

**Etablierung eines neuen Großtiermodells
zur Induktion der Herzinsuffizienz
und
Evaluierung von Remodelingprozessen
durch mechanische Herzunterstützung**

Sandra Voß

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

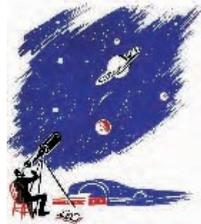
Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2008

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 2008

© 2008 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 Kerckhoff-Klinik Bad Nauheim und dem
Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung

(W.G. Kerckhoff-Institut, Abteilung für experimentelle Kardiologie), Bad Nauheim

Betreuer: Prof. Dr. A. Elsässer

**Etablierung eines neuen Großtiermodells
zur Induktion der Herzinsuffizienz
und
Evaluierung von Remodelingprozessen durch
mechanische Herzunterstützung**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Sandra Voß

Tierärztin aus Berlin

Gießen 2008

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

Dekan: Prof. Dr. Dr. habil. Georg Baljer

Gutachter: Prof. Dr. M. Diener
Prof. Dr. A. Elsässer

Tag der Disputation: 02.06.2008

meinen Eltern Uwe und Editha

INHALT

1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	ALLGEMEIN.....	3
2.2	DEFINITION DER HERZINSUFFIZIENZ	3
2.3	ÄTIOLOGIE UND PATHOPHYSIOLOGIE.....	5
2.4	DAS KARDIALE REMODELING	6
2.5	THERAPIE DER HERZINSUFFIZIENZ	11
2.5.1	Medikamentöse Therapie der akuten Herzinsuffizienz.....	11
2.5.1.1	Morphium und Analoga	12
2.5.1.2	Vasodilantien.....	12
2.5.1.3	Diuretika.....	12
2.5.1.4	Positiv inotrope Substanzen	12
2.5.1.5	Vasopressoren	13
2.5.2	Medikamentöse Therapie der chronischen Herzinsuffizienz	13
2.5.2.1	Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE)-Hemmer.....	13
2.5.2.2	AT ₁ -Rezeptorblocker	13
2.5.2.3	β-Adrenozeptor-Blocker.....	14
2.5.2.4	Diuretika.....	14
2.5.2.5	Aldosteron-Antagonisten	14
2.5.2.6	Herzglykoside.....	14
2.5.2.7	Vasodilantien.....	15
2.5.2.8	Antikoagulantien	15
2.5.3	Apparative Therapie der chronischen Herzinsuffizienz.....	15
2.5.3.1	Kardiale Resynchronisationstherapie.....	15
2.6	KARDIALE ASSISTSYSTEME.....	16
2.6.1	Historischer Überblick	16
2.6.2	Para- und extrakorporale Unterstützungssysteme	17
2.6.3	Intrakorporale Unterstützungssysteme	18
2.6.3.1	Pulsatile Systeme.....	18
2.6.3.2	Nicht-pulsatile Systeme.....	19
2.6.4	Total Artificial Heart.....	21
2.6.5	Weitere operative Verfahren	22
2.7	MYOKARDIALES „REVERSE REMODELING“ UNTER DEM EINFLUSS LINKSVENTRIKULÄRER UNTERSTÜTZUNGSSYSTEME.....	22
2.8	CHRONISCHE HERZINSUFFIZIENZ IM TIERMODELL	25
2.8.1	Das Tachykardie-Modell.....	26
3	MATERIAL UND METHODEN	28
3.1	VERSUCHSTIERE.....	28
3.2	VERSUCHSPLAN	28
3.3	DAS RAPID PACING-TIERMODELL	30

3.3.1	OP-Vorbereitung und Prämedikation.....	30
3.3.2	Anästhesie	30
3.3.3	Instrumentierung	31
3.3.4	Messung hämodynamischer Parameter.....	32
3.3.5	Operationstechnik: Implantation des Herzschrittmachers.....	33
3.3.6	Postoperative Versorgung	35
3.3.7	Stimulationsprotokoll.....	36
3.3.8	Sonographie.....	37
3.4	VERSUCHSDURCHFÜHRUNG LANGZEITANÄSTHESIE MIT MECHANISCHER HERZUNTERSTÜTZUNG	38
3.4.1	OP-Vorbereitung und Prämedikation.....	38
3.4.2	Anästhesie	38
3.4.3	Intraoperative Probengewinnung und Probenkonservierung	39
3.4.4	Operatives Vorgehen Mikroaxialflusspumpen-Implantation.....	39
3.4.5	Operatives Vorgehen intraaortale Ballonpumpen-Implantation	40
3.4.6	Sham-Operation	40
3.4.7	Probengewinnung am Versuchsende	40
3.4.7.1	BDM-Lösung	40
3.4.7.2	Herzentnahme und Präparation des Ventrikelmyokards.....	41
3.4.7.3	Probenkonservierung.....	41
3.5	HISTOLOGIE UND IMMUNHISTOCHEMIE	41
3.5.1	Untersuchtes Gewebe	41
3.5.2	Puffer und Eindeckmedien	41
3.5.3	Geräte	42
3.5.4	Herstellung histologischer Schnittpräparate.....	43
3.5.4.1	Aufblocken des Gewebes	43
3.5.4.2	Anfertigung der Gefrierschnitte	43
3.5.5	Hämalaun-Eosin-Färbung (HE-Färbung).....	43
3.5.6	Immunhistochemie	44
3.5.6.1	Antikörper	45
3.5.6.1.1	Primärantikörper	45
3.5.6.1.2	Sekundärantikörper.....	46
3.5.6.1.3	Detektionssystem für biotinylierte Sekundärantikörper.....	46
3.5.6.2	Kernfarbstoffe	46
3.5.6.3	Färbeprotokolle	47
3.5.7	Durchlichtmikroskopie.....	48
3.5.8	Konfokale Lasermikroskopie	48
3.5.9	Fluoreszenzmikroskopie.....	48
3.5.9.1	Zellmorphologie	49
3.5.9.2	Bestimmung des Kollagengehalts	49
3.6	STATISTISCHE ANALYSE	49
4	ERGEBNISSE	51
4.1	DAS RAPID PACING-TIERMODELL	51
4.1.1	Überlebensrate und Komplikationen	51
4.1.2	Klinische Untersuchung	51
4.1.3	Sonographie.....	52
4.1.4	Herzmorphologie und Herzgewicht	52
4.1.5	Kreislaufparameter	53

4.1.6	Zellmorphologie	57
4.1.6.1	Querschnittsfläche der Myozyten.....	57
4.1.6.2	Myozytendurchmesser	58
4.1.7	Kollagengehalt	60
4.1.7.1	Kollagen III	60
4.1.7.2	Kollagen VI.....	61
4.1.8	Vinculin.....	63
4.1.9	Dystrophin.....	64
4.1.10	α -Actinin	65
4.1.11	Connexin 43	66
4.2	LANGZEITANÄSTHESIE BEIM SCHWEIN MIT HERZINSUFFIZIENZ	67
4.2.1	Dauer der mechanischen Herzunterstützung und Komplikationen.....	67
4.2.2	Kreislaufparameter	67
4.2.3	Zellmorphologie	70
4.2.3.1	Querschnittsfläche der Myozyten.....	70
4.2.3.2	Myozytendurchmesser	70
4.2.4	Kollagengehalt	71
4.2.4.1	Kollagen III	71
4.2.4.2	Kollagen VI.....	71
4.2.5	Proteine des Zytoskeletts.....	72
4.3	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	72
5	DISKUSSION	74
5.1	DISKUSSION DER METHODEN	74
5.1.1	Das Tiermodell in der medizinischen Forschung.....	74
5.1.2	Etablierung des neuen Tiermodells	76
5.1.2.1	Elektroden- und Schrittmacherimplantation	76
5.1.2.2	Das Pacing-Protokoll.....	77
5.2	DISKUSSION DER ERGEBNISSE.....	80
5.2.1	Klinische Symptome	80
5.2.2	Herz- und Zellmorphologie	80
5.2.3	Kreislaufparameter	82
5.2.4	Extrazelluläre Matrix.....	85
5.2.5	Das Zytoskelett.....	86
5.2.6	Vinculin.....	87
5.2.7	Dystrophin.....	88
5.2.8	α -Actinin	89
5.2.9	Connexin 43	90
5.2.10	Ergebnisse nach Langzeitanästhesie	91
5.2.11	Anästhesie der Versuchstiere und Narkosesteuerung	94
6	ZUSAMMENFASSUNG	96
7	SUMMARY.....	98
8	VERWENDETE ABKÜRZUNGEN	100
9	ABBILDUNGEN	103
10	ERKLÄRUNG	105

11	LITERATURVERZEICHNIS	106
12	EIGENE VERÖFFENTLICHUNGEN.....	123
13	DANKSAGUNG	126

1. EINLEITUNG

Die Herzinsuffizienz ist heute die führende Todesursache in den westlichen Industrienationen. Allein in den USA sind jährlich über 700.000 Todesfälle auf diesen Symptomenkomplex zurückzuführen [1]. Bei fortgeschrittener chronischer Herzinsuffizienz und drohendem oder bereits eingetretenem Herzversagen bleibt als ultima ratio nur die Herztransplantation oder die temporäre Unterstützung der Herzfunktion durch mechanische Pumpen. Jedoch steht die Herztransplantation als kurativer Therapieansatz nur einem kleinen Patientenkollektiv zur Verfügung: im Jahr 2004 erfolgten in Deutschland lediglich 355 Organverpflanzungen (offizielle Quelle: Annual Report Eurotransplant 2004).

Durch den Rückgang der Spenderbereitschaft und dem damit verbundenen Mangel an Spenderorganen stieg die Wartezeit bis zur Transplantation stetig an. Dies führte zur Entwicklung kardialer Unterstützungssysteme, welche die Möglichkeit zur Überbrückung der Wartezeit auf ein Spenderorgan eröffneten („bridge-to-transplant“) und heute weltweit erfolgreich eingesetzt werden. Teilweise erfolgt die Langzeitanwendung als Alternative zur Transplantation.

Verschiedene Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass die mechanische Unterstützung des Herzens mit einem kardialen Assist-System zu einer verbesserten Herzfunktion führt [2-5]. Einige Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie konnten bereits vom zuvor implantierten Linksherzunterstützungssystem (Left Ventricular Assist Device, LVAD) entwöhnt werden [6, 7].

Dies führte zu der Überlegung, kardiale Pumpensysteme im Rahmen der terminalen Herzinsuffizienz nicht nur als „bridge-to-transplant“, sondern auch als „bridge-to-recovery“ einzusetzen. Ob die Implantation von Herzunterstützungssystemen zu einer relevanten und dauerhaften funktionellen Verbesserung des Herzens führt, ist bisher weder durch grundlagenwissenschaftliche Untersuchungen noch durch klinische Studien hinreichend geklärt worden.

Um die Veränderungen im Herzen im Stadium der Insuffizienz und nach Implantation eines Linksherzunterstützungssystems zu dokumentieren, wurde ein neuartiges schrittmacherinduziertes Herzinsuffizienz-Modell am Schwein etabliert.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, folgende Fragestellungen zu klären:

- Kann durch eine hochfrequente Herzschrittmacher-Stimulation eine reproduzierbare, chronische Herzinsuffizienz induziert werden?
- Ist die minimalinvasive Implantation von einer beziehungsweise zwei ventrikulären Stimulationselektroden beim Schwein möglich, und sind in beiden Fällen Stimulationsraten von 220 /min erreichbar?
- Führt die hochfrequente Ventrikelstimulation mit einer respektive zwei Stimulationselektroden zu unterschiedlichen Veränderungen hinsichtlich Hämodynamik und Histologie?
- Ist das Schwein als Versuchstier geeignet, um perkutane Herzunterstützungssysteme zu implantieren und kardiale Veränderungen nach Langzeitnarkose zu untersuchen?
- Kann eine Verbesserung der Hämodynamik während der mechanischen Herzunterstützung erreicht werden?
- Sind nach der Langzeitanästhesie Vorgänge im Sinne eines „Reverse Remodeling“ auf zellulärer oder subzellulärer Ebene dokumentierbar?

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1 Allgemein

Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems stehen an der Spitze der Todesursachen in den westlichen Industrienationen. Hinzu kommt, dass mit steigender Lebenserwartung der Bevölkerung die Inzidenz und Prävalenz der Herzinsuffizienz ansteigen [8]. Sie stellt somit trotz großer Fortschritte in der pharmakologischen Therapie ein schwerwiegendes Gesundheitsproblem dar. In Europa wird die Zahl herzinsuffizienter Patienten auf weit mehr als 10 Millionen geschätzt, eine vergleichbar große Patientengruppe weist darüber hinaus eine systolische kardiale Dysfunktion noch ohne Herzinsuffizienzsymptome auf.

Der Spenderherzenmangel bedingt hohe Mortalitätsraten von Patienten mit fortgeschrittener chronischer Herzinsuffizienz, die auf der Warteliste für ein Spenderorgan stehen. Vor diesem Hintergrund ist die Umsetzung evidenzbasierter Standardverfahren in Diagnostik und Therapie sowie die Entwicklung neuer Therapieoptionen unerlässlich, um für den Patienten eine verbesserte Prognose realisieren zu können.

2.2 Definition der Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz ist definiert als das Unvermögen des Herzens, trotz hinreichenden venösen Blutangebotes mit dem Auswurfvolumen den metabolischen und zirkulatorischen Anforderungen der von einer ausreichenden Blutversorgung abhängigen Organe zu entsprechen [9]. Es ist der Zustand des Herzens, in dem die Kompensationsmechanismen nicht mehr zur Aufrechterhaltung eines physiologischen Herzzeitvolumens ausreichen. Dieses Unvermögen begründet sich in einer gestörten Füllung und/oder einer beeinträchtigten Kontraktion (und Entleerung) der Ventrikel [10].

Je nach klinischer Symptomatik und initialen pathophysiologischen Mechanismen wird die Herzinsuffizienz in eine akute und eine chronische Form unterteilt.

Durch eine anhaltende oder progrediente Mehrbelastung des Herzens entsteht ein progressives klinisches Syndrom, für das die European Society of Cardiology Leitkriterien definiert hat: (1) die objektive Bestimmung der kardialen Dysfunktion in

2. Literaturübersicht

Ruhe, (2) Symptome der Herzinsuffizienz treten unter Belastung und/oder in Ruhe auf [11]. Die Herzinsuffizienz stellt keine Entität dar, sondern vielmehr ein Syndrom, das durch verschiedene kardiale Erkrankungen ausgelöst werden kann. Die Einteilung erfolgt nach den Kriterien der New York Heart Association (NYHA) in vier Stadien (Tab. 1).

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

Tab. 1: NYHA-Klassifikation bei chronischer Herzinsuffizienz

Die akute Herzinsuffizienz tritt zumeist als Dekompensation einer chronischen Herzinsuffizienz auf, sie kann jedoch auch de novo entstehen [12]. Sie ist durch die akute klinische Symptomatik einer kardialen Dysfunktion charakterisiert. Hierbei führt die eingeschränkte Pumpfunktion häufig zur Blutdruckabnahme, die ihrerseits eine sympathoadrenerge Aktivierung hervorruft. Die durch Katecholamine bedingte Tachykardie und die Zunahme des peripheren Widerstands sollen der Blutdruckreduktion entgegenwirken, jedoch trägt der erhöhte systemische Widerstand zur weiteren Verschlechterung der kardialen Pumpfunktion bei. Der resultierende venöse Rückstau führt zur Ödembildung.

Eine weitere Unterscheidung der Herzinsuffizienz erfolgt in Rechts- und Linksherzinsuffizienz. Auch eine Kombination aus beiden, die Globalinsuffizienz, kann auftreten.

2.3 Ätiologie und Pathophysiologie

Die Herzinsuffizienz stellt kein Endstadium dar, sondern einen dynamischen Prozess, der durch eine initiale myokardiale Schädigung hervorgerufen wird. Als Antwort auf das schädigende Ereignis kommt es zur Aktivierung von Zytokinen (insbesondere TNF- α und Interleukine) und von Neurohormonen, zu denen Angiotensin II, Endothelin und Noradrenalin zählen. Diese Faktoren spielen zusammen mit einer veränderten mechanischen Belastung des Herzens eine entscheidende Rolle im Entstehungsprozess struktureller Veränderungen am Herzen (kardiales Remodeling) [13].

Eine verringerte Pumpfunktion geht mit einer Zunahme des enddiastolischen Ventrikelvolumens und konsekutiver Dehnung der myokardialen Fibrillen einher. Durch den Frank-Starling-Mechanismus kann das Schlagvolumen zunächst aufrechterhalten werden [14]. Die erhöhte Wandspannung hat eine verminderte Myokardperfusion zur Folge, wodurch die Effizienz der Herzarbeit eingeschränkt wird. Um die Aufrechterhaltung des Herzzeitvolumens und damit die ausreichende Versorgung lebenswichtiger Organe zu gewährleisten, werden neurohumorale Kompensationsmechanismen aktiviert. Diese tragen letztlich jedoch selbst zur Progression der Herzinsuffizienz bei, so dass sich ein *circulus vitiosus* ergibt [15].

Die Freisetzung von Katecholaminen führt zunächst zu einer Erhöhung der kardialen Kontraktilität, zu Tachykardie und zu arterieller und venöser Vasokonstriktion [16]. Die erhöhte Schlagfrequenz wirkt sich langfristig negativ auf die kardiale Funktion aus, da es durch die verkürzte Diastole zu einer verminderten Durchblutung der Koronargefäße kommt. Dies führt zu einer Minderversorgung des Myokards, dessen Energie- und Sauerstoffbedarf infolge der adrenergen Stimulation erhöht ist [17]. Desweiteren wird durch die Vasokonstriktion die Vor- und Nachlast erhöht, so dass der myokardiale Sauerstoffbedarf steigt.

Eine chronisch eingeschränkte Pumpfunktion des linken Ventrikels führt zu einem Rückstau des Bluts in der Lunge, wodurch sich der pulmonalarterielle Druck und der pulmonalkapilläre Verschlussdruck (pulmonary capillary wedge pressure, PCWP)

erhöht. Mit steigender Druckdifferenz zwischen intravasalem und extravasalem Raum tritt intravasale Flüssigkeit ins Interstitium über und es kommt zur klinischen Manifestation von Ödemen in den vorgeschalteten Körperpartien. Die Vasokonstriktion äußert sich in erhöhten systemischen und pulmonalvaskulären Widerständen. Mit fortschreitender Herzinsuffizienz sinkt die Ejektionsfraktion kontinuierlich, und das physiologische Herzzeitvolumen kann nicht mehr aufrechterhalten werden.

Kardiomyopathien werden von der Weltgesundheitsorganisation als Erkrankungen des Herzmuskels mit objektivierbaren kardialen Funktionsstörungen definiert [18]. Die dilatative Form zeichnet sich durch Kardiomegalie mit verminderter systolischer Pumpfunktion eines oder beider Ventrikel aus und wird weitergehend in eine idiopathische und eine sekundäre dilatative Kardiomyopathie (DCM) unterteilt. Für die sekundäre dilatative Kardiomyopathie sind heute über 75 Ursachen bekannt. Diese schließen neuromuskuläre, inflammatorische, toxische und endokrine Ursachen ein [19]. Die Erkrankung nimmt trotz leitliniengerechter medikamentöser Therapie einen progressiven Verlauf, so dass vielen Patienten als ultima ratio nur die Herztransplantation oder die temporäre Übernahme der Herzfunktion durch mechanische Herzunterstützungssysteme bleibt. Der plötzliche Herztod durch maligne Rhythmusstörungen stellt bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie die häufigste Todesursache dar [20].

2.4 Das kardiale Remodeling

Das fortschreitende funktionelle Versagen des Herzens wird von Veränderungen der Ventrikelform und -größe und von strukturellen Myokardalterationen begleitet [13]. Die Veränderungen stellen einen reaktiven Prozess auf genetischer, molekularer, zellulärer und interstitieller Ebene infolge einer kardialen Schädigung dar [11]. Unabhängig von der Ätiologie der Herzschädigung setzen ähnliche pathologische Prozesse ein, so dass ein gemeinsamer Mechanismus für die Entwicklung der Herzinsuffizienz vermutet wird [21]. Strukturelle Veränderungen des Herzens zeigen sich in der Verformung von der Ellipse zur Kugel [22]. In der Pathogenese der Herzinsuffizienz kommt es weiterhin zur Ventrikeldilatation, wodurch die Progression des Krankheitsbildes gefördert wird. Tomita et al. beschrieben nach dreiwöchiger

hochfrequenter Schrittmacherstimulation im Schweinemodell eine Zunahme des linksventrikulären enddiastolischen Diameters um 40 % [23].

Eine erhöhte Druck- und Volumenbelastung mit verstärkter Wandspannung führt zur Reexpression fetaler Gene und damit zur Synthese fetaler Proteine. Zudem kommt es zu einer myozytären Hypertrophie, die in einer Erhöhung der Herzmasse resultiert. Auch neuroendokrine Faktoren (Angiotensin II, Endothelin, Katecholamine) und Zytokine werden direkt mit der Entstehung der Hypertrophie assoziiert [13, 24]. Neben den parakrinen Effekten der Neurohormone kommt es durch die lokalen intrakardialen Systeme (Renin-Angiotensin-System und Endothelin-System) zur Hypertrophie, da erhöhte Konzentrationen von Angiotensin und Endothelin als Wachstumsfaktoren für Kardiomyozyten und Fibroblasten wirken [25, 26]. Unabhängig von der auslösenden Ursache besteht bei kardialer Hypertrophie ein deutlich erhöhtes Risiko für einen plötzlichen Herztod [27].

Ein weiteres Hauptmerkmal des Remodelings ist die Zunahme fibrotischen Gewebes im Myokard. Unter physiologischen Bedingungen unterliegt die extrazelluläre Matrix (EZM) einem permanenten Umbauprozess in Form von Abbau und Neusynthese auf einem ausgeglichenen Niveau. Dieses Gleichgewicht gewährleistet die Myozytenform, Myozytenanordnung und die Stabilität des Gewebeverbands. Im Rahmen des ventrikulären Remodelings kommt es zu einer veränderten Qualität und zur pathologischen Akkumulation von Matrixproteinen im Interstitium. Gunja-Smith und Mitarbeiter wiesen eine verstärkte Kollagensynthese bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie nach [28]. Diese Beobachtungen wurden von anderen Forschungsgruppen bestätigt [29, 30]. Je nach Ätiologie des Umbauprozesses können verschiedene Fibroseformen beobachtet werden, zum Beispiel die perivaskuläre Fibrose oder die Reparationsfibrose. Bei der dilatativen Kardiomyopathie tritt bevorzugt eine diffuse interstitielle Fibrose auf, die zunehmend Raum beansprucht und Myozyten verdrängt beziehungsweise ersetzt [28]. Dies führt zur Auflösung des Zellverbands und schließlich zum Verlust der zellulären Integrität. Begleitend kommt es zu einer gestörten Kraftübertragung während der Kontraktion. Abhängig von der Kollagenstruktur und -zusammensetzung ergibt sich eine verringerte Compliance des Myokards, die von einer diastolischen Dysfunktion begleitet wird [31], oder eine zunehmende Dilatation des Herzens [28].

Die Myozyten weisen deutliche Veränderungen der Ultrastruktur auf. Schaper et al. dokumentierten verkleinerte Mitochondrien in hypertrophen Herzmuskelzellen bei

gleichbleibender Mitochondrienzahl [30]. Desweiteren fanden sie vergrößerte Nuclei mit untypischen Chromatinansammlungen. Ein fortschreitender Zelluntergang der Kardiomyozyten durch Apoptose und Nekrose wurde von verschiedenen Forschungsgruppen dokumentiert und geht mit einer Kontraktilitätsverringern einher [31]. Störungen des Calciumstoffwechsels führen zur Calciumüberladung der Myozyten, was eine kontraktile Dysfunktion zur Folge hat [32, 33].

Das Zytoskelett nimmt im Myozyten die Rolle eines Stützgerüsts ein, das Größe und Form der Zelle beeinflusst und den Hauptanteil der mechanischen Stabilität ausmacht. Das komplexe, aus Filamenten und Tubuli bestehende Netzwerk verankert subzelluläre Strukturen wie Mitochondrien, Golgi-Apparat, Nucleus und Myofibrillen in der Zelle und überträgt mechanische und chemische Stimuli intra- und interzellulär [34, 35]. Das Zytoskelett übernimmt eine aktive Rolle bei kontraktile Vorgängen im Myozyten und ist aus einer Reihe von Proteinen zusammengesetzt, die in vier Gruppen unterteilt werden können [36]:

- Zytoskelettproteine im engeren Sinn: Tubulin, Desmin, Aktin
- Proteine der Sarkomere: Titin, α -Actinin, Myomesin, C-Protein, M-Protein
- membranassoziierte Proteine: Dystrophin, Vinculin, Talin, Spectrin u.a.
- intercalare Proteine: Desmoplakin, Desmin, N-Cadherin, Connexin u.a.

Membranassoziierte Proteine nehmen eine Sonderstellung ein, da sie in Funktionalität und Lokalisation von den anderen Proteinen des Zytoskeletts abweichen [35]. Sie verankern die Sarkomere am lateralen Sarkolemm und stabilisieren das T-Tubulussystem. Abb. 1 gibt einen Einblick in die vielfältigen Interaktionen zytoskelettärer Bestandteile im Herzmuskel. Verschiedene hochspezialisierte Proteinkomplexe, die in bestimmten Regionen des Sarkolemms lokalisiert sind, dienen der Verankerung der kontraktile Elemente.

Vinculin, Dystrophin und α -Actinin sind neben anderen Proteinen des Zytoskeletts mit sarkolemmalen Komplexen verbunden. Diese integrinassoziierten Fokalkontakte und Dystroglykankomplexe sind Schlüsselstrukturen für die Kraftübertragung von der Zelle zur extrazellulären Matrix und somit zu Nachbarzellen. Sie fungieren als transmembranöse Rezeptoren für Komponenten der extrazellulären Matrix und stellen eine Verbindung zum intrazellulären Aktin-Zytoskelett her [37]. Eine Beeinträchtigung der Proteinkomposition im Zytoskelett kann zu mechanischer Instabilität und eingeschränkter Funktion der Muskelzelle führen. Aus der Literatur ist

bekannt, dass Mutationen einzelner Zytoskelettbestandteile diverse Formen von Myopathien beim Menschen hervorrufen.

Die veränderte Expression zytoskelettärer Proteine im insuffizienten Myokard beeinflusst die Aktion der Myofilamente. So kommt es durch eine verminderte α -Actinin-Expression zu Störungen im Kontraktionsablauf und zu einer veränderten räumlichen Anordnung der Aktinfilamente. Auch der Verlust von kontraktilen Material ist ein regelmäßiger Befund bei dilatativer Kardiomyopathie [30, 38]. Die membranassoziierten Proteine Vinculin und Dystrophin werden bei dieser Form der Herzinsuffizienz vermehrt exprimiert [36]. Aquila et al. konnten dagegen keine Erhöhung des Vinculingehalts ausmachen, und die Arbeitsgruppe um Vatta detektierte eine selektive Zerstörung des Dystrophins bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie [39, 40]. Heling und Mitarbeiter beobachteten eine erhöhte mRNA- und Proteinexpression von Tubulin und Desmin. Die Befunde korrelierten mit einer immunhistologisch nachweisbaren Proteinakkumulation in den Myozyten [41].

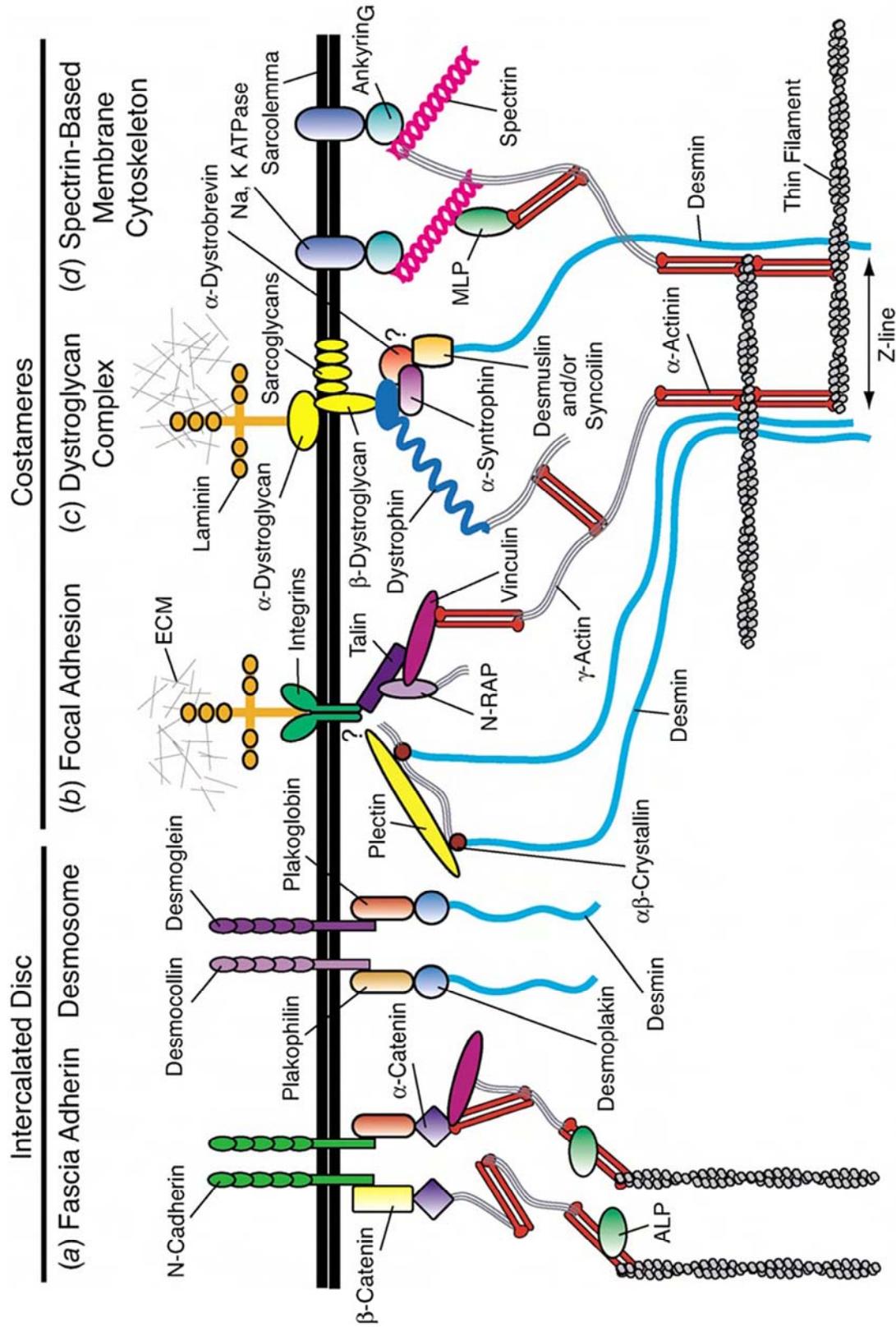


Abb. 1: Schematische Darstellung des Zytosketletts in der Herzmuskelzelle. Die kontraktiven Filamente werden über verschiedene membrangebundene Proteinkomplexe im Sarkoslemma verankert. (modifiziert nach Clark, K. et al., Ann Rev Cell Biol 2002, 18: 637-706)

2.5 Therapie der Herzinsuffizienz

Die Therapie der Herzinsuffizienz umfasst pharmakologische, aber auch invasive Maßnahmen. Eine adäquate medikamentöse Versorgung muss auf ein therapeutisches Kurz- und Langzeitziel ausgerichtet sein. Hierbei unterscheiden sich die Therapiemaßnahmen im Hinblick auf das Vorliegen einer chronischen (stabilen) oder einer akuten dekompensierten Herzinsuffizienz.

In den „Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz“ der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie [42] und den „ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of acute heart failure“ [12] werden für die zur Verfügung stehenden Maßnahmen regelmäßig Empfehlungsgrade und Evidenzniveaus veröffentlicht, die zu einer optimalen Patientenversorgung beitragen sollen.

Während früher hauptsächlich positiv inotrope Substanzen (Herzglykoside) eingesetzt wurden, hat sich aufgrund der Ergebnisse klinischer Studien der letzten 20 Jahre ein Wandel im therapeutischen Konzept vollzogen [13]. Heute werden vorwiegend Wirkstoffgruppen angewendet, die zum einen die Herzarbeit ökonomisieren und zum anderen die einsetzenden Kompensationsreaktionen des Körpers, wie die erhöhte Aktivität des Sympathikus und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), mindern oder sogar aufheben.

Eine hohe Bedeutung kommt auch der Therapie der Grunderkrankung zu, da diese einen entscheidenden pathognomonischen Faktor für das Herzinsuffizienz-Syndrom darstellt.

2.5.1 Medikamentöse Therapie der akuten Herzinsuffizienz

Primäres Ziel ist die hämodynamische Stabilisierung und die Verbesserung der Symptomatik des Patienten. Ziel der Therapie ist das Anheben des Schlagvolumens, die Verbesserung der Herzleistung und die Reduktion des pulmonalkapillären Verschlussdrucks und des rechtsatrialen Druckes. Bei respiratorischer Insuffizienz des Patienten kann eine mechanische Unterstützung der Atmung angezeigt sein [12].

2.5.1.1 Morphium und Analoga

Morphium und Analoga sind zur frühen Therapie der akuten Herzinsuffizienz indiziert, besonders bei Patienten mit Ruhelosigkeit und Dyspnoe. Sie bewirken eine venöse und milde arterielle Dilatation und tragen zur Beruhigung des Patienten bei [43]. Eine Mortalitätsreduktion konnte bisher nicht nachgewiesen werden.

2.5.1.2 Vasodilantien

Nitrate haben ein dosisabhängiges Wirkungsprofil. In niedriger Dosis verursachen sie vor allem eine Venodilatation mit venösem Pooling und dadurch eine Absenkung der Vorlast. Mit steigender Dosierung dilatieren sie auch Arterien - inklusive der Koronarien - und reduzieren so zunehmend die Nachlast [12].

2.5.1.3 Diuretika

Diuretika, bevorzugt Schleifendiuretika wie Furosemid, bessern die klinischen Stauungserscheinungen durch Exkretion von Wasser und Natrium, wodurch das Gesamtkörperwasser reduziert wird. In der Folge sinkt der linksventrikuläre Füllungsdruck [44].

2.5.1.4 Positiv inotrope Substanzen

Positiv inotrope Substanzen müssen bei peripherer Hypoperfusion mit oder ohne Stauungszeichen eingesetzt werden, wenn anderweitig keine ausreichende Stabilität des Patienten erreicht werden kann [12]. Dobutamin stimuliert dosisabhängig β_1 - und β_2 -Rezeptoren und zeigt eine positiv inotrope und chronotrope Wirkung. Bei niedriger Dosierung induziert es eine leichte arterielle Vasodilatation [45] ; bei Dosen über 15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ kommt es beim Menschen zu einer α -Rezeptorenstimulation mit Vasokonstriktion. Allerdings erhöhen die meisten positiv inotropen Substanzen den myokardialen Sauerstoffbedarf und die intrazelluläre Calciumkonzentration [46]. Diese potenziell kontraproduktiven Eigenschaften spiegeln sich in aktuellen Studien wider, in denen eine Verbesserung der Prognose nicht nachgewiesen werden konnte [47].

2.5.1.5 Vasopressoren

Wenn im kardiogenen Schock trotz der Kombination von positiv inotropen Substanzen und Diuretika keine adäquate Organperfusion wiederhergestellt werden kann, sind Vasopressoren die Therapie der Wahl. Allerdings wird durch sie die Nachlast erhöht, was zu einem weiteren Abfall der Organperfusion führen kann.

Adrenalin hat eine hohe Affinität zu β_1 -, β_2 - und α -Rezeptoren. Es wird nur als ultima ratio-Medikation verabreicht, da der myokardiale Sauerstoffverbrauch nach Adrenalingabe steigt. Noradrenalin hat eine hohe Affinität zu α -Rezeptoren und wird zur Anhebung des systemischen Widerstandes eingesetzt, wodurch die Gefahr einer Endorgan-Hypoperfusion besteht [12].

2.5.2 Medikamentöse Therapie der chronischen Herzinsuffizienz

2.5.2.1 Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE)-Hemmer

Aufgrund evidenzbasierter Daten kommen ACE-Hemmer auf allen vier Stufen der NYHA-Klassifizierung zum Einsatz, sowohl bei asymptomatischer linksventrikulärer Funktionseinschränkung als auch bei klinisch manifester Herzinsuffizienz.

Ihr Wirkprofil lässt sich nicht allein durch die Senkung von Vor- und Nachlast erklären, sondern vor allem durch die antagonistische Wirkung auf das RAAS und auf den Sympathikus, wodurch die Progression des kardialen Remodelings verlangsamt wird [48, 49]

Mehrere große Therapiestudien belegen, dass ACE-Hemmer unabhängig von der kardialen Grundkrankheit die Mortalität entscheidend senken und zu einer Verbesserung der Symptomatik und der Prognose führen [50].

So konnte in den kontrollierten Studien CONSENSUS und SOLVD eine hochsignifikante Senkung der Letalität um bis zu 50 % gezeigt werden [51, 52].

2.5.2.2 AT₁-Rezeptorblocker

AT₁-Rezeptorblocker greifen ebenfalls in das RAAS ein. Im Gegensatz zu ACE-Hemmern führen sie nicht zu einer Verminderung der extrazellulären Angiotensin II-Spiegel, zeigen jedoch vergleichbare Wirkungen. Die randomisierte Studie Val-heFT zeigte, dass Angiotensin II-Antagonisten in Kombinationstherapie mit ACE-Hemmern zu einer zusätzlichen Mortalitätssenkung führen können [53]. Sie sind überdies bei einer Intoleranz gegenüber ACE-Inhibitoren indiziert [54].

2.5.2.3 β -Adrenozeptor-Blocker

Seit wenigen Jahren gehören β -Blocker zur Standardtherapie der Herzinsuffizienz in den NYHA-Klassen II-IV [55]. Bei herzinsuffizienten Patienten ist der Sympathikotonus chronisch erhöht. Dies hat eine verminderte Expressierung von β_1 -Rezeptoren im Myokard zur Folge. Durch (1) Reduktion dieser Downregulation und (2) gleichzeitiger Inhibierung des Sympathikus senken β -Blocker die Herzfrequenz, den Sauerstoffbedarf des Myokards und den Blutdruck. Weiterhin tragen sie entscheidend zur Verlangsamung des myokardialen Remodelings bei [56, 57]. Durch die Blockade von β_1 -Rezeptoren kommt es bei der Therapie initial zu einer negativ inotropen Wirkung. Die positiven Wirkungen des antiadrenergen Effekts sind teilweise erst nach Monaten feststellbar [58]. Mit der COPERNICUS- und der MERIT-HF-Studie konnte eine hochsignifikante Mortalitätssenkung durch die Gabe von β -Blockern gezeigt werden [59, 60].

2.5.2.4 Diuretika

Diuretika sind zusammen mit β -Blockern und ACE-Hemmern die dritte Hauptstütze der Therapie der Herzinsuffizienz. Sie kommen in den NYHA-Klassen III und IV und unabhängig davon zur symptomatischen Therapie bei vorliegenden Stauungszeichen und Flüssigkeitsretention zum Einsatz. Als Vor- und Nachlastsenker bewirken sie eine rasche klinische Besserung und sollten immer in Kombination mit ACE-Hemmern und β -Blockern eingesetzt werden. Hierbei kommt der Substanz Torasemid eine besondere Rolle zu, da sie die einzige ist, die zu einer nachweisbaren Mortalitätssenkung führt [61].

2.5.2.5 Aldosteron-Antagonisten

Durch die Suppression des neurohumoralen Systems kommt es zu einem additiven Effekt mit ACE-Hemmern und β -Adrenozeptor-Blockern, was zu einer verbesserten Prognose führt [62].

2.5.2.6 Herzglykoside

Die ältesten Pharmaka zur Therapie der Herzinsuffizienz sind Digitalispräparate, von denen heute vor allem noch Digoxin und Digitoxin zum Einsatz kommen. Digitalispräparate werden aufgrund ihrer antiarrhythmischen Eigenschaften bei

tachykardem Vorhofflattern/-flimmern eingesetzt. Trotz ihrer positiv inotropen Eigenschaften haben Digoxin und Digitoxin keinen Einfluss auf die Letalität, senken jedoch die Hospitalisationsrate [63].

2.5.2.7 Vasodilantien

Bei systolischer Herzinsuffizienz gibt es nach den Leitlinien keine Indikation für den Einsatz von Vasodilantien [62]. Liegt jedoch eine Intoleranz des Patienten gegenüber ACE-Hemmern und AT₁-Antagonisten vor, so kann ein Therapieversuch mit einer Kombination von Hydralazin und Isosorbiddinitrat unternommen werden [64].

2.5.2.8 Antikoagulantien

Eine Antikoagulation ist bei Herzinsuffizienz und gleichzeitig vorliegendem chronischen oder paroxysmalen Vorhofflimmern sowie bei hochgradig eingeschränkter Ejektionsfraktion indiziert. Allerdings liegt für Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und Sinusrhythmus heutzutage keine ausreichende Evidenz vor, dass eine antithrombotische Therapie die Sterblichkeit oder Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse vermindert [62].

2.5.3 Apparative Therapie der chronischen Herzinsuffizienz

2.5.3.1 Kardiale Resynchronisationstherapie

Intraventrikuläre Leitungsstörungen, insbesondere ein Linksschenkelblock, sind häufige Begleiterscheinungen der chronischen Herzinsuffizienz. Durch den asynchronen Kontraktionsablauf kommt es zur Verkürzung der diastolischen Füllungszeit und in der Folge zu einer erniedrigten Ejektionsfraktion. Auch eine reduzierte Kontraktionskraft der Ventrikel sowie eine funktionelle Mitralisinsuffizienz wurden im Zusammenhang mit Leitungsstörungen beobachtet [65, 66].

In der kardialen Resynchronisationstherapie wird dem Patienten ein Herzschrittmacher implantiert, der durch links- oder biventrikuläre Stimulation und gleichzeitiges atriales Abtasten die Ventrikelkontraktion resynchronisiert und somit eine effektivere Herzarbeit gewährleistet (Abb. 2). Die MIRACLE-Studie belegte eine signifikante Verbesserung der kardiopulmonalen Belastbarkeit bei Patienten im

NYHA-Stadium III-IV, die einen Linksschenkelblock und Sinusrhythmus aufwiesen und zudem eine leitliniengerechte Medikation erhielten [67]. Die Resynchronisation führt in Kombination mit einer medikamentösen Therapie zu einer Verminderung der Hospitalisationsrate und der Gesamtmortalität [68].

