

Aus der Medizinische Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. Georg Ertl

**Dynamischer Mechanismus der Induktion von Kammerflimmern:
Bedeutung von Aktionspotential-Restitution und -Alternans**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von

Johanna Mante
aus Kiel

Würzburg, März 2010

Referent: Prof. Dr. med. Johann Bauersachs

Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. Michaela Kuhn

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 20.07.2010

Die Promovendin ist Ärztin

*Meinen Eltern
in Liebe
und Dankbarkeit.*

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Der plötzliche Herztod	1
1.2. Das Kammerflimmern	1
1.2.1. Die Pathophysiologie der Spiralwellen	2
1.2.2. Die Restitutionsfunktion der Aktionspotentialdauer	4
1.2.3. Die Restitutionsfunktion der Reizleitungsgeschwindigkeit	6
1.2.4. Restitution und Kammerflimmern	6
1.3. Der Aktionspotential-Alternans	8
1.3.1. Der konkordante APD-Alternans	8
1.3.2. Der diskordante APD-Alternans	9
2. Material und Methoden	13
2.1. Das Stimulationsprotokoll	13
2.1.1. Das Standard-Stimulationsprotokoll	13
2.1.2. Das dynamische Stimulationsprotokoll	14
2.1.3. Die Anwendung des dynamischen Stimulationsprotokolls in vivo	15
2.1.4. Das weiterführende Stimulationsprotokoll zum Auslösen von Kammerflimmern	16
2.2. Der Versuchsaufbau	17
2.2.1. Der Grundaufbau des Versuches	17
2.2.2. Die medikamentöse Versuchsreihe	18
3. Resultate	20
3.1. Hämodynamische und basale elektrophysiologische Parameter unter Kontrollbedingungen und unter Verapamil	20

1. Einleitung

1.1. Der plötzliche Herztod

Der plötzliche Herztod (sudden cardiac death) ist nach aktueller Definition ein durch Herz-Kreislaufversagen hervorgerufener Tod, der sich innerhalb von Minuten nach Beginn kardialer Symptome ereignet, wobei Zeit und Art unerwartet sind. Eine bereits diagnostizierte Herzerkrankung kann oder kann nicht vorliegen (*American Heart Association, 2007; Albert et al., 2003*).

In Deutschland sterben jährlich ca. 100 000 Menschen am plötzlichen Herztod, wobei bei der Hälfte der Patienten eine vorbestehende Herzerkrankung nicht bekannt ist (*Blaeser, 2002*).

Wichtigstes elektrophysiologisches Korrelat des plötzlichen Herztodes und somit dessen Hauptursache in der deutschen Allgemeinbevölkerung ist das Kammerflimmern. Das Kammerflimmern ist meist mit einer bereits bestehenden und klinisch nicht bekannten koronaren Herzerkrankung assoziiert. Mit abnehmenden Häufigkeiten folgen Kardiomyopathien, die hypertensive Herzerkrankung, kongenitale Herzerkrankungen und pathologische Veränderungen des Reizleitungssystems (*Haberl et Steinbigler, 1999*).

1.2. Das Kammerflimmern

Bei Kammerflimmern handelt es sich um eine maligne Herzrhythmusstörung, die durch hochfrequente arrhythmische Flimmerwellen (350 – 500/min) des ventrikulären Myokards ohne effektive Kontraktion des Herzmuskels charakterisiert ist (*Werdan, 2003; Pschyrembel, 1998*).

Typischerweise geht dem Kammerflimmern eine ventrikuläre Tachykardie voraus, die wiederum durch Extrasystolen ausgelöst werden kann (*Weiss et al., 2002*). Obwohl viele Mechanismen dieser zumeist letal verlaufenden Arrhythmie in den letzten Jahren intensiv untersucht worden sind, sind viele Aspekte weiterhin unbekannt.

Als wichtige Determinanten in der Entstehung von Kammerflimmern werden frequenzabhängige Schwankungen der Aktionspotentialdauer und der Refraktärperiode des ventrikulären Myokards angesehen (*Tusscher et al., 2006*). Durch Änderungen der Herzfrequenz kommt es zu Veränderungen der Aktionspotentialdauer. Das Verhältnis des Aktionspotentials und des vorangegangenen diastolischen Intervalls wird in der elektrischen Restitutionsfunktion charakterisiert.

In einer Reihe von Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Kinetik der elektrischen Restitutionsfunktion von entscheidender Bedeutung bei der Entstehung ventrikulärer Arrhythmien zu sein scheint (*Hastings et al., 2002; Koller et al., 1998; Weiss et al., 2002, 2005*). Insbesondere eine hohe Steigung der Restitutionsfunktion scheint mit dem Aufbrechen eines Spiralwellen-Reentrys in multiple kleine Erregungswellen assoziiert zu sein. Das Verhalten der Spiralwellen liegt möglicherweise der Entstehung von ventrikulären Tachykardien und deren Übergang in Kammerflimmern zugrunde und ist Grundlage der erörterten Thematik dieser Arbeit.

1.2.1. Die Pathophysiologie der Spiralwellen

Die kardiale Erregung wird in Wellen, die aus Wellenfront, Wellenlänge und Wellenrücken bestehen, beschrieben. Die Wellenfront korrespondiert mit dem schnellen Aufstrich (Depolarisation) des Aktionspotentials, der Wellenrücken mit der Repolarisation. Die Strecke zwischen Wellenfront und Wellenrücken ist die Wellenlänge, die aus dem Produkt von Aktionspotentialdauer (APD) und Reizleitungsgeschwindigkeit (CV) besteht (Abbildung 1).

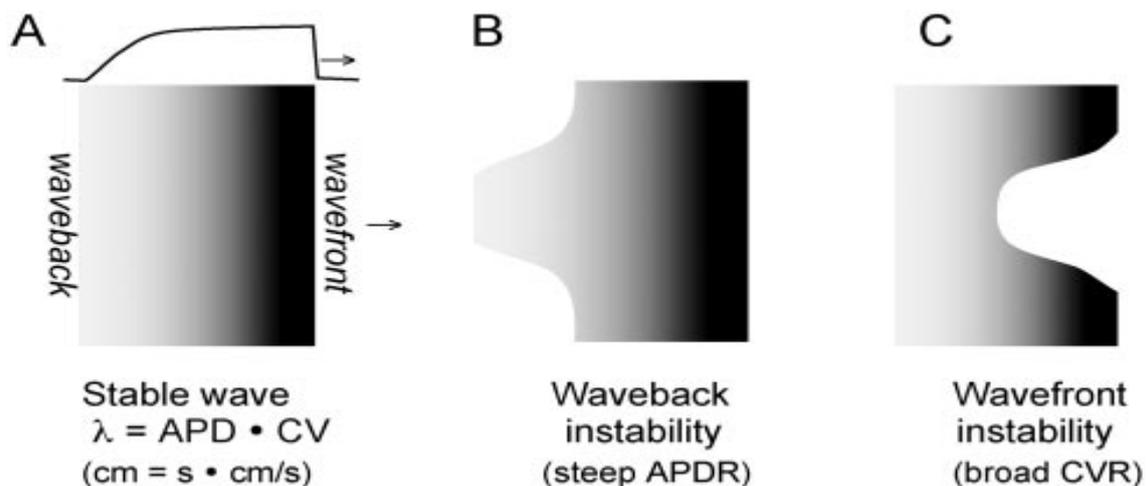


Abbildung 1)

Darstellung des kardialen Impulses als eine elektrische Welle mit Wellenfront (wavefront - schwarz), korrespondierend zum schnellen Aufstrich des Aktionspotentials, und des Wellenrückens (waveback - grau), korrespondierend zur Repolarisation.

A) Stabile Welle (stable wave).

B) Welle mit Instabilität des Wellenrückens (waveback instability) hervorgerufen durch eine lokalisierte, verlängerte Aktionspotentialdauer.

C) Welle mit Instabilität der Wellenfront (wavefront instability) hervorgerufen durch eine lokalisierte, verlangsamte Reizleitungsgeschwindigkeit (Weiss et al., 2005).

Treffen Wellenfront und Wellenrücken zusammen, so dass sich in einem Punkt Depolarisation und Repolarisation treffen, brechen die Wellen auf und es bilden sich Spiralwellen. Diese Spiralwellen haben eine sehr kurze Zykluslänge von ca. 100 msec, was etwa einer Frequenz von 600 pro Minute entspricht. Da die Spiralwellen kreisende Erregungen (Reentry) sind, treffen die in Depolarisation und in Repolarisation befindlichen Zellbereiche aufeinander, und es kann zum Aufbruch der Spiralwelle kommen. Diese in Gang gesetzte Kaskade kann das Kammerflimmern verursachen (Weiss et al., 2002).

Für einen Spiralwellenaufbruch werden verschiedene Ursachen diskutiert. Zum einen kann ein Spiralwellenaufbruch durch bereits bestehende Heterogenität des Gewebes hervorgerufen werden. Diese können in anatomischen oder elektrophysiologischen Veränderungen begründet sein. Anatomische Gewebeveränderungen werden zum Beispiel durch Infarzierung, Fibrosierung oder strukturelles Remodeling wie bei Kardiomyopathien verursacht. Elektrophysiologische Gewebheterogenitäten werden zum Beispiel durch

elektrisches Remodeling, Medikamenteneinnahme, genetische Faktoren oder autonome Innervationsverhältnisse verursacht (*Weiss et al., 2005*).

Des Weiteren spielen dynamische Faktoren eine Rolle, wobei diese mit und ohne heterogenem Gewebe einen Wellenaufbruch fördern können. Im Gegensatz zu Gewebheterogenität, die sich auf lokale Strukturen und festgelegte elektrophysiologische Heterogenitäten bezieht, bilden dynamische Faktoren eine funktionale elektrophysiologische Heterogenität, die die Ausbreitung der Erregungswellen destabilisiert (*Weiss et al., 2005*).

Eine Spiralwelle stellt sich stabil dar, wenn die Restitutionsfunktion des Aktionspotentials < 1 ist. Ist die Steigung allerdings ≥ 1 wird die Spiralwelle instabil und bricht in viele kleine Erregungswellen auf (*Koller et al., 1998*). Zusätzlich treten bei einer Steigung ≥ 1 Oszillationen der Aktionspotentialdauer auf, was als APD-Alternans bekannt ist. Dieses Phänomen tritt bei hohen Herzfrequenzen auf und ist durch eine Schlag-zu-Schlag-Veränderung der Aktionspotentialdauer gekennzeichnet. Einem kurzen diastolischen Intervall folgt eine kurze Aktionspotentialdauer und umgekehrt. Dies ist möglicherweise die zelluläre Grundlage des T-Wellen-Alternans im Oberflächen-Elektrokardiogramm (EKG) (*Pastore et al., 1999*).

Der Alternans der T-Welle wies in großen klinischen Studien einen hohen prädiktiven Wert für das Auftreten maligner ventrikulärer Arrhythmien auf (*Rosenbaum et al., 1996*). Tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass ein zellulärer APD-Alternans mit der Entstehung von Kammerflimmern assoziiert ist (*Pastore et al., 1999*).

1.2.2. Die Restitutionsfunktion der Aktionspotentialdauer

Die elektrische Restitutionsfunktion der Aktionspotentialdauer spiegelt das Verhältnis der Aktionspotentialdauer und des vorhergehenden diastolischen Intervalls wieder.

Insbesondere scheint eine hohe Steigung der Restitutionskurve von > 1 für das Aufbrechen von Spiralwellen ausschlaggebend zu sein (*Tusscher et al., 2006*).

Grundsätzlich ist zwischen der Restitutionskurve des Standard- und des dynamischen Stimulationsprotokolls zu unterscheiden. Diese Unterschiede werden im Zusammenhang im Kapitel Methodik erläutert.

