Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I

der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med G. Ertl

Charakterisierung des kardialen Phänotyps bei transgenen Mausmodellen mit Mutationen in kardialen kontraktilen Proteinen und dessen Veränderung durch arterielle Hypertonie

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Eric Schmid

aus Würzburg

Würzburg, September 2010

Referent: Priv. –Doz. Dr. Sebastian Maier

Koreferent: Prof. Erhard Wischmeyer

Dekan: Prof. Dr. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 22.11.2010

Der Promovend ist Arzt

Inhalt	sverzeichnis	Seite
1.	Einleitung	1
1.1	Herzhypertrophie	1
1.2	Herzhypertrophie bei arterieller Hypertonie	4
1.3	Hypertrophische Kardiomyopathie	4
1.4	Hypertrophische Kardiomyopathie als Erkrankung des Sarkomers	7
1.5	Transgene Mauslinien mit Mutation in der Myosin-Schwerkette	10
1.6	Transgene Mauslinien mit Troponin T-Mutationen	11
1.7	Fragestellung	13
2.	Material und Methoden	14
2.1	Kollektivbeschreibung	14
2.2	Herstellung Avertin	16
2.3	Mausmodell zur Hypertonie	16
2.4	Nicht-invasive Blutdruckmessung	17
2.5	Elektrokardiogramm	20
2.6	Echokardiographie	21
2.7	Herzkatheteruntersuchung	21
2.8	Organentnahme	23
2.9	Statistik	23
3.	Ergebnisse	24
3.1	Blutdruckwerte	24
3.2	Elektrokardiogramm	27
3.3	Echokardiographie	31

3.4	Herzkatheteruntersuchung	34
3.5	Organmorphologie	42
4.	Diskussion	47
4.1	Einführung	47
4.2	Blutdruckwerte	48
4.3	Elektrokardiogramm	49
4.3.1	Transgene Mausgruppe MYHC-R403Q/TnT-Trunk versus Kontrollgruppe Wildtyp: 3 Wochen präoperativ	49
4.3.2	Transgene Mausgruppe MYHC-R403Q/TnT-Trunk versus Kontrollgruppe Wildtyp: 4 Wochen postoperativ	51
4.4	Echokardiographie	52
4.4.1	Transgene Mausgruppe MYHC-R403Q/TnT-trunk versus	52
	Kontrollgruppe Wildtyp: 3 Wochen präoperativ	
4.4.2	Transgene Mausgruppe MYHC-R403Q/TnT-trunk versus	55
	Kontrollgruppe Wildtyp: 4 Wochen postoperativ	
4.5	Herzkatheteruntersuchung	56
4.6	Organentnahme	57
5.	Zusammenfassung	58
6.	Literaturverzeichnis	60
7.	Anhang	69
7.1	Liste der verwendeten Abkürzungen	69

7.2	Verwendete Chemikalien und molekularbiologische Produkte	69
7.3	Verwendete Geräte und Einmalartikel	69

Danksagung und Lebenslauf

1. Einleitung

1.1 Herzhypertrophie

Das Herz setzt sich vor allem aus Kardiomyozyten, Fibroblasten, Endothelzellen sowie der extrazellulären Matrix zusammen. Obwohl ventrikuläre Kardiomyozyten nur etwa ein Drittel der Zellzahl ausmachen, sind sie für 70-80% der gesamten Herzmasse verantwortlich [1]. Perinatal verlieren die meisten Kardiomyozyten ihre Fähigkeit zur Zellvermehrung und zeigen nur ein Wachstum durch Zellvergrößerung [2]. Das Herzwachstum und die Herzgröße sind beim Erwachsenen sehr eng mit der funktionellen Belastung abgestimmt. Als Herzhypertrophie bezeichnet man eine Herzmassenvergrößerung durch Kardiomyozytenvergrößerung aufgrund erhöhter Proteinsynthese und Sarkomerorganisation bei konstanter Kardiomyozytenanzahl. Sie tritt zum einen physiologisch auf, beispielsweise beim postnatalem Wachstum oder körperlichem Training, zum anderen kann sie eine Folge von pathophysiologischen Stimuli, wie arterieller Hypertonie, Klappenfehlern oder genetischen Mutationen sein. Die kardiale Hypertrophie ist demnach in eine physiologische und eine pathologische Anpassungsreaktion einteilbar (siehe Tabelle 1):

	Physiologische kardiale	Pathologische kardiale		
	Hypertrophie	Hypertrophie		
Stimuli	Druckbelastung	Druckbelastung		
	(z. B. Gewichtheben)	(z. B. art. Hypertonie, Klappenstenosen)		
	Volumenbelastung	Volumenbelastung		
	(z. B. Schwimmen) (z. B. Klappeninsuffizienz)			
		Kardiomyopathie		
		(z.B. familiär, viral, toxisch)		
Kardiale Morphologie	Kardiomyozytenvergrößerung	Kardiomyozytenvergrößerung		
	Neuformation der Sarkomere	Neuformation der Sarkomere		
		Interstitielle Fibrose		
		Myozytennekrose		
		Apoptose		
Herzfunktion	normal oder vergrößert	über die Zeit erniedrigt		
Komplet reversibel	ja	häufig nicht		
Herzversagen bzw.	nein	ja		
erhöhter Mortalität				

Tabelle 1: Charakteristika physiologischer und pathologischer Herzhypertrophie verändert nachMcMullen et al. [3].

Weiterhin kann man physiologische und pathologische Herzhypertrophien, je nach vorliegendem Stimulus, in konzentrisches oder exzentrisches Wachstum unterteilen. Konzentrische Herzhypertrophie führt zu Wandverdickung bei verhältnismäßig kleinen Herzbinnenräumen auf Grund einer Druckbelastung (z. B. arterielle Hypertonie); exzentrische Herzhypertrophie zu Wandausdünnung bei dilatierten Herzbinnenräumen auf Grund einer (z. B. Aortenklappeninsuffizienz) [4].

Bei der Herzhypertrophie handelt sich demnach um einen adaptiven Mechanismus des Myokards im Rahmen einer veränderten Druck- oder Volumenbelastung [1, 5-10], der zu einer kompensatorischen Erniedrigung der Herzwandspannung führt. Auf diese Weise ist im gesunden Herz eine ökonomische als auch leistungsfähige Herzarbeit gewährleistet. Die Herzwandspannung kann mittels des Gesetzes von LaPlace beschrieben werden. Stellt man sich das Herz als eine Hohlkugel vor mit dem Innenradius r, dem transmuralen Druck p (entspricht dem Innendruck), der Wanddicke d und der Wandspannung K, so gilt folgende Beziehung:

$K = p \cdot r / 2 \cdot d$

Die Wandspannung K ist also direkt proportional zum Innendruck p und Innenradius r, aber indirekt proportional zur zweifachen Wanddicke d. Besteht beispielsweise eine erhöhte Nachlast auf Grund einer arteriellen Hypertonie, so erzeugt diese einen erhöhten transmuralen Druck und somit eine erhöhte Wandspannung. Darauf reagiert das Myokard mit Hypertrophie, die zu einer Zunahme der Wanddicke (d) führt, somit die Wandspannung primär kompensatorisch erniedrigt und die Herzleistungsfähigkeit erhält [11]. Sekundär führt pathophysiologisch eine anhaltende Nachlasterhöhung zu einer inadäquaten Ventrikelhypertrophie, bei weiterer Steigerung des transmuralen Druckes zu einer reduzierten Ventrikelfunktion und konsekutiv einem gesteigerten myokardialen Sauerstoffverbrauch bei zunehmend reduzierter Ventrikelfunktion. Somit erhöht sich mit steigernder Wandspannung das Risiko einer Myokardischämie [12]. Die inadäquate Herzhypertrophie erhöht demnach die Inzidenz und Mortalität für ein kardiovaskuläres Geschehen [13], z. B. Myokardinfarkt, Herzinsuffizienz oder Herzrhythmusstörungen mit plötzlichem Herztod.

2

Das normale Herzgewicht des Menschen beträgt zwischen 250 und 350g [12, 14]. Genetische Faktoren wie Körpergröße, systolischer Blutdruck und Geschlecht beeinflussen die Myokardmasse [15]. Neben diesen klassischen Faktoren gibt es noch weitere unabhängige Modulatoren, wie das G-Protein ß-3, den ß1-adrenergen Rezeptor und die Aldosteron-Synthase [16]. Die bekanntesten Modulatoren sind die autosomal-dominant vererbten Genmutationen, die zu einer familiären hypertrophischen Kardiomyopathie führen [17]. Das Herz ist bis zu einem kritischen Herzgewicht von ca. 500g zur physiologischen Adaption an eine erhöhte Belastung in der Lage. Eine zunehmende Herzhypertrophie erfordert einen höheren Sauerstoffbedarf der Myozyten, deren kapilläre Versorgung nur bis zu dem kritischen Herzgewicht gegeben ist. Wird dieses überschritten, besteht eine relative Koronarinsuffizienz mit konsekutivem Sauerstoffmangel sowie pathohistologisch folgenden kleinen Parenchymnekrosen. Konsekutive Parenchymfibrosen führen zu einem Verlust der Museklfaserkontakte und zu einer zunehmenden Gefügedilatation. Die maximal erreichbare Wandspannung und damit auch der systolische Druck nehmen ab, das enddiastolische Volumen dagegen zu. Folglich wird die Herzarbeit zunehmend unökonomisch. Funktionelle (z.B. Frank-Straub-Starling Mechanismus), neurohumerale (z.B. sympathisches Nervensystem, Renin-Angiotensin-Aldosteron-System) und morphologische Adaptionsmechanismen (Myokardhypertrophie) können somit kompensatorisch die Herzleistung in einem gewissen Rahmen aufrechterhalten. Bei Überschreiten dieser kommt es zur dekompensierten Herzinsuffizienz mit Reduktion der kardialen Pumpfunktion, konsekutiv fallendem Herzminutenvolumen und letztendlich systemischer Organminderperfusion. Hierauf reagiert der Organismus weiterer Aktivierung des neurohumeralen Adaptionsmechanismus mit mit konsekutiver Nachlasterhöhung, die wiederum das Herzminutenvolumen reduziert. Ein Circulus vitiosus wird in Gang gesetzt [18].

3

1.2 Herzhypertrophie bei arterieller Hypertonie

Die epidemiologischen Daten der Framingham Studie zeigen, dass eine echokardiographisch nachgewiesene Myokardhypertrophie mit erhöhten kardiovaskulären Ereignissen einhergeht und hierfür einen unabhängigen Risikofaktor darstellt [19-22]. Weitere Studien belegen zudem, dass die Herzhypertrophie in hohem Maß bei Patienten mit essentieller Hypertonie einhergeht [23-26]. Dies konnte durch die multizentrisch und prospektiv geführte MAVI-Studie nochmals untermauert werden [27]. Zudem zeigte letztere, dass eine Myokardhypertrophie unabhängig von anderen Risikofaktoren wie Alter, Nikotinabusus, Diabetes mellitus oder Serumkreatininkonzentration das kardiovaskuläre Risiko linear erhöht. Weiterhin zeigte sich eine Patientengruppe mit "inadäquater" Herzhypertrophie, die bei gering gradiger arterieller Hypertonie eine ausgeprägte Hypertrophie aufwiesen [28]. Dabei überschreiten die Anpassungsvorgänge des Myokards den eigentlichen Bedarf der Arbeitslast, diese Patienten zeigen eine besonders schlechte Prognose [28-32]. Zusammenfassend ergibt sich eine hochgradige Korrelation zwischen Herzhypertrophie, bereits niedrig gradiger arterieller Hypertonie und kardiovaskulärem Risiko [33].

1.3 Hypertrophische Kardiomyopathien

Kardiomyopathien sind eine Gruppe von Erkrankungen die primär den Herzmuskel betreffen und zu Herzinsuffizienz, Arrhythmien und plötzlichem Herztod führen. Ätiologisch basieren sie nicht auf angeborene, valvuläre, hypertensive, perikardiale oder die Koronarien betreffenden Veränderungen und repräsentieren eine Hauptursache für Morbidität und Mortalität sowohl im Erwachsenenalter als auch bei Kindern [34]. Die Kardiomyopathien sind in zwei Gruppen unterteilbar: zum einen in die primäre Herzmuskelerkrankung unbekannter Ätiologie, zum anderen in die sekundäre Herzmuskelerkrankung bekannter Ätiologie oder zugrunde liegender Systemerkrankung. In vielen Fällen ist eine spezifische Ursache für die vorliegende Kardiomyopathie nicht zu eruieren. Zusätzlich werden Kardiomyopathien basierend auf Unterschieden ihrer pathophysiologischen und klinischen Präsentation (z. B. echokardiographisch) in drei morphologische Typen (dilatativer, restriktiver und hypertropher Typ) unterteilt [35] (siehe Abb. 1 und Tabelle 2):



Abb. 1: Formen der Kardiomyopathie verändert nach Harrison [35].

Primärer Typ				
٠	Idiopathisch (D,R,H)			
•	Familiäre hypertrophe Kardiomyopathie (D,R,H)			
•	Endomyokardfibrose (R)			
•	Endocarditis fibroplastica Löffler (R)			
	Sekundärer Typ			
٠	Infektiös (D) (z.B. virale Myokarditis, bakterielle			
	Myokarditis)			
•	Toxisch (D) (z.B. Alkohol, Medikamente)			
•	Metabolisch (D)			
•	Familiäre Speichererkrankung (D,R) (z.B. Glykogen)			
•	Kollagenosen(D) (z.B. Lupus erythematodes)			
•	Neuromuskulär (D) (z.B. Muskeldystrophie)			
•	Infiltrativ und Granulome (R,D) (z.B. Amyloidose)			



Speziell soll hier auf die hypertrophe Kardiomyopathie (HCM) eingegangen werden. Die HCM ist definitionsgemäß charakterisiert durch eine Hypertrophie des linken Ventrikels (selten zusätzlich des rechten Ventrikels), primär ohne Dilatation. Eine augenscheinliche Ursache wie beispielsweise eine arterielle Hypertonie liegt nicht vor [35]. Bisher galt eine arterielle Hypertonie als Ausschlusskriterium für eine hypertrophische Kardiomyopathie (HCM). Die aktuelle Literatur beschreibt jedoch zunehmend einen fließenden Übergang zwischen Myokardhypertrophie bei arterieller Hypertonie und hypertrophischer Kardiomyopathie. Das Ausschlusskriterium "arterielle Hypertonie" ist in den neuesten Leitlinien des American College of Cardiology und der European Society of Cardiology nicht mehr zu finden [36]. Somit kann eine arterielle Hypertonie ein modifizierender Faktor der HCM sein.