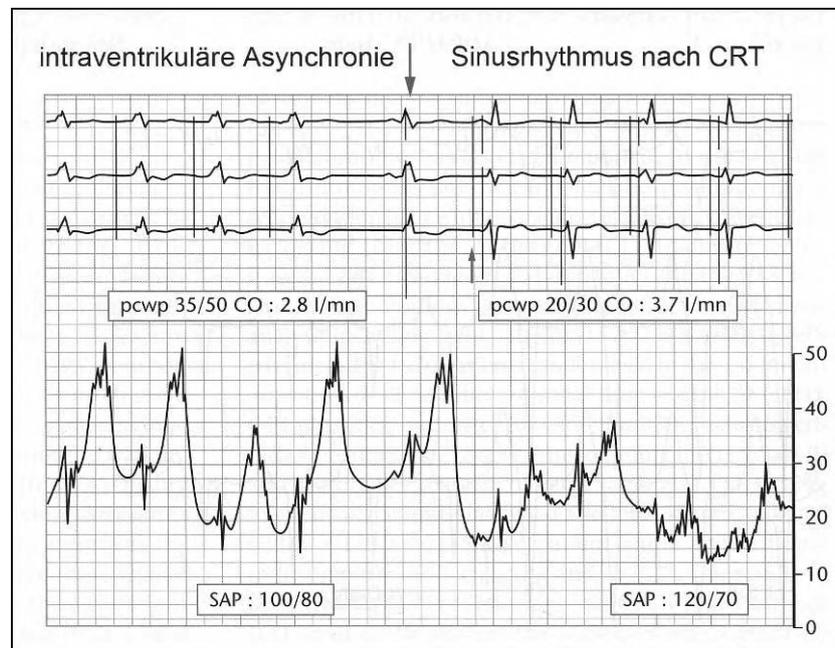


Abb. 2: intraventrikuläre Asynchronie.

Verbreiteter QRS-Komplex als Zeichen der Überleitungsverzögerung bei asynchronen Ventrikelkontraktionen. Nach Resynchronisationstherapie (CRT) Verbesserung relevanter hämodynamischer Parameter (SAP: arterieller Druck in mmHg, PCWP: pulmonalkapillärer Verschlussdruck in mmHg, CO: Herzzeitvolumen in l/min).

2.6 Kardiale Assist-Systeme

2.6.1 Historischer Überblick

Die Entwicklung der mechanischen Kreislaufunterstützung verlief parallel mit der Entwicklung der Herztransplantation. Im Jahr 1953 verwendete J. Gibbon erstmals erfolgreich eine Herz-Lungen-Maschine, um Operationen am offenen Herzen durchzuführen. Dies zeigte, dass es prinzipiell möglich war, die Herz- und Lungentätigkeit von einer Maschine übernehmen zu lassen [69]. In den folgenden Jahren fand die Herz-Lungen-Maschine eine breite klinische Anwendung. Da Patienten jedoch häufig erst nach mehreren Stunden oder gar nicht von dieser Kreislaufunterstützung entwöhnt werden konnten, suchte man nach Alternativen, mit

denen die Herzfunktion über einen längeren Zeitraum übernommen werden konnte [70].

DeBakey et al. entwickelten daraufhin ein implantierbares linksventrikuläres Unterstützungssystem (Left Ventricular Assist Device, LVAD), das aus einem doppellumigen Schlauch bestand: der innere Schlauch diente als Blutkammer und verband den linken Vorhof mit der Aorta; er war umhüllt vom äußeren, als Luftkammer fungierenden Schlauch. Dieser führte zu einer externen pneumatischen Pumpe. 1963 wurde dieses LVAD erstmals über einen Zeitraum von vier Tagen an einem Patienten angewendet [71]. Bereits drei Jahre später wurde ein kardiales Assist-System als „bridge-to-recovery“ eingesetzt: DeBakey implantierte extrakorporale linksventrikuläre Unterstützungssysteme in zwei Patienten, die nicht von der Herz-Lungen-Maschine entwöhnt werden konnten. Beide zeigten daraufhin komplette Erholung und ermöglichten so eine Entfernung der Pumpen nach vier beziehungsweise zehn Tagen [72].

Christiaan Barnard legte 1967 mit der ersten erfolgreichen Herztransplantation den Grundstein für die Verwendung kardialer Assist-Systeme als „bridge-to-transplant“ [73]. 1978 konnte einem jungen Patienten das erste LVAD als Überbrückung bis zur Herztransplantation eingesetzt werden [74].

Das 1977 vom National Heart, Lung and Blood Institute (USA) initiierte Programm zur Entwicklung linksventrikulärer Unterstützungssysteme förderte die kontinuierliche Weiterentwicklung der Technologie. Hieraus ging bis heute eine Vielzahl von Herzunterstützungssystemen hervor.

In aktuellen Studien konnte nach Implantation eines linksventrikulären Unterstützungssystems eine signifikant höhere Überlebensrate im Vergleich zu ausschließlich medikamentöser Therapie nachgewiesen werden [75, 76].

2.6.2 Para- und extrakorporale Unterstützungssysteme

Die erste Generation ventrikulärer Herzunterstützungssysteme, welche eine breitere klinische Anwendung fanden, sind para- oder extrakorporal positionierte, pulsatile, pneumatisch angetriebene Blutpumpen, die als rechts-, links- oder biventrikuläres Unterstützungssystem einsetzbar sind. Sie basieren auf dem von W.S. Pierce Ende der 70er Jahre entwickelten Pumpsystem (Pierce-Donachey-Ventricular Assist Device) [77], bei dem die Kompression eines blutgefüllten Sackes einen pulsatilen Blutfluss erzeugt. Kanülen oder Gefäßprothesen drainieren das Blut in den

Herzhöhlen (linker Vorhof, rechter Vorhof oder linker Ventrikel) ab und befördern es in die großen zentralen Gefäße (Aorta oder Arteria pulmonalis). Eine externe Steuereinheit versorgt die para- oder extrakorporal gelegene Blutpumpe mit Druckluft. Seit 1982 steht das mit Pierce-Donachey-Pumpen ausgestattete *Thoratec Ventricular Assist Device* (Thoratec Lab. Corp., USA) zum breiteren klinischen Einsatz zur Verfügung [78].

Europaweit angewendet wird seit 1988 das parakorporale Herzunterstützungssystem *Berlin Heart* (Berlin Heart AG, Deutschland). Die anfangs große Steuerkonsole wurde durch eine kleinere, portable Konsole ersetzt, um die Mobilität des Patienten zu erhöhen [79, 80]. Bei dem 1992 von der amerikanischen Food and Drug Administration zugelassenen Unterstützungssystem *Abiomed BVS 5000* (Abiomed Cardiovascular, USA) wird die Blutpumpe neben dem Patientenbett stehend betrieben.

2.6.3 Intrakorporale Unterstützungssysteme

2.6.3.1 Pulsatile Systeme

Kantrowitz und Mitarbeiter berichteten 1968 über den ersten klinischen Einsatz der intraaortalen Ballonpumpe (IABP) [81]. Hierbei wird ein Pumpenkatheter am Übergang vom Aortenbogen zur Aorta descendens platziert und ein Ballon am Katheterende in der Diastole mit Heliumgas aufgepumpt. Durch die Anhebung des diastolischen Blutdrucks wird die Koronarperfusion und damit das myokardiale Sauerstoffangebot gesteigert. Konsekutiv kommt es zu einer Steigerung der Ejektionsfraktion mit Senkung des linksventrikulären enddiastolischen Füllungsdrucks. In der Systole verringert die abrupt evakuierte IABP die Nachlast und verbessert somit zusätzlich die Auswurfleistung des linken Ventrikels (Abb. 3). Weiterhin wird der Sauerstoffbedarf des Herzens reduziert. Die heutzutage perkutan über die Arteria femoralis platzierbare Pumpe stellt das am häufigsten verwendete Herzunterstützungssystem dar [82], benötigt jedoch aufgrund der fehlenden aktiven Blutförderung eine linksventrikuläre Restfunktion.

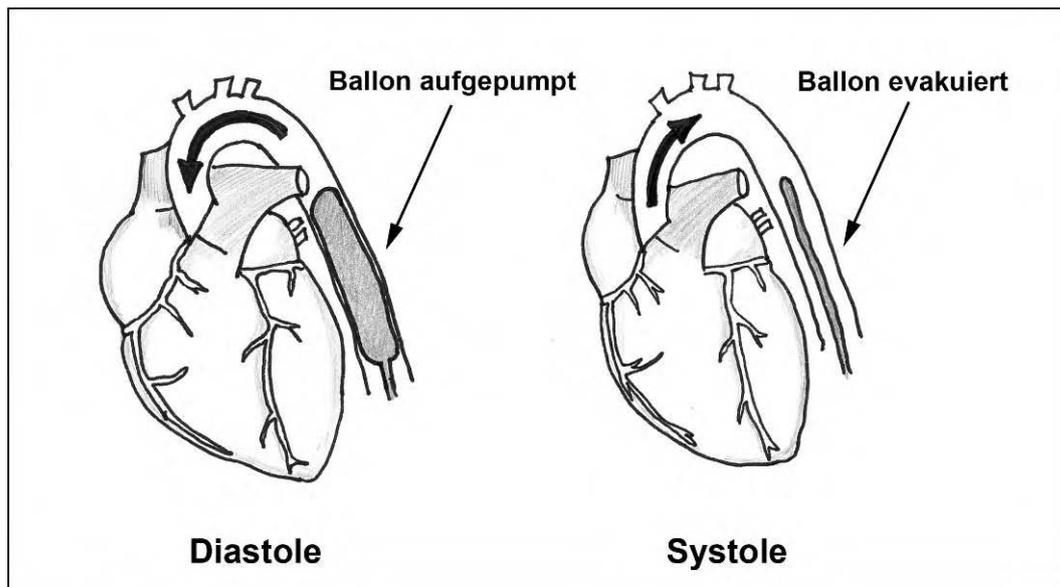


Abb. 3: Funktionsweise der intraaortalen Ballonpumpe.

Die Inflation des Ballons erfolgt zu Beginn der Diastole und führt zu einer gesteigerten Perfusion der Koronargefäße und des Myokards. Die Deflation in der Systole bewirkt eine Volumenverschiebung und damit eine Reduktion des aktuellen Aortendrucks, wodurch die Auswurfleistung des linken Ventrikels erleichtert wird.

Als implantierbare, elektrisch betriebene Pumpsysteme wurden das *NOVACOR LVAS N100PC* (World Heart Corp., Kanada) 1984 und das *HeartMate LVAD* (Thoratec Lab. Corp., USA) 1991 in den klinischen Betrieb eingeführt [83]. Um die intrakorporal platzierte Pumpe mit externer Kontrolleinheit und Batterie zu verbinden, ist die perkutane Ausleitung der Versorgungsleitungen weiterhin unabdingbar. Eine Ausnahme bildet das *LionHeart LVD-2000* (Arrow Int., USA), welches einen transdermalen Energietransfer durch elektromagnetische Induktion gewährleistet. Es liegen jedoch nur begrenzte Erfahrungen mit diesem Herzunterstützungssystem vor [84].

2.6.3.2 Nicht-pulsatile Systeme

Als Axialflusspumpen werden implantierbare Blutpumpen charakterisiert, die einen kontinuierlichen, nicht-pulsatilen Blutstrom erzeugen. Der implantierte Pumpenmotor baut ein schnell rotierendes elektromagnetisches Feld auf, das eine Schraube (Impeller) antreibt. Die mit hoher Umdrehungszahl (8000-12000 /min) rotierende Schraube befördert das Blut über Kanülen vom linken Ventrikel in die Aorta; Klappen zur Gewährleistung des unidirektionalen Blutflusses sind nicht erforderlich. Verglichen mit pulsatilen Pumpen erlaubt dieses Konstruktionsprinzip eine

kompaktere Bauweise mit deutlicher Reduktion von Größe, Gewicht (unter 200 g) und Energiebedarf [85]. Weiterhin sind diese Pumpen leichter steuerbar und geräuschärmer als pulsatile Systeme. Als Axialpumpen konzipiert sind das 1998 in den klinischen Betrieb eingeführte *DeBakey VAD* (MicroMed Inc., USA), *Jarvik 2000* (Jarvic Heart Inc., USA) und *HeartMate II* (ThermoCardiosystems Inc., USA) [86-91]. Seit 2001 steht die elektrisch betriebene Mikroaxialflusspumpe *Impella Recover* (ABIOMED Europe, Aachen) für die temporäre Unterstützung der Herzfunktion zur Verfügung [92]. Die miniaturisierte intrakardiale Blutpumpe *Impella Recover LP 2.5* wird mittels Führungsdraht perkutan über die Arteria femoralis eingeführt und via Aorta und Aortenklappe im linken Ventrikel platziert. Sie fördert bis zu 2,5 l Blut pro Minute bei einer Drehzahl von 55000 /min (Abb. 4 und 5). Ein Miniaturdrucksensor im Pumpenstecker erlaubt die Kalkulation der Blutflussmenge und die Bestimmung der korrekten Pumpenlage. Das zur Steuerungs- und Energieversorgungskonsolle führende Kabel muss auch bei den neuen Axialflusssystemen perkutan ausgeleitet werden. Das System ist in Europa für eine maximal fünftägige Unterstützung des Patientenkreislaufs zugelassen.

In einer Tierstudie an Schafen konnte nach kardialer Entlastung mit dem *Impella Recover LP 5.0* LVAD (maximales Blutfördervolumen: 5 l/min) eine signifikante Reduktion der Infarktgröße im linken Ventrikel nachgewiesen werden [93]. Die Infarktinduktion erfolgte mittels einstündiger Koronararterienokklusion, an die eine zweistündige Reperfusion anschloss. Die Mikroaxialpumpe wurde dabei über einen Zeitraum von maximal drei Stunden angewendet. Untersuchungen über den Pumpeneinsatz im insuffizienten Herzen stehen noch aus.

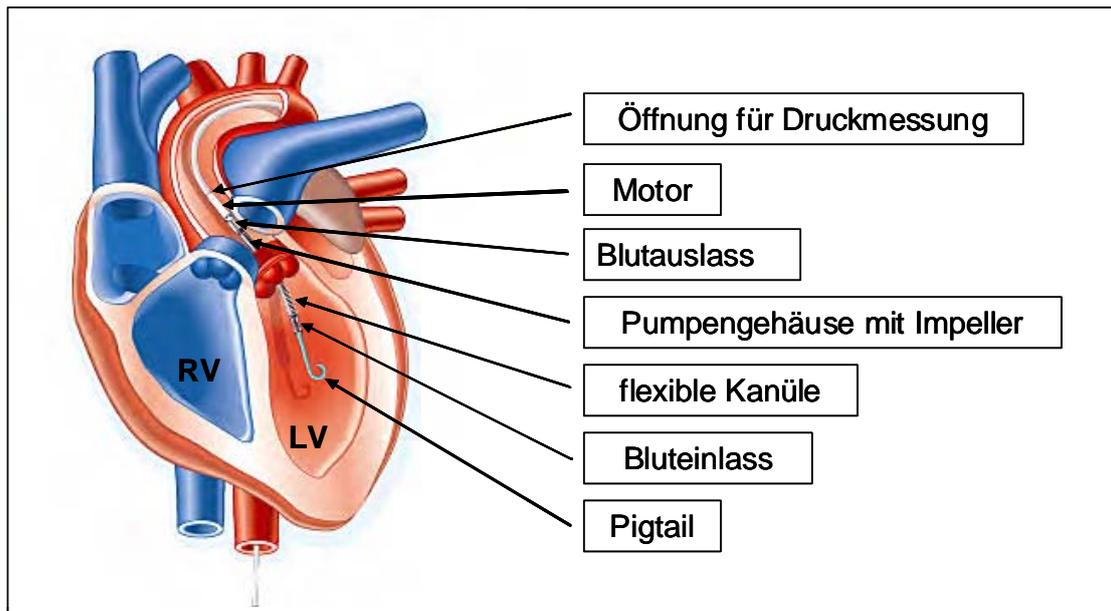


Abb. 4: Position der Mikroaxialflusspumpe Impella LP 2.5 im linken Ventrikel.

Das Blut wird aus dem Ventrikel drainiert und mit kontinuierlichem Fluss in die Aorta ascendens ausgeworfen. Das gebogene elastische Endstück (pigtail) soll ein Ansaugen der Pumpe am Myokard verhindern. (modifiziert nach: Impella Cardiosystems AG, Aachen)

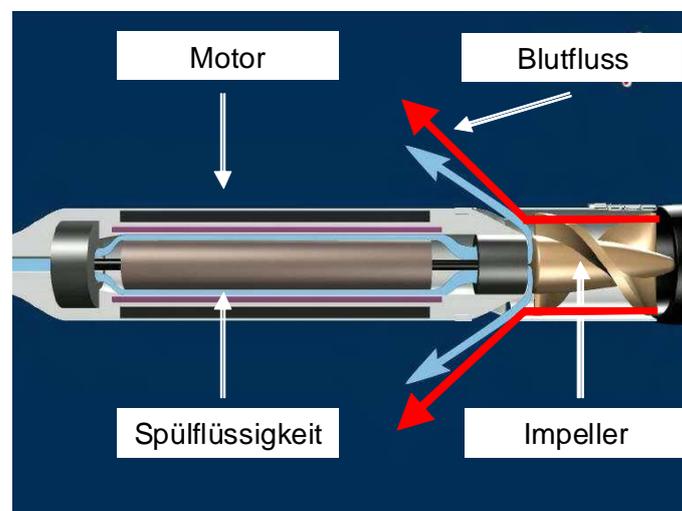


Abb. 5: Detail-Abbildung der Axialpumpe Impella LP 2.5: Pumpengehäuse mit Impeller.

Der Impeller fördert mit einer Drehfrequenz von maximal 55000 /min Blut und wirft es in die Aorta ascendens aus. Heparinisierte Spülflüssigkeit (blau) wird kontinuierlich durch die Motoreinheit geleitet. Die Spülung verhindert das Eindringen von Blut in den Motorbereich der Pumpe. (modifiziert nach: Impella Cardiosystems AG, Aachen)

2.6.4 Total Artificial Heart

Der klinische Einsatz von Kunstherzen (total artificial hearts) begann in den 80er Jahren. Der komplette Herzersatz ist in den Fällen sinnvoll, in denen das eigene Herz

nicht erhalten werden kann, zum Beispiel aufgrund von Infektionen oder kardialen Tumoren. Kunstherzen stellen eine Alternative zur Herztransplantation dar, jedoch sind die klinischen Erfahrungen bisher begrenzt. Das seit 2001 verwendete *Abioco TAH* (Abiomed Cardiovascular Inc., USA) wird durch transdermale Energieübertragung angetrieben [94, 95]. Die perkutane Ausleitung von Versorgungskabeln ist somit nicht nötig.

2.6.5 Weitere operative Verfahren

Die partielle Ventrikulektomie (Batista-Operation) und die Kardiomyoplastie [96] haben sich nicht bewährt. Die Verwendung eines kardialen Unterstützungsnetzes (*CorCap CSD*, Acorn Cardiovascular Inc., USA) ist ein Therapieansatz, der sich noch in der experimentellen Phase befindet [97]. Die Endoventricular Circular Patch Plasty (EVCPP, DOR-Plastik) hingegen ist eine etablierte Methode zur Rekonstruktion des post-ischämisch dilatierten linken Ventrikels [98].

2.7 Myokardiales „Reverse Remodeling“ unter dem Einfluss linksventrikulärer Unterstützungssysteme

Der Begriff „Reverse Remodeling“ beschreibt die Regression der spezifischen myokardialen Veränderungen eines Krankheitsbildes, einhergehend mit einer funktionellen Verbesserung oder sogar Wiederherstellung des ursprünglichen Zustands. Die durch linksventrikuläre Unterstützungssysteme bewirkte Volumen- und Druckentlastung des linken Ventrikels kann entscheidend zum „Reverse Remodeling“ beitragen.

In einigen Untersuchungen konnten Ansätze einer strukturellen Normalisierung und funktionelle Erholung des Herzens unter kardialer Entlastung durch ein Pumpensystem nachgewiesen werden. Das kugelförmig veränderte Herz nimmt dabei wieder elliptische Form an [99]. Frazier et al. dokumentierten eine signifikante Verringerung des linksventrikulären enddiastolischen Diameters (LVEDD) sowie eine gesteigerte Ejektionsfraktion des linken Ventrikels [100]. Weitere Arbeitsgruppen konnten diese Ergebnisse bestätigen [7, 101-103]. Nakatani und Mitarbeiter betonten, dass die Abnahme des linksventrikulären enddiastolischen Diameters, verbunden mit einer diastolischen Wanddickenzunahme von Septum und Hinterwand

des linken Ventrikels, direkt nach Aktivierung eines pulsatilen Assist-Systems zu verzeichnen war und sich bis zum Zeitpunkt der Explantation keine weiteren Veränderungen ergaben. Sie folgerten, dass die Verkleinerung des Ventrikels als direkte Antwort auf die Volumenentlastung zu verstehen ist und nicht im Rahmen des „Reverse Remodeling“ initiiert wird [3, 104].

Eine Verringerung und zumindest partielle Normalisierung der neurohumoralen Aktivität und erniedrigte Interleukin-6 und Interleukin-8-Expression werden in der Literatur beschrieben [105]. Außerdem wurde eine Verbesserung der hämodynamischen Situation mit signifikanter Verringerung von zentralem Venendruck, pulmonalarteriellem Druck sowie pulmonalkapillärem Verschlussdruck (PCWP) und Anstieg des arteriellen Druckes gezeigt [100, 106, 107]. Der Cardiac Index als Maß für die Pumpfunktion des Herzens stieg signifikant an [3, 100, 104, 106].

Bei steigenden enddiastolischen Drücken kommt es durch vermehrte Scherkräfte zu einer Zunahme der extrazellulären Matrix und Hypertrophie der Myozyten [24]. Verschiedene Arbeitsgruppen konnten nach Anwendung eines Herzunterstützungssystems eine Regression dieser Phänomene dokumentieren [5, 103, 108].

Andere Gruppen bestätigten die Rückbildung der Zellhypertrophie [100, 107, 109]. Myozytenverkleinerung wurde jedoch von Terraciano und Mitarbeitern auch bei Patienten nachgewiesen, die klinisch keine Erholung zeigten. Dies könnte Ausdruck einer kontraproduktiven Zellatrophie sein, die mit einer funktionellen Verschlechterung verbunden ist [102]. Die Arbeitsgruppe um Kinoshita beschrieb eine LVAD-induzierte Herzmuskelatrophie im Tiermodell an gesunden Ziegen nach nahezu kompletter Ventrikelentlastung [110]. Möglicherweise ist die Erhaltung einer geringen Nachlast während des Supports vorteilhaft zur Vorbeugung einer Inaktivitätsatrophie [3]. Hetzer et al. postulierten hingegen, dass die komplette Entlastung essentiell für die kardiale Erholung ist [101].

Uneinigkeit besteht in der Frage, welche Auswirkungen kardiale Unterstützungssysteme auf den Umbau der extrazellulären Matrix haben. Während mehrere Arbeitsgruppen einen unveränderten Kollagengehalt vorfanden [111, 112], wurde in diversen Untersuchungen eine signifikante Zunahme der Fibrose verzeichnet [104, 113, 114], welche nicht auf das Implantationsgebiet des Unterstützungssystems im linken Ventrikel beschränkt war, sondern diffus im

gesamten Ventrikel verteilt vorkam [109]. Scheinin und Mitarbeiter konnten eine verstärkte interstitielle Reparationsfibrose nach mindestens 30 Tagen mechanischer Unterstützung ausmachen [115]. Madigan et al. beschrieben eine relative Kollagenzunahme nach über 40 Tagen LVAD-Unterstützung [116]. Dieses Phänomen ist möglicherweise bedingt durch eine anhaltende Myozytenschädigung trotz kardialer Entlastung [117]. Mehrere Beobachtungen stützen jedoch die gegenteilige These, dass die Myozytenschädigung und der Myozytenverlust nach Implantation eines linksventrikulären Unterstützungssystems reduziert werden [3, 100].

Mutationen einzelner Zytoskelettbestandteile führen zu verschiedenen Formen von Myopathien beim Menschen. Veränderungen des Zytoskeletts bei Kardiomyopathien waren in jüngerer Vergangenheit Gegenstand der Forschung (siehe Abschnitt 2.4). Ob die Quantität oder das Verteilungsmuster ausgewählter zytoskelettärer Proteine durch ventrikuläre Unterstützungssysteme beeinflusst wird, konnte bisher nur in Ansätzen geklärt werden.

Die mechanische Herzentlastung kann die Morphologie der kontraktilen Filamente im Myozyten normalisieren. De Jonge und Mitarbeiter fanden eine partielle Verbesserung des Aktin- und Titinmusters nach kardialer Entlastung, wobei in weiten Arealen noch die zerstörte Zellarchitektur vorherrschte. Titin wird für die korrekte Anordnung neusynthetisierter Aktin- und Myosinfilamente benötigt und ist somit essentiell für den Gleitfasermechanismus dieser kontraktilen Elemente. Eine Beeinträchtigung des Titinmusters kann die Entstehung neuer Sarkomere behindern. Weiterhin gelang der Arbeitsgruppe um de Jonge der Nachweis, dass innerhalb einer kontraktilen Faser Myozyten mit intakter und solche mit veränderter Tropomyosinstruktur alternierend auftreten [109].

Ergänzende Untersuchungen konnten zeigen, dass sich das „Reverse Remodeling“ kontraktiler Filamente nicht auf den linken Ventrikel beschränkt: in einer weiteren Studie detektierte die Arbeitsgruppe gleiche Verteilungsmuster der untersuchten Proteine in linkem Ventrikel, rechtem Ventrikel und Septum nach Anwendung eines linksventrikulären Unterstützungssystems [118].

Aquila und Mitarbeiter führten Untersuchungen an isolierten Myozyten nach linksventrikulärer mechanischer Unterstützung durch. Sie konnten eine Normalisierung der lückenhaften Vinculinverteilung detektieren. Weiterhin gelang

ihnen der Nachweis, dass der im insuffizienten Myozyten gefundene erhöhte Desmingehalt und die stärkere Z-Linien-Anfärbung partiell reversibel waren [39].

Bereits zwei Jahre zuvor beobachtete die Gruppe um Vatta positive Auswirkungen von linksventrikulären Unterstützungssystemen auf Dystrophin. Strukturelle Aberrationen am Aminoende des Dystrophinmoleküls konnten durch den Einsatz eines linksventrikulären Unterstützungssystems normalisiert werden [119].

Die veränderte Calcium-Homöostase, die mit einer kontraktilen Dysfunktion des Kardiomyozyten korreliert, kann durch linksventrikuläre Assist-Systeme normalisiert werden. Dabei kommt es zu einer erhöhten Calciumaufnahme in das sarkoplasmatische Retikulum [100, 102]. Heerdt et al. konnten diese Ergebnisse bestätigen und eine signifikante Erhöhung der sarkoplasmatischen Calcium-ATPase unter LVAD-Unterstützung zeigen. Diese Merkmale waren in allen drei Untersuchungen mit einer klinisch dokumentierten Verbesserung der Patienten verbunden [106].

2.8 Chronische Herzinsuffizienz im Tiermodell

Es existieren zahlreiche Tiermodelle, mit denen die Untersuchung funktioneller Aspekte und molekularer Mechanismen der Herzinsuffizienz ermöglicht werden soll. Dabei wird ein weitreichendes Versuchstierspektrum abgedeckt. Die mit Abstand am häufigsten verwendeten Versuchstiere zu diesem Zweck sind Ratten. Limitierende Faktoren wie geringe Körpergröße und diverse funktionelle Unterschiede im Vergleich zu humanem Myokard machen jedoch Modelle, in denen größere Tiere verwendet werden, unabdingbar.

Hunde, Schweine oder Schafe werden als Tiermodell für bestimmte Fragestellungen bevorzugt, da bei diesen Tieren eine chronische Instrumentierung weit besser möglich ist als bei Nagetieren. Zudem können häufige Blutabnahmen durchgeführt werden. Das Schwein hat als Versuchstier in der medizinischen Forschung in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen [120]. Viele seiner Organsysteme weisen große Ähnlichkeiten zum Menschen auf [121]. Die kardiale Anatomie und Physiologie ist vergleichbar mit den menschlichen Verhältnissen und prädestiniert das Schwein als Versuchstier für die kardiovaskuläre Forschung [122].

Das Tiermodell weist jedoch limitierende Faktoren auf, die bei der Übertragung der Versuchsergebnisse auf den Menschen in Betracht gezogen werden müssen. Fast

alle Insuffizienzmodelle unterscheiden sich von den Umständen beim Menschen in dem plötzlichen Beginn der Herzinsuffizienz durch chirurgische oder pharmakologische Intervention und in der monofaktoriellen Genese der Erkrankung [123]. Trotzdem eignen sich diese Tiermodelle, um die komplexen Mechanismen im Verlauf des kardialen Remodelings zu untersuchen und mögliche Veränderungen im Sinne eines „Reverse Remodeling“ zu detektieren.

Verschiedene Interventionen sind möglich, um beim Versuchstier eine reproduzierbare Herzinsuffizienz zu induzieren. Die Koronararterienligation führt zum myokardialen Infarkt mit anschließender Ausprägung einer linksventrikulären Dilatation und Insuffizienz [124]. Diese Methode geht mit hoher Mortalität einher. Volumenüberlastung wird durch Mitralklappendestruktion oder Erzeugung eines arteriovenösen Shunts erreicht und resultiert beim Hund innerhalb von 3 Monaten in Hypertrophie und Dilatation des linken Ventrikels [125].

2.8.1 Das Tachykardie-Modell

Coleman et al. wiesen 1971 nach, dass schnelle ventrikuläre Schrittmacherstimulation im Hundemodell zu einer systolischen Dysfunktion des linken Ventrikels führt [126]. Heutzutage ist die schrittmacherinduzierte Tachykardie ein häufig verwendetes Tiermodell, um eine Ventrikeldilatation und kontraktile Dysfunktion des Herzens herbeizuführen [127-129]. Auch vom Menschen ist bekannt, dass Tachykardie zu einer Herzinsuffizienz führen kann [130].

Die hochfrequente Schrittmacherstimulation induziert im Gegensatz zu anderen Modellen wie Mikroembolisation oder Koronararterienligation eine homogene Schädigung des Myokards ohne lokale Ischämien. Schon eine drei- bis vierwöchige ununterbrochene Schrittmacherstimulation resultiert in biventrikulärer Insuffizienz (verringertes Herzzeitvolumen, erhöhter pulmonaler Kapillarverschlussdruck) und beidseitiger Ventrikeldilatation. Verschiedene Autoren konnten im Tiermodell keine Anzeichen einer Hypertrophie nach schrittmacherinduzierter Tachykardie detektieren [131-133].

Hervorzuheben sind die Arbeiten von Spiale et al., der mittels supraventrikulärer hochfrequenter Schrittmacherstimulation beim Schwein eine dilatative Kardiomyopathie induzierte und umfangreiche Untersuchungen zum myokardialen Remodeling vornahm [134-136]. Mit der gleichen Methode konnten auch Hendrick

und Mitarbeiter nach ein- bis dreiwöchiger Stimulation signifikante Veränderungen der Ventrikelfunktion und -morphologie nachweisen [137].

Im Tachykardiemodell gibt es verschiedene Interventionen zur Induktion der Herzinsuffizienz. Die Implantation der Stimulationselektrode erfolgte beim Schwein bisher ausnahmslos nach Thoraxeröffnung, und auch im Hunde- oder Schafmodell sieht das Operationsprotokoll in der Regel eine Thorakotomie vor. Die Schrittmacherelektrode wird überwiegend epikardial durch Aufnähen angebracht [136, 138, 139]. Verschiedene Autoren verwenden eine Schraubelektrode, die nach Thorakotomie im linken oder rechten Ventrikel platziert wird [140, 141]. Für das Hundemodell finden sich in der Literatur jedoch auch wenige Angaben zur endokardialen Verankerung einer Sonde, die ohne Thoraxeröffnung über einen transvenösen Zugang in den Ventrikel vorgebracht wird [132, 142].

In Rapid Pacing-Modellen am Großtier wird lediglich *eine* Stimulationselektrode verwendet und die Tachykardie durch Vorhof- oder Ventrikelstimulation mit über 200 Schlägen pro Minute initiiert. Das Stimulationsprotokoll wird für 7-31 Tage angewendet [141, 143-147]. Hierfür müssen speziell programmierbare Herzschrittmacher eingesetzt werden.

Die Platzierung des Herzschrittmachers erfolgt subkutan in unterschiedlichen Körperregionen, beispielsweise in der Brustwand, abdominal, cervical oder in der Rückenregion. Die Arbeitsgruppe um Flanders implantierte den Herzschrittmacher intramuskulär im M. obliquus externus abdominis [148].

Die bisher verwendeten Tachykardiemodelle am Großtier führten zu inhomogenen, nicht sicher reproduzierbaren Ergebnissen und riefen häufig rasch reversible Veränderungen hervor [149-153].

3. MATERIAL UND METHODEN

Das Versuchsvorhaben wurde gemäß § 8 Abs.1 des Deutschen Tierschutzgesetzes vom Regierungspräsidium Darmstadt genehmigt. Tierhaltung und Tierversuche befolgten das Europäische Übereinkommen zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Wirbeltiere (Europarat, Straßburg 1986) und die Leitsätze der Gesellschaft für Versuchstierkunde (GV-SOLAS).

3.1 Versuchstiere

Zur Etablierung des Tiermodells am Schwein wurden männliche kastrierte Masthybriden (Deutsche Landrasse x Edelschwein) im Alter von 81 ± 12 Tagen verwendet. Das Gewicht betrug $33,9 \pm 4,4$ kg. Alle Schweine stammten aus einem privaten hessischen Zuchtbetrieb und wurden eine Woche vor Versuchsbeginn in den Versuchstierstall des Instituts verbracht. Es folgte eine klinische Allgemeinuntersuchung zur Kontrolle des Gesundheitsstatus und tägliche Temperaturkontrollen. Die Tiere wurden in Einzelboxen mit Stroheinstreu aufgestellt und hatten Sicht- und Schnüffelkontakt zu anderen Artgenossen. Die Raumtemperatur lag konstant zwischen 18 und 22 °C, die Fütterung erfolgte bedarfsgerecht mit handelsüblichem Schweinefutter. Wasser stand ad libitum zur Verfügung.

3.2 Versuchsplan

Der Versuchsplan umfasste 2 Phasen. Phase 1 diente der Etablierung des Rapid Pacing-Tiermodells. Hierzu wurden die Schweine in 3 Gruppen eingeteilt. Bei Gruppe A (n=10) wurde ein speziell programmierbares Einkammeraggregat mit einer rechtsventrikulär positionierten Schrittmacherelektrode implantiert. Gruppe B (n=10) erhielt einen DDD-Herzschrittmacher (HSM) mit zwei Elektroden, die beide im rechten Ventrikel platziert wurden. Hämodynamische Parameter gesunder Tiere wurden vor der Schrittmacherimplantation erhoben (Kontrollgruppe, n=10). Die Ermittlung der morphologischen Parameter und die immunhistochemische Analyse nach Beendigung des Stimulationsprotokolls erfolgte für Gruppe A und B im Vergleich zu 6 gesunden Kontrollherzen (Abb. 6).

Um den Einfluss der perkutanen Unterstützungssysteme (intraaortale Ballonpumpe und Mikroaxialflusspumpe) auf Umbauprozesse im Herzen zu untersuchen, wurden die herzinsuffizienten Tiere in Phase 2 randomisiert in 3 Gruppen mit je 4 Tieren eingeteilt: sham (ohne mechanische Unterstützung), Impella (mit Mikroaxialpumpe) und IABP (mit intraaortaler Ballonpumpe). Für die immunhistochemische Analyse wurden Biopsien zu Beginn der Langzeitanästhesie vor der Pumpenimplantation (Zeitpunkt t_0) entnommen und mit den Proben nach Herzentnahme (Zeitpunkt t_5 = nach 52-stündiger mechanischer Herzunterstützung) verglichen (Abb. 7).

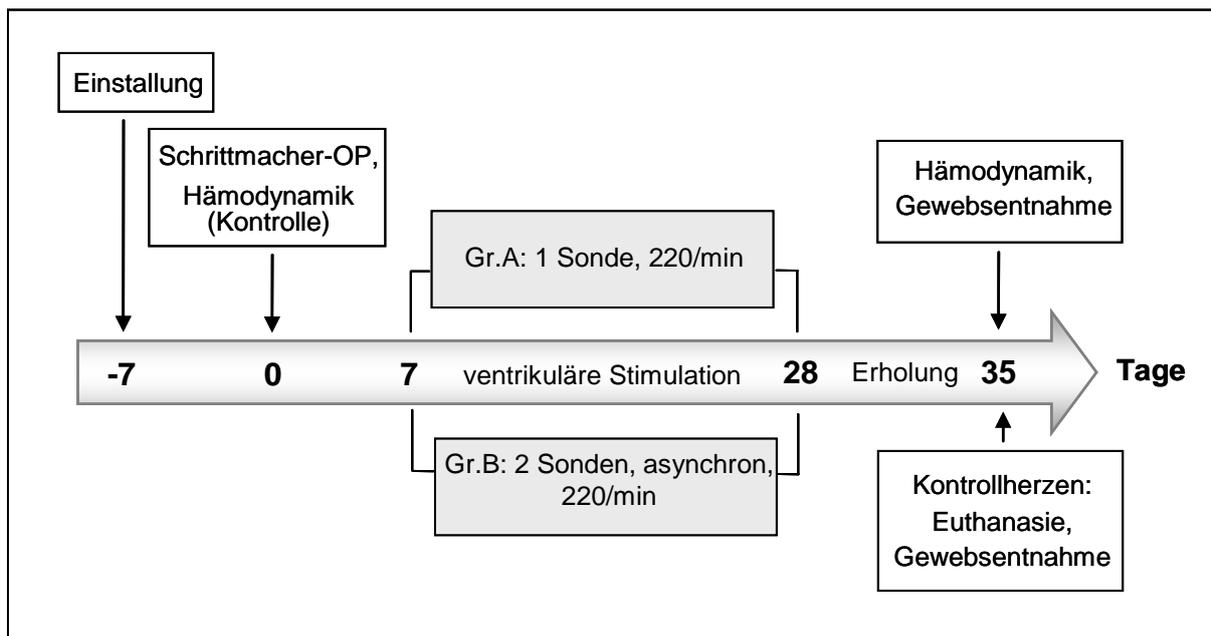


Abb. 6: Versuchsplan für Phase 1 (Herzinsuffizienzmodell).

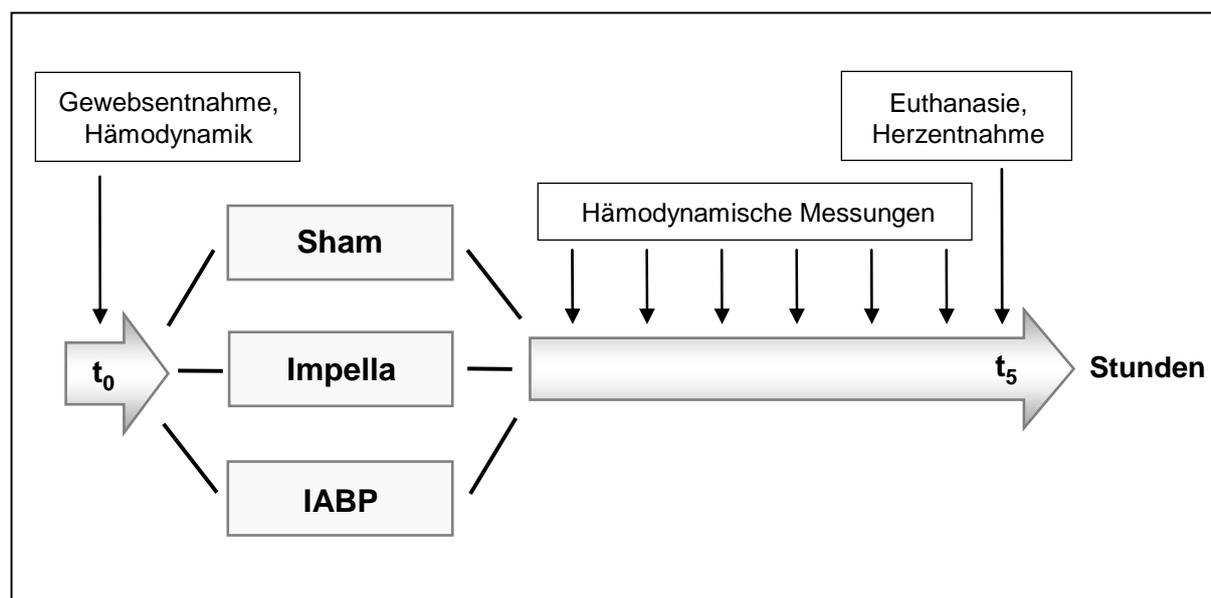


Abb. 7: Versuchsplan für Phase 2 (Langzeitanästhesie mit Herzunterstützungssystem).

3.3 Das Rapid Pacing-Tiermodell

3.3.1 OP-Vorbereitung und Prämedikation

24 Stunden vor der Operation wurde das Tier in einer einstreulosen Box mit Lochgummimatte und Wärmelampe untergebracht und nüchtern gehalten. Wasser stand ad libitum aus der Selbsttränke zur Verfügung.

Die Prämedikation erfolgte intramuskulär mit 4 mg/kg KG Azaperon (Stresnil[®], Janssen-Cilag, Neuss), 20 mg/kg KG Ketamin (10%ig, Medistar, Holzwickede) und 0,5 mg Atropinsulfat (Braun, Melsungen). Nach Rasur des Operationsfeldes und Waschen des Tieres im lauwarmen Seifenbad wurde ein Venenverweilkatheter (Vasofix[®], Braun) in die Vena auricularis magna gelegt. Anschließend wurde das Schwein gewogen und in den Operationssaal transportiert. Dort erfolgte auf einem gepolsterten OP-Tisch nach intravenöser Gabe von 3-4 mg/kg KG Midazolam (Curamed Pharma GmbH, Karlsruhe) die orotracheale Intubation (Trachealtubus mit Cuff, Gr. 6,5-7,5, Rüschi GmbH, Kernen) in Rückenlage. Danach wurde das Tier in Rückenlage ausgebunden und an die maschinelle Beatmung (Oxylog 3000, Dräger Medical GmbH, Lübeck) angeschlossen. Zur kontinuierlichen Überwachung wurde ein Oberflächen-EKG abgeleitet.

