

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. G. Ertl**

**Vergleich zwischen physiologisch versus pathologischer
linksventrikulärer Hypertrophie -
Eine Studie an drei Mausmodellen**

**Inaugural – Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius – Maximilians – Universität Würzburg
vorgelegt von
Sebastian Grünig
aus Düsseldorf**

Würzburg 2009

Referent : Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. W. R. Bauer
Koreferent: Prof. Dr. med. G. Ertl
Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 25.03.2010

Der Promovend ist Arzt.

Alles Wissen und alle Vermehrung unseres Wissens endet nicht mit einem Schlusspunkt, sondern mit Fragezeichen. Ein Plus an Wissen bedeutet ein Plus an Fragestellungen, und jede von Ihnen wird immer von neuen Fragestellungen abgelöst.

Hermann Hesse

**Zum Gedenken an Priv.-Doz. Dr. Frank Wiesmann,
und meinen Eltern in ewiger Dankbarkeit.**

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	1
1.1. Herzhypertrophie	1
1.2. Das Sportlerherz	6
1.3. Weitere Hypertrophieformen	8
1.4. Experimentelle Modelle zur Erforschung der linksventrikulären Hypertrophie	9
1.5. Magnetresonanztomographie	10
1.5.1. Physikalische Grundlagen	12
1.5.2. Bilderzeugung	13
1.5.3. Ausrüstung für NMR-Bildgebung	14
2. Eigene Untersuchungen	15
2.1. Zielvorstellung	15
2.2. Versuchstiere	16
2.2.1. Pathologische Herzhypertrophie bei β 1-transgenen Mäusen	16
2.2.2. Pathologische Herzhypertrophie durch Aortenbanding	16
2.2.3. Physiologische Herzhypertrophie durch Laufradtraining	17
2.3. NMR-Untersuchungen	17
2.3.1. Vorbereitung	17
2.3.1.1. NMR-Tomograph, Gradientensystem, Spule, EKG-Einheit	19
2.3.2. NMR-Messung	20
2.3.2.1. Schnittführung	21
2.3.3. Cine-ms des linken Ventrikels	21
2.4. Auswertung der Funktionsparameter	21
2.5. In-vivo Hämodynamik	23
2.6. Histologie	23
2.6.1. Kardiomyozytengröße	24
2.6.2. Kollagendarstellung	24
2.7. α -/ β -Myosin heavy chains	24

3. Ergebnisse	26
3.1. Klinischer Zustand und Mortalität	26
3.2. Gesamtübersicht	27
3.3. Laufstrecken der Laufradtiere	28
3.4. NMR-Untersuchungen	29
3.5. In-vivo hämodynamische Messungen mithilfe eines Linksherzkatheters	32
3.6. Linksventrikuläre Myokardmasse	34
3.7. Kardiomyozytengröße	36
3.8. Kollagendarstellung	37
3.9. Expression von α -/ β -Myosin heavy chains	38
4. Diskussion	39
4.1. Herzhypertrophie bei β 1-TG4 Mäusen	40
4.2. Herzhypertrophie durch Konstriktion der Aorta ascendens	43
4.3. Herzhypertrophie durch Laufradtraining	48
4.4. Vergleich zwischen physiologisch vs. pathologischer linksventrikulärer Hypertrophie	51
4.5. Limitation und Kritik	53
5. Zusammenfassung	55
6. Anhang	57
6.1. Literaturverzeichnis	57
6.2. Abkürzungsverzeichnis	70
6.3. Danksagung	
6.4. Lebenslauf	

1. Einleitung

1.1. Herzhypertrophie

Herzerkrankungen sind die häufigste Todesursache in den westlichen Industrienationen. Circa 1,5% bis 2% der Bevölkerung in den USA und ca. 6-10% der über 65 jährigen leiden an Symptomen einer Herzinsuffizienz. Die jährliche Letalität beträgt trotz Weiterentwicklung der Therapien ca. 5-10% bei Patienten mit leichter Symptomatik und bis zu 40% bei Patienten mit fortgeschrittener Herzinsuffizienz (Packer et al., 1999). Männer tragen dazu im Vergleich zu Frauen ein um etwa 50-75% erhöhtes Erkrankungsrisiko. Die Herzinsuffizienz gilt als das führende kardiologische Krankheitsbild des nächsten Jahrhunderts und gewinnt zunehmend an medizinischer und sozioökonomischer Bedeutung. Allein in Deutschland belaufen sich die durch die Krankheit verursachten Kosten auf mehr als 5,7 Milliarden Euro pro Jahr.

Ein wichtiger Prädiktor für das Auftreten einer Herzinsuffizienz ist eine linksventrikuläre Hypertrophie (Levy et al. 1990; Ghali et al. 1992). Nach der Cardiovascular-Health-Studie (De Simone et al. 2008) erhöht sich das Risiko für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz um 3% pro $1\text{g}/\text{m}^2$ bezogen auf den linksventrikulären Massenindex [43]. Werte über $95\text{g}/\text{cm}^2$ bei Frauen und $110\text{g}/\text{cm}^2$ bei Männern definieren eine linksventrikuläre Hypertrophie (Franz, 2002). Laut der 4 Jahres Inzidenz der Framingham-Studie sind die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität bei einer Erhöhung der LV-Masse auf über $140\text{g}/\text{m}^2$ signifikant erhöht.

LV-Masse (g/m^2)	Morbidität (% in 4 Jahren)	Mortalität (% in 4 Jahren)
Mann <90 >140	4,75 12,2	4,1 8,1
Frau <90 >140	4,1 16,1	2,6 6,8

Abb. 1: Kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität in Abhängigkeit von der linksventrikulären Muskelmasse (4 Jahres Inzidenz aus der Framingham-Studie)

Ein pathologisch erhöhter linksventrikulärer Massenindex kann in bevölkerungsbasierten Untersuchungen bei etwa 5% der Probanden gefunden werden, d.h. dass allein in Deutschland mehrere Millionen Menschen eine symptomatisch oder stumme linksventrikuläre Hypertrophie aufweisen.

1849 entdeckte und beschrieb der Wiener Pathologe Prof. Carl von Rokitansky als Erster ein hypertrophiertes Herz bei Patienten mit arterieller Hypertonie und benannte es aufgrund seines hohen Gewichts von 1000g als *cor bovinum*. Wird das Herz über einen längeren Zeitraum einer erhöhten Arbeitsbelastung, z.B. bei Leistungssport, bei Herzklappenerkrankungen oder bei hohem Blutdruck ausgesetzt, kommt es im Herzen zu strukturellen Anpassungsveränderungen in Form einer Herzhypertrophie. Hier nehmen die Dicke und Länge der Herzfasern zu, während die Anzahl der Fasern konstant bleibt. Als Folge kommt es zu einer Zunahme des Herzgewichtes. Bei zunehmendem myokardialen Durchmesser kommt es somit bei gleicher Kapillarisation zu einem ungünstigen Verhältnis von Muskelmasse zu Sauerstoffversorgung. Die Diffusionsstrecken für Sauerstoff werden immer größer und begrenzen damit die Größenzunahme des Herzens, so dass man von einem kritischen Herzgewicht (ca. 500g) spricht.

Normalerweise ist eine Herzhypertrophie ein reversibler Prozess, der sich binnen Wochen oder Monaten zurückbilden kann, wenn die Auslösefaktoren beseitigt werden oder nicht weiter bestehen. Wenn allerdings eine lang anhaltende Herzhypertrophie zu strukturellen Veränderungen wie einer interstitiellen Fibrosierung geführt hat, ist die Herzhypertrophie nur partiell reversibel. Nach einem Aortenklappenersatz kommt es zwar zu einer deutlichen Abnahme der Herzmuskelmasse, dagegen kommt es jedoch zu keiner vermehrten Regression des interstitiellen Kollagens. Möglicherweise ist dies ein zeitabhängiger Faktor, da das Fibroblastenwachstum erheblich langsamer von statten geht als das Gleichgewicht von Abbau und Aufbau des myokardialen Proteins [110].

Wird der Herzmuskel geschädigt oder einer erhöhten hämodynamischen Belastung ausgesetzt, kommt es, um ein gerechtes Schlagvolumen aufrechterhalten zu können, zu entsprechenden Anpassungsmechanismen im Herzen und im Kreislaufsystem. Diese bestehen aus einer Kontraktilitätssteigerung durch Erhöhung der Herzfrequenz (Bowditch-Effekt), Aktivierung des Frank-Starling-Mechanismus, Flüssigkeitsretention durch Aktivierung des

Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS), Erhöhung des peripheren Widerstandes durch gesteigerte Katecholaminausschüttung und letztlich Entwicklung einer Hypertrophie des Herzmuskels.

Bei der Herzhypertrophieentwicklung kann man drei Stadien unterscheiden:

1. **Entwicklung** der Hypertrophie: Die Arbeitsbelastung des Herzens überschreitet die für die normale Muskelmasse des Herzens typische Herzarbeit.
2. **Kompensationsphase**: Trotz des belastungsinduzierten Herzwachstums ist das Verhältnis von Herzmuskelmasse zu Herzarbeit ausgeglichen.
3. **Herzversagen**: Das Herz dilatiert progredient und ist nicht mehr in der Lage ein normales Herzzeitvolumen zu fördern.

Myokardhypertrophie ist keine uniforme Reaktion des Herzgewebes auf mechanische Belastung und neurohumorale Stimuli. Es besteht vielmehr eine ausgeprägte Heterogenität durch unterschiedliche Auslöser. Generell lassen sich zwei Formen der Herzhypertrophie unterscheiden:

Eine *exzentrische* Hypertrophie entsteht bei chronischer Volumenbelastung wie z.B. bei einer Mitralklappeninsuffizienz. Hier kommt es durch einen unzureichenden Mitralklappenschluss in der Systole zu einem Teilrückfluss des Blutes in den linken Vorhof. Um das gleiche Schlagvolumen trotz Regurgitation konstant zu halten, kommt es kompensatorisch zur Ausbildung einer exzentrischen Hypertrophie. Das Ventrikelvolumen vergrößert sich infolge einer Dilatation, die Wandspannung nimmt proportional mit dem Radius zu. Auf zellulärer Ebene kommt es zu einem Anbau von Sarkomeren in Serie sowie zu einer Längenzunahme der einzelnen Kardiomyozyten. Diese Form der Hypertrophie ist für eine längere Zeit relativ stabil gegenüber einer kardialen Dekompensation.

Eine *konzenzrische* Hypertrophie dagegen findet sich bei einer chronischen Druckbelastung wie einer arteriellen Hypertonie oder bei einer Aortenklappenstenose, bei der, um das Schlagvolumen aufrechterhalten zu können, eine größere Spannung aufzubringen ist. Die Wandspannung ist nach dem Laplac-Gesetz erhöht, der Kammerradius steigt jedoch nicht an. Die Druckbelastung führt zu einer parallelen Anordnung neuer Sarkomere mit Zunahme des Kardiomyozytendurchmessers. Im Gegensatz zur exzentrischen Hypertrophie ist die Form der Hypertrophie anfälliger gegenüber einer kardialen Dekompensation.

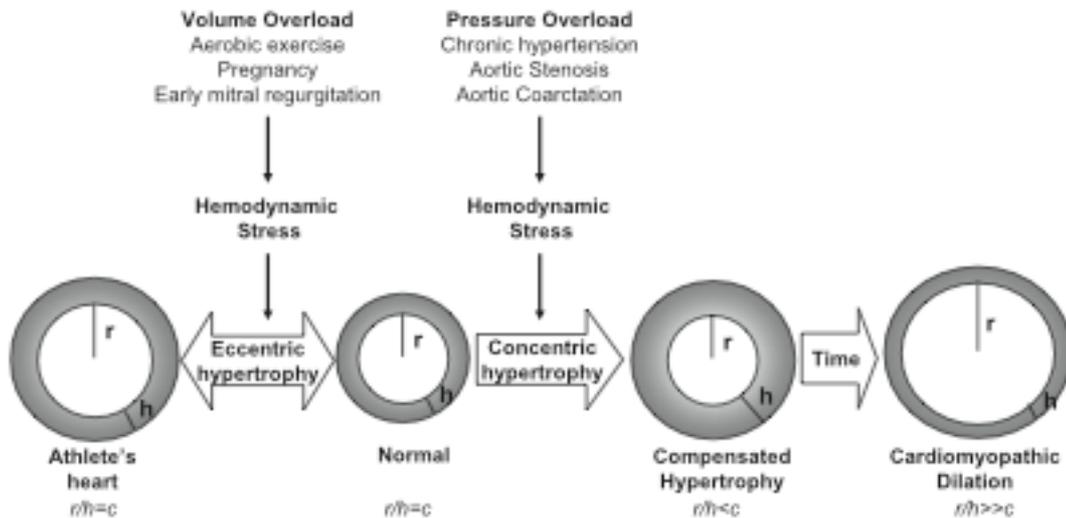


Abb. 2: Hypertrophieformen und ihr Einfluss auf Wandspannung (c), Innenradius (r) und Wanddicke (h). Aus *The Fuzzy Logic of Physiological Cardiac hypertrophy* von Gerald Dorn II (Hypertension 2007;49:962-970)

Im kompensierten Stadium haben diese Veränderungen in der Regel keine hämodynamische Relevanz. Wenn allerdings das Stadium der Dekompensation eintritt, werden klinische Zeichen einer Herzinsuffizienz wie ein Lungenödem, periphere Ödeme, Aszites, sowie Stauungshepatopathie deutlich.

Schon lange weiß man, dass eine linksventrikuläre Hypertrophie mit einer erhöhten Inzidenz kardialer Dekompensationen, dilatativer Kardiomyopathie, kardialer Arrhythmien und plötzlichem Herztod assoziiert ist [1,2]. Dass diese im Zuge einer Regression der linksventrikulären Hypertrophie gesenkt werden können, zeigte unter anderem die LIFE-Studie [3]. Hier konnte unter Therapie mit dem AT1-Rezeptorblocker Losartan im Vergleich zu dem Betablocker Atenolol innerhalb einer einjährigen Therapie eine deutliche Hypertrophie regression mit konsekutiver Mortalitätssenkung erreicht werden.

Der Herzmuskel wird durch die hypertrophen Zellen nicht nur in seiner Kontraktilität eingeschränkt, sondern auch in seiner Fähigkeit zur Relaxation, was sich sowohl in systolischen als auch in diastolischen Funktionsstörungen zeigt. Durch die gestörte linksventrikuläre Relaxation trägt die linksatriale Kontraktion stark zur Füllung des linken Ventrikels bei. Daher kommt es bei einem Vorhofflimmern zu einer deutlichen Verschlechterung der klinischen Symptomatik. Eine Tachykardie führt zudem zu einer

Verkürzung der diastolischen Füllungszeit und wirkt sich daher negativ auf die linksventrikuläre Funktion aus. Eine diastolische Funktionsstörung findet sich bei 70% der Patienten mit einer pathologischen Form der Herzhypertrophie. Diese frühe diastolische Füllungsbehinderung tritt in der Regel als erstes Zeichen einer kardialen Funktionsstörung noch vor Eintreten der systolischen Funktionsstörung ein. Wachtel et al. demonstrierten im Jahre 2002, dass eine Hypertrophieregression mit einer raschen Verbesserung der diastolischen Funktion einhergehen kann [44].

Auf dem Boden der Hypertrophie entstehen morphologische und elektrophysiologische Veränderungen, die zu lebensbedrohlichen ventrikulären Tachyarrhythmien aufgrund gesteigerter oder abnormer Automatie führen können. Verschiedene Studien gingen der Frage der Pathogenese der erhöhten Arrhythmieeigung bei linksventrikulärer Hypertrophie nach. Es konnte gezeigt werden, dass bei beiden Formen (konzentrische oder exzentrische Hypertrophie) unabhängig voneinander eine erhöhte Arrhythmieeigung vorliegt (Messerli et al., 1988). Die Framingham-Studie erbrachte den Hinweis, dass eine linksventrikuläre Hypertrophie bei Männern und Frauen mit einem erhöhten Risiko aller ventrikulärer Arrhythmiegrade assoziiert war. Tierexperimentell konnten White et al. 1986 nachweisen, dass schon eine Dehnung des linken Ventrikels zu einer erhöhten Arrhythmieeigung führt. Eine weitere Studie von Sideris et al. im Jahre 1987 bewies, dass die Arrhythmieeigung durch Reduktion der linksventrikulären Wandspannung infolge von Senkung des Blutdruckes vermindert werden kann [114].

Die reduzierte Kapillardichte (erniedrigte Koronarreserve) bei linksventrikulärer Hypertrophie begünstigt ebenfalls die Entstehung von ventrikulären Arrhythmien. Minderperfundierte Myokardareale haben sich als Ausgangsbezirk für Reentry-Mechanismen gezeigt, die zu ventrikulären Tachykardien und Kammerflimmern führen können. Strauer et al. konnten nachweisen, dass bei einem hypertrophierten Herz im Rahmen einer arteriellen Hypertonie die Arrhythmieinzidenz aufgrund der erhöhten Wandspannung signifikant erhöht ist. Reziprok gilt dies auch für die Ejektionsfraktion, die mit steigendem enddiastolischem Volumen bzw. steigender systolischer Wandspannung abnimmt. Bei abnehmender Ejektionsfraktion ist die Arrhythmieinzidenz daher ebenfalls signifikant gesteigert [45].

Ein durch arterielle Hypertonie hypertrophiertes Herz stellt zudem neben der koronaren Herzerkrankung die häufigste Ursache für stumme Myokardischämien dar. In Betracht

kommen ursächlich eine koronare Mikroangiopathie, ein gesteigerter myokardialer Energiebedarf sowie eine Zunahme der Diffusionsstrecke zwischen Kapillare und Kardiomyozyt [45]. Durch die Myokardischämien kommt es zu einer Verschlechterung der systolischen und diastolischen Ventrikelfunktion. Die myokardiale Komponente des Koronarwiderstandes steigt an, das Sauerstoffangebot des Herzens verschlechtert sich und der Circulus vitiosus schließt sich [45]. In einer prospektiven Studie an Hypertonikern konnten Aronow et al. zeigen, dass die kardiovaskuläre Letalität von Hypertonikern mit zusätzlicher linksventrikulärer Hypertrophie und transitorischer Ischämie deutlich höher war als bei Hypertonikern ohne zusätzliche Hypertrophie [113].

Die Veränderungen des zellulären Phänotyps werden durch die Reinduktion sogenannter fetaler/embryonaler Genprogramme begleitet [81]. Die Arbeiten der letzten Jahre haben gezeigt, dass eine mechanische Überlastung auf molekularer Ebene mehrere Signalwege aktiviert, die zu einer hypertrophen Antwort des Herzmuskels führen können [84]. Die charakteristische Expression fetaler/embryonaler Gene umfasst unter anderem ein Spektrum kontraktiler Proteine wie dem β -MHC (β -myosin heavy chain). Im hypertrophierten Herzen zeigt sich ein Isoformen-switch von der adulten α -MHC zur fetalen β -MHC Isoform [82]. In einer Arbeit von Esposito aus dem Jahre 2002 wurde in Mäusen eine Aortenstenose durch Konstriktion der Aorta ascendens erzeugt. Einer Gruppe fehlte ein bestimmter G-protein abhängiger Signalweg ($G\alpha_q$). Im Vergleich von Tieren mit intaktem $G\alpha_q$ und knock-out Mäusen ohne $G\alpha_q$ kam es bei den knock-out Mäusen zu einer weniger ausgeprägten linksventrikulären Hypertrophie und besseren linksventrikulären Funktion [65]. Durch die veränderte Expression der Myofilamente kam es zu einer Abnahme der linksventrikulären Kontraktilität. Die genaue Funktion und die Veränderungen auf zellulärer Ebene im Hypertrophieprozess sind aber bis heute nicht eindeutig geklärt.

1.2. Das Sportlerherz

Eine Form der linksventrikulären Hypertrophie findet sich beim Ausdauersportler. Im Jahre 1899 stellte der finnische Arzt Henschen erstmals perkutorisch bei Skilangläufern eine Herzvergrößerung dar und prägte den Begriff des *Sportlerherzens* [4]. Henschen konnte bei Ausdauersportlern generell größere Herzen feststellen und interdisziplinäre Unterschiede erkennen. Nach der Entdeckung der Röntgenstrahlung wurden die Athleten der olympischen

Spiele von Amsterdam im Jahre 1928 einer Röntgenreihenuntersuchung der Herzsilhouette unterzogen. Die Resultate bestätigten Henschens Forschungsergebnisse. Seit dieser Zeit hält die Diskussion an, ob diese Art der Hypertrophie einen physiologischen Zustand der Anpassung an das Körpertraining darstellt oder mit krankhaften Konsequenzen verbunden sein kann, insbesondere weil sich in der Presse Fälle von plötzlichen Herztodesfällen bei jungen Hochleistungssportlern mehren [5,6].

Noch herrscht Uneinigkeit darüber, ob Ausdauertraining zu einer exzentrischen oder konzentrischen Hypertrophie führt. Ausdauertraining wie Schwimmen oder Langstreckenlaufen führt zu einer chronischen Volumenbelastung, akutes isometrisches Training wie Gewichtheben führt zu einer Druckbelastung des Herzens.

In der Regel zeigt sich beim Sportlerherzen eine symmetrische Größenzunahme durch exzentrische Hypertrophie des Myokards mit Dilatation aller Herzhöhlen [7]. Das Verhältnis von enddiastolischem Volumen und Myokardmasse bleibt durch parallel verlaufende Ausprägung gleich, wichtige Funktionsparameter wie Verkürzungsfraktion, Auswurffraktion und maximale systolische Wandspannung sowie diastolische Funktionsparameter bleiben in der Regel im Normbereich [8]. Das kritische Herzgewicht von 500 g wird im Gegensatz zu den anderen Hypertrophieformen nicht überschritten.

Histologisch stellt sich das Sportlerherz durch eine Hypertrophie der Kardiomyozyten, Muskelfaserverlängerung sowie durch eine Vermehrung der Mitochondrien, Endothelzellen und Kapillaren dar. Anders als bei den pathologischen Formen der Hypertrophie kommt es nicht zu einer Zellhyperplasie und Vermehrung des interstitiellen Bindegewebes [9].

