationen sowohl zwischen Gesamtstrecke und Infarktgröße als auch zwischen Spitzengeschwindigkeit und Infarktgröße untersucht. In beiden Fällen waren die Korrelationen mäßig bis gut. Es zeigte sich in jedem Fall, dass ein Zusammenhang zwischen der Laufleistung und der Infarktgröße besteht. Allerdings ist die Laufleistung, und damit der Schwere der Herzinsuffizienz, auch noch von anderen Faktoren als der reinen Infarktgröße abhängig. Ganz individuelle Kompensationmechanismen der einzelnen Tiere spielen dabei auch eine Rolle.

5.4 Die Behandlung mit Ramipril und AVE 7688

In der Behandlungsstudie lassen sich keine endgültigen Aussagen über die Substanzwirkungen treffen, da durch die hohe Mortalität die Gruppengrößen mit drei bis vier Tieren zu klein sind. Für eine Herzinsuffizienzstudie ist eine Gruppengröße von 12-15 Tieren wünschenswert, da es immer zu einer unterschiedlichen Ausprägung der Symptome dieses komplexen Syndroms kommen kann. Da aber auch verschiedene therapeutische Ansätze keine Verbesserung gezeigt haben, die akute Mortalität von ca. 65% zu reduzieren, wurde die Tierzahl nicht weiter erhöht.

Es wird aber in dieser Studie eine Tendenz deutlich, dass die Leistungsfähigkeit unter Behandlung verbessert werden kann. Diese Verbesserung ist in der Ramipril-behandelten Gruppe deutlicher ausgeprägt als in der AVE 7688-behandelten Gruppe. Durch ACE-Hemmung bzw. ACE-NEP-Hemmung konnte die Gesamtlaufleistung der Tiere verbessert werden. In der Spitzengeschwindigkeit konnte nur der ACE-Hemmer einen therapeutischen Erfolg aufweisen, aber durch die geringe Gruppengröße lässt sich keine abschließende Aussage treffen.

5.5 Abschließende Betrachtung des Tiermodells

Die Untersuchung der körperlichen Leistungsfähigkeit ist eine ideale Ergänzung bestehender Tiermodelle in der Herzinsuffizienz. Sie ist die einzige Untersuchung, die nicht-invasiv und dauerhaft als Verlaufsuntersuchung fortgeführt werden kann. Das hat natürlich für eine chronisch fortschreitende Erkrankung große Vorteile. Es sind keinerlei Manipulationen an den Tieren notwendig, die auf die Tiere einwirken und die Ergebnisse beeinflussen würden. Es ist die einzige Untersuchung der Herzinsuffizienz, bei der keine Narkose notwendig ist, die die Herzfunktion beeinflusst.

Der Hamster ist grundsätzlich ein geeignetes Tier für die Untersuchung der Laufleistung. Zum einen ist er hochmotiviert ein Laufrad zu benutzen, zum anderen liefert er als junges, gesundes Tier eine gleichmäßige und reproduzierbare Laufleistung mit geringer Variabilität und Beeinflussbarkeit. Im Gegensatz zu anderen Labortieren hat die Laufleistung keinen Einfluss auf die Struktur des Körpers. Das Laufen im Laufrad bewirkt beim Hamster eine generelle Verbesserung der physischen Kondition mit insgesamt Gewichtszunahme aller Organe (Gattermann et al. 2004). Im Gegensatz dazu ist bei anderen Spezies beschrieben, dass es beim Anbieten eines Laufrades zur Abnahme der Körpermasse mit Verschlechterung der physischen Kondition kommt (Dewsbury 1980).

Die Tiere scheinen allerdings nach der Operation eine so hohe Motivation zu haben, zu laufen, dass einzelne Tiere sich überfordern und an einem plötzlichen Herztod sterben. Wahrscheinlich kommt es durch die körperliche Belastung zu fokalen Ischämien in der Peripherie des infarzierten Myokards. Dadurch entstehen „re-entries“ und es kommt zum Kammerflimmern, das letztendlich zum Tod der Tiere führt. Das würde die Sterblichkeit der Tiere in den ersten Tagen post OP von ca. 8% erklären. Bereits am zweiten Tag post OP laufen sie eine beachtliche Strecke in ihrem Laufrad. Die zurückgelegte Strecke liegt immerhin bei 25% der Ausgangslaufleistung und die Spitzengeschwindigkeit ist um die Hälfte reduziert. Die hohe Motivation ist aber vor allen Dingen daran zu

sehen, dass sie annähernd die doppelte Anzahl an Laufperioden in ihrem Rad absolvieren.