Die Entität der familiären hypertrophen Kardiomyopathie (FHC) wurde erstmals von dem Pathologen Donald Teare im Jahre 1958 beschrieben [37]. Clark et al. und van Dorp et al konnten zeigen, dass die familiäre HCM eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung ist und mit einem hohen, aber variablen Grad an Penetranz einhergeht [38, 39]. Die Prävalenz der hypertrophen Kardiomyopathie beträgt 0,2% (1:500) [35, 40] und ist folglich die häufigste, monogenetisch vererbte kardiovaskuläre Erkrankung [41]. Die Prävalenz wird vermutlich stark unterschätzt, da die Verfügbarkeit genetischer Tests eingeschränkt ist und Fälle von milder / ausbleibender Hypertrophie bzw. klinischer Symptomatik auftreten [42, 43]. Bei jungen, insbesonder sportlich aktiven Menschen unter 35 Jahren ist die FHC die häufigste Ursache für den plötzlichen Herztod durch ventrikuläre Arrhythmien [40, 42-49].

6

1.4 Familiäre Hypertrophische Kardiomyopathie als Erkrankung des Sarkomers

Als Sarkomer bezeichnet man die kleinste kontraktile Einheit eines Muskels. Diese funktionelle Grundeinheit besteht aus zwei Arten parallel angeordneter Filamente, einerseits dünnen Aktin-Filamenten (bestehend aus zwei spiralförmig gewundenen Proteinsträngen Aktin), andererseits dicken Myosin-Filamenten (bestehend aus dem kontraktilen Protein Myosin). Zusätzlich ist das regulatorische Protein Tropomyosin spiralig jeweils mit einem Aktinfilament assoziiert. Das Ineinandergleiten von Aktin und Myosin führt zu einer Muskelfaserverkürzung [50]. Der Troponinkomplex (Troponin T, I und C) dient dabei der Regulation der Muskelkontraktion [51]. Troponin T bindet an Tropomyosin und ist verantwortlich für die Positionierung des Troponinkomplexes an Aktin. [52]. Im Ruhezustand des Muskels wird die Myosinbindungsstelle am Aktin durch das regulatorische Protein Tropomyosin "sterisch" blockiert. Erfolgt an der Muskulatur ein Reiz durch ein Aktionspotenzial, werden Calciumionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum ausgeschüttet, die an das Troponin C binden. Hierbei gibt Troponin C die Myosinbindungsstelle auf dem Aktin frei, die Myosinköpfe können mit dem Aktinfilament Querbrücken bilden und es kann eine Kontraktion der Muskelzelle erfolgen. Troponin I ist dagegen ein Aktinmyosin-ATPase-hemmendes Regulatorprotein [50].



Abb. 2: Schematische Darstellung eines Sarkomers mit longitudinalem Blick auf dünne und dicke Filamente [50].

In der Literatur wurden über 450 Mutationen in 13 Genen beschrieben, die für Sarkomerproteine codieren und 60% aller HCM Fälle bedingen. Die meisten dieser Genmutationen sind "missense" Mutationen, seltener sind beispielsweise Trunkierungen. Zusätzlich werden sporadische Fälle durch Spontanmutationen geschildert [35, 54-57]. Die Mutationen betreffen sowohl dünne als auch dicke Filamente mit konsekutiver kontraktiler, struktureller oder regulatorischer Dysfunktion [55] (siehe Tabelle 3):

Gen	Chromosomenlokus	Sarkomerkomponente	Prozentanteil
MYH7	14q12	Dickes Filament	30 – 35%
TNNT2	1q32	Dünnes Filament	7-15%
MYBPC3	11p11.2	Dickes Filament	20 – 30%
TNNI3	19q13.4	Dünnes Filament	<5%
TPM1	15q22.1	Dünnes Filament	<5%
MYL2	12q24.3	Dickes Filament	<1%
MYL3	3p21	Dickes Filament	<1%
ACTC1	15q14	Dünnes Filament	<0,5%
	Gen MYH7 TNNT2 MYBPC3 TNNI3 TPM1 MYL2 MYL3 ACTC1	Gen Chromosomenlokus MYH7 14q12 TNNT2 1q32 MYBPC3 11p11.2 TNNI3 19q13.4 TPM1 15q22.1 MYL2 12q24.3 MYL3 3p21 ACTC1 15q14	GenChromosomenlokusSarkomerkomponenteMYH714q12Dickes FilamentTNNT21q32Dünnes FilamentMYBPC311p11.2Dickes FilamentTNNI319q13.4Dünnes FilamentTPM115q22.1Dünnes FilamentMYL212q24.3Dickes FilamentMYL33p21Dickes FilamentACTC115q14Dünnes Filament

 Tabelle 3: Genmutationen, die eine familiäre Hypertrophische Kardiomyopathie verursachen (verändert nach Alcalai et al. [55] und Herold [4]).

Primär werden zwei Mechanismen bezüglich der Auswirkung der autosomal-dominant vererbten Genmutationen auf Sarkomerstrukur und –funktion diskutiert. Zum einen der Mechanismus des dominant negativen Effekts. Dabei wird das mutierte Protein als sogenanntes "poison peptide" in das Sarkomer eingebaut und interferiert mit der normalen Proteinfunktion. Hierdurch entsteht eine Hemmung der kontraktilen und diastolischen Herzfunktion. Zum anderen wird der Mechanismus der Haploinsuffizienz beschrieben. Sie ist charakterisiert durch das Fehlen eines funktionellen Allels, einem sogenannten "null allel". Die Folge ist ein mutiertes Protein mit einer Reduktion funktioneller Anteile. Dadurch wird die Stöchiometrie der dicken und dünnen Filamente abgewandelt und es entsteht eine veränderte Sarkomerfunktion [42, 58].

Bisher sprechen Untersuchungen für den erst genannten Mechanismus des dominant negativen Effekts [55, 58, 59].

Mehrere Mausmodelle wurden entwickelt, um die menschlichen HCM Genmutationen zu untersuchen: Mutationen in der Myosin-Schwerkette [60, 61], im Myosinbindendem Protein C [62] oder Troponin T [63].

Bei ca. 40% der HCM Patienten konnte bisher jedoch keine Mutation in einem für das Sarkomer codierende Gen gefunden werden [64]. So sind in der Literatur weitere für das Sarkomer nicht codierende Genmutationen wie zum Beispiel die Mutation in der γ 2 Untereinheit der AMP-abhängigen Proteinkinase beschrieben (PRKAG2). Diese Veränderung geht mit der pathologischen Speicherung von Glykogen in den Kardiomyozyten einher und bedingt hier eine Hypertrophie [65, 66].

Unterschiedliche Mutationen führen zu unterschiedlichen Phänotypen, jedoch kann bei gleicher Mutation zweier Individuen der Phänotyp selbst innerhalb derselben Familie stark variieren [52, 67, 68]. Als Erklärung wird die Existenz von sogenannten "modifier genes" erhoben, die den jeweiligen Phänotyp modulieren. "Modifier genes" sind weder notwendig, noch alleine ausreichend, um eine HCM auszulösen, sie beeinflussen jedoch die klinische Ausprägung der Erkrankung [55]. Zusätzlich zeigen Patienten mit homozygoten oder compound-heterozygoten (zwei verschiedene mutierte Allele eines spezifischen Genlokus) Genmutationen, kodierend für Sarkomerproteine, eine früher einsetzende und schwerer verlaufende HCM [69-71].

9

1.5 Transgene Mauslinien mit Mutation in der Myosin-Schwerkette

Das Gen MYH7 für die menschliche β-Myosin-Schwerkette (β-MyHC) befindet sich auf Chromosom 14 im Abschnitt 14q12 und stellt mit 30-35% die häufigste genetisch bekannte Mutation für die familiäre HCM ("missense" Mutation, die zu einem Aminosäureaustausch führt) [55, 72, 73] mit einer Penetranz von 95% dar [57, 74-76]. Es unterscheidet sich vom Gen der Maus α-Myosin-Schwerketten lediglich durch 3,5 kb DNA [77]. Die 38 Exons des 22883 Basenpaar langen MYH7 codieren für das β-Myosin-Schwerketten-Protein (bestehend aus 1935 Aminosäuren) [78], welches mit ca. 30% den Hauptteil der myokardialen Proteine ausmacht [79, 80].

Im Gegensatz hierzu ist die α -Myosin-Schwerkette (α -MyHC) der Maus die dominante Isoform der myokardialen Proteine [81, 82]. Die verwendete transgene α -MyHC Mauslinie besitzt zwei "missense" Mutationen im α -MyHC Gen. Erstens eine Punktmutation der Base Guanin in Position 1445 zur Base Adenin (G1445A). Diese Substitution führt zu einem Ersatz der Aminosäure Arginin im Codon 403 durch die Aminosäure Glutamin (Arg403Gln) und gibt der Mauslinie den Namen MyHC-R403Q. Zweitens eine Deletion der Aminosäuren 468-527 in der Aktin bindenden Domäne des Proteins mit zusätzlicher Addition von neun Nichtmyosin-Aminosäuren (Ser Ser Leu Pro His Leu Lys Leu) [83, 84]. Folglich fehlt den mutierten α -MyHC der transgenen Mauslinie die Leichtkettenbindungsdomäne. Dies deckt sich mit der Hypothese, dass Veränderungen in der funktionalen Domäne von Sarkomerproteinen eine HCM auslösen [53, 83]. Die Mutation im Mausmodelll führt somit zu einem dominant negativen Effekt, der die Interaktion von Myosin mit Aktin verändert [83, 84]. Frühere Untersuchungen von Vikstrom et al. [83] zeigen, dass die transgenen Mäuse eine HCM mit linksventrikulärer Hypertrophie ausbilden. Versuche von Maass et al. mit transgenen Mäusen ergaben weiterhin asymmetrische Hypertrophie, beschränkt auf die vordere Wand des linken Ventrikels mit erhöhter Herzmasse. Die Herzen zeigten zudem die typischen histologischen Merkmale einer FHC. Zusätzlich liesen Mäuse im Verlauf schwere Klappenfehler erkennen [42], vergleichbar mit FHC Patienten, bei denen es in 60% der Fälle zu Klappenfehler kommt [85]. Diese Erkenntnisse

ermöglichen so die Verwendung der transgenen α -MyHC Mauslinie als Modell für die menschliche ß-MyHC Mutation [60].

1.6 Transgene Mauslinien mit Mutation im Troponin T

Im Jahr 1994 wurde erstmals eine Mutation im kardialen Troponin T als Auslöser einer familiären hypertrophen Kardiomyopathie (FHC) beschrieben [53]. Das kardiale Troponin T Gen ist auf dem Chromosom 1 im Abschnitt 1q3 lokalisiert [53, 57] und setzt sich aus 15 Exons zusammen [86]. Die Mutationen im kardialen Troponin T (cTnT) stellen die dritthäufigste genetische Ursache mit 7-15% aller FHC dar [4, 54, 58, 87]. Die Penetranz liegt bei etwa 75% [57, 74-76]. Das kardiale Troponin T umfasst etwa 5% der gesamten myofibrilleren Proteine [88]. Insgesamt sind bisher neun Mutationen im kardialen Troponin T bekannt, die zu einer FHC führen. Es handelt sich überwiegend um "missense" Mutationen, daneben eine "splice-site" Mutation [57, 89, 90]. Bei einer "splice-site" Mutation kommt es zu einer Insertion oder Deletion von Nukleotiden in der prä-mRNA unmittelbar an der Intron-splice Stelle (5'Ende). Dies führt zum Verbleiben von Introns in der reifen mRNA und konsekutiv veränderten Translationsprodukten [91, 92].

In der Literatur existieren viele verschiedene transgene Mausmodelle, die Mutationen im menschlichen kardialen Troponin T Gen (siehe Abb. 3) nachbilden [51, 63, 93]. Die verwendete transgenen TnT-Trunk Mauslinie ist charakterisiert durch eine "splice site" Mutation (in der splice Donor Sequenz am 5'Ende von Intron 15) im kardialen Troponin T Gen. Dabei kommt es zu einer Punktmutation der Aminosäure Guanin durch Adenin (G->A) in der Position 1 von Intron 15, was zu einer Rahmenverschiebung und anschließendem frühzeitigen Kettenabbruch führt [53].



Abb. 3: Aufbau des menschlichen kardialen Troponin T Gens, hier der Bereich Exon 14 bis Exon 16. Die Transition G->A betrifft das 5'Ende der Splice Donor Sequenz in Position 1 von Intron 15. Verändert nach Thierfelder et al. [53].

Folglich entstehen aberrante kardiale Troponin T mRNA Transkripte [94, 95]. Diese codieren für TnT-Trunkiertes kardiales Troponin T, dem die Ca2+ bindende Tropomyosindomäne fehlt [59, 96]. Diese "null allel" Mutation führt demnach zu einem Funktionsverlust auf Phänotypebene. Die verwendete Mauslinie exprimiert 4 % ihres Troponin T Protein als TnT-Trunkierte Isoform, was eine abnorme Stöchiometrie der Sarkomerproteine zur Folge hat [53, 58] und gibt der Mauslinie den Namen TnT-Trunk. Es kommt zu einer Reduktion der Kontraktionskraft und zu regionalen Rissen im Sarkomer [97].