Die Herzhypertrophie des Sportlers ist von dynamischer Natur, sie kann sich schon wenige Wochen nach Beginn des körperlichen Trainings bilden und nach Beendigung ähnlich schnell zurückgehen [10]. In wenigen Fällen kommt es jedoch zu keiner kompletten Regression der linksventrikulären Hypertrophie nach Beendigung des Ausdauertrainings [104]. Diskutiert wird, ob bei einigen, schon im jungen Alter hochtrainierten Sportlern, eine erhöhte Ansprechbarkeit des Myokards besteht, sodass schon ein relativ geringer körperlicher Belastungsreiz ausreicht, eine Herzhypertrophie dauerhaft aufrechtzuerhalten.

Regelmäßiges Training führt zu einer verbesserten funktionellen Leistungsfähigkeit des Herzens mit größerem Schlagvolumen und erhöhtem Herzminutenvolumen. Darüber hinaus kommt es zu einer Verminderung der Sympathikusaktivität und Steigerung der

Parasympathikusaktivität. Dadurch kommt es zu einer Abnahme der Ruheherzfrequenz. Pluim konnte bei Leistungssportlern im Vergleich zu Patienten mit einer pathologischen Herzhypertrophie keine Einschränkung der Herzfrequenzvariabilität als möglichen Risikofaktor ventrikulärer Tachyarrhythmien feststellen [109]. In der Literatur herrscht weitgehende Einigkeit darüber, dass eine linksventrikuläre Hypertrophie durch Sport keinen Risikofaktor für eine erhöhte Inzidenz ventrikulärer Tachyarrhythmien oder ischämischer Ereignisse darstellt [99,101].

Der Begriff des *Sportlerherz* umfasst daher neben der physiologischen Hypertrophie auch die funktionellen vegetativen Anpassungen.

In der gängigen Praxis ist es schwierig, ein durch Ausdauersport hypertrophiertes Herz von einem pathologisch hypertrophierten Herz zu unterscheiden. Die hypertoniebedingte Hypertrophie stellt aufgrund der Häufigkeit in der Gesamtbevölkerung die am häufigsten vorkommende Differentialdiagnose dar. Zur Diagnosefindung bedient man sich den gängigen Methoden wie einer körperlichen Untersuchung, EKG-Hypertrophiezeichen wie dem Sokolow-Lyon Index, Echokardiographischer Parameter (LVEDD, IVS, EDV, ESV, E/A) und zunehmend auch der Kernspintomographie. Ein linksventrikulärer enddiastolischer Diameter (LVEDD) >60 mm oder eine Kammerdicke (IVS) >11 mm können unter anderem auf eine pathologisch bedingte Herzhypertrophie hinweisen [36,37,38].

Es existiert aber bis heute keine sichere invasive und nicht-invasive Technik zur Unterscheidung einer physiologischen von einer pathologischen linksventrikulären Hypertrophie [11,12].

1.3. Weitere Hypertrophieformen

Epidemiologisch zeigt sich bei 0,2 % der Bevölkerung das klinische Bild einer so genannten hypertrophischen Kardiomyopathie (HCM) [40]. Hierbei handelt es sich um eine idiopathische oder genetisch bedingte Hypertrophie im Septumbereich mit (HOCM) oder ohne Obstruktion (HNCM) der linksventrikulären Ausflussbahn. In 50 % der Fälle besteht eine genetische Disposition mit Mutationen des Troponin T oder der Myosin-Leichtketten [39].

Pathogenetisch besteht eine endsystolische Einengung der linksventrikulären Ausflussbahn sowie eine diastolische Funktionsstörung mit verminderter diastolischer Dehnbarkeit des Ventrikels. HCM Patienten erliegen häufig dem plötzlichen Herztod durch Auftreten von ventrikulären Tachyarrhythmien. In der Literatur werden 50% der plötzlichen Herztodesfälle bei jungen Leistungssportlern einer hypertrophen Kardiomyopathie zugeschrieben. Die Diagnose einer HCM ist bei den in der Mehrzahl beschwerdefreien Patienten häufig ein Zufallsbefund. Unterscheidungsmerkmal zu den Hypertrophieformen des Sportlers und des Hochdruckherzens sind u.a. eine asymmetrische Septumhypertrophie des linken Ventrikels mit sanduhrförmiger Einengung des linksventrikulären Ausflusstraktes, ein Strukturverlust (disarray) der Myozyten und Myofibrillen mit Fibrose und Mitochondrienvermehrung, sowie eine Intimaverdickung intramuraler Koronararterien [41]. Ferner sprechen kardiovaskuläre Symptome wie Angina pectoris, eine positive Familienanamnese und das Auftreten von bedrohlichen Herzrhythmusstörungen für eine HCM. Die Evidenzbasierte Therapie der Wahl ist die Implantation eines Cardioverter Defibrillators (ICD) zur Primärprophylaxe ventrikulärer Tachyarrhythmien. Schwierigkeiten bereitet die Differentialdiagnose zum Sportlerherz bei bis zu 2 % der Patienten mit einer in der Grauzone befindlichen linksventrikulären Wanddicke von 13-15mm [103].

Eine linksventrikuläre Hypertrophie kann außerdem bei lysosomalen Speichererkrankungen wie dem X-chromosomal vererbbaeren Morbus Fabry auftreten. In klinischen Untersuchungen an Männern mit linksventrikulärer Hypertrophie wurde bei 3% ein bisher unbekannter Morbus Fabry nachgewiesen [46]. Die Diagnose wird neben der Anamnese und den charakteristischen Hornhauttrübungen in den Augen durch eine verminderte α -Galaktosidase-A Aktivität im Serum gesichert. Warum es bei dieser Erkrankung aber zu einer linksventrikulären Hypertrophie kommt ist noch nicht hinreichend geklärt.

Auch eine Schwangerschaft kann im Rahmen der erhöhten Volumenbelastung zu einer reversiblen linksventrikulären Hypertrophie führen.

1.4. Experimentelle Modelle zur Erforschung der linksventrikulären Hypertrophie

Der Zusammenhang zwischen der linksventrikulären Masse und einer Drucksteigerung im großen Kreislauf wurde bereits 1846 von Bright erkannt. Im Jahre 1933 konnten Chanutin

und Barksdale durch Benutzung eines renovaskulären Modells der arteriellen Hypertonie erstmals einen Zusammenhang zwischen der druckinduzierten linksventrikulären Hypertrophie und des arteriellen Hochdrucks stellen (Chanutin, Barksdale 1933). Chanutin und Barksdale setzten dazu die Zunahme des Durchmessers der linksventrikulären Muskelfaser mit der Höhe des arteriellen Hochdrucks in einen direkten Zusammenhang. Laks konnte 1976 erstmals einen Zusammenhang zwischen erhöhten Katecholaminspiegeln und einer Herzhypertrophie sehen [111].

In der Zeit zwischen 1993-1997 wurden allein 1943 Tierstudien zur experimentellen Induktion einer Herzinsuffizienz und Herzhypertrophie veröffentlicht. Die meisten Studien wurden in dieser Zeit an Ratten durchgeführt (n=1082). Es gibt große Unterschiede zwischen den verschiedenen Tierspezies und Modellen, und nur wenige Modelle lassen sich direkt auf den Menschen übertragen. Zum Einsatz kommen sowohl eine Konstriktion der Aorta ascendens oder Pulmonalarterie als auch körperliche Aktivität im Sinne von Schwimm- oder Lauftraining [13,14,15,16,17]. Am Modell der spontan hypertensiven Ratte (SHR) sind zahlreiche pharmakologische Methoden getestet worden, die zeigen konnten, dass eine regelrechte Blutdruckabsenkung über 20 Therapiewochen zu einer signifikanten Hypertrophieregression führen kann [45].

Der Einsatz der Gentechnik hat wesentlich zum Verständnis der molekularen Mechanismen der Herzhypertrophie beigetragen. Zahlreiche Maus- und Rattenmodelle wurden seitdem etabliert. So führt beispielsweise ein knock-out des Sirt7, einem Proteinkodierenden Gen, das maßgeblich an der Kontrolle zellulärer Vorgänge bei der Zellalterung beteiligt ist, zu einer alterstypischen degenerativen Herzhypertrophie an der Maus [18].

1.5. Magnetresonanztomographie

Das Prinzip der Magnetresonanz wurde im Jahre 1946 von Bloch und Purcell unabhängig voneinander entdeckt. Sie erhielten für diese Theorie im Jahre 1952 den Nobelpreis für Physik. Erst später wurde auch die NMR-Bildgebung eingeführt. Erste Anwendungen am Menschen präsentierten Lauterbur und Mansfield in den frühen 70er Jahren [19,20]. Für diese Anwendung erhielten sie im Jahre 2003 den Nobelpreis für Medizin.

Durch Etablierung des Schnellbild-Verfahrens „flash“ (*fast low angle shot*) durch Haase und Frahm im Jahre 1985 [33] gelang ein Durchbruch in der NMR-Bildgebung. Dank des flash-Verfahrens reduzierten sich die damaligen Messzeiten um bis zu 2 Größenordnungen (Faktor 100) ohne Verlust an Bildqualität. Das Verfahren ermöglichte weiterhin eine ununterbrochene sequentielle Messung an dynamischen Objekten. Dadurch wurde der Weg für breite klinische Anwendungen frei. Bereits bei den zu Anfangszeiten der Magnetresonanzbildgebung basierenden Untersuchungen führte man spektroskopische in-vitro und in-vivo-Experimente an Herzen von Nagetieren durch. Nachdem 1994 verschiedene Studien die Durchführbarkeit der kardialen NMR-Bildgebung an der Maus zeigen konnten [21,22], war es die Arbeitsgruppe um Francis Siri, die 1997 erstmals linksventrikuläre Volumina mithilfe der NMR-Bildgebung quantifizieren konnte.

Die Arbeiten von Wiesmann und Ruff, die zwischen 1998 und 2002 veröffentlicht wurden, stellten die Grundlage der kardiovaskulären kernspintomographischen Bildgebung an der Maus dar [23,24,25,26,27,28,29]. Die Echokardiographie kann nur einen kleinen Teil des Myokards darstellen und die linksventrikuläre Masse nur ungenau schätzen. Außerdem lässt sich bei übergewichtigen Patienten mit breitem Thorax die Herzkammerdicke echokardiographisch nur schwer messen, und so lässt sich nur der Kernschatten der Herzwand und nicht die wirkliche Dicke des Herzens messen. Im Gegensatz dazu erlaubt die Magnetresonanzbildgebung die Berechnung des gesamten myokardialen Volumens durch Addition der Einzelschichten, unabhängig von geometrischen Vorbedingungen. Die NMR-Messungen korrelieren dazu eng mit autoptischen Bestimmungen der linksventrikulären myokardialen Masse [30].

Vorteile der Magnetresonanzbildgebung:

- Hohe zeitliche und örtliche Auflösung
- Unabhängigkeit von der Körperstatue des Patienten
- Nichtinvasive Evaluation der kompletten kardialen Anatomie und Funktion
- Keine Strahlenbelastung für den Patienten und Untersucher

Nachteile der Magnetresonanzbildgebung:

- NMR Technologie nicht überall verfügbar
- Schrittmacher/ Defibrillatoren/ Prothesen/ bestimmte künstliche Herzklappen kontraindiziert
- Nicht geeignet für Klaustrophobiker

Als nicht invasives Verfahren bei der Darstellung der myokardialen Anatomie, von Wandbewegungsstörungen, myokardialer Perfusion sowie Vitalität, von Herzklappenfehlern, und Analyse des Myokardstoffwechsels ohne Verwendung radioaktiver Tracer [47] gewinnt die Magnetresonanzbildgebung immer mehr an Bedeutung. Heute gilt die NMR-Bildgebung als Goldstandard in der Diagnostik bestimmter Kardiomyopathien wie beispielsweise der arrhythmogenen rechtsventrikulären Kardiomyopathie.

1.5.1. Physikalische Grundlagen

Die Magnetresonanz beruht auf den Eigenschaften von Atomkernen mit ungerader Nukleonenzahl. Da Wasser das häufigste Molekül im menschlichen Körper darstellt, eignet sich das Wasserstoffproton H^+ besonders zur Messung des Phänomens.

Jedes Proton besitzt einen Eigendrehimpuls (*Kernspin*). Seine positive Ladung bewegt sich mit einer stoffspezifischen Geschwindigkeit um die eigene Achse. Die bewegte elektrische Ladung induziert ihr eigenes magnetisches Dipolmoment. Im menschlichen Körper liegen diese Magnetfelder ungeordnet vor und kompensieren sich folglich. In einem starken äußeren Magnetfeld jedoch richten sich die magnetischen Dipole entlang der Feldlinien parallel oder antiparallel aus. Die Mehrzahl der Protonen nimmt die energetisch etwas günstigere Parallelposition ein, so dass eine messbare Nettomagnetisierung (*Längsmagnetisierung M_z*) entsteht.

Atomkerne mit ungerader Nukleonenzahl bewegen sich kreisförmig um die Längsachse des Magnetfeldes (*Präzession*). Das starke äußere Magnetfeld bestimmt die Geschwindigkeit und Frequenz in der die Ladung der Protonen rotiert. Diese Präzessions- oder *Lamorffrequenz*

hängt von einer stoffspezifischen Konstante (γ) und der Stärke des äußeren Magnetfeldes (B_0) ab und beträgt für die Wasserstoffprotonen 42,58 MHz pro Tesla (T).

$$\text{Lamorfrequenz } (\omega_0) = \gamma \times B_0$$

Ein Tesla entspricht etwa der 20.000 fachen Stärke des Magnetfeldes der Erde.

1.5.2. Bilderzeugung

Die Anregung der Protonen erfolgt durch einen definierten Hochfrequenz-Impuls, in dem die *Längsmagnetisierung* M_z um einen bestimmten Winkel in der xy-Ebene ausgelenkt wird. Dadurch entsteht eine messbare *Quermagnetisierung* M_{xy} . Gleichzeitig wird die *Präzessionsbewegung* synchronisiert. Die Protonen bewegen sich nun also nicht nur mit der gleichen Geschwindigkeit um die eigene Achse, sondern besitzen auch die gleiche Phasenlage. Unmittelbar nach der Anregung kehren die Protonen in den Grundzustand zurück. Dieser Vorgang nennt sich *Relaxation*. Dabei finden zeitgleich eine Rückkehr in die Längsmagnetisierung (*Längsrelaxation*) unter Energieabgabe an die Umgebung und eine Dephasierung der Präzessionsbewegung (*Querrelaxation*) ohne Energieabgabe statt.

Die Relaxationsvorgänge werden mathematisch durch gewebspezifische Zeitkonstanten beschrieben. Die Zeitkonstante der Längsrelaxation heißt T_1 oder *Spin-Gitter-Relaxationszeit* und beträgt 300-2000 ms. Sie ist abhängig von der Feldstärke und den anderen Molekülen und Ionen in der makroskopischen Probe [47]. Die Zeitkonstante der Querrelaxation heißt T_2 oder *Spin-Spin-Relaxationszeit* und beträgt 30-150 ms. Da der von den Protonen bei der Längsrelaxation ausgehende magnetische Impuls sehr klein ist, werden die Protonen mehrmals angeregt und die gemessenen Signale elektronisch gemittelt (*Averaging*). So werden das Rauschen eliminiert und die magnetischen Impulse messbar. Eine Folge mehrerer Hochfrequenzimpulse bezeichnet man als *Pulssequenz*.

Die Zeit zwischen zwei Anregungen heißt *Repetitionszeit* (TR), die Zeit zwischen Anregung und Signalaufnahme *Echozeit* (TE), beide gemessen in Millisekunden. Die Repetitionszeit beeinflusst die Stärke der longitudinalen Relaxation bis zur nächsten Anregung der Kerne, die Echozeit dagegen die Menge der transversalen Relaxation. Zur Ortskodierung magnetischer

Impulse überlagert man das Magnetfeld durch zusätzliche Magnetfelder, die *Gradientenfelder*. Ein Hochfrequenz-Impuls einer bestimmten *Lamorfrequenz* regt dann nur Protonen einer definierten Schicht an. Die Frequenz entspricht dann einem Ort im Gradientenfeld.

1.5.3. Ausrüstung für NMR-Bildgebung

Die wesentlichen Bestandteile eines Magnetresonanztomographen sind:

- Magnet
- Gradientenspule
- Hochfrequenzspulen
- Computersystem

Zur Erzeugung eines für die Bildgebung ausreichend großen und homogenen Magnetfeldes ist der Einsatz supraleitender Magnete nötig. Bei einer Temperatur nahe dem absoluten Nullpunkt ($4\text{ K} = -269^\circ\text{C}$) verlieren die Magnetspulen ihren elektrischen Widerstand. Dadurch nehmen nach einmaliger Energiezufuhr Stromfluss und magnetische Feldstärke nicht ab. Die niedrige Temperatur des Magneten wird durch Kühlung mit flüssigem Helium (LHe) und flüssigem Stickstoff (LN_2) erreicht. Zur Ortskodierung werden dem äußeren Magnetfeld während der Messung durch Gradientenspulen Magnetfelder geringer Feldstärke (z.B. 1-15mT) in den drei Raumebenen ($x/y/z$) überlagert. Zur Signalerzeugung werden mobile Hochfrequenzspulen dicht an die Oberfläche des zu untersuchenden Objektes gebracht. Nach einem definierten Hochfrequenzimpuls zur Anregung der Protonen in einem durch die Ortskodierung bestimmten Untersuchungsobjekt, nimmt die Spule das von den Protonen emittierte Signal auf und leitet es an das Computersystem zur Bildrekonstruktion weiter. Hier entstehen mit Hilfe eines Fourier-Transformations-Algorithmus entsprechende Graustufen, die sich als Bild darstellen lassen [47].

Für die kardiale Bildgebung benötigt man zusätzlich eine EKG- und Atemtriggerung, um Ateminduzierte Bewegungsartefakte zu reduzieren, und EKG- getriggerte definierte Bilder der Endsystole oder Enddiastole zu erhalten.

2. Eigene Untersuchungen

2.1. Zielvorstellung

In der gängigen Praxis ist es schwierig ein durch körperliches Training physiologisch hypertrophiertes Herz von einem pathologisch hypertrophierten Herz zu unterscheiden. Da sich immer mehr Menschen einem intensiven körperlichen Training unterziehen, hat die Differentialdiagnose im klinischen Alltag erhebliche therapeutische Konsequenzen. Noch herrscht Unklarheit darüber ob eine physiologische Herzhypertrophie per se nicht auch pathologisch ist.

Daher ist es von Nöten, Unterschiede und Gemeinsamkeiten der verschiedenen Herzhypertrophieformen genauer zu beschreiben und frühzeitig unterscheiden zu können.

In der vorliegenden Arbeit wurden drei experimentelle Mausmodelle der linksventrikulären Hypertrophie miteinander verglichen:

1. Pathologische Herzhypertrophie durch chronisch adrenergen Streß, bedingt durch 15 fache Überexpression des kardialen β_1 - Adrenorezeptor (gemessen im Alter von 4 Wochen)
2. Pathologische Herzhypertrophie durch chronische Druckbelastung mittels Aortenkonstriktion (Aortenbanding)
3. Physiologische Herzhypertrophie durch Lauftraining in einem Käfiginternen Laufrad

Die Tiere aller drei Gruppen wurden in Makrolonkäfigen mit Einstreu in pathogenfreien Brutschränken bei konstanter Umgebungstemperatur (20°C , $55 \pm 5\%$ relative Luftfeuchtigkeit) und einem 12 Stunden Tag-Nachtrhythmus gehalten. Futter und Wasser stand ad libidum zur Verfügung.

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß §8a des deutschen Tierschutzgesetzes bei der Regierung von Unterfranken genehmigt und angezeigt.

2.2. Versuchstiere

2.2.1. Pathologische Herzhypertrophie bei β 1- transgenen Mäuse

Verwendet wurden 5 männliche weiße Mäuse des Stammes β 1TG4 mit einer ca. 15 fachen Überexpression (gemessen im Alter von 4 Wochen) des menschlichen β 1- adrenergen Rezeptors, aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Würzburg. Die Generierung und die Haltung der Tiere wurde bereits von Engelhardt im Jahre 2001 beschrieben [31]. 4 weitere weiße Wildtyp- Mäuse dienten als Kontrollgruppe.

Das Alter der Tiere betrug zu Versuchsbeginn circa 40 Wochen.

2.2.2. Pathologische Herzhypertrophie durch Aortenbanding

Um ein Modell für linksventrikuläre Schädigung durch chronische Drucküberlastung abzubilden, wurden 25 männliche Mäuse des Stammes C57BL/6 (Charles River/Sulzfeld) im Alter von 4 Wochen durch Stenosierung der Aorta ascendens gebandet. Nach kurzer Narkoseeinleitung in einem mit Isofluran begasten Glasbehälter über eine Minute erfolgte eine Intubationsnarkose (ITN) mittels Isofluran. Der operative Zugang fand nach Hautrasur und Desinfektion über einen medianen Hautschnitt und Sternotomie statt. Daraufhin erfolgte die Präparation des Aortenbogens mit Darstellung des Abgangs des Truncus brachiocephalicus, der Arteria carotis communis sinister sowie der linken Arteria subclavia. Das Banding der Aorta im Arcus aortae erfolgte nach dem von Rockman et al. im Jahre 1991 beschriebenen Schema [32] kurz nach dem Abgang des Truncus brachiocephalicus. Eine 27 Gauge-Kanüle wurde als definierter Durchmesser in eine um die Aorta gelegte Fadenschlinge mit eingelegt. Nach Knoten des 7-0 Nylon-Fadens wurde die Kanüle entfernt, es entstand somit eine standardisierte Stenose mit einem Durchmesser von 0,4 mm, die einem Stenosegrad von etwa 65-70% entspricht. Die Operationswunde wurde mit Einzelknopfnähten verschlossen. Ca. 6 Wochen nach der Operation wurden die Tiere in die Versuchsserie aufgenommen.

Kontrolltiere aus der Läufergruppe dienten als Referenzen.

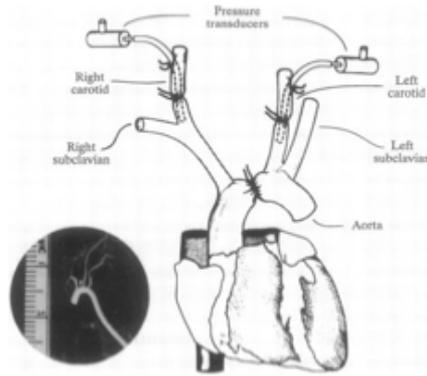


Abb. 3: Operatives Banding des Arcus aortae nach Rockman et al.