5.6 Ausblick

Obwohl die Messung der Laufleistung beim Hamster sich als nützlicher Parameter in der Charakterisierung der Herzinsuffizienz darstellt, muss das Modell noch verbessert werden. Die Simulation des Myokardinfarkts durch Koronarligatur beim Hamster scheint aufgrund der hohen Mortalität nicht geeignet, in großen pharmakologischen Studien eine Herzinsuffizienz hervorzurufen. Verschiedene therapeutische Maßnahmen, die bei anderen Tieren (Maus, Ratte, Kaninchen, Schwein) sehr protektiv waren, konnten die intraoperative Mortalität beim Hamster nicht senken.

Der nächste Ansatz wäre ein anderes Verfahren die Herzinsuffizienz auszulösen. Dabei stehen als weitere Möglichkeiten die chronische Hypertension durch Aortic Banding oder Transverse Aortic Constriction, oder die toxisch ausgelöste Herzinsuffizienz zur Verfügung. Zusätzlich könnte auch einer der kardiomyopatischen Hamster-Stämme als Tiermodell Verwendung finden. Hierbei handelt es sich um verschiedene Stämme, bei denen durch autosomal rezessive Vererbung gut charakterisierte Kardiomyopathien entstehen. Es gibt sowohl Stämme, die eine dilatative Kardiomyopathie (DCM; TO-2) entwickeln, als auch Stämme mit hypertropher Kardiomyopathie (HCM; BIO 14.6; UMX7.1). In allen Fällen entsteht die Kardiomyopathie durch eine Deletion in den β -sarcoglycan Genen mit fortschreitender Fibronekrose und frühem Tod der Tiere (Sakamoto et al 1997).

6 Zusammenfassung

Die chronische Herzinsuffizienz ist trotz großer Fortschritte in der Diagnostik und ständiger Verbesserung der medikamentösen Therapiemöglichkeiten eins der bedeutendsten Gesundheitsprobleme der westlichen Industrienationen. Demzufolge besteht auch weiterhin Bedarf, den Pathomechanismus der Erkrankung für zusätzliche Therapieansätze lückenlos aufzuklären. Schließlich handelt es sich bei der Herzinsuffizienz um ein komplexes klinisches Syndrom, das sich nach einem primären kardiovaskulären Ereignis erst über verschiedene Pathomechanismen entwickelt. Nach Remodelling-Prozessen auf zellulärer Ebene schließen sich neurohormonale Anpassungsvorgänge an, die zu vielfältigen Veränderungen im gesamten Organismus führen.

Das Ziel dieser Dissertation war es, zur besseren Analyse dieses komplexen Systems, ein zusätzliches Tiermodell zu entwickeln, das neben der reinen Herzfunktion die körperliche Leistungsfähigkeit ins Zentrum der Untersuchung rückt. Schließlich stellt die körperliche Leistungseinschränkung auch beim Patienten ein entscheidendes Symptom der Herzinsuffizienz dar und ist die Grundlage für die Klassifikation der Herzinsuffizienz nach NYHA.

Das Modell sollte auf dem freiwilligen Laufen der Versuchstiere basieren, um Stress-induzierte Artefakte durch forcierte Leistungstests auszuklammern. Für dieses Modell wurde der Hamster ausgesucht, da er unter Standardbedingungen beachtliche Leistungen im Rad erreicht und sehr geringe inter-individuelle und tagesabhängige Schwankungen zeigt.

In den Versuchen konnte gezeigt werden, dass es zu einer signifikanten Reduktion der Laufleistung von Hamstern nach Myokardinfarkt kommt. Diese Einschränkung betrifft sowohl die gesamte Leistungsfähigkeit der Tiere, als auch die maximale Leistungsfähigkeit und Ausdauer. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Laufleistung in Abhängigkeit zu der Infarktgröße steht und dass es ab einer Infarktgröße größer als 15% des linken Ventrikels zu einer Einschränkung der körperlichen Belastbarkeit kommt, die der NYHA

Zusammenfassung

Klassifikation II-III entspricht. Anhand echokardiographischer und hämodynamischer Untersuchungen konnte vergleichend die Einschränkung der Herzfunktion der Tiere mit einem Myokardinfarkt von über 15% bestätigt werden.