Vorarbeiten von Maass et al. und Tardiff et al. demonstrierten, dass diese TnTtrunkierte Isoform bei den Herzmäusen zu schmaleren linken Ventrikeln, myozellulärer Architekturstörung, schwerer diastolische bzw. milde systolische Dysfunktion ohne Fibrosierung oder erhöhte Hypertrophiemarker führt [63, 87]. Generell entwickeln betroffene Patienten keine oder eine milde ventrikuläre Hypertrophie. Dennoch zeigen sie eine hohes Risiko am plötzlichen Herztod zu sterben [57, 63, 98].

Die in dieser Arbeit verwendete TnT-Trunk Mauslinie cTnT fungiert als Modell für die humane Mutation [51, 63].

12

1.7 Fragestellung

Die hypertrophe Kardiomyopathie ist die häufigste monogenetisch autosomaldominant vererbte kardiovaskuläre Erkrankung. Sie stellt einen unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse und häufigste Ursache des plötzlichen Herztodes dar. Daher sollte in dieser Arbeit anhand zweier transgener Mausmodelle die familiäre hypertrophe Kardiomyopathie hinsichtlich des kardialen Phänotyps und dessen Veränderung durch arterielle Hypertonie untersucht werden. Hierfür wurde die häufigste sowie dritthäufigste bekannte Mutation für die FHC durch Mausmodelle mit der Mutation in der α -Myosin-Schwerkette (MyHC-R403Q) und Mutation im kardialen Troponin T (TnT-Trunk) verwendet.

Hierbei werden Blutdruckwerte vor und nach Konstriktion der linken Arteria renalis durch Schwanz-Manometrie gemessen, des Weiteren die Herzmorphologie und -funktion durch Echokardiographie bestimmt. Am Ende der Studie wird die nichtinvasive Blutdruck- und Funktionsmessung mit Hilfe einer in vivo Hämodynamik, mittels invasiver Druckmessung, validiert. Zusätzlich wird die Myokardmasse durch Gravimetrie erhoben.

2. Material und Methoden

2.1 Kollektivbeschreibungen

In der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Universitätsklinikums Würzburg (Schwerpunkt Kardiologie) erfolgte in zwei Serien, im Zeitraum von August bis Oktober 2007 und Februar bis April 2008, die Untersuchung von insgesamt 62 männlichen Mäusen. Bei der ersten Messreihe im Jahr 2007 handelte es sich um insgesamt 17 Tiere im Alter von 7 bis 10 Monate. Sie setzte sich aus acht Tieren einer transgenen Mauslinie mit Mutation im kardialen Troponin T (TnT-Trunk), fünf Tieren einer transgenen Mauslinie mit Mutation in der kardialen α-Myosin-Schwerkette (MyHC-R403Q) und vier Tieren einer Wildytp Mauslinie als Kontrollgruppe zusammen. Im Verlauf der Versuchsreihen starben insgesamt sechs Tiere. Ein Teil der Versuchstiere wurde einer Operation mit Gefäßlumeneinengung der linken Arteria renalis, der andere Teil wurde einer "Scheinoperation" ohne Gefäßlumeneinengung unterzogen. Hierzu wurde die Haut eröffnet, die linke A. renalis frei präpariert, ohne Vornahme einer Gefäßkonstriktion und anschließendem Wundverschluss (siehe Tabelle 4):

Mauslinien	Anzahl	Operation	Scheinoperation	Gestorben während der Versuchsreihe
TnT-Trunk	8	4	4	3
MyHC-R403Q	5	3	2	2
Wildtyp	4	3	2	1
Gesamt	17	10	8	6

Messreihe 2007

Tabelle 4: Gruppeneinteilung der Tiere nach ihrer Genmutation in TnT-Trunk, MyHC-R403Q und in dieKontrollgruppe Wildtyp ohne Mutation. Abkürzungen siehe Anhang.

Bei den Mauslinien der Messreihe 2007 erfolgten prä- und postoperativ eine systolische Blutdruckmessung sowie die Herz- und Nierenentnahme am Ende der Versuchsreihe.

Bei der zweiten durchgeführten Messreihe im Jahr 2008 handelte es sich um insgesamt 45 Tiere, im Alter von 4 bis 7 Monaten. Sie setzte sich entsprechend zur ersten Serie

aus drei Mauslinien mit 17 Tieren einer transgenen Mauslinie mit Mutation im kardialen TnT (TnT-Trunk), sechs Tieren einer transgenen Mauslinie mit Mutation in der kardialen α -Myosin-Schwerkette (MyHC-R403Q) und 22 Tieren einer Wildtyp Mauslinie als Kontrollgruppe zusammen. Im Verlauf der Versuchsreihen starben insgesamt 12 Tiere. Auch hier wurde ein Teil der Versuchstiere einer Operation unterzogen, der andere Teil erhielt wiederum eine "Scheinoperation" (siehe Tabelle 5):

Mauslinie	Anzahl	Operation	Scheinoperation	Gestorben während der Versuchreihe
TnT-Trunk	17	15	2	6
MyHC-R403Q	6	3	3	1
Wildtyp	22	18	4	6
Gesamt	45	36	9	12

Messreihe 2008:

Tabelle 5: Gruppeneinteilung der Tiere nach ihrer Genmutation in TnT-Trunk, MyHC-R403Q und in dieKontrollgruppe Wildtyp ohne Mutation. Abkürzungen siehe Anhang.

Bei den Mauslinien Messreihe 2008 erfolgten prä- und postoperativ eine systolische Blutdruckbestimmung, elektro- und echokardiographische Untersuchungen sowie eine Herzkatheteruntersuchung. Am Ende der Versuchsreihe wurde das Herz und die Nieren entnommen.

Bei den verwendeten Mäusen handelte es sich um den Mäusestamm C57BL6/J. Dieser Stamm ist besonders geeignet, da er bezüglich bestimmter physiologischer Kriterien eine große Übereinstimmung mit dem Menschen aufweist. So zeigt dieser Mäusestamm beispielsweise wie der Mensch nur ein Ren-1 Gen auf [99].

Die Genehmigung des Versuchsvorhabens nach Tierschutzgesetz wurde durch die Regierung von Unterfranken gegeben. Die Haltung der Mäuse erfolgte unter Berücksichtigung des Tierschutzgesetzes im Tierstall der Medizinischen Klinik. Dabei hatten die Mäuse freien Zugang zu Wasser über eine Trinkflasche sowie Mausfutter und wurden zu einer Anzahl von bis zu maximal sechs Tieren in einem Standardlaborkäfig mit Holzgranulatstreu untergebracht. Im Tierstall der Medizinischen Klinik herrschten durchgehend standardisierte Umweltbedingungen mit einer Temperatur von 22° C, einer Luftfeuchtigkeit von 50% und einem automatisierten 12-stündigen Tag-Nacht-Rhythmus durch eine Beleuchtungsanlage.

2.2 Herstellung Avertin

Für die Durchführung des operativen Eingriffs, der Echokardiographie- und EKG-Ableitung wurde als Anästhetikum Avertin verwendet, welches in der verwendeten Dosierung eine vernachlässigbare hämodynamische Wirkung zeigt. Zur Herstellung von Avertin (2,5 %) wurde eine 97%ige 2,2,2–Tribromethanollösung mit einem 98%igem Isoamylalkohol im Verhältnis 1g : 1ml in einem 14ml Röhrchen mit Hilfe eines Vortexgerätes gemischt. Zur Gewinnung der Stammlösung wurde diese dann vor Applikation mit einer NaCl Lösung (0,9%) im Verhältnis 1 : 40 verdünnt und in der Dosis 100µl pro 10g Körpergewicht appliziert.

2.3 Mausmodell zur Hypertonie

Zur Auslösung einer arteriellen Hypertension zog man das Verfahren nach Goldblatt heran [100]. Hierbei wird gezielt eine Nierenarterie verengt, so dass eine reduzierte renale Perfusion resultiert. Die kontralaterale Nierenarterie bleibt unberührt. Die arterielle Hypertension entsteht durch das konsekutiv aktivierte Renin-Angiotensin-System. Da Nierenclips nach Wiesel et al. [100] zum Zeitpunkt unserer Versuchsreihen nicht lieferbar waren, erfolgte die inkomplette Ligatur der Nierenarterie mit Hilfe eines geeigneten Fadens. Die Operation der Maus erfolgte unter sterilen Bedingungen. Zur Operationsvorbereitung wurde das Versuchstier mit 100µl Avertin pro 10g Körpergewicht intraperitoneal narkotisiert. Daraufhin wurde die linke Flanke mittels Enthaarungs-Mousse (Plica) enthaart und die Maus in Rechtsseitenlage auf eine Wärmeplatte (Arbeitstemperatur von 38,4° C) mit Temperatur-Kontrollmodul gelegt, um einem Auskühlen der Maus entgegen zu wirken. Im nächsten Schritt wurde das Tier mit Klebeband auf der Platte fixiert und unter binokulärer Mikroskop-Sicht operiert.

Die Operationsstelle wurde per Cutasept desinfiziert, anschließend folgte mittels Skalpell ein etwa 3cm langer linker Flankenschnitt zur Nierenfreilegung. Die Hautläsion wurde mit Hilfe einer Schere vorsichtig erweitert und mit einer Klemme offen gehalten. Das Peritoneum wurde hilusnah eröffnet und störendes Fettgewebe entfernt. Nach Aufsuchen der linken Vena renalis und linken Arteria renalis wurde die Arterie frei präpariert und ein etwa 0,5cm langer Polyethylen-Faserfaden (Durchmesser 0,12mm) als Abstandshalter parallel zur Gefäßwand positioniert. Anschließend wurde ein Faden (6-0, Perma-Hand*Seide) um die Arterie mitsamt Abstandshalter gelegt und zweifach verknotet. Durch die Ligatur konnte die arterielle Versorgung des Nierengewebes vermindert werden. Der Abstandhalter wurde anschließend vorsichtig entfernt. Als Erfolgsparameter zeigte sich unmittelbar nach Ligatur eine Aufhellung der minderperfundierten Niere. Nach Entnahme der Klemme erfolgten die Wundrandadaption und der anschließende Wundverschluss mittels Prolene 6/0 unter Einzelknopfnähten. Die "Scheinoperation" bei den Kontrolltieren beinhaltete die identische Operationsvorbereitung und -schritte ohne weitere Gefäßmanipulation nach Freilegung der linken Arterie renalis. Anschließend wurde die Wunde wie oben beschrieben verschlossen.

2.4 Nicht-invasive Blutdruckmessung

Für die indirekte Blutdruckmessung der Mausreihen wurden das Programm "Chart 5 Version 5.5.1 für Windows" (ADInstruments, Australien), das nicht-invasiven Blutdruckmessgerät "NIBP Controller ML125", der Verstärker "Animal Bio Amp ML136" und das Datenerfassungsgerät "PowerLab/4SP" der Firma ADInstruments (Australien) verwendet. Die systolischen Blutdruckwerte wurden durch Schwanz-Manometrie mit Hilfe der "Tail-cuff-Methode" gemessen [101]. Die jeweilige Maus wurde aus ihrem Metallkäfig genommen, in einen speziellen Kunststofftunnel gesetzt (ML5016, ADInstruments) und auf eine Wärmeplatte (Arbeitstemperatur von 37,4° C) platziert, um eine für das Messgerät detektierbaren Schwanzperfusion (Schwanztemperatur > 32° C) zu erreichen. Anschließend wurde die Blutdruckmanschette mit Pulssenor über den Mäuseschwanz bis zu dessen proximalen Ende gestülpt (siehe Abb. 4):



Abb 4: Systolische Blutdruckbestimmung bei einer Maus mit Hilfe der "Tail-cuff-Methode".

Darauf folgend konnte eine Blutdruckkurve abgeleitet werden (siehe Abb. 5). Im oberen Feld ist die Pulskurve in mV, im unteren Feld ist die Druckkurve in mmHg abgebildet. Beim automatischen Aufpumpen der Manschette steigt die Druckkurve bis zu einem maximalen Druck von 300 mmHg an, im Verlauf des konsekutiv abfallenden Manschettendrucks öffnen sich die Schwanzgefäße und ein Puls sowie Blutdruck sind messbar.



Abb. 5: Nr.1: ansteigender Manschettendruck, Nr.2: kein Pulsausschlag auf Grund Verengung der Schwanzgefäße, lediglich Artefakte sichtbar, Nr.3: Entleerung der Manschette, Nr.4: steigender Pulsausschlag nach zunehmend abfallenden Manschettendruck.

Die Blutdruckwerte der Mäuse wurden über insgesamt fünf Wochen beobachtet, wobei jede Maus an einem für sie zugeteilten festen Zeitpunkt (Tag und Uhrzeit) einmal pro Woche gemessen wurde, um eine Standardisierung zu erreichen. Somit ergaben sich für jede Maus fünf Blutdruckwerte im Abstand von je einer Woche. Die erste Blutdruckmessung erfolgte eine Woche vor der Operation, die weiteren vier Messungen danach, in einem jeweiligen Abstand von genau einer Woche. Der Blutdruckwert einer Messsitzung ergab sich durch fünfmaliges Messen, wobei die drei ähnlichsten Werte eruiert und deren Mittelwert gebildet wurden. Um das Auftreten von stressinduzierten überhöhten systolischen Blutdruckwerten zu verringern, wurden die Mäuse eine Woche zuvor an drei verschiedenen Tagen durch Probemessungen trainiert und an den Ablauf herangeführt. Zudem wurde während der Messung der Kunststofftunnel mitsamt der Maus durch ein Stofftuch abgedeckt, um störende visuelle und akustische Umgebungseindrücke zu minimieren. Eine ausreichende Sauerstoffzufuhr war stets gewährleistet.

2.5 Elektrokardiogramm

Für die EKG Messung wurde die Maus durch die intraperitoneale Gabe von Avertinlösung 2,5% (Dosis 100µl pro 10g Körpergewicht) unter spontaner Respiration leicht anästhesiert. Das Tier wurde dann auf den Rücken (Beine von sich gestreckt) auf einer Wärmeplatte (Arbeitstemperatur 37,0° C) mittels Klebeband fixiert. Nun wurden die vier EKG-Elektroden an den Extremitäten angebracht und an das EKG Gerät (Animal Bio Amp) angeschlossen.