2.2.3. Physiologische Herzhypertrophie durch Laufradtraining

Im dritten Teil wurden 10 männliche Mäuse des Stammes C57BL/6 (Charles River/Sulzfeld) im Alter von 4 Wochen verwendet. Die Käfige waren zusätzlich mit einem Laufrad (Trixie Heimtierbedarf GmbH, Tarp, Deutschland) und einem mit dem Laufrad verbundenen handelsüblichen Fahrradtachometer (Prophete, Köln, Deutschland) ausgestattet.

Den Tieren wurden 8 Wochen Lauftraining gestattet. Täglich wurden die gelaufene Distanz, Gesundheitszustand des Tieres, sowie Funktionsfähigkeit des Laufrades zur selben Zeit gemessen und wöchentlich das Gewicht bestimmt.

5 weitere Mäuse des Stammes C57BL/6 dienten als Kontrolltiere. Sie wurden für die Zeit von 8 Wochen in Gruppen zu je fünf Tieren in Käfigen ohne Laufrad gehalten.

2.3. NMR Untersuchungen

2.3.1. Vorbereitung

Zu Beginn wurde jede Maus in einer Narkosebox bei 4,0 Vol% Isofluran (Forene®, Abbott GmbH, Wiesbaden, Germany) und 1,5 Litern/min Sauerstofffluss, geregelt über einen Isofluran Vapor 19.3 (Drägerwerke AG, Lübeck, Germany), narkotisiert. Bei Eintritt von

Schnappatmung und Fehlen von definierten Schmerzreizen wurde die Narkose schrittweise auf 1,5 Vol% Isofluran reduziert.

Die Maus wurde in Rückenlage auf eine der Größe angepasste Plastikschale gelegt, die gleichzeitig als Wärmekissen fungierte. Durch Regelung des Wärmekissens mittels einer Temperatur-Regelunit kann während der gesamten NMR-Datenaquisition eine Normothermie geschaffen werden, um die durch die Körpertemperatur beeinflussbare Herzfrequenz bis zu einem bestimmten Grad konstant zu halten. Um ein Austrocknen der Augen während der Untersuchung zu verhindern, wurden die Augen mit Bepanthen® Nasen- und Augensalbe (Hoffmann- La Roche AG, Germany) benetzt. Die Applikation der Narkose erfolgte mittels eines aus der Spitze einer 5ml-Spritze gefertigten Nasenkonus, und daran angeschlossenen Isofluran Vapor. Anschließend wurde Elektrodencreme (Fa. Marquette Hellige medical systems, Germany) auf die Vorderpfoten aufgetragen, an die im Anschluss aus selbstklebender Kupferfolie (Fa. 3M, 1,2 cm Breite) angefertigte Elektroden angebracht wurden, die über ein EKG-Kabel mit der im Institut entwickelten EKG-Einheit verbunden waren. Um das durch die Gradientenschaltung hervorgerufene Signalrauschen zu minimieren, wurde die von den Pfoten und den Kabelenden gebildete Schleife möglichst klein gehalten. Ein Atemballon zur Synchronisation von Atmung und EKG, welcher ebenfalls mit der EKG-Einheit verbunden war, wurde mit Klebeband auf dem Brustkorb der Maus befestigt.



Abb. 4: Narkotisierte Maus vor der Messung

2.3.1.1. NMR-Tomograph, Gradientensystem, Spule, EKG-Einheit

Die Messungen wurden im Institut für Experimentelle Physik 5 der Universität Würzburg an einem 7,05 Tesla (300 Mhz) Kernspintomographen BIOSPEC 70/30 der Firma BRUKER® (Karlsruhe, Germany) mit horizontaler Bohrung durchgeführt. Ausgestattet wurde das Gerät mit einem BRUKER® Gradientensystem G060 mit einer im Durchmesser messenden Öffnung von 60mm. Durch die maximale Gradientenstärke von 870 mT/m und einer Anstiegszeit von 280 μ s bietet das System die entsprechenden Voraussetzungen für die Ansprüche, die sich aus Größe des Mäuserzen, der hohen Herzfrequenz von 350-700 Schlägen/min und geforderter Bildqualität ergeben. Eine birdcage-Spule von 35mm Durchmesser, entstanden im Eigenbau des Instituts, diente zur Anregung und zum Empfang der Daten.

Die EKG-Einheit welche ebenfalls im Eigenbau des Instituts entstand, ermöglicht neben der Ableitung des EKGs, Filterung des durch das Magnetfeld gestörten EKG-Signals und Triggerung auf die R-Zacken auch eine Triggerung der Atmung. Diese wurde durch die größere EKG- Amplitude des Signals von der R-Zacken Triggerung ausgrenzt. Für die Dauer der Atmung konnte somit eine Ausblendzeit (delay) generiert werden, während dessen keine Datenaquisition stattfand [35].

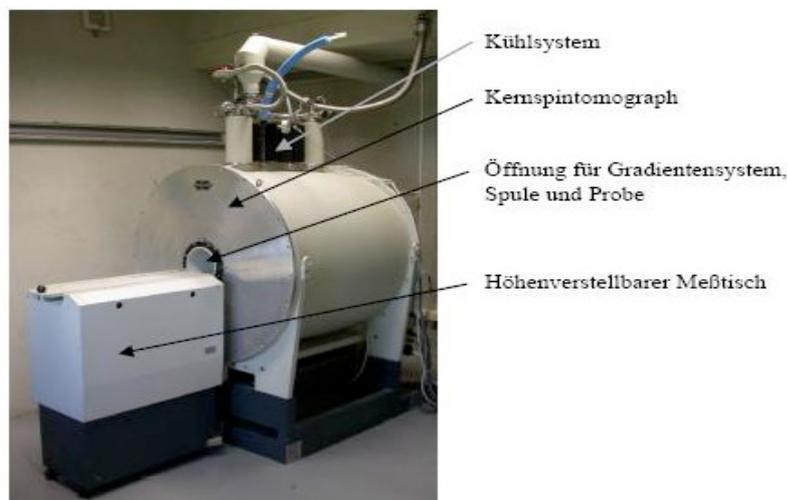


Abb. 5: BRUKER Biospec 70/30 Kernspintomograph



Abb. 6: BRUKER Mikroskopie Gradientensystem G60

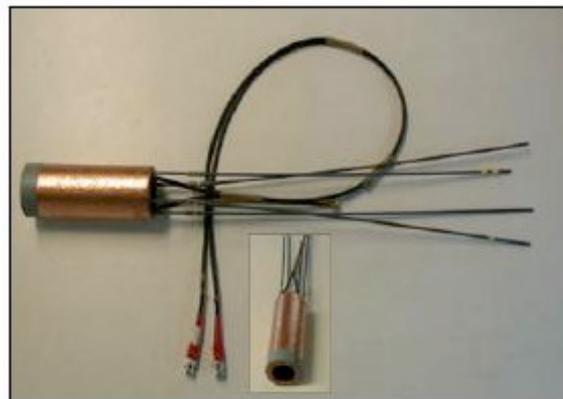


Abb. 7: Birdcage Transmitter Spule

2.3.2. NMR-Messung

Zur Planung der Schichten und der Bildgebung wurde die vom Institut entwickelte und modifizierte flat-low-angle-shot (flash-) Sequenz [33] verwendet. Um den korrekten ersten Transversalschnitt in Herzmitte zu erhalten, musste die Maus auf dem höhenverstellbaren Messtisch durch Verschieben in der Spule richtig positioniert werden.

Für die Schichtplanung wurde ein field of view (FOV) von $3,5 \text{ cm}^2$, eine Matrix von 128×128 Bildpunkten, eine Schichtdicke von $1,0 \text{ mm}$, eine Auflösung von $270 \mu\text{m}^2$, ein TE (Echozeit) von $1,5 \text{ ms}$ und ein TR (Repetitionszeit) von 4 ms eingestellt. Um für die anschließenden Makros der cine-ms (cine-multisclice) Messung eine bessere Bildqualität zu erreichen (verbesserte signal to noise ratio) wurden die folgenden Parameter gewählt:

FOV von 3,0 cm², TE 1,5ms, TR 4 ms, Matrix von 256×256 Bildpunkten, Schichtdicke 1,0 mm sowie Pixelgröße von 117µm².

2.3.2.1. Schnitfführung

Die Bildgewinnung erfolgte anhand eines standardisierten Protokolls. Nachdem die Maus im Tomographen positioniert, und das Magnetfeld manuell homogenisiert wurde (shimmen), erfolgte die Planung der Mittelschicht (Herzkurzachse) mithilfe des Computers durch Bildung der Achsen: 1. kurze Achse, 2. vertikale lange Achse und 3. Vierkammerblick. Mit einem weiteren Schnitt durch den linken Ventrikel konnte nun der Kurzachsenschnitt in der Herzmitte bestimmt werden. In korrekt bestimmten Herzkurzachsenschnitten stellte sich das linksventrikuläre Myokard kreisrund dar.

2.3.3. Cine-ms des linken Ventrikels

Nach Bestimmung des Herzkurzachsenschnittes in Herzmitte konnte die automatische Messung mit den voreingestellten Bildgebungsparametern (siehe oben) unter EKG- und Atemtriggerung begonnen werden. Abhängig von der Größe des linken Ventrikels wurden von der Herzkurzachse jeweils gleich viele Schichten 1mm nach kranial und kaudal gewählt (insgesamt 7 bis 11 Schichten), um die Begrenzung des gesamten linken Ventrikels darzustellen. Diese kontinuierlichen Kurzachsenschnitte sind Grundlage für die Volumetrie des linken Ventrikels. Je nach Herzfrequenz wurden 10-12 Bilder (frames) pro RR-Intervall gewählt. Die Messdauer pro Phasenkodierung beträgt ca. 60-90 Sekunden, also 4-6 Minuten pro Schicht. Die Messdauer inklusive automatischer Rekonstruktionszeit betrug pro Tier somit in etwa 28 bis 66 Minuten.

2.4. Auswertung der Funktionsparameter

Mit Hilfe der Bildbearbeitungssoftware IDL 5.2 (Research Systems Incorporation[®]) und einer speziellen Auswerteroutine, die am Lehrstuhl für Experimentelle Physik V entwickelt wurde [34], erfolgte die Segmentation der NMR-Bilder. Bestimmt wurden die linksventrikulären

Volumina. Die Bestimmung des enddiastolischen (EDV) und endsystolischen Volumen (ESV) erfolgt nach der Simpson-Methode [42]. Da diese Methode im Gegensatz zu anderen Verfahren wie der Flächen-Länge-Methode unabhängig von geometrischen Annahmen ist, spiegelt sie die Anatomie der Ventrikel am besten wieder.

Zur Bestimmung des Schlagvolumens (SV) wurden jeweils die enddiastolischen Volumina (EDV) und endsystolischen Volumina (ESV) der einzelnen Schichten addiert und die Differenz gebildet (EDV – ESV). Die Ejektionsfraktion (EF) in Prozent errechnet sich aus dem Verhältnis $SV/EDV \times 100$. Die Bestimmung des Herzzeitvolumens (HZV oder Cardiac output) erfolgte nach der Formel $HZV = SV \times$ mittlere Herzfrequenz und wurde in ml pro Minute angegeben.

Zunächst wurden mit Hilfe des Segmentationsprogramms in jeder Schicht das Endokard und Epikard in Enddiastole und Endsystole manuell umfahren. Daraus resultierte eine Maske, bestehend aus Pixeln, aus der zu jeder Schicht das jeweilige ventrikuläre Volumen abgeleitet werden konnte. Bei einer Pixelgröße von $117\mu\text{m}^2$ und einer Schichtdicke von 1mm ergibt sich ein Voxelvolumen von $117\mu\text{m}^2 \times 1\text{mm}$, welches mit Hilfe des Computers in μl für Blutvolumina umgerechnet wurde.

Trotz ausreichender Vergrößerung stellte sich die Segmentation der Daten durch Software-Probleme teilweise als relativ schwierig dar und musste mehrfach intraobserv wiederholt werden.

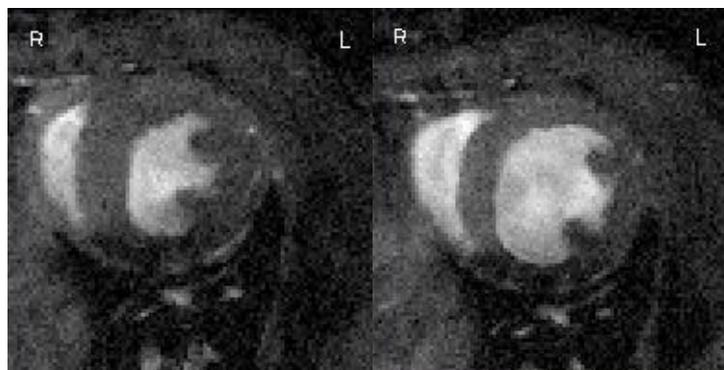


Abb. 8: Endsystolisches (links) und Enddiastolisches (rechts) frame einer Laufradmaus

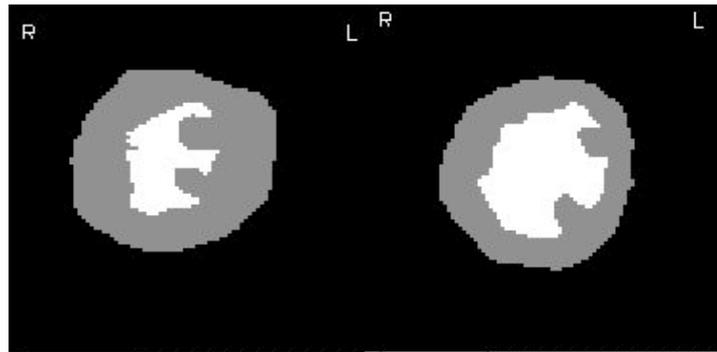


Abb. 9: Segmentierter Datensatz: Endsystole (links) und Enddiastole (rechts) einer Laufradmaus

2.5. In-vivo Hämodynamik mithilfe eines Linksherzkatheters

Nach Abschluss der kernspintomographischen Messungen wurden die Tiere einer invasiven hämodynamischen Messung unterzogen. Dazu wurden die Mäuse mit Tribromethanol i.p. anästhesiert. Nach Freipräparation der rechten Arteria carotis communis unter dem Operationsmikroskop wurde ein Mikromanometer Katheter (Miliar instruments®, Houston, USA) von 1,4French mit Druckaufnehmer an der Spitze in den linken Ventrikel vorgeschoben. Die Drucksignale konnten auf einem Bildschirm verfolgt werden. Im linken Ventrikel erfolgte die Registrierung der Herzfrequenz (bpm) und der Geschwindigkeit des linksventrikulären Druckanstiegs (dp/dt_{\max}) sowie des Druckabfalls (dp/dt_{\min}) als Maß für die diastolische Relaxation des linken Ventrikels.

2.6. Histologie

Die Tiere wurden durch eine Überdosis Isofluran getötet. Nach Begutachtung auf Zeichen einer Herzinsuffizienz wie Pleuraergüssen oder dilatierten Ventrikeln sowie gelösten Aortenbanding-Fäden wurden die schlagenden Herzen in toto entnommen, in 0°C kaltem Phosphatpuffer von Blut befreit, und der linke Ventrikel abgetrennt und gewogen. Der linksventrikuläre Massenindex zur Hypertrophiebeurteilung (LVMI) errechnet sich aus dem Verhältnis der linksventrikulären Masse in mg zum Körpergewicht der Maus in g.

In PBS- gepuffertem Paraformaldehyd fixiert wurde das Gewebe in Paraffin eingebettet und geschnitten.

Einige 5µm- Schnitte wurden mit Hämatoxylin/Eosin (HE) gefärbt um die Größe der Kardiomyozyten zu analysieren und die Kernmorphologie zu beurteilen.

2.6.1. Kardiomyozytengröße

Zur Morphometriebestimmung der Kardiomyozyten wurden die HE-gefärbten Schnitte digital fotografiert (Nikon® coolpix) und die Querschnittsflächen orthograd getroffener Kardiomyozyten mithilfe eines Bildbearbeitungsprogramms (Sigmascan Scan Pro5®) ausgemessen. Hierzu wurden pro Herz jeweils 3 Schnittebenen, nämlich Herzspitze, Mitte des Herzens und Herzbasis ausgewählt. Eingeschlossen wurden Kardiomyozyten mit mittigem Zellkern. Die Messwerte wurden in Pixeln angegeben und konnten mithilfe einer Exceltabelle ausgewertet werden.

2.6.2. Kollagendarstellung

Weitere 5µm- Schnitte wurden mittels Picro-Sirius-Rot (PSR) gefärbt, um das interstitielle Bindegewebe im Herzmuskel darzustellen. Die Betrachtung erfolgte mithilfe eines Polarisationsmikroskops der Firma Olympus im Durchlichtverfahren (Melville, NY, USA) sowie mittels eines Polarisationsfilters der Firma Visitron (Visitron Systems GmbH, Puchheim, Deutschland).

2.7. α -/ β -Myosin heavy chains

Zur Bestimmung der kardialen α - und β - Myosin heavy chains wurden post mortem bei -80°C schockgefrorene Gewebsproben aus dem linken Ventrikel der Tiere in 400 µl 0° kaltem Puffer homogenisiert (0.3 M NaCl, 0.1M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 50 mM Na_2HPO_4 , 10 mM Natrium Pyrophosphat, 1 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10 mM EDTA, pH 7.4), wobei ein Proteasinh inhibitor zugegeben wurde (Hoffmann LaRoche). Das homogenisierte Gewebe wurde für 30 min bei 4°C und 15000 g zentrifugiert, der Überstand abpipettiert, und aliquotiert bei -80°C weggefroren. Die Proteinkonzentration wurde mit Hilfe des Bradford-Assays bestimmt (BioRad). Für die Elektrophorese selbst wurden 0,5 µg Protein benötigt. Diese

Probe wurde zuerst bei 95°C für 5 min in 2x Laemmli Sample Puffer (BioRad) gekocht, welcher 5% Mercaptoethanol enthielt. Die Probenauftrennung erfolgte in vertikal positionierten Gelen (Multigel Long system, Biometra), in welchen ein 6%iges Trenngel (5% glycerol, 6% acrylamide/bisacrylamide (50:1), 0.2 M Tris (pH 8.8), 0.1 M Glycin, 0.4% SDS, 0.05% TEMED, 0.1% APS) und ein 4%iges Sammelgel (5% Glycerol, 4% Acrylamide/Bisacrylamid (50:1), 0.07 M Tris (pH 6.8), 4 mM EDTA, 0.4% SDS, 0.05% TEMED, 0.1% APS) geschichtet waren. Der Elektrophoresepuffer enthielt 25 mM Tris, 192 mM Glycin und 0,1% SDS. Vor dem Laufenlassen des Gels bei 200 V über 30 Stunden wurden 800 µl/l Mercaptoethanol zu der Oberphase des Puffers gegeben. Danach wurden die Gele mit Silber versetzt (Silver Stain Plus kit, BioRad®), eingescannt und am Computer mit Hilfe des Programms Scan Pack 3.0 ausgewertet.

3. Ergebnisse

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Programms Winstat 3.11 (Kalmia Co. Inc., Cambridge, USA) für Windows XP® sowie Microsoft Excel 2004® für Mac. Alle Resultate wurden mithilfe des U-Tests für unabhängige Stichproben auf eine statistische Signifikanz überprüft. Dabei gilt ein p-Wert <0,05 als statistisch signifikant. Die Mittelwerte sind jeweils mit der dazugehörigen Standardabweichung (\pm SEM) angegeben.

3.1. Klinischer Zustand und Mortalität

	β 1-TG4	β 1-WT	Läufer	Läufer-Referenz	AOB
Vor den Messungen	N=5	N=4	N=10	N=5	N=25
Nach den Messungen	N=5	N=4	N=9	N=4	N=10 (8)

Abb. 11: Tierbestand vor und nach den Messungen

Bei drei der β 1-TG4 Tiere zeigten sich autoptisch Zeichen einer Herzinsuffizienz mit Pleuraergüssen, sowie massiv dilatierten linken Vorhöfen und vergrößerten porösen Lungen (Lungengewicht: 0,462g vs. 0,200g beim Wildtyp). Die Gruppe der Aortenbandingtiere zeigte bei 25 operierten Tieren eine hohe Gesamtmortalität von 60%. 5 Tiere starben direkt postoperativ, weitere 10 in der Narkose während der NMR-Messung. Bei zwei Tieren zeigte sich autoptisch ein gelöster Faden um den Arcus aortae. Diese Tiere wurden von der Auswertung ausgeschlossen. In der Gruppe der Laufradtier und den Schläfern verstarb jeweils ein Tier vor Beginn der kernspintomographischen Messungen aus unbekannter Ursache.