3.3.2 Anästhesie

Die Narkoseeinleitung erfolgte mit einer intravenösen Bolusgabe von 1,5 mg/kg KG Propofol (2%ig, Fresenius Kabi, Bad Homburg). Zur Aufrechterhaltung der Allgemeinanästhesie wurde Propofol (5-6 mg/kg KG/h) als Dauerinfusion über einen Perfusor („GENIE“, Kent Scientific Corp., Connecticut, USA) verabreicht. Die Applikation erfolgte zunächst über die Ohrvene und im weiteren Operationsverlauf über einen Zentralen Venenkatheter. Die intraoperative Schmerzausschaltung wurde mit intravenösen Piritramidosen (Dipidolor[®], Janssen-Cilag) von 0,2 mg/kg KG gewährleistet. Zur Relaxation der Muskulatur wurden nach Bedarf Repetitionsgaben von 2 mg Pancuroniumbromid (Pancuronium duplex[®], Curamed) i.v. verabreicht. Alle Tiere erhielten zu Beginn der Operation eine Infektionsprophylaxe mit 2 g Cephazolin i.v. (Fresenius Kabi) als rasche Tropfinfusion und im Anschluss eine kontinuierliche Flüssigkeitssubstitution (10 ml/kg KG/h) mit isotonischer Natriumchlorid-Lösung 0,9% (Braun).

Die maschinelle Beatmung mit einem Luft-Sauerstoff-Gemisch (O_2 -Gehalt = 43%) erfolgte druckkontrolliert mit der Möglichkeit zur unterstützten Spontanatmung. Es wurde ein positiv endexpiratorischer Druck (PEEP) von 5 mbar festgelegt. Individuelles Anpassen von Atemfrequenz, Beatmungsdruck und Inspirationsdauer gewährleistete eine ausreichende Sauerstoffsättigung des Blutes (>97%) und einen endexpiratorischen CO_2 -Partialdruck von 36-42 mmHg.

Ein am Trachealtubus angebrachter HME-Beatmungsfilter (Medisize[®] Hygrovent S, Medisize, Hillegom, NL) diente der Erhaltung von Wärme und Feuchtigkeit der Ausatemungsluft. Zur Überwachung der Vitalfunktionen wurde ein Kapnograph mit Pulsoximeter (Capnox, Medlab GmbH, Karlsruhe) verwendet; bei Bedarf wurde mit einem sterilen Absaugkatheter Bronchialsekret entfernt.

Die kontinuierliche Messung der Körpertemperatur erfolgte durch eine rektale oder thorakale Temperatursonde; mit einer Infrarot-Wärmelampe wurde einer Hypothermie vorgebeugt. Zur Bewertung der Narkosetiefe wurden Atemparameter, Lid- und Schmerzreflexe, Bulbusstellung sowie Spontanbewegungen herangezogen. Alle Messungen und operativen Eingriffe fanden im Toleranzstadium statt, um eine Beeinflussung der Parameter durch Stress oder Schmerz zu vermeiden.

3.3.3 Instrumentierung

Nach gründlicher Hautdesinfektion (Cutasept[®] G, Bode Chemie, Hamburg) erfolgte unter sterilen Kautelen die Darstellung der linken Arteria carotis communis. Zur invasiven Blutdruckmessung wurde ein arterieller Katheter (Arterial Line Kit, Argon Medical Devices, Texas, USA) mit Seldinger-Technik im Gefäß platziert. Bei dieser Technik wird eine Hohlneedle im Gefäß platziert, durch diese ein Führungsdraht vorgeschoben und die Hohlneedle dann gegen eine Schleuse oder einen Katheter ausgewechselt. Anschließend wurde die Vena jugularis externa sinistra freipariert und unter Verwendung eines Gefäßdilators ein zweilumiger 7F-Zentraler Venenkatheter (ZVK) nach Seldinger-Technik eingeführt (Katheter-Set „Bad Nauheim“, Edwards Lifesciences Germany GmbH, Unterschleißheim). 3 cm proximal des Zentralen Venenkatheters wurde ebenfalls nach Seldinger-Technik über eine 8,5F-Schleuse (Edwards Lifesciences) ein 7F-Swan-Ganz-Thermodilutionskatheter (Edwards Lifesciences) in die Vene eingebracht und unter kontinuierlicher invasiver Druckmessung in die Arteria pulmonalis eingeschwenkt, bis die typische Wechseldruckkurve des pulmonalkapillären Verschlussdruckes (pulmonary capillary

wedge pressure, PCWP) auf dem Monitor zu sehen war. Zur Messung des PCWP wird die betreffende Pulmonalkapillare gegen den antegraden Blutstrom abgedichtet und somit indirekt der Druck in den Pulmonalvenen ermittelt. Dieser entspricht dem linksatrialen Druck. Die Katheter wurden mit Nahtmaterial in ihren Positionen fixiert. Nach Beenden der hämodynamischen Messungen und Entfernen aller Katheter erfolgte schichtweiser Wundverschluss mit Prolene 2-0 (Ethicon GmbH, Norderstedt), Intrakutannaht mit Vicryl 2-0 (Ethicon) und Abdeckung der Wunde mit einem sterilen Wundpflaster.

3.3.4 Messung hämodynamischer Parameter

Um eine Beeinflussung der Messparameter durch die chirurgische Manipulation zu vermeiden, wurde mit den Messungen 30 Minuten nach vollständiger Instrumentierung begonnen.

Die im folgenden beschriebenen hämodynamischen Parameter wurden halbstündlich gemessen und dokumentiert. Die Bestimmung des Herzzeitvolumens sowie die Protokollierung der rechnerisch erhobenen Daten erfolgte stündlich.

Die Herzfrequenz wurde über die erste Extremitätenableitung des Oberflächen-EKGs erfasst.

Zur Ermittlung der intravasalen Drücke im großen und kleinen Kreislauf wurden die Katheter an elektrische Druckwandler (RT 2000, BD Medical, Heidelberg) angeschlossen, die auf Höhe des rechten Vorhofes positioniert waren. Die Messdaten wurden vom Monitoring-System (Siemens Sirecust 1281) registriert und numerisch und in Form von Wechseldruckkurven dargestellt.

Zur Ermittlung des zentralvenösen Druckes (ZVD) diente der Zentrale Venenkatheter.

Im Rahmen der arteriellen Druckmessung wurde der systolische (AP_{syst}) und der diastolische (AP_{diast}) Blutdruck sowie der arterielle Mitteldruck (MAP) erfasst.

Über das distale Lumen des Swan-Ganz-Katheters wurden sowohl rechtsventrikuläre Drücke (RVP) als auch pulmonalarterielle Drücke (PAP_{syst} , PAP_{diast} , mPAP und PCWP) registriert. Der PCWP entspricht dem Druck im linken Vorhof und spiegelt damit die enddiastolischen Füllungsdrücke des linken Ventrikels wider.

Zur Bestimmung des Herzzeitvolumens nach dem Thermodilutionsprinzip wurden 10 ml eisgekühlte physiologische Kochsalzlösung rasch über den Swanz-Ganz-Katheter injiziert; die Berechnung erfolgte vollautomatisch aus der Temperaturkurve. Um den

Einfluss der Atemtätigkeit auf das Messergebnis zu minimieren, wurde der Mittelwert aus drei zügig hintereinander durchgeführten Messungen gebildet.

Die Körperoberfläche (KOF) wurde aus dem Körpergewicht nach der Formel von Lowe [154] ermittelt. Dies ermöglicht die Standardisierung von Messwerten.

$$\text{Körperoberfläche: } KOF = 0,1 \times \sqrt[3]{KGW [kg]^2} \quad [m^2]$$

Aus den bisher genannten hämodynamischen Parametern wurden die daraus abgeleiteten Größen nach folgenden Standardformeln errechnet:

$$\text{Cardiac Index: } CI = \frac{HZV}{KOF} \quad [l / min / m^2]$$

$$\text{Schlagvolumen-Index: } SVI = \frac{CI \cdot 1000}{HF} \quad [ml / m^2]$$

$$\text{Systemischer Gefäßwiderstandsindex: } SVRI = \frac{(MAP - ZVD) \cdot 80}{CI} \quad [dyn \cdot sec \cdot m^2 / cm^5]$$

$$\text{Pulmonaler Gefäßwiderstandsindex: } PVRI = \frac{(mPAP - PCWP) \cdot 80}{CI} \quad [dyn \cdot sec \cdot m^2 / cm^5]$$

3.3.5 Operationstechnik: Implantation des Herzschrittmachers

Die rechte Vordergliedmaße wurde nach caudal ausgebunden. Nach Desinfektion und steriler Abdeckung des Operationsfeldes wurde eine ca. 4 cm lange Hautinzision vorgenommen. Die Schnitfführung erfolgte auf einer Linie zwischen dem cranialen Ende des Manubrium sterni (Habichtsknopfel) und Cranialrand des rechten Schultergelenks. Anschließend wurde die unter der Subcutis gelegene ventrale Vena subclavia dextra freipäpariert und auf einer Länge von 2 cm dargestellt. Nach proximaler und distaler Umschlingung mit einem nicht-resorbierbaren Faden (Perma-Hand Seide 3-0, Ethicon) wurde das Gefäß mit der Tenotomieschere inzidiert. Je nach Versuchsanordnung wurden dann eine beziehungsweise zwei implantierbare endokardiale Schrittmacher-Schraubelektroden (Flexend[®]2, 52 cm, bipolar, Guidant Corp., Minnesota, USA) transvenös unter Röntgendurchleuchtung (Siremobil Compact, Siemens, München) in den rechten Ventrikel vorgeschoben. Bei Verwendung von nur einer Elektrode wurde diese apikal in das Endokard geschraubt und mit einem modifizierten programmierbaren Herzschrittmacher konnektiert, der eine ventrikuläre Stimulation mit bis zu 250/min ermöglicht (INSIGNIA™ I Ultra,

Modell 1190, Guidant Corp.). Nach Impedanzmessung erfolgte nötigenfalls eine Neupositionierung der Sonde mit der Vorgabe, die Spannungsreizschwelle unter 1,5 Volt zu senken. Die Schrittmachertätigkeit wurde intraoperativ getestet, wobei kurzfristig eine Tachykardie mit 220 /min erzeugt wurde. Die Elektrode beschrieb im Ventrikel einen Bogen, um während des Wachstums des Tieres in den folgenden Wochen eine Zugbelastung der Sonde zu vermeiden.

Anschließend wurde die V. subclavia dextra distal ligiert und durchtrennt. Für eine vollständige Hämostase wurde der proximale Gefäßstumpf um die Elektrode ligiert und selbige danach mit einer Nahtmanschette im Bindegewebe fixiert (Seide 3-0). Es folgte die manuelle Erweiterung der Wundhöhle nach cranio-lateral und Einnähen des Herzschrittmachers in der entstehenden Tasche zwischen den Halsmuskeln. Hierbei wurde darauf geachtet, dass der Schrittmacher vollständig vom Halshautmuskel (M. cutaneus colli) bedeckt war. Nach schichtweisem Wundverschluss und Intrakutannaht mit resorbierbarem Nahtmaterial (Vicryl 2-0, Ethicon) wurde die Wunde mit einem sterilen Wundpflaster abgedeckt.

Tiermodell mit zwei Elektroden:

Die Implantation von zwei Sonden erfolgte nacheinander. Zunächst wurde eine Sonde apikal im rechten Ventrikel verankert und anschließend die zweite Elektrode in die Vene eingeführt und mit mindestens 3 cm Abstand von der ersten Elektrode im rechten Ventrikel platziert. Anschließend wurden beide Elektroden am proximalen Gefäßstumpf fixiert, im Bindegewebe festgenäht und mit einem handelsüblichen DDD-Herzschrittmacher (Zweikammeraggregat Insignia™ I Entra, Modell 1296, Guidant Corp.) verbunden. Alle anderen Arbeitsschritte entsprachen den oben beschriebenen. Abb. 8 A-D veranschaulichen die Herzschrittmacherimplantation.

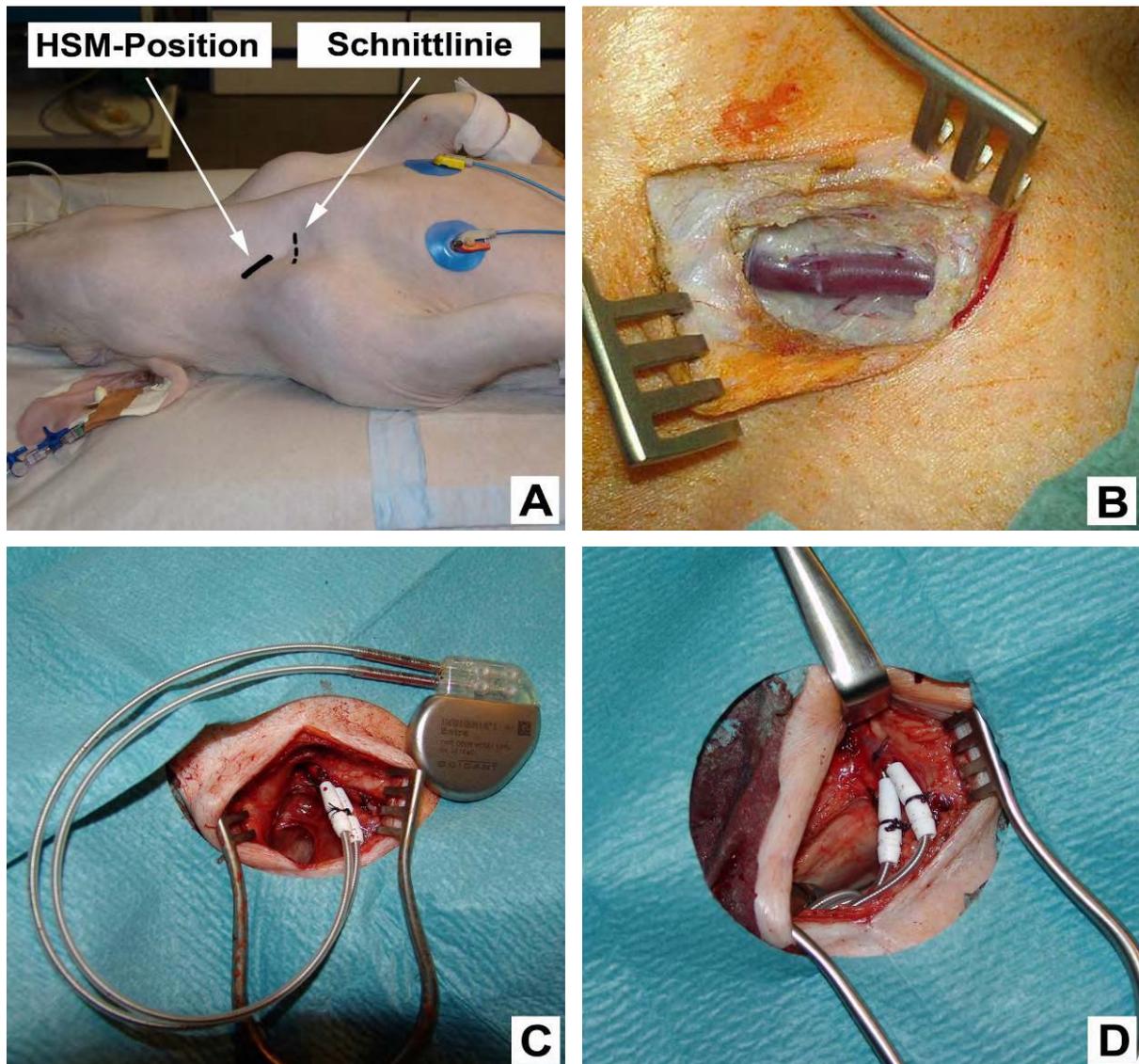


Abb. 8: Operationstechnik bei der Implantation des Herzschrittmachers.

Das Tier wurde in Rückenlage mit nach caudal ausgebundener Vordergliedmaße fixiert (A). Nach Darstellung der V. subclavia ventralis dextra (B) wurden die Schrittmacherelektroden eingeführt und per Nahtmanschette fixiert (hier 2-Elektroden-Modell, Versuchsgruppe B) (C). Die Implantation des Herzschrittmachers erfolgte tief in der Halsmuskulatur (D).

3.3.6 Postoperative Versorgung

Nach Ausleitung der Narkose wurde das Tier in den Stall verbracht und 2 mg/kg KG Cefquinom (Cobactan® 2,5%, Intervet GmbH, Unterschleißheim) intramuskulär verabreicht. Diese antibiotische Versorgung wurde über 3 Tage fortgesetzt.

Die postoperative Schmerzausschaltung erfolgte durch transdermale Fentanylgabe (Durogesic® 25 µg/h transdermales Pflaster, Janssen-Cilag) über 3 Tage mit einem Rückenpflaster, das bereits intraoperativ aufgeklebt wurde. Während der Aufstallungsphase wurden tägliche tierärztliche Kontrollen durchgeführt.

3.3.7 Stimulationsprotokoll

Alle Tiere erhielten eine Erholungsperiode von 7 Tagen, bevor die schrittmacherinduzierte Tachykardie initiiert wurde. Zu diesem Zeitpunkt war die Operationswunde verheilt und es lagen keine Entzündungsanzeichen vor. Die Tiere waren an den täglichen Umgang gewöhnt und EKG-Aufzeichnung, Echokardiographie sowie Schrittmacherprogrammierung konnten in unsediertem Zustand vorgenommen werden. Die Schweine wurden für 21 Tage einer ventrikulären Tachykardie mit 220 Schlägen/min ausgesetzt. Aus Sicherheitsgründen ist es nicht möglich, handelsübliche Herzschrittmacher auf eine solch hohe Stimulationsrate zu programmieren. Bei den Tieren mit zwei implantierten Elektroden wurden die Sonden im atrialen respektive im Ventrikelkanal angeschlossen und für jede Elektrode eine Rate von 110/min im DOO-Modus eingestellt. Die abwechselnde Stimulation mit einer Verzögerungszeit von 270ms führte zur gewünschten Herzschlagfrequenz von 220 /min. Alle Herzschrittmacher wurden im unipolaren Modus aktiviert. Dies bedeutet, dass die Elektrodenspitze als Kathode arbeitet und das Schrittmachergehäuse als Anode (bei bipolarer Stimulation ist die Anode auf dem distalen Teil der Schrittmacherelektrode aufgebracht, ca. 2,5 cm von der an der Elektrodenspitze liegenden Kathode entfernt).

Im Verlauf der hochfrequenten Stimulationsperiode wurden täglich Herzauskultationen sowie wöchentlich ein Kontroll-EKG durchgeführt, um die einwandfreie Schrittmachertätigkeit und eine 1:1-Übertragung der Schrittmachersignale auf den Herzmuskel sicherzustellen. Im Falle eines Reizschwellenanstiegs konnte die Spannung von anfangs 3 Volt auf bis zu 7 Volt erhöht werden (Abb. 9).

Allgemeinzustand, Futteraufnahme sowie klinische Anzeichen der Herzinsuffizienz wie Dyspnoe, Husten, pathologische Befunde der Herzauskultation, Zyanose, Ascites, Kachexie und vermehrtes Liegen wurden protokolliert. Nach dem Ausstellen des Herzschrittmachers wurden die Tiere weitere 7 Tage bis zur Beendigung des Stimulationsprotokolls im Stall gehalten.

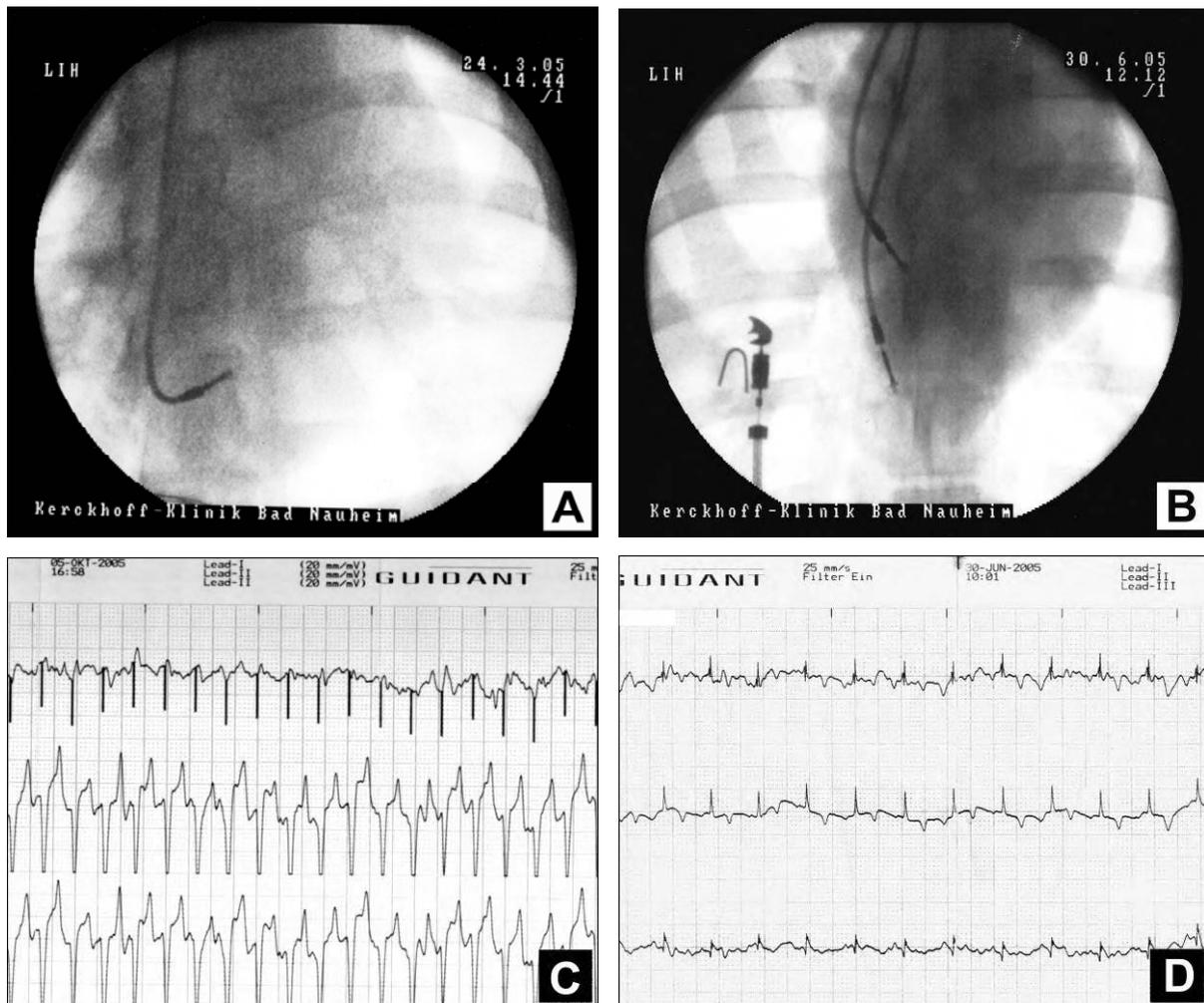


Abb. 9: Sondenpositionierung im rechten Ventrikel unter Röntgenkontrolle.

A: Bei Gruppe A wurde die Sonde apikal platziert, und die Stimulation erfolgte im VVI-Modus. **B:** Bei Gruppe B wurde die zweite Sonde mit 3 cm Abstand zur ersten Sonde positioniert und im atrialen Kanal des DDD-Herzschrittmachers angeschlossen. Durch konsekutive Anpassung der Verzögerungszeit wurde eine Stimulationsrate von 110/min über jede Sonde erreicht. **C:** EKG-Aufzeichnung bei eingeschaltetem Schrittmacher mit 220 /min. Verbreiterte QRS-Komplexe als Zeichen der ventrikulären Erregungsleitungsverzögerung (ventrikuläre Asynchronie). **D:** EKG-Aufzeichnung beim gesunden Schwein mit Sinusrhythmus.

3.3.8 Sonographie

Mit Farbdoppler-Echokardiographie (OptiGo, Philips, Hamburg) wurde die Mitralklappenfunktion untersucht und vor Eintritt ins Pacing-Protokoll sowie nach Beendigung des Protokolls der linksventrikuläre enddiastolische Diameter (LVEDD) auf Höhe des Papillarmuskels bestimmt.

3.4 Versuchsdurchführung Langzeitanästhesie mit mechanischer Herzunterstützung

Die unter 3.3.1–3.3.4 beschriebene Versuchsdurchführung fand wiederholt Anwendung. Hiervon abweichende Maßnahmen werden im folgenden erläutert.

3.4.1 OP-Vorbereitung und Prämedikation

Die Tiere wurden bereits 48 Stunden vor der Operation einstreulos aufgestellt, Futterentzug erfolgte 24 Stunden vor Operationsbeginn. Wasser stand ad libitum zur Verfügung. Zur Prämedikation wurden mit Rücksicht auf den herabgesetzten Allgemeinzustand lediglich zwei Drittel der unter 3.3.1 beschriebenen Dosis verabreicht. Weiterhin wurden an beiden Ohren Venenverweilkanülen gelegt.

Nach der orotrachealen Intubation (Trachealtubus mit Cuff, Gr. 8,5, Rüschi GmbH) folgte die Positionierung einer Magensonde (Nutrisoft M, Nutricia HealthCare, Schweiz). Die Operationsfelder wurden desinfiziert und steril abgedeckt.

3.4.2 Anästhesie

Die Allgemeinanästhesie wurde mit einer intravenösen Bolusgabe von 0,1 g Thiopental-Natrium (Trapanal® 2,5 g, Altana Pharma GmbH, Konstanz) eingeleitet. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte intravenös über zwei Dauerperfusoren mit anfänglich 5-10 mg/kg KG/h Trapanal® und 7 mg/kg KG/h Ketamin. Im Verlauf der Langzeitnarkose wurde die Dosis mehrfach bedarfsgerecht adaptiert. Zu beachten ist, dass Thiopental-Natrium und Ketamin nicht miteinander mischbar sind und über verschiedene venöse Zugänge verabreicht werden müssen.

Während der chirurgischen Intervention wurde ein eventueller Blutverlust durch intravenöse Infusion von Hydroxyethylstärke (HES 10%, Fresenius Kabi) ausgeglichen. Anschließend erhielten die Tiere physiologische Kochsalzlösung (100 ml/h) über einen intravenösen Dauertropf.

Die antibiotische Versorgung mit 2 g Cephazolin i.v. erfolgte im Abstand von 8 Stunden, weiterhin wurden stündlich 1000 IE Heparin-Natrium (Liquemin® N 25000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) i.v. verabreicht. Zur Bestimmung laborchemischer Parameter wurden zweimal täglich arterielle Blutanalysen durchgeführt und der Hämoglobingehalt sowie der arterielle Sauerstoff- und

Kohlendioxidpartialdruck ermittelt. Zudem ließen sich Verschiebungen im Natrium-, Kalium- und Säure-Basen-Haushalt erkennen und korrigieren. Ein suprapubischer Blasen Katheter wurde unter aseptischen Kautelen gelegt und die Magensaft- und Urinausscheidung bilanziert.

Alle Tiere erhielten parenterale Ernährung in Form eines Aminosäuren-Kohlenhydrat-Elektrolyt-Gemisches (Aminomix 5, Fresenius Kabi, 2000 ml/d per Dauertropf-infusion).

3.4.3 Intraoperative Probengewinnung und Probenkonservierung

Zur Entnahme der Herzbiopsien wurde eine laterale Thorakotomie am Cranialrand der linken 5. Rippe vorgenommen, das Perikard eröffnet und mit einer Biopsie-Kanüle (14G, Dispomed Witt oHG, Gelnhausen) mindestens drei transmurale Proben aus der freien Wand des linken Ventrikels gewonnen. Die Biopsien wurden sofort nach Entnahme in Tissue-Tek (Sakura Finetek, Zoeterwoude, NL) eingebettet, in flüssigem Stickstoff konserviert und bis zur histologischen Aufbereitung bei -80°C gelagert. Nach Verschluss der Biopsieentnahmestellen mit Tabaksbeutelnähten (Prolene 4-0, Ethicon) erfolgte schichtweiser Wundverschluss mit Vicryl 0 (Ethicon). Um einer Perikardtampnade vorzubeugen, wurde das Perikard nicht wieder vernäht.

3.4.4 Operatives Vorgehen Mikroaxialflusspumpen-Implantation

Unter Berücksichtigung der Tier- und Ventrikelgröße kamen modifizierte Mikroaxialpumpen (Impella Recover LP 2.5, ABIOMED, Aachen) mit kürzerem Führungskatheter und verkürztem Pigtail zur Anwendung.

Die rechte A. carotis communis wurde auf einer Länge von ca. 4 cm dargestellt und nach cranial und caudal mit breitem Nahtmaterial (Mersilene, Ethicon) angeschlungen. So konnte bei Bedarf eine Gefäßligatur vorgenommen werden. Über eine in Seldinger-Technik eingelegte 13F-Schleuse wurde mittels Pigtail-Katheter (Cordis, USA) ein überlanger Führungsdraht (Standard Glidewire, TERUMO, Japan) über die Aorta in den linken Ventrikel gelegt. Über diesen Führungsdraht wurde der Pumpenkörper der Mikroaxialflusspumpe unter Röntgenkontrolle in den linken Ventrikel eingebracht. Die Lage der Pumpe wurde mit dem Platzierungssignal auf der Steuerkonsole überprüft. Dieses zeigte bei korrekter Pumpenlage die Aortendruckkurve des Tieres. Nach Aktivierung der Pumpfunktion auf mittlerer

Leistungsstufe wurde ein durchschnittliches Fördervolumen von $2,2 \pm 0,2$ l/min erreicht.

Zur kontinuierlichen Spülung der Motoreinheit wurde eine hyperosmolare Lösung mit Heparinzusatz druckkontrolliert über eine Infusionspumpe appliziert.

3.4.5 Operatives Vorgehen intraaortale Ballonpumpen-Implantation

In der linken Leistenregion wurde die A. femoralis freipäpariert. Dabei wurde aufgrund der anatomischen Gegebenheiten beim Schwein die Arterie auf einer Strecke von mindestens 2 cm dargestellt, da der Einführwinkel des Ballonkatheters einen Winkel von 45 Grad nicht überschreiten sollte, um ein Abknicken des Katheters zu verhindern. Anschließend wurde der intraaortale Ballon in Seldinger-Technik (siehe 3.3.3) und unter Durchleuchtungskontrolle eingeführt und in der Aorta descendens positioniert. Die Messung des arteriellen Blutdrucks erfolgte über den am Überwachungsgerät angeschlossenen Druckschlauch. Die intraaortale Ballonpumpe wurde EKG-getriggert mit einem 1:1-Unterstützungsverhältnis betrieben, das Inflationsvolumen des Ballons betrug 30 cm^3 .

3.4.6 Sham-Operation

Die Tiere der sham-Gruppe wurden zur Messung hämodynamischer Parameter instrumentiert und es wurden zu Operationsbeginn linksventrikuläre Biopsien entnommen, während der Langzeitanästhesie erhielten sie jedoch kein mechanisches Herzunterstützungssystem.

3.4.7 Probengewinnung am Versuchsende

3.4.7.1 BDM-Lösung

Alle verwendeten Chemikalien wurden von der Firma Sigma (München) bezogen. Aus 100 ml Stammlösung wurde durch Zugabe von 1 g Glucose, 1,7 g Butanedione-Monoxime (BDM) und 0,7 g Nitriлотriacetic-Säure (NTA) und Auffüllen auf 1000 ml Aqua dest. (pH 7,4) die gebrauchsfertige kardioplege Lösung hergestellt.

Zur Herstellung der Stammlösung wurden 69,54 g NaCl, 3,36 g KCL, 21 g NaHCO₃, 1,77 g KH₂PO₄ und 2,37 g MgSO₄ mit Aqua dest. auf 1000 ml aufgefüllt.

3.4.7.2 Herzentnahme und Präparation des Ventrikelmyokards

Nach Bolusgaben von Thiopental-Natrium, Ketamin und Piritramid wurden die Tiere in tiefer Narkose mit 60mval Kaliumchlorid (Fresenius Kabi) euthanasiert und eine mediane Sternotomie vorgenommen. Die Aorta ascendens wurde abgeklemmt, 250 ml BDM-Lösung retrograd injiziert und das Herz entnommen. Durch kurzes Spülen der Herzkammern mit BDM-Lösung wurde Restblut entfernt. Das Herz wurde gewogen und die Wanddicken von linkem Ventrikel, rechtem Ventrikel und Septum bestimmt. Anschließend erfolgte die zügige Präparation des linken Ventrikels. Mit dem Skalpell wurden 20 Gewebestückchen (ca. 5x5 mm) aus verschiedenen Regionen der freien Wand des linken Ventrikels entnommen.

3.4.7.3 Probenkonservierung

Die Myokardproben wurden in flüssigem Stickstoff konserviert und bei -80 °C aufbewahrt.

3.5 Histologie und Immunhistochemie

3.5.1 Untersuchtes Gewebe

Die intraoperativ entnommenen Myokardbiopsien und die nach Herzentnahme gewonnenen Gewebeproben (siehe 3.4.3 und 3.4.7) wurden histologisch aufbereitet.

3.5.2 Puffer und Eindeckmedien

Die benötigten Chemikalien wurden von der Firma Merck (Darmstadt) bezogen.

Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (phosphat buffered saline, PBS)

Für alle Antikörperverdünnungen und Waschschritte des immunhistochemischen Protokolls wurde frisch angesetzter Phosphatpuffer verwendet.

Die Stammlösung enthält 397,4 g NaCl, 10 g KCl, 10 g H₂PO₄ und 88,75 g Na₂HPO₄*2H₂O, aufgelöst in 5 Liter Aqua dest. Zur Herstellung der Gebrauchslösung wird die Stammlösung zehnfach mit Aqua dest. verdünnt und anschließend mit einmolarer HCl auf pH 7,4 eingestellt.

Eindeckmedien

Das Eindecken der HE-Präparate erfolgte mit Entellan® (Merck), für die immunhistochemischen Schnitte wurde Mowiol verwendet. 50 g des schwer löslichen Mowiol 4-88 (Roth, Karlsruhe) werden in 200 ml PBS (pH 8,0) 16 Stunden gerührt, nach Zugabe von 25 ml wasserfreiem Glycerin weitere 16 Stunden gerührt und anschließend bei 17100 g 15 min zentrifugiert. Die Lagerung des Überstands erfolgt bei 4 °C.

3.5.3 Geräte

Bei der Anwendung der histologischen Methoden kamen folgende Geräte zum Einsatz:

Gerät	Hersteller
Digitalkamera Leica DFC 300 FX für Lichtmikroskop mit Fluoreszenzvorrichtung	Leica Microsystems GmbH, Bensheim
Konfokales Laser Scanning-Mikroskop Leica TCS SP	Leica Microsystems GmbH, Bensheim
Kryostat Leica CM 3050 S	Leica Microsystems GmbH, Bensheim
Lichtmikroskop mit Fluoreszenzvorrichtung Leica DMRB	Leica Microsystems GmbH, Bensheim
Magnetrührer IKAMAG®RH	IKA®-Labortechnik, Staufen
pH-Meter inoLab pH 720	WTW GmbH, Weilheim
Wärmeschrank UM 500	Memmert GmbH, Schwabach
Zentrifuge Sorvall®RC-5B	Sorvall® Products, Bad Homburg

Tab. 2: verwendete Geräte und Hersteller

3.5.4 Herstellung histologischer Schnittpräparate

3.5.4.1 Aufblocken des Gewebes

Die bereits eingebetteten Myokardbiopsien wurden mit Tissue-Tek (Sakura Finetek, Zoeterwoude, NL) auf Aluminiumzylinder aufgeblickt. Aus den Kontrollproben und den nach Herzentnahme gewonnenen Proben wurden jeweils fünf symmetrische Myokardstückchen ausgewählt und ebenfalls mit Tissue-Tek aufgeblickt.

3.5.4.2 Anfertigung der Gefrierschnitte

Im Kryostat wurden von jedem Gewebeblock unter Verwendung einer Schnittstrecker-Platte 6 µm dicke Gefrierschnitte angefertigt und auf Glasobjektträger (Menzel-Superfrost, Menzel GmbH, Braunschweig) gezogen. Die Arbeitstemperatur im Kryostat lag bei -28 °C. Nach 10-minütiger Trocknungszeit bei Raumtemperatur erfolgte die weitere Bearbeitung. Um die Haftung des Gewebes zu verbessern, wurden für die immunhistochemischen Präparate silanebeschichtete Objektträger verwendet:

Herstellung silanebeschichteter Objektträger mit 3-Aminopropyltriethoxysilane (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München)

1. Gereinigte Objektträger 5 sec in 2%ige Silane-Aceton-Lösung tauchen
2. 5 sec in reines Aceton (Merck) tauchen
3. 2 x 5 sec in Aqua dest. tauchen
4. 12 h bei 40 °C im Wärmeschrank trocknen

3.5.5 Hämalan-Eosin-Färbung (HE-Färbung)

Von allen Gewebeproben wurden zunächst HE-Präparate angefertigt, um eine vorläufige Beurteilung vorzunehmen und Informationen über die Anschnittrichtung der Myofilamente zu gewinnen. Zellkerne werden mit dem Kernfarbstoff Hämalan blau angefärbt, alle anderen Strukturen erscheinen durch Eosin in verschiedenen Farbabstufungen rot.

Färbeprotokoll HE-Färbung

1. 5 min in Hämalau nach Mayer (Waldeck GmbH, Münster) färben
2. 5 min in fließendem warmem Leitungswasser bläuen
3. abspülen mit Aqua dest.
4. 5 min in wässrigem Eosin 2% (Waldeck) gegenfärben
5. Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe (95%, 100%, 100%)
6. mindestens 1 min in Xylol (Merck) klären
7. Eindecken der Objektträger mit Entellan[®] (Merck)

3.5.6 Immunhistochemie

Antigene Strukturen in Zellen und Geweben können mit Hilfe der Immunhistochemie detektiert werden. Hierfür verwendet man spezifische mono- bzw. polyklonale Antikörper, die an das gesuchte Antigen binden. Der histologische Nachweis der so entstandenen Antigen-Antikörper-Komplexe im Gewebe erfolgt durch direkte oder indirekte Markierungsverfahren. Bei der direkten Markierung ist der Primärantikörper, der gegen das Antigen im Gewebe gerichtet ist, markiert. Bei der indirekten Markierung hingegen bindet ein Sekundärantikörper an den nicht-markierten Primärantikörper. Die Sekundärantikörper tragen entweder den Marker kovalent gebunden, oder sie dienen als Brücke zu anderen signalgebenden Komplexen (siehe Abb. 10).

Die Markierung erfolgte in der vorliegenden Arbeit mit einem Fluorochrom, das durch UV-Licht zur Fluoreszenz angeregt wird und mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops die Lokalisation des Antigen-Antikörper-Komplexes im Gewebe ermöglicht. Um verschiedene Antigene in einem Gewebeschnitt darzustellen, wurden Mehrfachmarkierungen mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen angefertigt.

Die Färbungen wurden mit indirekten Methoden durchgeführt. Die indirekte Biotin-Streptavidin-Methode basiert auf der Fähigkeit von Streptavidin (ein Protein des Strahlenpilzes *Streptomyces avidinii*), vier Moleküle des Vitamins Biotin physikalisch zu binden. Markiertes Streptavidin bindet an einen biotinylierten Antikörper; aufgrund der stark ausgeprägten Affinität des Streptavidins zum Biotin besitzt diese Methode eine höhere Sensitivität als andere direkte und indirekte Techniken (Abb. 10).

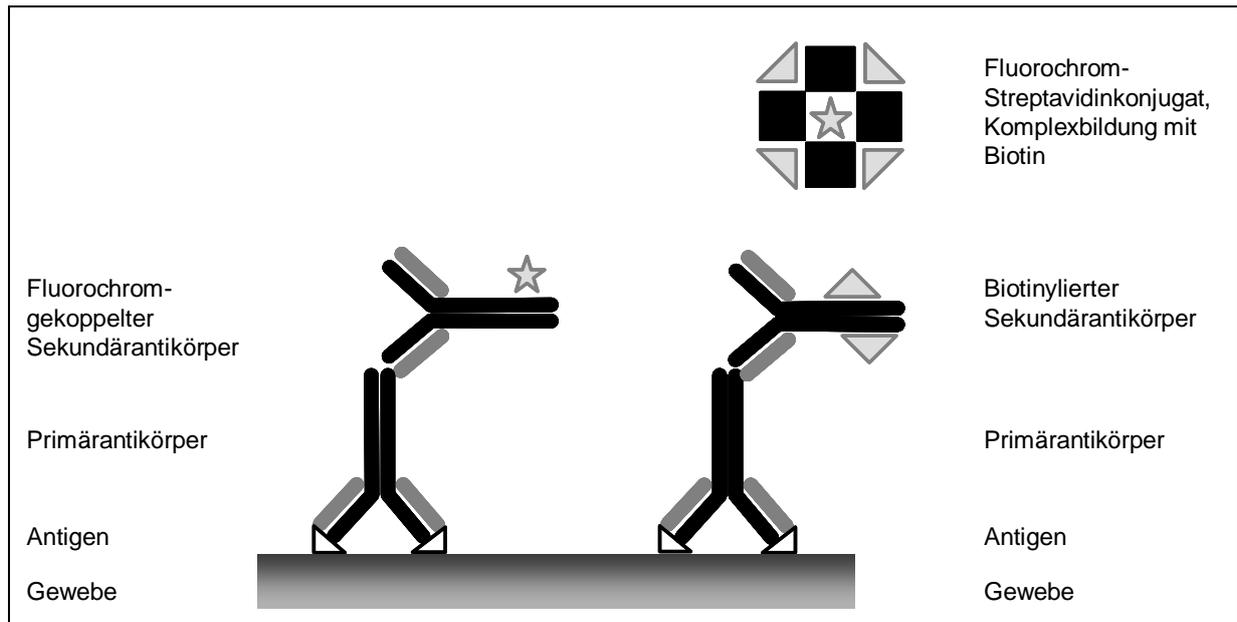


Abb. 10: Prinzip der Immunhistochemie mit verschiedenen Antikörpern.

Unter Anwendung verschiedener Fluorochrome können Mehrfachmarkierungen vorgenommen werden.

3.5.6.1 Antikörper

3.5.6.1.1 Primärantikörper

Zur Detektion spezifischer Proteine wurden verschiedene mono- oder polyklonale Primärantikörper eingesetzt. Nähere Angaben hierzu sind in Tab. 3 aufgelistet.

Antikörper	Klon	Wirt	Verdünnung	Hersteller
α -Actinin	EA-53	Maus	1:50	Sigma
Kollagen III	polyklonal	Kaninchen	1:100	Rockland
Kollagen VI	polyklonal	Kaninchen	1:100	Rockland
Connexin 43	polyklonal	Kaninchen	1:100	Zymed
Dystrophin	MANDY S8	Maus	1:400	Sigma
Dystrophin	polyklonal	Kaninchen	1:100	St. Cruz
Vinculin	hVIN-1	Maus	1:10	Sigma
Phalloidin-TRITC	---	---	1:1000	Sigma

Tab. 3: Liste der eingesetzten Primärantikörper

3. Material und Methoden

3.5.6.1.2 Sekundärantikörper

Bei Anwendung der Biotin-Streptavidin-Methode wurden biotinylierte Sekundärantikörper verwendet. Für die indirekte Immunfluoreszenz wurde ein fluorochrom-gekoppelter Sekundärantikörper eingesetzt. Detaillierte Angaben enthält Tab. 4.