Abb. 6: Elektrokardiographische Ableitung an einer Maus

Das EKG wurde mit Hilfe des Programms "Chart 5 Version 5.5.1 für Windows" (ADInstruments, Australien) über zwei Minuten abgeleitet und anschließend mittels des Programms "Ecg-auto Version 2.5.0.3" (emka Technologies, USA) ausgewertet. Von den Versuchstieren wurden zum einen 3 Wochen vor und zum anderen 4 Wochen nach dem operativen Eingriff elektrokardiographische Untersuchungen vorgenommen.

2.6 Echokardiographie

Die transthorakale echokardiographische Untersuchung der Mäuse erfolgte in leichter Anästhesie unter Gabe von Avertinlösung 2,5% (Dosis 100µl pro 10g Körpergewicht) intraperitoneal unter spontaner Respiration. Die Ultraschalluntersuchung wurde im Rahmen eines Blindversuch durch eine tierechokardiographisch erfahrener Mitarbeiterin mittels Toshiba PowerVision 6000 und einem 14MHz Schallkopf durchgeführt. Es wurde stets die gleiche Eindringtiefe verwendet um eine adäquate Kalibrierung für die offline Analyse zu erreichen.

Die Messungen im linken Ventrikel erfolgten im maximalen 2D-Durchmesser mit Schichtführung in der kurzen Herzachse von der Herzbasis bis zum Apex. Die Messdaten wurden zum einen in Höhe der maximalen Papillarmuskelmasse (PA-Ebene) sowie unmittelbar oberhalb des Apex (AP-Ebene) erhoben. Die endsystolisch und –diastolisch Phasen wurden jeweils mittels des Analyseprogramms "Image-Arena" (TomTec Imaging Systems GmbH, Unterschleissheim) erfasst. Hierbei wurde die Herzfrequenz, die endsystolische minimale und –diastolische maximale Fläche (ESA und EDA) in mm², der endsystolische und –diastolische Durchmesser (ESD und EDD) in cm, die enddiastolische Vorderwand- und Hinterwanddicke (EDVW und EDPW) in cm, die 2D fraktionelle Faserverkürzung und M-Mode fraktionelle Faserverkürzung (2D FS und MM FS) in Prozent bestimmt.

Die Versuchstiere wurden jeweils 3 Wochen vor und 4 Wochen nach dem operativen Eingriff echokardiographisch untersucht.

2.7 Herzkatheteruntersuchung

Die für die Herzkatheteruntersuchung notwendige Narkotisierung der Maus erfolgte in zwei Schritten. Hierzu wurde die Maus in einem geschlossenen Plastikgefäß platziert und über ein Schlauchsystem mit einem Respirator (Rodent Ventilator, Typ 7025, UGO Basile) zur Verabreichung des volatilen Anästhetikums und Sicherstellung der Beatmung verbunden. Die Vornarkotisierung erfolgte mittels eines Isofluran 6%-Sauerstoffgemisch. Im zweiten Schritt erfolgte die Intubationsnarkose. Hierbei wurde

nach Sicherstellung, dass die Maus schlief, diese in Rückenlage auf eine Wärmeplatte (Arbeitstemperatur 37,0° C) mittels Klebeband fixiert. Zur besseren Intubationssicht wurde die Zunge mit einer Klemme erfasst und zur Seite geschoben. Anschließend erfolgte die Intubation mittels einer Verweilkanüle (G22-1, Braun) als Tubus. Nach Sicherstellung der korrekten Tubuslage wurde dieser mit Klebeband fixiert und die Narkose mittels Isofluran auf 1,5% fortgesetzt (Beatmungsvolumen von 1ml und Atemfrequenz von 120 pro Minute). Zur besseren Operationssicht wurde ein binokulares Mikroskop (SZ40, Olympus) und eine zusätzliche Kaltlicht-Quelle (KL 1500 LCD, Schott) verwendet. Nun wurde mit einer Schermaschine (GT104, Aesculap) der Mäusehals rasiert und dieser Bereich großzügig mit Kodan Spray desinfiziert. Danach erfolgte mittels Mikroschere die Durchtrennung der Hautschichten im Halsbereich, und nach sorgfältiger Präparierung die Darstellung der rechte Vena jugularis interna. Mithilfe eines Seidenfadens (USP 8/0, metric 0,4) wurde die herznahe rechte Vena jugularis interna eingeengt und herzfern vollständig ligiert. Mit einer Mikroschere wurde zwischen den Ligaturen eine Längsinzision gesetzt und ein Katheter zur späteren Volumenapplikation eingelegt. Entsprechend wurde die linke Arteria carotis präpariert und der Herzkatheter (SPR-839, Millar) bis in den linken Ventrikel vorgeschoben. Die Lagekontrolle des Katheters erfolgte anhand des abgeleiteten Druck-Volumen-Diagramms. Unmittelbar vor Beginn der hämodynamischen Messung wurde ein Bolus (10µl Kochsalzlösung 15%) über die rechte Vena jugularis interna appliziert. Die anschließende einige Sekunden andauernde Messung der hämodynamischen Parameter erfolgte unter Verwendung des Druck-Volumen-Aufzeichnungsgerätes MPVS Ultra (Miller) und des Programmes "Chart 5 Version 5.5.1 für Windows" (ADInstruments, Australien). Kurz vor Beginn, sowie während der hämodynamischen Messung, wurde der Respirator für wenige Sekunden ausgeschalten, um Atemartefakte zu vermeiden. Ein relevanter Blutverlust wurde durch sachgerechtes Vorgehen vermieden.

2.8 Organentnahme

Nach Durchführung der oben beschriebenen Herzkatheteruntersuchung folgte die Entnahme des Herzens. Hierzu wurde der Exitus der noch narkotisierte Maus per cervicaler Dislokation erreicht. Nach Thoraxeröffnung und Kollabierung der beiden Lungenflügel konnte das Herz heraus präpariert werden, des Weiteren erfolgte die Entnahme der beiden Nieren. Im nächsten Schritt erfolgte die Säuberung der Organe in einer kleinen mit Kochsalzlösung (0,9%) gefüllten Schale. Anschließend erfolgte das vorsichtige Ausdrücken des in den Herzhöhlen verbleibenden Restblutes auf einer Papierunterlage. Abschließend wurden die Vorhöfe von den Kammern entfernt und die Vorhöfe und Kammern getrennt voneinander mit einer Analysewaage (TE 214S, Sartorius) gewogen. Zudem wurde der Index für das Verhältnis von Herz- zu Körpergewicht bestimmt, indem das jeweilige Herztrockengewicht in Milligramm durch das Körpergewicht in Gramm dividiert wurde. Die entnommenen Nieren wurden jeweils makroskopisch begutachtet.

2.9 Statistik

Zur statistischen Datenauswertung und –darstellung diente das Programm "Microsoft Excel 2007" (Microsoft Cor., Redmond, WA, USA). Für Mittelwertsvergleiche zweier normalverteilter unabhängiger Variablen wurde der Student´s t-Test verwendet. P-Werte < 0,05 wurden als statistisch signifikant angesehen. Bei Vergleich von mehr als zwei normalverteilten unabhängigen Variablen ging die Bonferroni-Korrektur mit ein. Des Weiteren wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse mittels ANOVA durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Blutdruckwerte

Von den ursprünglich 17 Tieren der Messreihe 2007, zusammengesetzt aus 8 Tieren der Mauslinie TnT-Trunk, 5 Tieren der Mauslinie MyHC-R403Q und 4 Tieren der Kontrollgruppe Wildtyp starben während der Versuchsreihe insgesamt 6 Tiere (3 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 2 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 1 Tier der Kontrollgruppe Wildtyp). Von den verbleibenden 11 Mäusen (5 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 3 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 3 Tiere der Kontrollgruppe Wildtyp) konnten Messdaten erhoben werden. Die prä- und postoperativen systolischen Blut-druckwerte (mmHg) der MyHC-R403Q, TnT-Trunk und Wildtyp Mauslinien sind in Tabelle 6 aufgezeigt mit Gegenüberstellung der Gruppen "operiert" versus "sham":

Messreihe 2007					
Mauskollektiv	"operiert"	"sham"			
n	4	7			
1. Messung (eine Woche präoperativ)	112,5 ± 12,5	126,4 ± 16,0			
2. Messung (1. Woche postoperativ)	152,5 ± 28,9	132,6 ± 15,3			
3. Messung (2. Woche postoperativ)	167,8 ± 15,4	142,4 ± 22,0			
4. Messung (3. Woche postoperativ)	177,3 ± 13,7**	134,0 ± 19,1**			
5. Messung (4. Woche postoperativ)	173,8 ± 14,3**	135,1 ± 14,5**			

Tabelle 6: Systolische Blutdruckwerte (mmHg) der Mäusekollektive "operiert" versus "sham" der Mess-reihe 2007. Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Statistischsignifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert ** p < 0,01.</td>

In der Messreihe im Jahr 2007 zeigte das Mäusekollektiv "operiert" versus "sham" hoch signifikante Unterschiede hinsichtlich des systolischen Blutdrucks in der 3. und auch 4. Woche postoperativ (vgl. Abb. 7):



 Abb. 7: Systolische Blutdruckwerte der Mäusekollektive "operiert" versus "sham" der Messreihe 2007 (Mittelwert ± Standardfehler). Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert ** p < 0,01.

Von den ursprünglich 45 Tieren der Messreihe 2008, zusammengesetzt aus 17 Tieren der Mauslinie TnT-Trunk, 6 Tieren der Mauslinie MyHC-R403Q und 22 Tieren der Kontrollgruppe Wildtyp starben während der Versuchsreihe insgesamt 12 Tiere (5 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 1 Tier der Mauslinie MyHC-R403Q und 6 Tiere der Kontrollgruppe Wildtyp). Von den verbleibenden 33 Mäusen (12 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 5 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 16 Tiere der Kontrollgruppe Wildtyp) konnten Messdaten erhoben werden. Die prä- und postoperativen systolischen Blutdruckwerte (mmHg) der MyHC-R403Q, TnT-Trunk und Wildtyp Mauslinien sind in Tabelle 7 aufgezeigt mit Gegenüberstellung der Gruppen "operiert" versus "sham".

Messreihe 2007

Messreihe 2008					
Mauskollektiv	"operiert"	"sham"			
n	26	7			
1. Messung (eine Woche präoperativ)	111,0 ± 20,3	106,1 ± 20,5			
2. Messung (1. Woche postoperativ)	117,7 ± 16,5*	104,0 ± 10,3*			
3. Messung (2. Woche postoperativ)	121,0 ± 11,7	113,9 ± 5,2			
4. Messung (3. Woche postoperativ)	123,0 ± 21,8	116,3 ± 6,8			
5. Messung (4. Woche postoperativ)	120,9 ± 18,5	117,9 ± 7,8			

Tabelle 7: Systolische Blutdruckwerte (mmHg) der Mäusekollektive "operiert" versus "sham" der Messreihe 2008. Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert * p < 0,05.

In der Messreihe im Jahr 2008 zeigte das Mäusekollektiv "operiert" versus "sham" einen signifikanten Unterschied hinsichtlich des systolischen Blutdruckwertes in der 1. Woche postoperativ (vgl. Abb. 8):



 Abb. 8: Systolische Blutdruckwerte der Mäusekollektive "operiert" versus "sham" der Messreihe 2008 (Mittelwert ± Standardfehler). Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert * p < 0,05.

Innerhalb des operierten Kollektivs zeigte die Mauslinie TnT-Trunk in der 3. Woche postoperativ tendenziell höhere systolische Werte. Jedoch konnte der ANOVA-Test keinen signifikanten Unterschied feststellen.

3.2 Elektrokardiogramm

Tabelle 8 stellt zusammenfassend die Ergebnisse der EKG Untersuchung der Messreihe 2008 drei Wochen vor dem operativen Eingriff dar. Hierbei wurden insgesamt 30 Tiere (12 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 5 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 13 Tiere der Mauslinie Wildtyp) untersucht. Die transgene Mauslinie MyHC-R403Q sowie die transgene Mauslinie TnT-Trunk wurden jeweils mit der Kontrollgruppe Wildtyp hinsichtlich Herzfrequenz, PR-Zeit, QRS-Komplexbreite, QT-Zeit, PP-Abstand und RR-Abstand verglichen.

EKG 3, Wochen vor operativem Eingriff:							
Mausgenotyp	MyHC-R403Q	TnT-Trunk	Wildtyp				
n	5	12	13				
Herzfrequenz in /min	505,8 ± 59,1	522,7 ± 63,5	549,0 ± 58,3				
PR-Zeit in ms	45,1 ± 3,2*	38,3 ± 3,4	39,9 ± 3,4*				
QRS-Komplexbreite in ms	12,9 ± 5,4	12,3 ± 1,6	11,8 ± 2,1				
QT-Zeit in ms	38,7 ± 14,9**	20,3 ± 3,2	22,1 ± 2,7**				
PP-Abstand in ms	119,8 ± 15,5	116,7 ± 16,6	110,5 ± 12,7				
RR-Abstand in ms	120,0 ± 15,0	116,6 ±15,0	110,5 ± 12,7				

Tabelle 8: Herzfrequenz, PR-Zeit, QRS-Komplexbreite, QT-Zeit, PP-Abstand und RR-Abstand des Mäusekollektivs MyHC-R403Q, TnT-Trunk und Wildtyp. Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert * p < 0,025 und ** p < 0,005.</p>

Bei Vergleich der EKG Parameter zeigt die PR-Zeit und die QT-Zeit signifikante Unterschiede zwischen der transgenen Mauslinie MyHC-R403Q und der Kontrollgruppe Wildtyp. Die restlichen Parameter Herzfrequenz, QRS-Komplexbreite, PP-Abstand und RR-Abstand zeigten keine signifikanten Unterschiede (siehe Tabelle 9 und Abb. 9-11).