3.2. Gesamtübersicht

	AOB	β1-TG4	β1-WT	Läufer	Schläfer
Gewicht (g)	24,8 ± 2,4	32,8 ± 3,4	38,6 ± 3,8	27,2 ± 1,4	26,5 ± 0,5
LV (g)	0,14 ± 0,03	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,01
LVMI (mg/g)	5,8 ± 1,8	4,3 ± 0,5	3,3 ± 0,2	3,7 ± 0,3	3,5 ± 0,5
HF (bpm)	547,1 ± 82,6	486,2 ± 66,3	532,9 ± 37,9	542,1 ± 46,8	541,5 ± 37,2
dp/dtmax (mmHg)	9060,9 ± 3649	5976,8 ± 1602,5	12297,8 ± 1200,1	12998,6 ± 2526,5	13071 ± 2261,1
dp/dtmin (mmHg)	6759,9 ± 2625,4	3594,9 ± 1414,5	9860,6 ± 403	9093,0 ± 1139,8	9921,5 ± 1444,1
ESV (μl)	33,4 ± 4,3	94,3 ± 12,4	30,5 ± 6,1	21,2 ± 5,2	24,5 ± 3,5
EDV (μl)	57,3 ± 8,7	111,2 ± 11,2	69,8 ± 7,3	53,5 ± 5,9	58,8 ± 3,2
SV (μl)	23,9 ± 6,0	16,9 ± 3,7	39,3 ± 12,1	32,3 ± 1,5	34,3 ± 1,5
EF (%)	41,4 ± 5,6	15,4 ± 3,9	55,4 ± 12,9	60,9 ± 5,7	58,6 ± 4,2
CO (ml/min)	13,2 ± 3,6	8,1 ± 1,3	21,2 ± 7,8	17,8 ± 1,9	18,2 ± 2,1
Myozytengröße (μm ²)	277,3 ± 39,0	489,6 ± 35,2	240,6 ± 30,2	226,1 ± 15,0	204 ± 7,4

Abb. 10: Gesamtübersicht, Messwerte dargestellt als Mittelwert plus jeweilige Standardabweichung (±SEM)

3.3. Laufstrecken der Laufradtiere

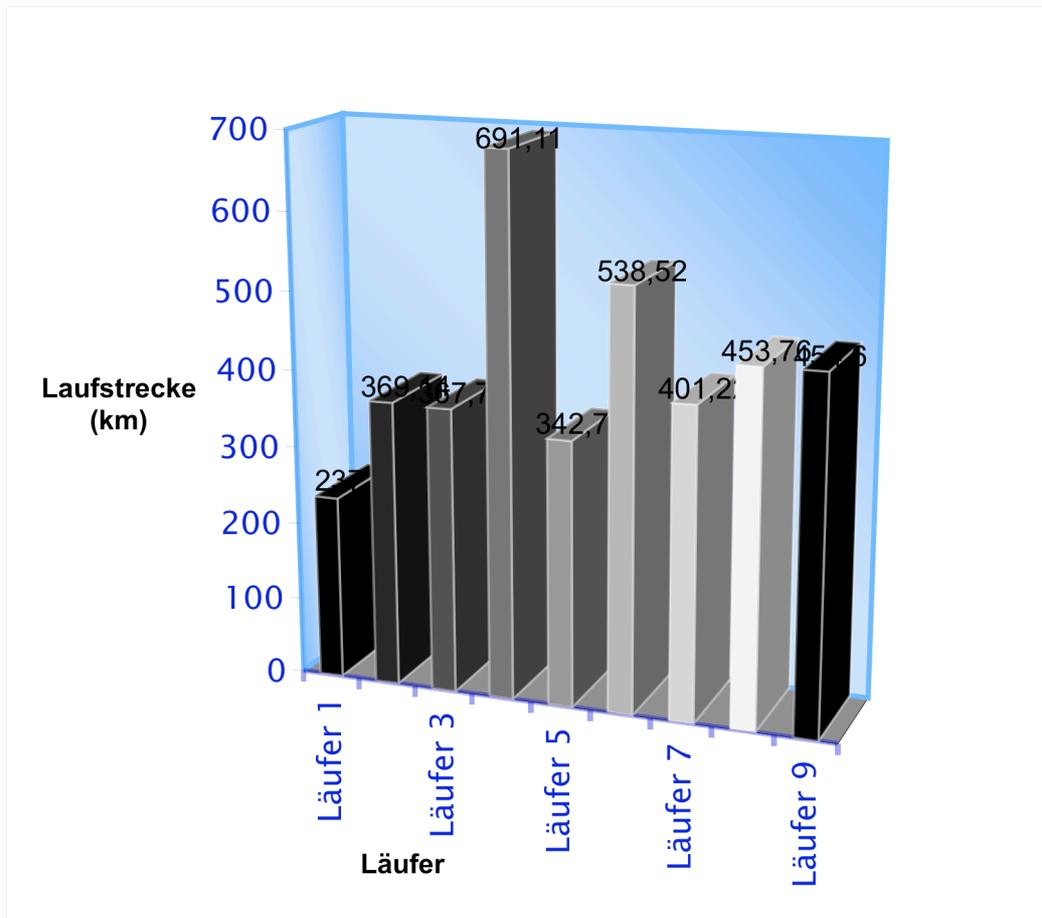


Abb. 12: Absolute Laufstrecke der Läufertiere (km)

Nach der vorgegebenen Laufzeit von 8 Wochen zeigte sich eine vorwiegend während den Nachtstunden durchgeführte durchschnittliche Gesamtlaufstrecke von $428,5 \pm 129,4$ km. Dabei war die Laufstrecke des Tieres L1 trotz Ausschluss von externen Fehlerquellen am Laufrad und dem Tachometer sowie einem regelrechtem Gesundheitszustand mit $237,9 \pm 0,6$ km am niedrigsten.

3.4. NMR-Untersuchungen

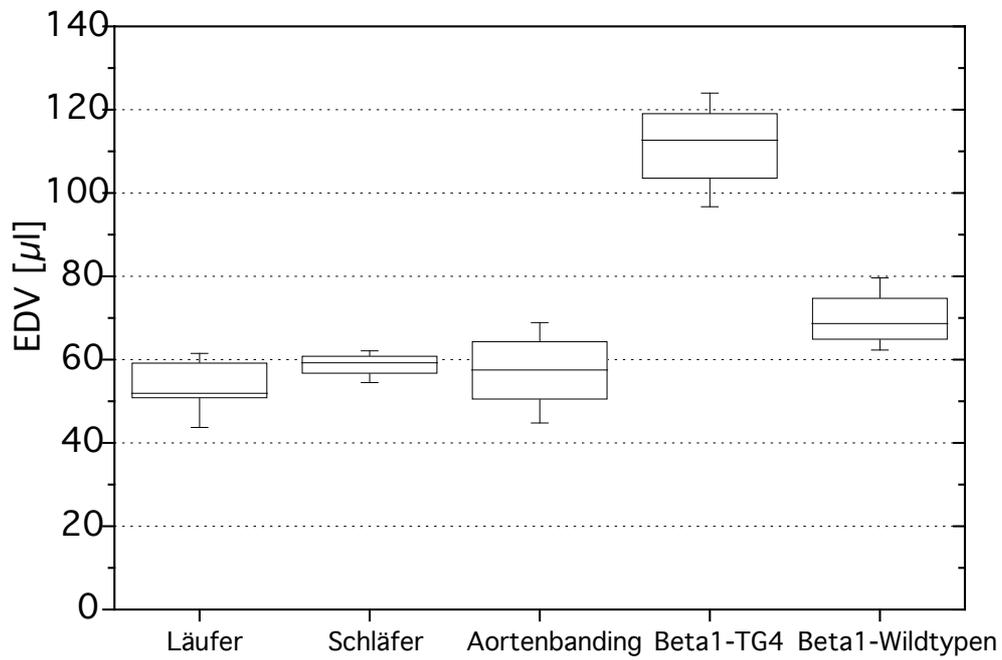


Abb. 13: Enddiastolische Volumina (µl)

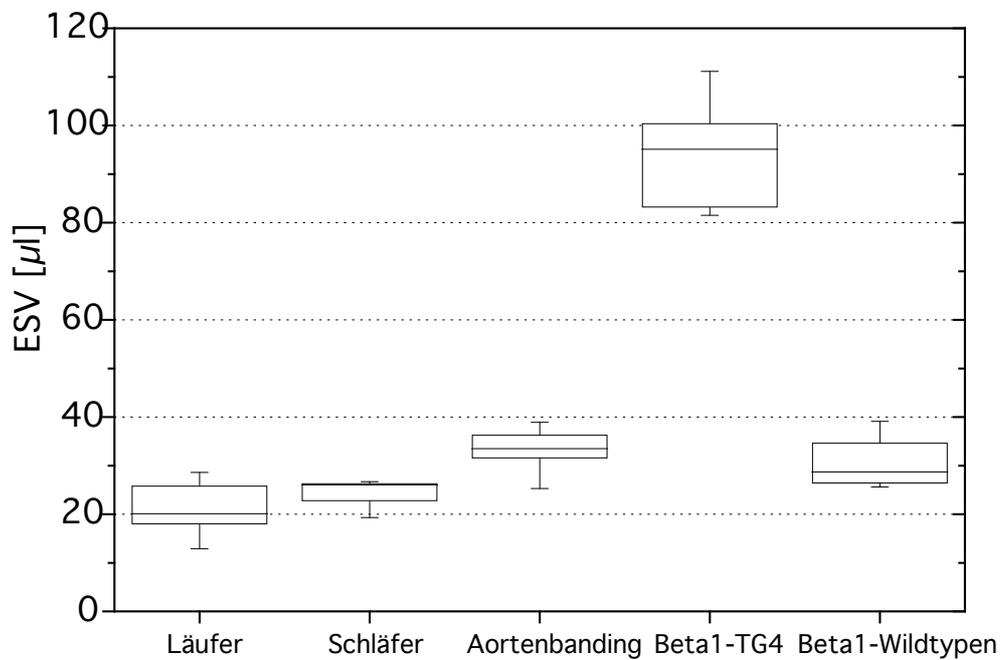


Abb. 14: Endsystolische Volumina (µl)

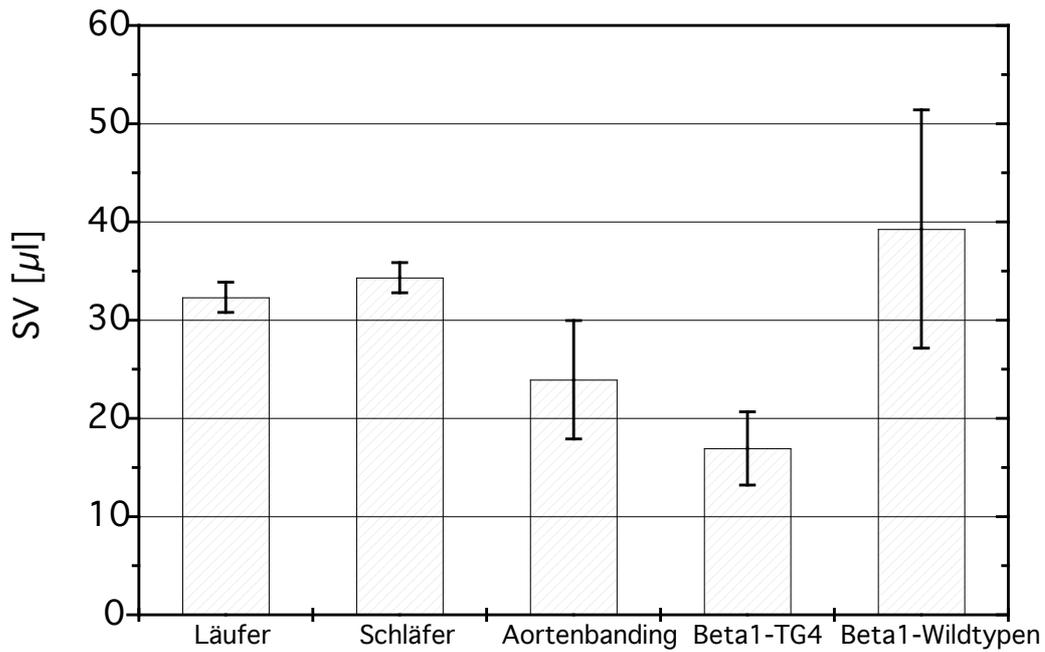


Abb. 15: Linksventrikuläres Schlagvolumen (μl)

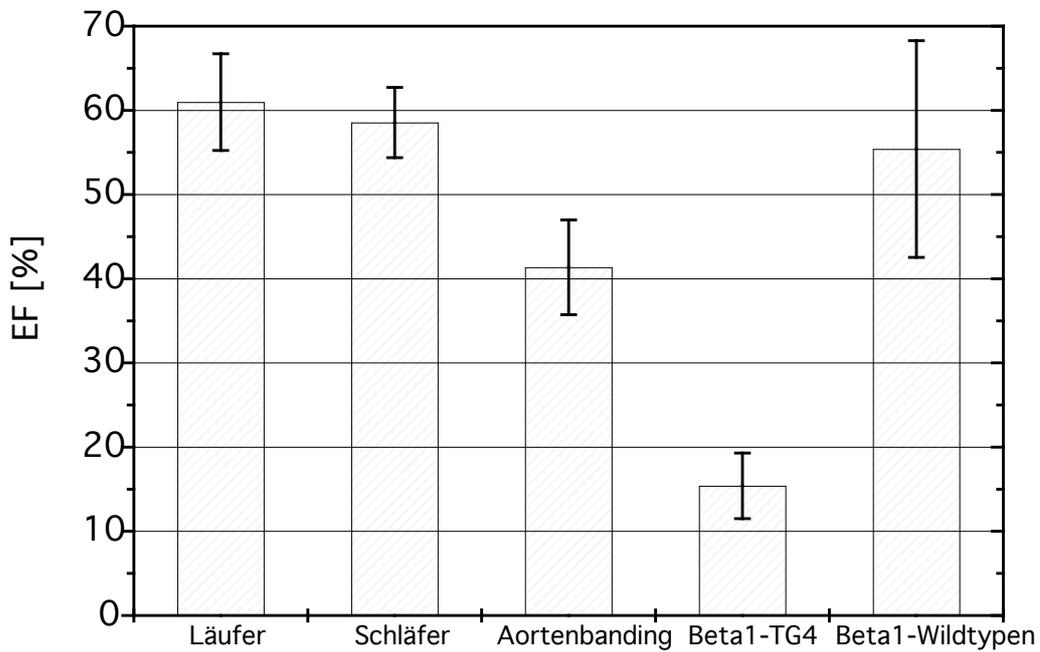


Abb. 16: Ejektionsfraktion (%)

Mithilfe der Kernspintomographie lassen sich an der narkotisierten Maus die linksventrikulären Volumina durch Verwendung der Simpson-Methode bestimmen. Durch

Multiplikation der Voxelanzahl von Enddiastole und Endsystole mit dem Voxelvolumen von $0,137\mu\text{l}$ erhält man das entsprechende Volumen in μl . Eine chronisch adrenerge Überstimulation mit Entwicklung einer linksventrikulären Hypertrophie und Dilatation führt zu einer signifikanten Erhöhung der endsystolischen und enddiastolischen Volumina, daraus resultierendem reduziertem Schlagvolumen und hochgradig reduzierter linksventrikulärer Ejektionsfraktion (EDV, ESV, SV, EF jeweils $p < 0,05$). Die Aortenbandtiere zeigen nach sechs Wochen im Gegensatz zu den Schläfern ebenfalls eine Erhöhung von Enddiastolischen und Endsystolischen Volumina mit reduziertem Schlagvolumen und mittelgradig eingeschränkter linksventrikulärer Ejektionsfraktion (EDV, ESV, SV, EF jeweils $p < 0,05$). Im Gegensatz zu den pathologischen Formen des hypertrophierten Herzens führt ein Laufradtraining nach 8 Wochen zu keinen signifikanten Veränderungen der Kernspintomographisch ermittelten linksventrikulären Parameter gegenüber den Schläfern (EDV $p = 0,12$; ESV $p = 0,27$; SV $p = 0,05$; EF $p = 0,47$).

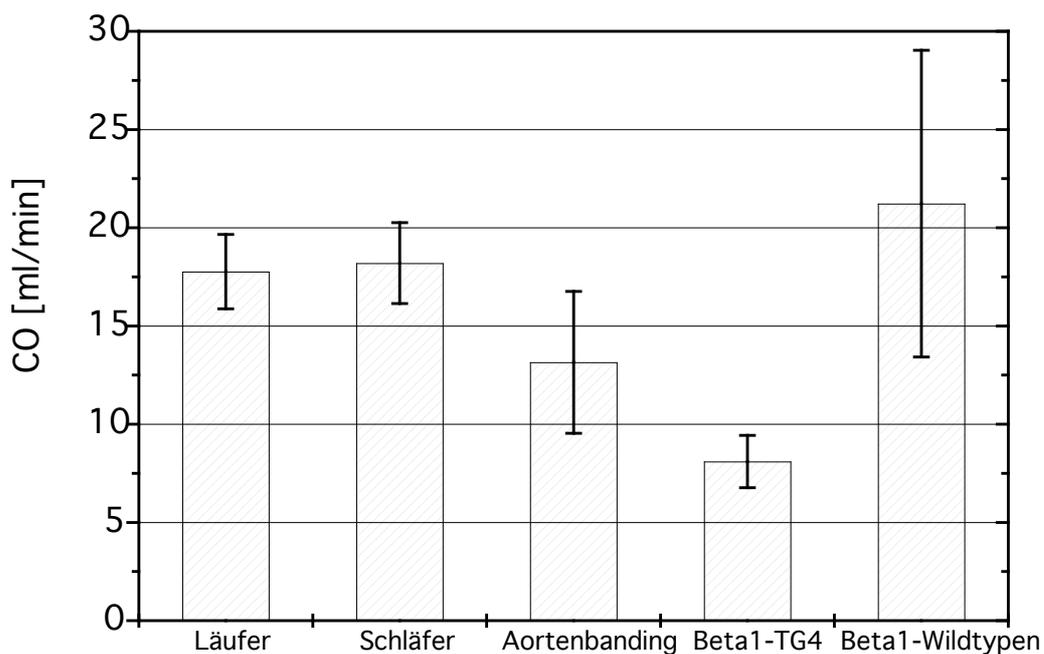


Abb. 17: Herzminutenvolumen (ml/min)

Das Herzminutenvolumen errechnet sich aus dem Verhältnis des linksventrikulären Schlagvolumens (μl) zur mittleren Herzfrequenz (Schläge/min). Mit Hilfe des Wärmekissens konnte während der Messung eine nahezu konstante Herzfrequenz gehalten werden ($540 \pm 63,1$ Schläge/min). Hier zeigt sich bei den pathologischen Formen der linksventrikulären

Hypertrophie eine statistisch signifikante Reduktion des Herzminutenvolumens im Gegensatz zu den Schläfern und Beta1-Wildtypen ($p < 0,05$).

Laufradmäuse und Schläfer hingegen unterscheiden sich kaum hinsichtlich ihres Herzminutenvolumens ($p = 0,38$).

3.5. In-vivo hämodynamische Messung mithilfe eines Linksherzkatheters

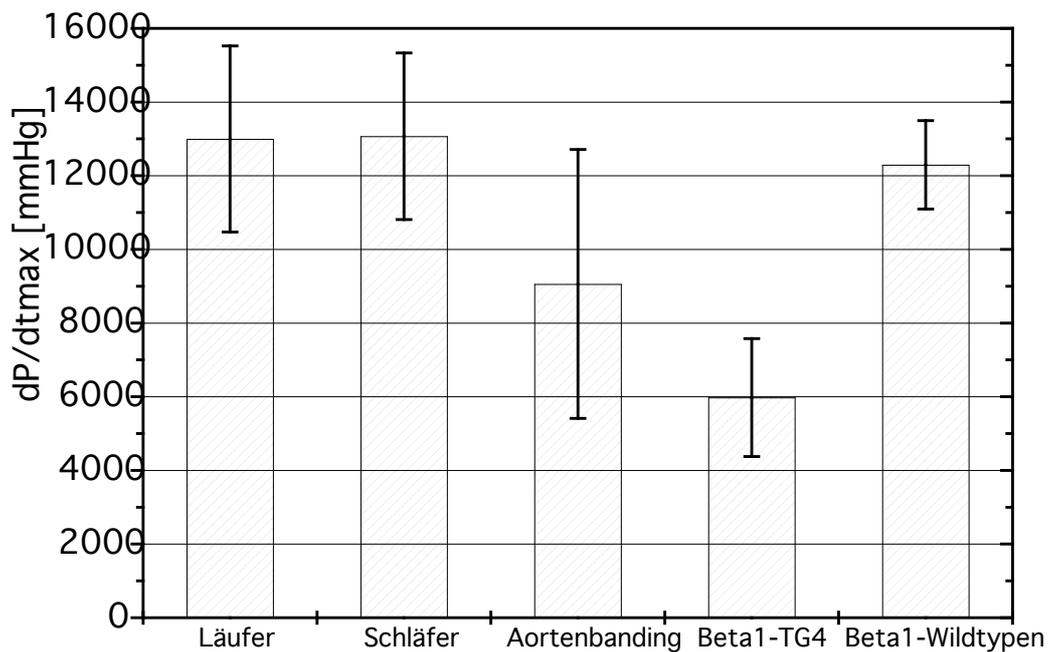


Abb. 18: In-vivo hämodynamische Messung zur Bestimmung der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit dP/dt max (mmHg/sec)

Mithilfe eines Linksherzkatheters wurde die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit dP/dt max (mmHg/sec) als Maß für die Kontraktilität des linken Ventrikels gemessen.

Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, führt eine chronische Druckbelastung durch Aortenkonstriktion, wie auch eine chronische adrenerge Überstimulation der β_1 -Rezeptoren zu einer Verschlechterung der linksventrikulären Kontraktionsgeschwindigkeit ($p < 0,05$). Ein Lauftraining induziert keine signifikante Veränderung der linksventrikulären Kontraktionsgeschwindigkeit gegenüber den Schläfern ($p = 0,43$).

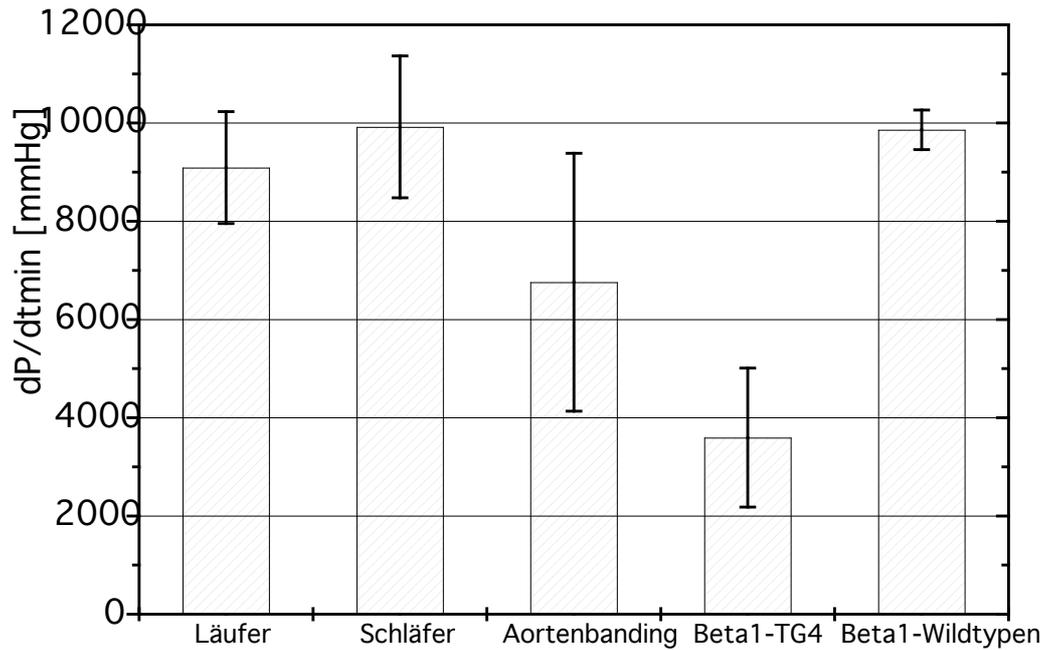


Abb. 19: In- vivo hämodynamische Messung zur Bestimmung der Diastolischen Funktion dP/dtmin (mmHg/sec)

Bei den β 1-TG4- und den Aortenbandingtieren besteht eine Beeinträchtigung des linksventrikulären Füllungsverhaltens ($p < 0,05$). Im Vergleich zu den Schläfern besteht bei den Laufrattieren mit physiologischer linksventrikulärer Hypertrophie kein signifikanter Unterschied im diastolischen Füllungsverhalten ($p = 0,28$).