In Abbildung 2A) ist eine Restitutionskurve der dynamischen Restitutionsfunktion als „Cobweb“-Iteration dargestellt. Diese beruht auf einer Iteration der Restitutionskurve, welche nach einer von Nolasco und Dahlen ursprünglich beschriebenen Berechnung durchgeführt wurde (*Nolasco und Dahlen, 1968*).

Die Aktionspotentialdauer wurde nach einem stady state während der basalen Zykluslänge (BCL) von 300, 175 und 123 msec mittels intrazellulärer Mikroelektroden bei 95% Repolarisation (APD_{95}) gemessen und graphisch aufgetragen. Die im 45° Winkel abfallenden Geraden repräsentieren die BCL. Der Schnittpunkt der BCL-Geraden und der Restitutionsfunktion ergeben die sich an diesem Punkt befindliche Steigung der Restitutionskurve (*Koller et al., 1998*).

Bei einer BCL von 300 msec ist die Steigung der Resitutionskurve < 1 und es kommt zu einer stabilen 1:1 Stimulus:Aktionspotential-Antwort. Wie in Abbildung 2B) zu sehen ist, tritt bei dieser BCL kein APD-Alternans auf. Wird die BCL nun soweit verkürzt, dass die Steigung > 1 wird, wird der Schnittpunkt des dynamischen Systems zunehmend instabil. Diese Instabilität ist dadurch gekennzeichnet, dass die Amplitude des Alternans bei Verkürzung der BCL zunimmt. Abbildung 2B) zeigt, dass bei einer BCL von 175 msec die Alternans-Amplitude geringer ist als bei einer BCL von 123 msec.

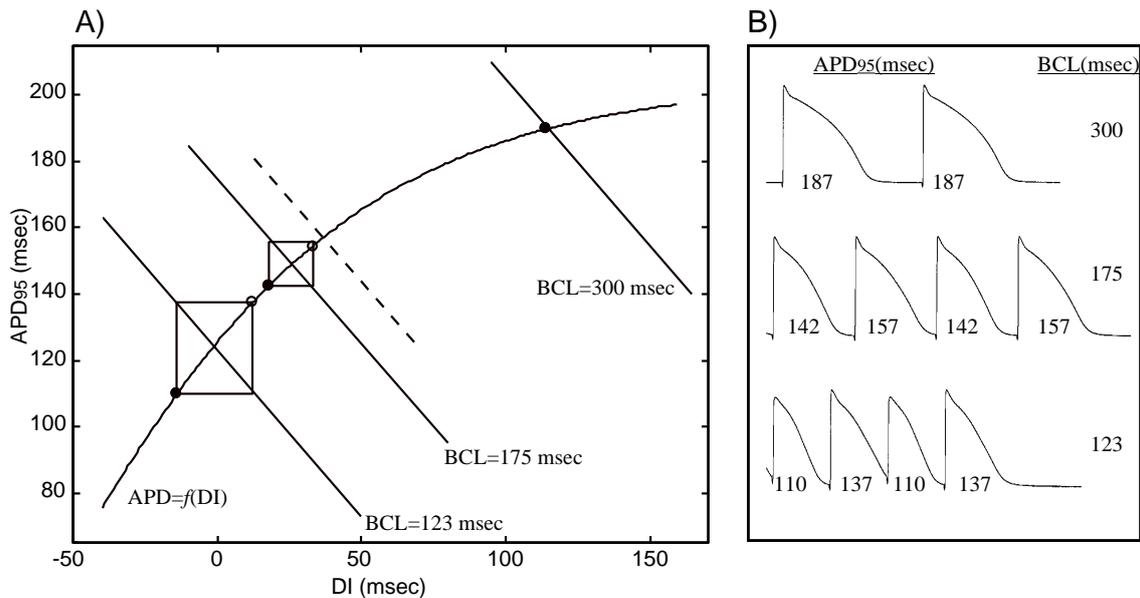


Abbildung 2)

A) Iteration der dynamischen Restitutionsfunktion $APD = f(DI)$. Die Steigung der Restitutionsfunktion ist < 1 rechts der gestrichelten Linie und > 1 links der gestrichelten Linie. Die -45° Linien entsprechen einer BCL von 300, 175 bzw. 123 msec, wobei $BCL = APD + DI$.

B) Zu den in A) gezeigten Daten korrespondierende Aktionspotentialableitungen bei BCL = 300, 175 und 123 msec. Zahlen unter den Aktionspotentialen entsprechen APD_{95} in msec (Koller et al., 1998).

1.2.3. Die Restitutionsfunktion der Reizleitungsgeschwindigkeit

Die Restitutionsfunktion der Reizleitungsgeschwindigkeit spiegelt die Abhängigkeit der Reizleitungsgeschwindigkeit vom vorhergehenden diastolischen Intervall (DI) wieder.

Bei einem langen vorangegangenen diastolischen Intervall ist die Reizleitungsgeschwindigkeit erhöht, und das Aktionspotential wird in dieser Zelle schneller fortgeleitet. Dagegen ist bei einem kurzen diastolischen Intervall die Reizleitungsgeschwindigkeit verringert. (Watanabe et al., 2001).

1.2.4. Restitution und Kammerflimmern

Gemäß der Restitutionshypothese kommt es bei einer Steigung der Restitutionskurve ≥ 1 zu einer Destabilisierung eines Spiralwellen-Reentry, ein

Mechanismus, der möglicherweise der Entstehung von Kammerflimmern aus einer ventrikulären Tachykardie zugrunde liegt (*Elharrar et al., 1984*). Substanzen, die die Steigung der Restitutionskurve auf < 1 reduzieren, sollten demnach einen antifibrillatorischen Effekt haben.

Grundlage dieser Hypothese ist, dass diese Substanzen die Steigung der Restitutionsfunktion reduzieren und somit die Induktion von Kammerflimmern verhindern bzw. bestehendes Kammerflimmern beeinflussen und in einen regelmäßigen Rhythmus konvertieren können (*Riccio et al., 1999*).

Diacetylmonoxim, Verapamil und Procainamid wurden bezüglich ihrer Eigenschaften auf die Steigung der Standard- und der dynamischen Restitutionsfunktion und auf das Verhalten des APD-Alternans hin untersucht.

Diacetylmonoxim (DAM) – ein elektromechanischer Entkoppler – führte zu einer signifikanten Reduktion der Steigung, sowohl der dynamischen, als auch der Standard-Restitutionskurve. Darüber hinaus reduzierte DAM signifikant die Amplitude des APD-Alternans.

Verapamil – ein Kalziumionen-Kanal-Blocker – bewirkte ebenso eine deutliche Reduktion der Steigung der dynamischen Restitutionsfunktion und führte zu einer nahezu vollständigen Elimination des APD-Alternans.

Procainamid – ein Klasse I-Antiarrhythmikum – hatte dagegen weder einen Einfluss auf die Kinetik der Restitutionsfunktion noch auf die Amplitude des APD-Alternans.

Im Weiteren wurde Kammerflimmern am isolierten, perfundierten linken Ventrikel vom Hund induziert. Durch DAM oder Verapamil-Exposition konnte die Induktion von Kammerflimmern durch hochfrequente Stimulation verhindert werden. Im Gegensatz dazu wurde die Induktion von Kammerflimmern durch Procainamid-Exposition nicht verhindert.

Ebenfalls zeigte sich unter Verapamil die Modulation zu einem regelmäßigen, periodischen Rhythmus.

DAM zeigte einen ähnlichen Effekt wie Verapamil auf bestehendes Kammerflimmern, wobei Procainamid im Gegensatz zu Verapamil und DAM

keine signifikante Zunahme der spatiotemporalen Organisation von bestehendem Kammerflimmern bewirkte, sondern lediglich zu einer geringfügigen Abnahme der mittleren Aktivierungsfrequenz führte.

1.3. Der Aktionspotential-Alternans

Der Alternans in der Kardiologie ist eine Schlag-zu-Schlag-Veränderung der elektrischen Reizleitung. Im Oberflächen-Elektrokardiogramm hat schon 1908 H. E. Hearing einen Alternans der T-Welle beschrieben (*Zehender, 1999*). Bei den aktuellen Methoden der Elektrophysiologie wird das Erregungsmuster des Herzens zunehmend an einzelnen Zellen oder Zellverbänden aufgezeichnet (*Fox et al., 2002; Christini et al., 2006*). Dies lässt eine genauere Sichtweise zu.

Der Alternans zeigt sich ebenfalls als eine Schlag-zu-Schlag-Variation der Aktionspotentialdauer und der resultierenden Wellenlänge, wenn die Erregung sich im Herzen ausbreitet. Der Aktionspotential-Alternans kann unterschieden werden in die konkordante und die diskordante Form (*Watanabe et al., 2001; Weiss et al., 2005*).

1.3.1. Der konkordante APD- Alternans

Der konkordante APD-Alternans ist durch Schlag-zu-Schlag-Veränderung der Aktionspotentialdauer gekennzeichnet, wobei die sich ausbreitende Erregung auf ihrem Weg nicht in ihrer Wellenlänge verändert und die Refraktärzeiten von Schlag-zu-Schlag relativ unverändert bleibt. Daher kommt es auch nicht dazu, dass die gleiche, im Zellverband an den gegenüberliegenden Polen wandernde Erregung unterschiedliche Aktionspotentialdauern hat (*Fox et al., 2002*).

Da die Refraktärperioden sich nicht stark voneinander unterscheiden, kommt es nicht zu einer verstärkten Dispersion der Refraktärzeiten, was wiederum zu

einem verminderten Wellenaufbruch und weniger Arrhythmogenität führt (*Weiss et al., 2005*). Die konkordante Form des Alternans der Aktionspotentialdauer ist die weniger arrhythmogene Form, kann aber dennoch bei lokalisiertem Vorkommen einen Spiralwellenaufbruch initialisieren (*Pastore et al., 1999*). Ein konkordanter APD-Alternans kann ausgelöst werden, indem man kardiales Gewebe über einer bestimmten Frequenzschwelle stimuliert, die unter anderem die Bedingung erfüllt, dass der Anstieg der Restitutionsfunktionskurve in diesem Frequenzbereich > 1 ist (*Koller et al., 2005; Watanabe et al., 2001*).

1.3.2. Der diskordante APD-Alternans

Der diskordante APD-Alternans ist durch Schlag-zu-Schlag-Veränderung der Aktionspotentialdauer gekennzeichnet, wobei die sich ausbreitende Erregung auf ihrem Weg durch das Gewebe in ihrer Wellenlänge verändert. Ist die Herzmuskelfaser ausreichend lang, wechselt das lang-kurz-Verhalten der Aktionspotentialdauer an der dem Stimulationsort entgegengesetzten Seite, und die Phase kehrt sich um. Es resultiert somit eine kurz-lang-Sequenz der Aktionspotentialdauer an der dem Stimulationsort entfernten Seite des Myokardareals (*Fox et al., 2002*).

Abbildung 3) zeigt ein Beispiel für das Auftreten eines lokalen Leitungsblockes als Folge eines diskordanten APD-Alternans.

Aufgezeichnet ist die Aktionspotential-Fortleitung entlang eines Bereichs von 200 Zellen. Der Ort der Stimulation ist Zelle 0. Der erste vorzeitige Stimulus (S2) wird nach einem kurzen diastolischen Intervall abgegeben und produziert dadurch ein lokales Aktionspotential mit kurzer Aktionspotentialdauer. Durch das kurze vorhergehende diastolische Intervall ist die Reizleitungsgeschwindigkeit ebenso herabgesetzt und das Aktionspotential wird langsam bis Zelle 200 fortgeleitet. Zelle 200 wird nun im Vergleich zur Zelle 0, der zuerst erregten Zelle, nach einem verlängerten diastolischen Intervall

erregt. Dieses verlängerte diastolische Intervall ruft nun bei der nächsten Erregungsausbreitung eine längere Aktionspotentialdauer hervor.