Antikörper	Wirt	Verdünnung	Hersteller
Biotin-SP-conjugated Anti-Rabbit IgG	Esel	1:100	Dianova
Biotin-SP-conjugated Anti-Mouse IgG	Esel	1:100	Dianova
Cy 3-conjugated Anti-Rabbit IgG	Esel	1:300	Chemicon

Tab. 4: Liste der verwendeten Sekundärantikörper

3.5.6.1.3 Detektionssystem für biotinylierte Sekundärantikörper

Als Detektionssysteme für die biotinylierten Antikörper wurde ein fluoreszierendes, mit Streptavidin konjugiertes Carbocyanin eingesetzt. Carbocyanine zeichnen sich durch Langzeitstabilität und starke Fluoreszenz aus.

Name	Emissionsfarbe	Verdünnung	Hersteller
Cy 2-conjugated Streptavidin	grün	1:100	Rockland
Cy 3-conjugated Streptavidin	rot	1:300	Rockland

Tab. 5: Detektionssystem

3.5.6.2 Kernfarbstoffe

Die Darstellung der Zellkerne erfolgte mit Fluoreszenz-Kernfarbstoffen. Um eine optimale Detektion der Zellkerne sowohl mit dem Fluoreszenz- als auch mit dem konfokalen Lasermikroskop zu gewährleisten, wurde eine Kombinationsfärbung mit DAPI (4,6-diamino-2-phenylindol-dihydrochlorid, Invitrogen GmbH, Karlsruhe) und DRAQ 5™ ([1,5-Bis[[2-(dimethylamino)ethyl]amino]-4,8-dihydroxyanthracene-9,10-dion], Axxora Deutschland, Lörrach) mit einer Verdünnung von je 1:1000 durchgeführt.

3.5.6.3 Färbeprotokolle

	Arbeitsschritt	Reagenz	Dauer	Temp.
1	Fixation	Aceton	10 min	-28°C
2	Waschen	PBS	3 x 3 min	RT
3	Inkubation	1. Antikörper	60 min	RT
4	Waschen	PBS	3 x 3 min	RT
5	Inkubation	2. Antikörper	60 min	RT
6	Waschen	PBS	3 x 3 min	RT
7	Inkubation	Cy-konjugiertes Streptavidin	45 min	RT
8	Waschen	PBS	3 x 3 min	RT
9	Inkubation	Kernfarbstoffe	20 min	RT
10	Waschen	PBS	3 x 3 min	RT
11	Eindecken	Mowiol		RT
12	lichtgeschützte Lagerung der Objektträger			4°C

Tab. 6: Färbeprotokoll für die Immunhistochemie

Bei jedem Färbedurchgang wurde an jeweils einem Gefrierschnitt eine Negativkontrolle durchgeführt, um falsch-positive Markierungen auszuschließen und das Maß der unspezifischen Hintergrundfärbung zu ermitteln. Hierzu wurde Inkubationspuffer anstelle des Primärantikörpers aufgetragen, alle anderen Schritte des Protokolls erfolgten wie beschrieben. Die Arbeitsschritte Nr. 7 und 8 wurden nur bei Anwendung der Biotin-Streptavidin-Methode durchgeführt.

Als Fixierungsmittel wurde Aceton verwendet, was zu einer Fixierung durch schnellen Wasserentzug führt. Die acetonbehandelten Präparate wurden bei Raumtemperatur 10 min luftgetrocknet und der Primärantikörper anschließend auf den trockenen Objektträger pipettiert.

Nach jedem Inkubationsschritt wurden die Objektträger mehrmals in Phosphatpuffer gewaschen, um die jeweilige Inkubation abubrechen und überschüssiges Fixierungsmittel, Antikörper oder Farbstoffe vollständig zu entfernen.

Die Inkubation der Myokardproben erfolgte in einer feuchten Kammer unter Lichtausschluss, um ein Verdunsten der Lösungen und das Ausbleichen der Präparate zu verhindern. Antikörper und Farbstoffe wurden mit PBS auf die

gewünschte Konzentration verdünnt und jeweils 50 µl pro Gefrierschnitt aufgetragen. Alle Inkubationen erfolgten bei Raumtemperatur.

Zum Eindecken nach dem letzten Waschschrift wurden mit Mowiol bestrichene Deckgläschen vorsichtig auf die feuchten Objektträger gedrückt. Während der anschließenden dunklen Lagerung bei 4°C polymerisierte das Mowiol aus; gleichzeitig wurde das Gewebe vor dem Ausbleichen geschützt.

3.5.7 Durchlichtmikroskopie

Im Anschluss an die unter 3.5.5 beschriebene Übersichtsfärbung erfolgte die Beurteilung der HE-Präparate bei 10- und 25-facher Vergrößerung (Objektive PL Fluotar 10x und 25x Öl) hinsichtlich ihrer Schnittrichtung, Erhaltung und Beschaffenheit. Hiernach wurden geeignete Gewebeproben für die immunhistologische Detektion verschiedener Antigene ausgewählt.

3.5.8 Konfokale Lasermikroskopie

Um immunhistologisch markierte Strukturen mit dem Lasermikroskop sichtbar zu machen, werden Laserstrahlen mit Hilfe eines Prismas und einer Lochblende auf einen bestimmten Wellenbereich eingegrenzt. Das vom beleuchteten Areal emittierte Licht wird auf die Öffnung einer weiteren brennpunktgleich (konfokal) ausgerichteten Lochblende fokussiert und so das zu Unschärfe führende Streulicht abgefangen.

Das konfokale Lasermikroskop wurde für eine optimale Bilddokumentation eingesetzt. Hierzu wurden bei 40-facher Vergrößerung im Rasterverfahren Bilderserien eines Gewebeschnittes erstellt, digitalisiert und mit dem Softwareprogramm Imaris 4.2.0 Bitplane zusammengefügt.

3.5.9 Fluoreszenzmikroskopie

Die Präparate wurden mit einem Fluoreszenzmikroskop im Auflichtverfahren bei 40-facher Vergrößerung (PL Fluotar Ölimmersionsobjektiv) analysiert. Entsprechende Farbfilter dienten zur Erzeugung von kurzwelligem Licht geeigneter Wellenlänge, um das jeweilige Fluorophor zu einer längerwelligen Emissionsstrahlung anzuregen. Nach der Erstellung digitaler Bilder mit dem Leica Kamerasystem erfolgte die

Auswertung mit dem Bildmanagementsystem Leica IM 500 Basis und dem Softwareprogramm Image J (Version 1.35j).

3.5.9.1 Zellmorphologie

Zur Durchführung dieser Messungen wurden Proben mit immunhistochemisch angefärbtem Vinculin verwendet, da dieses ein membranassoziiertes Protein ist und die Zellgrenzen sichtbar macht.

Sieben zufällig ausgewählte Gesichtsfelder einer Probe mit transversal angeschnittenen Myozyten wurden analysiert. Um Uniformität bei der Messung der morphologischen Parameter zu gewährleisten, wurden nur Myozyten berücksichtigt, deren Zellkern zentral lokalisiert war. Ferner wurden deformierte Myozyten, deren Form um mehr als 25% von der eines Kreises abwich, von der Messung ausgeschlossen. Insgesamt wurden 50 Myozyten pro Gewebeschnitt analysiert. Es erfolgte die Bestimmung des maximalen Zelldurchmessers in μm und die Ermittlung der Querschnittsfläche der einzelnen Myozyten in μm^2 .

3.5.9.2 Bestimmung des Kollagengehalts

Alle Präparate wurden hinsichtlich der Verteilung von Kollagen Typ III und Typ VI untersucht. Um den jeweiligen Kollagengehalt der Myokardproben zu bestimmen, wurde die relative Fläche rotgefärbten Kollagens (in %) ermittelt. Hierfür wurden in jedem Gewebeschnitt 10 randomisierte Gesichtsfelder, die keine prominenten Gefäßareale aufwiesen, analysiert.

3.6 Statistische Analyse

Die Datenaufbereitung erfolgte mit Microsoft Excel 2003, die statistische Auswertung wurde mit dem Statistikprogramm GraphPad prism für Windows (Version 4.02) vorgenommen. Die Ergebnisse sind als Mittelwerte mit Standardfehler (mean \pm SEM) angegeben. Als statistisch signifikant wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5% ($p < 0,05$) anerkannt.

In der ersten Versuchsphase (Insuffizienzmodell) wurden für die Untersuchungsergebnisse der einzelnen Versuchsgruppen einfaktorielles Varianzanalysen (ANOVA) durchgeführt. Ergab die Varianzanalyse signifikante

3. Material und Methoden

Unterschiede, so wurden die einzelnen Gruppen untereinander anschließend mit dem Bonferroni-Holmes-Test verglichen.

In der zweiten Versuchsphase wurden die Ergebnisse (Beginn und Ende der Langzeitnarkose) innerhalb einer Gruppe mit dem Student-t-Test für gepaarte Stichproben verglichen.

4. ERGEBNISSE

4.1 Das Rapid Pacing-Tiermodell

4.1.1 Überlebensrate und Komplikationen

Die minimalinvasive Schrittmacherimplantation über die Vena subclavia ventralis war komplikationslos sowohl mit einer als auch mit zwei Elektroden durchführbar.

Aufgrund einer Dislokation einer Schrittmacherelektrode nach 7 Tagen beziehungsweise eines Anstiegs der Reizschwelle über 7 Volt bei eingeschraubter Elektrode nach 12 Tagen war bei je einem Schwein eine erneute Sondenplatzierung nötig.

Die makroskopische und histologische Untersuchung des Herzens und der Lunge von zwei vorzeitig verendeten Tieren ergab deutliche Hinweise auf die Glässersche Krankheit. Diese beiden von der Studie ausgeschlossenen Tiere wurden ersetzt.

4.1.2 Klinische Untersuchung

Im Verlauf des Stimulationsprotokolls entwickelten sich bei allen Tieren deutliche klinische Anzeichen einer Herzinsuffizienz. Die fortschreitende Schleimhautcyanose und die Mangel durchblutung der Ohren wurde von herabgesetztem Allgemeinbefinden und zunehmender Inappetenz in der dritten Woche des Stimulationsprotokolls begleitet. Hustensalven wurden besonders nach längeren Liegepausen beobachtet. Zudem wurden bei der Lungen- und Herzauskultation Dyspnoe, Tachypnoe und bei 14 Tieren ein neu aufgetretenes Holosystolikum im Sinne einer Mitralisinsuffizienz verzeichnet. Die Tiere wiesen eine bilateral symmetrische, fluktuierende Umfangsvermehrung des Abdomens auf. Die spontane Herzfrequenz betrug 7 Tage nach Beendigung der Schrittmacherstimulation durchschnittlich 133 (112-170) Schläge/min und lag damit signifikant über dem Ausgangswert vor Eintritt ins Protokoll (109 ± 1 /min). Während die klinischen Anzeichen der Mangelperfusion und die Inappetenz nach Abschalten des Schrittmachers geringgradig abnahmen, konnte hinsichtlich der anderen erwähnten Parameter keine Besserung bis zum Tag der Langzeitnarkose verzeichnet werden. Das durchschnittliche Körpergewicht betrug zu diesem Zeitpunkt 47 ± 7 kg und war

signifikant niedriger als bei Tieren ohne tachykarde Stimulation nach dem gleichen Zeitraum (58,5 kg).

4.1.3 Sonographie

Der sonographisch ermittelte enddiastolische Durchmesser des linken Ventrikels (LVEDD) lag bei den hochfrequent stimulierten Tieren nach Beendigung des Pacing-Protokolls signifikant über dem der Kontrollgruppe (Kontrolle: $3,6 \pm 0,1$ cm, $n = 6$). Gruppe B ($n = 10$) wies mit einem LVEDD von $5,7 \pm 0,1$ cm einen signifikanten Unterschied zu Gruppe A ($4,9 \pm 0,2$ cm, $n = 10$) auf (Abb. 11).

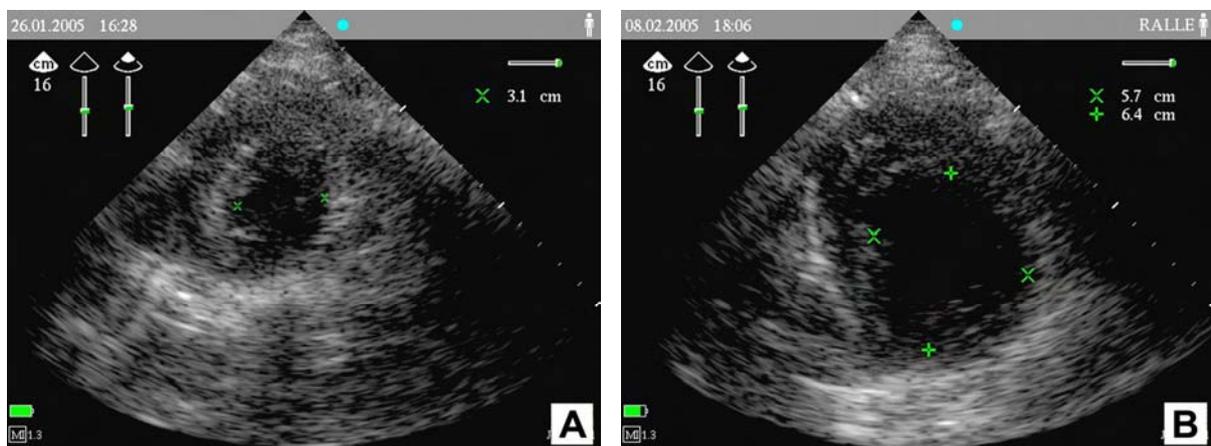


Abb. 11: Echokardiographisch ermittelter enddiastolischer Durchmesser des linken Ventrikels.

A: Kontrolle, **B:** dilatierter Ventrikel nach Beendigung des Stimulationsprotokolls (Gruppe B)

4.1.4 Herzmorphologie und Herzgewicht

Die Herzen der insuffizienten Tiere waren im Vergleich zu gesunden Herzen mäßig bis stark vergrößert und wiesen eine kugelige Form auf. Die Herzspitze war abgeflacht und die Herzohren beider Ventrikel deutlich vergrößert.

Für eine bessere Vergleichbarkeit der Herzgewichte trotz individuell unterschiedlicher Körpergewichte wurde die Herzratio ermittelt und das Herzgewicht als prozentualer Anteil vom Körpergewicht dargestellt. Das relative Herzgewicht der Gruppe A war mit $0,68 \pm 0,03\%$ signifikant größer als das der Kontrollgruppe ($0,49 \pm 0,02\%$). Zudem lag das Herzgewicht der Gruppe B signifikant über dem der Gruppe A ($0,81 \pm 0,04\%$) (Abb. 12).

Nach Beendigung des Stimulationsprotokolls betrug die Wanddicke des linken Ventrikels $11 \pm 1,1$ mm in Gruppe A und $10,4 \pm 0,4$ mm in Gruppe B gegenüber $9,8 \pm 0,2$ mm in der Kontrollgruppe. Sowohl zwischen Gruppe A und B als auch im Vergleich beider Gruppen mit den Kontrolltieren konnten keine signifikanten Veränderungen verzeichnet werden. Selbiges gilt für die Wanddimensionen des rechten Ventrikels (Kontrolle: $4,4 \pm 0,2$ mm, Gruppe A: $4,9 \pm 0,6$ mm, Gruppe B: $4,7 \pm 0,4$ mm) und des Septums (Kontrolle: $9,6 \pm 0,2$ mm, Gruppe A: $10,9 \pm 0,4$ mm, Gruppe B: $10,6 \pm 0,3$ mm).

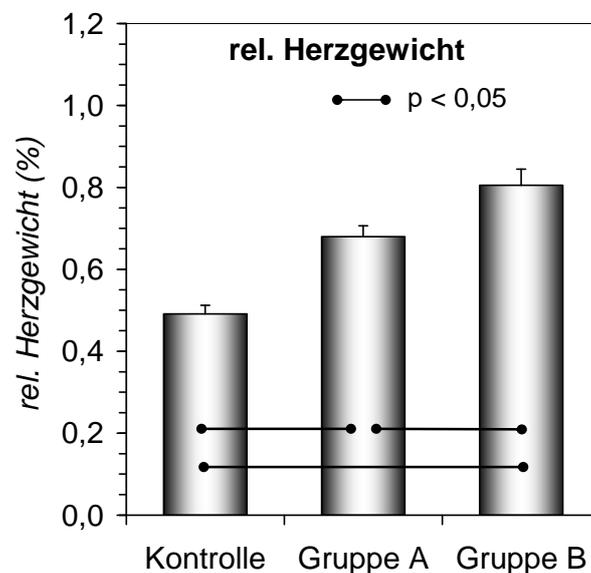


Abb. 12: Relatives Herzgewicht.

Nach hochfrequenter ventrikulärer Stimulation wurden in Gruppe B (2 Schrittmacherelektroden) signifikant höhere relative Herzgewichte verzeichnet als in Gruppe A (eine Schrittmacherelektrode).

4.1.5 Kreislaufparameter

Bei allen Tieren der Herzschrittmacher-Gruppen wurde eine deutliche Tachykardie im Wachzustand dokumentiert. Diese war in Gruppe B signifikant stärker ausgeprägt im Vergleich zu Gruppe A (Kontrolle: 109 ± 1 /min, Gruppe A: 125 ± 5 /min, Gruppe B: 141 ± 6 /min). Auffällig war der gegenläufige Trend im anästhesierten Zustand (Tab. 7). Während gesunde narkotisierte Tiere nur eine geringgradige Abnahme der Herzfrequenz von durchschnittlich 109 auf 92 Schläge/min zeigten, war bei den herzinsuffizienten Tieren eine ausgeprägte Bradykardieneigung zu verzeichnen (Kontrolle: 92 ± 3 /min, Gruppe A: 64 ± 5 /min, Gruppe B: 63 ± 5 /min, $p < 0,001$ für

4. Ergebnisse

Kontrolle vs. Gruppe A und B). Diese stellte sich bereits im sedierten Zustand vor der Verabreichung von Thiopental ein.

	Kontrolle	Gruppe A	Gruppe B
HF im Wachzustand (f/min)	109 ± 1 [#]	125 ± 5 *	141 ± 6
HF in Sedierung/Narkose (f/min)	92 ± 3 [#]	64 ± 5	63 ± 5

Tab. 7: Herzfrequenzen im Wachzustand und in Narkose.

Eine Woche nach Abschalten des Herzschrittmachers wiesen alle Tiere im Stall eine bleibende Tachykardie auf. Die asynchrone Stimulation mit zwei Schrittmacherelektroden (Gruppe B) resultierte in einer deutlich höheren spontanen Herzschlagrate. Vergleichend hierzu war bei den herzinsuffizienten Tieren in Narkose eine relative Bradykardie zu beobachten.

HF=Herzfrequenz, [#] $p < 0,05$ vs. Gruppe A und B, * $p < 0,05$ vs. Gruppe B

In Gruppe A und B traten während der Anästhesie verschiedene Formen von Arrhythmien auf. So wurden massenweise atrioventrikuläre Erregungsleitungsstörungen (AV-Blocks) dritten Grades, intermittierendes Auftreten eines Bigeminus und supraventrikuläre Extrasystolen beobachtet. Alle Tiere der Kontrolle hatten während der Narkose einen stabilen Sinusrhythmus.

Der **arterielle Mitteldruck (MAP)** zeigte in allen Gruppen keine statistisch relevanten Unterschiede. Er betrug bei der Kontrollgruppe 74 ± 2 mmHg und nach Beendigung des Pacing-Protokolls 78 ± 6 mmHg (Gruppe A) respektive 72 ± 4 mmHg (Gruppe B). Die initiierte Herzinsuffizienz resultierte in einem signifikanten Anstieg des **mittleren pulmonalarteriellen Drucks (mPAP)** in beiden Schrittmachergruppen im Vergleich zur Kontrolle (Kontrolle 18 ± 1 mmHg, Gruppe A 24 ± 1 mmHg, Gruppe B 24 ± 1 mmHg).

Der **pulmonalkapilläre Verschlussdruck (PCWP)** zeigte sich ebenfalls in beiden Gruppen im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöht. Der Ausgangswert von 9 ± 1 mmHg stieg in Gruppe A auf 13 ± 1 mmHg und in Gruppe B auf 12 ± 1 mmHg an. Die Ergebnisse des mPAP und des PCWP sind in den Abbildungen 13 A und B dokumentiert.

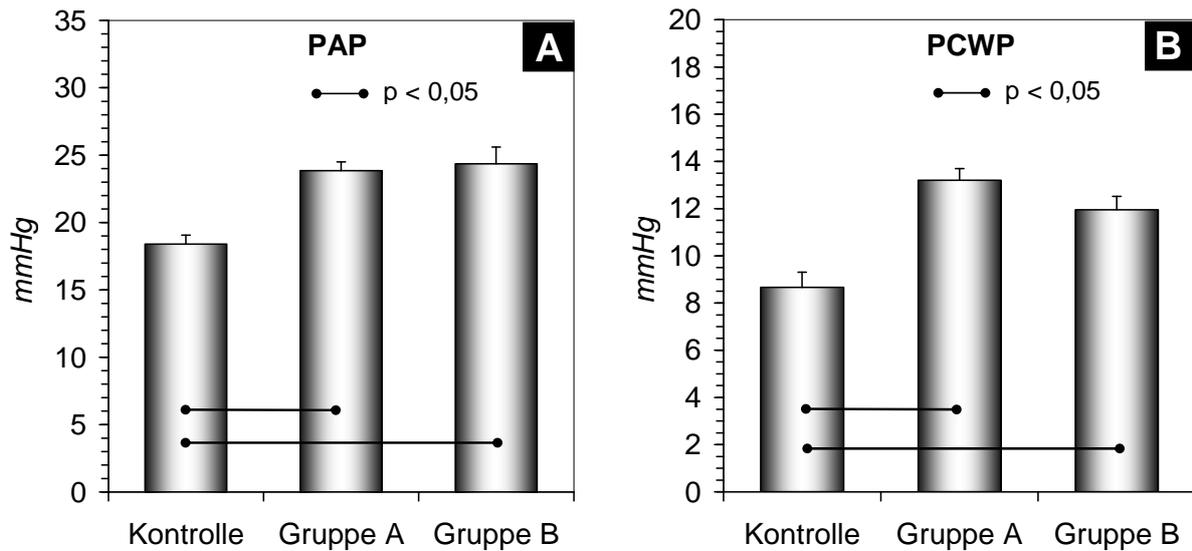


Abb. 13: Mittlerer pulmonalarterieller Druck (A) und pulmonalkapillärer Verschlussdruck (B).

Nach Schrittmacherstimulation wiesen alle Tiere signifikant erhöhte Drücke im kleinen Kreislauf auf. Gruppe A wies keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu Gruppe B auf.

Eine Woche nach Abschalten des Herzschrittmachers wiesen alle Tiere einen gestiegenen **zentralen Venendruck (ZVD)** auf. Der Vergleich von Gruppe A (11 ± 1 mmHg) und Gruppe B ($10 \pm 0,3$ mmHg) zeigte annähernd identische Ergebnisse, die sich signifikant vom Kontrollwert ($8 \pm 0,4$ mmHg) unterschieden (Abb. 14 A).

Der bei gesunden Tieren ermittelte **Cardiac Index (CI)** von $4,3 \pm 0,1$ l/min/m² sank in Gruppe A signifikant auf $3,6 \pm 0,2$ l/min/m². Die Herzzeitvolumina in Gruppe B waren mit einem CI von $2,9 \pm 0,2$ l/min/m² im Vergleich zu Gruppe A und zur Kontrolle statistisch signifikant erniedrigt (Abb. 14 B).

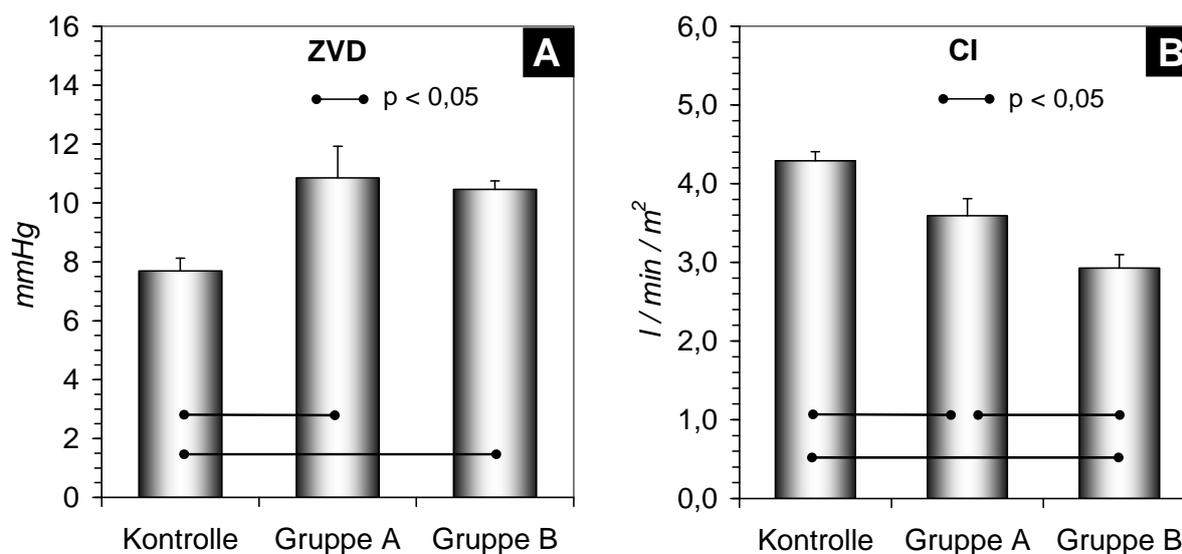


Abb. 14: Zentraler Venendruck und Cardiac Index.

A: Die hochfrequente Schrittmacherstimulation resultiert in beiden Tachykardiemodellen in einem signifikant erhöhten ZVD (Gruppe A vs. Gruppe B nicht signifikant). **B:** Im Vergleich zur Kontrolle wurde in Gruppe A eine mittlere Abnahme des Cardiac Index um $16,3 \pm \%$ verzeichnet. In Gruppe B sank der Cardiac Index nach hochfrequenter Schrittmacherstimulation im Mittel um $31,7 \%$ ($p < 0,05$ vs. Kontrolle und vs. Gruppe A).

In der Kontrollgruppe wurden für den **systemischen Gefäßwiderstandsindex (SVRI)** Werte von $1298 \pm 86 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{m}^2/\text{cm}^5$ detektiert. Nach der hochfrequenten Stimulation mit einem Einkammeraggregat konnte in Gruppe A ein nicht-signifikanter Anstieg des SVRI dokumentiert werden ($1506 \pm 265 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{m}^2/\text{cm}^5$). Im Gegensatz dazu führte die Stimulation mit zwei Schrittmachelektroden bei Gruppe B zu einem signifikanten Anstieg dieses Indexes ($1874 \pm 177 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{m}^2/\text{cm}^5$).

Korrespondierend hierzu konnte nur in Gruppe B eine signifikante Zunahme des **pulmonalvaskulären Widerstandsindex (PVRI)** verzeichnet werden (Gruppe B $328 \pm 27 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{m}^2/\text{cm}^5$, Gruppe A $283 \pm 66 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{m}^2/\text{cm}^5$, Kontrolle $195 \pm 11 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{m}^2/\text{cm}^5$). Die graphische Darstellung der Widerstandsindices ist in Abb. 15 A und B wiedergegeben.

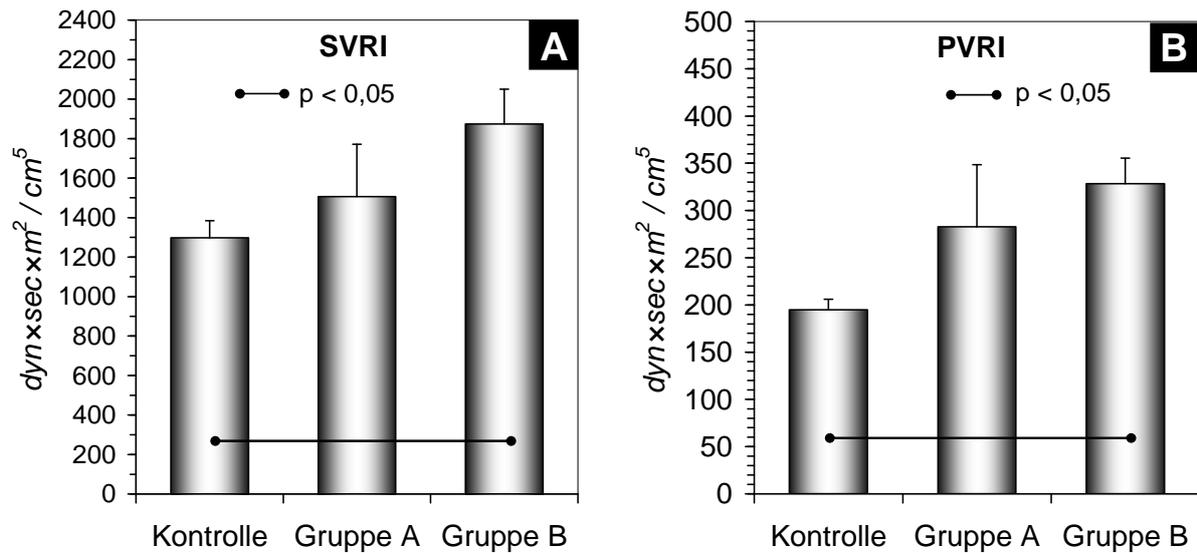


Abb. 15: Widerstandsindices.

A: Systemischer Gefäßwiderstandsindex. **B:** Pulmonaler Gefäßwiderstandsindex. Nur in Gruppe B konnten nach Herzschrittmacher-Stimulation signifikante Zunahmen der Widerstandsindices dokumentiert werden.

Der **Schlagvolumenindex (SVI)** war bei den herzinsuffizienten Tieren im Vergleich zur Kontrolle kaum verändert, und der Vergleich aller Gruppen untereinander ergab keine signifikanten Unterschiede (Kontrolle 42 ± 3 ml/m², Gruppe A 55 ± 6 ml/m², Gruppe B 48 ± 4 ml/m²).

4.1.6 Zellmorphologie

4.1.6.1 Querschnittsfläche der Myozyten

Veränderungen der Myozytenmorphologie ließen sich bereits in den HE-gefärbten Präparaten erkennen. Im gesunden Herzmuskelgewebe vom Schwein waren die Myozyten eng gebündelt und homogen angeordnet. Nach ventrikulärer Schrittmacherstimulation wurde eine deutliche Vergrößerung des Myozytenquerschnitts und ein Auseinanderweichen der Zellen dokumentiert (Abb. 16). Mit der nach immunhistochemischer Anfärbung durchgeführten Morphometrie wurden diese Ergebnisse objektiviert und quantifiziert.

Die Myozyten gesunder Schweine wiesen eine mittlere Querschnittsfläche von 283 ± 8 μm² auf. Die Tiere der Gruppen A und B entwickelten eine Hypertrophie, die sich in einer hochsignifikanten ($p < 0,001$) Zunahme der Querschnittsfläche der Herzmuskelzellen zeigte (Gruppe A 513 ± 11 μm² und Gruppe B 491 ± 8 μm²).

Die Ergebnisse in Gruppe A waren im Vergleich zu Gruppe B nicht signifikant verschieden. In beiden Schrittmachergruppen fiel ein ähnliches Verteilungsmuster der Myozyten auf: neben ausgedehnten Regionen, in denen gehäuft vergrößerte und teilweise auch in der Form veränderte Zellen auftraten, fanden sich kleinere Bezirke mit überwiegend unveränderten Myozyten (Abb. 17 A, 18).

4.1.6.2 Myozytendurchmesser

In Korrelation zu den Ergebnissen der Querschnittsflächenmessung ergab der maximale Myozytendurchmesser für die Tiere der Gruppen A und B signifikant höhere Werte als für die Kontrolltiere. Auch hier konnten zwischen den Tieren mit den unterschiedlichen Schrittmachermodellen keine signifikanten Unterschiede ausgemacht werden. Der maximale Durchmesser betrug in Gruppe A $31,3 \pm 0,4 \mu\text{m}$, in Gruppe B $30,3 \pm 0,3 \mu\text{m}$ und in der Kontrollgruppe $22,9 \pm 0,3 \mu\text{m}$ (Abb. 17 B, 18).

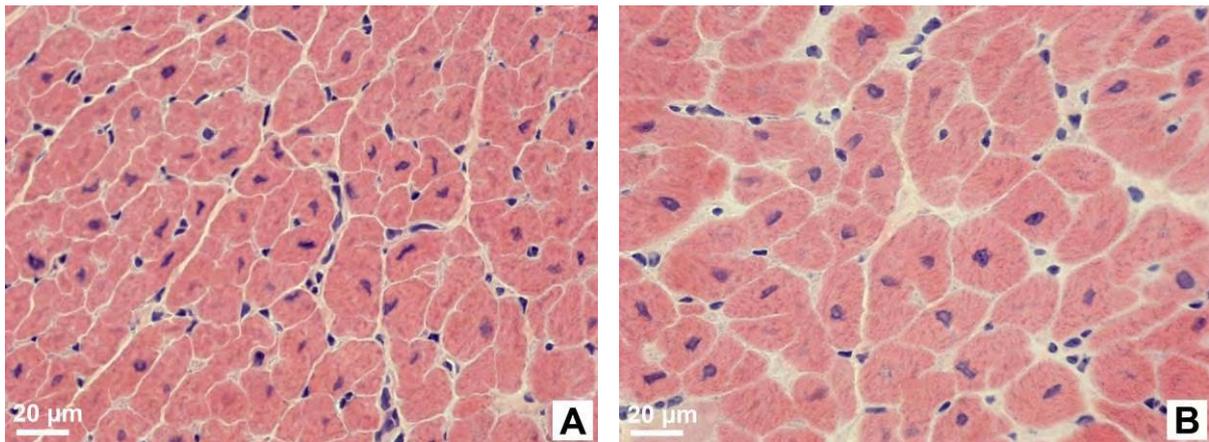


Abb. 16: HE-Färbung von Myokardproben des linken Ventrikels.

Im Vergleich zu gesundem Herzmuskelgewebe (A) weist das insuffiziente Myokard (B) eine Vergrößerung des Myozytenquerschnitts und ein verbreitertes Interstitium auf.

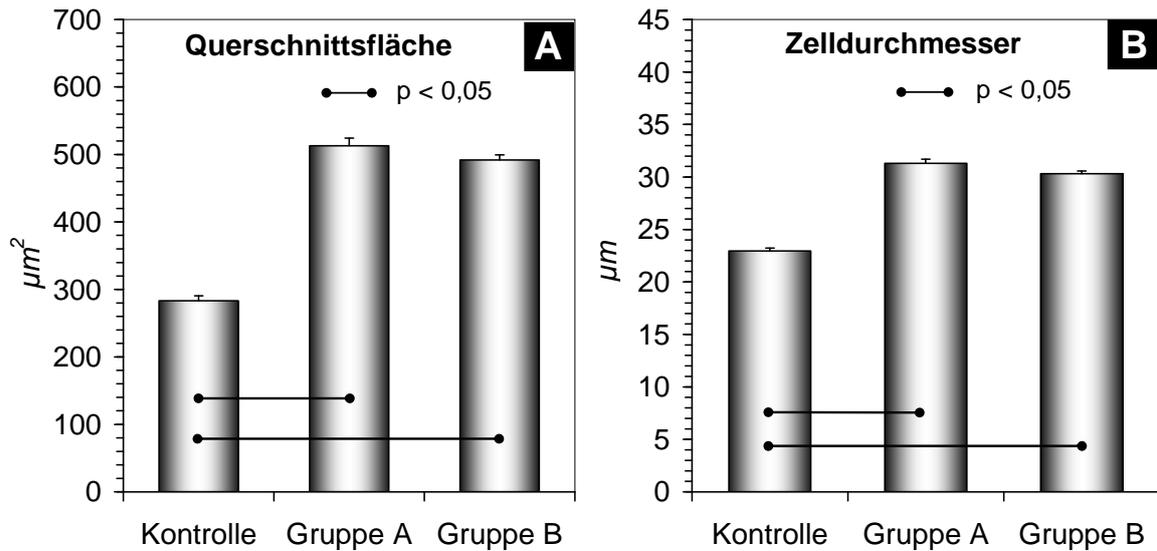


Abb. 17: Zellmorphologie der Myozyten.

A: nach Beendigung des Pacing-Protokolls konnte in beiden Schrittmachergruppen eine hochsignifikante Myozytenhypertrophie dokumentiert werden ($p < 0,001$).

B: Die Ergebnisse für den maximalen Myozytendurchmesser korrelieren mit den Werten der Querschnittsflächenmessungen.

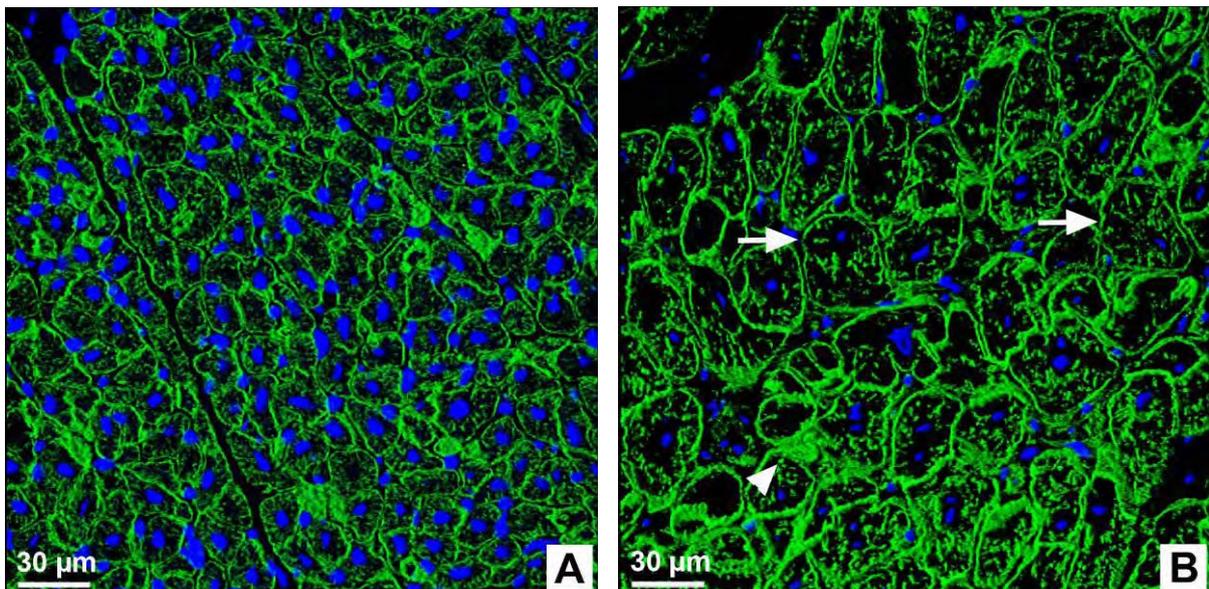


Abb. 18: Vinculinfärbung (grün) zur morphometrischen Analyse des Myozytendurchmessers und Myozytenquerschnitts.

A: Kontrollmyokard. **B:** Hypertrophierte Zellen nach Rapid Pacing (Pfeile). Transversal angeschnittene Glanzstreifen zeigen intensiv grüne Färbung (Pfeilkopf). Zellkerne sind blau gefärbt (DAPI).

4.1.7 Kollagengehalt

Die nach hochfrequenter Stimulation gewonnenen Proben zeigten bereits bei lichtmikroskopischer Betrachtung ein verbreitertes Interstitium; dies konnte nach immunhistochemischer Aufarbeitung auf eine Zunahme der extrazellulären Matrix (EZM) zurückgeführt werden. Der extrazelluläre Raum war in Gruppe B stärker vergrößert als in Gruppe A. Dieser Befund ging mit einer Auseinanderdrängung des Zellverbandes einher. Das Erscheinungsbild der Bindegewebssepten war in allen Gruppen vergleichbar. Schweinemyokard zeichnet sich durch ein regelmäßiges Netzwerk prominenter Bindegewebsstränge aus, die sich im insuffizienten Myokard nicht verbreitert darstellten. Im Kontrollmyokard wurden die einzelnen Myozyten von einem feinen Kollagensaum umgeben, der an manchen Stellen kaum detektierbar war. Im Unterschied hierzu waren die Herzmuskelzellen im insuffizienten Myokard in Kollagenmassen eingebettet, was teilweise zur Isolierung einzelner Myozyten führte. Die histomorphometrisch ermittelten Kollagen III- und Kollagen VI-Flächen werden als relativer Kollagengehalt in Prozent wiedergegeben und sind in Abb. 19 dargestellt.

4.1.7.1 Kollagen III

Kollagen III wurde qualitativ und quantitativ als Maß der linksventrikulären Fibrose beurteilt. In Myokardproben gesunder Tiere waren feine Kollagenfibrillen erkennbar, die die Myozyten umgaben. Im Gegensatz hierzu wiesen die Herzschrittmarker-Tiere prominente interstitielle Kollagenfasern auf, die ein deutliches Auseinanderweichen der Myozyten erkennen ließen (Abb. 20 B). Positive Markierungen für Kollagen III fanden sich im gesamten Interstitium. Bei der statistischen Prüfung der immunhistologischen Ergebnisse zeigten sich signifikante Unterschiede nach Rapid Pacing im Vergleich zur Kontrolle. Der relative Kollagen III-Gehalt war bei den herzinsuffizienten Tieren signifikant höher als bei den Kontrolltieren: er stieg von $8,6 \pm 0,2$ % (Kontrolle) auf $10,9 \pm 0,2$ % (Gruppe A) respektive $11,6 \pm 0,2$ % (Gruppe B). In Gruppe B wurden signifikant höhere Werte gemessen als in Gruppe A (Abb. 19 A). Die morphologische Analyse schloss eine durch Zelluntergang hervorgerufene Reparationsfibrose als Folge der Schrittmacherstimulation aus.

4.1.7.2 Kollagen VI

Kollagen VI zeigte eine homogene Verteilung im Interstitium und war als feines Netzwerk auszumachen, das den gesamten extrazellulären Raum einnahm. Dieser war bei den Tieren der Gruppen A und B deutlich vergrößert. Quer angeschnittene Myozyten wiesen zudem eine Färbung der T-Tubuli auf, da Kollagen VI Bestandteil der Basallamina ist und auch die T-Tubuli auskleidet (Abb. 21 B). Es formt sich zu wesentlich dünneren Fibrillen als Kollagen III.