3.6. Linksventrikuläre Myokardmasse

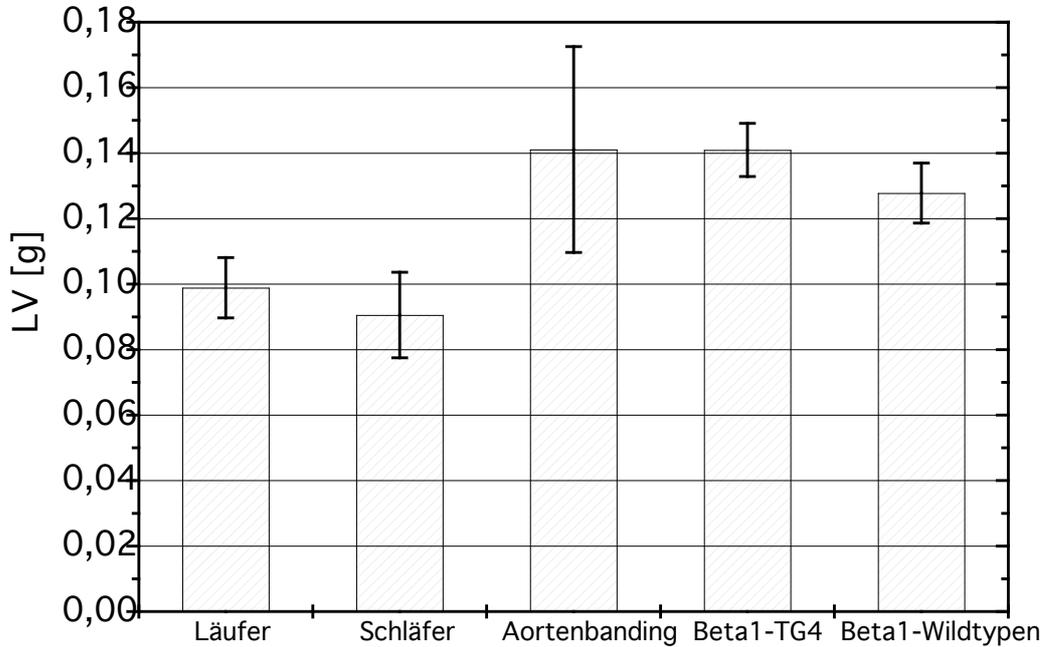


Abb. 20: Linksventrikuläre Masse (g)

Das totale Herzgewicht variiert je nach Mäusestamm [83], und wird in der Literatur für eine 8 Wochen alte C57Bl/6 Maus mit einem Gewicht von durchschnittlich 0,101 g, d.h. 0,62% des Körpergewichtes angegeben [61].

Läufer zeigen autoptisch nach 8 Wochen eine tendenzielle Vergrößerung der LV-Masse ($p=0,05$) gegenüber den Schläfern. Die Gruppe der Aortenbanding-Tiere entwickelt nach 6 Wochen eine erwartungsgemäße signifikante Vergrößerung der LV-Masse gegenüber den Schläfern ($p<0,05$). Eine ähnliche Signifikanz besteht im Vergleich der LV-Masse von $\beta 1$ -TG4 Mäusen zu $\beta 1$ -Wildtypen ($p<0,05$).

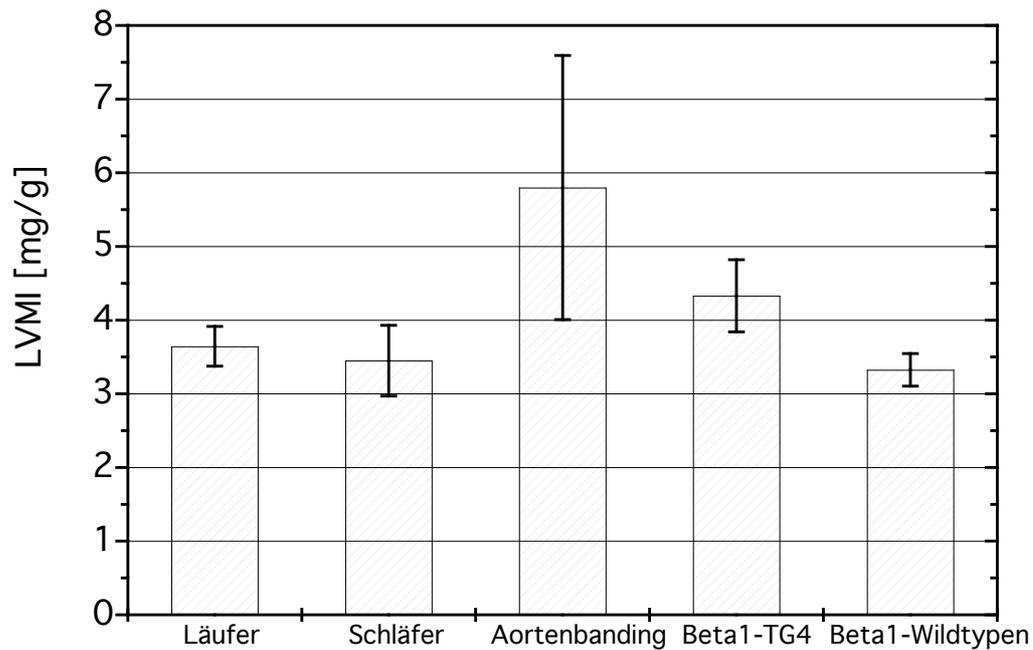


Abb. 21: Linksventrikulärer Massenindex (mg/g)

Betrachtet man den linksventrikulären Massenindex (LVMI), der sich aus dem Verhältnis von linksventrikulärer Masse (mg) zum Körpergewicht der Maus (g) berechnet, so zeigt sich eine signifikante Erhöhung des LVMI bei den pathologischen Formen der Herzhypertrophie gegenüber den Schläfern und Wildtypen ($p < 0,05$).

Im Gegensatz besteht bei der physiologischen Form der Herzhypertrophie keine signifikante Erhöhung des linksventrikulären Massenindex im Vergleich zu Schläfern ($p = 0,39$).

3.7. Kardiomyozytengröße

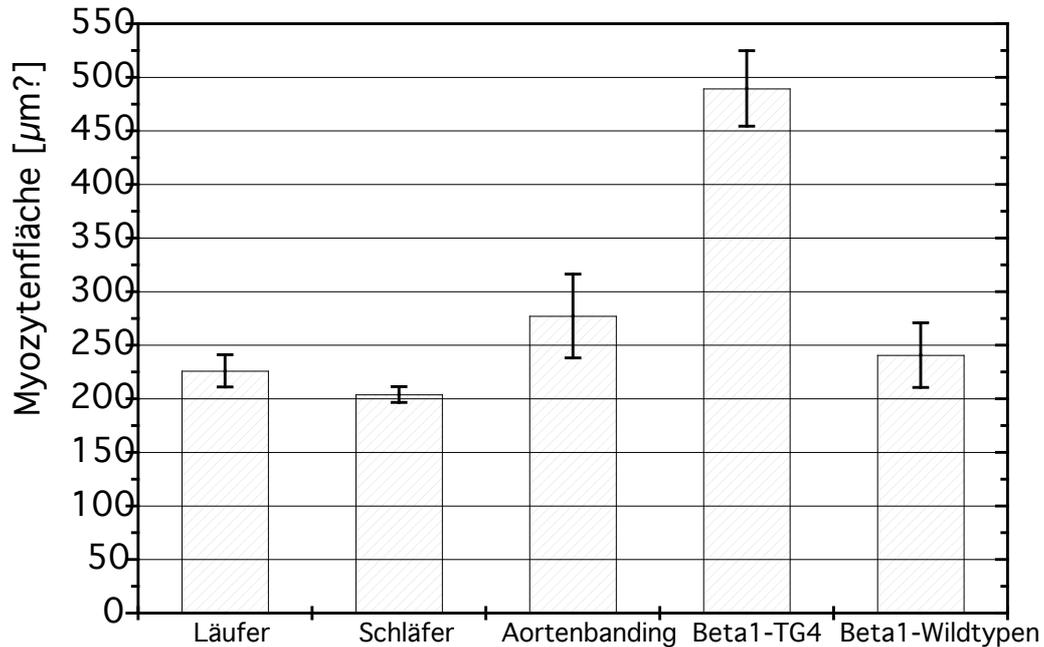


Abb. 22: Planimetrisch gemittelte Kardiomyozytengrößen mit Hilfe des Programms Sigmascan Pro (μm^2)

Untersucht man HE-gefärbte orthograd getroffene Kardiomyozyten unter dem Mikroskop, fällt bei Tieren der β 1-TG4 Gruppe eine Verdopplung der Myozytenquerschnittsfläche im Vergleich zu Wildtypmäusen des Stammes auf ($p < 0,05$). Die Aortenbandingtiere entwickeln nach 6 Wochen ebenfalls eine signifikante Kardiomyozytenvergrößerung von $277 \mu\text{m}^2$ als Antwort auf die chronische Druckbelastung, die über den Größen der Schläfer nach 8 Wochen liegt ($p < 0,05$). Als Antwort auf das Laufradtraining kommt es ebenfalls zu einer Vergrößerung der Myozytenquerschnittsflächen gegenüber Nicht-Läufern ($p < 0,05$).

3.8. Kollagendarstellung

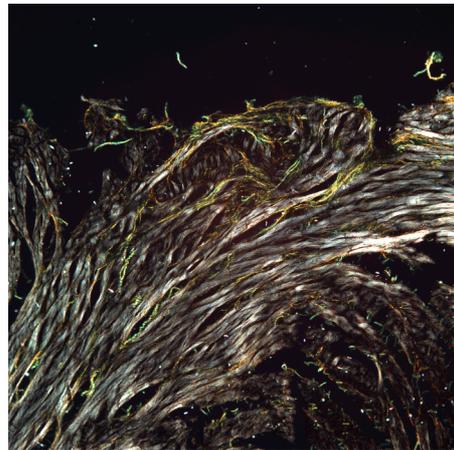
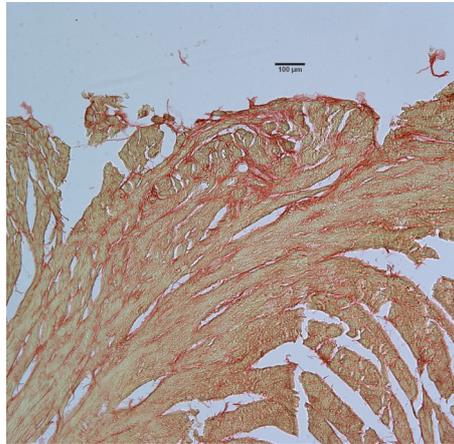


Abb. 23: Picro-Sirius-Rot gefärbter 5µm-Schnitt einer β 1-TG4 Maus (oben) und Darstellung mithilfe des Polarisationsfilters (unten)

Mithilfe der Picro-Sirius-Rot Färbung lässt sich die kollagene Matrix im hypertrophierten Myokard darstellen. Dabei stellen sich Kardiomyozyten im Durchlicht gelb dar, Zellkerne bräunlich und Bindegewebe rot dar. Schaltet man den Polarisationsfilter dazu, kann man die Kollagenfasern anhand ihrer spezifischen Lichtbrechung quantifizieren. So zeichnen sich dünne Fasern als grün, und dickere Fasern als rötlich-gelb ab [95].

In den Tieren der β 1-TG4 Gruppe und den Aortenbandingtieren zeigte sich eine deutliche Vermehrung des interstitiellen Bindegewebes im Gegensatz zu den Wildtypen und Schläfern. Bei den Läufern kam es zu keiner vermehrten Bildung von interstitiellem Bindegewebe.

3.9. Expression von α - / β - Myosin heavy chains

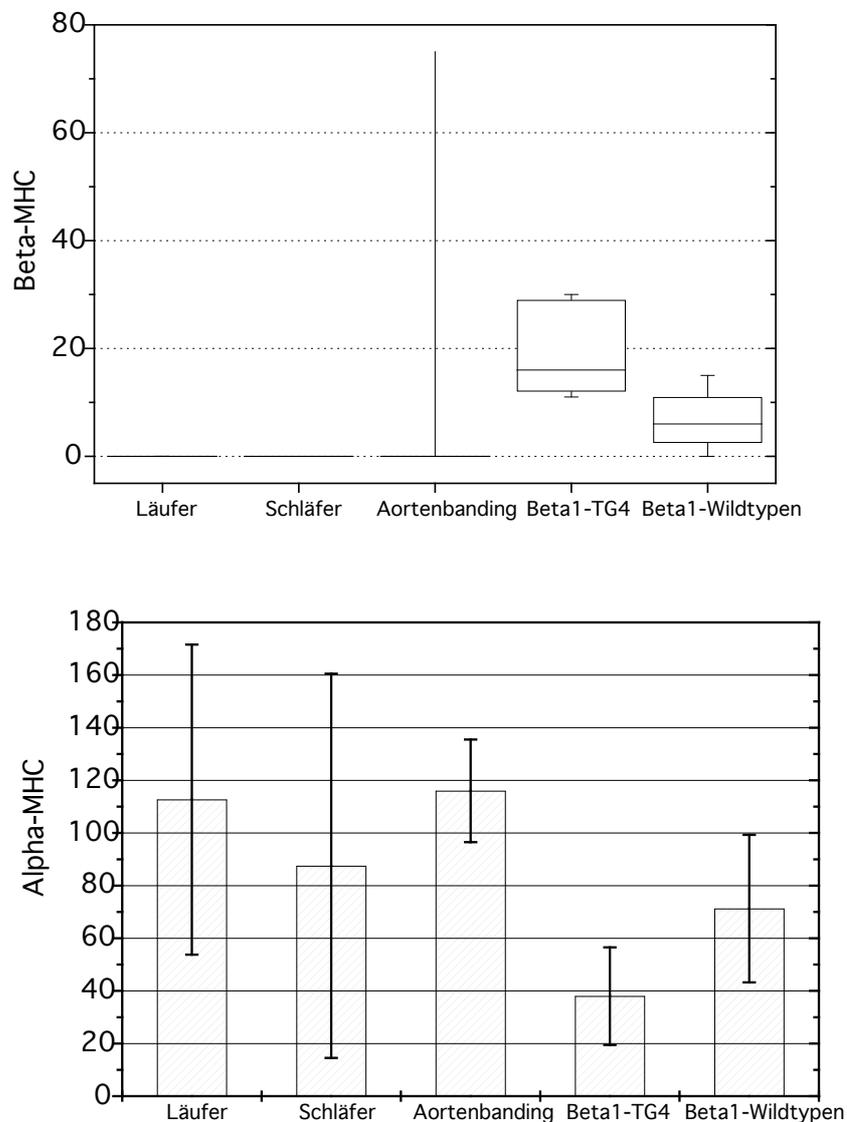


Abb. 24: Expression von α - und β -Myosin heavy chains

Mittels Western-blot-Analyse wurde die Expression kontraktile Elemente überprüft. Bei allen Laufradtieren sowie deren Kontrolltieren zeigt sich auf molekularer Ebene nur eine Expression der schnellen α -Myosin Leichtketten. Bei den Aortenbandingtieren ist die Expression langsamer β -MHC Isoformen nicht signifikant, auch hier zeigt sich trotz deutlicher Hypertrophiezeichen eine verhältnismäßige vermehrte Expression von schnellen α -Myosin Ketten. Das Aortenbandingtier No. 5 zeigte eine überproportionale Expression des β -MHC. Interessanterweise kam es bei diesem Tier zur höchsten Ausprägung einer linksventrikulären

Hypertrophie im Vergleich zu den restlichen Aortenbandingtieren. Bei den transgenen Mäusen ist ein deutlicher Wechsel zur β -MHC Isoform gegenüber den Wildtypen erkennbar ($p < 0,05$).

4. Diskussion

	Mensch	Maus
Herzfrequenz	≅ 60-200/min	≅ 370-790/min
Herzgröße	≅ 10x6cm	≅ 10x5mm
Herzgewicht	≅ 270g	≅ 0,15g
Blutvolumen	≅ 5-7 Liter	≅ 4-5 ml
LV-Schlagvolumen	≅ 70 ml	≅ 40-60 μ l
Herzminutenvolumen	≅ 4 Liter/min	≅ 15-20 ml/min
Atemfrequenz	≅ 12/min	≅ 120-170/min

Abb. 25: Anatomische und physiologische Parameter von Mensch/Maus (Aus James JF et al. Cardiac Physiology in Transgenic Mice Circ Res 1998;82:407-415)

In der oben dargestellten Tabelle sind Unterschiede ausgewählter anatomischer und physiologischer Parameter des Herz-Kreislauf- und Respiratorischensystems von Mensch und Maus dargestellt. Mit einem Anteil von 59,4% ist die Maus das am häufigsten verwendete Versuchstier in Deutschland (Tierschutzbericht 2007, BMELV). Die geringe Größe und die hohe Stoffwechselrate der Maus machen ein Narkosemanagement jedoch zu einer Herausforderung [105]. Das meist benutzte Inhalationsanästhetikum der Wahl ist Isofluran, das bei der Maus weniger Einfluss auf das Herz-Kreislaufsystem als die anderen Halogene hat und zudem für Mäuse weniger toxisch ist [105].

4.1. Herzhypertrophie bei β 1-TG4 Mäusen

Am menschlichen Herzen sowie dem von Nagern bestehen eine Reihe von Signaltransduktionswegen zur Erzeugung einer linksventrikulären Hypertrophie. Genauere Untersuchungen existieren über adrenerge Rezeptoren des Herzens [49,50]. Adrenerge Rezeptoren wie die α - und β -Rezeptoren fungieren als sogenannte G-Proteine, die durch Bindung eines Liganden wie etwa Adrenalin und Noradrenalin aktiviert werden, und über Stimulierung der Adenylatzyklase zu einer cAMP-Erhöhung in der Zelle führen. Dadurch kommt es zur Muskelkontraktion durch einen Kalzium-Einstrom in die Zelle und Freisetzung des im sarkoplasmatischen Retikulum gespeicherten Kalziums. α 1-Rezeptoren können daneben selbst eine Kardiomyozytenhypertrophie durch Kacheolaminerregung induzieren [115].

Der β 1-Rezeptor ist neben dem β 2- und β 3-Rezeptor der vorherrschende Subtyp der β -Rezeptoren am Herzen. Unter physiologischen Bedingungen gilt die Stimulation des β 1-Adrenorezeptors als stärkster Mechanismus zur Erhöhung des Schlagvolumens und der Herzfrequenz [52]. Engelhardt konnte im Jahre 2001 nachweisen, dass eine herzspezifische Überexpression des β 1-Adrenorezeptors bei Mäusen zu einer kurzfristigen Verbesserung der Linksventrikulären Funktion und nach 3 Monaten zu einer Herzhypertrophie mit folgender Dilatation und Herzinsuffizienz führt [31].

Mit unserer Arbeit kann die Hypothese unterstützt werden, dass eine chronische adrenerge Überstimulation negative Auswirkungen auf das Myokard und die Langzeitprognose hat. Bristow et al. wiesen im Jahre 1982 erstmalig nach, dass Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz signifikant reduzierte Spiegel myokardialer β -Adrenorezeptoren aufwiesen [51]. Die Bedeutung dessen wird durch die Tatsache unterstrichen, dass eine Therapie mit β -Blockern bei Patienten mit Herzinsuffizienz und Herzhypertrophie zu einer klinischen Besserung und längeren Überlebenszeiten führt, währenddessen eine chronische Applikation von β -Agonisten zu der Entwicklung einer Herzinsuffizienz und erhöhter Sterblichkeit führt. Als Kompensationsmechanismus einer chronischen Herzinsuffizienz führt die Down-Regulation der kardialen β 1-Rezeptoren zu einer Verschiebung des Verhältnisses zu Gunsten der kardialen β 2-Adrenorezeptoren. Die Desensibilisierung schützt das Herz wahrscheinlich vor adrenergem Stress und vermittelt über die β 2-Rezeptoren möglicherweise einen antiapoptischen Effekt [97,98]. In der Peripherie kommt es über kompensatorische

Wirkungen an α -Rezeptoren zu einer Erhöhung des Vasotonus der Arterien und Venen und somit zu einer Erhöhung von Nachlast und Vorlast. Der kausale Zusammenhang zwischen den Spiegeln der kardialen β -Adrenorezeptoren und der Entwicklung einer Herzhypertrophie und Herzinsuffizienz ist bis dato aber nicht eindeutig geklärt.

In unserer Arbeit benutzten wir oben genannte β 1-TG4 Mäuse aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie mit einer ca. 15 fachen Überexpression des β 1-Adrenorezeptors (gemessen im Alter von 4 Wochen). Die Tiere waren im Gegensatz zu den Wildtypmäusen zunehmend kachektisch, besaßen eine erhöhte Atemgrundfrequenz und verhielten sich lethargisch im Käfig. Autopsisch zeigten sich Zeichen einer Herzinsuffizienz wie Pleuraergüsse, massiv vergrößerte dilatierte linke Vorhöfe sowie poröse gestaute Lungen mit Verdickungen der Alveolarsepten. Dies ist im Sinne eines sogenannten Rückwärtsversagens zu werten. Durch Stauung des Blutes vor dem linken oder rechten Herzens kommt es mit Erhöhung des hydrostatischen Druckes und Natrium-/Wasserretention zu einem Lungenödem, Orthopnoe, Gewichtszunahme sowie peripheren Ödemen.