Allerdings erwies sich der Myokardinfarkt im Hamster nicht als geeignetes Modell eine Herzinsuffizienz zu simulieren, da es zu einer hohen Mortalität der Tiere sowohl akut während der Operation, als auch in den ersten Tagen post OP kam. Verschiedene Therapieansätze, die intraoperative Mortalität zu senken, waren nicht erfolgreich.

Zusammenfassend kann man sagen, dass der Hamster mit Myokardinfarkt sich zwar gut eignet, die eingeschränkte körperliche Leistungsfähigkeit während einer sich manifestierenden Herzinsuffizienz zu untersuchen, die hohen Tierverluste intra- und postoperativ aber gegen die Art der experimentellen Induktion der Insuffizienz durch Ligatur der Koronararterie in diesem Tiermodell sprechen.

7 Summary

Congestive heart failure (CHF) is a common clinical syndrome characterized by abnormalities of cardiac function and morphology. Despite continued improvement in diagnosis and therapy of CHF, the prevalence and incidence remains high. This shows the need of a complete understanding of the pathomechanisms leading to the complex clinical syndrome of CHF after a cardiovascular event (e.g. myocardial infarction, MI). MI is followed by left ventricular remodeling which is a dynamic process characterized by morphological, functional, biochemical and molecular alterations in the myocardium finally leading to CHF. CHF is associated with a significant impairment of exercise capacity and versatile changes in the whole organism.

The aim of this study was to create a new animal model that enables the investigation of exercise capacity additionally to heart function and morphology after myocardial infarction. Reduced exercise capacity is a key symptom and an independent determinant of mortality in patients with CHF.

The model is based on voluntary wheel running to avoid stress-induced artefacts caused by forced exercise tests. The hamster was chosen as experimental animal because of its high natural motivation to use running wheels. Furthermore, its running patterns are characterized by a very small variability both over time and inter-individually.

In this study, I could show a significant reduction of exercise capacity, including total exercise capacity and endurance in hamsters with CHF post MI. The measurement of exercise capacity and infarct size revealed a correlation between these parameters and show a reduction of capacity in animals with an infarct size over 15%, according to NYHA II-III. In addition, I demonstrated a severe impairment of cardiac function and morphology by hemodynamic and echocardiographic measurements in these animals correlating to infarct size and exercise capacity. Thus, measurement of exercise capacity allows an evaluation of cardiac function.

Summary

However, MI in the hamster is not a suitable and well feasible animal model to investigate the pathophysiology of CHF. The induction of MI results in a very high mortality intra and post OP. Different drug treatments to lower the surgical mortality were not successful.

In conclusion, the measurement of wheel running in hamsters with CHF post MI enables the evaluation of exercise capacity correlating to cardiac function and infarct size. Nevertheless, the low survival rate limits the use of this animal model.

8 Literaturübersicht

Abraham WT (2000)

β-Blockers.

Arch Intern Med; 160: 1237-1247.

Anand I, Fisher L, Chiang YT et al. (2003)

Changes in Brain Natriuretic Peptide and Norepinephrin over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trail (Val-HeFT).

Circulation; 107: 1278-1283.

Andrew PJ, Meyer B (1999)

Enzymatic function of nitric oxide synthases.

Cardiovasc Res; 43: 521-531.

Belardinelli R, Georgiou D, Cianci G, Purcaro A (1999)

Randomized, controlled trail of long-term moderate exercise training in chronic heart failure.

Circulation; 99: 1173-1182.

Billman GE, Englert HC, Schölkens BA (1998)

HMR 1883, a Novel Cardioselektive Inhibitor of the ATP-Sensitive Potassium Channel. Part II: Effects on Susceptibility to Ventricular Fibrillation Induced by Myokardial Ischämia in Concious Dogs.

J Pharmacol Exp Ther.; 286: 1465-1473.

Bittner V, Weiner DH, Yusuf S et al. (1993)

Prediction of mortality and morbidity with a 6-minute walk test in patients with left ventricular dysfunction. SOLVD Investigators.

JAMA; 270: 1702-7.

Böhm M (2002)

Pathophysiology of chronic heart failure today.

Herz; 27: 75-91.

Cardo M, Fernández B, Durán AC (1994)

Anomalous origin of the left coronary artery from the pulmonary trunk and its relationship with the morphology of the cardiac semilunar valves in Syrian hamsters.