Der S3-Stimulus wird dann nach einem langen diastolischen Intervall abgegeben, was zu einer langen Aktionspotentialdauer in Zelle 0 führt. Durch das lange diastolische Intervall ist die Leitungsgeschwindigkeit hoch und das Aktionspotential wird schnell zu Zelle 200 fortgeleitet. Dort wird die Zelle nach einem kurzen diastolischen Intervall erregt, was wiederum eine kurze lokale Aktionspotentialdauer zur Folge hat.

Der S4-Stimulus wird, wie der S2-Stimulus, früh abgegeben, so dass wieder aus einem kurzen diastolischen Intervall eine kurze Aktionspotentialdauer in Zelle 0 und ein langes diastolisches Intervall gefolgt von einer langen Aktionspotentialdauer in Zelle 200 resultieren.

Wird S5 dann nach einem langen diastolischen Intervall abgegeben, breitet dieser sich schnell entlang des Zellverbandes aus und trifft auf die durch den S4-Stimulus in der Refraktärphase befindliche Zelle – es entsteht ein lokaler Leitungsblock.

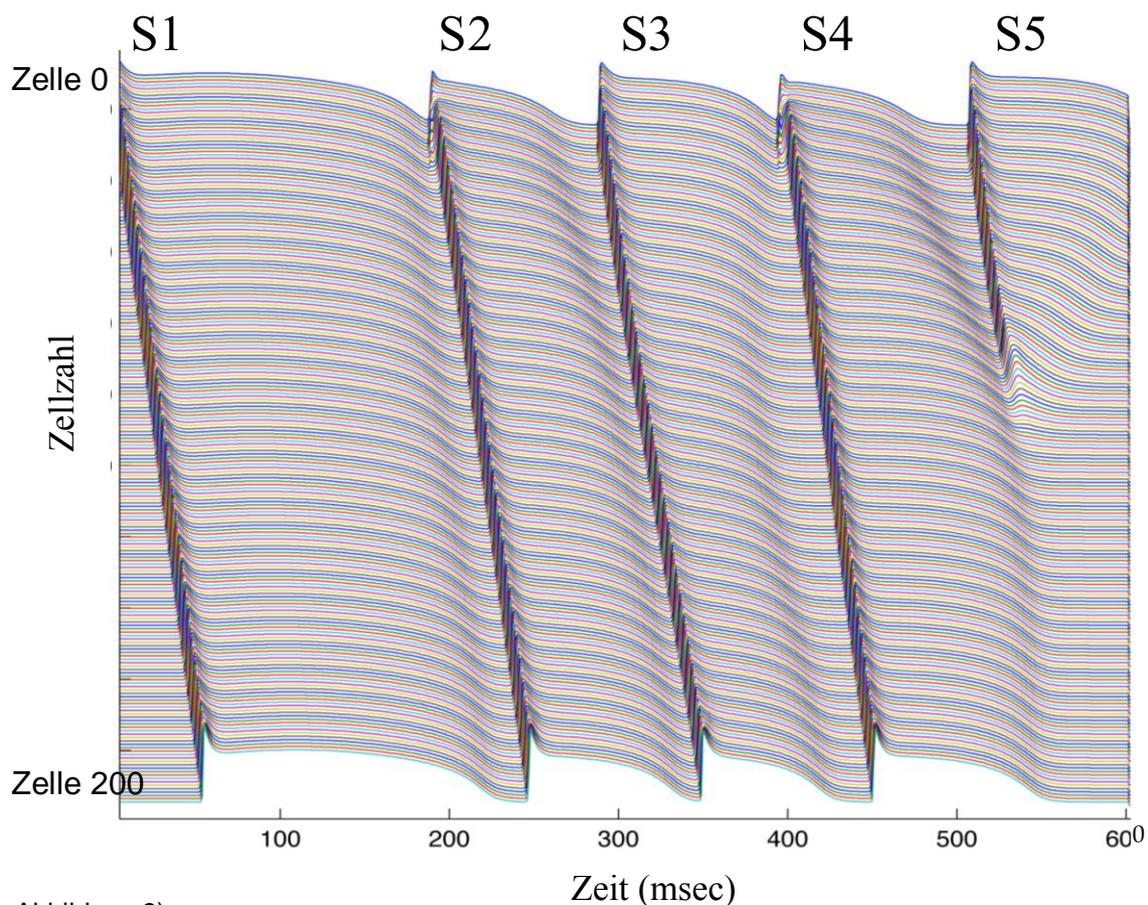


Abbildung 3)
 Beispiel eines lokalen Leitungsblockes durch Darstellung der Aktionspotential-Wanderung durch 200 linear angeordnete Zellen. Stimulationsort ist Zelle 0.

Zusammengefasst resultiert durch die vier zeitlich abgestimmten Extrastimuli eine kurz-lang-kurz-Sequenz der Aktionspotentialdauer an einem Ende des Zellverbandes (am Ort der Stimulation) und im gegenüberliegenden Bereich eine lang-kurz-lang-Sequenz – somit liegt ein diskordanter APD-Alternans vor. Diese Sequenzen kommen also in verschiedenen Bereichen desselben Gewebes zur gleichen Zeit vor. Dies führt zu einer Verstärkung der Dispersion der Refraktärzeiten, so dass es zu einem Leitungsblock kommen kann. Dieser lokale Leitungsblock kann wiederum zum Spiralwellenaufbruch und somit zum Auftreten von Kammerflimmern führen (Weiss *et al.*, 2005).

Ein diskordanter APD-Alternans kann aus einem konkordanten APD-Alternans hervorgehen. Hierbei werden verschiedene Ursachen aktuell diskutiert, wobei

immer eine dynamische Komponente enthalten ist (*Watanabe et al., 2001; Pastore et al., 1999*).

Traditionellerweise wurden ventrikuläre Extrasystolen und Tachykardien als Vorboten des plötzlichen Herztodes gesehen, so dass die medikamentöse Therapie in der Suppression dieser Arrhythmien bestand. In klinischen Studien zeigte sich allerdings, dass eine Substanzklasse, die sehr effektiv in der Suppression von Extrasystolen ist, nämlich Klasse I-Antiarrhythmika, den plötzlichen Herztod nicht verhindern konnten. Vielmehr erhöhte sich in der CAST-Studie die Mortalität in der mit Klasse I-Antiarrhythmika behandelten Patientengruppe im Vergleich zur Placebogruppe (*Echt et al., 1991; Hallstrom et al., 1991*).

Sollte sich auch in vivo die Restitutionshypothese bestätigen, d.h., dass die Steigung der Restitutionsfunktion und das Auftreten von APD-Alternans wichtige Faktoren in der Entstehung von Kammerflimmern sind, könnte dies in der pharmakologischen Therapie des plötzlichen Herztods neue Wege eröffnen. Substanzen, die die Steigung der Restitutionsfunktion verringern und einen APD-Alternans verhindern, sollten somit auch das Auftreten von Kammerflimmern verhindern können. Bestehende Medikamente könnten dann auf ihre antifibrillatorische Potenz hin neu überprüft werden. Es könnten aber auch neue Medikamente entwickelt werden, die den dynamischen Zustand des Systems so verändern, dass ein Übergang vom stabilen Zustand (Spiralwelle) zum instabilen Zustand (Spiralwellenaufbruch, Kammerflimmern) verringert werden kann. Somit wäre ein neuer Ansatz in der Prävention des plötzlichen Herztodes möglich.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist daher, die theoretischen und in Computermodellen simulierten Ergebnisse mit in vivo durchgeführten Versuchen zu korrelieren, um ein besseres Verständnis für die Entstehung von Kammerflimmern zu bekommen und mögliche pharmakologische Ansätze zur Suppression dieser meist letal verlaufenden Arrhythmie aufzuzeigen.

2. Material und Methoden

2.1. Das Stimulationsprotokoll

In dieser Arbeit wurden zwei unterschiedliche Stimulationsprotokolle angewendet. Es handelt sich dabei um das Standard- und das dynamische Stimulationsprotokoll. Das dynamische Stimulationsprotokoll spiegelt die Dynamik des Aktionspotentials, insbesondere bei kurzen Zykluslängen, besser wieder. (*Koller et al., 1998*). Zur Veranschaulichung der elektrophysiologischen Vorgänge werden im Folgenden beide Stimulationsprotokolle erläutert.

2.1.1. Das Standard-Stimulationsprotokoll

Mehrere isolierte endokardiale Muskelfasern werden mit einem konstanten S1-S1-Intervall stimuliert. Ein zweiter einzelner vorzeitig einfallender Stimulus (S2) wird nach jeweils 20 S1-Impulsen abgegeben. Das S1-S2-Intervall wird nun kontinuierlich jeweils um 10-20 msec verkürzt (Abbildung 4). Da das dem S2-Stimulus vorhergehende diastolische Intervall immer kürzer wird, wird auch die APD konsekutiv kürzer. Dies wird fortgesetzt bis der S2-Stimulus in die Refraktärperiode des vorangegangenen Aktionspotentials fällt und das dem S2-Stimulus folgende Aktionspotential ausbleibt. Die Aktionspotentialdauern des durch den S2-Stimulus hervorgerufenen Aktionspotentials werden bei einer Repolarisation von 95% bestimmt (APD_{95}) und als Funktion des vorangegangenen diastolischen Intervalls graphisch als Restitutionskurve dargestellt.

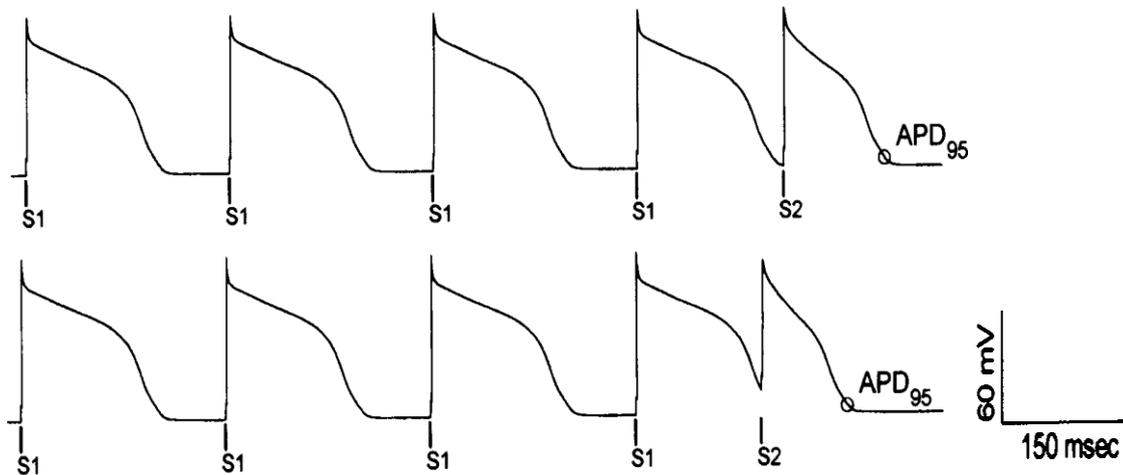


Abbildung 4)

Das Standard-Stimulationsprotokoll. Die Muskelfaser wird mit einem konstanten S1-S1-Intervall stimuliert, gefolgt von einem vorzeitig einfallenden S2-Stimulus. Der Abstand S1-S2 wird zunehmend verkürzt und die APD_{95} bestimmt (Koller et al., 1998).

2.1.2. Das dynamische Stimulationsprotokoll

Die endokardiale Muskelfaser wird zu Beginn mit einer konstanten Basis-Zykluslänge (BCL) von z. B. 400 msec stimuliert. Nach 50 Stimuli wird gestoppt und die APD_{95} des letzten stimulierten Aktionspotentials wird gemessen. Ein weiterer Stimulationssatz von 50 Stimuli mit Stopp und Messen des letzten Aktionspotentials wird bei einer verkürzten Zykluslänge wiederholt. Dieser Vorgang wird nun bei immer kürzer werdenden Zykluslängen, um je 50 msec bis zu einer Zykluslänge von $BCL > 200$ msec und um je 5-10 msec bei $BCL < 200$ msec, wiederholt.