Die Kardiomyozytengröße und LV-Masse war im Vergleich zu den Wildtypmäusen signifikant erhöht. Während eine akute Stimulation kardialer β 1-adrenerger Rezeptoren eine verbesserte myokardiale Kontraktilität bewirkt, führt eine chronische Aktivierung des β 1-Adrenorezeptors wie in früheren Studien von Engelhardt beschrieben zu einer progressiven Kardiomyozytenhypertrophie, gefolgt von einer reaktiven interstitiellen Fibrose sowie dem klinischen Bild einer Herzinsuffizienz [31].

Die diastolische Funktion der β 1-TG4 Tiere war im Gegensatz zu den Wildtyptieren und den Tieren der anderen Gruppen deutlich eingeschränkt. Als Faktoren für die Entstehung und Aufrechterhaltung einer diastolischen Funktionsstörung werden fibrotische Umbauprozesse, Störungen der Zellmatrix sowie eine erhöhte Steifigkeit des linksventrikulären Myokards diskutiert [73,74]. Durch ein mismatch von erhöhter Myokardmasse und gleichem Blutangebot kommt es im Sinne einer relativen Abnahme der Kapillardichte zur Ausbildung einer ischämischen Nekrose. Infolge des remodellings der Narbe kommt es zur progressiven Fibrosierung des Restmyokards. So bewirkt bei diesen Mäusen die veränderte Gewebetextur mit Zunahme des Kollagengehaltes als Zeichen der reparativen Fibrose erstens eine Abnahme der myokardialen Dehnbarkeit des linken Ventrikels und zweitens eine Zunahme der myokardialen Steifigkeit nach dem *Laplace-Gesetz* [75]:

$$K = P_{tm} \times r / 2d \times (N \times m^{-2})$$

Gl.1

Als Zeichen der gestörten linksventrikulären Compliance kommt es zu einer Verlagerung der Druck-Volumen-Kurve nach links (siehe unten).

Der gestörten Kraft-Frequenz-Beziehung der β 1TG4-Mäuse können Veränderungen des intrazellulären Kalziumtransienten und einer unzureichenden Kalziumanreicherung im Sarkoplasmatischen Retikulum (SR) zugrunde liegen. Ursächlich kann ein Defekt der Kalziumpumpe des Sarkoplasmatischen Retikulums (SERCA) sein. Am Ende der Systole können die Kalziumionen nicht mehr vollständig in das SR aufgenommen werden, sodass während der folgenden Systole weniger Kalzium aus dem SR freigesetzt wird. Folglich kommt es zu einer reduzierten Kontraktilität und Relaxation [63]. Durch Erhöhung des intrazellulären Kalziums kommt es zudem wahrscheinlich zu einer Aktivierung kalziumabhängiger Transkriptionsfaktoren, die eine Herzhypertrophie und daraus folgende diastolische Funktionsstörung triggern können [76]. So kann durch eine Normalisierung des intrazellulären Kalziumtransienten eine Herzinsuffizienz experimentell retrospektiv geheilt werden [89].

Die verminderte Kontraktilität und diastolische Relaxationsstörung führt zu erhöhten enddiastolischen und endsystolischen Volumina und stark reduzierter linksventrikulärer Ejektionsfraktion. Die Auswertung der volumetrischen Parameter gestaltete sich daher bei den β 1-TG4 Mäusen als äußerst schwierig und musste zur besseren Validierung mehrfach intraobserv wiederholt werden.

Damit ist bei den β 1-TG4 Mäusen unserer Studie das Stadium der kompensierten Hypertrophie überschritten. In Kombination mit den klinischen Zeichen der Herzinsuffizienz ist das Stadium der dekompenzierten Hypertrophie erreicht. Nach der Auswurfleistung besteht ein low-output-failure durch Vorwärtsversagen mit Verminderung des Herzzeitvolumens.

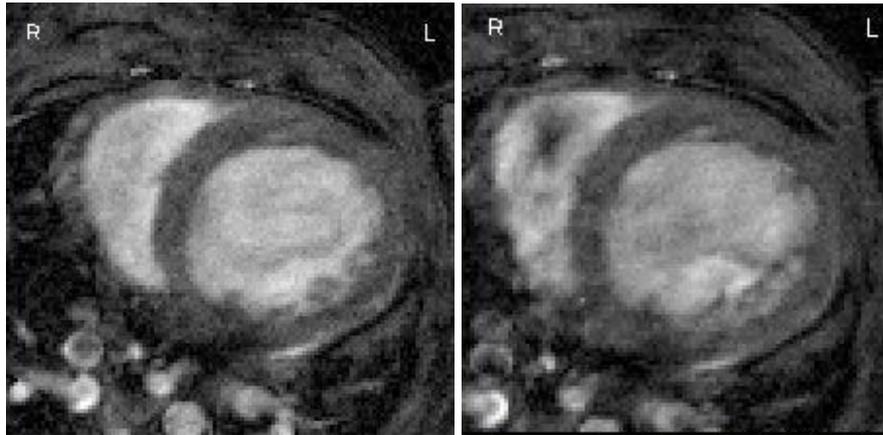


Abb. 26: Endsystolisches frame einer β 1-TG4 Maus links und Enddiastolisches frame rechts

Durch die erhöhte Ansprechbarkeit auf Katecholamine kommt es bei diesen Mäusen durch Eintreten des Bowditch-Effektes zu einer weiteren Verschlechterung der Pumpleistung und Myokarddurchblutung, da die gesteigerte Herzfrequenz zu einer Verkürzung der Diastolendauer und Ventrikelfüllung führt [40].

Bei den β 1-TG4 Tieren kam es erwartungsgemäß zu einer vermehrten Expression von β -Myosin heavy chains. Charakteristisch für das β -MHC ist eine schwächere Aktivität der Adenosintriphosphatase und eine langsamere Kontraktionsgeschwindigkeit. Im Querbrückenzyklus kann es im akuten Stadium aber ökonomischer und mit weitaus weniger benötigter Energie funktionieren. Die vermehrte Expression und Synthese solcher kontraktilen Proteine hilft dem Herzmuskel also anfangs auf äußere Stimuli zu reagieren, kann im Verlauf aber stark zur Herzinsuffizienzentwicklung beitragen [86]. Der isoformenshift bedingt nach einiger Zeit funktionell eine verminderte Kontraktilität und verlängerte Relaxationszeit [90].

4.2. Herzhypertrophie durch Konstriktion der Aorta ascendens

Wiggers et al. führten im Jahre 1954 erst Versuche zur Induktion einer chronischen Druckbelastung mittels operativer Verkleinerung der Aortenöffnungsfläche durch. Dies führte jedoch bei einer hohen perioperativen Sterblichkeit erst ab einer Verkleinerung von mehr als einem Drittel der Öffnungsfläche zu der Entwicklung einer linksventrikulären Hypertrophie. Stattdessen wird die Konstriktion der Aorta seit vielen Jahren als probates Mittel zur

Erzeugung einer druckinduzierten linksventrikulären Hypertrophie und den Frühstadien einer Herzinsuffizienz genutzt [53]. Der Nachteil dieses Tiermodells ist, dass die abrupte Konstriktion der Aorta keine klinische Situation beim Menschen imitiert. Die operative Konstriktion kann an der Aorta ascendens, Aorta transversum oder Aorta descendens erfolgen. Wir entschieden uns für den Ansatz nach Rockman et al. mittels Konstriktion der Aorta ascendens, da es hier am ehesten und schnellsten zur Entwicklung einer druckinduzierten Hypertrophie binnen 48 Stunden kommt [32]. Obwohl die Durchführung mittlerweile bei einer Vielzahl von Arbeitsgruppen zur Routine geworden ist, besteht nach dem Ansatz von Rockman et al. auch eine hohe peri- und postoperative Mortalität aufgrund der hohen Invasivität des Eingriffes [54]. Während bei uns 5 Tiere mutmaßlich im Rahmen der akuten Druckbelastung direkt postoperativ verstarben, kam es nach 6 Wochen bei weiteren 10 Tieren im Rahmen der NMR-Messungen durch den kardiodepressiven Effekt der Inhalationsnarkose [106], in Kombination mit den Kompensationseffekten der chronischen Druckbelastung zum Exitus. Somit lag die Gesamtmortalität in dieser Gruppe mit 60% am höchsten im Vergleich mit allen untersuchten Gruppen.

Um den Grad der Hypertrophieentwicklung einschätzen zu können, wurden die Tiere nach 6 Wochen postoperativ mithilfe von Kernspintomographie, invasiver Kontraktilitätsmessung, autoptischer Herzmorphologie und Expression fetaler Gene untersucht.

Die Arbeitsgruppe um Bo Ding et al. verzeichneten im Jahre 2000 ein Maximum des LV-Gewichtes bei Aortenbandingtieren nach 7 Wochen, danach kam es auf dem Boden eines Zellunterganges und einer interstitiellen Fibrose zu einer Reduktion der LV-Masse und des linksventrikulären Massenindices [56]. Bei den Aortenbandingtieren aus unserer Studie zeigte sich nach 6 Wochen eine signifikante Erhöhung der linksventrikulären Masse, der Myozytenquerschnittsfläche sowie des linksventrikulären Massenindices im Vergleich zu Kontrolltieren und den Laufradmäusen. Ähnliche Ergebnisse beschrieben Schanwell [8] et al. in einer klinischen Studie, in der sich bei einem Vergleich von hypertoniebedingter zu physiologischer linksventrikulärer Hypertrophie eine signifikant höhere LV-Masse bei Hypertonikern im Vergleich zu Kontrollprobanden zeigte. In einer tierexperimentellen Studie an Mäusen von Gerald Dorn 2nd et al. kam es nach 7 Tagen der Aortenkonstriktion ebenfalls zu einer signifikanten LV-Massenzunahme im Vergleich zu shame-Mäusen [17]. Messungen von Ritter zeigten 2 Jahre nach Aortenbanding keine weitere Zunahme der Kardiomyozytengröße [58]. Dies könnte bedeuten, dass der kardiale Hypertrophieprozess

gewisse biologische Grenzen besitzt. Ab einem kritischen Herzgewicht kommt es zu keiner weiteren Zunahme der LV-Masse und Vergrößerung der Kardiomyozyten. Der Grund mag auf chromosomaler Ebene im Bereich der Telomere zu suchen sein. Telomere bestehen aus einigen tausend repetitiven G-reichen Sequenzen an den Enden der Chromosomen, sorgen für Stabilität und Verhindern den Verlust von Genen. So werden die Telomere, der für die Hypertrophieentwicklung benötigten Zellorganellen, bei jedem Zellzyklus verkürzt, sodass letztlich der Zelltod resultiert und es zu keiner Zunahme der LV-Masse kommt.

Die abrupte und chronische Obstruktion der Aorta führt zu einer Erhöhung der Nachlast (afterload). Zum Verständnis der Anpassungsreaktionen bedient man sich dem Frank-Starling-Mechanismus im Arbeitsdiagramm des Herzens. Bei einer akuten Erhöhung des diastolischen Aortendruckes öffnen sich die Aortenklappen erst bei einem erhöhten ventrikulären Druck. Dies führt zu einer Verkleinerung des Schlagvolumens mit folgender Erhöhung des endsystolischen Volumens. Der Arbeitspunkt des linken Ventrikels verschiebt sich nun solange in Richtung größerer Volumina bis dieser ein nahezu gleiches Schlagvolumen gegen einen erhöhten Aortendruck auswerfen kann. Das Herzzeitvolumen kann somit konstant gehalten werden, obwohl der Druck in der Aorta angestiegen ist. Eine erhöhte Nachlast kann somit durch eine isovolumetrische Druckerhöhung in der Systole ausgeglichen werden [55].

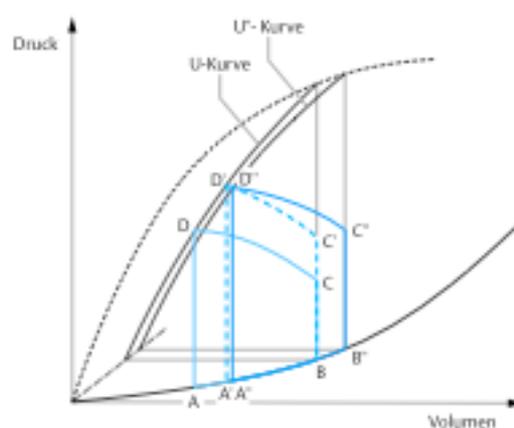


Abb. 27: Druck-Volumen-Diagramm des Herzens Erhöhung der Nachlast (ABCD→A'B'C'D'→A''B''C''D'') Aus Lehrbuch der Physiologie, Huppelsberg W., Thieme Verlag 2005

Aortenbanding führte in dieser Studie nach 6 Wochen zu einem signifikant höheren endsystolischen Volumen (ESV), einer Abnahme des Schlagvolumens (SV) und einer signifikanten Reduktion der Ejektionsfraktion (EF). Dies ist dem Druck-Volumen-Diagramm zufolge auf eine kardiale Dekompensation nach konzentrischer Hypertrophie im Sinne einer beginnenden linksventrikulären Dilatation zurückzuführen.

In einer echokardiographischen Studie von Liao et al. stiegen die linksventrikulären endsystolischen Volumina in den ersten Wochen nach Aortenbanding ebenfalls signifikant an, während dessen die enddiastolischen Volumina erst zu einem späteren Zeitpunkt erhöht waren. Dies zeigt, dass die systolische Funktion nach Aortenbanding schon nach kurzer Zeit gestört ist [57] und neben einer diastolischen Funktionsstörung als ein Frühmarker einer pathologischen linksventrikulären Hypertrophie gesehen werden kann.

Nur ein suffizienter linker Ventrikel ist in der Lage über längere Zeit einer erhöhten Druckbelastung durch das Aortenbanding entgegenzuwirken. Beim Vergleich von Schläfern und Aortenbandingtieren sahen wir mittels invasiver Druckmessung eine deutlich eingeschränkte linksventrikuläre Kontraktilität (dp/dt_{max}) und Störung der diastolischen Relaxation (dp/dt_{min}), als Hinweis für eine erhöhte Wandspannung und beginnende interstitielle Fibrose und der damit verbundenen beginnenden Gefügedilatation. In der Frühphase einer Hypertrophie durch Druckbelastung scheint eine Erhöhung des Kollagenanteils von Vorteil zu sein, da die Tensionsbelastbarkeit des Ventrikels erhöht wird. Erst später kommt es jedoch durch die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) zu einer ungünstigen Versteifung und Einschränkung der diastolischen Relaxation und systolischen Kontraktilität. Angiotensin II führt ursächlich über die Expression von Proto-Onkogenen zur Synthese von Wachstumsfaktoren und extrazellulären Matrixproteinen wie dem Kollagen. Unsere Ergebnisse werden durch ältere Studien unterstützt, die zeigen konnten, dass chronische Druckbelastung zu einer Myozytendegeneration und reparativer Fibrosierung führt [96]. So konnte u.a. die Arbeitsgruppe von Müller et al. bei Aortenbandingtieren eine erhöhte Aktivität des Tumorsuppressorproteins p53 nachweisen, das durch Induktion einer Kardiomyozytenapoptose zu einem chronischen Umbau des Restmyokards und Einschränkung der systolischen Funktion führte [102].

In der polarisationsmikroskopischen Untersuchung zeigte sich eine deutliche Vermehrung des interstitiellen Bindegewebes im Vergleich zu den Schläfern. Die Induktion von Typ I Kollagen ist seit langem als eine Hypertrophieantwort bekannt. Das Typ I Kollagen, das sich zu einem Großteil in den Fibroblasten befindet, führt zur Fibrose und Versteifung der Ventrikelwand [107]. Auch im Rahmen einer Druckbelastung durch arterielle Hypertonie kommt es schon nach wenigen Stunden zu einer messbaren Erhöhung der Proteinbiosynthese und Bildung von Kollagen. In seiner Arbeit aus dem Jahre 1964 hatte Knierem in einer autoptischen Untersuchung einen kritischen Fibrosegehalt von 15% beschrieben, nachdem es seiner Meinung nach zu einem Versagen der normalen Herzarbeit kommt [87].

Die diastolische Funktion unterliegt zudem altersbedingten Gründen. So zeigen sich bei gesunden Probanden im Alter von 30 und 70 Jahren signifikante Unterschiede in der diastolischen Funktion, die sich durch degenerative Veränderungen im Alterungsprozess des Herzmuskels erklären lassen [29].

Durch die erhöhte myokardiale Wandspannung kommt es im Rahmen des Aortenbandings zu einem reduzierten koronaren Blutfluss und dem Auftreten einer myokardialen Ischämie auch bei normalen Koronararterien. Dies fördert die Progression einer Herzinsuffizienz.

In einer weiteren Untersuchung von Gerald Dorn 2nd et al. kam es 7 Tage nach Aortenbanding zu einem signifikanten Shift der schnellen α - zu den langsamen β -MHC Isoformen [17]. Im Schnitt führt eine druckinduzierte Hypertrophie nach Studienlage zu einer 4-15%igen Erhöhung der β -Myosin heavy chains im Vergleich zum Gesamt-MHC [59]. Mit Zunahme der Relation zugunsten der β -Myosin heavy chains kommt es zu weitreichenden negativen Veränderungen der kontraktilen Eigenschaften des Herzens. Die Aortenbandingtiere dieser Studie zeigten statistisch keine signifikante Hochregulation langsamer β -Myosin heavy chains. Lediglich das Tier No. 5 zeigte eine überproportionale Expression des β -MHC. Betrachtet man dieses Tier genauer, entwickelte sich hier die ausgeprägteste linksventrikuläre Hypertrophie im Vergleich zu den anderen Aortenbandingtieren. Der linksventrikuläre Massenindex war mit 8,9 mg/g deutlich höher als bei den restlichen Tieren. In der Linksherzkatheteruntersuchung zeigte sich eine deutliche Einschränkung der linksventrikulären Relaxation (dp/dt_{\min}) und Kontraktion (dp/dt_{\max}), als möglichen synergistischen Effekt der β -MHC Expression und Fibrosentstehung zu der Kardiomyozytenhypertrophie. Unsere Ergebnisse stellen aber aufgrund der nicht statistischen

Signifikanz lediglich einen Trend zu den Ergebnissen von Gerald Dorn 2nd sowie den anderen Arbeitsgruppen dar.

4.3. Herzhypertrophie durch Laufradtraining

Die wichtigsten Grundsätze zum Thema der linksventrikulären Hypertrophie durch Sport wurde schon in der Einleitung unter Kapitel 1.2 *Das Sportlerherz* beschrieben. Körperliches Training bedingt eine intermittierende Druckbelastung für das Herz im Gegensatz zu den pathologischen Formen wie einer Aortenklappenstenose, die eine chronische myokardiale Druckbelastung induziert. Lange ging man davon aus, dass der Hypertrophieprozess nur von der Dauer der körperlichen Belastung abhängt, d.h. chronische oder intermittierende Belastung. Diese Hypothese konnte neuerdings widerlegt werden. In einem tierexperimentellen Vergleich an Mäusen konnten Perrino et al. zeigen, dass nicht die Dauer, sondern die Art der Belastung für die Entwicklung einer pathologischen vs. physiologischen Hypertrophie verantwortlich ist. Dazu wurden Mäuse intermittierend für 2 x 90 min pro Tag einer physiologischen Belastung im Laufrad ausgesetzt, bzw. 2 x 90 min pro Tag die thorakale Aorta gebandet. Beide Formen führten zwar zu einer linksventrikulären Hypertrophie, im Gegensatz zu den Läufern führte das thorakale Aortenbanding aber zusätzlich zu einer interstitiellen Fibrose, sowie Abnahme der Kontraktilität des linken Ventrikels [64].

Schanwell et al. nutzten die signifikante Erhöhung der LV-Masse bei Ausdauersportlern als Unterscheidungskriterium für eine pathologische vs. physiologische Hypertrophie [8]. Bei menschlichen Langstreckenläufern reichen in der Regel mehr als 60 Laufkilometer pro Woche über mehrere Jahre zur Induktion eines Sportlerherzens aus [77]. Zahlreiche NMR-Untersuchungen haben stark erhöhte LV-Massenzunahmen bei Hochleistungssportlern nachweisen können [112].

Laufradtraining wird seit vielen Jahren als eine probate Methode zur Erforschung der Adaptationsvorgänge im kardiovaskulären-System bei Nagern genutzt [120]. In unserer Studie gestatteten wir 4 Wochen alten männlichen C57/Bl6-Mäusen ein kontinuierliches freiwilliges Laufradtraining für 8 Wochen. In der Literatur gibt es nur wenige Studien, die Mäuse über 4 Wochen Lauftraining beobachtet haben [66]. Nach 8 Wochen Lauftraining

kommt es bei Nagern in der Regel zu einem Maximum der täglichen Renndistanz mit folgender Abnahme der Laufstrecke [67,71]. Studien über das Laufverhalten von Mäusen stellten fest, dass Mäuse vor allem in ihrer Aktivitätsphase in den Nachtstunden laufen [68]. In unserer Studie hielten wir die Tiere in einem definierten 12 Stunden Hell-/Dunkel-Rhythmus.

Die Tiere unserer Studie erbrachten eine durchschnittliche Gesamtlaufstrecke von $428 \pm 129,4$ km, daraus errechnet sich eine tägliche Laufstrecke von etwa 7,6 km. Hier liegen unserer Mäuse über den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen, in denen mit ähnlichem Studiendesign aber kürzerer Laufdauer Strecken von 2-4 km pro Tag gelaufen wurden [69]. Anzumerken ist, dass die erbrachte Trainingsleistung eine hochkomplexe Eigenschaft unterschiedlicher Komponenten darstellt. In die individuelle Leistung fließen neben der kardialen Leistung auch Lungenfunktion, Sauerstofftransport, Muskelkontraktion sowie Motivation und Verlangen der Tiere ein [70]. Da das Studienprotokoll also einen freiwilligen Zugang zu dem Laufrad gestattete, ist nicht auszuschließen, dass die Einflussgrößen 1) Motivation und 2) individuelle körperliche Eignung unsere Studienergebnisse nicht verfälscht haben. Durch tägliche Kontrollen konnten die externen Einflussgrößen eines Defektes des Laufrades oder einer Verletzung der Maus ausgeschlossen werden. Eine Alternative, um die Einflussgröße der individuellen Motivation auszuschließen, böte eine erzwungene körperliche Betätigung, etwa mit täglichem Schwimmtraining oder Laufbandtraining [72].