EKG, 3 Wochen vor operativem Eingriff MyHC-R403Q vs. Wildtyp:						
	Herzfrequenz PR-Zeit QRS-Komplexbreite QT-Zeit PP-Abstand RR-Abstand					
p-Werte	0,179	0,009*	0,539	0,0009**	0,207	0,193

Tabelle 9: p-Werte des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp. Statistisch signifikante Unter-
schiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert * p < 0,025 und ** p < 0,005.</th>



Abb. 9: Vergleich eines Oberflächen-EKG einer MyHC-R403Q Maus (oben) sowie einer Wildtyp Maus (unten) in Anästhesie präoperativ.



Abb. 10: PR-Zeit des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp (Mittelwert ± Standardfehler, * p < 0,025).



Abb. 11: QT-Zeit des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp (Mittelwert ± Standardfehler, ** p < 0,005,).

Bei Vergleich der EKG Parameter zwischen der transgenen Mauslinie TnT-Trunk und der Kontrollgruppe Wildtyp zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Herzfrequenz, PR-Zeit, QT-Zeit, QRS-Komplexbreite, QT-Zeit, PP-Abstand und RR-Abstand. Tabelle 10 stellt zusammenfassend die Ergebnisse der EKG Auswertung der Messreihe 2008 vier Wochen nach operativen Eingriff dar. Hierbei wurden insgesamt 30 Tiere (12 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 5 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 13 Tiere der Mauslinie Wildtyp) untersucht. Die transgene Mauslinie MyHC-R403Q sowie die transgene Mauslinie TnT-Trunk wurde jeweils mit der Kontrollgruppe Wildtyp hinsichtlich Herzfrequenz, PR-Zeit, QRS-Komplexbreite, QT-Zeit, PP-Abstand und RR-Abstand verglichen.

EKG, 4 Wochen nach operativem Eingriff:							
Mausgenotyp	MyHC-R403Q	TnT-Trunk	Wildtyp				
n	5	12	13				
Herzfrequenz in /min	468,3 ± 86,4	494,7 ± 72,3	522,9 ± 81,9				
PR-Zeit in ms	40,8 ± 4,8	39,4 ± 4,7	41,0 ± 5,6				
QRS-Komplexbreite in ms	12,1 ± 0,7	13,2 ± 2,1	12,6 ± 3,5				
QT-Zeit in ms	28,7 ± 3,8*	22,4 ± 3,1	23,7 ± 3,3*				
PP-Abstand in ms	131,7 ± 24,3	123,8 ± 18,9	117,5 ± 18,8				
RR-Abstand in ms	131,7 ± 24,5	123,8 ± 18,9	117,4 ± 18,8				

Tabelle 10: Herzfrequenz, PR-Zeit, QRS-Komplexbreite, QT-Zeit, PP-Abstand und RR-Abstand des Mäusekollektivs MyHC-R403Q, TnT-Trunk und Wildtyp. Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert * p < 0,05.</p>

Bei Vergleich der EKG Parameter zeigt die QT-Zeit signifikante Unterschiede zwischen der transgenen Mauslinie MyHC-R403Q und der Kontrollgruppe Wildtyp. Die restlichen Parameter Herzfrequenz, PR-Zeit, QRS-Komplexbreite, PP-Abstand und RR-Abstand zeigten keine signifikanten Unterschiede (siehe Tabelle 11):

EKG, 4 Wochen nach operativem Eingriff MyHC-R403Q vs. Wildtyp:								
	Herzfrequenz	PR-Zeit	QRS-Komplexbreite	QT-Zeit	PP-Abstand	RR-Abstand		
p-Werte	0,229	0,941	0,763	0,014*	0,204	0,201		

Tabelle 11: p-Werte des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp. Statistisch signifikanteUnterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert * p < 0,025.</td>



Abb. 12: QT-Zeit des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp (Mittelwert ± Standardfehler, * p < 0,025).

Bei Vergleich der EKG Parameter zwischen der transgenen Mauslinie TnT-Trunk und der Kontrollgruppe Wildtyp zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Herz-frequenz, PR-Zeit, QT-Zeit, QRS-Komplexbreite, QT-Zeit, PP-Abstand und RR-Abstand.

3.3 Echokardiographie

Tabelle 12 stellt zusammenfassend die Ergebnisse der echokardiographischen Untersuchung der Messreihe 2008 drei Wochen vor dem operativen Eingriff dar. Hierbei wurden insgesamt 28 Tiere (11 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 4 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 13 Tiere der Mauslinie Wildtyp) untersucht. Die transgene Mauslinie MyHC-R403Q sowie die transgene Mauslinie TnT-Trunk wurden jeweils mit der Kontrollgruppe Wildtyp hinsichtlich Herzfrequenz (HF), endsystolische minimale und – diastolische maximale Fläche (ESA und EDA), endsystolische und –diastolische Durchmesser (ESD und EDD), enddiastolische Vorderwand- und Hinterwanddicke (EDVW und EDPW) sowie 2D fraktionelle Faserverkürzung (2D FS) in kurzer Herzachse des linken Ventrikels in Ebene der maximalen Papillarmuskelmasse (PA-Ebene) und unmittelbar oberhalb des Apex verglichen (AP-Ebene).
Echokardiographie, 3 Wochen vor operativem Eingriff:				
Mausgenotyp	MyHC-R403Q	TnT-Trunk	Wildtyp	
n	4	11	13	
Herzfrequenz in /min	577,5 ± 27,5	568,2 ± 45,1	582,3 ± 45,1	
	1	1	1	
Linker Ventrikel: Messung in Ebene der maximalen Papillarmuskelmasse (PA)				
ESA (mm²)	4,20 ± 1,1 **	1,80 ± 0,75	2,0 ± 0,8 **	
EDA (mm²)	10,80 ± 1,8 *	8,20 ± 1,73	7,6 ± 1,7 *	
ESD (cm)	0,22 ± 0,02	0,19 ± 0,03	0,20 ± 0,03	
EDD (cm)	0,38 ± 0,03	0,34 ± 0,04	0,35 ± 0,04	
EDVW (cm)	0,12 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,02	
EDPW (cm)	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	
2D FS (%)	61,0 ± 6,0 **	78,0 ± 0,8	75,0 ± 7,0 **	
	I	I	1	
Messung unmittelbar oberhalb des Apex (AP)				
ESA (mm²)	2,50 ± 0,69	1,45 ± 0,69	1,15 ± 0,29	
EDA (mm²)	9,17 ± 1,35 **	6,76 ± 1,63	6,10 ± 1,4 **	
ESD (cm)	0,20 ± 0,04	0,18 ± 0,04	0,16 ± 0,03	
EDD (cm)	0,34 ± 0,04	0,31 ± 0,04	0,30 ± 0,04	
EDVW (cm)	0,12 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,12 ± 0,02	
EDPW (cm)	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,02	
2D FS (%)	73,0 ± 8,0	78,0 ± 7,0	80,0 ± 5,0	

Tabelle 12: Herzfrequenz, endsystolische Fläche (ESA), enddiastolische Fläche (EDA), endsystolischer Durchmesser (ESD), enddiastolischer Durchmesser (EDD), enddiastolische Vorderwanddicke (ESVW), enddiastolische Hinterwanddicke (EDPW) sowie 2D fraktionelle Faserverkürzung (2D FS) des Mäusekollektivs MyHC-R403Q, TnT-Trunk und Wildtyp. Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert *p < 0,025 und ** p < 0,005.

Bei Vergleich der gemessenen Parameter zeigte das Mäusekollektiv MyHC-R403Q versus Wildtyp in Ebene der maximalen Papillarmuskelmasse signifikante Unterschiede in endsystolischer Fläche, enddiastolischer Fläche und 2D fraktioneller Faserverkürzung. Unmittelbar oberhalb des Apex (AP-Ebene) zeigten sich hoch signifikante Unterschiede der endsystolischen und -diastolischen Fläche, die weiteren Parameter brachten keinen signifikanten Unterschied zum Vorschein. Jedoch waren in der der AP-Ebene tendenziell größerer endsystolischer- und enddiastolischer Durchmesser sowie kleinere fraktionelle Faserverkürzung (2D FS) festzustellen (siehe Tabelle 13 und Abb. 13-18).

Echokardiographie, 3 Wochen vor operativem Eingriff der Mauslinie MyHC-R403Q versus Wildtyp:							
Messebene	ESA	EDA	ESD	EDD	EDVW	EDPW	2D FS
PA-Ebene	0,0005**	0,0059*	0,262	0,102	0,556	0,599	0,0047**
AP-Ebene	0,0004***	0,0015**	0,037°	0,077°	0,725	0,822	0,032°

Tabelle 13: P-Werte des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp. Statistisch signifikante Unter-
schiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert * p < 0,025, ** p < 0,005 und
*** p < 0,0005. Statistisch tendenzielle Unterschiede sind durch Kreise markiert ° p < 0,1.</th>



Abb. 13: Endsystolische Fläche (PA-Ebene) des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp (Mittelwert ± Standardfehler, ** p < 0,005).



Abb. 14: Enddiastolische Fläche (PA-Ebene) des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp (Mittelwert ± Standardfehler, * p < 0,025).



Abb. 15: 2D fraktionelle Faserverkürzung (PA-Ebene) des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp (Mittelwert ± Standardfehler, ** p < 0,005).



Abb.16: Endsystolische Fläche (AP-Ebene) des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp (Mittelwert ± Standardfehler, *** p < 0,0005).



Abb. 17: Enddiastolische Fläche (AP-Ebene) des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp (Mittelwert ± Standardfehler, ** p < 0,005).

Bei Vergleich des Mäusekollektivs TnT-Trunk mit Wildtyp ergab sich kein signifikanter Unterschied der echokardiographischen Parameter. Jedoch war in der AP-Ebene tendenziell geringere enddiastolische Vorderwand- und Hinterwanddicke festzustellen (siehe Tabelle 14 und Abb. 19):

Echokardiographie, 3 Wochen vor operativem Eingriff der Mauslinie TnT-Trunk versus Wildtyp:							
Messebene	ESA	EDA	ESD	EDD	EDVW	EDPW	2D FS
PA-Ebene	0,632	0,394	0,459	0,757	0,486	0,816	0,257
AP-Ebene	0,165	0,284	0,277	0,570	0,061°	0,034°	0,535

Tabelle 14: P-Werte des Mäusekollektivs TnT-Trunk versus Wildtyp. Statistisch tendenzielle Unter-
schiede sind durch Kreise markiert $^{\circ} p < 0,1$.

Tabelle 15 stellt zusammenfassend die Ergebnisse der echokardiographischen Untersuchung der Messreihe 2008 vier Wochen nach dem operativen Eingriff dar. Von den ursprünglichen 28 Tieren, zusammengesetzt aus 11 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 4 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 13 Tiere der Mauslinie Wildtyp wurden 5 Tiere "sham" operiert (1 Tier der Mauslinie TnT-Trunk, 1 Tier der Mauslinie MyHC-R403Q und 3 Tiere der Kontrollgruppe Wildtyp). Von den verbleibenden 23 Mäusen (10 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 3 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 10 Tiere der Kontrollgruppe Wildtyp) konnten Messdaten erhoben werden. Die transgene Mauslinie MyHC-R403Q sowie die transgene Mauslinie TnT-Trunk wurden jeweils mit der Kontrollgruppe Wildtyp hinsichtlich folgender Merkmale verglichen:

- Herzfrequenz

- endsystolische minimale und –diastolische maximale Fläche (ESA und EDA)

- endsystolischer und -diastolischer Durchmesser (ESD und EDD)
- enddiastolische Vorderwand- und Hinterwanddicke (EDVW und EDPW)

- 2D fraktionelle Faserverkürzung (2D FS)

Diese echokardiographischen Untersuchungen erfolgten zum einen in kurzer

36

Herzachse des linken Ventrikels, in Ebene der maximalen Papillarmuskelmasse (PA-Ebene), zum anderen unmittelbar oberhalb des Apex (AP-Ebene):

Echokardiographie, 4 Wochen nach operativem Eingriff:					
Mausgenotyp	MyHC-R403Q	TnT-Trunk	Wildtyp		
n	3	10	10		
Herzfrequenz in /min	583,3 ± 11,5	567,0 ± 24,1	596,0 ± 42,7		
			I		
Linker Ventrikel: Messung in Ebene der maximalen Papillarmuskelmasse (PA)					
ESA (mm²)	4,44 ± 0,5*	2,27 ± 1,0	2,10 ± 1,4*		
EDA (mm²)	12,78 ± 1,6*	9,4 ± 1,1	8,70 ± 2,0*		
ESD (cm)	0,21 ± 0,0	0,22 ± 0,0	0,21 ± 0,0		
EDD (cm)	0,38 ± 0,0	0,37 ± 0,0	0,36 ± 0,0		
EDVW (cm)	0,12 ± 0,0	0,10 ± 0,0	0,11 ± 0,0		
EDPW (cm)	0,10 ± 0,0	0,08 ± 0,0	0,09 ± 0,0		
2D FS (%)	65,0 ± 0,0	76,0 ± 0,1	77,0 ± 0,1		
	I	I	1		
Messung unmittelbar oberhalb des Apex (AP)					
ESA (mm²)	2,67 ± 1,5	1,47 ± 0,4	2,10 ± 1,3		
EDA (mm²)	10,33 ± 1,3	7,97 ± 0,5	7,93 ± 1,4		
ESD (cm)	0,19 ± 0,0	0,19 ± 0,0	0,19 ± 0,0		
EDD (cm)	0,36 ± 0,0	0,34 ± 0,0	0,34 ± 0,0		
EDVW (cm)	0,14 ± 0,0	0,11 ± 0,0	0,11 ± 0,0		
EDPW (cm)	0,10 ± 0,0	0,08 ± 0,0	0,09 ± 0,0		
2D FS (%)	75,0 ± 0,1	82,0 ± 0,1	75,0 ± 0,1		

Tabelle 15: Herzfrequenz, endsystolische Fläche (ESA), enddiastolische Fläche (EDA), endsystolischer Durchmesser (ESD), enddiastolischer Durchmesser (EDD), enddiastolische Vorderwanddicke (ESVW), enddiastolische Hinterwanddicke (EDPW) sowie 2D fraktionelle Faserverkürzung (2D FS) des Mäusekollektivs MyHC-R403Q, TnT-Trunk und Wildtyp. Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert *p < 0,025.