Die Kollagen VI-Quantifizierung untermauerte das morphologische Bild des vergrößerten Extrazellulärraums. Korrespondierend zur quantitativen Kollagen III-Analyse nahm bei den Herzschrittmacher-Tieren auch der relative Kollagen VI-Gehalt signifikant zu. Die nach Schrittmacherstimulation verzeichnete Kollagen VI-Zunahme war in Gruppe B signifikant stärker ausgeprägt als in Gruppe A (relative Kollagenfläche der Kontrolle: $17 \pm 0,3$ %; Gruppe A: $23 \pm 0,5$ %, Gruppe B: $25,3 \pm 0,3$ %; Abb. 19 B.).

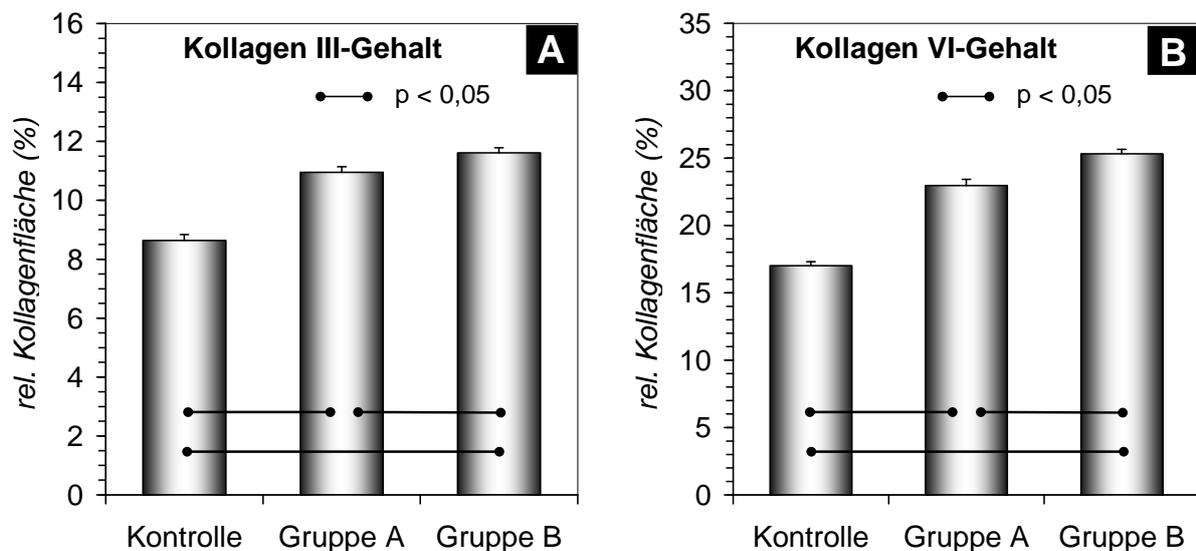


Abb. 19: Histomorphometrisch ermittelte relative Kollagenfläche (in %) im linken Ventrikel.

A: erhöhter Kollagen III-Gehalt nach Schrittmacherstimulation im Vergleich zur Kontrolle.

B: erhöhter Kollagen VI-Gehalt im Myokard nach Rapid Pacing.

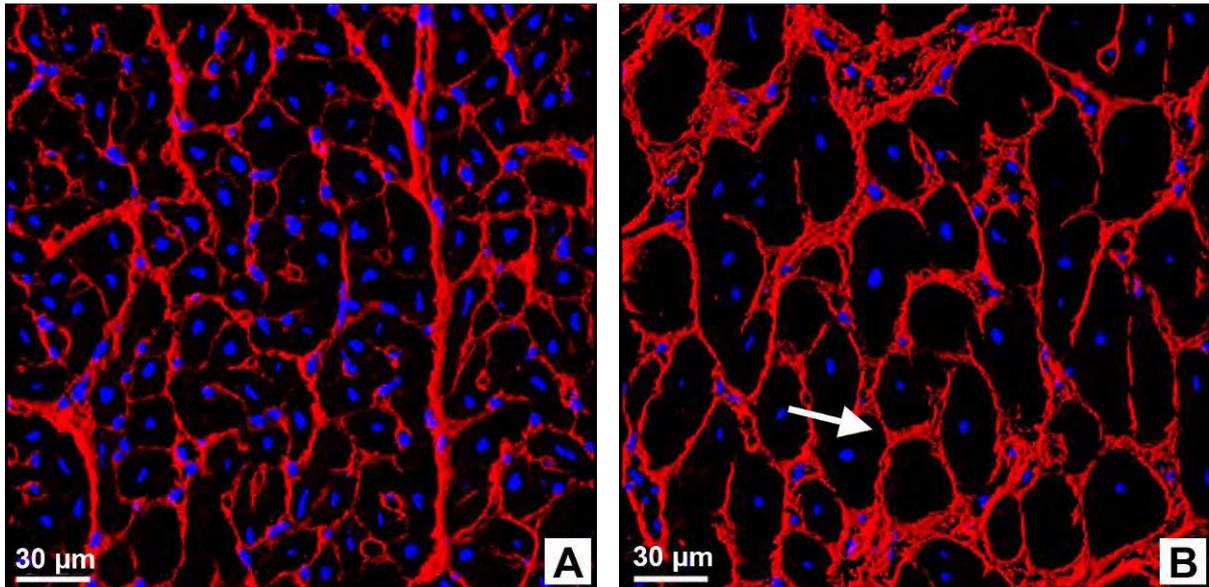


Abb. 20: Kollagen III-Färbung (rot).

A: Kontrollmyokard. Kollagen III umgibt die Myozyten als feiner Saum. **B:** Kollagen III-Akkumulation im verbreiterten Interstitium von insuffizientem Myokard. Isolierung einzelner Myozyten durch Kollagenansammlungen (Pfeil). Deutlich sichtbar ist auch die Zellhypertrophie. (Zellkerne blau, DAPI)

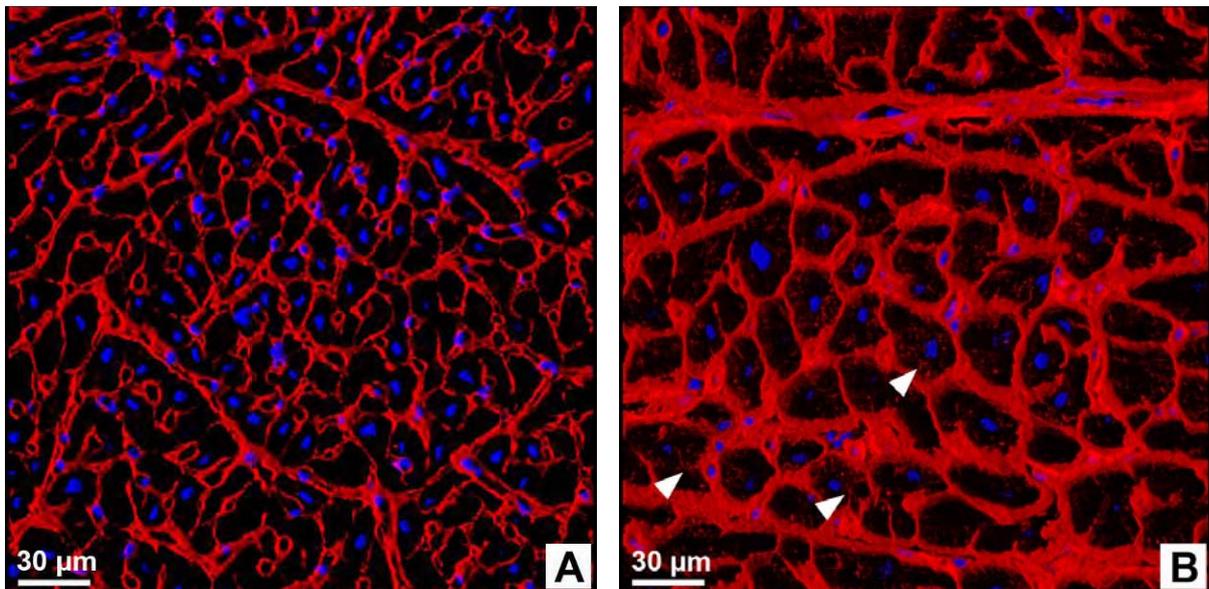


Abb. 21: Kollagen VI-Färbung (rot).

A: Kollagen VI bildet im gesunden Myokard eine feine, netzartige Struktur. **B:** nach Beendigung des Pacing-Protokolls ist der interzelluläre Myozytenkontakt gestört. Die Zellen sind eingemauert zwischen Kollagenansammlungen. Pfeilköpfe kennzeichnen T-Tubuli. (Zellkerne blau, DAPI)

4.1.8 Vinculin

Der monoklonale Antikörper gegen Vinculin markiert besonders die Glanzstreifen der Myozyten, da Vinculin in der Fascia adherens gehäuft auftritt. Weiterhin werden am lateralen Sarkolemm die Anheftungsstellen der intrazellulär lokalisierten Sarkomere sichtbar: die Kostamere. Dies sind spezialisierte Proteinkomplexe, die der Verankerung der kontraktilen Filamente im Sarkolemm dienen. Durch die Kostamere wird die mechanische Kraftübertragung von den Myofibrillen auf die extrazelluläre Matrix gewährleistet. Durch Überlagerungen entsteht in Transversal- und Querschnitten der Eindruck einer ununterbrochenen Sarkolemmmarkierung, jedoch ist in hohen Vergrößerungen die punktförmige Anfärbung der Kostamere erkennbar. Die Kostamerendarstellung durchzieht in manchen längs angeschnittenen Zellen z-streifenartig die gesamte Zelle. In exakten Längsschnitten hebt sich der Glanzstreifen mit starker Fluoreszenzintensität deutlich von der übrigen Vinculinmarkierung ab.

Nach immunhistochemischer Aufarbeitung wurden in den Herzschrittmacher-Gruppen im Vergleich zur Kontrolle keine Unterschiede hinsichtlich der Vinculinverteilung im Myozyten detektiert. Der Zellverband war nach Schrittmacherstimulation aufgelockert und die Myozyten verbreitert, jedoch zeigte sich die Vinculinanfärbung unverändert. Auch eine veränderte Quantität dieses membranassoziierten Proteins wurde nicht beobachtet. Abb. 22 A und B verdeutlichen die Befunde vor und nach Rapid Pacing.

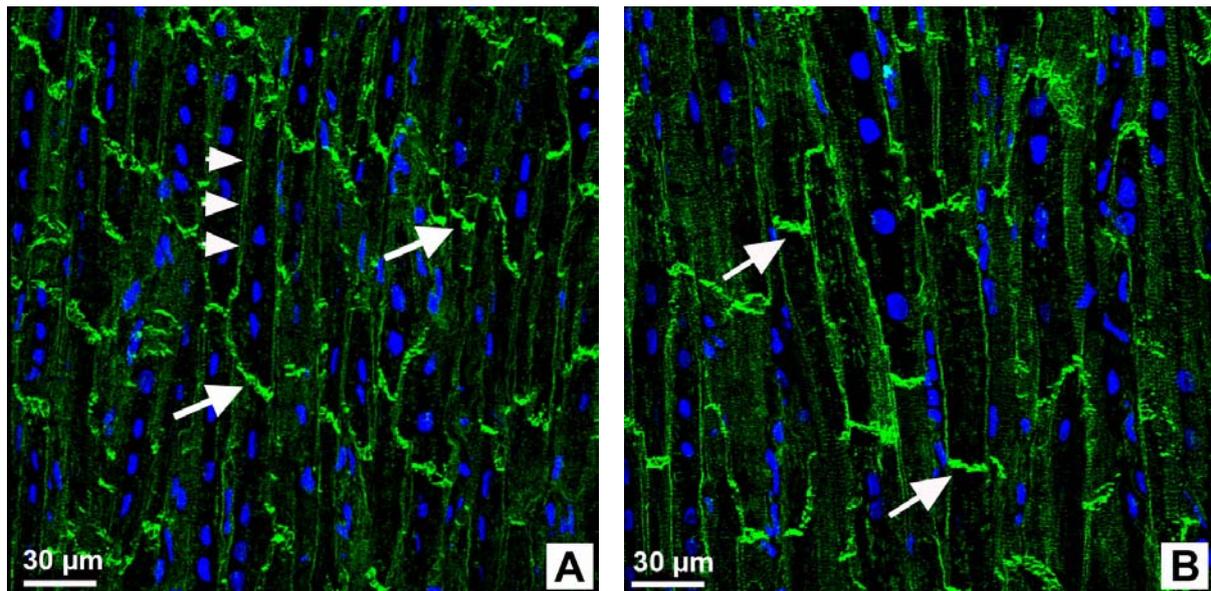


Abb. 22: Vinculinmarkierung (grün) an längs geschnittenen Myozyten.

A: Kontrollmyokard. Die Glanzstreifen sind intensiv angefärbt (Pfeile) und die punktförmige Kostamerenmarkierung am Sarkolemm ist erkennbar (Pfeilköpfe). Intrazelluläre Querstreifung ist teilweise sichtbar, abhängig vom Anschnitt der Zelle. **B:** Nach Schrittmacherstimulation liegt im insuffizienten Myokard eine unveränderte Vinculinverteilung in den hypertrophierten Myozyten vor; Pfeile kennzeichnen Glanzstreifen. Charakteristisch für Schweinemyokard sind 4-6 in einer Reihe hintereinander angeordnete Zellkerne pro Zelle (Zellkerne blau, DAPI).

4.1.9 Dystrophin

Dystrophin ist an der Innenseite des Sarkolemms lokalisiert. Die Darstellung nach immunhistochemischer Anfärbung eignet sich ebenso wie Vinculin für morphometrische Messungen. Die hier verwendeten Antikörper sind gegen den Mittelteil (Dystrophin, St. Cruz) beziehungsweise das amino-terminale Ende (Dystrophin, Sigma) des Dystrophinmoleküls gerichtet. In den Gewebeproben der Kontrollgruppe war die charakteristische ringförmige Myozytenmarkierung zu sehen. Vom Zellrand ausgehend markierten Ausläufer ins Zellinnere die Membranen des T-Tubulussystems. Im insuffizienten Myokard wurde nach Anwendung der verschiedenen Primärantikörper das gleiche Verteilungsmuster von Dystrophin beobachtet wie im Kontrollgewebe (Abb. 23).

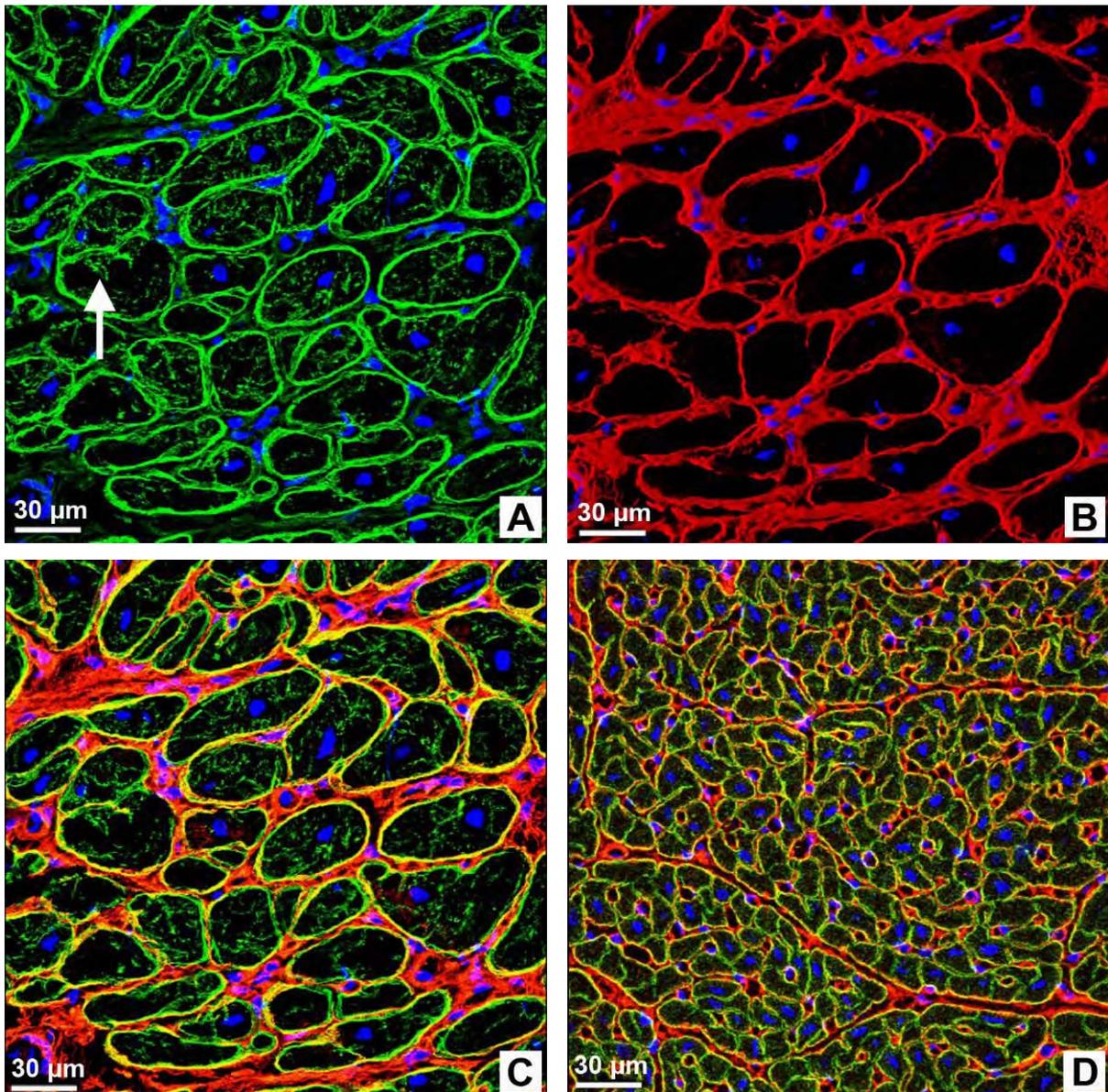


Abb. 23: Doppelmarkierung mit Antikörpern gegen Dystrophin (grün) und Kollagen VI (rot).

Nach Rapid Pacing weist die Dystrophinverteilung (A) das gleiche morphologische Bild auf wie in gesundem Myokard (D). Grüne Ausläufer in das Zellinnere kennzeichnen die T-Tubuli (Pfeil). B: Kollagen VI, C/D: Doppelmarkierung von Dystrophin und Kollagen VI (Zellkerne blau, DAPI).

4.1.10 α -Actinin

Durch die immunhistochemische Markierung von α -Actinin wird eine regelmäßige, scharf umrissene Färbung der Z-Linien sichtbar. Die fluoreszenten Bereiche durchziehen den Myozyten in seiner gesamten Breite und stellen ihn quergestreift dar. Da die Glanzstreifen nicht stärker markiert werden als die Z-Linien, ist eine eindeutige Zellgrenzenbestimmung in longitudinaler Richtung nicht möglich. Im

insuffizienten Myokard sowohl von Gruppe A als auch von Gruppe B fanden sich Bereiche, in denen die Querstreifung schwächer ausgeprägt war und die Myozyten nur feine, schwach gefärbte Z-Linien aufwiesen. Teilweise war die Querstreifung völlig verschwunden. Der Strukturverlust war nicht auf zentrale Bereiche der Myozyten beschränkt, sondern betraf die Zellen in ihrer gesamten Breite. Die beschriebenen Veränderungen betrafen lediglich Teile eines Myozyten, während der Rest der Zelle normale, kräftige Querstreifung aufwies. Die Myozyten wurden durch eine Doppelfärbung mit Phalloidin, das an filamentöses Aktin bindet, sichtbar gemacht. Abb. 24 zeigt das Verteilungsmuster von α -Actinin.

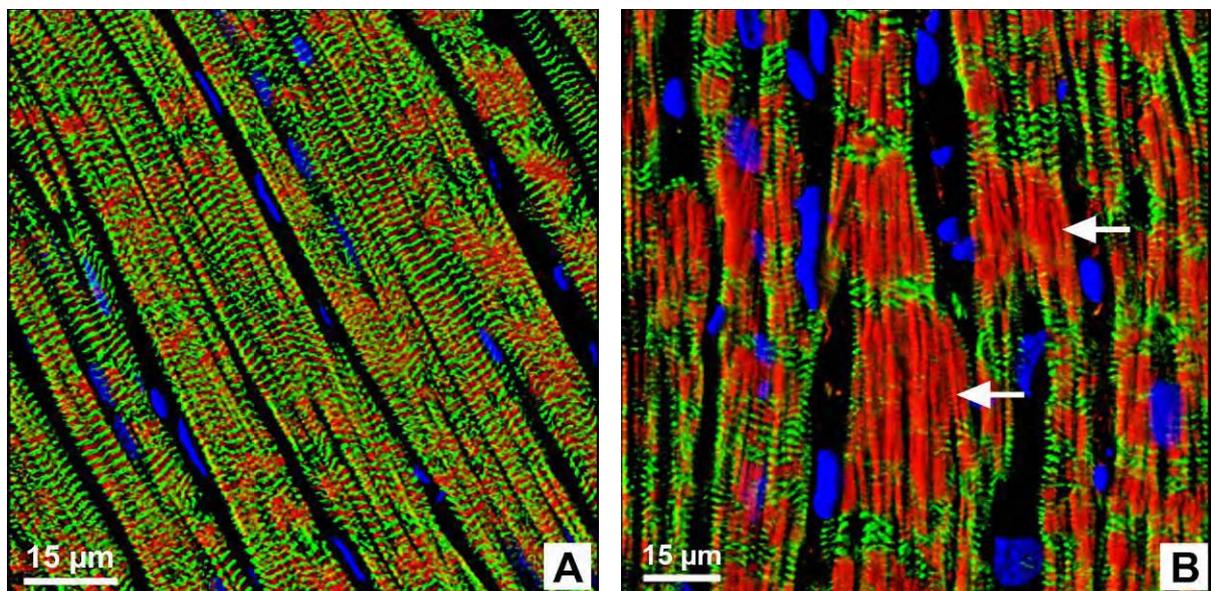


Abb. 24: α -Actinin-Markierung (grün) im Längsschnitt.

Im Kontrollmyokard ist die regelmäßige Querstreifung der Myozyten nach Anfärbung der Z-Linien sichtbar (A). Insuffizientes Myokard weist partiell eine schwächere Querstreifung auf. Teilweise völliger Strukturverlust (Pfeile) kann beobachtet werden (B). (rot: Phalloidin, Zellkerne blau).

4.1.11 Connexin 43

Connexin 43 ist in den Glanzstreifen lokalisiert und bildet dort interzelluläre Kanäle, die als gap junctions bezeichnet werden. In longitudinal angeschnittenen Myozyten ergibt die spezifische Connexinfärbung unregelmäßige, aus vielen Punkten bestehende Linien entlang der interzellulären Grenzen. Dieses Verteilungsmuster wurde in Gruppe A und B quantitativ und qualitativ unverändert im Vergleich zur Kontrolle vorgefunden.

4.2 Langzeitanästhesie beim Schwein mit Herzinsuffizienz

4.2.1 Dauer der mechanischen Herzunterstützung und Komplikationen

Bei 4 Tieren trat während der Herzbiopsieentnahme Kammerflimmern auf, das durch Defibrillation nicht zu terminieren war. 3 Tiere der Impella-Gruppe starben in den ersten 12 Stunden mit Unterstützungssystem an Herzversagen; alle erwähnten Tiere wurden ersetzt. Bis zur Aktivierung der Unterstützungssysteme lagen die Tiere 8 Stunden in Narkose. Nach der Aktivierung der Herzunterstützungssysteme wurde die Langzeitanästhesie über $52 \pm 0,2$ h ($50,5$ h – $53,5$ h) aufrechterhalten. Die stark verschlechterte hämodynamische Situation bei einem sham-operierten Tier führte zur Beendigung des Versuchsprotokolls nach $50,5$ h.

4.2.2 Kreislaufparameter

Die für die drei Gruppen zu verschiedenen Messzeitpunkten ermittelten hämodynamischen Parameter sind in Abb. 25 aufgeführt. Die Zeitpunkte t_1 bis t_5 beschreiben die hämodynamischen Messwerte 10, 20, 30, 40 bzw. 52 h nach Aktivierung des mechanischen Unterstützungssystems. Für jeden angegebenen Zeitpunkt (t_1 bis t_5) wurden die Werte von 3 halbstündlich aufeinanderfolgenden Hämodynamikmessungen gemittelt.

Die Langzeitnarkose führte bei den herzinsuffizienten Schweinen der sham-Gruppe nicht zu einer Verbesserung der hämodynamischen Situation. In allen Gruppen ergaben sich während der Langzeitnarkose keine signifikanten Veränderungen der Herzfrequenz (ohne Abbildung).

Der zu Operationsbeginn erniedrigte Cardiac Index (Impella: $3,1 \pm 0,3$, IABP: $3,1 \pm 0,3$) als Zeichen der eingeschränkten Pumpfunktion war bei beiden Unterstützungssystemen auch nach der Langzeitnarkose zu verzeichnen (Impella: $2,8 \pm 0,4$, IABP: $2,6 \pm 0,2$). In der sham-Gruppe sank der Cardiac Index von $2,9 \pm 0,1$ auf $2,2 \pm 0,3$ ($p=n.s.$).

Der erhöhte zentrale Venendruck der insuffizienten Schweine veränderte sich während der Unterstützung mit der intraaortalen Ballonpumpe nicht (t_0 : $9 \pm 0,4$ mmHg, t_5 : 9 ± 2 mmHg). Im Gegensatz hierzu stieg er während des Supports mit der Mikroaxialpumpe weiter an (t_0 : 10 ± 2 mmHg, t_5 : 13 ± 3 mmHg). Während der

Langzeitnarkose ohne mechanische Herzunterstützung wurden keine signifikanten Änderungen des ZVD detektiert (t_0 : $11 \pm 0,4$ mmHg, t_5 : 8 ± 1 mmHg).

Im Gegensatz zur intraaortalen Ballonpumpe und zu sham-operierten Tieren wurde während der Unterstützung mit der Mikroaxialpumpe ein signifikanter Anstieg des Pulmonalarteriendrucks (PAP Impella t_0 : 23 ± 1 mmHg, t_5 : 33 ± 2 mmHg, $p < 0,05$) und des pulmonalkapillären Verschlussdrucks (PCWP Impella t_0 : 12 ± 1 mmHg, t_5 : 15 ± 2 mmHg, $p < 0,05$) verzeichnet. Korrespondierend hierzu dokumentierte der Anstieg des pulmonalen Gefäßwiderstandsindex (PVRI) in der Impella-Gruppe von $381 \pm 64,6$ dyn-sec·m²/cm⁵ auf 448 ± 38 dyn-sec·m²/cm⁵ die beeinträchtigte pulmonale Zirkulation. In der IABP-Gruppe war der PVRI bei Operationsende im Vergleich zu OP-Beginn nicht verändert.

Beim systemischen Gefäßwiderstandsindex (SVRI) ergaben sich während der mechanischen Herzunterstützung keine signifikanten Änderungen (ohne Abbildung).

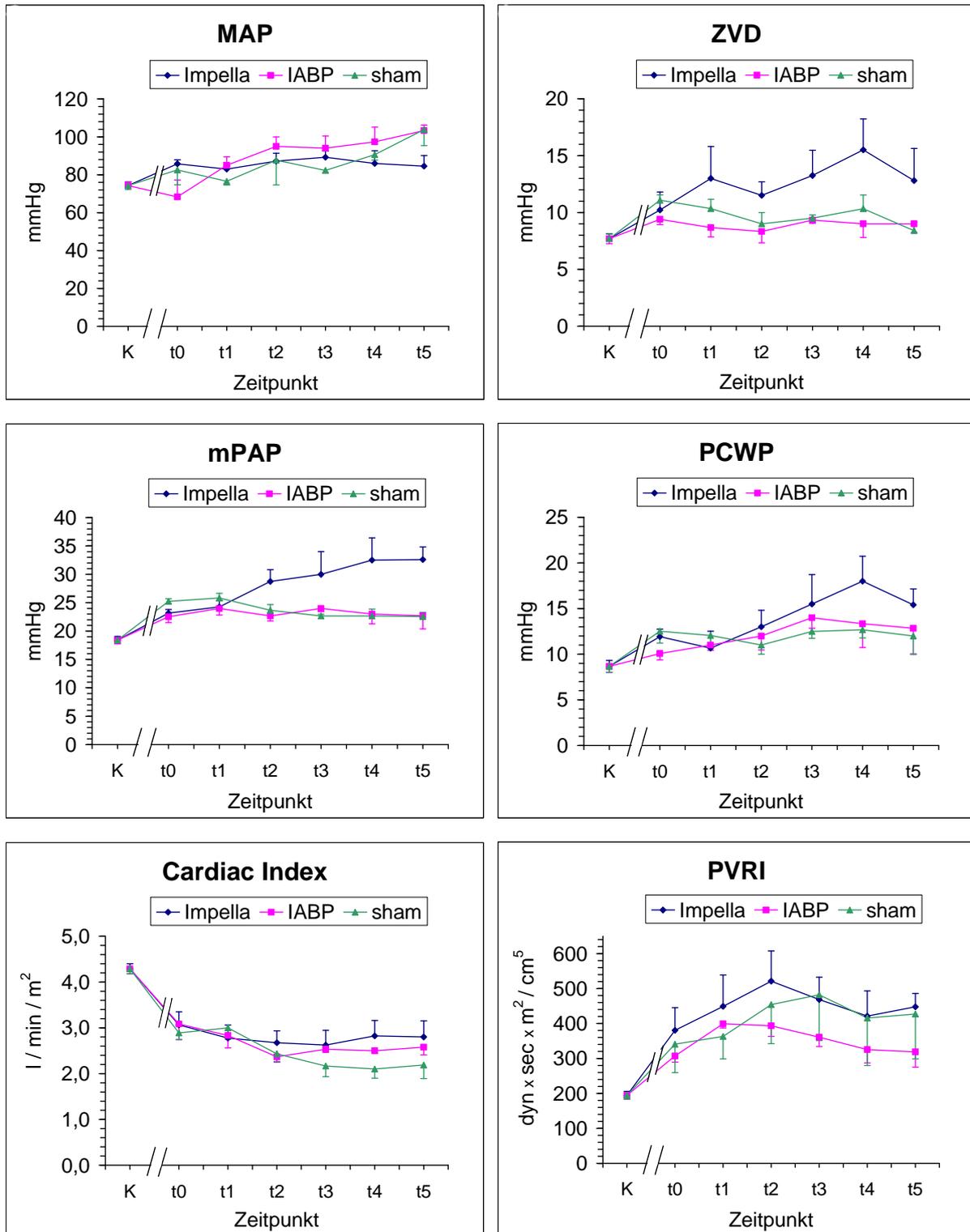


Abb. 25: Hämodynamik während der Langzeitanästhesie.

Fehlerindikatoren kennzeichnen Standardfehler. (K = gesunde Kontrolle, t_0 = Operationsbeginn, $t_1 - t_5$ = Quintile und t_5 = Endpunkt, $n=4$ für jede Gruppe).

4.2.3 Zellmorphologie

4.2.3.1 Querschnittsfläche der Myozyten

Auch nach der Langzeitanästhesie zeigte sich eine eindrucksvolle Hypertrophie der Myozyten im Vergleich zu gesundem Myokard. Die myozytäre Querschnittsfläche der zu Operationsbeginn entnommenen Herzbiopsien betrug in der sham-Gruppe $437 \pm 10 \mu\text{m}^2$, in der Impella-Gruppe $586 \pm 17 \mu\text{m}^2$ und in der IABP-Gruppe $560 \pm 15 \mu\text{m}^2$. Der Vergleich mit den final gewonnenen Proben ergab in der IABP-Gruppe eine nicht-signifikante Abnahme der Querschnittsfläche auf $539 \pm 11 \mu\text{m}^2$, während in den anderen Gruppen keine Tendenz zu erkennen war (Tab. 8).

4.2.3.2 Myozytendurchmesser

Im Verlauf der Langzeitanästhesie veränderte sich der Myozytendurchmesser nur so geringgradig, dass bei Versuchsende in allen drei Gruppen keine Signifikanzen erreicht wurden im Vergleich zum Zeitpunkt t_0 (Tab. 8).

	Vor Langzeitanästhesie	Nach Langzeitanästhesie
Myozyten-Querschnittsfläche (μm^2)		
sham	$437 \pm 10 \mu\text{m}^2$	$441 \pm 8 \mu\text{m}^2$
Impella	$586 \pm 17 \mu\text{m}^2$	$590 \pm 11 \mu\text{m}^2$
IABP	$560 \pm 15 \mu\text{m}^2$	$539 \pm 11 \mu\text{m}^2$
Myozytendurchmesser (μm)		
Sham	$28,9 \pm 0,3 \mu\text{m}$	$28,6 \pm 0,3 \mu\text{m}$
Impella	$33,1 \pm 0,6 \mu\text{m}$	$32,9 \pm 0,4 \mu\text{m}$
IABP	$32,0 \pm 0,5 \mu\text{m}$	$32,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$

Tab. 8: Querschnittsfläche und Durchmesser der Myozyten vor und nach der Langzeitanästhesie.

4.2.4 Kollagengehalt

Anhand der histomorphometrisch ermittelten relativen Kollagenflächen konnte in der IABP-Gruppe im Gegensatz zur Axialpumpengruppe ein signifikanter Rückgang sowohl des Kollagen III-, als auch des Kollagen VI-Gehalts detektiert werden.

4.2.4.1 Kollagen III

Der relative Kollagen III-Gehalt betrug zu Operationsbeginn bei den sham-Tieren $11,3 \pm 0,3$ % und in der Impella-Gruppe $10,9 \pm 0,2$ % und veränderte sich nicht signifikant im Verlauf der Langzeitanästhesie (postoperativ: sham-Tiere $11,1 \pm 0,3$ %, Impella $10,5 \pm 0,1$ %). In der IABP-Gruppe nahm der Kollagen III-Gehalt von $11,4 \pm 0,3$ % (t_0) auf $10,2 \pm 0,4$ % ab.

4.2.4.2 Kollagen VI

Korrespondierend zu den Ergebnissen für Kollagen III zeigten die relativen Kollagen VI-Gehalte der sham-Gruppe ($24 \pm 0,7$ % zum Zeitpunkt t_0) und der Impella-Gruppe ($23 \pm 0,7$ % zum Zeitpunkt t_0) lediglich einen abnehmenden Trend durch die Langzeit-OP. In der IABP-Gruppe war eine signifikante Abnahme des Kollagen-VI-Gehalts von $27 \pm 0,4$ % (t_0) auf $25,3 \pm 0,5$ % zu verzeichnen.

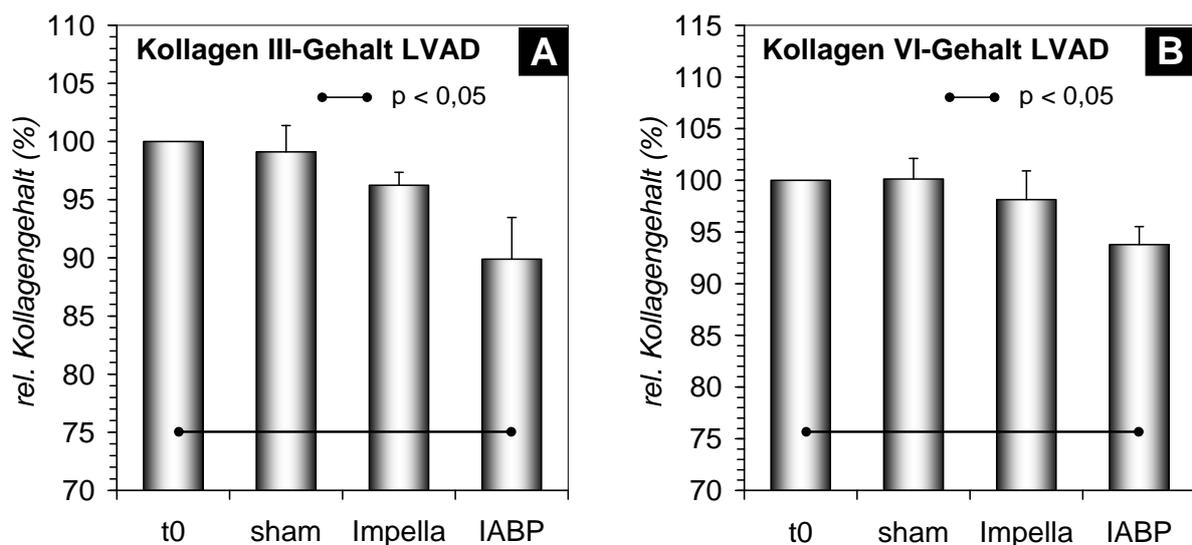


Abb. 26: Histomorphometrisch ermittelte relative Kollagengehalte nach Langzeitanästhesie. Die zum Zeitpunkt t_0 gemessenen Kollagengehalte entsprechen 100%. Signifikante Veränderungen des Kollagen III-Gehalts (A) und des Kollagen VI-Gehalts (B) wurden in der IABP-Gruppe detektiert.

4.2.5 Proteine des Zytoskeletts

Die Proteine Vinculin, Dystrophin und Connexin 43 zeigten zu Beginn der 2. Versuchsphase keine Veränderungen hinsichtlich der Quantität und der intrazellulären Anordnung. Das gleiche Bild ergab sich nach der Langzeitanästhesie mit und ohne mechanische Herzunterstützung. Die im insuffizienten Zustand beobachtete Störung der α -Actinin-Struktur zeigte nach der Langzeitnarkose in allen Gruppen eine Normalisierung.

4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die minimalinvasive Herzschrittmacher-Implantation über die rechte V. subclavia ventralis war sowohl mit einer ventrikulären Elektrode als auch mit zwei ventrikulären Elektroden komplikationslos durchführbar.

Alle Tiere entwickelten im Verlauf der 21-tägigen hochfrequenten Stimulationsphase deutliche klinische Anzeichen einer Herzinsuffizienz, die sich in herabgesetztem Allgemeinzustand, Dyspnoe, Ascites und Zyanose zeigte.

Nach einwöchiger Pacing-Pause waren in allen Tieren die hämodynamischen Parameter Herzfrequenz, Cardiac Index, zentralvenöser Druck, pulmonalarterieller Druck und pulmonalkapillärer Verschlussdruck im Sinne einer anhaltenden Herzinsuffizienz verändert. Eine signifikante Erhöhung des pulmonalvaskulären Widerstands und des systemvaskulären Widerstands zeigten nur die Tiere der Gruppe B (Stimulation mit 2 Elektroden).

Das relative Herzgewicht, die Zellgröße und der Kollagen III- und Kollagen VI-Gehalt als morphologische Parameter waren in allen Tieren nach Schrittmacherstimulation signifikant erhöht. Von den untersuchten Proteinen des Zytoskeletts wies α -Actinin ein verändertes Verteilungsmuster nach Rapid Pacing auf. Bei Vinculin, Dystrophin und Connexin 43 hingegen wurden keine Veränderungen nach hochfrequenter Stimulation detektiert.

Eine ca. 60 Stunden andauernde Langzeitanästhesie beim herzinsuffizienten Schwein ist unter Beachtung intensivmedizinischer Kriterien möglich.

Die in der vorliegenden Untersuchung verwendete Mikroaxialflusspumpe kann ebenso wie die intraaortale Ballonpumpe bei Schweinen mit entsprechender Körpergröße implantiert werden.

Mit keinem der beiden Herzunterstützungssysteme und auch nicht bei sham-operierten Schweinen konnte innerhalb von 52 Stunden eine umfassende hämodynamische Verbesserung beobachtet werden. Im Gegensatz zur Ballonpumpen-Gruppe kam es in der Impella-Gruppe zu signifikanten Erhöhungen der Drücke im Lungenkreislauf.

Nach der Langzeitnarkose lag in allen Gruppen eine unverändert starke Hypertrophie der Kardiomyozyten vor. In der IABP-Gruppe konnte jedoch ein signifikanter Rückgang des Kollagen III- und Kollagen VI-Gehalts verzeichnet werden.

Die Proteine Vinculin, Dystrophin und Connexin 43 wiesen vor und nach der Langzeitanästhesie ein vergleichbares Verteilungsmuster auf. α -Actinin zeigte nach der Langzeitanästhesie in allen Gruppen eine Normalisierung des Verteilungsmusters.

5. DISKUSSION

5.1 Diskussion der Methoden

5.1.1 Das Tiermodell in der medizinischen Forschung

Die Grundlagen vieler Forschungserkenntnisse in der Medizin und die daraus resultierenden Therapieansätze sind nur mit Hilfe experimenteller Untersuchungen zu erarbeiten. Aufgrund der eingeschränkten Möglichkeit, humanes Probenmaterial aus dem Herzen zu gewinnen, nehmen Tiermodelle in der kardiovaskulären Forschung einen hohen Stellenwert ein. Wichtig bei der Wahl der Versuchstierspezies ist eine dem Menschen vergleichbare Ausgangssituation. Auch ökonomische Überlegungen, Durchführbarkeit des Versuchs und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sind von Bedeutung.

Das Hausschwein eignet sich aufgrund seiner Körpergröße und eines dem Menschen anatomisch und physiologisch ähnlichen kardiovaskulären Systems gut für das hier durchgeführte chirurgische Versuchsvorhaben [155]. Für die Implantation mechanischer Unterstützungssysteme ist es wichtig, ein Tiermodell zu verwenden, dessen anatomische Strukturen der menschlichen Anatomie möglichst stark ähneln. Die Thoraxform und die Herzorientierung im Thorax weicht beim Hund stärker von den menschlichen Begebenheiten ab als beim Schwein. Hunde haben einen steilen Brustkorb und ein parallel zum Sternum liegendes Herz. Das Hausschwein dagegen weist ein eher rundes Thoraxprofil auf, und die Herzspitze neigt sich zum Sternum und geringgradig nach links [139, 156].

Das Schweineherz weist einen mit dem menschlichen Herz vergleichbaren arteriellen Gefäßverlauf und nur marginale Kollateralenbildung auf [157]. Herzfrequenzen von 80 bis 100 Schlägen pro Minute bei 3-4 Monate alten Hausschweinen und ein stabiler Sinusrhythmus ähneln den menschlichen Gegebenheiten. Auch die Druckverhältnisse im kleinen und großen Kreislauf sind vergleichbar. Im Gegensatz dazu finden sich beispielsweise bei Hunden deutlich höhere Frequenzen und eine respiratorische Arrhythmie. Das Herzzeitvolumen des Schweins, bezogen auf die Körperoberfläche, ist mit dem des Menschen vergleichbar.

Der anhaltende Spenderherzenmangel rückt die Xenotransplantation in den Blickpunkt der Forschung [158]. Von großer Bedeutung ist hierbei die Wahl einer geeigneten Tierspezies: in einer präklinischen Studie von McGregor et al. überlebten

Primaten mit transplantierten Schweineherzen mehrere Monate. Diese Ergebnisse trugen dazu bei, dass besonders Schweineherzen als geeignete Organe zur Xenotransplantation diskutiert werden [159].