In der Regel führt ein regelmäßiges körperliches Training beim Ausdauersportler zu einer physiologischen Erniedrigung der Herzfrequenz [93]. Spani konnte 2003 zeigen, dass allein sitzende Mäuse eine höhere Herzfrequenz besaßen als ihre in Gruppen sitzenden Artgenossen. Er erklärte dies als ein Anzeichen für Stress [91]. Das Studienprotokoll unserer Studie sah für die Läufer ebenfalls eine Einzelhaltung im Käfig vor, auch wir sahen keine signifikante Reduktion der Herzfrequenz im Vergleich zu den in Gruppen sitzenden Schläfern. Als mögliche Ursache könnte auch hier Stress im Rahmen der Isolationshaltung genannt werden.

Autoptisch zeigten sich keine Zeichen einer Herzinsuffizienz wie bei den $\beta 1$ -TG4 Tieren. Laufradtraining scheint also im Vergleich zur Hypertrophie durch adrenergen Stress keinen negativen Einfluss auf das Herz-Kreislaufsystem auszuüben. Aus Studien zur koronaren Herzerkrankung weiß man, dass körperliches Training das Risiko des vorzeitigen Todes nach einer Dosis-Wirkungs-Beziehung signifikant senken kann [85]. Körperliches Training senkt Blutdruck und Körpergewicht, verbessert das Lipidprofil und die Insulin-Sensitivität, steigert

den koronaren Blutfluss und beeinflusst hämodynamische und inflammatorische Parameter in positiver Hinsicht.

Die Kardiomyozytengrößen waren bei den Läufern signifikant höher als bei den Schläfern. Im Vergleich zur pathologischen Hypertrophie bei Aortenbanding und durch chronisch adrenerge Stimulation zeigen sich allerdings keine deutlichen Unterschiede bezüglich der Gesamt LV-Masse und des linksventrikulären Masseindices. Dies liegt darin begründet, dass es im Gegensatz zu den pathologischen Formen der linksventrikulären Hypertrophie zu keiner Vermehrung des interstitiellen Bindegewebes kommt, sondern nur eine Hypertrophie durch Muskelfaserverlängerung und Vermehrung der Mitochondrien vorliegt [9]. Unter dem Polarisationsmikroskop zeigte sich daher auch keine vermehrte Bindegewebsvermehrung.

Derumeaux et al. konnten echokardiographisch keine wesentlichen Unterschiede von enddiastolischen und enddiastolischen Volumina bei trainierten und untrainierten Ratten feststellen [11]. Fenning hingegen sah bei trainierten Ratten eine Verbesserung der systolischen Volumina und des Herzminutenvolumens [94].

Bei unseren Laufradmäusen kam es im Gegensatz zu den pathologischen Herzhypertrophie-Modellen zu keiner Einschränkung oder Verbesserung der Enddiastolischen und Endsystolischen Volumina. Die Ejektionsfraktion lag mit 61% etwas über den Ergebnissen der Schläfer. Diese Ergebnisse decken sich mit den Daten von Pluim et al., die 1999 einen Algorithmus zur Differentialdiagnose von physiologischer und pathologischer Hypertrophie an Menschen erstellt haben [78]. In die Differentialdiagnose eines Sportlerherzens gehen hier echokardiographisch gemessene normale enddiastolische und endsystolische Volumina ein.

In der Linksherzkatheteruntersuchung zeigten die Läufer im Gegensatz zu den Schläfern keine signifikanten Unterschiede im systolischen Kontraktionsverhalten (dp/dt_{max}) sowie diastolischen Relaxationsverhalten (dp/dt_{min}). Diese Ergebnisse decken sich mit den echokardiographisch gemessenen Ergebnissen von Schanwell [8], widersprechen jedoch den Ergebnissen von Palazzuoli et al. [88], die eine verbesserte systolische und diastolische Funktion bei Sportlern im Gegensatz zu Nichttrainierten beschrieben. Granger et al. konnten durch die Anwendung von Radionukliden zeigen, dass sich trotz um 43 % höherer Muskelmasse bei Athleten, kein Unterschied im ventrikulären Füllungsverhalten im Gegensatz zu Nichtathleten zeigte [100]. In der ersten Arbeit dieser Art, konnten Pluim et al.

im Jahre 1998 mittels Kernspintomographie ebenfalls keine Unterschiede im diastolischen und systolischen Füllungsverhalten bei Athleten und Nicht-Athleten sehen [118].

In den Ventrikeln unserer Sportlermäuse kam es erwartungsgemäß, ähnlich wie in anderen Studien publiziert [72] zu keinem shift der schnellen α - zu den langsamen β -Formen der Myosin heavy chains. Im linksventrikulären Herzmuskel des Menschen werden im Gegensatz zur Maus hauptsächlich langsame β -Myosin chains exprimiert. Ein α - zum β -Myosin heavy chain-Wechsel hat hier nicht die selbe Bedeutung wie beim Nager. Trotzdem kommt es bei den entsprechenden Formen einer pathologischen Herzhypertrophie zu einer messbaren leichten Verschiebung der wenigen schnellen α - zugunsten der langsamen β -Myosin heavy chains [79]. In einer Studie an Ratten konnten Orenstein et al. zeigen, dass Laufradtraining bei Ratten mit experimentell induziertem Myokardinfarkt zu einer Reduktion der β -Myosin heavy chains zu Gunsten der schnellen α -Myosin heavy chains führte [80]. Laufradtraining führte in unserer Studie also entweder zu keiner Expression langsamer β -Myosin heavy chains, oder führte zu einer Reduktion bereits bestehender β -Myosin heavy chains zugunsten der α -Formen.

Mehrere demographische Studien weisen darauf hin, dass das individuelle Körpergewicht einen unabhängigen Faktor zur Hypertrophieentwicklung darstellt. Eine Abnahme des Körpergewichtes kann somit zu signifikanten Regressionen einer Hypertrophie führen [121,121].

4.4. Vergleich zwischen physiologisch vs. pathologischer linksventrikulärer Hypertrophie

Beim Aufeinandertreffen von körperlicher Aktivität und Herzkreislauferkrankungen können sich die Anpassungsreaktionen des Herzmuskels überlagern und sind daher nur schwer zu differenzieren. Obwohl das Sportlerherz und ein pathologisch hypertrophiertes Herz durchaus Gemeinsamkeiten bezüglich der linksventrikulären Masse aufweisen, bestehen wesentliche Unterschiede in Bezug auf die linksventrikuläre Funktion. Pathophysiologisch wurden die Begriffe der *adaptiven* und *maladaptiven* Hypertrophie geprägt. Die adaptive Hypertrophie des Sportlers ist mit einer normalen oder sogar gesteigerten Herzfunktion verbunden,

währenddessen die maladaptive Hypertrophie des pathologisch hypertrophierten Herzen im Verlauf zu einer Abnahme der systolischen und diastolischen Funktion, zum Auftreten von klinischen Herzinsuffizienzzeichen, kardialen Arrhythmien und erhöhter Mortalität führt [63]. Eine frühdiastolische und früsystolische Funktionsstörung, die bei den pathologischen Formen der Herzhypertrophie gefunden werden kann, mag als ein Frühmarker einer beginnenden pathologischen Herzhypertrophie gesehen werden. Häufig wird eine beginnende frühdiastolische Störung noch vor der Ausprägung von echo- und elektrokardiographischen Zeichen beobachtet [116]. Als mögliche Ursache der diastolischen und systolischen Funktionseinbuße kann bei der pathologischen Form des Hypertrophieprozesses der chronische Gewebsumbau durch Kollagen sowie die reduzierte Perfusionsstrecke gesehen werden. Eine wichtige Bedeutung kommt der Verlaufsbeobachtung bei der physiologischen Form der Herzhypertrophie zu. So könnte eine ausgeprägte Hypertrophie bei einem Sportler, der in Ruhe erhöhte Blutdruckwerte aufweist, sowohl durch die körperliche Belastung als auch durch die Hypertonie bedingt sein. Diese Annahme wird durch die Regression der Hypertrophie nach antihypertensiver Therapie und fortgesetztem Training unterstützt [119]. Der korrekten Differentialdiagnose kommt daher eine große Bedeutung zu, da die Prognose einer strukturellen Herzerkrankung wesentlich durch die Überlastung des Herzmuskels im Rahmen der körperlichen Aktivität und die Entwicklung von malignen Rhythmusstörungen beeinflusst wird [119].

In unserer Studie konnten die Literaturergebnisse im Wesentlichen bestätigt werden, und zeigen, dass die von uns gewählten Tiermodelle und Messmethoden zur Charakterisierung und weiteren Erforschung der linksventrikulären Hypertrophieformen geeignet sind. Die von uns erhobenen Daten deuten daraufhin, dass die Hypertrophie des Sportlers einen physiologischen Anpassungsmechanismus an die chronische körperliche Belastung darstellt, und sich deutliche Unterschiede zu den pathologischen Formen der Herzhypertrophie widerspiegeln. Durch die Verwendung der NMR-Technologie konnte eine hohe Präzision der Messwerte an der narkotisierten Maus erzielt werden [25,27,28].

4.5. Limitation und Kritik

Kritisch muss die geringe Fallzahl an Tieren für die Auswertung dieser Studie gesehen werden (n=30), die durch die hohe Sterblichkeit der Tiere in den einzelnen Gruppen bedingt war. Daher ist eine Überprüfung der Ergebnisse in größeren Studienkollektiven von Nöten.

In dieser Studie wurden zudem nur männliche Mäuse benutzt. Unabhängig von der individuellen Leistung entwickeln weibliche Mäuse in der Regel eine stärker ausgeprägte kardiale Hypertrophie [92]. Der Grund mag nicht unbedingt an einer besseren Motivation, sondern an Geschlechtsunterschieden direkt im Herzmuskel, und einer stärkeren Hypertrophiereserve zu suchen sein. Diese tierexperimentell gewonnenen Daten widersprechen jedoch den Ergebnissen einer italienischen Studie, die bei 600 Ausdauersportlerinnen im Gegensatz zu männlichen Ausdauersportlern keine Erhöhung der linksventrikulären Wanddicke auf über 13mm (als Differentialdiagnose Sportlerherz vs. HCM) nachweisen konnte [108]. Männliche Mäuse mit experimentellem Aortenbanding zeigen zudem im Gegensatz zu weiblichen Tieren deutlichere Einschränkungen der diastolischen Funktion [122].

Wie aus den physiologischen Daten der C57/Bl6 Maus der Firma Charles River zu ersehen ist, unterscheiden sich Körpergewicht und Organgewichte in Abhängigkeit vom Alter und Geschlecht. Wiegt eine männliche Maus des Stammes C57/Bl6 nach 4 Wochen ca. 24 g, sind es bei einer weiblichen Maus nur 18 g [61]. Yang et al. konnten an Wildtypmäusen zeigen, dass sich die echokardiographischen Volumenparameter vom Alter der Mäuse her unterscheiden [63], so waren die endsystolischen Volumina bei älteren Mäusen im Alter von 16 Monaten signifikant niedriger als die endsystolischen Volumina von 6 Monate alten Mäusen.

Daher kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Ergebnisse unserer Messungen von Alters- und Geschlechtsunterschieden abhängen.

Weiterhin verzichteten wir in der Aortenbandinggruppe auf scheinoperierte Kontrollmäuse. Daher ist nicht sicher ausschließbar, dass die Ergebnisse bei den Aortenbandingtieren durch den Effekt der Operation und die vorangegangene Narkose verfälscht wurden.

Am Institut für Experimentelle Physik 5 der Universität Würzburg wurde von Streif et al. die Methode des sogenannten *Vektormappings* entwickelt [60]. Ein Ziel unserer Studie, die

lokale Myokardkontraktilität der einzelnen Gruppen mit Hilfe dieser Methode kernspintomographisch zu visualisieren und objektivieren, ähnlich wie bei der im humanen Gebrauch befindlichen *tagging*-Methode, musste zu diesem Zeitpunkt aufgrund der nicht ausgereiften Software-Methode verlassen werden. Hier besteht für die Zukunft noch weiterer Forschungsbedarf.

5. Zusammenfassung

Herzerkrankungen sind die Haupttodesursache in den westlichen Nationen. Unter den Herzerkrankungen spielt die linksventrikuläre Hypertrophie mit Entwicklung einer Herzinsuffizienz eine tragende Rolle. In der gängigen Praxis ist es schwierig ein durch körperliches Training physiologisch hypertrophiertes Herz von einem pathologisch hypertrophierten Herz zu unterscheiden. Da sich immer mehr Menschen einem intensiven körperlichen Training unterziehen, hat die Differentialdiagnose im klinischen Alltag erhebliche therapeutische Konsequenzen. Noch herrscht Unklarheit darüber, ob eine physiologische Herzhypertrophie per se nicht auch pathologisch ist. In der vorliegenden Arbeit wurden drei experimentelle Mausmodelle der linksventrikulären Hypertrophie miteinander verglichen:

1. Pathologische Herzhypertrophie durch chronisch adrenergen Streß, bedingt durch 15 fache Überexpression des kardialen β_1 - Adrenorezeptor
2. Pathologische Herzhypertrophie durch chronische Druckbelastung mittels Aortenkonstriktion (Aortenbanding)
3. Physiologische Herzhypertrophie durch Lauftraining in einem Käfiginternen Laufrad.

Wir konnten zeigen, dass es bei beiden Formen der linksventrikulären Hypertrophie einerseits zu einer signifikanten Kardiomyozytenhypertrophie kommt, sich beim Vergleich mit den pathologischen Formen der Herzhypertrophie bei der physiologischen Form aber andererseits keine signifikanten Veränderungen der volumetrischen Parameter zeigen.

Bei den pathologischen Formen der Herzhypertrophie kommt es zu einer interstitiellen Fibrosierung, die durch Erhöhung der Wandsteifigkeit zu einer Einschränkung der diastolischen Relaxation (dp/dt_{min}) und systolischen Kontraktion (dp/dt_{max}) des linken Ventrikels führt.

Eine frühdiastolische oder frühsystolische Funktionsstörung kann zudem schon vor Auftreten der eigentlichen klinischen Zeichen der Herzinsuffizienz als ein Frühmarker einer beginnenden dekompensierenden Herzhypertrophie gesehen werden.

Die chronische Aktivierung β -adrenerger Rezeptoren führt im Gegensatz zur chronischen Druckbelastung durch Sport zu einer signifikanten Expression fetaler Gene wie dem β -Myosin heavy chain, das zur weiteren Einschränkung des Kontraktionsmechanismus des Herzmuskels beiträgt

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Hypertrophie des Sportlers einen physiologischen Anpassungsmechanismus an die chronische oder intermittierende Druckbelastung darstellt, wenn auch eine linksventrikuläre Hypertrophie für sich alleine einen wichtigen Prädiktor für kardiale Ereignisse darstellt.

Die von uns beschriebenen Mausmodelle tragen zum besseren Verständnis des Pathomechanismus der linksventrikulären Hypertrophie bei, sind allerdings nur mit Einschränkungen auf den Menschen übertragbar.

Seit mehr als 30 Jahren wird die Echokardiographie zur Evaluation der Adaptationsvorgänge beim Sportlerherzen genutzt. In unserer Studie konnten wir zeigen, dass sich die cine-NMR Messung als ein sicheres nicht-invasives Messverfahren zur Bestimmung volumetrischer Parameter an der Maus eignet und als eine Alternative zur konventionellen Echokardiographie benutzt werden kann [25,27,28]. Mithilfe weiterer kernspintomographischer Algorithmen können die von uns benutzten Tiermodelle in Zukunft genauer phänotypisiert werden.

6. Anhang

6.1. Literaturverzeichnis

1. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham heart study. 1990. *N Engl J Med.* 322:1561-1566.
2. Vakili BA, Okin PM, Devereux RB. Prognostic implications of left ventricular hypertrophy. 2001. *Am Heart J.* 141:334-341.
3. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): A randomised trial against atenolol. Dahlöf et al *Lancet* 2002;359(3911):995–1003.
4. Henschen SW. 1899. Skilauf und Skiwetlauf: Eine medizinische Sportstudie. *In Mitteilungen aus der Medizinischen Klinik in Uppsala,*
5. Maron BJ, Roberts WC, McAllister HA, Rosing DR, Epstein SE. 1980. Sudden death in young athletes. *Circulation* 62:218-29
6. McCann GP, Muir DF, Hillis WS. 2000. Athletic left ventricular hypertrophy: long-term studies are required. *Eur. Heart J.* 21:351-3
7. Rost R, Hollmann W. 1983. Athlete's heart--a review of its historical assessment and new aspects. *Int. J. Sports Med.* 4:147-65
8. Schanwell CM, Marx R, Plehn G, Perings Ch, Leschke M, Strauer BE. Kann eine linksventrikuläre pathologische Hypertrophie bei arterieller Hypertonie von einer physiologischen Hypertrophie durch Sport unterschieden werden) *Dtsch Med* 1992; 13: 270-284
9. Weber KT, Brilla CG. 1993. Structural basis for pathologic left ventricular

hypertrophy. *Clin. Cardiol.* 16:III10-III14

10. Maron BJ. Structural features of the athletes heart as defined by echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 190-203
11. Derumeaux G, Mulder P, Richard V, Chagraoui A, Nafeh C, Bauer F, Henry JP, Thuillez C. Tissue Doppler Imaging differentiates physiological from pathological pressure-overload left ventricular hypertrophy in rats. *Circulation* 2002; 105: 1602-1608.
12. Pelliccia A, Maron BJ. Outer limits of the athlete's heart, the effect of gender, and relevance to the differential diagnosis with primary cardiac diseases. *Cardiol Clin* 1997 Aug; 15(3): 381-96.
13. Feldman AM, Weinberg EO, Ray PE, Lorell BH. Selective changes in cardiac gene expression during compensated hypertrophy and the transition to cardiac decompensation in rats with chronic aortic banding. *Circ Res* 1993;73:184-192
14. Weinberg EO, Schoen FJ, George D, et al. ACE inhibition prolongs survival and modifies the transition to heart failure in rats with pressure overload hypertrophy due to ascending aortic stenosis. *Circulation* 1994;90:1410-1422
15. Hickson RC, Hammons GT, Holloszy JO. Development and regression of exercise induced cardiac hypertrophy in rats. *Am J Physiol* 1979;236:H268-H272
16. Kaplan ML, Cheslow Y, Vikstrom K, et al. Cardiac adaptations to chronic exercise in Mice. *Am J Physiol* 1994;267:H1167-H1173
17. Dorn 2nd GW, Robbins J, Ball N, Walsh RA. Myosin heavy chain regulation and myocyte contractile depression after LV hypertrophy in aortic-banded mice. *Am J Physiol* 1994;267:H400-H405
18. Vakhrusheva, O. et al. Sirt7 increases stress resistance of cardiomyocytes and prevents apoptosis and inflammatory cardiomyopathy in mice

- Circ Res.* 2008; 102:00-D01: 10.1161/CIRCRESAHA.107.164558).
19. Budinger T, Lauterbur P. Nuclear magnetic resonance technology for medical studies. *Science* 1984;226(4672):288-98.
 20. Mallard J, Hutchison JM, Edelstein W, Ling R, Foster M. Imaging by nuclear magnetic resonance and its bio-medical implications. *J Biomed Eng* 1979;1(3):153-60.
 21. Manning WJ, Wei JY, Katz SE, Litwin SE, Douglas PS. In Vivo Assessment of LV mass in Mice Using High-Frequency Ultrasound: Necropsy Validation. *Am J Physiol* 1994;266:H1672-H1675.
 22. Rose S, Wilson S, Zelaya F, Crozier S, Doddrell D. High resolution high field rodent cardiac imaging with flow enhancement suppression. *Magnetic Resonance Imaging* 1994;12:1183-1190.
 23. Wiesmann F. Reduced contractile reserve and diastolic dysfunction in a transgenic mouse model with beta1-adrenergic receptor overexpression assessed by MRI. *Circulation* 1999;100(18):I-565.
 24. Wiesmann F, Frydrychowicz A, Rautenberg J, et al. Analysis of right ventricular function in healthy mice and a murine model of heart failure by in vivo MRI. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283(3):H1065-71.
 25. Wiesmann F, Gatehouse PD, Panting JR, Taylor AM, Firmin DN, Pennell DJ. Comparison of fast spiral, echo planar and FLASH magnetic resonance imaging for cardiac volumetry at 0.5T. *JMRI* 1998;8:1033-39.
 26. Wiesmann F, Neubauer S, Haase A, Hein L. Can we use vertical bore MR scanners for murine cardiovascular phenotype characterization? Influence of upright body position on left ventricular hemodynamics in mice. *JCMR* 2001;in press.
 27. Wiesmann F, Ruff J, Engelhardt S, et al. Dobutamine-stress magnetic resonance

- microimaging in mice : acute changes of cardiac geometry and function in normal and failing murine hearts. *Circ Res* 2001;88(6):563-9.
28. Wiesmann F, Ruff J, Haase A. High-resolution MR imaging in mice. *Magma* 1998;6(2-3):186-8. 170. Wiesmann F, Ruff J, Hiller K, Rommel E, Haase A, Neubauer S. Developmental changes of cardiac function and mass assessed with MRI in neonatal, juvenile, and adult mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278(2):H652-7. 171.
 29. AC Pearson, CV Gudipati, and AJ Labovitz Effects of aging on left ventricular structure and function. *Am Heart J*, March 1, 1991; 121(3 Pt 1): 871-5.
 30. A. Frydrychowicz Hochaufgelöste cine-Magnetresonanz-Bildgebung des Mäuseherzens zur Bestimmung rechtsventrikulärer Morphologie und funktioneller Parameter. Validierung der Methode und Etablierung an zwei Modellen der Herzinsuffizienz. *Dissertation Universität Würzburg* 23.04.2004
 31. S. Engelhardt Transgene Mausmodelle zur Charakterisierung der Funktion kardialer β -adrenerger Rezeptoren. *Dissertation Universität Würzburg* 2001
 32. Rockman H.A., Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo model of cardiac hypertrophy, *Proc Natl Acad Sci (US)*, 1991;88:8277-8281.
 33. Haase A, Frahm J, Matthaei M, Hänicke W, Merboldt KD. FLASH imaging: rapid NMR imaging using low flip angle pulses. *J Magn Res* 1986;67:258-266.
 34. Kress J., Quantitative Segmentation mehrdimensionaler NMR-Bilder, *Diplomarbeit, Universität Würzburg*, 1996.
 35. Rommel E, Kuhstrebe J, Wiesmann F, et al. A double trigger unit for ECG and breath triggered mouse heart imaging. *MAGMA*. 2000;11: 568.
 36. Dickhut HH, Röcker K, Heitkamp HC, Keul J. Echocardiographic findings in

athletes with hypertrophic non-obstructive cardiomyopathy compared to non-athletes with HNCM and to physiological hypertrophy. *Int J Sport Med* 1994; 15:273