Bei Auftreten eines APD-Alternans wird sowohl nach einer langen als auch nach einer kurzen Aktionspotentialdauer gestoppt und die APD_{95} bestimmt (Abbildung 5).

Diese gemessenen Werte werden dann wiederum als Funktion des vorangegangenen diastolischen Intervalls als Restitutionsfunktion dargestellt.

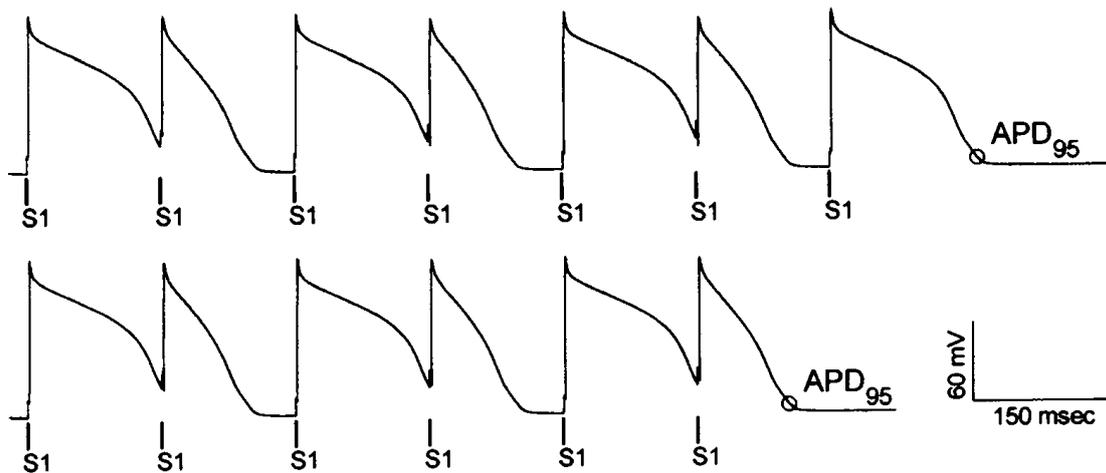


Abbildung 5)

Das dynamische Stimulationsprotokoll. Die kardiale Muskelfaser wird mit einem kontinuierlich kürzer werdendem S1-S1 Intervall stimuliert. Beim Auftreten von APD-Alternans wird gestoppt und sowohl die lange, wie auch die kurze Aktionspotentialdauer gemessen (Koller et al., 1998).

2.1.3. Die Anwendung des dynamischen Stimulationsprotokolls in vivo

Die Untersuchung wurde an anästhesierten Beagle-Hunden durchgeführt. Über einen transfemorale Zugang wurden Katheter eingebracht, worüber monophasische Aktionspotentiale vom rechten und linken Endokard simultan abgeleitet wurden.

Die initiale Stimulations-Zykluslänge von 340 msec wurde jeweils um 20 msec verkürzt, bis ein 2:1 Block auftrat oder Kammerflimmern induziert wurde. Im Falle eines aufgetretenen Kammerflimmern wurden die Hunde sofort mit 50 Joule defibrilliert. Nach jeder Defibrillation wurde mindestens 20 Minuten pausiert, bevor das Experimentprotokoll fortgesetzt wurde, um sicher zu stellen, dass ein Gleichgewicht der physiologischen Parameter vorherrscht.

Um die dynamische Aktionspotential-Restitutionskurve (APDR) zu erzeugen, wurden APD_{95} und das vorangegangene diastolische Intervall des zuletzt stimulierten Aktionspotentials bei den verschiedenen Zykluslängen gemessen. Bei hohen Frequenzen trat ein APD-Alternans auf. Während diesen Alternans wurde die Relation von der Aktionspotentialdauer zum vorangegangenen diastolischen Intervall (APD/DI) sowohl bei langen, als auch bei kurzen

Aktionspotentialdauern bestimmt und in die Restitutionsfunktion der Aktionspotentialdauer einbezogen.

Zusätzlich zur APDR wurde auch die Leitungszeit zwischen dem rechten und linken Ventrikel während des dynamischen Restitutionsprotokolls bestimmt. ΔCT (conduction time = Reizleitungszeit) wurde definiert als maximale Differenz der Reizleitungszeit zwischen dem rechten und linken Ventrikel während der Stimulation bei der längsten und der kürzesten Zykluslänge des dynamischen Protokolls. ΔCT wurde als Ersatzparameter für die Restitution der Reizleitungsgeschwindigkeit gewählt, welche nicht direkt bestimmt werden konnte, da die Distanz zwischen dem im rechten und linken Ventrikel liegenden MAP-Katheter (Monophasischer Aktionspotential-Katheter) nicht sicher bestimmt werden konnte und somit eine unbekannte Messgröße darstellte.

2.1.4. Das weiterführende Stimulationsprotokoll zum Auslösen von Kammerflimmern

Nach Beendigung des dynamischen Stimulationsprotokolls wurde ein weiterführendes Stimulationsprotokoll durchgeführt. Basierend auf einem Computermodell sollte durch die Abgaben von vier zeitlich aufeinander abgestimmten vorzeitigen Stimuli (CL_VF) nun Kammerflimmern direkt ausgelöst werden (*Fox et al., 2002*).

Durch diese vorzeitigen Stimuli wird laut dem Computermodell eine Vergrößerung der dynamisch induzierten räumlichen Heterogenität geschaffen, die Kammerflimmern zur Folge hat.

Als einen Messwert der räumlichen Heterogenität der Refraktärzeit wurde die Summe der Differenzen der Aktionspotentialdauern zwischen dem rechten und dem linken Ventrikel bei jedem vorzeitigen Impuls der CL_VF-Stimuligabe (APD_diff) bestimmt. APDR, ΔCT , APD_diff und die Induzierbarkeit des Kammerflimmerns wurden jeweils bestimmt.

2.2. Der Versuchsaufbau

2.2.1. Der Grundaufbau des Versuches

Ausgewachsene Beagle-Hunde beiderlei Geschlechtes (n = 8) mit einem Durchschnittsgewicht von 12,5 kg (Bereich: 9 – 18 kg) unter Standardhaltungsbedingungen wurden in diese Studie einbezogen.

Die Tiere wurden mittels Phenobarbital (30 mg/kg KG im Bolus i.v.) anästhesiert und über einen endotracheal liegenden Tubus mechanisch mit 100% Sauerstoff beatmet. Das Ventilationsvolumen und die Atemfrequenz wurden an die Parameter des Sauerstoffpartialdrucks > 100 mmHg, der arteriellen Sauerstoffsättigung $> 96\%$ und des Kohlendioxidpartialdrucks von 35-42 mmHg angepasst. Die Anästhesie wurde durch eine kontinuierliche Gabe von Phenobarbital mittels Perfusor (5 mg/kg KG/h) aufrecht gehalten. Zusätzlich wurde den Hunden eine intravenöse Ringerlösung langsam infundiert, um einen ausgeglichenen Wasser- und Elektrolythaushalt zu gewährleisten. Zur kontinuierlichen Überwachung standen ein arterieller Zugang zur invasiven Blutdrucküberwachung und ein 3-Kanal-Oberflächenelektrokardiogramm zur Verfügung.

Die rechte oder linke Arteria femoralis und Vena femoralis wurden perkutan in Seldingertechnik punktiert, und ein 7-French-Katheter wurde appliziert. Die Katheterspitze lag jeweils am endokardialen Apex des rechten und linken Ventrikels. Über diesen monophasischen Aktionspotential-Katheter (MAP-Katheter) wurden sowohl die programmierten Stimulationen abgegeben, als auch die monophasischen Aktionspotentiale erfasst.

Wenn nötig wurde ein monophasischer externer Defibrillator gebraucht, um mit 50 Joule das Tier zu defibrillieren. Nach erfolgreicher Defibrillation wurde eine Ruhepause von 20 Minuten eingehalten, um ein stabiles Milieu zu gewährleisten.

Der rechte Ventrikel wurde durch den MAP-Katheter mit 2 msec langen Impulsen bei doppelter diastolischer Schwelle stimuliert. Die monophasischen Aktionspotentiale wurden mit einem low pass von 0.05 Hz und einem high pass von 500 Hz gefiltert. Analoge Daten wurden bei 1000 Hz mit 12 bit Auflösung digitalisiert und auf einem EP recording system (Biopac Systems Inc.) aufgezeichnet. Die Bearbeitung der Daten wurde mit einem handelsüblichen Analyseprogramm in MATLAB 6.0 bearbeitet.

Die Aktionspotentialdauer wurde als APD_{95} gemessen, d.h. bei 95% Repolarisation. Aus APD_{95} und der Länge des vorhergegangenen diastolischen Intervalls wurde die Restitutionsfunktion der Aktionspotentialdauer gebildet. Um den maximalen Anstieg der Restitutionsfunktion zu bestimmen, wurde eine sigmoidale Funktion mit vier Parametern angewandt, wie $APD = a + b / \{1 + \exp[-(DI - c)/d]\}$, um ein optimales Fitting der Restitutionsfunktion zu erreichen. Durch Bildung der ersten Ableitung der sigmoidalen Restitutionsfunktion in Schritten von 1 msec des diastolischen Intervalls wurde die maximale Steigung der Funktion berechnet.

2.2.2. Die medikamentöse Versuchsreihe

Unter den bereits geschilderten Kontrollbedingungen wurden die Versuche zuerst durchgeführt, um konkrete Ausgangswerte und Vergleichsparameter zu erhalten.

Im Folgenden wurde untersucht, inwiefern Verapamil als Kalzium-Kanal-Blocker die gemessenen Parameter verändert und eventuell die Auslösbarkeit des Kammerflimmerns beeinflusst. Zur differenzierten Betrachtung wurden drei verschiedene Dosierungen untersucht. Zum einen Verapamil in geringer Dosierung (V_{lo} – Verapamil_low), in mittlerer Dosierung (V_{med} – Verapamil_medium) und in hoher Dosierung (V_{hi} – Verapamil_high).

Allen Dosierungen stand eine Gabe eines Bolus Verapamils von 0.11 mg/kg KG vor.

Die niedrige Verapamildosis bestand aus dem vorangegangenen Bolus von 0.11 mg/kg KG und einer kontinuierlichen Gabe von 0.1 mg/kg KG/h.

Die mittlere Verapamildosis bestand aus dem vorangegangenen Bolus von 0.11 mg/kg KG und einer kontinuierlichen Gabe von 0.3 mg/kg KG/h.

Die hohe Verapamildosis bestand aus dem vorangegangenen Bolus von 0.11 mg/kg KG und einer kontinuierlichen Gabe von 1.0 mg/kg KG/h.

Bei allen Versuchstieren wurde jeweils eine Versuchsreihe unter Kontrollbedingungen und unter jeder Verapamildosis durchgeführt. Nach jeder Erhöhung der kontinuierlichen Infusionsdosis wurde eine 30 minütige Pause eingehalten, um eine ausreichende Anflutung der Medikamente zu gewährleisten.

Alle experimentellen Protokolle und Prozeduren wurden von der Institutional Animal Care und dem Use Committee of the Center for Research Animal Resources der Cornell University in Ithaca, New York, genehmigt.

3. Resultate

3.1. Hämodynamische und basale elektrophysiologische Parameter unter Kontrollbedingungen und unter Verapamil

In allen Hunden wurden Kontrollmessungen erhoben. Wie in Tabelle 1) wurden Durchschnittswerte für den systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Blutdruck bestimmt. Ebenfalls konnten über die elektrokardiographische Aufzeichnung die Herzfrequenz und das PQ-Intervall bestimmt werden. Die Aktionspotentialdauer bei 95% Repolarisation (APD₉₅) wurde sowohl im rechten als auch im linken Ventrikel bei einer konstanten Zykluslänge von 400 msec bestimmt.