Basic Research in Cardiol.; 89: 94-99.

Channer-Studie (1994)

Combination diuretic treatment in severe heart failure. A randomized controlled trail.

Br Heart J; 71: 146-150.

Cohen-Solal A, Beauvais F, Tabet JY (2004)

Physiology of the abnormal response of heart failure patients to exercise.

Curr Cardiol Rep.; 6: 176-181.

Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N (2000)

Cardiac remodelling – concepts and clinical implications.

J Am Coll Cardiol; 35: 569-82.

Colucci W, Ribeiro J, Rocco M et al. (1989)

Impaired chronotropic response to exercise in patients with congestive heart failure.

Circulation; 80: 314-323.

CONSENSUS Study Group (1987)

Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure.

N Engl J Med.; 316: 1429-1435.

COPERNICUS (2001)

Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure.
N Engl J Med.; 344: 1651-1658.

Corra U, Mezzani A, Bosimini E, Giannuzzi P (2006)

Prognostic value of time-related changes of cardiopulmonary exercise testing indices in stable chronic heart failure: a pragmatic and operative scheme.
Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.; 13: 186-192.

Coutinho AE, Fediue S, Campbell JE et al. (2006)

Metabolic effects of voluntary wheel running in young and old Syrian golden hamsters.
Physiol. Behav.; 87: 360-367.

Davies KJ, Donovan CM, Fefino CJ et al. (1984)

Distinguishing effects of anemia and muscle iron deficiency on exercise bioenergetics in the rat.
Am J Physiol; 246: E535-543.

Dewsbury DA (1980)

Wheel-running behavior in 12 species of muroid rodents.
Behav Process; 5: 271-280.

Drexler H, Hayoz D, Münzel T et al. (1992)

Endothelial function in chronic congestive heart failure.
Am J Cardiol; 69: 1596-1601.

Dzau VJ (1987)

Renal and circulatory mechanisms in congestive heart failure.
Kidney Int; 31: 1402–15.

Ennezat PV, Malendowicz SL, Testa M et al. (2001)

Physical training in patients with chronic heart failure enhances the expression of genes encoding antioxidative enzymes.

J Am Coll Cardiol; 38: 194-198.

Feldmann AM, Combes A, Wagner D et al. (2000)

The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure.

J Am Coll Cardiol; 35: 537-544.

Flagg TP, Nichols CG (2005)

Sarcolemmal K_{ATP} channels: what do we really know?

J Mol Cell Cardiol.; 39: 61-70.

Francis GS, Goldsmith SR, Levine TB et al. (1984)

The neurohumoral axis in congestive heart failure.

Ann Intern Med; 101: 370–77.

Francis GS, Benedict C, Johnstone DE et al. (1990)

Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure. A substudy of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD).

Circulation; 82 (5):1724-1729.

Francis GS (2001)

Pathophysiology of chronic heart failure.

Am J Med.; 110(7a): 37S-46S.

Fuchs M, Drexler H (2000)

Pathophysiologie der chronischen Herzinsuffizienz.

Der Internist; 41: 93-104.

Gattermann R, Weinandy R, Fritzsche P (2004)

Running-wheel activity and body composition in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*).

Physiology and Behavior; 82: 541-544.

Guyatt GH, Pugsley SO, Sullivan MJ et al. (1984)

Effect of encouragement on walking test performance.

Thorax; 39: 818-822.

Hashimoto H, Moritani N, Saito TR (2004)

Comparative Study on Circadian Rhythms of Body Temperature, Heart Rate, and Locomotor Activity in Three Species Hamsters.

Exp. Anim.; 53: 43-46.

Hien P, Morr H (2002)

6-Minuten-Gehtest in der pneumologischen und kardiologischen Diagnostik.

Pneumologie; 56: 558-566.

Hjalmarson A, Fagerberg B (2000)

MERIT-HF mortality and morbidity data.

Basic Res Cardiol.; 95 Suppl 1: I98-103.

Ho KKL, Pinsky JL, Kannel WB et al. (1993)

The epidemiology of heart failure. The Framingham Study.

J Am Coll Cardiol. 1993; 22: 6A –13A.

Hoppe UC, Böhm M, Diez R et al. (2005)

Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz.

Z Kardiol; 94: 488-509.

Hornig B, Arakawa N, Kohler C, Drexler H (1998)

Vitamin C improves endothelial function of conduit arteries in patients with chronic heart failure.