Bei Vergleich der gemessenen Parameter zeigte das Mäusekollektiv MyHC-R403Q versus Wildtyp in Ebene der maximalen Papillarmuskelmasse signifikante Unterschiede

in enddiastolischer und endsystolischer Fläche. Die weiteren Parameter waren nicht signifikant. Jedoch war tendenziell zum einen in Ebene der maximalen Papillarmuskelmasse eine geringe fraktionelle Faserverkürzung (2D FS) und zum anderen in der AP-Ebene eine geringere enddiastolische Fläche sowie Vorderwanddicke festzustellen (siehe Tabelle 16 und Abb. 20-23):

Echokardiographie, 4 Wochen nach operativem Eingriff der Mauslinie MyHC- R403Q vs. Wildtyp:							
Messebene	ESA	EDA	ESD	EDD	EDVW	EDPW	2D FS
PA-Ebene	0,016*	0,009*	0,955	0,542	0,463	0,173	0,081°
AP-Ebene	0,532	0,026°	0,886	0,485	0,042°	0,432	0,993

Tabelle 16: P-Werte des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert * p < 0,025, statistisch tendenzielle Unterschiede sind durch Kreise markiert ° p < 0,1.</p>



Abb. 20: Endsystolische Fläche (PA-Ebene) des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp (Mittelwert ± Standardfehler, * p < 0,025).



Abb. 21: Enddiastolische Fläche (PA-Ebene) des Mäusekollektivs MyHC-R403Q versus Wildtyp (Mittelwert ± Standardfehler, * p < 0,025).

Beim Vergleich des Mäusekollektivs TnT-Trunk mit Wildtyp ergaben sich keine signifikanten Unterschiede, jedoch waren tendenziell in Ebene der maximalen Papillarmuskelmasse eine geringe Herzfrequenz (HF) und unmittelbar oberhalb des Apex eine geringere fraktionelle Faserverkürzung (2D FS) festzustellen (siehe Tabelle 17):

Echokardiographie, 4 Wochen nach operativem Eingriff der TnT-Trunk vs. Wildtyp:								
Messebene	HF	ESA	EDA	ESD	EDD	EDVW	EDPW	2D FS
PA-Ebene	0,078°	0,761	0,350	0,283	0,668	0,298	0,402	0,889
AP-Ebene	0,212	0,159	0,946	0,811	0,954	0,774	0,691	0,099°

Tabelle 17: P-Werte des Mäusekollektivs TnT-Trunk versus Wildtyp. Statistisch tendenzielle Unter-
schiede zwischen den Kollektiven sind durch Kreise markiert ° p < 0,1.</th>

3.4 Herzkatheteruntersuchung

Zusammenfassend sind in Tabelle 18 die Ergebnisse der Herzkatheteruntersuchung des Mäusekollektivs 2008. Hierbei wurden insgesamt 26 Tiere der Mausgruppe "operiert" (11 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 3 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 12 Tiere der Kontrollgruppe Wildtyp) und 7 Tiere der Mausgruppe "sham" (1 Tier der Mauslinie TnT-Trunk, 2 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 4 Tiere der Mauslinie Wildtyp) untersucht. Nachträglich stellte sich heraus, dass der Katheter in den ersten Messungen einen Defekt der Druckkomponente aufwies und somit ein Teil der Messergebnisse nicht verwertbar war. Von den verbliebenen 11 Tieren der Mausgruppe "operiert" (1 Tier der Mauslinie TnT-Trunk, 3 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 7 Tiere der Kontrollgruppe Wildtyp) konnten letztlich Messdaten erhoben werden. Die transgene Mauslinie MyHC-R403Q sowie die transgene Mauslinie TnT-Trunk wurden jeweils mit der Kontrollgruppe Wildtyp hinsichtlich Herzfrequenz, maximales Volumen, minimales Volumen, endsystolisches Volumen, enddiastolisches Volumen, maximaler Druck, minimaler Druck, endsystolischer Druck, enddiastolischer Druck, Schlagvolumen, Ejektionsfraktion, kardialer Auswurf, Kontraktions- und Relaxationsfähigkeit des linken Ventrikels dargestellt. Hierbei entsprach die linksventrikuläre Kontraktionsfähigkeit (+dP/dt max) der ersten Ableitung der linksventrikulären Druckänderung (+dP) nach der Zeit (dt) in der Kontraktionsphase. Analog konnte die linksventrikuläre Relaxationsfähigkeit (-dP/dt min) anhand der ersten Ableitung der linksventrikulären Druckänderung (-dP) nach der Zeit (dt) in der Relaxationsphase bestimmt werden.

Herzkatheteruntersuchung des Mäusekollektivs 2008				
Mausgenotyp	MyHC-R403Q	TnT-Trunk	Wildtyp	
n	3	1	7	
Herzfrequenz in /min	597,7 ± 9,4	438,5	556,1 ± 77,7	
Maximales Volumen (µL)	32,5 ± 9,4	10,7	23,1 ± 9,4	
Minimales Volumen (µL)	11,7 ± 8,3	5,0	9,3 ± 9,2	
Endsystolisches Volumen (µL)	12,6 ± 8,2	6,3	12,2 ± 10,4	
Enddiastolisches Volumen (µL)	27,7 ± 7,9	9,0	19,2 ± 8,9	
Maximaler Druck (mmHg)	103,0 ± 7,1	116,6	107,8 ± 13,6	
Minimaler Druck (mmHg)	-8,9 ± 2,8	5,6	-6,9 ± 1,7	
Endsystolischer Druck (mmHg)	92,4 ± 15,6	106,5	95,7 ± 21,5	
Enddiastolischer Druck (mmHg)	-3,1 ± 2,7	8,9	-2,0 ± -2,0	
Schlagvolumen (µL)	20,8 ± 9,1	5,7	13,8 ± 3,8	
Ejektionsfraktion (%)	64,3 ± 19,8	53,1	68,7 ± 30,2	
Kardialer Auswurf (μL/min)	9133,4 ± 1366,1	2484,9	7633,0 ± 2315,4	
Max. Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max) in mmHg/s	10784,2 ± 809,0	6666,0	10683,5 ± 2326,9	
Max. Erschlaffungsgechwindigkeit (dP/dt min) in mmHg/s	-9193,0 ± 1609,4	-4093,3	-10054,9 ± 1995,2	

Tabelle 18:Herzfrequenz, maximales Volumen, minimales Volumen, endsystolisches Volumen,
enddiastolisches Volumen, maximaler Druck, minimaler Druck, endsystolischer Druck,
enddiastolischer Druck, Schlagvolumen, Ejektionsfraktion, kardialer Auswurf, Kontraktions-
und Relaxationsfähigkeit des linken Ventrikels des Mäusekollektivs MyHC-R403Q, TnT-Trunk
und Wildtyp. Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben.

Bei Vergleich der gemessenen Parameter zeigte das Mäusekollektiv MyHC-R403Q versus Wildtyp keine signifikanten Unterschiede.

Die zahlenmäßig zu kleinen Vergleichsgruppen ließen keine weiteren statistischen Interpretationen zu.

3.5 Organmorphologie

Von den ursprünglich 17 Tieren der Messreihe 2007, zusammengesetzt aus 8 Tieren der Mauslinie TnT-Trunk, 5 Tieren der Mauslinie MyHC-R403Q und 4 Tieren der Kontrollgruppe Wildtyp starben während der Versuchsreihe bis zur Herzentnahme insgesamt 8 Tiere (5 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 2 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 1 Tier der Kontrollgruppe Wildtyp). Von den verbleibenden 9 Mäusen (3 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 3 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 3 Tiere der Kontrollgruppe Wildtyp) konnten Messdaten erhoben werden. Die Parameter Körpergewicht, Gewicht der Ventrikel, Gewicht der Vorhöfe und der Herz-Körpergewicht-Index (absolutes Herzgewicht in mg/Körpergewicht in g) der MyHC-R403Q, TnT-Trunk und Wildtyp Mauslinien sind mit Gegenüberstellung der Gruppen "operiert" versus "sham" in Tabelle 19 aufgezeigt:

Messreihe 2007					
Mauskollektiv	"operiert"	"sham"			
n	4	5			
Körpergewicht in g	36,10 ± 2,74	36,60 ± 6,13			
Gewicht der Ventrikel in mg	195,0 ± 20,69	183,40 ± 13,58			
Gewicht der Vorhöfe in mg	12,40 ± 5,02	15,20 ± 1,64			
Herz-Körpergewicht-Index (mg/g)	5,76 ± 0,46	5,55 ± 0,97			

Tabelle 19: Körpergewicht, Gewichte der Ventrikel, Gewichte der Vorhöfe und Herz-Körpergewicht-Index des Mäusekollektivs "operiert" versus "sham". Die Daten sind als Mittelwert ±Standardabweichung angegeben.

In der Messreihe im Jahr 2007 zeigte das Mäusekollektiv "operiert" versus "sham" keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Gewichte der Ventrikel, der Vorhöfe und des Herz-Körpergewicht- Index.

Von den ursprünglich 45 Tieren der Messreihe 2008, zusammengesetzt aus 17 Tieren der Mauslinie TnT-Trunk, 6 Tieren der Mauslinie MyHC-R403Q und 22 Tieren der Kontrollgruppe Wildtyp starben während der Versuchsreihe bis zur Herzentnahme insgesamt 12 Tiere (5 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 1 Tier der Mauslinie MyHC-R403Q

und 6 Tiere der Kontrollgruppe Wildtyp). Von den verbleibenden 33 Mäusen (12 Tiere der Mauslinie TnT-Trunk, 5 Tiere der Mauslinie MyHC-R403Q und 16 Tiere der Kontrollgruppe Wildtyp) konnten Messdaten erhoben werden. Die Parameter Körpergewicht, Gewicht der Ventrikel, Gewicht der Vorhöfe und der Herz-Körpergewicht-Index (absolutes Herzgewicht in mg/Körpergewicht in g) der MyHC-R403Q, TnT-Trunk und Wildtyp Mauslinien sind mit Gegenüberstellung der Gruppen "operiert" versus "sham" in Tabelle 20 aufgezeigt:

Messreihe 2008				
Mauskollektiv	"operiert"	"sham"		
n	26	7		
Körpergewicht in g	31,90 ± 2,25	28,70 ± 2,75		
Gewicht der Ventrikel in mg	143,90 ± 21,82	130,9 ± 15,56		
Gewicht der Vorhöfe in mg	11,10 ± 3,38**	7,30 ± 1,23 **		
Herz-Körpergewicht-Index (mg/g)	4,86 ± 0,57	4,80 ± 0,63		

Tabelle 20: Körpergewicht, Gewichte der Ventrikel, Gewichte der Vorhöfe und Herz-Körpergewicht-Index des Mäusekollektivs "operiert" versus "sham". Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert ** p < 0,01.</p>

In der Messreihe im Jahr 2008 zeigte das Mäusekollektiv "operiert" versus "sham" hoch signifikante Unterschiede bezüglich der Gewichte der Vorhöfe. Die Gewichte der Ventrikel und der Herz-Körpergewicht-Index zeigten keine signifikanten Unterschiede (siehe Tabelle 21 und Abb. 24):

Gewichtsbestimmung der Gruppe "operiert" vs. "sham"				
	Gewicht der Ventrikel in mg	Gewicht der Vorhöfe in mg	Herz-Körpergewicht- Index (mg/g)	
p-Werte	0,162	0,006**	0,949	

Tabelle 21: P-Werte der Gruppen "operiert" versus "sham". Statistisch signifikante Unterschiedezwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert ** p < 0,01.</td>



Abb. 24: Vergleich der Gewichte der Vorhöfe des Mäusekollektivs "operiert" zu "sham" (Mittelwert ± Standardfehler, ** p < 0,01).

Tabelle 22 stellt zusammenfassend den Vergleich der Gruppe TnT-Trunk und der Kontrollgruppe Wildtyp der Messreihe 2008, vier Wochen nach Operation hinsichtlich der Parameter Körpergewicht, absolutes Herzgewicht und Herz-Körpergewicht-Index dar.

Messreihe 2008				
Mauskollektiv	TnT-Trunk	Wildtyp		
n	11	12		
Körpergewicht in g	31,6 ± 2,3	32,2 ± 2,5		
Absolutes Herzgewicht in mg	143,7 ± 21,1*	164,2 ± 21,0*		
Herz-Körpergewicht-Index (mg/g)	4,5 ± 0,5*	5,1 ± 0,5*		

Tabelle 22: Körpergewicht, absolutes Herzgewicht und Herz-Körpergewicht-Index der Gruppe TnT-
Trunk versus Wildtyp. Die Daten sind als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben.
Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert *
p < 0,05.

In der Messreihe im Jahr 2008 zeigte die Gruppe TnT-Trunk versus Wildtyp signifikante Unterschiede bezüglich des absoluten Herzgewichtes und des Herz-Körpergewicht-Index (siehe Tabelle 23 und Abb. 25-26):

Gewichtsbestimmung der Gruppe TnT-Trunk vs. Wildtyp				
	Absolutes Herzgewicht	Herz-Körpergewicht- Index (mg/g)		
p-Werte	0,029*	0,016*		

Abb. 36: P-Werte der Gruppen TnT-Trunk versus Wildtyp. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven sind durch Sterne markiert * p < 0,05.



Abb. 25: Vergleich des absoluten Herzgewichts der Gruppe TnT-Trunk vs. Wildtyp (Mittelwert \pm Standardfehler, * p < 0,05).



Abb. 26: Vergleich des Herz-Körpergewicht-Index der Gruppe TnT-Trunk vs. Wildtyp (Mittelwert \pm Standardfehler, * p < 0,05).

Von den verbleibenden 9 Mäusen der Messreihe 2007 (zusammengesetzt aus 4 Tieren der Gruppe "operiert" und 5 Tieren der Gruppe "sham") zeigte das Kollektiv "operiert" bei der makroskopischen Beurteilung der linken Niere, 4 Wochen nach Teilkonstriktion, durchgehend Niereninfarkte von weniger als 15% des Parenchyms.