Kontrolldaten	
RR _{syst} (mmHg)	164 ± 8
RR _{diast} (mmHg)	98 ± 8
RR _{mean} (mmHg)	127 ± 6
HF (min ⁻¹)	140 ± 6
PQ (msec)	94 ± 8
APD ₉₅ RV (msec)	214 ± 4
APD ₉₅ LV (msec)	220 ± 4

Tabelle 1)
Veranschaulichung der hämodynamischen und elektrophysiologischen Kontrollparameter. RR – arterieller Blutdruck, HF – Herzfrequenz, PQ – PQ Intervall des Oberflächen-Elektrokardiogramms, APD₉₅ – Aktionspotentialdauer bei 95% Repolarisation in rechten (RV) und linken Ventrikel (LV). Daten ± SEM.

Die Messungen wurden nun unter Verapamil-Exposition durchgeführt. Wie bereits erläutert, wurden drei verschiedene Dosierungen untersucht, um eine weitere Differenzierung zu ermöglichen.

Verapamil_{low} mit 0.1 mg/kg KG/h zeigte eine Erniedrigung der Blutdruckparameter und der Herzfrequenz. In unseren Versuchen zeigte sich unter Erhöhung der Dosis des Kalziumantagonisten eine weitere Reduktion der Blutdruckparameter und der Herzfrequenz. Somit handelt es sich hierbei um dosisabhängige Veränderungen.

Auch die dosisabhängige Herabsetzung der Reizleitungsgeschwindigkeit spiegelt sich in den Daten des dynamischen Stimulationsprotokolls in dem verlängerten PQ-Intervall wieder.

Die Modulation der Aktionspotentialdauer bei 95% Repolarisation (APD₉₅) verhält sich im Gegensatz zu den eindeutigen Veränderungen der Herzfrequenz- und Blutdruckparameter anders. Es zeigt sich ein deutlicher Unterschied der Kontrolldaten zu den unter Verapamil-Exposition gewonnenen Daten, jedoch keine deutlichen dosisabhängigen Unterschiede. Die APD₉₅ des rechten Ventrikels entspricht unter mittlerer Verapamildosis (238 ± 9 msec) der APD₉₅ unter hoher Verapamildosis (238 ± 8 msec) und ist nur zur geringen Verapamildosis deutlich verlängert (223 ± 9 msec).

Im linken Ventrikel verhält sich dies jedoch anders, denn es zeigt sich nicht nur eine längere APD₉₅ unter niedriger Verapamildosis (241 ± 10 msec) verglichen mit der Kontrollgruppe (220 ± 4 msec), sondern auch eine weitere Verlängerung zwischen mittlerer Verapamildosis (240 ± 8 msec) und hoher Verapamildosis (245 ± 10 msec).

Der Vergleich der Daten zeigt, dass unter Verapamil-Exposition eine signifikante Verlängerung der APD₉₅ im Gegensatz zu den Kontrolldaten zu erheben war. Die bereits erläuterten Ergebnisse sind in Tabelle 2) zusammengefasst.

	Kontrolldaten	Vera_lo	Vera_med	Vera_hi
RR _{sys} (mmHg)	164 ± 8	142 ± 7	131 ± 9 *	129 ± 10 *
RR _{diast} (mmHg)	98 ± 8	82 ± 8	71 ± 5 *	59 ± 7 ¶
RR _{mean} (mmHg)	127 ± 6	105 ± 8	96 ± 6 ¶	93 ± 7 ¶
HF (min ⁻¹)	140 ± 6	105 ± 4 ¶	97 ± 5 ¶	83 ± 5 ¶
PQ (msec)	94 ± 8	119 ± 7 *	147 ± 9 ¶	207 ± 10 ¶
APD ₉₅ RV (msec)	214 ± 4	223 ± 9	238 ± 9 *	238 ± 8 *
APD ₉₅ LV (msec)	220 ± 4	241 ± 10	240 ± 8 *	245 ± 10 *

Tabelle 2)

Veranschaulichung der hämodynamischen und elektrophysiologischen Parameter unter Kontrollbedingungen, niedriger (lo), mittlerer (med) und hoher (hi) Verapamildosis bei einer Pacing-Zykluslänge von 400 ms. RR – arterieller Blutdruck, HF – Herzfrequenz, PQ – PQ Intervall des Oberflächen-Elektrokardiogramms, APD₉₅ – Aktionspotentialdauer bei 95% Repolarisation im rechten (RV) und linken Ventrikel (LV). * zeigt p < 0.05 versus Kontrolle, ¶ zeigt p < 0.01 versus Kontrolle an. Daten ± SEM

3.2. Die Durchführung der vorzeitigen dynamischen Stimulation

3.2.1. Die Induktion von Kammerflimmern durch APD-Alternans

In Abbildung 6) zeigt sich die Entstehung des Kammerflimmerns unter der vorzeitigen dynamischen Stimulation, dem CL_VF-Schema.

Unter den abgegebenen Stimuli zeigt sich ein diskordanter APD-Alternans zwischen dem rechten und linken Ventrikel. Eine kurz-lang-kurz-lang-Sequenz der APD auf der Seite der Stimulation, dem rechten Ventrikel (RV), ist assoziiert mit einer lang-kurz-lang-kurz-Sequenz auf der gegenüberliegenden MAP-Aufzeichnungsseite im linken Ventrikel (LV). Auf den diskordanten APD-Alternans folgen eine spontane ungeordnete Aktion und schließlich die Degeneration in Kammerflimmern.

Dabei zeigt sich eine signifikante Zunahme der Heterogenität der Refraktärzeiten zwischen beiden Ventrikeln während der Stimulation, die sich in einer hohen APD_diff widerspiegelt (Tabelle 3).

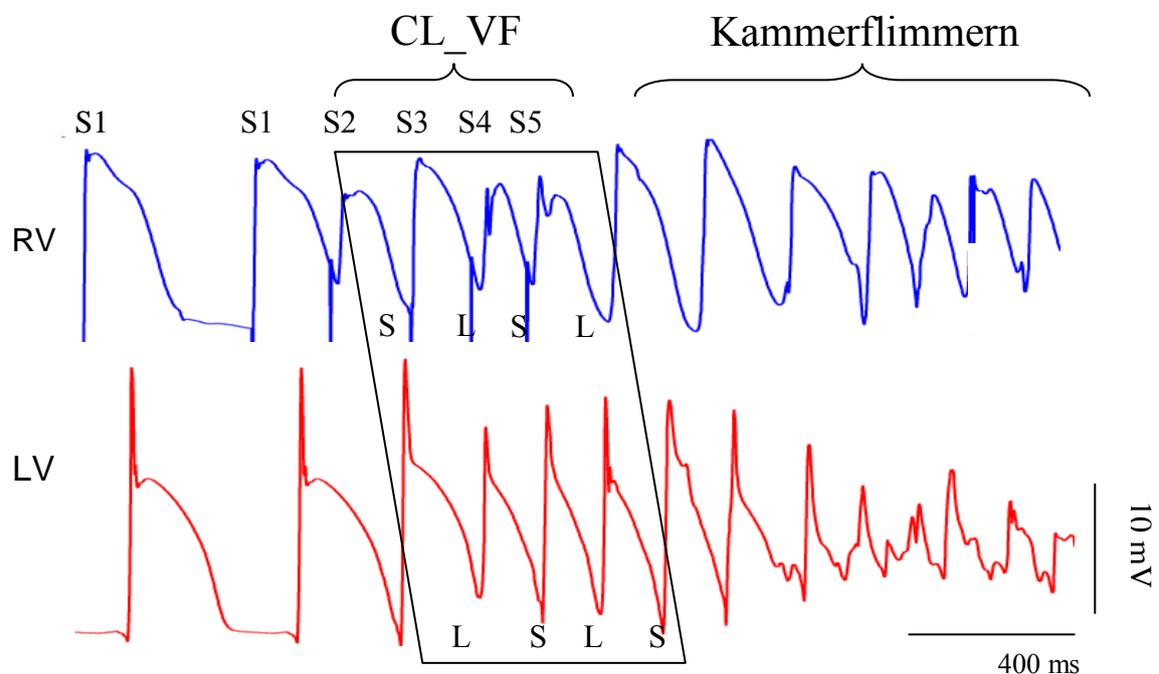


Abbildung 6)
Aufnahme von simultanen monophasischen Aktionspotentialen aus dem rechten (RV) und linken Ventrikel (LV). Beispiel einer Induktion von Kammerflimmern durch CL_VF mit diskordantem APD-Alternans (S – kurz, L – lang Sequenzen) zwischen RV und LV durch S2-S5 hervorgerufen. APD_diff in diesem Beispiel mit 153 msec gemessen.

Es wurden wie geschildert, Kombinationen der analysierten vorzeitigen Stimulation mit S2-S5-Stimuli untersucht. Bei einer zeitlichen Rasterung von 1 msec bei allen S2-S5-Kombinationen trat ein lokaler Leitungsblock auf. Abbildung 8) zeigt ein Histogramm der Inzidenz des lokalen Leitungsblocks als Funktion von S2-S2min und S3-S3min. S4 und S5 wurden ebenfalls abgegeben, sind aber in dieser Graphik nicht veranschaulicht. Die höchste Inzidenz des lokalen Leitungsblocks trat bei einem S2 auf, der sehr nah an S2min liegt (resultierend bei einem diastolischen Intervall von fast 0 msec) und bei einem S3 ca. 50 msec länger als S3min, d.h. bei einem diastolischen Intervall von 50 msec vor dem S3 Stimulus.

3.2.2. Die Induktion von Kammerflimmern in vivo durch vorzeitige dynamische Stimulation

Unter Basis-Bedingungen wurde Kammerflimmern induziert, indem eine Abfolge von vier zeitlich aufeinander abgestimmten vorzeitigen Stimuli (CL_VF) abgegeben wurden. Diese Abfolge von vorzeitigen Stimuli sollten, wie durch das Computermodell vorhergesagt, einen diskordanten APD-Alternans und einen lokalen Leitungsblock hervorrufen.

Wie oben erwähnt, enthält dieses Set einen S2-Stimulus, der sehr nah an der Refraktärperiode des vorhergegangenen Aktionspotentials liegt, und ein S3-Stimulus ca. 50 msec nach der Refraktärperiode des vorhergehenden Aktionspotentials (Abbildung 7). Die jeweilig verwendete Kombination des S2-S5-Intervalls, das in der Testreihe zur Induktion von Kammerflimmern beim Hund benutzt wurde, wurde randomisiert aus den Kombinationen ausgewählt, die im Computermodell eine hohe Inzidenz für einen lokalen Leitungsblock aufwiesen.

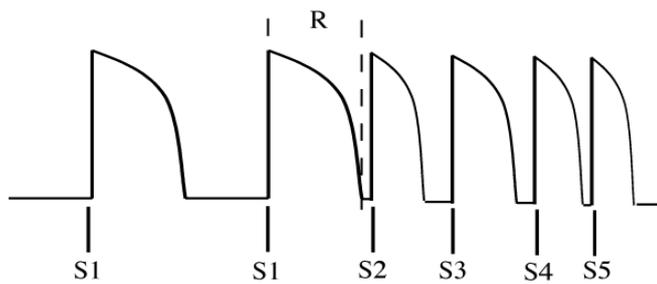


Abbildung 7)

Schematische Darstellung der Stimulusgabe CL_VF. S2-S2min bezeichnet den Unterschied zwischen dem abgegebenen S1-S2-Intervall und dem minimalen S1-S2-Intervall. Dies ist identisch mit der Refraktärperiode (R) des letzten S1-Aktionspotentials.