Die hohe Verfügbarkeit von Mastschweinen als lebensmittelliefernde Tiere stellt einen entscheidenden wirtschaftlichen Aspekt dar, aufgrund dessen das Schwein anderen Versuchstierspezies ähnlicher Größe, wie zum Beispiel dem Hund oder dem Primaten, vorzuziehen ist. In unserer Studie wurden nur männliche kastrierte Tiere verwendet, um unterschiedliche hormonelle Einflüsse auf die untersuchten Parameter auszuschließen.

Im Gegensatz zu anderen Herzinsuffizienzmodellen wie beispielsweise der koronaren Mikroembolisation oder der Koronararterienligatur führt das Tachykardiemodell zu einer homogenen Schädigung des Myokards ohne lokale Ischämien [160]. Die vorliegenden Versuchsergebnisse zeigen, dass die minimalinvasive Herzschrittmacherimplantation mit transvenöser Anlage der Elektrodensysteme beim Schwein eine sichere und effektive Methode zur Induktion einer Herzinsuffizienz ist. Sie repräsentiert ein geeignetes Tiermodell, mit dem reproduzierbare Messergebnisse unter Anwendung standardisierter Methoden gewonnen werden können. Die entstehende Kardiomyopathie weist viele Parallelen zur humanen dilatativen Kardiomyopathie auf [144]. Aufgrund der Vergleichbarkeit des kardiovaskulären Systems ist eine maximale Übertragbarkeit der gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen gewährleistet.

Mit der zunehmenden Im- und Explantation von Herzunterstützungssystemen ergibt sich grundsätzlich die Möglichkeit, kardiale Veränderungen auch an humanem Myokard zu untersuchen. Dies gilt jedoch nicht für die Frühphase möglicher Umbauprozesse, da umfangreiches Probenmaterial nur bei einer Herztransplantation zu gewinnen ist. Aufgrund des Spenderherzenmangels besteht jedoch nur ganz selten die Möglichkeit, eine Transplantation bereits wenige Tage nach Implantation eines linksventrikulären Herzunterstützungssystems durchzuführen. Somit sind Tierstudien unerlässlich, um frühe Veränderungen im Herzen im Sinne eines „Reverse Remodeling“ untersuchen zu können.

Meyns und Mitarbeiter wiesen in einer Tierstudie eine signifikante Reduktion der Infarktgröße im linken Ventrikel nach kardialer Unterstützung mit der Axialflusspumpe Impella Recover® nach [93]. Bisher wurden jedoch keine Untersuchungen durchgeführt, mit denen der Einfluss einer temporär implantierten

Mikroaxialflusspumpe auf die Vorgänge im Herzen bei chronischer Herzinsuffizienz dokumentiert werden konnte.

5.1.2 Etablierung des neuen Tiermodells

5.1.2.1 Elektroden- und Schrittmacherimplantation

Alle bisherigen schrittmacherinduzierten Tachykardiemodelle beim Schwein waren mit einer Eröffnung des Thorax verbunden. Auch in fast allen Hundemodellen erfolgt die Elektrodenpositionierung mit Hilfe einer lateralen Thorakotomie. Die Sonden werden nach Eröffnung des Herzbeutels epimyokardial angebracht und der Herzschrittmacher in unterschiedlichen Körperregionen subkutan platziert [136, 138-140, 146]. Beim Hund wurde nach transvenöser Elektrodenimplantation über eine Jugularvene die Dislokation der endokardialen Schrittmachersonde beobachtet. Die Arbeitsgruppe um Sisson beschrieb die Sondendislokation mit 33 % als häufigste Komplikation nach Herzschrittmacherimplantation [161]

Flanders und Mitarbeiter fanden dislozierte Elektroden vorzugsweise bei großen Hunderassen mit einem Körpergewicht über 20 kg. Sie führten dies auf umfangreiche Kopf- und Halsbewegungen zurück und verzeichneten Erfolge mit der Sondenimplantation über die rechte V. costocervicalis, verbunden mit einer lateralen Thorakotomie [148]. In unserer Studie wurden die Elektroden über die Vena subclavia eingeführt. Die Auswahl dieses Gefäßes erfolgte aus der Überlegung heraus, einerseits minimalinvasiv ohne Thoraxeröffnung vorgehen zu können und andererseits einen möglichst herznahen venösen Zugang zu schaffen. Sondendislokationen, die durch spontane Körperbewegungen hervorgerufen werden können, sollten so vermieden werden. Lediglich eine von 30 implantierten Sonden (3,3 %) musste aufgrund einer Dislokation reponiert werden. Dies entspricht einer deutlich besseren Erfolgsrate als bisher beschrieben. Die Dislokationsrate in der vorliegenden Studie ist vergleichbar mit humanmedizinischen Ergebnissen.

Das Einbringen des Herzschrittmachers in eine subkutane Tasche ist eine vielfach angewandte Methode, die jedoch Nachteile aufweist. So kann es durch ungenügende Fixierung zur Migration oder Rotation des Schrittmachers kommen und auch Hauterosionen wurden beschrieben [148, 161]. Wie initiale Erfahrungen unserer Arbeitsgruppe zeigten, ist der geringe Anteil subkutanen Fettgewebes in der Halsregion für eine zuverlässige Schrittmacherimplantation nicht ausreichend. Ein

Grund hierfür ist in der Rasse- und Geschlechtswahl zu sehen. Chow und Mitarbeiter wählten für ihr Tachykardiemodell weibliche Schweine mit einem höheren Fettgewebsanteil aus, wodurch eine bessere Schrittmacherprotektion gewährleistet werden sollte [141]. In dem hier vorgestellten Tiermodell wurde der Herzschrittmacher an der Brust-Hals-Grenze tief in der Muskulatur platziert und festgenäht. Durch vollständige Überdeckung des Schrittmachers mit dem M. cutaneus colli konnten optimale Implantationsergebnisse ohne Dislokationen und Infektionen erzielt werden.

Die Thoraxeröffnung geht mit einer Reihe von Nachteilen einher. So müssen die beim Schwein stark ausgeprägten und intensiv vaskularisierten Zwischenrippenmuskeln durchtrennt werden. Weitere Risiken wie die Induktion eines Pneumothorax, starke Blutungen oder eine Herztamponade kommen hinzu [148]. Daraus ergibt sich ein längerer postoperativer Heilungsverlauf mit erhöhter Komplikationsrate und gesteigertem Infektionsrisiko. Im Tiermodell finden nach Thoraxeröffnung Schraubelektroden Anwendung, die in das Epikard eingeschraubt werden [140]. Kommt es zur Sondendislokation, so ist eine wiederholte Thorakotomie angezeigt, um eine Sondenreposition vorzunehmen. Auch die postoperative Schmerzbelastung des Versuchstiers ist nach Thorakotomie wesentlich höher als nach dem Einsatz minimalinvasiver Methoden wie in unserem Modell. Durch die Anwendung einer weniger invasiven Operationstechnik, bei der mit einem minimalen chirurgischen Trauma lediglich Cutis und Subcutis für den venösen Zugang durchtrennt werden, kann die intra- und postoperative Belastung entscheidend reduziert und das Komplikationsrisiko minimiert werden.

5.1.2.2 Das Pacing-Protokoll

Die asynchrone rechtsventrikuläre Stimulation durch einen DDD-Herzschrittmacher mit 2 unabhängigen Ventrikelsonden erwies sich gegenüber der gleichfrequenten Stimulation mit einem Einkammeraggregat insgesamt als überlegen.

Die Stimulation mit zwei Sonden resultierte in einer ausgeprägteren Beeinträchtigung hämodynamischer Parameter. Zudem wurden höhere Kollagengehalte detektiert.

Die Ursache dieser Ergebnisse kann in der Platzierung der Schrittmacherelektroden liegen. Asynchrone Kontraktionsabläufe, bedingt durch intraventrikuläre Leitungsstörungen, sind eine häufige Begleiterscheinung der Herzinsuffizienz und führen zur Verkürzung der diastolischen Füllungszeit und zu einer reduzierten

Ejektionsfraktion. Auch eine funktionelle Mitralisinsuffizienz wurde in diesem Zusammenhang beobachtet [65, 162]. Die Ventrikelgeometrie weicht zunehmend vom physiologischen Erscheinungsbild ab und trägt zu einer eingeschränkten Herzfunktion bei. Die intraventrikuläre Überleitungsverzögerung ist im EKG am verbreiterten QRS-Komplex zu erkennen. Die Wiederherstellung synchroner Herzmuskelkontraktionen ist ein wichtiges Therapieziel in der Humanmedizin, daher kommt der kardialen Resynchronisationstherapie eine besondere Bedeutung zu [163].

Die hochfrequente ventrikuläre Stimulation führt zu einer ungleichmäßigen und zeitlich verzögerten Erregungsausbreitung im Herzen, weil die elektrischen Impulse hier nicht primär durch die Tawara-Schenkel und Purkinje-Fasern geleitet werden, sondern durch das langsamer leitende Arbeitsmyokard. Die Folge sind asynchrone Ventrikelkontraktionen. Die Ergebnisse des „2-Sonden-Modells“ erhärten die Hypothese, dass die Herzstimulation in zwei verschiedenen Regionen des rechten Ventrikels zu einer stärkeren ventrikulären Asynchronie und im weiteren Verlauf zu einer schwereren Herzinsuffizienz führt. Durch die regional unterschiedlichen Ausgangspunkte der Erregungsbildung im rechten Ventrikel kommt es zu ausgeprägteren asynchronen Ventrikelkontraktionen, die sich zusätzlich zur Tachykardie negativ auf funktionelle Parameter auswirken. Nach Rapid Pacing mit zwei Sonden wurde eine stärker veränderte Hämodynamik dokumentiert als nach Pacing mit nur einer Sonde. Die ungünstigere hämodynamische Situation führt zu kardialen Umbauprozessen und zur Ventrikeldilatation, wodurch die Entstehung einer sekundären Mitralisinsuffizienz begünstigt wird. Die Progression der morphologischen Veränderungen am Herzen im Verlauf der Pacingperiode wirkt sich weiter negativ auf die Hämodynamik aus, so dass ein *circulus vitiosus* initiiert und perpetuiert wird.

Zur Induktion der Herzinsuffizienz im Tachykardiemodell ist eine hochfrequente Schrittmacherstimulation nötig. Hausschweine im Alter von 3-4 Monaten weisen eine Herzfrequenz von ca. 100 Schlägen/min in Ruhe auf. Für die tachykarde Stimulation werden in der Literatur bei Hunden und Schweinen Stimulationsraten von 200-240 Schlägen/min beschrieben. Das Erreichen solch hoher Herzfrequenzen setzte bisher den Einsatz von speziell programmierbaren Herzschrittmachern voraus.

Das „2-Sonden-Modell“ weist den Vorteil auf, dass handelsübliche Herzschrittmacher, die in der Humanmedizin eine breitgefächerte Anwendung finden,

implantiert werden können. Diese sind preislich meist deutlich günstiger als speziell programmierbare Schrittmacher.

Für das hier vorgestellte Schweinmodell ist eine Ventrikelstimulation im unipolaren Modus zu empfehlen, da sie im Vergleich zur bipolaren Stimulation die sicherere Stimulationsmethode darstellt. Weiterhin ist die Amplitude des Schrittmacherspikes bei unipolarer Stimulation aufgrund des größeren elektromagnetischen Feldes (großer Abstand zwischen Anode und Kathode) im Oberflächen-EKG gut erkennbar, während diese Spikes bei bipolarer Stimulation kaum oder gar nicht im EKG sichtbar sind.

Eine mögliche Reversibilität der schrittmacherinduzierten kardialen Veränderungen wurde vielfach diskutiert. Spinale und Mitarbeiter konnten beim Schwein eine partielle Verbesserung der Ventrikelfunktion nach einer vierwöchigen Erholungsperiode ohne Schrittmacherstimulation verzeichnen. Wesentliche strukturelle und funktionelle Parameter kehrten jedoch nicht zum Ausgangswert zurück. Echokardiographisch gewonnene Daten zeigten bleibende, signifikant veränderte Werte für enddiastolische Ventrikeldurchmesser, Wanddicken und fraktionale Verkürzung. Indices für die diastolische linksventrikuläre Funktion blieben verändert. Pulmonalkapillärer Verschlussdruck und linksventrikulärer enddiastolischer Druck waren auch vier Wochen nach Abschalten des Herzschrittmachers signifikant erhöht [23, 151]. Abweichend davon fand Armstrong im Hundemodell physiologische Hämodynamikwerte bereits 48 Stunden nach Abschalten des Schrittmachers [153].

In der vorliegenden Arbeit wurde die Mikroaxialpumpe erst nach einwöchiger Erholungsphase implantiert. So sollte die Möglichkeit ausgeschlossen werden, dass eventuell beobachtete funktionelle oder strukturelle Normalisierungen nach mechanischer Herzunterstützung als Produkt spontaner Reversibilität unabhängig vom LVAD-Einsatz eintraten.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden tierexperimentellen Studie wurden die Auswirkungen einer mehrwöchigen hochfrequenten Schrittmacherstimulation auf die Herz- und Kardiomyozytenmorphologie sowie auf die Hämodynamik untersucht. Weiterhin wurde der Einfluss auf das Zytoskelett und die extrazelluläre Matrix untersucht.

5.2.1 Klinische Symptome

Verschiedene Arbeitsgruppen konnten am Tier zeigen, dass eine induzierte chronische Tachykardie innerhalb von drei Wochen eine schwerwiegende, progressive ventrikuläre Dysfunktion mit Dilatation des linken Ventrikels und Aktivierung des neurohumoralen Systems verursacht. Die Veränderungen korrelieren mit klinischen Anzeichen einer kongestiven Herzinsuffizienz (Ascites, Tachypnoe, Schleimhautzyanose, Tachykardie bei abgeschaltetem Schrittmacher) [143, 145-147]. In der hier vorgestellten Arbeit präsentierte sich ein vergleichbares klinisches Bild. In beiden Schrittmachergruppen wurde Inappetenz und fehlende Gewichtszunahme der Tiere beobachtet, außerdem klinische Zeichen der Organmangelperfusion und Tachypnoe. Die Symptome verstärkten sich mit fortschreitender Schrittmacherstimulation und resultierten in einem stark herabgesetzten Allgemeinbefinden. Dyspnoe, Tachykardie, Zyanose, Ascites und ein teilweise kachektisches Erscheinungsbild auch eine Woche nach Abschalten des Herzschrittmachers belegen die manifeste Herzinsuffizienz. Die hochfrequente Schrittmacherstimulation des rechten Ventrikels führt zu dauerhaften kardialen Veränderungen, die den gesamten Organismus einbeziehen und innerhalb einer Woche nicht reversibel sind.

5.2.2 Herz- und Zellmorphologie

Die sonographische Untersuchung des Herzens zeigte eine Dilatation des linken Ventrikels und ein insgesamt vergrößertes Herz nach hochfrequenter Stimulation. Gruppe B („2-Sonden-Modell“) wies eine signifikant stärkere Ventrikeldilatation auf als Gruppe A. Diese Beobachtungen wurden durch die postmortale makroskopische Untersuchung bestätigt, die absoluten Wanddicken der dilatierten Herzen zeigten jedoch keinen Unterschied zu Kontrollherzen. Gleiche Ergebnisse wurden von

Armstrong und Mitarbeitern nach dreiwöchigem endokardialen Rapid Pacing berichtet [142]. Auch Chow et al. beobachteten im Tachykardiomodell eine Ventrikeldilatation in Verbindung mit unveränderten Wanddicken [141]. Diese Befunde können durch die gleichzeitige Entwicklung einer myokardialen Hypertrophie und Dilatation erklärt werden. Nach Beendigung des Pacing-Protokolls wurde von uns eine signifikante Zunahme des Herzgewichts verzeichnet. Ventrikeldilatation wird mit einer Wandverdünnung assoziiert, während Zellhypertrophie und Zunahme der extrazellulären Matrix zur Wandverdickung führt. Das parallele Auftreten beider Phänomene kann in einer unveränderten Wanddicke resultieren.

Die Ergebnisse von Chow und Mitarbeitern stützen diese Hypothese. Sie fanden ein um 28% erhöhtes relatives Herzgewicht nach einwöchiger Schrittmacherstimulation von Schweinen, was auf kardiale Umbauprozesse im Sinne von Zellhypertrophie oder Vermehrung der extrazellulären Matrix hinweist [141]. Auch andere Arbeitsgruppen beobachteten ein signifikant erhöhtes Herzgewicht nach hochfrequenter Stimulation beim Schwein [145, 164, 165].

In der vorliegenden Arbeit wurde eine ausgeprägte myozytäre Hypertrophie nach Schrittmacherstimulation detektiert. Das Wachstum der Herzmuskelzellen gilt als entscheidender Marker für veränderte mechanische Belastungen im Herzen und spielt in der Pathogenese der Herzinsuffizienz eine wichtige Rolle [27]. Die Erhöhung des enddiastolischen Ventrikelvolumens bei gleichbleibendem arteriellen Druck hat eine Erhöhung der Wandspannung und Dehnung der myokardialen Fibrillen zur Folge. Durch die Reexpression fetaler Gene kommt es zur Hypertrophie der Kardiomyozyten, was eine Anpassung an die neuen mechanischen Gegebenheiten darstellt [166].

Unsere Ergebnisse unterscheiden sich von den Beobachtungen anderer Forschungsgruppen. So verzeichneten Wilson et al. nach dreiwöchiger ventrikulärer Stimulation bei Hunden zwar eine veränderte Geometrie und Funktion des linken Ventrikels, aber kein erhöhtes Herzgewicht. Sie begründeten dies mit einer möglicherweise unveränderten Wandspannung des linken Ventrikels während des Pacings, hervorgerufen durch einen reduzierten arteriellen Druck. Dies würde einen fehlenden mechanischen Stimulus für das Zellwachstum bedeuten [131].

Calderone [132] und Hendrick [137] fanden in ihren Arbeiten zur schrittmacherinduzierten Herzinsuffizienz gleichermaßen eine Ventrikeldilatation

ohne Erhöhung des relativen Herzgewichts. Ergänzend zu diesen Befunden konnten Moe et al. nach ventrikulärer Herzschrittmacher-Stimulation im Hundemodell jedoch eine Gewichtszunahme beider Vorhöfe ohne Gewichtszunahme der Ventrikel verzeichnen [167]. Die fehlende Hypertrophie im Tachykardiemodell am Hund weist auf mögliche Speziesunterschiede hin. Die kardialen Verhältnisse beim Schwein lassen sich eher mit dem Menschen vergleichen als die des Hundes [157].

Spinale und Mitarbeiter detektierten nach dreiwöchigem Pacing von Schweinen eine signifikant erhöhte Länge, Breite und Querschnittsfläche von linksventrikulären Myozyten [136]. In vorangegangenen Untersuchungen kam die gleiche Arbeitsgruppe zu abweichenden Ergebnissen. Eine signifikante zelluläre Hypertrophie wurde hier erst nach vierwöchiger Erholungsphase mit abgeschaltetem Schrittmacher beobachtet [151].

In unseren Untersuchungen wurde ein gleichzeitiges Auftreten von unveränderten und hypertrophen Regionen im Myokard dokumentiert. Offensichtlich sind während der Entwicklung und Progression der Insuffizienz nicht alle Myozyten in gleichem Maße vom Remodeling betroffen. Eine mögliche Ursache hierfür ist im histologischen Aufbau des Herzens zu sehen: das Myokard ist nicht streng in eine Richtung ausgerichtet, sondern scherengitterartig angeordnet, so dass eine Schichtung der myokardialen Fibrillen entsteht. Asynchrone Kontraktionsabläufe, die durch die hochfrequente Schrittmacherstimulation induziert werden, führen zu ungleichmäßiger, verstärkter Belastung einzelner Myokardregionen. Auch andere Arbeitsgruppen beobachteten das gleichzeitige Vorliegen von morphologisch veränderten und unveränderten Myozyten in insuffizientem Myokard [30, 143]. Die zuverlässige Detektion von myokardialen Alterationen macht den Vorteil großer Probenmengen, deren Gewinnung im Tierversuch möglich ist, deutlich.

5.2.3 Kreislaufparameter

Zahlreiche hämodynamische Veränderungen sind für das Rapid Pacing-Tiermodell in der Literatur beschrieben. Diese Veränderungen sind Ausdruck der kardialen Insuffizienz und korrelieren mit Daten aus der Humanmedizin. Um unterschiedliche Tiergewichte zu berücksichtigen und die Übertragbarkeit auf menschliche Verhältnisse zu gewährleisten, wurden in der vorliegenden Untersuchung Herzzeitvolumen, Schlagvolumen, systemischer Gefäßwiderstand und pulmonaler Gefäßwiderstand auf die Körperoberfläche bezogen und als Indices wiedergegeben.

Es wurde ein signifikant verringertes Herzzeitvolumen, ausgedrückt als Cardiac Index, nach Beendigung des Pacing-Protokolls verzeichnet. Der systemische vaskuläre Widerstand stieg in beiden Gruppen an, ein Signifikanzniveau wurde jedoch nur in der Versuchsgruppe verzeichnet, die asynchron mit zwei Schrittmacherelektroden stimuliert worden war (Gruppe B). Ein Erklärungsansatz hierfür ist, dass das neu etablierte „2-Sonden-Modell“ die effizientere Stimulationsmethode darstellt und innerhalb von drei Wochen zu einer stärkeren Herzinsuffizienz führt als die Anwendung eines Einkammeraggregates. Die Ventrikeldilatation korreliert mit einer signifikant erniedrigten Ejektionsfraktion und diastolischen Dysfunktion, in deren Folge das Herzzeitvolumen (das als Maß für die kardiale Pumpfunktion gilt) abnimmt und der systemische vaskuläre Widerstand ansteigt [142, 165]. Wilson und Mitarbeiter konnten nach dreiwöchiger ventrikulärer Stimulation von Hunden zwar ein stark verringertes Herzzeitvolumen nachweisen, fanden jedoch keine Veränderung des systemischen vaskulären Widerstands [131]. Die Arbeitsgruppe um Kiuchi bestätigte die Ergebnisse von Wilson und postulierte, dass die Erhöhung des systemvaskulären Widerstands ein Phänomen darstellt, das erst im fortgeschrittenen Stadium der Herzinsuffizienz auftritt [168].

Beim Menschen werden im allgemeinen stärker erhöhte vaskuläre Widerstände vorgefunden als im Schweinemodell. Dies kann mit der abweichenden Anatomie des Schweins zusammenhängen: Schweine verfügen an den Extremitäten über weniger Muskelmasse als der Mensch und dementsprechend auch über weniger Widerstandsgefäße, so dass die Regulation des peripheren Widerstands eine geringere Rolle spielt.

Bisherige porcine Rapid Pacing-Modelle brachten inkonsistente Ergebnisse für das Herzzeitvolumen. Verschiedene Arbeitsgruppen beschrieben signifikante Verringerungen des Herzzeitvolumens nach tachykarder Stimulation [146, 164, 169]. Demgegenüber fanden Qi et al. keine veränderten Werte nach dreiwöchigem Rapid Pacing [138].

Die rechtsventrikuläre Stimulation in Phase 1 unserer Studie führte in beiden Gruppen zu signifikant erhöhten Drücken im Lungenkreislauf (pulmonalarterieller Druck, pulmonalkapillärer Verschlussdruck). Der pulmonalvaskuläre Widerstandsindex erreichte nur in Gruppe B Signifikanzniveau. Zu diesem Ergebnis kann der große Standardfehler in Gruppe A beigetragen haben. Bei der Messung des pulmonalkapillären Verschlussdrucks (PCWP) wird die betreffende

Pulmonalkapillare gegen den antegraden Blutstrom abgedichtet und somit indirekt der Druck in den Pulmonalvenen ermittelt. Der PCWP entspricht dem Druck im linken Atrium und spiegelt bei intakter Mitralklappe die enddiastolischen Füllungsdrücke des linken Ventrikels wider. Verschiedene Alterationen, die bei der dilatativen Kardiomyopathie beobachtet werden, beeinflussen die Druckverhältnisse im Lungenkreislauf.

Durch die Ventrikeldilatation erfolgt nur ein unvollständiger Auswurf von Blut in die Aorta, so dass die Füllungsdrücke im linken Ventrikel ansteigen, welches am steigenden pulmonalkapillären Verschlussdruck sichtbar ist. Der Blutrückstau im kleinen Kreislauf äußert sich zudem im steigenden pulmonalarteriellen Druck.

Sabbah und Mitarbeiter untersuchten in diversen Studien die Mitralklappenfunktion. Sie führten die Transformation der linken Herzkammer von der elliptoiden zu einer eher kugeligen Gestalt als entscheidende Determinante für die Entstehung der Mitralklappeninsuffizienz an [170]. Die Mitralklappeninsuffizienz wird durch die zunehmende Ventrikeldilatation zusätzlich begünstigt, führt zu erhöhter Volumenbelastung im linken Vorhof und resultiert in pathologischen Druckerhöhungen im kleinen Kreislauf. Die fortschreitende Hypertrophie und verminderte Compliance behindern die diastolische Ventrikelfüllung und tragen ebenfalls zur Druckerhöhung im kleinen Kreislauf bei. Diese Druckänderungen werden beim Schwein sowohl nach atrialer als auch nach ventrikulärer hochfrequenter Stimulation beobachtet [164, 165, 169].

Der Zentrale Venendruck war in beiden Schrittmachergruppen nach Rapid Pacing erhöht. Demgegenüber zeigte sich der arterielle Mitteldruck unverändert. Stauungserscheinungen im großen Kreislauf äußern sich im Anstieg des Venendrucks und verursachen häufig Ascites. Der arterielle Blutdruck ist ein wichtiges Kriterium zur Beurteilung der Organperfusion.

Der Anstieg des Zentralen Venendrucks ist Ausdruck der bestehenden Herzinsuffizienz. Die verzögerte Erregungsausbreitung in beiden Ventrikeln führt zur Globalinsuffizienz mit rechts- und linksventrikulären Druckerhöhungen. Ein gleichbleibender arterieller Druck wird partiell durch die Vasokonstriktion von Widerstandsgefäßen (terminale Arterien und Arteriolen) erreicht. Im Versuch war dies klinisch an der Schleimhautzyanose und Mangelperfusion peripherer Körperteile (Ohren, Schwanz) erkennbar. Beim Menschen wird im fortgeschrittenen Insuffizienzstadium häufig ein verringerter arterieller Blutdruck vorgefunden. Diese

Diskrepanz kann mit der Anatomie des Schweins zusammenhängen. Da es über wenig Extremitätenmasse und vergleichsweise viel Rumpf verfügt, führt die Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstands zu einer effektiveren zentralen Blutdruckerhöhung als dies beim Mensch der Fall ist.

Bestätigung finden die Ergebnisse in diversen Untersuchungen, die am Schwein durchgeführt wurden und einen erhöhten Zentralen Venendruck aufzeigten, jedoch keine Veränderungen des arteriellen Blutdrucks [138, 145, 164, 165, 169].

In unserer Untersuchung wiesen die herzinsuffizienten Schweine nach Sedierung und in der anschließenden Narkose eine Bradykardie auf. Ein Erklärungsansatz hierfür ist der bei Herzinsuffizienz bestehende Katecholaminüberschuss. Der katecholaminerge Stimulus fällt durch die Narkose weg und kann zu der deutlichen Senkung der Herzfrequenz beitragen.

5.2.4 Extrazelluläre Matrix

In der vorliegenden Arbeit waren die morphometrisch ermittelten Kollagengehalte nach hochfrequenter Schrittmacherstimulation signifikant erhöht. Weiterhin zeigte sich, dass das „2-Sonden-Modell“ in signifikant höheren Gehalten von Kollagen III und VI resultierte als die Stimulation mit nur einer Schrittmacherelektrode.

Veränderungen kardialer Myozyten sowie des kontraktilen Apparates werden als relevante Faktoren im kardialen Remodeling-Prozess angesehen. Jedoch stellen Veränderungen der Extrazellulären Matrix (EZM) ebenfalls einen wichtigen Faktor bei der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz dar. Im Rahmen verschiedener Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Umbauprozesse der EZM und damit verbundene Strukturveränderungen zu einer veränderten Herzgeometrie mit konsekutiver Störung der Myokardfunktion führen [171]. Kollagene, insbesondere Kollagen I und III, stellen die Hauptkomponenten der EZM dar und sind verantwortlich für die strukturelle und funktionelle Integrität des Herzens. Das fibrilläre Kollagennetzwerk formt eine dreidimensionale Struktur um die Myozyten. Es dient als Gerüst für die regelmäßige Anordnung der Herzmuskelzellen und gewährleistet die Kraftübertragung von den Einzelzellen auf die gesamte Herzkammer [172].

Die dilatative Kardiomyopathie wird mit einem erhöhten Kollagengehalt und veränderter Kollagenstruktur und –zusammensetzung assoziiert [28, 134, 169, 173]. Die Gewebeelastizität und die Flexibilität der Kardiomyozyten sind durch

unphysiologische Umbauprozesse der extrazellulären Matrix und diffuse Kollagenakkumulationen herabgesetzt. Dies begünstigt eine primär diastolische Herzinsuffizienz; im weiteren Verlauf rückt durch die Veränderung des Zellverbundes die systolische Herzinsuffizienz in den Vordergrund. Durch die Kollagenvermehrung kommt es zur Auseinanderdrängung des Zellverbundes und zur Verbreiterung des Interstitiums. Die Verlängerung der Signalwege und die damit einhergehende gestörte Kraftübertragung während der Kontraktion spiegelt sich in der systolischen Dysfunktion wider. Kitamura et al. beobachteten, dass bei der interstitiellen Fibrose die Kollagen III- und VI-Akkumulation signifikant mit einer diastolischen und systolischen kardialen Dysfunktion korreliert [174].

Eine proarrhythmogene Wirkung der Myokardfibrose wurde nachgewiesen [175]. Die Isolierung von Myofibrillen erschwert beziehungsweise verhindert die Seit-zu-Seit-Interaktionen der Myozyten, wodurch die laterale Fortleitung elektrischer Impulse unterbunden wird [175].

Spinale et al. detektierten nach supraventrikulärem pacing im Schwein eine Reduktion des Gesamtkollagengehalts mit schmalen Kollagenfibrillen, deren Struktur pathologisch verändert erschien. Diese Befunde waren innerhalb von 4 Wochen reversibel und es bildete sich eine interstitielle Fibrose aus [173]. In einer anderen Untersuchung fand die Arbeitsgruppe eine subendokardiale Fibrose bereits direkt nach Abschalten des Herzschrittmachers [134]. Auch Ahmed et al. beobachteten keine Zunahme der morphometrisch ermittelten Kollagenfläche nach Rapid Pacing, jedoch eine signifikante Erhöhung der Prokollagen-Genexpression [164].

Gunja-Smith et al. fanden in Herzen von Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie einen verdoppelten Kollagengehalt und fehlende Quervernetzung der Kollagenfasern. Sie postulierten, dass die veränderte Kollagenstruktur zur Schwächung und Dilatation der Ventrikelwand beiträgt [28]. Auch Schaper et al. detektierten erhöhte Gehalte von Kollagen I, III und VI [176].

5.2.5 Das Zytoskelett

Die Proteine des Zytoskeletts besitzen diverse molekulare Strukturen und erfüllen vielfältige Funktionen in der Herzmuskelzelle. Sie tragen zur morphologischen Integrität und zur Aufrechterhaltung der Zellform bei, spielen eine entscheidende Rolle bei der Kraftübertragung und sind an der Signaltransduktion zu anderen Zellen

beteiligt [36]. Die schrittmacherinduzierte chronische Tachykardie führt beim Schwein zu einer reduzierten kontraktilen Funktion der Myozyten und zu Veränderungen der Zytoarchitektur [136, 151]. Im hier vorgestellten Tiermodell am Schwein wurden lediglich bei α -Actinin Veränderungen detektiert, jedoch gibt es eine weitere sehr große Anzahl zytoskelettärer Bestandteile, die im Zusammenhang mit der Herzinsuffizienz untersucht werden können. Für die pacing-induzierte Herzinsuffizienz beim Schwein wurde von Eble et al. ein verändertes Verteilungsmuster der Proteine α -Actin, α -Tubulin und α -Actinin beschrieben [143]. Aquila und Mitarbeiter untersuchten Zytoskelettbestandteile in verschiedenen Stadien der Herzinsuffizienz. Die Ergebnisse geben einen Hinweis darauf, dass Veränderungen von Strukturproteinen im Hinblick auf das Insuffizienzstadium unterschiedlich ausgeprägt sein können [39]. In Ischämieversuchen an humanem insuffizientem Myokard detektierte Hein [177] beginnende Strukturveränderungen von Vinculin und bereits voll ausgebildete Veränderungen der Tubulin-, Desmin- und Myomesinstruktur bereits nach 60-minütiger Ischämie. In der vorliegenden Arbeit wurden Gewebeprobe von Schweinen 7 Tage nach Beendigung der hochfrequenten Schrittmacherstimulation untersucht. Möglicherweise lagen zum Zeitpunkt der Schrittmacher-Abschaltung Abweichungen im Proteingehalt und im Verteilungsmuster vor, die eine Woche später durch bereits eingesetzte Reparaturprozesse nicht mehr beobachtet werden konnten. Ziel der Untersuchung war jedoch, herauszufinden, ob ausgewählte Zytoskelettbestandteile dauerhaft verändert sind, so dass ein Vergleich vor und nach mechanischer Herzunterstützung sinnvoll ist und eine Aussage über den direkten Einfluss der mechanischen Herzunterstützung auf das Zytoskelett getroffen werden kann.

5.2.6 Vinculin

Vinculin gehört zu den membranassoziierten Proteinen und findet sich intrazellulär am lateralen Sarkolemm. Es bildet zusammen mit dem Protein Talin den Hauptbestandteil der integrinbasierten fokalen Zellkontakte und stellt ein wichtiges Bindeglied zwischen extrazellulären Matrix und intrazellulären Strukturproteinen dar. Durch die Interaktion mit dem aktinassoziierten Protein α -Actinin wird eine feste mechanische Verbindung zu den Aktinfilamenten hergestellt. In den Glanzstreifen ist Vinculin in der Fascia adhaerens lokalisiert, wodurch eine longitudinale Anordnung

der kontraktile Filamente erreicht wird [30]. Vinculin ist an der Kraftübertragung zwischen benachbarten Myozyten beteiligt.

In der vorliegenden Untersuchung ergab die immunhistochemische Anfärbung keinen Hinweis auf eine gestörte Vinculinverteilung in insuffizientem Schweinemyokard. Auch ein verändertes Vinculinvorkommen in Glanzstreifen oder Sarkolemm konnte ausgeschlossen werden. In humanem hypertrophen Myokard ergab die Proteinquantifizierung bei Aquila et al. eine Vinculinerhöhung, die jedoch keine Signifikanz erreichte. Das Verteilungsmuster dieses Strukturproteins war jedoch verändert: die Glanzstreifen waren in Herzen mit kompensierter Hypertrophie schwächer gefärbt, und bei terminaler Herzinsuffizienz konnten keine Glanzstreifen mehr detektiert werden [39]. Der Vinculinverlust am Glanzstreifen könnte zur elektrischen Entkopplung und damit zum Verlust der koordinierten kardialen Pumpfunktion führen.

Abweichend davon fanden Schaper et al. in Myokardproben von Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie eine verstärkte Vinculinmarkierung in den Glanzstreifen und im Sarkolemm. Weiterhin traten breite, unregelmäßige Linien oder Punkte in den Zellen auf [30]. Die erhöhte Vinculinexpression konnte in einer weiteren Untersuchung auch mittels Western Blot-Analyse nachgewiesen werden [41]. Dieser Unterschied zur vorliegenden Studie könnte durch Speziesunterschiede erklärt werden. Weiterhin wurden die Untersuchungen von Schaper et al. an chronisch insuffizientem Myokard vorgenommen, so dass eine Veränderung des Vinculingehalts als späte Reaktion gewertet werden kann.

5.2.7 Dystrophin

Der kontraktile Apparat der Herzmuskelzellen ist über verschiedene Proteine mit dem Sarkolemm und darüber hinaus mit der extrazellulären Matrix verbunden. Hierbei nimmt Dystrophin eine wichtige Funktion ein. Dystrophin, ein membranassoziertes Protein, bindet als Brückenprotein intrazellulär an filamentöses Aktin und ist zudem an einen Glykoproteinkomplex in der Zellmembran gekoppelt. So entsteht ein membrannahes zytoskelettäres Gerüst, das zur mechanischen Stabilität der Muskelzellmembran beiträgt. Der Glykoproteinkomplex bindet zudem an Proteine der extrazellulären Matrix. Er wird durch Dystrophin stabilisiert [178].

Die Folgen eines Dystrophinmangels sind in vielen Arbeiten untersucht worden. Bei Patienten, die an der Mutationskrankheit Duchenne-Muskeldystrophie leiden, führt

der Proteinmangel zu lokalen Nekrosen und letztendlich zum schleichenden Untergang des Muskelgewebes, da aufgrund der fehlenden zytoskelettären Stützfunktion die Zellmembran durch wiederholte Muskelkontraktionen geschädigt wird [179].

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Antikörper verwendet, der gegen die langgestreckte Mittelkette von Dystrophin gerichtet ist, und ein gegen das amino-terminale Ende gerichteter Antikörper. Im insuffizienten Myokard ließen sich keine Unterschiede im Vergleich zu Kontrollgewebe erkennen. Daten von Vatta und Mitarbeitern konnten zeigen, dass bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie das amino-terminale Ende des Dystrophinmoleküls geschädigt ist, was sich in einer reduzierten Dystrophinmarkierung äußert. Selektive immunhistologische Anfärbungen der Mittelkette und des Carboxyterminals ergaben hingegen keine Veränderungen im Vergleich zu gesundem Myokard [40].

Kostin et al. kamen zu konträren Ergebnissen in degenerierten Myozyten bei dilatativer Kardiomyopathie. Die membranassoziierten Proteine Talin, Vinculin und Dystrophin zeigten intensive Immunfluoreszenz. Die Arbeitsgruppe wertete dieses erhöhte Proteinvorkommen als einen Mechanismus zur Erhaltung der Zellstabilität [180]. Da beide Arbeitsgruppen Proben von terminal insuffizienten Patienten untersuchten, können ihre Ergebnisse Ausdruck einer sehr späten Reaktion des Dystrophins sein. Möglicherweise finden sich auch beim Schwein Dystrophinaberrationen erst im finalen Stadium der Herzinsuffizienz.

5.2.8 α -Actinin

α -Actinin ist als Dimer zweier identischer Polypeptide in den Z-Scheiben der Sarkomere lokalisiert und verbindet gegenüberliegende Aktinfilamente durch Quervernetzung [181]. Hierdurch werden die Mikrofilamente parallel zueinander angeordnet und können während der Muskelkontraktion an den Myosinfilamenten vorbeigleiten. Weiterhin ist α -Actinin an der Sarkomerogenese beteiligt, und es erhöht die Stabilität des gesamten Sarkomers. Unter Beteiligung membranassoziiierter Proteine verankert α -Actinin die Aktinfilamente in der Zellmembran, so dass eine Verbindung von intrazellulärem Milieu und extrazellulärer Matrix hergestellt wird.

In der vorliegenden Untersuchung wurde eine verringerte und teilweise gänzlich fehlende α -Actinin-Markierung nach hochfrequenter Schrittmacherstimulation

detektiert. Daneben fanden sich in der gleichen Zelle auch intakte Regionen mit unveränderter Querstreifung. Alterationen von sarkomerassozierten Zytoskelettbestandteilen können zu einer verminderten Zellstabilität führen. Diese stellt jedoch einen entscheidenden Faktor für den Kontraktionsablauf dar. Durch den Verlust von α -Actinin wird die streng parallele Anordnung der Myofilamente gestört, die fehlende Quervernetzung der Aktinfilamente führt zur Beeinträchtigung der Zellkontraktion. In Kombination mit dem Verlust kontraktiven Materials kann die Integrität und die kontraktile Funktion der Kardiomyozyten nicht mehr aufrechterhalten werden.

Bestätigung finden diese Ergebnisse in Arbeiten von Schaper und Kostin, die an Proben von Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie durchgeführt wurden [30, 180]. Schaper et al. detektierten elektronenmikroskopisch einen Verlust von Myofilamenten im Myokard [30]. Kostin et al. machten nach immunhistologischer Anfärbung gleiche Beobachtungen. In vielen Zellen waren nur noch Reste der ehemals hochorganisierten Sarkomerstrukturen vorhanden. Diese befanden sich überwiegend in der Nähe des Sarkolemms, während im Zentrum der betroffenen Myozyten nur noch punktförmige Strukturen erkennbar waren. Auch Titin, das die parallele Anordnung der kontraktiven Filamente gewährleistet, lag in niedrigeren Konzentrationen vor als im gesunden Myokard [180].

5.2.9 Connexin 43

Herzmuskelzellen sind endständig durch Glanzstreifen mechanisch und elektrophysiologisch miteinander verbunden. Die Glanzstreifen sind spezialisierte Interzellularkontakte mit einem stufenförmigen Erscheinungsbild: in den transversalen Abschnitten ist die Fascia adhaerens lokalisiert. Hier strahlen die terminalen Aktinfilamente ein und werden durch die membranständigen Proteine α -Actinin und Vinculin über Cadherinkomplexe in der Plasmamembran verankert.

In den longitudinalen Abschnitten finden sich zahlreiche Nexus (gap junctions). Sie ermöglichen die elektrische Kopplung benachbarter Herzmuskelzellen und somit die schnelle Erregungsausbreitung im Myokard. Weiterhin ermöglichen sie die Passage von Ionen und Molekülen bis 1 kD und verbinden so die Myozyten metabolisch miteinander. Gap junctions sind Interzellularkontakte mit einer mittleren Spaltbreite von nur 2-5 nm, die durch zahlreiche transzelluläre Proteinkanäle unterbrochen sind.

Jeder Kanal besteht aus 12 zirkulär angeordneten Connexin 43-Proteinen, die gewebespezifisch exprimiert werden [182].

In unserer Untersuchung wurden keine Veränderungen des Connexin 43-Verteilungsmusters nach Induktion einer Herzinsuffizienz beim Schwein beobachtet.

Connexin 43 ist direkt an der Weiterleitung der Kontraktionskraft beteiligt. Eine veränderte Anordnung oder Dezimierung des Proteins stört die Kraftweiterleitung und führt zur funktionellen Einschränkung des Myokards. Studien am Tiermodell zeigten einen direkten Zusammenhang von Connexin 43-Vorkommen und dem Auftreten ventrikulärer Arrhythmien [183].

Kostin et al. beobachteten eine signifikante Reduktion von Connexin 43 in terminal insuffizientem Myokard von Patienten mit ischämischer und dilatativer Kardiomyopathie [184]. Möglicherweise ist die Connexin 43-Expression erst im Endstadium der Herzinsuffizienz herabgesetzt, so dass zu früheren Zeitpunkten keine Abnormalitäten detektiert werden können.