37. Franz I-W. Hochdruckherz und Sport. Steinkopff, In: K.-L. Schulte (Hrsg) Kardiale Risiken bei Sport. 1991:37
38. Kindermann W. Standard der Sportmedizin: Das Sportherz. *Dtsch Z Sportmed* 2000; 9:307
39. Lombardi, R. and S. Betocchi, Aetiology and pathogenesis of hypertrophic cardiomyopathy. *Acta Paediatr Suppl*, 2002. 91(439): p. 10-4.
40. Herold- Innere Medizin 2006, *Gerd Herold* und Mitarbeiter, Köln
41. Morner, S., et al., Amyloid heart disease mimicking hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Internal Medicine*, 2005. 258(3): p. 225-230.
42. Kreitner K-F, Sanstede J. Leitlinien für den Einsatz der MR-Tomographie in der Herzdiagnostik. *Fortschr. Roentgenstr.* 2004;176:1185-93
43. De Simone G, Gottdiener JS, Chinali M, Maurer MS. Left ventricular mass predicts heart failure not related to previous myocardial infarction: The Cardiovascular Health study. *Euro Heart J.* 2008;29:741-747
44. Wachtel K, Bella JN, Rokkedal J et al. Change in diastolic left ventricular filling after One year of antihypertensive treatment: The Losartan Intervention For Endpoint Reduction in Hypertension (LIFE) Study. *Circulation* 2002;105:1071-1076
45. BE Strauer: Das Hochdruckherz, *Springer Verlag* 1991
46. www.morbus-fabry.de Internetauftritt des Morbus Fabry Forum
47. Kardiologie compact. Hrsg.: Christian Mewes, Reimer Riessen, Ioakim Spyridopoulos

2. unveränderte Auflage, *Thieme Verlag*

48. Rinck PA. Magnetresonanztomographie in der Medizin. Lehrbuch des European Magnetic Resonance Forum, 5. Auflage, *ABW Wissenschaftsverlag GmbH* Berlin, 2003
49. Brodde et al. 1999 : β 1- and β 2-Adrenoceptors in the human heart: properties, function and alterations in chronic heart failure. *Pharmacol Rev* 43 (1991); 203-242
50. Brodde O-E, Michel MC, Zerkowski H-R: Signal transduction mechanisms controlling cardiac contractility and their alterations in chronic heart failure. *Cardiovasc Res* 30 (1995); 570-587
51. Bristow MR, Ginsburg R, Minobe W, Cubicciotti RS, Sageman WS, Lurie K, Billingham ME, Harrison DC, Stinson EB: Decreased catecholamine sensitivity and β -adrenergic-receptor density in failing human hearts. *N Engl J Med* 307 (1982); 205-211
52. Maurizi Castellano, Michael Bohm: The Cardiac β -Adrenoceptor- Mediated signaling pathway and its alterations in Hypertensive heart disease. *Hypertension* 1997;29:715-722
53. Tarnavski Oleg et al.: Mouse cardiac surgery- comprehensive techniques for the generation of mouse models of human diseases and their application for genomic studies *Physiol Genomics* 16:349-360, 2004
54. Ping Hu et al. : Minimally invasive aortic banding in mice- effects of altered Cardiomyocyte insulin signaling during pressure overload
Am J Physiol Heart circ Physiol 285: H1261-H1269, 2003
55. Rainer Klinke, Stefan Silbernagl: Lehrbuch der Physiologie *Thieme Verlag*,
Zweite neu gestaltete und überarbeitete Auflage
56. Bo Ding et al. : Left ventricular Hypertrophy in Ascending aortic stenosis

Mice *Circulation* 2000;101:2854-2862

57. Liao Y., Ishikura F. et al.: Echocardiographic assessment of LV hypertrophy and function in aortic-banded mice: necropsy validation, *Am J Physiol* 2002, 282: H1703-H1708.
58. Christian O. Ritter: Langzeitverlauf der linksventrikulären Hypertrophie- Nichtinvasive Charakterisierung mittels schneller hochauflösender in vivo Magnetresonanztomographie, *Dissertation* Universität Würzburg 2006
59. Imamura et al. : Adaptational changes of MHC gene expression and isoenzyme Transition in cardiac overloading. *Am. J. Physiol.* 260: H73-H79, 1991
60. Jörg UG Streif et al. : In Vivo Time-Resolved Quantitative Motion Mapping of the Murine Myocardium With Phase Contrast MRI, *Magnetic Resonance in Medicine* 49:315-321 (2003)
61. Physiological Data Summary – C57BL/6J , *Charles River (Sulzfeld)*
62. Yang XP, Liu YH et al. : Echocardiographic assesment of cardiac function in conscious and anesthetized mice *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 277:H1967-H1974, 1999
63. T. Kempf, H. Drexler, K.C. Wollert : Pathophysiologie der Herzinsuffizienz *Internist* 9/2007
64. Perrino C et al. : Intermittent pressure overload triggers hypertrophy-independent Cardiac dysfunction and vascular rarefication *J Clin Invest* 2006 116:1547-1560
65. Esposito G et al. : Genetic alterations that inhibit in vivo pressure-overload hypertrophy prevent cardiac dysfunction despite increased wall stress *Circulation* 105: 85-92
66. Ole Johan Kemi et al. : Intensity-controlled treadmill running in mice-cardiac and

Skeletal muscle hypertrophy *J Appl Physiol* 93:1301-1309, 2002

67. Natali, A. J., Turner, D. L., Harrison, S. M., and White, E.: Regional Effects of Voluntary Exercise on Cell Size and Contraction-Frequency Responses in Rat Cardiac Myocytes. *J.Exp.Biol.* 2001;204(Pt 6):1191-9.
68. Solberg, L. C., Horton, T. H., and Turek, F. W. : Circadian Rhythms and Depression Effects of Exercise in an Animal Model. *Am. J. Physiol* 1999;276(1 Pt 2):R152-R161.
69. Harri, M., Lindblom, J., Malinen, H., Hyttinen, M., Lapvetelainen, T., Eskola, S., and Helminen, H. J. :Effect of Access to a Running Wheel on Behavior of C57BL/6J Mice. *Lab Anim Sci.* 1999;49(4):401-5.
70. Lerman, I., Harrison, B. C., Freeman, K., Hewett, T. E., Allen, D. L., Robbins, J., and Leinwand, L. A. : Genetic Variability in Forced and Voluntary Endurance Exercise Performance in Seven Inbred Mouse Strains. *J. Appl. Physiol* 2002;92(6):2245-55.
71. Natali, A. J., Turner, D. L., Harrison, S. M., and White, E. Regional Effects of Voluntary Exercise on Cell Size and Contraction-Frequency Responses in Rat Cardiac Myocytes. *J.Exp.Biol.* 2001;204(Pt 6):1191-9.
72. Jeanne F. et al. : Cardiac Physiology in Transgenic Mice *Cir. Res.* 1998;82;407-415
73. Gaasch WH et al. : Left ventricular compliance-mechanisms and clinical implications *Am J Cardiol* 1976;38:645-653
74. Grossmann W et al. : Diastolic properties of the left ventricle *Ann Intern Med* 1976; 84:316-326
75. Weber KT et al. : Myocardial fibrosis and the renin-angiotensin-aldosterone system *J Cardiovascular Pharmacol.* 1992;20:S48-S54
76. Frey, N., McKinsey, T.A., Olson, E.N. (2000): Decoding calcium signals involved in cardiac growth and function. *Nat Med*, 6, 1221-7.

77. Urhausen A, Kindermann W: Echocardiographic findings in strength- and endurance trained athletes *Sports Med* 1992; 13:270-284
78. Pluim BM et al., : Left ventricular hypertrophy: pathology versus physiology, 1999; 65-81
79. Bouvagnet P, Pons F, Local changes in myosin types in diseased human atrial myocardium: a quantitative immunofluorescence study. *Circulation*, 1984 72;272-279.
80. Orenstein TL, Butany JW, Favorable left ventricular remodeling following large myocardial infarction by exercise training. *J Clin Invest*, 1995. 96: p. 858-866.
81. Zhou MD et al. : Retinoid-dependent pathways suppress myocardial cell hypertrophy *PNAS* August 1, 1995 vol. 92 no. 16 7391-7395
82. Thomas Thum et al. : Testosterone, cytochrome P450, and cardiac hypertrophy; Vol. 16 October 2002 *The FASEB Journal*
83. James JF, Hewett TE, Robbins J. : Cardiac Physiology in Transgenic Mice *Circ Res* 1998;82:407-415.
84. Gerald W. Dorn II: The Fuzzy Logic of physiological cardiac hypertrophy. *Circulation* 2007;49:962-970
85. Leitzmann MF, Park Y, Blair A, et al. Physical Activity Recommendations and Decreased Risk of Mortality. *Arch Intern Med*. December 10, 2007 2007;167(22):2453-2460.
86. Carvalho RF, Cicogna AC, Campos GE, De Assis JM, Padovani CR, Okoshi MP, Pai-Silva MD. (2003) Myosin heavy chain expression and atrophy in rat skeletal muscle during transition from cardiac hypertrophy to heart failure. *Int J Exp Pathol*. 84 201-6.

87. Knierem JH. Über den Bindegewebsgehalt des Herzmuskels des Menschen. *Archiv für Kreislaufforschung* 1964; 44:231-259
88. Palazzuoli A, Gennari L, Calabria P, Nami R, Martini G, Palazzuoli V, Nuti R. Left ventricular hypertrophy differences in male professional runners and in young patients suffering from mild hypertension. *Blood Press* 2004; 13(1): 14-9.
89. Minamisawa, S., Hoshijima, M., Chu, G., Ward, C.A., Frank, K., et al. Chronic phospholamban-sarcoplasmic reticulum calcium ATPase interaction is the critical calcium cycling defect in dilated cardiomyopathy. *Cell*, 99, 313-22
90. Jones LR; Grupp IL, Doetschmann T, Grupp G, Osinska H, Hewett TE, Bolvin G, Gulick J, Ng WA, Robbins J (1996) Ablation of murine α myosin heavy chain gene leads to dosage effects and functional deficits in the heart. *J. Clin Invest* 98:19061917
91. Spani, D., M. Arras, et al. Higher heart rate of laboratory mice housed individually vs in pairs. *Lab Anim* 2003 37(1): 54-62.
92. De Bono, J. P., D. Adlam, et al. Novel quantitative phenotypes of exercise training in mouse models. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006 290(4): R926-34.
93. Flaim, S. F., W. J. Minter, et al. Cardiovascular response to acute aquatic and treadmill exercise in the untrained rat. *J Appl Physiol* 1979 46(2): 302-8.
94. Fenning, A., G. Harrison, et al. Cardiac adaptation to endurance exercise in rats. *Mol Cell Biochem* 2003 251(1-2): 51-9.
95. Rich L., Whittaker P. Collagen and picrosirius red staining: a polarized light assessment of fibrillar and spatial distribution *Braz. J. morphol. Sci.* 2005 22(2), 1-12
96. Hein S, Arnon E, Kostin S, et al. Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart: structural deterioration and compensatory mechanisms. *Circulation* 2003;107:984-91

97. O. E. Brodde. The functional importance of beta 1 and beta 2 adrenoceptors in the human heart. *Am J Cardiol* 1988; 62:24C-29C.
98. J. D. Port and M. R. Bristow. Altered beta-adrenergic receptor signaling in chronic heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33:887-905.
99. Ghorayeb N. et al. Left ventricular Hypertrophy of Athletes. Adaptive Physiologic Response of the heart *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 85 No3, 09/2005
100. Granger CB et al. Rapid ventricular filling in left ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 1985;5;862-8
101. Alessandro Biffi et al. Relation between training induced left ventricular hypertrophy and risk for ventricular tachyarrhythmias in elite athletes ; 09 October 2007
102. Müller P et al. Pressure induces cardiac overload induces upregulation of endothelial and myocardial progenitor cells *Cardiovascular Research* (2008) 77, 151-159
103. Pelliccia A, Maron BJ, Spataro A, Proschan MA, Spirito P. The upper limit of physiologic cardiac hypertrophy in highly trained elite athletes. *N Engl J Med.* 1991;324:295–301
104. Pelliccia A, Maron BJ, de Luca R, Di Paolo FM, Spataro A, Culasso F. Remodeling of left ventricular hypertrophy in elite athletes after long-term deconditioning. *Circulation.* 2002;105:944–949
105. Flecknell P. (1996) Laboratory animal anesthesia *Academic Press*; New York London: 16-109
106. Hall L.W., Clarke K.W. (2000) Apparatus for the administration of anaesthetics In: Hall L.W., Clark K.W. (eds.): *Veterinary Anesthesia 10th edition*; Saunders WB Company Ltd: 197-223

107. Manabe I, Shindo T, Nagai R. (2002) Gene expression in fibroblasts and fibrosis: involvement in cardiac hypertrophy. *Circ Res.* 91 1103-13.
108. Pelliccia A, Maron BJ, Spataro A, Biffi A, Caselli G, Culasso F. Physiological limits of athlete's heart in women. *Circulation.* 1993;88(suppl I):I-57. Abstract.
109. B M Plum, C A Swenne, A H Zwinderman, A C Maan, A van der Laarse, J Doornbos, E E Van der Wall Correlation of heart rate variability with cardiac functional and metabolic variables in cyclists with training induced left ventricular hypertrophy *Heart* 1999;81:612-617
110. Hess OM et al. Diastolic stiffness and myocardial structure in aortic valve disease before and after replacement. *Circulation* (1984) 69:865-885
111. Laks MN Norepinephrine-the myocardial hormone? *Am Heart J* 1967 91:674-675
112. Fleck SJ, Pattany PM, Stone MH, Kraemer WJ, Thrush J, Wong K. Magnetic resonance imaging determination of left ventricular mass: junior Olympic weightlifters. *Med Sci Sports Exerc.* 1993;25:522-527.
113. WS Aronow Left ventricular hypertrophy. Significance in cardiac morbidity and mortality. *Postgrad. Med. J.*, March 1, 1990; 87(4): 147-50, 155-8.
114. D. A. Sideris et al., Acute changes in blood pressure as a cause of cardiac arrhythmias *Eur. Heart J.*, Jan 1987; 8: 45 - 52.
115. Ju H, Zhao S, Tappia PS, et al. Expression of Gq alpha and PLC-beta in scar and border tissue in heart failure due to myocardial infarction. *Circulation* 1998;97:892- 829.
116. Knierem JH. Über den Bindegewebsgehalt des Herzmuskels des Menschen. *Archiv für Kreislaufforschung* 1964; 44:231-259
117. Snider AR. Doppler evaluation of left ventricular diastolic filling in children with systemic hypertension *Amj Cardiol*1985;56:921-926

118. Babette M. Pluim, Hildo J. Lamb, Hein W. M. Kayser, Ferre Leujes, Hugo P.
Resonance Imaging and Dobutamine Stress Magnetic Resonance Spectroscopy
Functional and Metabolic Evaluation of the Athlete's Heart By Magnetic Resonance
spectroscopy *Circulation* 1998;97:666-672
119. Dickhuth HH. Differential diagnosis of physiological cardiac hypertrophy in athletes
Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin 2001 Jahrgang 52, Nr.6
120. Swallow John G et al. Phenotypic and Evolutionary Plasticity of Organ Masses in
Response to Voluntary Exercise in House Mice *Integr. Comp. Biol.*,45:426-437 (2005)
121. Daniels SR et al. Effect on lean body mass, fat mass, blood pressure, and sexual
maturation on left ventricular mass in children and adolescents: statistical, biological,
and clinical significance. *Circulation*. 1995;92:3249-3254
121. Himeno E et al. Weight reduction regresses left ventricular mass regardless of blood
pressure level in obese subjects. *Am Heart J*. 1996;131:313-319
122. Douglas PS et al. Hypertrophic remodeling: gender differences in the early response to
left ventricular pressure overload. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32:1118-1125

6.2. Abkürzungsverzeichnis

AT-1	Antithrombin-I
Bo	Stärke des äußeren Magnetfeldes
C	Celsius
CI	Cardiac Index
CO	Cardiac output (Herzminutenvolumen)
dp/dt _{max}	Linksventrikulärer Druckanstieg
dp/dt _{min}	Linksventrikulärer Druckabfall
EDV	Enddiastolisches Volumen
EF	Ejektionsfraktion
ESV	Endsystolisches Volumen
FLASH	fast low angle shot
FOV	Field of view
FRAME	Bild
G	Gramm
HE	Hämatoxylin/Eosin
HCM	Hypertrophische Cardiomyopathie
HNCM	Hypertrophische nicht obstruktive Cardiomyopathie
ITN	Intubationsnarkose
I.P.	intraperitoneal
IVS	Intraventrikulärseptum
K	Kalvin
LV	Linker Ventrikel
LVEDD	Linksventrikulärer Enddiastolischer Diameter
LVMI	Linksventrikulärer Massenindex
M	Mol
MHZ	Megahertz
MXY	Quermagnetisierung
MZ	Längsmagnetisierung
No.	Nummer
NMR	nuclear magnetic resonance
SV	Schlagvolumen
T	Tesla

T1	Spin-Gitter-Relaxationszeit
T2	Spin-Spin-Relaxationszeit
TE	Echozeit
TR	Repetitionszeit

Gl.1 Laplace-Gesetz:
K(Wandspannung), P_{tm} (transmuraler Druck), r(Innenradius)
d(Wanddicke), $N \times m^{-2}$ (Kraft/Wandquerschnitt)

6.3. Danksagung

Mein großer Dank gilt meinem ehemaligen Betreuer, **Herrn Priv.-Doz. Dr. Frank Wiesmann**. Frank war ein großer Forscher und leidenschaftlicher Arzt. Sein früher Tod hat mich sehr betroffen gemacht.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei meinem jetzigen Betreuer **Herrn Prof. Dr. Dr. Wolfgang Bauer**, der sich trotz seiner vielen Verpflichtungen in diese Arbeit einarbeiten musste, sowie meinem Doktorvater und Koreferenten **Herrn Prof. Dr. Georg Ertl**.

Herrn Prof. Dr. Peter M. Jakob danke ich für die Bereitstellung des Kernspintomographen und die Vergabe der Messzeiten im Institut für Experimentelle Physik 5 am Hubland.

Herrn Prof. Dr. Dr. Stefan Engelhardt (jetzt Institut für Pharmakologie und Toxikologie, TU München) danke ich für die Bereitstellung der $\beta 1$ -transgenen Mäuse.

Den Mitarbeitern des Instituts für Experimentelle Physik 5, namentlich **Herrn Dr. Karl-Heinz Hiller, Marco Parczyk, Dr. Eberhard Rommel, Rheza Karrazian, Thomas Schulze-Till, Sabine Voll** und **Carmen Buntschuh** danke ich herzlich für Ihre Mühe und immer freundliche und hilfbereite Art.

Den Mitarbeitern der medizinischen Klinik, namentlich **Charlotte Dienesch, Dr. Kai Hu** (für die Durchführung der *in vivo* hämodynamischen Untersuchungen) und insbesondere **Frau Lisa Bauer** möchte ich für die lange Aufarbeitung der histologischen Schnitte und immerwährenden Motivationsschübe während Franks schwerer Krankheit und frühen Todes danken.

Meinem Studienkollegen und gutem Freund **Wolfgang Offenberger** danke ich für die langen teilweise sehr frustrierten, aber schönen Messtage/-nächte am Hubland.

Chrissi Meyer möchte ich für den letzten Motivationsschub zur Fertigstellung dieser Arbeit danken.

Meine Freunde (insbesondere **Eva Kleimann**) und **meine Familie** sollen wissen, dass ich dankbar bin dass es sie gibt.

6.4. Lebenslauf

Sebastian Dietmar Norbert Grünig

Geboren: 28.08.1979
Geburtsort: Mülheim a.d. Ruhr
Wohnort: Florastraße 25, 40217 Düsseldorf

Schulbildung:

1986 – 1990 Mathias-Claudius Grundschule, Ratingen
1990 – 1999 Kopernikus Gymnasium, Ratingen
1999 Allgemeine Hochschulreife

Universitäre Ausbildung:

WS2000/2001-SS 2002 Studium der Humanmedizin an der Universität Leipzig
Physikum am 29.08.2002
WS2002/2003-WS 2006 Studium der Humanmedizin an der Universität Würzburg
1. Staatsexamen am 28.08.2003
2. Staatsexamen am 14.09.2005
3. Staatsexamen am 20.10.2006

Famulaturen/Praktisches Jahr:

Innere Medizin Katholisches Krankenhaus Ratingen (2002)
Radiologie Institut für Röntgendiagnostik der Universität Würzburg (2003)
Orthopädie Marienkrankenhaus, Düsseldorf-Kaiserswerth (2003)
Kinderheilkunde Kinderarztpraxis Dr. Breckling, Mülheim/Ruhr (2004)
Innere Medizin Florence-Nightingale Krankenhaus Düsseldorf (2005)

Innere Medizin Medizinische Klinik und Poliklinik der Universität Würzburg,
(4 Monate) 1.Tertial
Kinderheilkunde Universitätskinderklinik Würzburg, (4 Monate) 2. Tertial
Chirurgie Chirurgische Klinik und Poliklinik 1 der Universität Würzburg,
(4 Monate) 3.Tertial

Weiterbildungszeit:

01.01.2007-31.12.2008

Assistenzarzt in der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie der Universität Düsseldorf (Direktor: Univ.Prof. Dr. BE Strauer)

Seit dem 01.01.2009

Assistenzarzt in der Klinik für Kardiologie und Angiologie des Elisabeth-Krankenhaus Essen (Direktor: Prof. Dr. GV Sabin)

Sebastian Grünig