Dagegen zeigte das Kollektiv "operiert" der Messreihe 2008 (zusammengesetzt aus 26 Tieren der Gruppe "operiert") bei der makroskopischen Beurteilung "durchgehend komplette Niereninfarkte links". Abbildung 27 zeigt die Gegenüberstellung einer gesunden rechten Niere mit einer komplett infarzierten linken Niere nach versuchter Teilkonstriktion der versorgenden A. renalis sinistra. Die Niere ist deutlich verkleinert sowie das Parenchym verblasst.



Abb. 27: Makroskopische Begutachtung der entnommenen Nieren einer operierten TnT-Trunk Maus (Nr. 1 = rechte Nieren, Nr. 2 = linke Niere)

4. Diskussion

4.1. Einführung

Die Myokardhypertrophie ist in hohem Maße mit einer vorbestehenden arteriellen Hypertonie verbunden und gilt als ein unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse [13, 27]. Es besteht eine hochgradige Korrelation zwischen Herzhypertrophie, bereits niedrig gradiger arterieller Hypertonie und kardiovaskulärem Risiko [33]. Zusätzlich stellt die Myokardhypertrophie einen der wichtigsten Prognosefaktoren bei arterieller Hypertonie dar [27]. Faktoren, die das Ausmaß der Myokardhypertrophie bedingen, sind bisher kaum bekannt. Zur Zeit sind 13 Gene mit mehr als 450 verschiedene Mutationen, die für Proteine des Sarkomers codieren, identifiziert worden und insgesamt 60% der HCM bedingen [41, 54, 55, 58, 81, 82]. Mutationen im kardialen Troponin T Gen und im α -Myosin-Schwerkette Gen zählen hierbei mit jeweils 7-15% und 30-35% zu den häufigsten Formen [4, 54, 55, 58, 81, 82, 87]. Diese autosomal-dominant vererbten Genmutationen führen zu familiären hypertrophischen Kardiomyopathien. Mit einer Prävalenz von 0,2% stellt sie die häufigste monogenetisch vererbte kardiovaskuläre Erkrankung sowie einer der häufigsten Ursache des plötzlichen Herztodes dar [17, 35, 40, 41, 44]. Die in der Arbeit verwendeten transgenen Mauslinien mit Mutationen im Troponin T Gen sowie im α -Myosin-Schwerketten Gen führen zu hypertrophischen Kardiomyopathien [60, 61, 63] und dienen als Modell für die menschlichen Mutationen mit unterschiedlich phänotypischer Ausprägung [51, 52, 63, 67, 68, 93].

Unter Berücksichtigung der dargelegten wissenschaftlichen Erkenntnisse resultierte die Aufgabenstellung dieser Arbeit in der Charakterisierung des kardialen Phänotyps bei transgenen Mausmodellen mit Mutationen in kardialen kontraktilen Proteinen und dessen Veränderung durch arterielle Hypertonie.

4.2 Blutdruckwerte

Orientierend an Vorarbeiten von Johns et al. [102] galt ein systolischer Blutdruckwert bei Mäusen von mindestens 140 mmHg als Kriterium für eine renovaskuläre Hypertension. Das in dieser Arbeit untersuchte Mäusekollektiv in der Messreihe 2007 "operiert" versus "sham" zeigte hoch signifikante Unterschiede hinsichtlich der ermittelten systolischen Werte. Im Mäusekollektiv "operiert" wiesen bereits in der 1. Woche postoperativ 3 von 4 Tieren eine Hypertension auf. Nach Messung in der 2. – 4. Woche postoperativ erfüllten dann alle Tiere das Kriterium für einen renovaskulären Bluthochdruck. Hierbei zeigte bereits die Blutdruckbestimmung in der 1. und 2. Woche postoperativ einen stetigen Anstieg des systolischen Wertes, jedoch ließ die statistische Auswertung noch keinen Schluss auf einen signifikanten Unterschied zu. Die Blutruckmessung in der 3. und 4. Woche postoperativ zeigte im Mäusekollektiv "operiert" deutlich hypertone Werte mit einem Anstieg von > 40 mmHg mit einem hoch signifikanten Unterschied (p < 0,01). Diese Ergebnisse finden sich auch in der Arbeit von Wiesel et al. [100] und Johns et al. [102] bestätigt. Die zahlenmäßig zu kleinen Vergleichsgruppen ließen keine weiteren statistischen Interpretationen zu.

Im Jahr 2008 zeigte das betrachtete Mäusekollektiv "operiert" versus "sham" hinsichtlich der Ergebnisse der Blutdruckmessung lediglich in der 1. Woche postoperativ (p < 0,05) einen signifikanten Unterschied zum Mäusekollektiv "sham" auf. Messungen in der 2. – 4. postoperativen Woche wiesen zwar höhere Werte als in der 1. postoperativen Woche auf, doch waren diese vernachlässigbar klein. Dies bestätigte sich auch in der statistischen Auswertung, bei der kein signifikanter Unterschied in der systolischen Blutdruckbestimmung in der 2. bis einschließlich 4. Woche postoperativ erkennbar war. Diese Ergebnisse standen im Widerspruch zu den Arbeiten von Wiesel et al. und Johns et al. [100, 102]. Eine weitere abschließende Beurteilung einzelner Gruppen innerhalb des Mäusekollektivs "operiert" war auf Grund einer hohen Sterberate der Mauslinie MyHC-R403Q nicht möglich. Dennoch zeigte die Mauslinie TnT-Trunk innerhalb des operierten Kollektivs tendenziell in der 3. Woche postoperativ höhere systolische Werte. Hier zeigt die Mauslinie TnT-Trunk mit durchschnittlich 131 mmHg einen um 10 mmHg höheren Wert als die Mauslinie Wildtyp mit einem

Mittlewert von 121 mmHg keinen signifikanten Zusammenhang. Eine mögliche Hypothese für die fehlende Einstellung der renovaskulären Hypertension des Mäusekollektivs 2008 "operiert" lieferte die makroskopische Kontrolle der am Versuchsreihenende entnommenen Nieren. Dabei zeigte sich bei allen Tieren im Gegensatz zur Messreihe 2007 "operiert", ein kompletter linker Niereninfarkt im Rahmen einer wohl zu starken Stenosierung des Gefäßlumens der A. renalis sinistra. Bereits Wiesel et al. [100] beschrieb in seiner Arbeit die Ausbildung von Niereninfarkten bei zu großer Gefäßlumeneinengung. Auf Grund des kompletten Organuntergangs mit begleitender Destruktion des juxtaglomerulären Apparates, konnte sich eine renale Hypertonie durch Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) nicht mehr einstellen [103, 104]. Weiterhin kommt Angiotensin II als zusätzlicher unabhängiger Myokardhypertrophie stimulierender Faktor nach Naftilan et al. [105] und Sadoshima et al. [106] nicht in Frage. Der signifikante Unterschied zwischen dem Mäusekollektiv 2008 "operiert" und dem Mäusekollektiv "sham" in der 1. Woche postoperativ konnte durch zu diesem Zeitpunkt noch ausreichender Nierenfunktion erklärt werden.

4.3 Elektrokardiogramm

4.3.1 Transgene Mausgruppe MyHC-R403Q / TnT-Trunk versus Kontrollgruppe Wildtyp: 3 Wochen präoperativ

Ventrikuläre Arrhytmien und plötzlicher Herztod sind die schwerwiegendsten Komplikationen einer hypertrophen Kardiomyopathie [55]. Bei Vergleich der EKG-Parameter der transgenen Mauslinie MyHC-R403Q mit der Kontrollgruppe Wildtyp, 3 Wochen vor operativem Eingriff, stellten sich signifikante Unterschiede der QT-Zeit heraus. Mit einem mittleren Wert von 38,7±14,9 ms zeigte die Mauslinie MyHC-R403Q eine um 16,6 ms verlängerte QT-Zeit als die Kontrollgruppe Wildtyp mit 22,1±2,7 ms. Der Unterschied erwies sich als hoch signifikant (p=0,001). Das Ergebnis deckt sich mit Arbeiten von Berul et al., in denen ebenfalls eine signifikante QT-Zeit-Verlängerung bei MyHC-R403Q Mäusen im Vergleich zu einer Wildtyp Kontrollgruppe festgestellt wurde [107]. Auch Veröffentlichungen von Bevilacqua et al. [108] bestätigen diese Ergebnisse. Zahlreiche Studien kommen zum Ergebnis, dass die MyHC-R403Q mit verlängerten QT-Zeiten assoziiert ist [109-111]. Arbeiten von Sakata et al. [112] gehen davon aus, dass eine QT-Zeit-Verlängerung nicht nur durch rein funktionelle, sondern auch durch strukturelle Veränderungen bedingt ist. Es wird vermutet, dass die Wandhypertrophie die Aktivierungs- und Repolarisationszeit verändert und somit die QT-Zeit betreffen könnte. So postulieren Yi et al. [113], dass die myokardiale Unordnung/Dissoziation, sowie interstitielle Fibrose, zu einer inhomogenen ventrikuläre Refraktärzeit und intraventrikulären Fortleitungsstörungen mit konsekutiver QT-Zeit-Verlängerung führen.

Der Zusammenhang QT-Zeit-Verlängerung und plötzlicher Herztod wird kontrovers diskutiert. Es besteht die Annahme, dass eine QT-Verlängerung auf myokardiale Repolarisationsstörungen mit erhöhtem Risiko maligner ventrikulärer Tachyarrhythmien und plötzlichem Herztod hinweist [109, 114, 115]. So berichten Yetman et al. [115], dass eine verlängerte QT-Zeit mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko bei Kindern mit einer HCM verknüpft ist. Auch in Arbeiten von Buja et al. [109] und Miorelli et al. [114] korreliert eine QT-Zeit-Verlängerung mit dem Auftreten von ventrikulären Arrhythmien bei HCM Patienten. So untersuchte Buja et al. [109] 26 Patienten mit hypertropher Kardiomyopathie, von denen 13 Patienten bereits vorausgegangene ventrikuläre Arrhythmien in der Vorgeschichte aufwiesen. Es stellten sich hierbei signifikant verlängerte QT-Zeiten bei den HCM Patienten mit Arrhythmien im Gegensatz zu HCM Patienten ohne Arrhythmien in der Vorgeschichte heraus. Ferner besaßen bereits HCM Patienten ohne Arrhythmien im Vergleich zum gesunden Kontrollkollektiv verlängerte QT-Zeiten. Folglich stellte Buja et al. die These auf, dass die QT-Zeit ein Marker zur Identifikation von erkrankten Personen mit erhöhtem Risiko für ventrikuläre Arrhythmien und damit verbundenen plötzlichen Herztod darstellt [109]. Auch Schwartz et al. [116] kommen zu diesem Schluss.

Im Gegensatz hierzu beschrieben Yi et al. [117] in einer retrospektiven Fall-Kontrollstudie mit insgesamt 46 HCM Patienten, von denen 23 am plötzlichen Herztod verstarben und 23 Patienten ohne Ereignis überlebten, einen schwachen Zusammenhang von verlängerter QT-Zeit und dem Ereignis plötzlicher Herztod. Des

50

Weiteren kam Maron et al. [118] zu dem Ergebnis, dass eine QT-Zeit-Verlängerung kein zuverlässiger Prädiktor eines mit hypertropher Kardiomyopathie assoziierten plötzlichen Herztodes darstellt. Spirito et al. [119] zeigten, dass das Ausmaß der Hypertrophie selbst das Risiko eines plötzlichen Herztodes bestimmt und ein starker sowie unabhängiger Prädiktor für die Prognose ist.

Weiterhin ergab die Messung der PR-Zeit der Mauslinie MyHC-R403Q mit 45,1±3,2 ms im Vergleich zur Kontrollgruppe Wildtyp mit 39,9±3,4 ms der Wildtyp einen signifikanten Unterschied (p = 0,01). Berul et al. [107] stellten ebenfalls eine Verlängerung der PR-Zeit bei MyHC-R403Q Tieren fest. Dagegen ergaben Untersuchungen von McConnell et al. [120] keine Verlängerung der PR-Zeit der MyHC-R403Q-Gruppe. Bei Betrachtung der weiteren EKG Parameter wie QRS-Komplexbreite, PP-Abstand und Herzfrequenz ergaben sich keine signifikante Unterschiede zwischen der transgenen Mauslinie MyHC-R403Q und der Kontrollgruppe Wildtyp. Diese Ergebnisse sind auch bei Berul et al. [107] wiederzufinden.

Bei Vergleich der transgenen Mauslinie TnT-Trunk mit der Kontrollgruppe Wildtyp 3 Wochen vor dem operativen Eingriff, zeigten wir erstmalig, dass keine signifikanten Unterschiede bezüglich der betrachteten EKG-Parameter bestehen. Um dieses Ergebnis weiter zu verifizieren, wäre es sinnvoll, in einem neuen Versuchsansatz eine größere Gruppe von TnT-Trunk Tieren zu untersuchen.

4.3.2 Transgene Mausgruppe MyHC-R403Q / TnT-Trunk versus Kontrollgruppe Wildtyp: 4 Wochen postoperativ

Bei Vergleich der EKG Parameter der transgenen Mauslinie MyHC-R403Q mit der Kontrollgruppe Wildtyp, 4 Wochen nach dem operativen Eingriff, stellte sich ein signifikanter Unterschied in der QT-Zeit heraus. Mit einem mittleren Wert von 28,7 \pm 3,8 ms zeigte die Mauslinie MyHC-R403Q eine um 5 ms verlängerte QT-Zeit als die Kontrollgruppe Wildtyp mit 23,7 \pm 3,3 ms (p = 0,014). Da in dieser Arbeit erstmalig MyHC-R403Q Tiere mit inkompletter Ligatur der A. renalis elektrokardiographisch untersucht wurden, ist ein Vergleich mit anderen Studien nicht möglich. Die QT-Zeit-Verlängerung der MyHC-R403Q Tiere, 4 Wochen nach dem operativen Eingriff, zeigte sich entgegen der Erwartung geringer ausgeprägt als bei MyHC-R403Q Tieren, 3 Wochen vor der Gefäßligatur. Dieses Ergebnis wäre damit erklärbar, dass im Rahmen der wohl zu starken Stenosierung des Gefäßlumens mit konsekutivem komplettem Niereninfarkt die renovaskuläre Hypertension und damit verbundene gewünschte Progression der Herzhypertrophie ausblieb.