Circulation; 97: 363-368.

Itter G, Jung W, Juretschke P et al. (2004)

A model of chronic heart failure in spontaneous hypertensive rats (SHR).
Lab Anim; 38: 138-148.

Iwanaga Y, Gu Y, Dieterle T et al. (2004)

A nitric oxide-releasing derivative of enalapril, NCX 899, prevents progressive cardiac dysfunction and remodeling in hamsters with heart failure.
FASEB J.; 18: 587-588.

Jin D, Takai S, Yamada M et al. (2001)

Possible Roles of Cardiac Chymase After Myokardial Infarction in Hamster Hearts.
Jpn. J. Pharmacol.; 86: 203-214.

Jones RC, Francis GS, Lauer MS (2004)

Predictors of mortality in patients with hart failure and preserved systolic function in the digitalis investigation group trial.
J Am Coll Cardiol.; 44: 1025-1029.

Jung O, Englert C, Jung W et al. (2000)

The K_{ATP} channel blocker HMR 1883 does not abolish the benefit of ischemic preconditioning on myocardial infarct mass in anesthetized rabbits.
Arch Pharmacol; 361: 445-451.

Jung O, Albus U, Lang HJ et al. (2004)

Effect of Acute and Chronic Treatment with the Sodium Hydrogen Exchanger 1 (NHE-1) Inhibitor Cariporide on Myocardial Infarct Mass in Rabbits with Hypercholesterolemia.
Bas Clin Pharm. Tox.; 95: 24-30.

Katz SD, Biasucci L, Sabba C et al. (1992)

Impaired endothelium-mediated vasodilatation in the peripheral vasculature of patients with congestive heart failure.
J Am Coll Cardiol; 19: 918-925.

Khalife WI, Tang YD, Kuzman JA et al. (2005)

Treatment of subclinical hypothyroidism reverses ischemia and prevents myocyte loss and progressive LV dysfunction in hamsters with dilated cardiomyopathy.

Am J Physiol Heart Circ Physiol.; 289: 2409-15.

Klante G, Secci K, Masson-Pevet M et al. (1999)

Interstrain differences in activity pattern, pineal function, and SCN melatonin receptor density of rats.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol; 276: 1078-1086.

Kostis JB, Packer M, Black et al. (2004)

Omapatrilat and Enalapril in Patients With Hypertension: The Omapatrilat Cardiovascular Treatment vs. Enalapril (OCTAVE) Trial.

Am J Hypertension; 17: 103-111.

Lambert MI, Van Zyl C, Jaunky R et al. (1996)

Test of running performance do not predict subsequent spontaneous running in rats.

Physiol Behav.; 60: 171-176.

Langenickel T, Pagel I, Höhnel K et al. (2000)

Differential regulation of cardiac ANP and BNP mRNA in different stages of experimental heart failure.

Am J Physiol Heart Circ Physiol; 278: 1500-1506.

Levy D, Kenchaiah S, Larson M et al. (2002)

Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure.

N Engl J Med; 347: 1397–02.

Li L, Takemura G, Li Y et al. (2006)

Preventive effect of erythropoietin on cardiac dysfunction in doxorubicin-induced cardiomyopathy.

Circulation; 113: 535-43.

Linz W, Wiemer G, Gohlke P et al. (1995)

Contribution of Kinins to the Cardiovascular Actions of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors.

Pharmacological Reviews; 47: 25-49.

Mair J, Hammerer-Lercher A, Puschendorf B (2001).

The impact of cardiac natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure.

Clin Chem Lab Med; 39: 571.

Mancini DM, Eisen H, Kussmaul W et al. (1991)

Value of peak exercise oxygen consumption for optimal timing of cardiac transplantation in ambulatory patients with heart failure.

Circulation; 83: 778-786.

Martinez-Selles M, Garcia Robles JA, Prieto L et al. (2003)

Systolic dysfunction is a predictor of long term mortality in men but not in women with heart failure.

Eur Heart J.; 24: 2046-2053.

McKee PA, Castelli WP, McNamera PM, Kannel WB (1971)

The natural history of congestive heart failure: The Framingham study.

N Engl J Med.; 285:1441-1446.

McMurray JJ, Swedberg K, Hogg K (2004)

Heart failure with preserved left ventricular systolic function.

J Am Coll Cardiol; 43: 317–327.

McMurray JJ, Ray SG, Abdullah I et al. (1992)

Plasma endothelin in chronic heart failure.