In der hier vorgestellten Arbeit wurden zwei unterschiedliche Stimulationsprotokolle zur Induktion der Herzinsuffizienz beim Schwein angewendet. Vergleicht man bei der Betrachtung des Tiermodells die Stimulation mit einer respektive zwei Elektroden miteinander, so fallen signifikante Unterschiede in der Hämodynamik auf. Noch deutlicher werden die unterschiedlichen Ergebnisse auf morphologischer Ebene. Die Befunde der immunhistochemischen und histomorphometrischen Analysen unterstreichen die Überlegenheit des neu etablierten Tiermodells mit zwei Schrittmacherelektroden.

5.2.10 Ergebnisse nach der Langzeitanästhesie

Das Tachykardiemodell wurde verwendet, um strukturelle Veränderungen des Herzens auf zellulärer und subzellulärer Ebene nach Implantation eines mechanischen Herzunterstützungssystems zu untersuchen. Weiterhin wurden hämatologische Parameter vor Pumpenimplantation und nach mehrtägiger Herzunterstützung erhoben. 3 Tiere wurden von der Auswertung ausgeschlossen und ersetzt, da es bereits nach wenigen Stunden zu plötzlichem starken arteriellen Druckabfall und in dessen Folge zum Ansaugen der Pumpe an die Ventrikelwand kam. Kurz darauf trat in allen Fällen der Tod durch Herzversagen ein. Eine

Erklärungsmöglichkeit für dieses Phänomen ist ein Rechtsherzversagen. Diese These wird durch Publikationen gestützt, in denen das Rechtsherzversagen nach der Implantation eines LVADs beobachtet werden konnte [185]. Chow und Mitarbeiter beobachteten bei gesunden Schweinen mit linksventrikulärer mechanischer Herzunterstützung eine unveränderte rechtsventrikuläre Funktion. Im Gegensatz hierzu wiesen sie bei herzinsuffizienten Schweinen mit LVAD-Unterstützung eine funktionelle Beeinträchtigung des rechten Ventrikels nach [186].

Für beide Herzunterstützungssysteme wurden keine Veränderungen des erniedrigten Cardiac Index und des erhöhten Zentralen Venendrucks nach 52-stündiger Unterstützung detektiert. Der zu Operationsbeginn physiologische arterielle Mitteldruck änderte sich im Verlauf der Langzeitanästhesie ebenfalls nicht signifikant. Im Lungenkreislauf kam es hingegen unter dem Einfluss der Mikroaxialpumpe zu signifikanten Erhöhungen des Pulmonalarteriendrucks und des pulmonalkapillären Verschlussdrucks. Auch der pulmonalvaskuläre Widerstandsindex stieg an. Möglicherweise verursacht die miniaturisierte Pumpe durch ihre Lage eine Aortenklappeninsuffizienz, was bei Vorliegen einer Mitralisinsuffizienz zu Stauungserscheinungen im kleinen Kreislauf führen kann.

Die zugrunde liegenden Pathomechanismen bei der offensichtlichen kardialen Erholung nach langfristiger (Wochen bis Monate) mechanischer Herzunterstützung sind bisher nur teilweise verstanden. Neben funktionellen Aspekten wird eine Normalisierung des Verteilungsmusters verschiedener Zytoskelettanteile diskutiert. Einigkeit besteht bei verschiedenen Autoren darin, dass die aktive Entlastung des Herzens zu einer verbesserten hämodynamischen Situation führen kann. Diese Beobachtung konnte auch während des Einsatzes von nicht-pulsatilen Axialflusspumpen gemacht werden [187]. Für die Impella-Mikroaxialpumpe mit einem Blutfördervolumen von 5 l/min wurde nach durchschnittlich 61-stündiger Herzunterstützung eine Erhöhung des Herzzeitvolumens registriert [188]. Die Hämodynamik wurde in Verbindung mit Mikroaxialpumpen bisher nur unzureichend untersucht. Garatti et al. implantierten Impella-Pumpen bei fünf Patienten und stellten bereits einen Tag nach Supportbeginn eine deutliche Verbesserung der hämodynamischen Situation fest. Cardiac Index und pulmonalkapillärer Verschlussdruck erreichten bereits nach dieser kurzen Zeit Normwerte. Der Zentrale Venendruck fiel ebenfalls nach einem Tag signifikant ab und zeigte nach fünf Tagen den Normwert [189]. Diese Ergebnisse sind aufgrund des kleinen

Patientenkontingents jedoch vorsichtig zu bewerten. Bisher existieren keine kontrollierten Studien zum Einsatz von Mikroaxialpumpen bei chronischer Herzinsuffizienz. Um die hämodynamischen Auswirkungen dieser Pumpenart umfassender zu evaluieren, sind weitere Untersuchungen nötig.

In unseren Untersuchungen konnte kein Rückgang der zellulären Hypertrophie nach Anwendung eines Herzunterstützungssystems verzeichnet werden. Interessant ist jedoch die Beobachtung, dass sowohl der Kollagen III- als auch der Kollagen VI-Gehalt nach IABP-Unterstützung gesunken war. Offensichtlich setzen extrazelluläre Mechanismen zum „Reverse Remodeling“ zeitlich eher ein als der Stimulus zur Myozytenverkleinerung.

Thompson und Mitarbeiter wiesen bei herzinsuffizienten Patienten stark erhöhte Kollagengehalte mit interstitieller Fibrose nach. Nach mechanischer Herzunterstützung mit einer Axialflusspumpe verzeichneten sie eine relevante Verringerung der Fibrose, Normwerte wurden jedoch nicht erreicht. Unbekannt ist, über welchen Zeitraum die Pumpen in der Studie implantiert waren [187]. Küküker et al. fanden nach LVAD-Unterstützung sowohl im linken als auch im rechten Ventrikel von Patienten eine signifikante Reduktion der Fibrose. Die Kollagenreduktion war nach Herzunterstützung mit nicht-pulsatilen Pumpsystemen stärker ausgeprägt als nach Support mit pulsatilen Pumpen [190].

Zafeiridis et al. beobachteten nach mechanischer Herzunterstützung eine Verringerung des Myozytendurchmessers um 60% [107]. Andere Forschungsarbeiten stützen diese Befunde [108]. Obwohl in diversen Untersuchungen ein „Reverse Remodeling“ struktureller und funktioneller Parameter gezeigt wurde, kann eine dem gesunden Individuum entsprechende hämodynamische Stabilität durch linksventrikuläre Unterstützungssysteme häufig nicht erreicht werden.

In unseren Untersuchungen lag im insuffizienten Zustand kein verändertes morphologisches Bild der Proteine Vinculin, Dystrophin und Connexin 43 vor. Nach der Langzeitoperation wurden ebenfalls keine Alterationen beobachtet. Das veränderte Verteilungsmuster von α -Actinin, das bei den insuffizienten Tieren gefunden wurde, zeigte nach der Langzeitnarkose eine Normalisierung. Hieraus wird deutlich, dass die mechanische Herzunterstützung zumindest keinen destruktiven Effekt für die untersuchten Proteine hat. Durch die temporäre kardiale Entlastung

kann es auf subzellulärer Ebene zur Reorganisation von Zellstrukturen kommen, die für die myokardiale Kontraktion und damit für die kardiale Funktion mitverantwortlich sind.

Das Zytoskelett wurde im Zusammenhang mit mechanischer Herzunterstützung bislang nur marginal untersucht. In der Literatur sind positive Auswirkungen kardialer Assistensysteme auf den Gehalt und die Anordnung verschiedener zytoskelettärer Proteine beschrieben [39, 118, 119].

In verschiedenen Infarktmodellen konnte gezeigt werden, dass das linksventrikuläre Remodeling bereits in den ersten Stunden nach der Infarzierung einsetzt [191]. Hieraus ergibt sich im Umkehrschluss die Hypothese, dass strukturelle Veränderungen im Sinne eines „Reverse Remodeling“ ebenso rasch auftreten könnten und bereits nach kurzfristiger mechanischer Herzunterstützung nachweisbar sein sollten.

5.2.11 Anästhesie der Versuchstiere und Narkosesteuerung

Mögliche Einflüsse des Anästhesieverfahrens auf die kardiovaskuläre Regulation können nicht ausgeschlossen werden. Für die Narkose gesunder Tiere wurde Propofol verwendet, um ein schnelles, vollständiges Erwachen nach der Operation zu gewährleisten. In Vorversuchen wurden Messreihen an gesunden anästhesierten Schweinen durchgeführt. Der Vergleich der ermittelten hämodynamischen Parameter zeigte keinen Unterschied zwischen Propofol- und Ketamin-/Thiopental-Narkose.

Die Langzeitnarkose in der zweiten Versuchsphase wurde in Anlehnung an das Narkosemodell von Goldmann [192] durchgeführt. Mit diesem Modell kann eine Anästhesie im Toleranzstadium über einen Zeitraum von mehreren Tagen durchgeführt werden. Der Kreislauf wird hierbei erwiesenermaßen ohne unterstützende Medikation nur geringgradig beeinträchtigt.

Eine ununterbrochene Anästhesie war im vorliegenden Versuch zwingend notwendig, da schon geringste Körperbewegungen zu einer Positionsveränderung der Mikroaxialpumpe führen können. Eine inkorrekte Pumpenlage ist mit weitreichenden Komplikationen verbunden, die eine Beeinträchtigung des Versuchs darstellen würden. Die komplette Bewusstseinsausschaltung war weiterhin nötig, um die Tiere vor Stress zu schützen und Abwehrbewegungen zu vermeiden. Der Zwischenklauenreflex ist zur Bewertung der Narkosetiefe bei Schweinen dieser Gewichtsklasse ungeeignet, da dieser in den vorliegenden Untersuchungen

wiederholt negativ ausfiel, selbst wenn alle anderen Parameter deutliche Hinweise auf ein Erwachen aus der Narkose ergaben. Das Auslösen eines Schmerzreflexes durch Kneifen in die Nasenscheidewand lässt wesentlich genauere Aussagen über das Schmerzempfindungsvermögen und die Narkosetiefe zu und sollte dem Pedalreflex vorgezogen werden. Die Verabreichung eines Muskelrelaxans erfolgte lediglich während des operativen Eingriffs. Bei der anschließenden Langzeitnarkose ohne zusätzliche Relaxation bot die ausbleibende Spontanatmung ein weiteres Kriterium zur Beurteilung einer ausreichenden Hypnose.

Lungenveränderungen aufgrund alter ausgeheilter Infektionen sowie akute Respirationsleiden gelten als Beeinträchtigung für eine lange maschinelle Beatmung. Goldmann et al. führten eine maschinelle Beatmung gesunder Schweine über einen Zeitraum von 96 Stunden komplikationslos durch. Zum Ausschluss respiratorischer Erkrankungen diente die computertomographische Lungendiagnostik unmittelbar vor Versuchsbeginn.

In der vorliegenden Studie wurden Schweine mit herzinsuffizienzbedingtem Respirationsleiden eingesetzt. In allen Fällen war eine suffiziente Beatmung während der gesamten Narkosedauer möglich. Um die Vitalparameter in physiologischen Grenzen zu halten, waren lediglich geringgradige individuelle Anpassungen der Beatmungsparameter nötig; wichtig in diesem Zusammenhang ist jedoch das regelmäßige Absaugen von Bronchialsekret.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Herzinsuffizienz ist heute die führende Todesursache in den westlichen Industrienationen. Die steigende Zahl von Patienten mit Herzinsuffizienz und drohendem Herzversagen und der Rückgang der Spenderbereitschaft machen die Notwendigkeit alternativer Therapieoptionen deutlich. Neben der medikamentösen Therapie gewinnen mechanische Herzunterstützungssysteme an Bedeutung.

Den in der Herzinsuffizienzforschung bisher eingesetzten Großtiermodellen sind hohe periprozedurale Komplikationen und inhomogene Ergebnisse gemeinsam. Ziel dieser Arbeit war es deshalb, am Großtier ein reproduzierbares Herzinsuffizienzmodell zu entwickeln. Weiterhin sollte geklärt werden, welche Auswirkungen zwei funktionell unterschiedliche mechanische Herzunterstützungssysteme auf die Hämodynamik haben und ob durch diese morphologische Veränderungen im Sinne eines „Reverse Remodeling“ induziert werden können.

Das neue Herzinsuffizienzmodell beruht auf der aus der Humanmedizin bekannten Erkenntnis, dass eine Desynchronisation der ventrikulären Kontraktion mit einer Beeinträchtigung der Hämodynamik und mit strukturellen Veränderungen einhergeht. Es wurden deshalb minimalinvasiv 2 endokardiale Schrittmachersonden an unterschiedlichen Orten des rechten Ventrikels implantiert, die durch abwechselndes tachykardes Pacing (220 /min) zu einer asynchronen Ventrikelstimulation führten. Dieses neu entwickelte Modell wurde mit dem bekannten Tachykardiemodell hinsichtlich der Hämodynamik und morphologischer Veränderungen verglichen.

Die minimalinvasive Implantation der Schrittmacherelektroden war komplikationslos durchführbar. Das neu entwickelte Herzinsuffizienzmodell resultierte in einer chronischen Herzinsuffizienz mit signifikanter Beeinträchtigung hämodynamischer Parameter. Es zeigten sich morphologische Alterationen im Sinne von Fibrose, zellulärer Hypertrophie und Strukturverlust der Sarkomere. Die asynchrone Ventrikelstimulation mit 2 Sonden führte zu signifikant höheren Kollagengehalten und insgesamt stärkerer Beeinträchtigung der Hämodynamik im Vergleich zur Stimulation mit einer Sonde.

Die mechanische Herzunterstützung mit der intraaortalen Ballonpumpe und der Mikroaxialflusspumpe resultierte bereits während des Untersuchungszeitraums in einer Reduktion der Fibrose, Verringerung des Interstitiums und Normalisierung der α -Actininverteilung. Eine umfassende hämodynamische Verbesserung wurde mit

keinem der beiden Unterstützungssysteme erreicht. Die intraaortale Ballonpumpe führte jedoch zu einer signifikant größeren Abnahme des Kollagen III- und Kollagen VI-Gehalts und zu einer Abnahme des erhöhten pulmonalarteriellen Drucks im Vergleich zu sham-operierten Tieren.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die minimalinvasive Herzschrittmacherimplantation mit transvenöser Anlage der Elektrodenysteme beim Schwein eine sichere und effektive Methode zur Induktion einer Herzinsuffizienz ist und typische Komplikationen der herkömmlichen Großtiermodelle vermieden werden. Das neu etablierte Herzinsuffizienzmodell mit 2 Stimulationselektroden und asynchroner Stimulation des rechten Ventrikels war dem klassischen Modell mit nur einer Elektrode überlegen. Das Schwein ist unter Beachtung intensivmedizinischer Kriterien ein geeignetes Versuchstier zur Durchführung von Langzeitnarkosen und Implantation perkutaner Herzunterstützungssysteme. Beide Pumpensysteme zeigten positive Einflüsse im Sinne von morphologischem linksventrikulären „Reverse Remodeling“; bezüglich der Hämodynamik ergaben sich Vorteile für die intraaortale Ballonpumpe.

7. SUMMARY

Heart failure represents the leading cause of death in western industrial countries. The increasing rate of patients with severe heart failure in addition to the lack of donor hearts stresses the need for therapeutic alternatives. Besides medical treatment, mechanical assist devices are gaining importance.

Animal models in heart failure research combine a high procedural complication rate together with inhomogeneous results. Thus, the purpose of this study was to develop a reproducible pig model for heart failure. Additionally, the influence of two functionally different mechanical assist devices on hemodynamic parameters and morphological “reverse remodeling”-alterations should be evaluated.

The new heart failure model is based on the knowledge from human medicine that a desynchronisation of ventricular contraction is associated with hemodynamic impairment and structural alterations. Therefore, 2 endocardial pacing leads were minimal-invasively implanted in different regions of the right ventricle. Alternating rapid pacing of both leads (220 /min) resulted in an asynchronous ventricular stimulation. This newly invented model was compared to the traditional rapid pacing model in respect of hemodynamics and morphological changes.

The minimal invasive implantation of the pacing leads was feasible without complications. The new heart failure model resulted in severe chronic heart failure with significantly impaired hemodynamic parameters, an increase of fibrosis, cellular hypertrophy and structural loss of sarcomeres. The newly developed asynchronous ventricular stimulation model was more effective than the traditional rapid pacing model.

Mechanical support with either assist device (intraaortic balloon pump or microaxial flow pump) led to a reduction of fibrosis, diminishment of the extracellular space and normalization of the α -actinin distribution during the time of the survey. A global hemodynamic improvement could be achieved with none of the assist devices during the observed interval. However, mechanical support with the intraaortic balloon pump resulted in a more significant reduction of the collagen III and VI content and in a decrease of the elevated pulmonary artery pressure compared to sham-operated animals.

In summary, it could be demonstrated that the minimal invasive pacemaker implantation with a transvenous approach of the stimulation electrodes is a feasible

and effective method for induction of heart failure in pigs and excludes typical complications of conventional animal heart failure models. The newly established model with 2 pacing leads and asynchronous right ventricular stimulation was superior to the classic model of rapid pacing with only one pacing lead. Considering intensive medical care, the pig is a suitable research animal to perform long-term anesthesia and percutaneous implantation of heart assist devices. Both pumps showed positive effects in terms of morphological “reverse remodeling”. In respect to hemodynamic parameters, a benefit for the intraaortic balloon pump was evident.

8. VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

A.	Arteria
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
APdiast	diastolic artery pressure
APsyst	systolic artery pressure
BDM	Butanedione-Monoxime
BVAD	Biventricular Assist Device
CI	Cardiac Index
CRT	Kardiale Resynchronisationstherapie
DCM	Dilatative Cardiomyopathy
DDD	Herzschrittmacher-Typ mit folgenden Merkmalen: Stimulation: <u>d</u> ual (Atrium und Ventrikel), Wahrnehmung: <u>d</u> ual (Atrium und Ventrikel), Betriebsart: <u>d</u> ualer Modus; bei eigener Herzaktivität wird die Impulsabgabe entweder initiiert (getriggelter Modus) oder unterdrückt (inhibierender Modus)
D00-Modus	Stimulation über atriale Sonde und Ventrikelsonde, starrfrequent: Stimulation: <u>d</u> ual (atriale Sonde und Ventrikelsonde), Wahrnehmung: keine (<u>0</u>) Betriebsart: es wird kein Modus unterstützt (<u>0</u>)
EVCPP	Endoventricular Circular Patch Plasty
EZM	extrazelluläre Matrix
Hb	Hämoglobin
HE	Hämalaun-Eosin
HF	Herzfrequenz
Hkt	Hämatokrit
HME	heat and moisture exchanger
HSM	Herzschrittmacher
HZV	Herzzeitvolumen
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös

IABP	Intraaortale Ballonpumpe
ICD	implantable cardioverter/defibrillator
kD	Kilodalton
KG	Körpergewicht
KOF	Körperoberfläche
LVAD	Left Ventricular Assist Device
LVEDD	linksventrikulärer enddiastolischer Diameter
M.	musculus
MAP	mean arterial pressure
mPAP	mean pulmonary artery pressure
n.s.	nicht signifikant
NTA	Nitritriacetic-Säure
NYHA	New York Heart Association
PAP diast	diastolic pulmonary artery pressure
PAP syst	systolic pulmonary artery pressure
PBS	phosphat buffered saline
PCWP	pulmonary capillary wedge pressure
PEEP	positive end-expiratory pressure
PVRI	pulmonary vascular resistance index
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RVAD	Right Ventricular Assist Device
RVP	right ventricular pressure
SVI	Schlagvolumenindex
SVRI	systemic vascular resistance index
V.	Vena
VAD	Ventricular Assist Device

8. Verwendete Abkürzungen

VVI	Herzschrittmacher-Typ mit folgenden Merkmalen: Stimulation: <u>V</u> entrikel, Wahrnehmung: <u>V</u> entrikel, Betriebsart: <u>i</u> nhibierend; bei ausreichender Herzfrequenz erfolgt keine Abgabe eines Stimulationsimpulses vom Schrittmacher
ZVD	zentraler Venendruck
ZVK	Zentraler Venenkatheter

9. ABBILDUNGEN

Abb. Nr.	Titel	Seite
Abb. 1	Schematische Darstellung des Zytoskeletts in der Herzmuskelzelle	10
Abb. 2	Intraventrikuläre Asynchronie	16
Abb. 3	Funktionsweise der intraaortalen Ballonpumpe	19
Abb. 4	Position der Mikroaxialflusspumpe Impella LP 2.5 im linken Ventrikel	21
Abb. 5	Detail-Abbildung der Axialpumpe Impella LP 2.5: Pumpengehäuse mit Impeller	21
Abb. 6	Versuchsplan für Phase 1 (Herzinsuffizienzmodell)	29
Abb. 7	Versuchsplan für Phase 2 (Langzeitanästhesie mit Herzunterstützungssystem)	29
Abb. 8	Operationstechnik bei der Implantation des Herzschrittmachers	35
Abb. 9	Sondenpositionierung im rechten Ventrikel unter Röntgenkontrolle	37
Abb. 10	Prinzip der Immunhistochemie mit verschiedenen Antikörpern	45
Abb. 11	Echokardiographisch ermittelter enddiastolischer Durchmesser des linken Ventrikels	52
Abb. 12	Relatives Herzgewicht	53
Abb. 13	Mittlerer pulmonalarterieller Druck und pulmonalkapillärer Verschlussdruck	55
Abb. 14	Zentraler Venendruck und Cardiac Index	56
Abb. 15	Widerstandsindices	57
Abb. 16	HE-Färbung von Myokardproben des linken Ventrikels	58
Abb. 17	Zellmorphologie der Myozyten	59
Abb. 18	Vinculinfärbung (grün) zur morphometrischen Analyse des Myozytendurchmessers und Myozytenquerschnitts	59
Abb. 19	Histomorphometrisch ermittelte relative Kollagenfläche (in %) im linken Ventrikel	61
Abb. 20	Kollagen III-Färbung (rot)	62
Abb. 21	Kollagen VI-Färbung (rot)	62

Abb. Nr.	Titel	Seite
Abb. 22	Vinculinmarkierung (grün) an längs geschnittenen Myozyten	64
Abb. 23	Doppelmarkierung mit Antikörpern gegen Dystrophin (grün) und Kollagen VI (rot)	65
Abb. 24	α -Actinin-Markierung (grün) im Längsschnitt	66
Abb. 25	Hämodynamik während der Langzeitanästhesie	69
Abb. 26	Histomorphometrisch ermittelte relative Kollagengehalte nach Langzeitanästhesie	71

10. ERKLÄRUNG

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

11. LITERATURVERZEICHNIS

1. Acker, M.A., *Surgical therapies for heart failure*. J Card Fail., 2004. 10(6, Suppl.): p. S220-S224.
2. Levin, H.R., M.C. Oz, J.M. Chen, M. Packer, E.A. Rose, and D. Burkhoff, *Reversal of chronic ventricular dilation in patients with end-stage cardiomyopathy by prolonged mechanical unloading*. Circulation, 1995. 91(11): p. 2717-20.
3. Nakatani, S., P.M. McCarthy, K. Kottke-Marchant, H. Harasaki, K.B. James, R.M. Savage, and J.D. Thomas, *Left ventricular echocardiographic and histologic changes: impact of chronic unloading by an implantable ventricular assist device*. J Am Coll Cardiol, 1996. 27(4): p. 894-901.
4. Levin, H.R., M.C. Oz, K.A. Catanese, E.A. Rose, and D. Burkhoff, *Transient normalization of systolic and diastolic function after support with a left ventricular assist device in a patient with dilated cardiomyopathy*. J Heart Lung Transplant, 1996. 15(8): p. 840-2.
5. Altemose, G.T., V. Gritsus, V. Jeevanandam, B. Goldman, and K.B. Margulies, *Altered myocardial phenotype after mechanical support in human beings with advanced cardiomyopathy*. J Heart Lung Transplant, 1997. 16(7): p. 765-73.
6. Muller, J., G. Wallukat, Y.G. Weng, M. Dandel, S. Spiegelsberger, S. Semrau, K. Brandes, V. Theodoridis, M. Loebe, R. Meyer, and R. Hetzer, *Weaning from mechanical cardiac support in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy*. Circulation, 1997. 96(2): p. 542-9.
7. Hetzer, R., J.H. Muller, Y. Weng, R. Meyer, and M. Dandel, *Bridging-to-recovery*. Ann Thorac Surg, 2001. 71(3 Suppl): p. S109-13; discussion S114-5.
8. McMurray, J.J. and S. Stewart, *Epidemiology, aetiology, and prognosis of heart failure*. Heart, 2000. 83(5): p. 596-602.
9. Gerok, W., C. Huber, T. Meinertz, and H. Zeidler, *Krankheiten des Herzens und der Gefäße - Herzinsuffizienz*, in *Die Innere Medizin*, H. Drexler and P. Schölmerich, Editors. 2000, Schattauer. p. 197.
10. Braunwald, E., D.P. Zipes, and P. Libby, *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 6. ed. 2001: Saunders Company. 534-5.
11. Cohn, J.N., R. Ferrari, and N. Sharpe, *Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling*. J Am Coll Cardiol, 2000. 35(3): p. 569-82.
12. Nieminen, M.S., M. Bohm, M.R. Cowie, H. Drexler, G.S. Filippatos, G. Jondeau, Y. Hasin, J. Lopez-Sendon, A. Mebazaa, M. Metra, A. Rhodes, K. Swedberg, S.G. Priori, M.A. Garcia, J.J. Blanc, A. Budaj, M.R. Cowie, V. Dean,

- J. Deckers, E.F. Burgos, J. Lekakis, B. Lindahl, G. Mazzotta, J. Morais, A. Oto, O.A. Smiseth, M.A. Garcia, K. Dickstein, A. Albuquerque, P. Conthe, M. Crespo-Leiro, R. Ferrari, F. Follath, A. Gavazzi, U. Janssens, M. Komajda, J. Morais, R. Moreno, M. Singer, S. Singh, M. Tendera, and K. Thygesen, *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, 2005. 26(4): p. 384-416.
13. Francis, G.S., *Pathophysiology of chronic heart failure*. Am J Med, 2001. 110 Suppl 7A: p. 37S-46S.
 14. Holubarsch, C., T. Ruf, D.J. Goldstein, R.C. Ashton, W. Nickl, B. Pieske, K. Pioch, J. Ludemann, S. Wiesner, G. Hasenfuss, H. Posival, H. Just, and D. Burkhoff, *Existence of the Frank-Starling mechanism in the failing human heart. Investigations on the organ, tissue, and sarcomere levels*. Circulation, 1996. 94(4): p. 683-9.
 15. Packer, M., *Neurohormonal interactions and adaptations in congestive heart failure*. Circulation, 1988. 77(4): p. 721-30.
 16. Schrier, R.W. and W.T. Abraham, *Hormones and hemodynamics in heart failure*. N Engl J Med, 1999. 341(8): p. 577-85.
 17. Abraham, W.T., *Beta-blockers: the new standard of therapy for mild heart failure*. Arch Intern Med, 2000. 160(9): p. 1237-47.
 18. Richardson, P., W. McKenna, M. Bristow, B. Maisch, B. Mautner, J. O'Connell, E. Olsen, G. Thiene, J. Goodwin, I. Gyarfás, I. Martin, and P. Nordet, *Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies*. Circulation, 1996. 93(5): p. 841-2.
 19. Pfister, U., R. Lerch, and O.M. Hess, *[New prospects in diagnosis and treatment of heart failure]*. Schweiz Rundsch Med Prax, 2002. 91(5): p. 177-80.
 20. Grunig, E., B. Brown, W. Franz, J. Zehelein, W. Rottbauer, N. Frey, T. Scheffold, and H.A. Katus, *[Clinical aspects and follow-up in dilated cardiomyopathy]*. Z Kardiol, 1995. 84 Suppl 4: p. 39-40.
 21. Florea, V.G., V.Y. Mareyev, A.N. Samko, I.A. Orlova, A.J. Coats, and Y.N. Belenkov, *Left ventricular remodelling: common process in patients with different primary myocardial disorders*. Int J Cardiol, 1999. 68(3): p. 281-7.
 22. Mann, D.L. and M.R. Bristow, *Mechanisms and models in heart failure: the biomechanical model and beyond*. Circulation, 2005. 111(21): p. 2837-49.
 23. Tomita, M., F.G. Spinale, F.A. Crawford, and M.R. Zile, *Changes in left ventricular volume, mass, and function during the development and regression of supraventricular tachycardia-induced cardiomyopathy. Disparity between recovery of systolic versus diastolic function*. Circulation, 1991. 83(2): p. 635-44.

24. Weber, K.T. and C.G. Brilla, *Structural basis for pathologic left ventricular hypertrophy*. Clin Cardiol, 1993. 16(5 Suppl 2): p. II10-4.
25. Bader, M., *Role of the local renin-angiotensin system in cardiac damage: a minireview focussing on transgenic animal models*. J Mol Cell Cardiol, 2002. 34(11): p. 1455-62.
26. de Jonge, H.W., D.H. Dekkers, A.B. Houtsmuller, H.S. Sharma, and J.M. Lamers, *Differential Signaling and Hypertrophic Responses in Cyclically Stretched vs Endothelin-1 Stimulated Neonatal Rat Cardiomyocytes*. Cell Biochem Biophys, 2007. 47(1): p. 21-32.
27. Vakili, B.A., P.M. Okin, and R.B. Devereux, *Prognostic implications of left ventricular hypertrophy*. Am Heart J, 2001. 141(3): p. 334-41.
28. Gunja-Smith, Z., A.R. Morales, R. Romanelli, and J.F. Woessner, Jr., *Remodeling of human myocardial collagen in idiopathic dilated cardiomyopathy. Role of metalloproteinases and pyridinoline cross-links*. Am J Pathol, 1996. 148(5): p. 1639-48.
29. Bruckner, B.A., S.J. Stetson, J.A. Farmer, B. Radovancevic, O.H. Frazier, G.P. Noon, M.L. Entman, G. Torre-Amione, and K.A. Youker, *The implications for cardiac recovery of left ventricular assist device support on myocardial collagen content*. Am J Surg, 2000. 180(6): p. 498-501; discussion 501-2.
30. Schaper, J., R. Froede, S. Hein, A. Buck, H. Hashizume, B. Speiser, A. Friedl, and N. Bleese, *Impairment of the myocardial ultrastructure and changes of the cytoskeleton in dilated cardiomyopathy*. Circulation, 1991. 83(2): p. 504-14.
31. Willenheimer, R., *Left ventricular remodelling and dysfunction. Can the process be prevented?* Int J Cardiol, 2000. 72(2): p. 143-50.
32. Hasenfuss, G., H. Reinecke, R. Studer, M. Meyer, B. Pieske, J. Holtz, C. Holubarsch, H. Posival, H. Just, and H. Drexler, *Relation between myocardial function and expression of sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase in failing and nonfailing human myocardium*. Circ Res, 1994. 75(3): p. 434-42.
33. Hasenfuss, G., W. Schillinger, S.E. Lehnart, M. Preuss, B. Pieske, L.S. Maier, J. Prestle, K. Minami, and H. Just, *Relationship between Na⁺-Ca²⁺-exchanger protein levels and diastolic function of failing human myocardium*. Circulation, 1999. 99(5): p. 641-8.
34. Choquet, D., D.P. Felsenfeld, and M.P. Sheetz, *Extracellular matrix rigidity causes strengthening of integrin-cytoskeleton linkages*. Cell, 1997. 88(1): p. 39-48.
35. Hein, S., S. Kostin, A. Heling, Y. Maeno, and J. Schaper, *The role of the cytoskeleton in heart failure*. Cardiovasc Res, 2000. 45(2): p. 273-8.
36. Kostin, S., S. Hein, E. Arnon, D. Scholz, and J. Schaper, *The cytoskeleton and related proteins in the human failing heart*. Heart Fail Rev, 2000. 5(3): p. 271-80.

37. Clark, K.A., A.S. McElhinny, M.C. Beckerle, and C.C. Gregorio, *Striated muscle cytoarchitecture: an intricate web of form and function*. Annu Rev Cell Dev Biol, 2002. 18: p. 637-706.
38. Wiegand, V., M. Ebecke, H. Figulla, S. Schuler, and H. Kreuzer, *Structure and function of contractile proteins in human dilated cardiomyopathy*. Clin Cardiol, 1989. 12(11): p. 656-60.
39. Aquila, L.A., P.M. McCarthy, N.G. Smedira, J.B. Young, and C.S. Moravec, *Cytoskeletal structure and recovery in single human cardiac myocytes*. J Heart Lung Transplant, 2004. 23(8): p. 954-63.
40. Vatta, M., S.J. Stetson, A. Perez-Verdia, M.L. Entman, G.P. Noon, G. Torre-Amione, N.E. Bowles, and J.A. Towbin, *Molecular remodelling of dystrophin in patients with end-stage cardiomyopathies and reversal in patients on assistance-device therapy*. Lancet, 2002. 359(9310): p. 936-41.
41. Heling, A., R. Zimmermann, S. Kostin, Y. Maeno, S. Hein, B. Devaux, E. Bauer, W.P. Klovekorn, M. Schlepper, W. Schaper, and J. Schaper, *Increased expression of cytoskeletal, linkage, and extracellular proteins in failing human myocardium*. Circ Res, 2000. 86(8): p. 846-53.
42. Hoppe, U.C., M. Bohm, R. Dietz, P. Hanrath, H.K. Kroemer, A. Osterspey, A.A. Schmaltz, and E. Erdmann, *[Guidelines for therapy of chronic heart failure]*. Z Kardiol, 2005. 94(8): p. 488-509.
43. Lee, G., A.N. DeMaria, E.A. Amsterdam, F. Realyvasquez, J. Angel, S. Morrison, and D.T. Mason, *Comparative effects of morphine, meperidine and pentazocine on cardiocirculatory dynamics in patients with acute myocardial infarction*. Am J Med, 1976. 60(7): p. 949-55.
44. Follath, F., *Do diuretics differ in terms of clinical outcome in congestive heart failure?* Eur Heart J, 1998. 19 Suppl P: p. P5-8.
45. Jain, P., B.M. Massie, W.A. Gattis, L. Klein, and M. Gheorghiade, *Current medical treatment for the exacerbation of chronic heart failure resulting in hospitalization*. Am Heart J, 2003. 145(2 Suppl): p. S3-17.
46. Katz, A.M., *Potential deleterious effects of inotropic agents in the therapy of chronic heart failure*. Circulation, 1986. 73(3 Pt 2): p. III184-90.
47. Abraham, W.T., K.F. Adams, G.C. Fonarow, M.R. Costanzo, R.L. Berkowitz, T.H. LeJemtel, M.L. Cheng, and J. Wynne, *In-hospital mortality in patients with acute decompensated heart failure requiring intravenous vasoactive medications: an analysis from the Acute Decompensated Heart Failure National Registry (ADHERE)*. J Am Coll Cardiol, 2005. 46(1): p. 57-64.
48. Nakashima, Y., F.M. Fouad, and R.C. Tarazi, *Regression of left ventricular hypertrophy from systemic hypertension by enalapril*. Am J Cardiol, 1984. 53(8): p. 1044-9.

49. Wollert, K.C., R. Studer, B. von Bulow, and H. Drexler, *Survival after myocardial infarction in the rat. Role of tissue angiotensin-converting enzyme inhibition*. *Circulation*, 1994. 90(5): p. 2457-67.
50. Swedberg, K. and J. Kjekshus, *Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure: results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS)*. *Am J Cardiol*, 1988. 62(2): p. 60A-66A.
51. *Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS)*. *The CONSENSUS Trial Study Group*. *N Engl J Med*, 1987. 316(23): p. 1429-35.
52. *Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. The SOLVD Investigators*. *N Engl J Med*, 1991. 325(5): p. 293-302.
53. Cohn, J.N. and G. Tognoni, *A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure*. *N Engl J Med*, 2001. 345(23): p. 1667-75.
54. Granger, C.B., J.J. McMurray, S. Yusuf, P. Held, E.L. Michelson, B. Olofsson, J. Ostergren, M.A. Pfeffer, and K. Swedberg, *Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function intolerant to angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Alternative trial*. *Lancet*, 2003. 362(9386): p. 772-6.
55. Goldstein, S. and A. Hjalmarson, *The mortality effect of metoprolol CR/XL in patients with heart failure: results of the MERIT-HF Trial*. *Clin Cardiol*, 1999. 22 Suppl 5: p. V30-5.
56. Groenning, B.A., J.C. Nilsson, L. Sondergaard, T. Fritz-Hansen, H.B. Larsson, and P.R. Hildebrandt, *Antiremodeling effects on the left ventricle during beta-blockade with metoprolol in the treatment of chronic heart failure*. *J Am Coll Cardiol*, 2000. 36(7): p. 2072-80.
57. Palazzuoli, A., F. Bruni, L. Puccetti, M. Pastorelli, P. Angori, A.L. Pasqui, and A. Auteri, *Effects of carvedilol on left ventricular remodeling and systolic function in elderly patients with heart failure*. *Eur J Heart Fail*, 2002. 4(6): p. 765-70.
58. Hall, S.A., C.G. Cigarroa, L. Marcoux, R.C. Risser, P.A. Grayburn, and E.J. Eichhorn, *Time course of improvement in left ventricular function, mass and geometry in patients with congestive heart failure treated with beta-adrenergic blockade*. *J Am Coll Cardiol*, 1995. 25(5): p. 1154-61.
59. Krum, H., E.B. Roecker, P. Mohacsi, J.L. Rouleau, M. Tendera, A.J. Coats, H.A. Katus, M.B. Fowler, and M. Packer, *Effects of initiating carvedilol in patients with severe chronic heart failure: results from the COPERNICUS Study*. *Jama*, 2003. 289(6): p. 712-8.

60. Hjalmarson, A., S. Goldstein, B. Fagerberg, H. Wedel, F. Waagstein, J. Kjekshus, J. Wikstrand, D. El Allaf, J. Vitovec, J. Aldershvile, M. Halinen, R. Dietz, K.L. Neuhaus, A. Janosi, G. Thorgeirsson, P.H. Dunselman, L. Gullestad, J. Kuch, J. Herlitz, P. Rickenbacher, S. Ball, S. Gottlieb, and P. Deedwania, *Effects of controlled-release metoprolol on total mortality, hospitalizations, and well-being in patients with heart failure: the Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in congestive heart failure (MERIT-HF)*. MERIT-HF Study Group. *Jama*, 2000. 283(10): p. 1295-302.
61. Cosin, J. and J. Diez, *Torasemide in chronic heart failure: results of the TORIC study*. *Eur J Heart Fail*, 2002. 4(4): p. 507-13.
62. Swedberg, K., J. Cleland, H. Dargie, H. Drexler, F. Follath, M. Komajda, L. Tavazzi, O.A. Smiseth, A. Gavazzi, A. Haverich, A. Hoes, T. Jaarsma, J. Korewicki, S. Levy, C. Linde, J.L. Lopez-Sendon, M.S. Nieminen, L. Pierard, and W.J. Remme, *Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology*. *Eur Heart J*, 2005. 26(11): p. 1115-40.
63. *The effect of digoxin on mortality and morbidity in patients with heart failure. The Digitalis Investigation Group*. *N Engl J Med*, 1997. 336(8): p. 525-33.
64. Cohn, J.N., G. Johnson, S. Ziesche, F. Cobb, G. Francis, F. Tristani, R. Smith, W.B. Dunkman, H. Loeb, M. Wong, and et al., *A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure*. *N Engl J Med*, 1991. 325(5): p. 303-10.
65. Erlebacher, J.A. and S. Barbarash, *Intraventricular conduction delay and functional mitral regurgitation*. *Am J Cardiol*, 2001. 88(1): p. A7, 83-6.
66. Xiao, H.B., S.J. Brecker, and D.G. Gibson, *Effects of abnormal activation on the time course of the left ventricular pressure pulse in dilated cardiomyopathy*. *Br Heart J*, 1992. 68(4): p. 403-7.
67. Abraham, W.T., W.G. Fisher, A.L. Smith, D.B. Delurgio, A.R. Leon, E. Loh, D.Z. Kocovic, M. Packer, A.L. Clavell, D.L. Hayes, M. Ellestad, R.J. Trupp, J. Underwood, F. Pickering, C. Truex, P. McAtee, and J. Messenger, *Cardiac resynchronization in chronic heart failure*. *N Engl J Med*, 2002. 346(24): p. 1845-53.
68. Cleland, J.G., J.C. Daubert, E. Erdmann, N. Freemantle, D. Gras, L. Kappenberger, and L. Tavazzi, *The effect of cardiac resynchronization on morbidity and mortality in heart failure*. *N Engl J Med*, 2005. 352(15): p. 1539-49.
69. Gibbon, J.H., Jr., *Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery*. *Minn Med*, 1954. 37(3): p. 171-85; passim.
70. Liotta, D., C.W. Hall, W.S. Henly, D.A. Cooley, E.S. Crawford, and M.E. DeBakey, *Prolonged Assisted Circulation During And After Cardiac Or Aortic Surgery. Prolonged Partial Left Ventricular Bypass By Means Of Intracorporeal Circulation*. *Am J Cardiol*, 1963. 12: p. 399-405.

71. Hall, C.W., D. Liotta, W.S. Henly, E.S. Crawford, and M.E. DeBakey, *Development Of Artificial Intrathoracic Circulatory Pumps*. Am J Surg, 1964. 108: p. 685-92.
72. DeBakey, M.E., *Left ventricular bypass pump for cardiac assistance. Clinical experience*. Am J Cardiol, 1971. 27(1): p. 3-11.
73. Barnard, C.N., *The operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town*. S Afr Med J, 1967. 41(48): p. 1271-4.
74. Norman, J.C., M.I. Brook, D.A. Cooley, T. Klima, B.D. Kahan, O.H. Frazier, A.S. Keats, J. Hacker, E.K. Massin, J.M. Duncan, R.T. Solis, C.C. Dacso, W.E. Luper, D.S. Winston, and G.J. Reul, *Total support of the circulation of a patient with post-cardiotomy stone-heart syndrome by a partial artificial heart (ALVAD) for 5 days followed by heart and kidney transplantation*. Lancet, 1978. 1(8074): p. 1125-7.
75. Park, S.J., A. Tector, W. Piccioni, E. Raines, A. Gelijns, A. Moskowitz, E. Rose, W. Holman, S. Furukawa, O.H. Frazier, and W. Dembitsky, *Left ventricular assist devices as destination therapy: a new look at survival*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2005. 129(1): p. 9-17.
76. Park, S.J., *Can a pulsatile left ventricular assist device provide destination therapy for patients with severe heart failure?* Nat Clin Pract Cardiovasc Med, 2008. 5(2): p. 82-3.
77. Pierce, W.S., G.V. Parr, J.L. Myers, W.E. Pae, Jr., A.P. Bull, and J.A. Waldhausen, *Ventricular-assist pumping patients with cardiogenic shock after cardiac operations*. N Engl J Med, 1981. 305(27): p. 1606-10.
78. Farrar, D.J., *The thoratec ventricular assist device: a paracorporeal pump for treating acute and chronic heart failure*. Semin Thorac Cardiovasc Surg, 2000. 12(3): p. 243-50.
79. Schiessler, A., H. Warnecke, N. Friedel, E. Hennig, and R. Hetzer, *Clinical use of the Berlin Biventricular Assist Device as a bridge to transplantation*. ASAIO Trans, 1990. 36(3): p. M706-8.
80. DiGiorgi, P.L., V. Rao, Y. Naka, and M.C. Oz, *Which patient, which pump?* J Heart Lung Transplant, 2003. 22(3): p. 221-35.
81. Kantrowitz, A., S. Tjonneland, P.S. Freed, S.J. Phillips, A.N. Butner, and J.L. Sherman, Jr., *Initial clinical experience with intraaortic balloon pumping in cardiogenic shock*. Jama, 1968. 203(2): p. 113-8.
82. Ferguson, J.J., 3rd, M. Cohen, R.J. Freedman, Jr., G.W. Stone, M.F. Miller, D.L. Joseph, and E.M. Ohman, *The current practice of intra-aortic balloon counterpulsation: results from the Benchmark Registry*. J Am Coll Cardiol, 2001. 38(5): p. 1456-62.
83. Frazier, O.H., *First use of an untethered, vented electric left ventricular assist device for long-term support*. Circulation, 1994. 89(6): p. 2908-14.