Die Abgabe des Stimuli-Sets (CL_VF) führte in allen 8 Beagle-Hunden unter Normalbedingungen zum Auslösen von Kammerflimmern (ausgefüllte Kreise in Abbildung 8), wobei jeder Versuch doppelt ausgeführt wurde und die Induktion von Kammerflimmern reproduziert werden konnte.

Des Weiteren wurden auch Kombinationen von S2-S5-Stimuli getestet, die nach dem Computermodell nicht zu einem lokalen Leitungsblock führen würden. Diese lösten dann auch in keinem Versuchstier Kammerflimmern aus (ausgesparte Kreise der Abbildung 8).

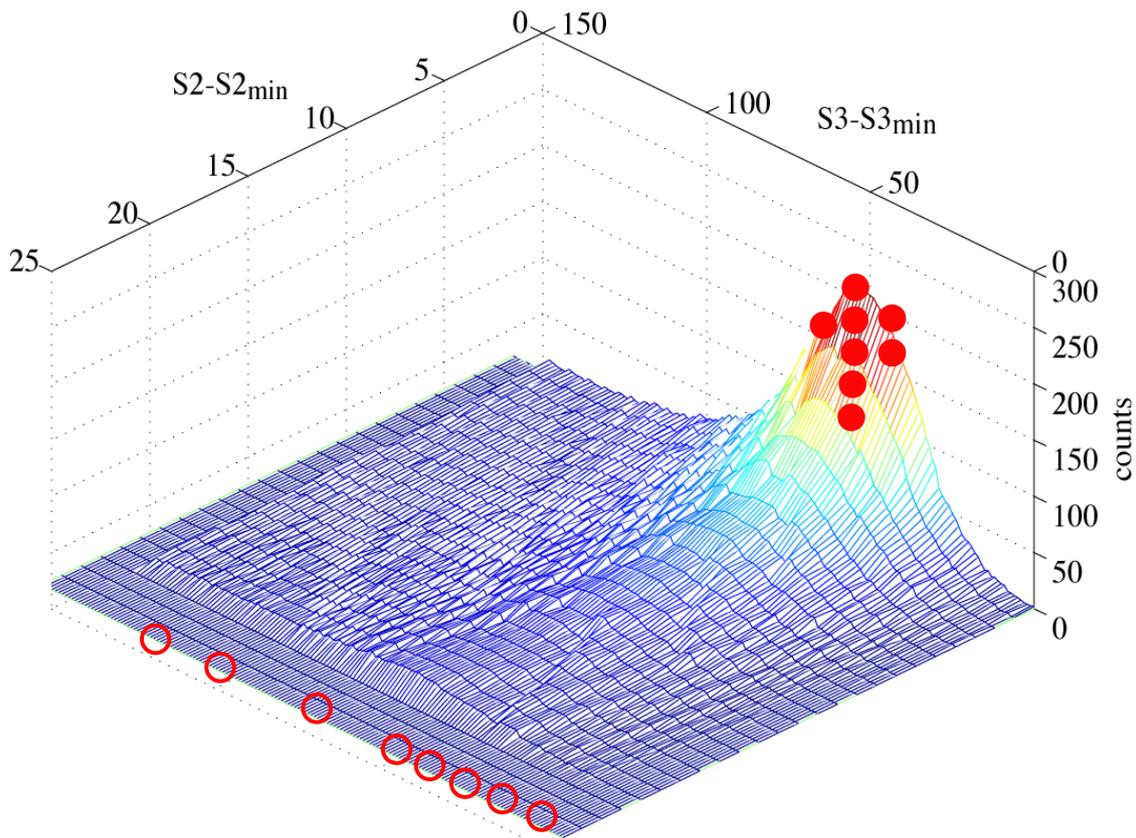


Abbildung 8)

Histogramm der Inzidenz eines lokalen Leitungsblocks im Computermodell. $S2-S2_{min}$ steht für die Differenz vom S2- und $S2_{min}$ -Stimulus, bei dem das vorhergehende diastolische Intervall das minimal mögliche ist, und somit der Refraktärperiode des S1-Aktionspotentials entspricht. Man sieht, dass lokale Leitungsblöcke (ausgefüllte Kreise) am häufigsten bei einem S2-Stimulus nah an $S2_{min}$ und bei einem S3 ca. 50 msec länger als $S3_{min}$ auftreten. Dies entspricht einer S2-Gabe nach einem vorhergehendem DI von ca. 0 msec und einer S3-Gabe ca. 50 msec nach $S3_{min}$.

Die Induzierbarkeit von Kammerflimmern durch vorzeitige dynamische Stimulation war durch die Gabe von Verapamil reduziert. Unter Anwendung der CL_VF-Kombination mit vier vorzeitigen Stimuli wurde die räumliche Heterogenität der Refraktärzeiten maximiert und Kammerflimmern bei allen 8 Hunden unter Kontrollbedingungen induziert. Unter Verapamil-Exposition verhielt sich dies nun wie folgt: Bei einer niedrigen Verapamildosis kam es bei 6 von 8 Hunden zum Kammerflimmern, unter mittlerer Dosis bei 4 von 8 Hunden und unter hoher Dosis sogar nur bei 1 von 8 Hunden (Tabelle 3).

Verapamil vermindert signifikant die maximale Steigung der dynamischen Restitutionsfunktion des linken Ventrikels und vermindert ebenfalls dosisabhängig ΔCT (Tabelle 3). Diese Veränderungen der Restitutionsparameter waren mit einer signifikanten Verminderung der räumlichen Heterogenität der Refraktärzeiten assoziiert, die durch die Verminderung von APD_diff unter Verapamil-Exposition zu erkennen ist.

	Kontrolle	V_lo	V_med	V_hi
APDR	1.44 ± 0.13	1.22 ± 0.07 *	1.07 ± 0.06*	1.06 ± 0.06 *
ΔCT (msec)	19.6 ± 2.6	17.2 ± 2.4	11.5 ± 2.0 *	6.1 ± 1.2 ¶
APD_diff (msec)	99 ± 16	94 ± 12	82 ± 15	66 ± 13 *
VF induction	8 of 8	6 of 8	4 of 8	1 of 8

Tabelle 3)

Elektrophysiologische Parameter unter Kontrollbedingungen und verschiedenen Verapamildosierungen. APDR – maximaler Anstieg der dynamischen APD-Restitutionsfunktion, ΔCT – maximale Differenz der Reizleitungszeit zwischen rechtem und linkem Ventrikel bei kurzer und langer Zykluslänge, APD_diff – Summe der Differenzen der APD zwischen dem rechten und linken Ventrikel bei jedem vorzeitigen Stimulus des CL_VF und VF induction – Induktion des Kammerflimmerns. * zeigt $p < 0.05$ versus Kontrolle, ¶ zeigt $p < 0.01$ versus Kontrolle an.

Ein Beispiel der simultanen MAP-Aufzeichnung vom rechten und linken Ventrikel unter hoher Verapamildosis bei Gabe von CL_VF zeigt Abbildung 9). Im Vergleich zu den Kontrollbedingungen (Abbildung 6) gab es keinen diskordanten Alternans zwischen dem rechten und linken Ventrikel. Zudem war die Dauer der vorzeitigen Aktionspotentiale gleichmäßiger unter Verapamil, was sich in einem deutlich verminderten APD_diff von 32 msec widerspiegelte. Zum Vergleich sei darauf hingewiesen, dass sich unter Kontrollbedingungen ein APD_diff von 153 msec nach der gleichen Stimuli-Set-Gabe zeigte.

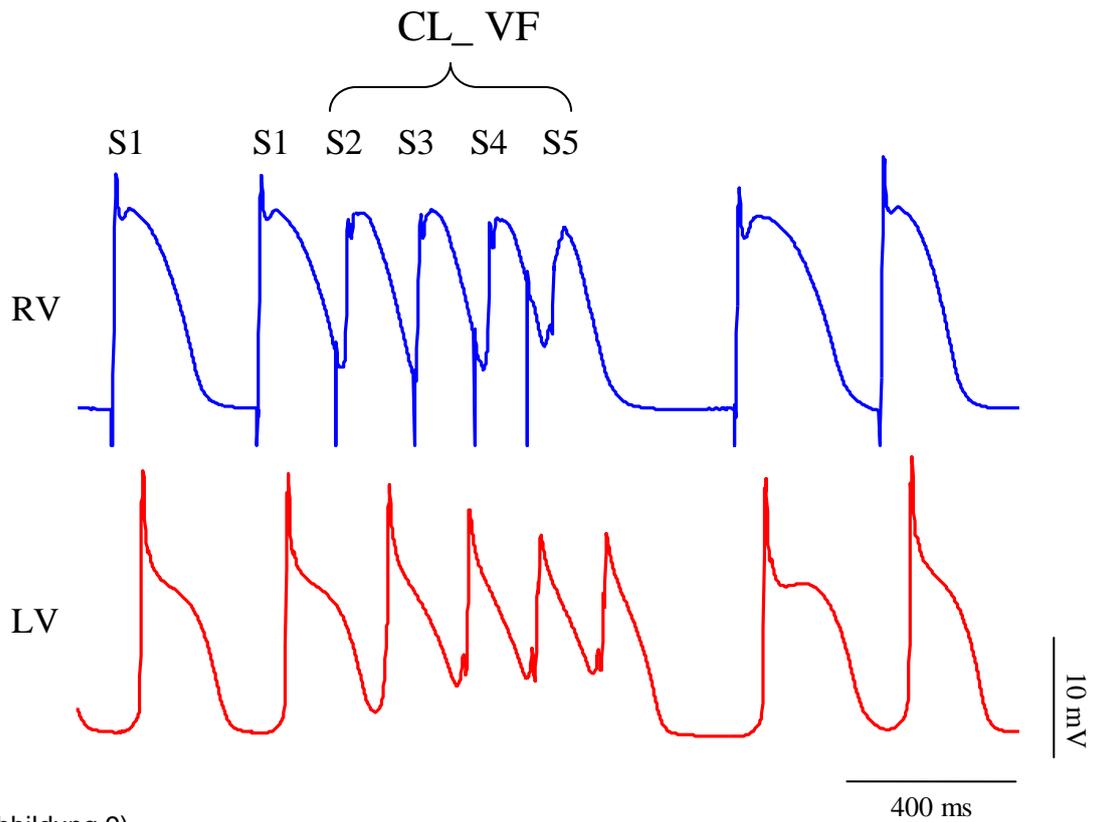


Abbildung 9)
 Simultane Registrierung monophasischer Aktionspotentiale unter hoher Verapamildosis aus dem rechten (RV) und linken Ventrikelmyokard (LV) beim gleichen Versuchstier wie in Abb. 6. Es zeigt sich kein diskordanter APD-Alternans. APD_diff in diesem Beispiel mit 32 msec gemessen. In diesem Hund konnte kein Kammerflimmern ausgelöst werden.

4. Diskussion

Dieser Dissertation liegen die Ergebnisse eines Computermodells für Herzmuskelgewebe zugrunde, bei dem gezeigt werden konnte, dass die Maximierung der dynamisch induzierten räumlichen Dispersion der Refraktärzeit zu einem lokalen Leitungsblock führen kann und ein erster Schritt zur Destabilisierung der Wellenfront ist. Ein lokaler Reizleitungsblock im Computermodell trat meist bei einer Kombination aus vorzeitigen Stimuli auf, bei der der S2-Stimulus sehr kurz nach der Refraktärperiode des vorangegangenen Aktionspotentials und der S3-Stimulus ca. 50 msec nach der Refraktärperiode des vorhergehenden Aktionspotentials abgegeben wurde. Diese Kombination (CL_VF) war mit dem Auftreten von diskordantem APD-Alternans und dem Auftreten eines lokalen Leitungsblocks assoziiert.

Die Validierung dieser Ergebnisse im Hundemyokard in vivo zeigten, dass durch Gabe von CL_VF reproduzierbar ein diskordanter APD-Alternans, ein lokaler Leitungsblock und eine Induktion von darauf folgendem Kammerflimmern resultierte. Eine Stimulation mit anderen Kombinationen vorzeitiger Stimuli, die nach dem Computermodell nicht zu einem lokalen Leitungsblock führen, lösten auch in vivo kein Kammerflimmern aus.