Circulation; 85: 1374-1379.

MERIT-HF (1999)

Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in CHF.

Lancet; 353: 2001-2007.

Michael LH, Entman ML, Hartley CJ et al. (1995)

Myocardial ischämia and reperfusion: a murine model.

Am J Physiol.; 269: H2147-2154.

Mohr E, Richter D (1994)

Vasopressin in the regulation of body functions.

J Hypertens; 12: 345-348.

Musch TI, Moore RL, Riedy M et al. (1988)

Glycogen concentrations and endurance capacity of rats with chronic heart failure.

J Appl Physiol.; 64: 1153-1159.

Nekaya Y, Morishima-Yamato M, Ishida K et al. (2005)

Approach to novel functional foods for stress control 3. Establishment of stress-resistant rat model and its mechanism.

J Med Invest.; 52 Suppl: 244.

Nishimura H, Buikema H, Baltatu O et al. (1998)

Functional evidence for alternative ANG II-forming pathways in hamster cardiovascular system.

Am J Physiol.; 275: H1307-1312.

Pacher R, Stanek B, Hülsmann M et. al. (1996)

Prognostic impact of big endothelin-1 plasma concentrations as compared to invasive hemodynamic evaluation in severe heart failure.

J Am Coll Cardiol; 27: 633-41.

Packer M (2003)

Should B-type natriuretic peptide be measured routinely to guide the diagnosis and management of chronic heart failure?

Circulation; 108: 2950-2953.

Packer M, Califf RM, Konstam MA et al. (2002)

Comparison of omapatrilat and enalapril in patients with chronic heart failure: the Omapatrilat Versus Enalapril Randomized Trial of Utility in Reducing Events (OVERTURE).

Circulation; 106: 920-926.

Penev PD, Zee PC, Turek FW (1997)

Quantitative analysis of the age-related fragmentation of hamster 24-h activity rhythms.

Am J Physiol.; 273: R2132-R2137.

Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC et al. (1979)

Myocardial infarct size and ventricular function in rats.

Circulation Res.; 44: 503-512.

Pieper DR, Loboocki CA, Lichten EM, Malaczynski J (1999)

Dehydroepiandrosterone and exercise in golden hamsters.

Physiol. Behav.; 67: 607-610.

Pözl G, Pall G (2003)

Intensivmedizinische Therapie der instabilen Herzinsuffizienz.

J Kardiol.; 10: 89-93.

Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M (1977)

Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments.

Nature; 266: 730-732.

Reebs SG, Maillet D (2003)

Effect of cage enrichment on the daily use of running wheels by Syrian hamsters.

Chronobiol Int; 20: 9-20.

Remuzzi G, Benigni A (1993)

Endothelins in the control of cardiovascular and renal function.

Lancet; 342: 589-93.

Rickenbacher P (2001)

Herzinsuffizienz: Diagnostik.

Swiss Medical Forum; 1/2: 10-14.

Rockman HA, Ross RS, Harris AN et al. (1991)

Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo murine model of cardiac hypertrophy.

Proc Natl Acad Sci USA.; 88: 8277-8281.

Roger VL, Weston SA, Redfield MM et al. (2004)

Trends in heart failure incidence and survival in a community-based population.

JAMA; 292: 344–350.

Rossig L, Haendeler J, Mallat Z et al. (2000)

Congestive heart failure induces endothelial cell apoptosis: protective role of cardovediol.

J Am Coll Cardiol.; 36: 2081-2089.

Rouleau JL, Pfeffer MA, Stewart DJ et al. (2001)

Comparison of vasopeptidase inhibitor, omapatrilat, and lisinopril on exercise tolerance and morbidity in patients with heart failure: IMPRESS randomised trial.

Lancet; 356: 615-20.

Rungwerth K, Schindler U, Gerl M et al. (2004)

Inhibition of Na⁺H⁺ exchange by cariporide reduces inflammation and heart failure in rabbits with myocardial infarction.

Br J Pharmacol; 142: 1147-1154.

Sakamoto A., Ono K., Abe M. et al (1997)

Both hypertrophic and dilated cardiomyopathies are caused by mutation of the same gene, delta-sarcoglycan, in hamster: an animal model of disrupted dystrophin-associated glycoprotein complex.

Proc. Natl. Acad. Sci.; 94: 13873–13878.