84. El-Banayosy, A., L. Arusoglu, L. Kizner, M. Morshuis, G. Tenderich, W.E. Pae, Jr., and R. Korfer, *Preliminary experience with the LionHeart left ventricular assist device in patients with end-stage heart failure*. *Ann Thorac Surg*, 2003. 75(5): p. 1469-75.
85. DeBakey, M.E., *The odyssey of the artificial heart*. *Artif Organs*, 2000. 24(6): p. 405-11.
86. DeBakey, M.E., *A miniature implantable axial flow ventricular assist device*. *Ann Thorac Surg*, 1999. 68(2): p. 637-40.
87. Potapov, E.V., M. Loebe, B.A. Nasser, H. Sinawski, A. Koster, H. Kuppe, G.P. Noon, M.E. DeBakey, and R. Hetzer, *Pulsatile flow in patients with a novel nonpulsatile implantable ventricular assist device*. *Circulation*, 2000. 102(19 Suppl 3): p. III183-7.
88. Frazier, O.H., T.J. Myers, I.D. Gregoric, T. Khan, R. Delgado, M. Croitoru, K. Miller, R. Jarvik, and S. Westaby, *Initial clinical experience with the Jarvik 2000 implantable axial-flow left ventricular assist system*. *Circulation*, 2002. 105(24): p. 2855-60.
89. Griffith, B.P., R.L. Kormos, H.S. Borovetz, K. Litwak, J.F. Antaki, V.L. Poirier, and K.C. Butler, *HeartMate II left ventricular assist system: from concept to first clinical use*. *Ann Thorac Surg*, 2001. 71(3 Suppl): p. S116-20; discussion S114-6.
90. Westaby, S., T. Katsumata, R. Houel, R. Evans, D. Pigott, O.H. Frazier, and R. Jarvik, *Jarvik 2000 heart: potential for bridge to myocyte recovery*. *Circulation*, 1998. 98(15): p. 1568-74.
91. Wieselthaler, G.M., H. Schima, M. Hiesmayr, R. Pacher, G. Laufer, G.P. Noon, M. DeBakey, and E. Wolner, *First clinical experience with the DeBakey VAD continuous-axial-flow pump for bridge to transplantation*. *Circulation*, 2000. 101(4): p. 356-9.
92. Siess, T., H. Reul, and G. Rau, *Concept, realization, and first in vitro testing of an intraarterial microaxial blood pump*. *Artif Organs*, 1995. 19(7): p. 644-52.
93. Meyns, B., J. Stolinski, V. Leunens, E. Verbeken, and W. Flameng, *Left ventricular support by catheter-mounted axial flow pump reduces infarct size*. *J Am Coll Cardiol*, 2003. 41(7): p. 1087-95.
94. Kung, R.T., L.S. Yu, B.D. Ochs, S.M. Parnis, M.P. Macris, and O.H. Frazier, *Progress in the development of the ABIOMED total artificial heart*. *Asaio J*, 1995. 41(3): p. M245-8.
95. Samuels, L., *The AbioCor totally implantable replacement heart*. *Am Heart Hosp J*, 2003. 1(1): p. 91-6.
96. Chachques, J.C., P. Grandjean, K. Schwartz, S. Mihaileanu, M. Fardeau, B. Swynghedauw, F. Fontaliran, N. Romero, C. Wisnewsky, P. Perier, and et al., *Effect of latissimus dorsi dynamic cardiomyoplasty on ventricular function*. *Circulation*, 1988. 78(5 Pt 2): p. III203-16.

97. Starling, R.C. and M. Jessup, *Worldwide clinical experience with the CorCap Cardiac Support Device*. J Card Fail, 2004. 10(6 Suppl): p. S225-33.
98. Dor, V., *Left ventricular restoration by endoventricular circular patch plasty (EVCPP)*. Z Kardiol, 2000. 89 Suppl 7: p. 70-5.
99. Barbone, A., M.C. Oz, D. Burkhoff, and J.W. Holmes, *Normalized diastolic properties after left ventricular assist result from reverse remodeling of chamber geometry*. Circulation, 2001. 104(12 Suppl 1): p. I229-32.
100. Frazier, O.H., C.R. Benedict, B. Radovancevic, R.J. Bick, P. Capek, W.E. Springer, M.P. Macris, R. Delgado, and L.M. Buja, *Improved left ventricular function after chronic left ventricular unloading*. Ann Thorac Surg, 1996. 62(3): p. 675-81; discussion 681-2.
101. Hetzer, R., J. Muller, Y. Weng, G. Wallukat, S. Spiegelsberger, and M. Loebe, *Cardiac recovery in dilated cardiomyopathy by unloading with a left ventricular assist device*. Ann Thorac Surg, 1999. 68(2): p. 742-9.
102. Terracciano, C.M., J. Hardy, E.J. Birks, A. Khaghani, N.R. Banner, and M.H. Yacoub, *Clinical recovery from end-stage heart failure using left-ventricular assist device and pharmacological therapy correlates with increased sarcoplasmic reticulum calcium content but not with regression of cellular hypertrophy*. Circulation, 2004. 109(19): p. 2263-5.
103. Bruckner, B.A., P. Razeghi, S. Stetson, L. Thompson, J. Lafuente, M. Entman, M. Loebe, G. Noon, H. Taegtmeier, O.H. Frazier, and K. Youker, *Degree of cardiac fibrosis and hypertrophy at time of implantation predicts myocardial improvement during left ventricular assist device support*. J Heart Lung Transplant, 2004. 23(1): p. 36-42.
104. McCarthy, P.M., S. Nakatani, R. Vargo, K. Kottke-Marchant, H. Harasaki, K.B. James, R.M. Savage, and J.D. Thomas, *Structural and left ventricular histologic changes after implantable LVAD insertion*. Ann Thorac Surg, 1995. 59(3): p. 609-13.
105. Goldstein, D.J., N. Moazami, J.A. Seldomridge, H. Laio, R.C. Ashton, Jr., Y. Naka, D.J. Pinsky, and M.C. Oz, *Circulatory resuscitation with left ventricular assist device support reduces interleukins 6 and 8 levels*. Ann Thorac Surg, 1997. 63(4): p. 971-4.
106. Heerdt, P.M., J.W. Holmes, B. Cai, A. Barbone, J.D. Madigan, S. Reiken, D.L. Lee, M.C. Oz, A.R. Marks, and D. Burkhoff, *Chronic unloading by left ventricular assist device reverses contractile dysfunction and alters gene expression in end-stage heart failure*. Circulation, 2000. 102(22): p. 2713-9.
107. Zafeiridis, A., V. Jeevanandam, S.R. Houser, and K.B. Margulies, *Regression of cellular hypertrophy after left ventricular assist device support*. Circulation, 1998. 98(7): p. 656-62.
108. Bruckner, B.A., S.J. Stetson, A. Perez-Verdia, K.A. Youker, B. Radovancevic, J.H. Connelly, M.M. Koerner, M.E. Entman, O.H. Frazier, G.P. Noon, and G. Torre-Amione, *Regression of fibrosis and hypertrophy in failing myocardium*

- following mechanical circulatory support.* J Heart Lung Transplant, 2001. 20(4): p. 457-64.
109. de Jonge, N., D.F. van Wichen, M.E. Schipper, J.R. Lahpor, F.H. Gmelig-Meyling, E.O. Robles de Medina, and R.A. de Weger, *Left ventricular assist device in end-stage heart failure: persistence of structural myocyte damage after unloading. An immunohistochemical analysis of the contractile myofilaments.* J Am Coll Cardiol, 2002. 39(6): p. 963-9.
 110. Kinoshita, M., H. Takano, Y. Taenaka, H. Mori, S. Takaichi, H. Noda, E. Tatsumi, A. Yagura, H. Sekii, and T. Akutsu, *Cardiac disuse atrophy during LVAD pumping.* ASAIO Trans, 1988. 34(3): p. 208-12.
 111. Li, Y.Y., Y. Feng, C.F. McTiernan, W. Pei, C.S. Moravec, P. Wang, W. Rosenblum, R.L. Kormos, and A.M. Feldman, *Downregulation of matrix metalloproteinases and reduction in collagen damage in the failing human heart after support with left ventricular assist devices.* Circulation, 2001. 104(10): p. 1147-52.
 112. Milting, H., M. Jacob, A. Kassner, P. Heimann, H.G. Mannherz, G. Becker, H.E. Meyer, D. Bothig, L. Arusoglu, M. Morshuis, R. Korfer, and A. El Banayosy, *The structural examination of myocardial samples from patients with end-stage heart failure supported by ventricular assist devices using electron microscopy and amino acid analysis reveals low degree of reverse remodeling.* J Heart Lung Transplant, 2004. 23(4): p. 396-404.
 113. Barbone, A., J.W. Holmes, P.M. Heerdt, A.H. The, Y. Naka, N. Joshi, M. Daines, A.R. Marks, M.C. Oz, and D. Burkhoff, *Comparison of right and left ventricular responses to left ventricular assist device support in patients with severe heart failure: a primary role of mechanical unloading underlying reverse remodeling.* Circulation, 2001. 104(6): p. 670-5.
 114. Liang, H., J. Muller, Y.G. Weng, G. Wallukat, P. Fu, H.S. Lin, S. Bartel, C. Knosalla, R. Pregla, and R. Hetzer, *Changes in myocardial collagen content before and after left ventricular assist device application in dilated cardiomyopathy.* Chin Med J (Engl), 2004. 117(3): p. 401-7.
 115. Scheinin, S.A., P. Capek, B. Radovancevic, J.M. Duncan, H.A. McAllister, Jr., and O.H. Frazier, *The effect of prolonged left ventricular support on myocardial histopathology in patients with end-stage cardiomyopathy.* Asaio J, 1992. 38(3): p. M271-4.
 116. Madigan, J.D., A. Barbone, A.F. Choudhri, D.L. Morales, B. Cai, M.C. Oz, and D. Burkhoff, *Time course of reverse remodeling of the left ventricle during support with a left ventricular assist device.* J Thorac Cardiovasc Surg, 2001. 121(5): p. 902-8.
 117. Mann, D.L. and J.T. Willerson, *Left ventricular assist devices and the failing heart: a bridge to recovery, a permanent assist device, or a bridge too far?* Circulation, 1998. 98(22): p. 2367-9.
 118. de Jonge, N., J.R. Lahpor, D.F. van Wichen, H. Kirkels, F.H. Gmelig-Meyling, J.G. van den Tweel, P.A. Doevendans, and R.A. de Weger, *Similar left and*

- right ventricular sarcomere structure after support with a left ventricular assist device suggests the utility of right ventricular biopsies to monitor left ventricular reverse remodeling.* Int J Cardiol, 2005. 98(3): p. 465-70.
119. Vatta, M., S.J. Stetson, S. Jimenez, M.L. Entman, G.P. Noon, N.E. Bowles, J.A. Towbin, and G. Torre-Amione, *Molecular normalization of dystrophin in the failing left and right ventricle of patients treated with either pulsatile or continuous flow-type ventricular assist devices.* J Am Coll Cardiol, 2004. 43(5): p. 811-7.
120. Vodicka, P., K. Smetana, Jr., B. Dvorankova, T. Emerick, Y.Z. Xu, J. Ourednik, V. Ourednik, and J. Motlik, *The miniature pig as an animal model in biomedical research.* Ann N Y Acad Sci, 2005. 1049: p. 161-71.
121. Dodds, W., *The pig model for biomedical research.* Fed Proc, 1982. 41: p. 247-56.
122. Hughes, H.C., *Swine in cardiovascular research.* Lab Anim Sci, 1986. 36(4): p. 348-50.
123. Muders, F. and D. Elsner, *Animal models of chronic heart failure.* Pharmacol Res, 2000. 41(6): p. 605-12.
124. Zhang, J., N. Wilke, Y. Wang, Y. Zhang, C. Wang, M.H. Eijgelshoven, Y.K. Cho, Y. Murakami, K. Ugurbil, R.J. Bache, and A.H. From, *Functional and bioenergetic consequences of postinfarction left ventricular remodeling in a new porcine model. MRI and 31 P-MRS study.* Circulation, 1996. 94(5): p. 1089-100.
125. Kleaveland, J.P., W.G. Kussmaul, T. Vinciguerra, R. Ditters, and B.A. Carabello, *Volume overload hypertrophy in a closed-chest model of mitral regurgitation.* Am J Physiol, 1988. 254(6 Pt 2): p. H1034-41.
126. Coleman, H.N., 3rd, R.R. Taylor, P.E. Pool, G.H. Whipple, J.W. Covell, J. Ross, Jr., and E. Braunwald, *Congestive heart failure following chronic tachycardia.* Am Heart J, 1971. 81(6): p. 790-8.
127. Shannon, R.P., K. Komamura, B.S. Stambler, M. Bigaud, W.T. Manders, and S.F. Vatner, *Alterations in myocardial contractility in conscious dogs with dilated cardiomyopathy.* Am J Physiol, 1991. 260(6 Pt 2): p. H1903-11.
128. Ohno, M., C.P. Cheng, and W.C. Little, *Mechanism of altered patterns of left ventricular filling during the development of congestive heart failure.* Circulation, 1994. 89(5): p. 2241-50.
129. Eaton, G.M., R.J. Cody, E. Nunziata, and P.F. Binkley, *Early left ventricular dysfunction elicits activation of sympathetic drive and attenuation of parasympathetic tone in the paced canine model of congestive heart failure.* Circulation, 1995. 92(3): p. 555-61.
130. Packer, D.L., G.H. Bardy, S.J. Worley, M.S. Smith, F.R. Cobb, R.E. Coleman, J.J. Gallagher, and L.D. German, *Tachycardia-induced cardiomyopathy: a*

- reversible form of left ventricular dysfunction*. Am J Cardiol, 1986. 57(8): p. 563-70.
131. Wilson, J.R., P. Douglas, W.F. Hickey, V. Lanoce, N. Ferraro, A. Muhammad, and N. Reichek, *Experimental congestive heart failure produced by rapid ventricular pacing in the dog: cardiac effects*. Circulation, 1987. 75(4): p. 857-67.
132. Calderone, A., M. Bouvier, K. Li, C. Juneau, J. de Champlain, and J.L. Rouleau, *Dysfunction of the beta- and alpha-adrenergic systems in a model of congestive heart failure. The pacing-overdrive dog*. Circ Res, 1991. 69(2): p. 332-43.
133. Shannon, R.P., K. Komamura, Y.T. Shen, S.P. Bishop, and S.F. Vatner, *Impaired regional subendocardial coronary flow reserve in conscious dogs with pacing-induced heart failure*. Am J Physiol, 1993. 265(3 Pt 2): p. H801-9.
134. Spinale, F.G., D.A. Hendrick, F.A. Crawford, A.C. Smith, Y. Hamada, and B.A. Carabello, *Chronic supraventricular tachycardia causes ventricular dysfunction and subendocardial injury in swine*. Am J Physiol, 1990. 259(1 Pt 2): p. H218-29.
135. Spinale, F.G., J.L. Zellner, M. Tomita, G.E. Tempel, F.A. Crawford, and M.R. Zile, *Tachycardia-induced cardiomyopathy: effects on blood flow and capillary structure*. Am J Physiol, 1991. 261(1 Pt 2): p. H140-8.
136. Spinale, F.G., B.M. Fulbright, R. Mukherjee, R. Tanaka, J. Hu, F.A. Crawford, and M.R. Zile, *Relation between ventricular and myocyte function with tachycardia-induced cardiomyopathy*. Circ Res, 1992. 71(1): p. 174-87.
137. Hendrick, D.A., A.C. Smith, J.M. Kratz, F.A. Crawford, and F.G. Spinale, *The pig as a model of tachycardia and dilated cardiomyopathy*. Lab Anim Sci, 1990. 40(5): p. 495-501.
138. Qi, W., H. Kjekshus, R. Klinge, J.K. Kjekshus, and C. Hall, *Cardiac natriuretic peptides and continuously monitored atrial pressures during chronic rapid pacing in pigs*. Acta Physiol Scand, 2000. 169(2): p. 95-102.
139. Trumble, D.R. and J.A. Magovern, *Comparison of dog and pig models for testing substernal cardiac compression devices*. Asaio J, 2004. 50(3): p. 188-92.
140. Komamura, K., R.P. Shannon, T. Ihara, Y.T. Shen, I. Mirsky, S.P. Bishop, and S.F. Vatner, *Exhaustion of Frank-Starling mechanism in conscious dogs with heart failure*. Am J Physiol, 1993. 265(4 Pt 2): p. H1119-31.
141. Chow, E., J.C. Woodard, and D.J. Farrar, *Rapid ventricular pacing in pigs: an experimental model of congestive heart failure*. Am J Physiol, 1990. 258(5 Pt 2): p. H1603-5.
142. Armstrong, P.W., T.P. Stopps, S.E. Ford, and A.J. de Bold, *Rapid ventricular pacing in the dog: pathophysiologic studies of heart failure*. Circulation, 1986. 74(5): p. 1075-84.

143. Eble, D.M. and F.G. Spinale, *Contractile and cytoskeletal content, structure, and mRNA levels with tachycardia-induced cardiomyopathy*. Am J Physiol, 1995. 268(6 Pt 2): p. H2426-39.
144. Roth, D.A., K. Urasawa, G.A. Helmer, and H.K. Hammond, *Downregulation of cardiac guanosine 5'-triphosphate-binding proteins in right atrium and left ventricle in pacing-induced congestive heart failure*. J Clin Invest, 1993. 91(3): p. 939-49.
145. Kjekshus, H., O.A. Smiseth, R. Klinge, E. Oie, M.E. Hystad, and H. Attramadal, *Regulation of ET: pulmonary release of ET contributes to increased plasma ET levels and vasoconstriction in CHF*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000. 278(4): p. H1299-310.
146. Helmer, G.A., M.D. McKirnan, R. Shabetai, G.R. Boss, J. Ross, Jr., and H.K. Hammond, *Regional deficits of myocardial blood flow and function in left ventricular pacing-induced heart failure*. Circulation, 1996. 94(9): p. 2260-7.
147. Spinale, F.G., M.L. Coker, C.V. Thomas, J.D. Walker, R. Mukherjee, and L. Hebbar, *Time-dependent changes in matrix metalloproteinase activity and expression during the progression of congestive heart failure: relation to ventricular and myocyte function*. Circ Res, 1998. 82(4): p. 482-95.
148. Flanders, J.A., N.S. Moise, A.R. Gelzer, J.C. Waskiewicz, and J.M. MacGregor, *Introduction of an endocardial pacing lead through the costocervical vein in six dogs*. J Am Vet Med Assoc, 1999. 215(1): p. 46-8, 34.
149. Arnolda, L.F., I.J. Llewellyn-Smith, and J.B. Minson, *Animal models of heart failure*. Aust N Z J Med, 1999. 29(3): p. 403-9.
150. Howard, R.J., T.P. Stopps, G.W. Moe, A. Gotlieb, and P.W. Armstrong, *Recovery from heart failure: structural and functional analysis in a canine model*. Can J Physiol Pharmacol, 1988. 66(12): p. 1505-12.
151. Spinale, F.G., J.L. Zellner, M. Tomita, F.A. Crawford, and M.R. Zile, *Relation between ventricular and myocyte remodeling with the development and regression of supraventricular tachycardia-induced cardiomyopathy*. Circ Res, 1991. 69(4): p. 1058-67.
152. Moe, G.W., T.P. Stopps, R.J. Howard, and P.W. Armstrong, *Early recovery from heart failure: insights into the pathogenesis of experimental chronic pacing-induced heart failure*. J Lab Clin Med, 1988. 112(4): p. 426-32.
153. Armstrong, P.W. and G.W. Moe, *The development of and recovery from pacing-induced heart failure*, in *Pathophysiology of Tachycardia-Induced Heart Failure*, F.G. Spinale, Editor. 1996, Futura Publishing Company: Armonk, NY.
154. Löscher, W., F. Ungemach, and R. Kroker, *Grundlagen der Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. 1991, Parey: Berlin; Hamburg. p. 342.
155. Barth, E., G. Stammier, B. Speiser, and J. Schaper, *Ultrastructural quantitation of mitochondria and myofilaments in cardiac muscle from 10 different animal species including man*. J Mol Cell Cardiol, 1992. 24(7): p. 669-81.

156. Dondelinger, R.F., M.P. Ghysels, D. Brisbois, E. Donkers, F.R. Snaps, J. Saunders, and J. Deviere, *Relevant radiological anatomy of the pig as a training model in interventional radiology*. Eur Radiol, 1998. 8(7): p. 1254-73.
157. Wolf, C., W.J. Cai, R. Vosschulte, S. Koltai, D. Mousavipour, D. Scholz, A. Afsah-Hedjri, W. Schaper, and J. Schaper, *Vascular remodeling and altered protein expression during growth of coronary collateral arteries*. J Mol Cell Cardiol, 1998. 30(11): p. 2291-305.
158. Ogata, K. and J.L. Platt, *Potential applications and prospects for cardiac xenotransplantation*. J Heart Lung Transplant, 2004. 23(5): p. 515-26.
159. McGregor, C.G., W.R. Davies, K. Oi, S.S. Teotia, J.M. Schirmer, J.M. Risdahl, H.D. Tazelaar, W.K. Kremers, R.C. Walker, G.W. Byrne, and J.S. Logan, *Cardiac xenotransplantation: recent preclinical progress with 3-month median survival*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2005. 130(3): p. 844-51.
160. Vanoli, E., S. Bacchini, S. Panigada, F. Pentimalli, and P. Adamson, *Experimental models of heart failure*. European Heart Journal Supplements, 2004. 6(Suppl F): p. F7-F15.
161. Sisson, D., W.P. Thomas, J. Woodfield, P.D. Pion, M. Luethy, and L.A. DeLellis, *Permanent transvenous pacemaker implantation in forty dogs*. J Vet Intern Med, 1991. 5(6): p. 322-31.
162. Breithardt, O.A., A.M. Sinha, E. Schwammenthal, N. Bidaoui, K.U. Markus, A. Franke, and C. Stellbrink, *Acute effects of cardiac resynchronization therapy on functional mitral regurgitation in advanced systolic heart failure*. J Am Coll Cardiol, 2003. 41(5): p. 765-70.
163. Vinereanu, D., M.S. Turner, R.A. Bleasdale, C.E. Mumford, M. Cinteza, M.P. Frenneaux, and A.G. Fraser, *Mechanisms of reduction of mitral regurgitation by cardiac resynchronization therapy*. J Am Soc Echocardiogr, 2007. 20(1): p. 54-62.
164. Ahmed, M.S., T.G. von Lueder, E. Oie, H. Kjekshus, and H. Attramadal, *Induction of myocardial connective tissue growth factor in pacing-induced heart failure in pigs*. Acta Physiol Scand, 2005. 184(1): p. 27-36.
165. Hystad, M.E., R. Klinge, A. Spurkland, H. Attramadal, and C. Hall, *Contrasting cardiac regional responses of A-type and B-type natriuretic peptide to experimental chronic heart failure*. Scand J Clin Lab Invest, 2000. 60(4): p. 299-309.
166. Rastogi, S., S. Mishra, R.C. Gupta, and H.N. Sabbah, *Reversal of maladaptive gene program in left ventricular myocardium of dogs with heart failure following long-term therapy with the Acorn Cardiac Support Device*. Heart Fail Rev, 2005. 10(2): p. 157-63.
167. Moe, G.W., E.A. Grima, R.J. Howard, and P.W. Armstrong, *Batrial appendage hypertrophy but not ventricular hypertrophy: a unique feature of canine pacing-induced heart failure*. J Card Fail, 1996. 2(2): p. 127-32.

168. Kiuchi, K., R.P. Shannon, N. Sato, M. Bigaud, C. Lajoie, K.G. Morgan, and S.F. Vatner, *Factors involved in delaying the rise in peripheral resistance in developing heart failure*. Am J Physiol, 1994. 267(1 Pt 2): p. H211-6.
169. McElmurray, J.H., 3rd, R. Mukherjee, R.B. New, A.C. Sampson, M.K. King, J.W. Hendrick, A. Goldberg, T.J. Peterson, H. Hallak, M.R. Zile, and F.G. Spinale, *Angiotensin-converting enzyme and matrix metalloproteinase inhibition with developing heart failure: comparative effects on left ventricular function and geometry*. J Pharmacol Exp Ther, 1999. 291(2): p. 799-811.
170. Sabbah, H.N., H. Rosman, T. Kono, M. Alam, F. Khaja, and S. Goldstein, *On the mechanism of functional mitral regurgitation*. Am J Cardiol, 1993. 72(14): p. 1074-6.
171. Wilson, E.M. and F.G. Spinale, *Myocardial remodelling and matrix metalloproteinases in heart failure: turmoil within the interstitium*. Ann Med, 2001. 33(9): p. 623-34.
172. Weber, K.T. and C.G. Brilla, *Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system*. Circulation, 1991. 83(6): p. 1849-65.
173. Spinale, F.G., M. Tomita, J.L. Zellner, J.C. Cook, F.A. Crawford, and M.R. Zile, *Collagen remodeling and changes in LV function during development and recovery from supraventricular tachycardia*. Am J Physiol, 1991. 261(2 Pt 2): p. H308-18.
174. Kitamura, M., M. Shimizu, H. Ino, K. Okeie, M. Yamaguchi, N. Funjono, H. Mabuchi, and I. Nakanishi, *Collagen remodeling and cardiac dysfunction in patients with hypertrophic cardiomyopathy: the significance of type III and VI collagens*. Clin Cardiol, 2001. 24(4): p. 325-9.
175. Assayag, P., F. Carre, B. Chevalier, C. Delcayre, P. Mansier, and B. Swynghedauw, *Compensated cardiac hypertrophy: arrhythmogenicity and the new myocardial phenotype. I. Fibrosis*. Cardiovasc Res, 1997. 34(3): p. 439-44.
176. Schaper, J. and B. Speiser, *The extrazellular matrix in the failing human heart*, in *Cellular and molecular alterations in the failing human heart*, G. Hasenfuss, Editor. 1992, Steinkopf Verlag: Berlin. p. 303-309.
177. Hein, S., T. Scheffold, and J. Schaper, *Ischemia induces early changes to cytoskeletal and contractile proteins in diseased human myocardium*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1995. 110(1): p. 89-98.
178. Ervasti, J.M. and K.P. Campbell, *Dystrophin and the membrane skeleton*. Curr Opin Cell Biol, 1993. 5(1): p. 82-7.
179. Voit, T., P. Stuetgen, M. Cremer, and H.H. Goebel, *Dystrophin as a diagnostic marker in Duchenne and Becker muscular dystrophy. Correlation of immunofluorescence and western blot*. Neuropediatrics, 1991. 22(3): p. 152-62.

180. Kostin, S., A. Heling, S. Hein, D. Scholz, W. Klövekorn, and J. Schaper, *The protein composition of the normal and diseased cardiac myocyte*. Heart Failure Reviews, 1998. 2: p. 245-260.
181. Blanchard, A., V. Ohanian, and D. Critchley, *The structure and function of alpha-actinin*. J Muscle Res Cell Motil, 1989. 10(4): p. 280-9.
182. Saffitz, J.E., *Gap junctions: functional effects of molecular structure and tissue distribution*. Adv Exp Med Biol, 1997. 430: p. 291-301.
183. Peters, N.S., J. Coromilas, N.J. Severs, and A.L. Wit, *Disturbed connexin43 gap junction distribution correlates with the location of reentrant circuits in the epicardial border zone of healing canine infarcts that cause ventricular tachycardia*. Circulation, 1997. 95(4): p. 988-96.
184. Kostin, S., M. Rieger, S. Dammer, S. Hein, M. Richter, W.P. Klovekorn, E.P. Bauer, and J. Schaper, *Gap junction remodeling and altered connexin43 expression in the failing human heart*. Mol Cell Biochem, 2003. 242(1-2): p. 135-44.
185. Farrar, D.J., P.G. Compton, J.J. Hershon, J.D. Fonger, and J.D. Hill, *Right heart interaction with the mechanically assisted left heart*. World J Surg, 1985. 9(1): p. 89-102.
186. Chow, E. and D.J. Farrar, *Right heart function during prosthetic left ventricular assistance in a porcine model of congestive heart failure*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1992. 104(3): p. 569-78.
187. Thompson, L.O., C.A. Skrabal, M. Loebe, J.A. Lafuente, R.R. Roberts, A. Akgul, V. Jones, B.A. Bruckner, V. Thohan, G.P. Noon, and K.A. Youker, *Plasma neurohormone levels correlate with left ventricular functional and morphological improvement in LVAD patients*. J Surg Res, 2005. 123(1): p. 25-32.
188. Siegenthaler, M.P., K. Brehm, T. Strecker, T. Hanke, A. Notzold, M. Olschewski, M. Weyand, H. Sievers, and F. Beyersdorf, *The Impella Recover microaxial left ventricular assist device reduces mortality for postcardiotomy failure: a three-center experience*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2004. 127(3): p. 812-22.
189. Garatti, A., T. Colombo, C. Russo, M. Lanfranconi, F. Milazzo, E. Catena, G. Bruschi, M. Frigerio, and E. Vitali, *Different applications for left ventricular mechanical support with the Impella Recover 100 microaxial blood pump*. J Heart Lung Transplant, 2005. 24(4): p. 481-5.
190. Kucuker, S.A., S.J. Stetson, K.A. Becker, A. Akgul, M. Loebe, J.A. Lafuente, G.P. Noon, M.M. Koerner, M.L. Entman, and G. Torre-Amione, *Evidence of improved right ventricular structure after LVAD support in patients with end-stage cardiomyopathy*. J Heart Lung Transplant, 2004. 23(1): p. 28-35.
191. Korup, E., D. Dalsgaard, O. Nyvad, T.M. Jensen, E. Toft, and J. Berning, *Comparison of degrees of left ventricular dilation within three hours and up to*

- six days after onset of first acute myocardial infarction*. Am J Cardiol, 1997. 80(4): p. 449-53.
192. Goldmann, C., A. Ghofrani, B. Hafemann, P. Fuchs, R. Khorram-Seffat, M. Afify, W. Kupper, and N. Pallua, *Combination anesthesia with ketamine and pentobarbital: a long-term porcine model*. Res Exp Med (Berl), 1999. 199(1): p. 35-50.

12. EIGENE VERÖFFENTLICHUNGEN

Originalarbeiten:

1. **Nef HM, Möllmann H, Kostin S, Troidl C, Voss S, Weber M, Dill T, Rolf A, Brandt R, Hamm CW, Elsässer A:** Tako-Tsubo cardiomyopathy: intraindividual structural analysis in the acute phase and after functional recovery. *Eur Heart J.* 2007 Oct;28(20): 2456-64.
2. **Nef HM, Möllmann H, Troidl C, Kostin S, Böttger T, Voss S, Hilpert P, Krause N, Weber M, Rolf A, Dill T, Schaper J, Hamm CW, Elsässer A:** Expression profiling of cardiac genes in Tako-Tsubo cardiomyopathy: insight into a new cardiac entity. *J Mol Cell Cardiol.* 2008 Feb;44(2):395-404.
3. **Nef HM, Möllmann H, Joseph A, Troidl C, Voss S, Kinscherf R, Vogt A, Weber M, Hamm CW, Elsässer A:** Reduction of neointimal hyperplasia in porcine coronary arteries by 2-Deoxy-D-Glucose. Submitted to *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*
4. **Nef HM, Möllmann H, Joseph A, Troidl C, Voss S, Vogt A, Weber M, Hamm CW, Elsässer A:** Effects of 2-Deoxy-D-Glucose on proliferation of vascular smooth muscle cells and endothelial cells. *J Int Med Res* (accepted).
5. **Nef HM, Möllmann H, Troidl C, Kostin S, Voss S, Hilpert P, Clostermann U, Rolf A, Weber M, Hamm CW, Elsässer A:** A disturbed Ca^{2+} -regulating system contributes to contractile dysfunction in Tako-Tsubo cardiomyopathy. Submitted to *J Mol Cell Cardiol.*

Prämierte Abstracts:

1. **Möllmann H, Nef HM, Voss S, Linz M, Oltenau C, Skwara W, Sperzel J, Elsässer A:** Asynchrone Stimulation des rechten Ventrikels durch einen DDD-Herzschrittmacher im Vergleich zur VVI-Stimulation zur Induktion einer Herzinsuffizienz im Schweinemodell. *Clin Res Cardiol* 2006 (95), suppl 5: P468
2. **Möllmann H, Nef H, Voss S, Troidl C, Klement M, Oltenau C, Weber M, Hamm CW, Kostin S, Elsässer A:** Natural tissue engineering. *Clin Res Cardiol* 2007, suppl 1: P1191
3. **Nef H, Möllmann H, Troidl C, Kostin S, Voss S, Hilpert P, Dill T, Hamm C, Elsässer A:** Tako-Tsubo-Kardiomyopathie: ein verändertes Calcium-regulierendes System als mögliche Ursache einer kontraktilen Dysfunktion. *Clin Res Cardiol* 2007 (96), suppl 2 (341).

Sonstige Abstracts:

1. **Voss, S, Möllmann H, Nef H, Elsässer A:** Implantation of a microaxial flow pump in a pig model of heart failure: hemodynamic and morphologic effects. *J Mol Cell Cardiol* 42 (2007) S149
2. **Voss, S, Möllmann H, Nef H, Elsässer A:** Asynchronous right ventricular DDD stimulation in comparison to VVI stimulation in a pig model. *J Mol Cell Cardiol* 42 (2007) S157
3. **Möllmann H, Nef H, Kostin S, Troidl C, Voss S, Klement M, Hamm CW, Weber M, Kostin S, Elsässer A:** Stem Cell-Mediated Intraventricular Natural Tissue Engineering. *J Am Coll Cardiol* 49 (2007) suppl (1): 1019-91
4. **Möllmann H, Nef H, Kostin S, Troidl C, Voss S, Weber M, Troidl K, Joseph A, Hamm CW, Elsässer A:** Knochenmarksstammzellen sind am myokardialen Alterungsprozess beteiligt. *Clin Res Cardiol* 2007 suppl (1): V987
5. **Möllmann H, Nef H, Voss S, Oltenau C, Lintz M, Kostin S, Troidl C, Sperzel J, Hamm C, Elsässer A:** Left ventricular desynchronization for the induction of heart failure in a pig model. *Eur Heart J* 2007 suppl: 4631
6. **Möllmann H, Nef H, Troidl C, Voss S, Kostin S, Klement M, Weber M, Hamm C, Elsässer A:** Natural tissue engineering. *Eur Heart J* 2007 suppl: 1406
7. **Möllmann H, Nef H, Kostin S, Voss S, Troidl C, Sass S, Weber M, Hamm CW, Elsässer A:** Bone marrow derived cells contribute to cell turnover in ageing murine hearts. *Eur Heart J* 2007 suppl: 1406
8. **Nef H, Möllmann H, Troidl C, Kostin S, Voss S, Hilpert P, Weber M, Dill T, Hamm CW, Elsässer A:** Alteration of calcium-regulatory proteins in Tako-Tsubo Cardiomyopathy: contribution to contractile dysfunction in the acute phase. *Eur Heart J* 2007 suppl: 2831
9. **Möllmann H, Nef H, Troidl C, Voss S, Heil M, Kostin S, Weber M, Hamm CW, Elsässer A:** Bone Marrow Derived Cells Contribute to Cell Turnover in Ageing Murine Hearts. *Circulation* 2007 (116): II-40
10. **Möllmann H, Nef HM, Voss S, Lintz M, Oltenau C, Kostin S, Troidl C, Skwara W, Sperzel J, Hamm CW, Elsässer A:** Akute Herzinsuffizienz: Vergleich kardialer Unterstützungssysteme. *Clin Res Cardiol* 2008, suppl 1: V88
11. **Möllmann H, Nef HM, Voss S, Troidl C, Klement M, Wilmer M, Kostin S, Weber M, Hamm CW, Elsässer A:** Stammzell-vermitteltes Wachstum eines differenzierten Gewebes. *Clin Res Cardiol* 2008, suppl 1: P1134
12. **Nef HM, Möllmann H, Joseph A, Voss S, Troidl C, Kinscherf A, Vogt A, Weber M, Hamm CW, Elsässer A:** Reduktion der neointimalen Hyperplasie nach Stentimplantation durch 2-Deoxy-Glucose im Schweinmodell. *Clin Res Cardiol* 2008, suppl 1: V1743

13. **Rolf A, Nef HM, Möllmann H, Kostin S, Voss S, Rixe J, Steiger H, Conradi G, Elsässer A, Hamm CW, Dill T:** Immunhistologische Grundlage des Lateenhancement Phänomens bei Tako Tsubo Patienten in der kardialen Magnetresonanztomographie. Clin Res Cardiol 2008, suppl 1: V98
14. **Nef HM, Möllmann H, Troidl C, Voss S, Hilpert P, Clostermann U, Krause N, Kostin S, Rolf A, Dill T, Weber M, Hamm CW, Elsässer A:** Ein aktivierter PIK3/AKT-Signalweg trägt zur Kardioprotektion in der Tako-Tsubo-Kardiomyopathie bei. Clin Res Cardiol 2008, suppl 1: V577
15. **Nef HM, Möllmann H, Troidl C, Voss S, Krause N, Hilpert P, Kostin S, Rolf A, Dill T, Weber M, Hamm CW, Elsässer A:** Tako-Tsubo Kardiomyopathie: der Einfluss von oxidativem Stress auf zelluläre Mechanismen. Clin Res Cardiol 2008, suppl 1: P563
16. **Troidl C, Möllmann H, Nef HM, Masselli F, Kostin S, Voss S, Clostermann U, Troidl K, Sass S, Rieschel M, Hamm CW, Elsässer A:** Identifizierung eines neuen myokardspezifischen Aktivierungstyps von Makrophagen nach Herzinfarkt im Mausmodell. Clin Res Cardiol 2008, suppl 1: P455

13. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Albrecht Elsässer (Kerckhoff-Klinik Bad Nauheim) für die Überlassung des interessanten Themas, die vorbildliche Betreuung des Projekts und seine stetige Diskussions- und Hilfsbereitschaft. Seine wertvollen Anregungen und das gute Arbeitsklima haben entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Herrn Prof. Dr. Martin Diener möchte ich ganz herzlich danken für die spontane Bereitschaft, die Arbeit von Seiten des Fachbereichs Veterinärmedizin der Universität Gießen zu betreuen, ebenso für die konstruktive Kritik beim Entstehen der Dissertation.

Ein ganz großes Danke! geht an Dr. Helge Möllmann und Dr. Holger Nef für ihre fortwährende tatkräftige Unterstützung und Motivation zu allen möglichen und unmöglichen Uhrzeiten, ihren Ideenreichtum und den Enthusiasmus, mit dem sie dieses Projekt und mich begleitet haben. Helge, danke für die akribische Durchsicht der Arbeit.

Beim Herzchirurgen Dr. Woitek Skwara möchte ich mich für die engagierte chirurgische Unterstützung bei den Biopsieentnahmen und Herzschrittmacherimplantationen bedanken. Dank auch an Dr. Johannes Sperzel für die Unterstützung bei allen elektrophysiologischen Fragestellungen.

Herrn Andreas Kuhl von der Firma Boston Scientific sei für die gute Kooperation und die zeitaufwendigen Schrittmacherprogrammierungen und –funktionstests gedankt.

Herrn PD Dr. Sawa Kostin danke ich für die fachspezifischen Ratschläge und anregenden Diskussionen auf dem Gebiet der Immunhistochemie. Herzlichen Dank auch an Frau Brigitte Matzke, die mich in die Geheimnisse der Immunhistologie eingeweiht hat, mir mit ihrer freundlichen Art und ihrem Humor im Labor zur Seite stand und mir bei der Arbeit am konfokalen Lasermikroskop sehr geholfen hat.

Frau Sigrun Sass sei für die Unterstützung bei der zügigen Probenkonservierung, die exzellente Arbeitsatmosphäre und die Etablierung der „Not-Milch“ gedankt.

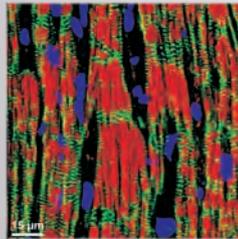
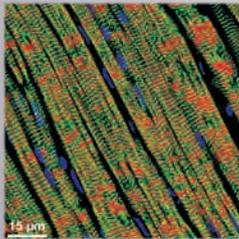
Den Doktoranden Matthias Lintz und Claudiu Oltenau danke ich für die Unterstützung im OP. Mit ihrem Engagement haben sie entscheidend zum Gelingen der mehrtägigen Anästhesien beigetragen.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Steinhauer, der verantwortungsbewusst und mit viel Engagement die Versuchsschweine betreute.

Meinem Namensvetter Frank Voß und Herrn Gerhard Stämmler aus der EDV-Abteilung möchte ich für die schnelle Behebung kleiner und großer Computerprobleme danken, für die Statistik-Tipps und nicht zuletzt für die Bereitstellung beträchtlicher Schokoladenmengen.

Ich danke den Herren Siegfried Langsdorf und Christoph Bingel für die stets zügige Hilfe bei allen technischen Fragen und Problemen.

Zuletzt möchte ich meinen Eltern größten Dank dafür aussprechen, dass sie mir diesen Werdegang ermöglicht haben und mich immer unterstützen, auch wenn sie vom „Geheimprojekt Dissertation“ bisher keine Kenntnis hatten.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

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

ISBN 3-8359-5312-5



9 783835 195312 3