Im Weiteren zeigte sich bei dieser Arbeit, dass durch die Modulation von APD- und Reizleitungsgeschwindigkeitsparametern durch Kalziumkanalblockade eine Verminderung der räumlichen Dispersion der Refraktärzeiten resultieren und es damit zur Verminderung der Induzierbarkeit von Kammerflimmern durch vorzeitige dynamische Stimulation kommt.

Die Gabe von Verapamil in diesem Modell konnte die Steigung der Restitutionsfunktion reduzieren und die Größe des APD-Alternans verringern. Dieser Effekt reduzierte das Auftreten von räumlichem diskordantem APD-Alternans und somit die Induzierbarkeit von Kammerflimmern.

4.1. Signifikanz der APD- und Reizleitungsrestitution für die Initialisierung eines Wellenaufbruchs

Der Wellenaufbruch als Kennzeichen des Kammerflimmerns kann durch bereits bestehende Gewebheterogenität hervorgerufen werden. Hierzu gehören zum Beispiel anatomische Hindernisse oder Regionen mit verlängerten Refraktärperioden. Theoretische Studien sagen aber auch, dass ein Wellenaufbruch alleine durch dynamische Prozesse ohne anatomisches Korrelat hervorgerufen werden kann (*Weiss et al., 2005*). Die Oszillation der Wellenlänge ergibt sich aus einer grundlegenden physiologischen Eigenschaft des Myokards, nämlich dass sich die Aktionspotentialdauer bei schnelleren Herzfrequenzen verkürzt (*Lang und Lang, 2007*). Auch die Leitungsgeschwindigkeit verringert sich bei sehr kurzen diastolischen Intervallen, die bei sehr hohen Herzfrequenzen oder bei extrem frühen vorzeitigen Extraschlägen vorkommen.

Die enge Beziehung zwischen der Aktionspotentialdauer und der Reizleitungsgeschwindigkeit mit der Herzfrequenz kann durch die elektrische Restitutionsfunktion quantifiziert werden, indem die APD bzw. die Leitungsgeschwindigkeit gegen das diastolische Intervall aufgetragen werden. Der Anstieg der APD-Restitutionsfunktion wurde bereits vielfach als kritisches Element der Wellenstabilität bei einem Spiralwellen-Reentry dargestellt (*Cherry et al., 2004; Weiss et al., 2002*).

Ist der Anstieg > 1 , kann schon eine kleine Veränderung des diastolischen Intervalls zu einer großen Veränderung der Aktionspotentialdauer und somit der Wellenlänge führen. Während schneller Stimulation kann eine steile APD-Restitutionsfunktion dazu führen, dass APD zwischen den einzelnen Schlägen alterniert, aber räumlich homogen ist; somit entsteht ein konkordanter APD-Alternans.

Ist die Stimulationsrate allerdings schnell genug, dass auch die Restitution der Leitungsgeschwindigkeit mit einbezogen ist, wird die darauf folgende Welle schneller oder langsamer fortgeleitet und kürzere oder längere

Aktionspotentialdauern hervorrufen. Wenn sich die Abstände zum hervorgehenden Wellenende, bzw. das diastolische Intervall verändern, verändert sich auch die Leitungsgeschwindigkeit. Dies hat zur Folge, dass sich Oszillationen in der Wellenlänge ergeben, die räumlich heterogen sind: ein diskordanter APD-Alternans tritt auf.

Wie Abbildung 6) zu entnehmen ist, ist durch vier aufeinander abgestimmte vorzeitige Stimuli eine lang-kurz-lang-kurz-Sequenz auf der Seite der Stimulation mit einer kurz-lang-kurz-lang-Sequenz auf der gegenüberliegenden Seite assoziiert. Dieser diskordante APD-Alternans vergrößert die räumliche Dispersion der Refraktärzeiten, was zu einem lokalen Leitungsblock führt, wenn ein zusätzlicher vorzeitiger Schlag in die Refraktärperiode des vorhergehenden Aktionspotentials fällt.

Die in dem Computermodell gewonnenen Daten konnten hier in vivo validiert werden, wobei die Gaben eines Stimuli-Sets (CL_VF) mit diskordantem APD-Alternans und der Induktion von Kammerflimmern assoziiert waren (Abbildung 8).

4.2. Der antifibrillatorische Effekt durch Modulation der Restitutionsparameter

In neueren experimentellen Arbeiten wurde gezeigt, dass Medikamente wie Bretylium, Verapamil und Diacetylmonoxid das Aktionspotential abflachen und dadurch ein APD-Alternans unterdrücken und einen antifibrillatorischen Effekt haben (*Riccio et al., 1999; Garfinkel et al., 2000; Niederer et al., 2009*). Jedoch ist anzumerken, dass Verapamil die dynamische Kurve der Restitutionsfunktion in dieser Studie in vivo vermindert hat. Allerdings konnte auch bei erhöhter Verapamildosis, welche einen signifikanten negativen inotropen und dromotropen Effekt hat, die Kurvensteigung nicht < 1 herabsetzen. Da der Anstieg der Restitutionsfunktion auch nach Verapamil-Exposition weiterhin > 1 war, konnte der Alternans nicht völlig eliminiert werden. Dies zeigte sich im

Versuch in Tabelle 3), indem bei einem Tier auch unter hoher Dosis Verapamil Alternans und somit Kammerflimmern ausgelöst werden konnte.

Verapamil konnte jedoch das Ausmaß des APD-Alternans reduzieren, welches sich in der Verminderung der Dispersion der APD während der vorzeitigen dynamischen Stimulation (CL_VF) und der Abnahme der Reizleitungsgeschwindigkeit zeigt.

Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass eine weitere Reduktion der Heterogenität der Refraktärzeiten die Entstehung von diskordantem Alternans und somit auch von Kammerflimmern verhindern könnte. Um dieses Prinzip jedoch klinisch anwendbar zu machen, wäre die Entwicklung pharmakologischer Substanzen erforderlich, die zu einer entsprechenden Modifikation der Restitutionsparameter führen, ohne dabei die ausgeprägten negativ inotropen Nebenwirkungen von Verapamil hervorzurufen.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden dynamische Mechanismen der Entstehung von Kammerflimmern dargestellt. Es wurde erläutert, dass ein APD-Alternans für die Induktion von Spiralwellenbrüchen als elektrophysiologisches Korrelat von Kammerflimmern wichtig ist.

Es konnte gezeigt werden, dass die Restitution der Aktionspotentialdauer und der Leitungsgeschwindigkeit wichtige Determinanten zur Ausbildung eines diskordanten APD-Alternans sind. Dieser diskordante APD-Alternans ist ein Alternans des Myokards bei dem verschiedene Myokardregionen außer Phase schlagen. Es wurde erläutert, dass die Generierung eines diskordanten APD-Alternans zu einer spatiotemporalen Heterogenität und damit zur Entstehung eines lokalen Leitungsblockes führt, der wiederum den initialen Schritt eines Spiralwellenbruchs darstellt.

In der Arbeit konnte dargestellt werden, dass insbesondere durch die Applikation von bestimmten Stimulationen ein diskordanter APD-Alternans provoziert werden konnte. Dies entstand typischerweise durch eine kurz-lang-kurz-lang-Sequenz. Es bildete sich in der Versuchsreihe unter dieser Stimulationsgabe ein diskordanter APD-Alternans zwischen dem rechten und linken Ventrikel des Hundemyokards aus, der dann in einem lokalem Leitungsblock und Kammerflimmern resultierte.

Dieser dynamische Mechanismus der Induktion von Kammerflimmern konnte durch die Gabe von Verapamil in vivo in hohen Dosierungen durchbrochen werden. Die Verapamilgabe führte zu einer Verminderung der APD-Restitution und einer Reduktion von APD-Alternans.

Angestrebtes Ziel dieser Versuche ist es, eine mögliche Prävention des plötzlichen Herztodes durch medikamentöse Modulation der Restitutionsparameter aufzuzeigen. Die hier gezeigte Veränderung der einzelnen Restitutionsparameter und damit des antifibrillatorischen Effekts könnten bei der weiteren Entwicklung antiarrhythmischer Substanzen eine

wichtige Rolle spielen. Prinzipiell stehen mit den *in vitro* und *in vivo* untersuchten Kalzium-Kanal-Blockern Verapamil und Diacetylmonoxim solche Substanzen bereits zur Verfügung – allerdings verhindert die stark negativ inotrope Wirkung dieser Substanzen (zumindest in der für die Beeinflussung der Restitutionsfunktion erforderlichen hohen Dosierung) einen klinischen Einsatz als antifibrillatorische Medikamente.

Zur Primärprophylaxe des plötzlichen Herztodes stehen aktuell nach den MADIT-Studien in erster Linie die Implantation eines Defibrillators/Kardioverters zur Verfügung (Noyes *et al.*, 2007; Gula *et al.*, 2008; Koller *et al.*, 2005). Hierbei handelt es sich um eine überaus kostenintensive Therapie. Möglicherweise könnten durch Entwicklung neuer antiarrhythmischer Substanzen, die über eine Beeinflussung der Restitutions- und Alternansparameter einen antifibrillatorischen Effekt aufweisen, neue Wege in der Primärprophylaxe des plötzlichen Herztodes beschritten werden.

6. Literaturverzeichnis

Albert, C. M., Chae, C. U., Grodstein, F., Rose, L. M., Rexrode, K. M., Ruskin, J. N., Stampfer, M. J., Manson, J. E. 2003. Prospective study of sudden cardiac death among women in the United States. *Circulation*. 107: 2096-2101.

Blaeser, G. 2002. Plötzlicher Herztod - Dem elektrophysiologischen Unfall auf der Spur. *Deutsches Ärzteblatt*. 99: A1131-A1132.

Böcker, W., Denk, H., Heitz, P.U. 2001. Pathologie. 2. Auflage. *Urban und Fischer*, München.

Cherry, E. M., Fenton, F. H. 2004. Suppression of alternans and conduction blocks despite steep APD restitution: electrotonic, memory, and conduction velocity restitution effects. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 286: H2332-H2341.

Christini, D. J., Riccio, M. L., Culianu, C. A., Fox, J. J., Karma, A., Gilmour Jr., R. F. 2006. Control of electrical alternans in canine cardiac purkinje fibers. *The American Physical Society - Physical Review*. 96: 104101-1-104101-4.

Echt, D. S., Liebson, P. R., Mitchell, L. B., Peters, R. W., Obias-Manno, D., Barker, A. H., Arensberg, D., Baker, A., Friedman, L., Greene, H. L. 1991. Mortality and morbidity in patients receiving encainide, flecainide, or placebo. The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial. *New England Journal of Medicine*. 324: 781-788.

- Elharrar, V., Atarashi, H., Surawicz, B.** 1984. Cycle length-dependent action potential duration in canine cardiac purkinje fibers. *American Journal of Physiology.* 247: H936-H945.
- Fox, J. J., Riccio, M. L., Hua, F., Bodenschatz, E., Gilmour Jr., R. F.** 2002. Spatiotemporal transition to conduction block in canine ventricle. *Circulation Research.* 90: 289- 296.
- Fox, J. J., Bodenschatz, E., Gilmour Jr., R. F.** 2002. Period-Doubling instability and memory in cardiac tissue. *Physical Review Letters.* 89: 1-4.
- Franz, M. R.** 2003. The electrical restitution curve revisited. *American Journal of Cardiovascular Electrophysiology.* 14: S140-S147.
- Garfinkel, A., Kim, Y. H., Voroshilovsky, O., Qu, Z., Kil, J. R., Lee, M. H., Karagueuzian, H. S. , Weiss, J. N., Chen, P. S.** 2000. Preventing ventricular fibrillation by flattening cardiac restitution. *Proceedings of the National Academy of Science.* 97: 6061-6066.
- Goldhaber, J. I., Xie, L-H., Duong, T., Motter, Ch., Khuu, K., Weiss, J. N.** 2005. Action potential duration restitution and alternans in rabbit ventricular myocytes - The key role of intracellular calcium cycling. *Circulation Research.* 96: 459-466.
- Gula, L. J., Klein, G. J., Hellkamp, A. S., Massel D., Krahn A. D., Skanes, A. C., Yee, R., Anderson, J., Johnson, G. W., Poole, J. E., Mark, D. B., Lee, K. L., Bardy, G. H.** 2008. Ejection fraction assessment and survival: an analysis of the sudden cardiac death in Heart Failure Trial (SCD-HeFT). *American Heart Journal.* 156: 1196-1200.