Salemi VM, Bilate AM, Ramires FJ et al. (2005)

Reference values from M-mode and Doppler echocardiography for normal Syrian hamsters.

Eur J Echocardiogr.; 6: 41-46

Salim Y et al. (2004)

Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study.

Lancet; 364: 937–952.

Sandvik L, Erikssen J, Ellestad M et al. (1995)

Heart rate increase and maximal heart rate during exercise as predictors of cardiovascular mortality: A 16-year follow-up study of 1960 healthy men.

Coron Artery Dis; 6: 667-678.

Sans-Coma V, Arque JM, Duran AC et al. (1993)

The coronary arteries of the Syrian hamster, *Mesocricetus auratus* (Waterhouse 1839).

Ann Anat; 175: 53-57.

Scarborough K, Losee-Olson S, Wallen EP, Turek FW (1997)

Aging and photoperiod affect entrainment and quantitative aspects of locomotor behavior in Syrian hamsters.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol; 272: 1219-1225.

Schmid, FX; Hengstenberg, C; Völkel, S; Birnbaum, D (2004)

Chirurgische Therapieoptionen bei schwerer Herzinsuffizienz.

Deutsches Ärzteblatt; 101: A-429 / B-357 / C-349.

Schrier RW, Fasset RG, Ohara M, Martin PY (1998)

Pathophysiology of renal fluid retention.

Kidney Int; 54, Suppl. 67: 127-132.

Sharma R, Al-Nasser FO, Anker SD (2001)

The importance of tumor necrosis factor and lipoproteins in the pathogenesis of chronic heart failure.

Heart Fail Monit.; 2: 42-47.

Sherwin CM (1996)

Laboratory mice persist in gaining access to resources: a method of assessing the importance of environmental features.

Appl Anim Behav Sci.; 48: 203-214.

Sherwing CM (1998)

Voluntary wheel running: a review and novel interpretation.

Anim Behav.; 56: 11-27.

SOLVD-Prevention (1991)

Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fraction.

N Engl J Med.; 327: 685-691.

SOLVD-Treatment (1991)

Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fraction and congestive heart failure.

N Engl J Med.; 325: 293-302.

Statistisches Bundesamt (2005)

Pressemitteilung, 17. Nov.2005.

Staudt A, Lesberger M, Staudt Y, Felix SB (2002)

Die Rolle der Zytokine in der Herzinsuffizienz.

Herz; 27: 691-698.

Sullivan MJ, Cobb FR (1992)

Central hemodynamic response to exercise in patients with chronic heart failure.

Chest; 101: 340S-346S.

Task Force on Acute Heart Failure (2005)

Executive summary of the guidelines on the diagnosis and treatment of acute heart failure: the Task Force on Acute Heart Failure of the European Society of Cardiology.

Eur Heart J; 26: 384–416.

The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators (2000)

Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients.

N Engl J Med.; 342: 145-153.

The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology (2005)

Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005).

Eur Heart J; 26: 1115-40.

Unger T (2000)

Neurohormonal modulation in cardiovascular disease.
Am Heart J; 139: S2-S8.

Vasan RS, Larson MG, Benjamin EJ et al. (1999)

Congestive heart failure in subjects with normal versus reduced left ventricular ejection fraction: Prevalence and mortality in a population-based cohort.
J Am Coll Cardiol; 33: 1948–55.

Vescovo G, Serafini F, Dalla Libera L et al. (1998)

Skeletal muscle myosin heavy chains in heart failure: Correlation between magnitude of the isozyme shift, exercise capacity, and gas exchange measurements.
Am Heart J; 135: 130-137.

Waggoner AD (2000)

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

Weber KT, Janicki JS, McElroy TP (1987)

Determination of aerobic capacity and the severity of chronic cardiac and circulation failure.
Circulation; 76 Suppl. 6: S40-S45.

Weinert D, Fritzsche P, Gattermann R (2001)

Activity rhythms of wild and laboratory golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) under entrained and free-running conditions.
Chronobiol Int.; 18: 921-932.

WHO (1995)

International classification of impairments, disabilities and handicaps. (2.Aufl.)
(Deutsch von R.G. Matthesius)
Ullstein Mosby, Berlin

Witte KKA, Thackray SDR, Nikitin NP et al. (2003)

Pattern of ventilation during exercise in chronic heart failure.
Heart; 89: 610-614.