- Haberl, R., Steinbigler, P.** 1999. Serie: Neue Methoden in der kardialen Funktionsdiagnostik – Risikostratifizierung in der Kardiologie. *Deutsches Ärzteblatt*. 96: A2514-A2519.
- Hallstrom, A. P., Cobb, L. A., Yu, B. H., Weaver, W.D., Fahrenbruch, C. E.** 1991. An antiarrhythmic drug experience in 941 patients resuscitated from an initial cardiac arrest between 1970 and 1985. *American Journal of Cardiology*. 86: 1025-1031.
- Hastings, H. M., Fenton, F. H., Evans, St. J., Hotomaroglu, O., Geetha, J., Gittelsohn, K., Nilson, J., Garfinkel, A.** 2002. Alternans and the onset of ventricular fibrillation. *The American Physical Society - Physical Review*. 62: 4043-4047.
- Haverkamp, W., Schulze-Bahr, E., Hördt, M., Wedekind, H., Funke, H., Borggrefe, M., Assmann, G., Breithardt, G.** 1997. QT-Syndrome. *Deutsches Ärzteblatt*. 94: A667–A672.
- Hildebrand, H.** 1998. Pschyrembel, klinisches Wörterbuch. 258. Auflage. *Walter de Gruyter Verlag*. Berlin.
- Karow, T., Lang-Roth, R.** 2004. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 12. Auflage.
- Koller, M. L., Maier, S. K. G., Gelzer, A., Bauer, W., Meesmann, M., Gilmour Jr., R. F.** 2005. Altered dynamics of action potential restitution and alternans in humans with structural heart disease. *Circulation*. 112: 1542-1548.
- Koller, M. L., Riccio M. L., Gilmour Jr. R. F.** 1998. Dynamic restitution of action potential duration during electrical alternans and ventricular fibrillation. *American Journal of Physiology*. 275: H1635-H1642.

- Lang, F., Lang, P.** 2007. Basiswissen Physiologie. 2. Auflage. *Springer Verlag*. Berlin.
- Lewalter, T., Jung, W., Lickfett, L., Wolpert, Ch., Vahlhaus, Ch., Schumacher, B., Lüderitz, B.** 1999. Serie: Neue Methoden in der kardialen Funktionsdiagnostik - QT- Dispersion. *Deutsches Ärzteblatt*. 96: A1835-A1838.
- Lüllmann, H., Mohr, K.** 1999. Pharmakologie und Toxikologie, Arzneimittel verstehen – Medikamente gezielt einsetzen. 14. Auflage. *Thieme*. Stuttgart.
- Luo, C. H., Rudy, Y.** 1991. A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization and their interaction. *Circulation Research*. 68: 1501-1526.
- Müller-Nordhorn, J., Arntz, H.-R., Löwel, H., Willich, S. N.** 2001. Epidemiologie des plötzlichen Herztodes. *Intensivmedizin und Notfallmedizin*. 38: 499-507.
- Nolasco, J. B., Dahlen, R. W.** 1968. A graphic method for the study of alternation in cardiac action potentials. *Journal of Applied Physiology*. 25: 191-196.
- Noyes, K., Corona, E., Zwanziger, J., Hall, W., Zhao, H., Wang, H., Moss, A., Dick, A.** 2007. Health-related quality of life consequences of implantable cardioverter defibrillators: results from MADIT II. *Medical Care*. 45: 377-385.

- Niederer, S., Fink, M., Noble, D., Smith, N.** 2009. A Meta Analysis of cardiac electrophysiology computational models. *Experimental Physiology*.(epub ahead).
- Pastore, J. M., Girouard, St. D., Laurita, K. R., Akar, F. G., Rosenbaum, D. S.** 1999. Mechanism linking T-wave alternans to the genesis of cardiac fibrillation. *Circulation*. 99: 1385-1394.
- Qian, Y.-W., Sung, R. J., Lin, S.-F., Province, R., Clusin, W. T.** 2003. Spatial heterogeneity of action potential alternans during global ischemia in the rabbit heart. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 85: 2722-2733.
- Riccio, M. L., Koller, M. L., Gilmour Jr., R. F.** 1999. Electrical restitution and spatiotemporal organization during ventricular fibrillation. *Circulation Research*. 84: 955-963.
- Rosenbaum, D. S., Albrecht, P., Cohen, R. J.** 1996. Predicting sudden cardiac death from T- wave alternans of the surface electrocardiogram: Promise and pitfalls. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 7: 1095-1111.
- Schiebler, T. H., Schmidt, W., Zilles, K.** 1995. Anatomie. 6. Auflage. *Springer*. Berlin.
- Silbernagel, St., Despopoulos, A.** 2001. Taschenatlas der Physiologie. 5. Auflage. *Thieme*. Stuttgart.
- Triggle, D.** 2007. Calcium channel antagonists: Clinical uses – past, present and future. *Biochemical Pharmacology*. 74: 1-9.

- Tusscher, ten K. H., Panfilov, A. V.** 2006. Alternans and spiral breakup in a human ventricular tissue model. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. 291: 1088-100.
- Watanabe, M. A., Fenton, F. H., Evans, St. J., Hastings, H. M., Karma, A.** 2001. Mechanisms for discordant alternans. *American Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 12: 196-206.
- Weiss, J. N., Chen, P.-S., Qu, Z., Karagueuzian, H. S., Lin, S.-F., Garfinkel, A.** 2002. Electrical restitution and cardiac fibrillation. *American Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 13: 292-295.
- Weiss, J. N., Qu, Z., Chen, P.-S., Lin, S.-F., Karagueuzian, H. S., Hayashi, H., Garfinkel, A., Karma, A.** 2005. The dynamics of cardiac fibrillation. *Circulation*. 112: 1232-1240.
- Werdan, K., Trappe, H. -J., Zerkowski, H. -R.** 2003. Das Herzbuch; Praktische Herz-Kreislauf-Medizin. 1. Auflage. *Urban & Fischer*. München.
- Zehender, M.** 1999. Serie: Neue Methoden in der kardialen Funktionsdiagnostik - T-Wellen-Alternans. *Deutsches Ärzteblatt*. 96: A-2227–A-2232.

7. Anhang

7.1. Abkürzungsverzeichnis

AM	<i>engl.</i> Alternans magnitude = Amplitude des APD-Alternans
AP	Aktionspotential
APD	Aktionspotentialdauer
APD ₉₅	Aktionspotentialdauer bei einer Repolarisation von 95%
APD _{diff}	Differenzen der Aktionspotentialdauern zwischen dem rechten und linken Ventrikel
APDR	dynamische Aktionspotential-Restitutionskurve
AV-Knoten	Atrioventrikularknoten
BCL	Basis cycle length = Basale Zykluslänge
bpm	<i>engl.</i> beats per minute = Schläge pro Minute
Ca ²⁺	Kalziumionen
CL_VF	Set von 4 zeitlich aufeinander abgestimmten vorzeitigen Stimuli, die Kammerflimmern induzieren
CT	<i>engl.</i> Conduction time = Reizleitungszeit
CV	<i>engl.</i> Conduction velocity = Reizleitungsgeschwindigkeit
DAM	Diacetylmonoxim
DI	diastolisches Intervall
EKG	Elektrokardiogramm
h	Stunde
HR	Herzfrequenz
Hz	Herz
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LV	Linker Ventrikel
MAP	Monophasisches Aktionspotential
MDP	Maximales diastolisches Potential

mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mg	Milligramm
msec	Millisekunden
Na ⁺	Natrium
PQ	PQ-Intervall im Oberflächen-EKG
RR	arterieller Blutdruck
RV	Rechter Ventrikel
V_lo	<i>engl.</i> Verapamil low= niedrige Verapamildosis
V_med	<i>engl.</i> Verapamil medium= mittlere Verapamildosis
V_hi	<i>engl.</i> Verapamil high= hohe Verapamildosis
VF	<i>engl.</i> Ventricular fibrillation = Kammerflimmern

Addendum

Die in der Dissertation beschriebenen experimentellen Versuchsreihen wurden von Priv.-Doz. Dr. Marcus Koller an der Cornell University in Ithaca, New York, durchgeführt.

Die Auswertung der Rohdaten wurde von Frau Mante unter Anleitung von Herrn PD Dr. Koller durchgeführt. Insbesondere die komplexen Analysen der elektrophysiologischen Parameter (Bestimmungen von Aktionspotentialdauer, Restitutionsfunktion und Aktionspotential-Alternans bei verschiedenen Stimulationsfrequenzen unter Basalbedingungen sowie nach Verapamil-Gabe) sowie die Auswertung der hämodynamischen Parameter einschliesslich der statistischen Analysen wurden von Frau Mante eigenständig unter Anleitung durchgeführt. Ebenso erfolgte die Darstellung der Ergebnisse und Schlussfolgerungen sowie die Diskussion der Ergebnisse im Spiegel der publizierten Literatur eigenständig durch Frau Mante.

Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Priv.- Doz. Dr. Marcus Koller für die Überlassung des Themas bedanken. Ich habe ihn als einen erfahrenen Kliniker und begeisterten Forscher kennengelernt, der mir jederzeit mit Rat und Tat und jeglicher Unterstützung zur Seite stand.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei meinen lieben Eltern und Geschwistern bedanken. Meine herzliche und liebevolle Familie hat mich zu dem Menschen gemacht, der ich heute bin. Zudem haben meine Eltern mich all die Jahre des Medizinstudiums unterstützt und insbesondere zur Fertigstellung meiner Dissertation durch stetige Ermutigung beigetragen.

Herzlichst möchte ich mich auch bei allen Angehörigen der Arbeitsgruppe von Marcus Koller zur Durchführung und Verfügungsstellung der Versuchsreihen bedanken.

An dieser Stelle möchte ich ebenfalls an Dr. Frank Wiesmann erinnern, der mich als Erster an das wissenschaftliche Arbeiten und die Kardiologie herangeführt hat.

Zu guter letzt gilt mein herausragender Dank mein Ehemann Alex. Er hat mich stets mit anspornenden und mahnenden Worten unterstützt und auch auf viele gemeinsame Stunden zugunsten meiner Dissertation verzichtet hat.

Euch allen mein herzlicher Dank!

Lebenslauf

Name	Johanna Mante, geb. Wree
Adresse	Anne-Frank-Str. 31 52064 Aachen
Geburtsdatum	30. August 1980
Geburtsort	Kiel
Familienstand	verheiratet
Schulbildung	
1987 – 1991	Grundschule Veitshöchheim
1991 – 1996	Städtisches Mozartgymnasium Würzburg
1996 – 1999	CJD- Gymnasium Rostock
Hochschulbildung	
1999 – 2006	Studium der Humanmedizin an der Julius- Maximilians-Universität Würzburg
Beruflicher Werdegang	
01/ 2007 – 06/2008	Assistenzärztin der Inneren Medizin und Kardiologie im Hermann-Josef-Krankenhaus Erkelenz
seit 07/2008	Assistenzärztin der Klinik für Innere Medizin I im Krankenhaus Düren gem. GmbH