Wonisch M, Hofmann P, Pokan R et al. (2003)

Spiroergometrie in der Kardiologie – Grundlagen der Physiologie und Terminologie.
J Kardiol; 10: 383-390.

Working group on cardiac rehabilitation and exercise physiology (2001)

Recommendations for exercise training in chronic heart failure patients.
Eur Heart J; 22: 125-135.

Xu Y, Ku BS, Yao HY et al. (2005)

Antidepressant effects of curcumin in the forced swim test and olfactory bulbectomy models of depression in rats.
Pharm Biochem Behav.; 82: 200-206.

Yamaguchi F, Kawana KI, Tanonaka K et al. (1999)

Improvement of exercise capacity of rats with chronic heart failure by long-term treatment with andolapril.
Br J Pharm; 126: 1585-1592.

Yamamotova A, Starec M, Rascova H, Rokyta R (2000)

The influence of repeated prestressors on single stress response in rats.
Parmaicol Toxicol.; 86: 8-15.

Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S et al. (1988)

A novel potent vasokonstriktor peptide produced by vascular endothelial cells.
Nature; 332: 411-415.

9 Danksagung

Mein herzlichster Dank gilt allen, die das Gelingen dieser Arbeit erst ermöglicht haben. Im Speziellen möchte ich danken:

Herrn Dr. Stefan Schäfer (ehemals Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) für die Überlassung des Themas, den Enthusiasmus bei der Entwicklung des Modells und die unzähligen Anregungen zur Methodik bei der Versuchsdurchführung.

Herrn Prof. Dr. Wolfgang Linz (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) für die stets freundliche und aufmerksame Betreuung und auch die Unterstützung bei der Anfertigung dieser Dissertationsschrift.

Herrn Dr. Hartmut Rütten (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Leiter der Abteilung für Herz-Kreislauf Forschung) für die Ermöglichung dieser Arbeit in den Einrichtungen der Firma Sanofi-Aventis in Frankfurt.

Herrn Prof. Dr. Martin Diener für die interessierte und unkomplizierte Betreuung und Begutachtung dieser Dissertation und die Vertretung der Arbeit im Fachbereich Veterinärmedizin.

Des Weiteren möchte ich mich bei all jenen herzlich bedanken, die mich bei der Arbeit fachlich unterstützt haben und durch ihre freundliche, hilfsbereite Art zu dem überaus guten Arbeitsklima in der Arbeitsgruppe beigetragen haben. Nicht zuletzt deshalb werden mir die zwei Jahre bei der Firma Sanofi-Aventis in guter Erinnerung bleiben.

Herrn Helmut Göbel für die überaus freundliche und unterhaltsame Laboratmosphäre und die unzähligen Hilfestellungen, wenn mal wieder „Not am Mann“ war. Außerdem für das offene Ohr für alle kleineren und größeren Problemchen.

Danksagung

Herrn Ottmar Speth und Frau Doris Gehring für die Einarbeitung in die mikrochirurgischen Feinheiten.

Herrn Gerald Fischer für die exzellente Unterstützung bei der Datenverarbeitung, die logistische Unterstützung der Tierstudien und das wunderbar sonnige Gemüt auch an noch so schlechten Tagen.

Herrn Peter Hainz für die Unterstützung bei Operationen.

Herrn Ralf-Daniel Wirth und Herrn Hugo Wohnig für die Konstruktion und Installation der Laufräder.

Dem Labor Dr. Gerl für die analytischen Bestimmungen der Proben.

Frau Dr. Katrin Hiss für die ständige Hilfsbereitschaft, ihre aufmunternden Worte bei allen Zweifeln, sowie ihre Unterstützung bei Präsentationen und beim Herzultraschall. Ihr, sowie meinen Mitstreitern Frau Dr. Heidi Duwensee und Frank Kramer und auch Frau Dr. Johanna Kuhlmann möchte ich für die schöne Zeit danken, auch über den Arbeitsalltag hinaus.

Mein größter Dank gilt aber meinen Eltern für ihre uneingeschränkte Liebe, ihre Unterstützung und ihr Vertrauen.

Nicht zuletzt danke ich meinem Freund Jörg Ambrosch dafür, dass er mich auch in kritischen Phasen durch seine unvergleichliche Art immer wieder zum Lächeln gebracht hat. Danke Dir!

10 Erklärung

Ich erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt habe, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten 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 ist, eingehalten.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D - 3 5 3 9 6 G I E S S E N

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

ISBN 3-8359-5071-1