Im Gegensatz zur signifikanten PR-Zeit-Verlängerung der MyHC-R403Q Gruppe versus der Kontrollgruppe 3 Wochen präoperativ, ergab sich postoperative keine statistisch signifikant PR-Zeit-Verlängerung der MyHC-R403Q Gruppe.

Bei Vergleich der transgenen Mauslinie TnT-Trunk mit der Kontrollgruppe Wildtyp 4, Wochen nach dem operativen Eingriff, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der betrachteten EKG-Parameter ergaben. Auch hier blieb wohl auf Grund zu starker Stenosierung des Gefäßlumens die konsekutive Herzhypertrophie-Progression aus und es stellten sich daher keine pathologischen EKG Veränderungen ein.

4.4 Echokardiographie

4.4.1 Transgene Mausgruppe MyHC-R403Q / TnT-Trunk versus Kontrollgruppe Wildtyp: 3 Wochen präoperativ

In der Echokardiographie, drei Wochen vor Operation, zeigte das Mäusekollektiv MyHC-R403Q im Vergleich zum Kontrollkollektiv Wildtyp signifikante Unterschiede bei Messungen in der Ebene der *maximalen Papillarmuskelmasse (PA-Ebene)*. Die endsystolische Fläche im linken Ventrikel der Gruppe MyHC-R403Q wies mit 4,2 ± 1,1 mm² einen hoch signifikanten Unterschied (p = 0,0005) zu den Wildtyp Tieren mit 2,0 ± 0,8 mm² auf. Die gemessene enddiastolische Fläche zeigte beim Mäusekollektiv MyHC-R403Q mit 10,8 ± 1,8 mm² einen signifikanten Unterschied (p = 0,0059) zur Wildtyp Gruppe mit 7,6 ± 1,7 mm². Bei Untersuchung der endiastolischen Vorder- und Hinterwanddicke wurden, deckend mit Ergebnissen von McConnell et al. [120] keine signifkanten Unterscheide zwischen der MyHC-R403Q und Kontrollgruppe gefunden. Die Ergebnisse weisen somit bei MyHC-R403Q Tieren auf eine exzentrische Hypertrophie hin, da die MyHC-R403Q Mäuse im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant größere linke Ventrikel ohne Wandverdickung aufzeigten. Dieses Resultat deckt sich mit Arbeiten von Freeman et al. [121]. Möglicherweise beruht die exzentrische Hypertrophie auf sich entwickelnde schwere Klappenfehler [42]. Im Vergleich zur Kontrollgruppe fand Wolf et al. [122] dagegen eine signifikante höhere linksventrikuläre Wanddicke bei MyHC-R403Q Tieren. Der Wert von etwa 0,12 cm ähnelte unseren MyHC-R403Q Tieren, allerdings bestand die Kontrollgruppe aus Tieren mit einer linksventrikulären Wanddicke von nur 0,085 cm.

Die Messung der fraktionellen Faserverkürzung (2D FS) ergab unter den MyHC-R403Q Tieren mit 61,0 \pm 6,0 % einen signifikant geringeren Wert (p = 0,0047) als in der Wildtyp Gruppe mit 75,0 \pm 7,0 % und ist ein Hinweis auf eingeschränkte systolische Funktion im Vergleich zur Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse zeigen sich in der Arbeit von Freeman et al. [121] bestätigt. Versuche von Wolf et al. [122] brachten bei der transgenen Mauslinie MyHC-R403Q ähnliche fraktionelle Faserverkürzungen mit 64,3 \pm 10,9 % hervor.

Bei Messungen unmittelbar oberhalb des Apex (AP-Ebene) zeigte das Mäusekollektiv MyHC-R403Q, im Vergleich zur Kontrollkollektiv Wildtyp, ebenfalls signifikante Unterschiede. Bei Betrachtung der endsytolischen und –diastolischen Fläche im linken Ventrikel besaß die Gruppe MyHC-R403Q mit 2,5 \pm 0,7 mm² und 9,2 \pm 1,4 mm² hoch signifikante Unterschiede (p = 0,0004 und p = 0,0015) zu den Wildtyp Tieren mit 1,2 \pm 0,3 mm² und 6,1 \pm 1,4 mm². Diese Ergebnisse sprechen ebenfalls für eine Dilatation des linken Ventrikels im Rahmen einer exzentrischen Herzhypertrophie, da die Messung der enddiastolischen Vorder- und Hinterwanddicke zwischen dem Mäusekollektiv MyHC-R403Q und der Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede aufzeigte.

Tendenziell ergab sich des Weiteren für die MyHC-R403Q Gruppe mit 73,0 \pm 0,8% (p= 0,032) eine geringere fraktionelle Faserverkürzung im Vergleich zur Kontrollgruppe Wildtyp mit 80,0 \pm 0,5%, was wiederum auf eine eingeschränkte systolische Funktion

53

der transgenen Tieren hinweist. Die Messung des endsystolischen und –diastolischen Durchmessers des linken Ventrikels brachte mit 0,20 ± 0,04 cm und 0,34 ± 0,04 cm (p = 0,037 und p = 0,077) bei der MyHC-R403Q Gruppe, im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 0,16 ± 0,03 cm und 0,30 ± 0,04 cm, im Trend größere Werte hervor und gibt einen Anhaltpunkt für vergrößerte linke Ventrikel der MyHC-R403Q Gruppe. Bei Betrachtung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers konnte Freeman et al. [121], deckend mit unserem Ergebnis, eine leichte Erhöhung in der transgenen Mausline messen. Wolf et al. [122] stellte dagegen signifikant geringere linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser in den transgenen α -Myosin-Schwerketten Mäuse im Vergleich zur Kontrollgruppe fest und McConnell et al. [120] keinen signifikanten Unterschied der beiden Gruppen. Die restlichen Parameter ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen der MyHC-R403Q- und Wildtyp Gruppe.

Bei Vergleich des Mäusekollektivs TnT-Trunk mit der Kontrollgruppe Wildtyp konnten wir erstmalig zeigen, dass sich keine signifikanten Unterschiede ergaben. Bei Vergleich der TnT-Trunk Gruppe mit der Wildtyp Gruppe unmittelbar oberhalb des Apex (AP-Ebene) konnte eine Tendenz zu geringerer Wandstärke der enddiastolischen Vorderund Hinterwand erkannt werden (p = 0,061 und p = 0,034). Vorarbeiten von Maass et al. [87] und Tardiff et al. [63] wiesen bereits darauf hin, dass Tiere der Mauslinie TnT-Trunk durch eine geringere ventrikuläre Herzmasse charakterisiert sind. Nach Tardiff et al. [51] scheinen dafür zwei Mechanismen verantwortlich zu sein. Zum einen besitzen die transgenen Tiere bereits bei Geburt eine um etwa 8-10% verringerte Kardiomyozytenanzahl, begründet in zahlreichen Apoptosevorgängen und degenerierenden Myozyten. Zum anderen findet sich bei den transgenen Tieren eine verminderte absolute Herzmasse auf Grund einer um etwa 15% verminderten Kardiomyozytengröße.

54

4.4.2 Transgene Mausgruppe MyHC-R403Q / TnT-Trunk versus Kontrollgruppe Wildtyp: 4 Wochen postoperativ

In der Echokardiographie, vier Wochen nach Operation, konnten wir erstmalig zeigen, dass das Mäusekollektiv MyHC-R403Q im Vergleich zum Kontrollkollektiv Wildtyp signifikante Unterschiede bei Messungen in der Ebene der maximalen Papillarmuskelmasse (PA-Ebene) aufwies. Die endsystolische Fläche im linken Ventrikel der Gruppe MyHC-R403Q wies mit 4,4 \pm 0,5 mm² einen signifikanten Unterschied (p = 0,016) zur Wildtyp Gruppe mit 2,1 ± 1,4 mm² auf. Auch die gemessene enddiastolische Fläche zeigte beim Mäusekollektiv MyHC-R403Q mit 12,8 ± 1,6 mm² einen signifikanten Unterschied (p = 0,009) zur Wildtyp Gruppe mit 8,7 \pm 2,0 mm². Bei Untersuchung der endiastolischen Vorder- und Hinterwanddicke wurden keine signifkanten Unterschiede zwischen der MyHC-R403Q- und Kontrollgruppe gefunden. Diese Resultate weisen ebenfalls auf eine exzentrische Hypertrophie der MyHC-R403Q Gruppe hin, da die Mäuse im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant größere linke Ventrikel ohne Wandverdickung aufzeigten. Auch hier beruht möglicherweise die exzentrische Hypertrophie auf sich entwickelnde schwere Klappenfehler [42]. Eine Aggravation der exzentrischen Hypertrophie, im Vergleich zur präoperativen Messung ist nicht feststellbar.

Die Messung der fraktionellen Faserverkürzung (2D FS) brachte mit 65,0 \pm 0,0 % (p = 0,081) bei der MyHC-R403Q Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 77,0% \pm 10% im Trend kleinere Werte hervor und gibt einen Anhaltpunkt für eine verminderte systolische Funktion der MyHC-R403Q Tiere.

Des Weiteren zeigten Messungen unmittelbar *oberhalb des Apex (AP-Ebene)* bei der MyHC-R403Q Gruppe mit 10,3 \pm 1,3 mm² (p = 0,026) eine tendenziell größere enddiastolische Fläche im Vergleich zu 7,9 \pm 1,4 mm² der Kontrollgruppe. Auch die enddiastolische Ventrikelwanddicke war bei der MyHC-R403Q Gruppe mit 0,14 \pm 0,0 cm (p = 0,042) tendenziell größer als bei der Kontrollgruppe mit 0,11 \pm 0,0 cm. Dies ist ein Hinweis auf eine postoperative beginnende Hypertrophie. Die restlichen Parameter ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen der MyHC-R403Q Gruppe und der Kontrolle Wildtyp.

Bei Vergleich des Mäusekollektivs TnT-Trunk mit der Kontrollgruppe Wildtyp konnten wir erstmalig zeigen, dass keine signifikanten Unterschiede der echokardiographischen Parameter existieren. Jedoch war die unmittelbar oberhalb des Apex (AP-Ebene) gemessen fraktionelle Faserverkürzung (2D FS) der TnT-Trunk Gruppe im Trend mit 82,0 \pm 10% (p = 0,099) größer als der Kontrollgruppe Wildtyp mit 75,0 \pm 10% und zeigte eine gut erhaltene systolische Funktion.

4.5 Herzkatheteruntersuchung

Wir untersuchten erstmalig die transgenen Mauslinien MyHC-R403Q und TnT-Trunk nach Gefäßlumeneinengung der Nierenarterie auf hämodynamische Veränderungen. Aufgrund eines Katheterdefektes in den ersten Messungen war ein Teil der Messergebnisse mit konsekutiv entstehenden kleinen Vergleichsgruppen nicht verwertbar. Bei Vergleich der Gruppe MyHC-R403Q versus Kontrollgruppe Wildtyp waren keine signifikanten Unterschiede zu erkennen. Die zahlenmäßig kleinen Vergleichsgruppen ließen keine weiteren statistischen Interpretationen zu.

Bei Sichtung der bisher erschienenen Publikationen (jeweils ohne Gefäßlumeneinengung der Nierenarterie) zeigten sich unterschiedliche Resultate. Spindler et al. [123] stellte in seinen Versuchen mit MyHC-R403Q Tieren unter Inotropie eine diastolische Dysfunktion fest, die sich durch kardiale verminderte Relaxationsfähigkeit und erhöhten linksventrikulären enddiastolischen Druck äußerte. Dagegen fand er weder Anzeichen für verminderte fraktionelle Faserverkürzung, noch für verminderte linksventrikulären systolischen Druck, womit er eine systolische Dysfunktion ausschloss. McConnell et al. [120] stellte bei Vergleich einer MyHC-R403Q Gruppe mit einer Kontrollgruppe Wildtyp eine signifikant geringere Relaxationsfähigkeit der MyHC-R403Q Tiere fest, dagegen fand er keine signifikante Erhöhung des linksventrikulären enddiastolischen Drucks, letzteres zeigte auch James et al. [124]. Im Gegensatz hierzu erwähnte jedoch James et al. [124] eine signifikant erhöhten Relaxationsfähigkeit sowie zusätzlich eine signifikant erhöhte Kontraktilität. Freeman et al. [121] untersuchte die myokardiale Funktion anhand eines ex vivo Versuches mit

56

entnommenen Herzen von 6 MyHC-R403Q Tieren und 5 Wildtyp Tieren. Die transgenen Mäuse besaßen eine geringere linksventrikuläre Relaxationsfähigkeit und signifikant geringere Kontraktionsfähigkeit im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Die zahlenmäßig zu kleinen Vergleichsgruppen, TnT-Trunk versus Kontrollgruppe Wildtyp, ließen keine weiteren statistischen Interpretationen zu. Tardiff et al. [51]. untersuchte die myokardiale Funktion anhand eines ex vivo Versuches mit entnommenen Herzen von 6 TnT-Trunk Tieren und 5 Wildtyp Tieren. Durch Erhöhung der Vorlast und damit Arbeitslast besaßen die transgenen Mäuse eine verminderte kardiale Kontraktiliät und Relaxation.

4.6 Organentnahme

Bezüglich Herzkammer- und Vorhofgewichte sowie Herz-Körpergewicht-Index zeigten sich in der Messreihe 2007 keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Mausgruppe "operiert" und "sham". Dieses Ergebnis überrascht, da Wiesel et al. [100] in seinem hypertensiven Mausmodell einen signifikant höheren Herz-Körpergewicht-Index bei operierten Tieren beobachtete.

Bei Betrachtung der Messreihe 2008 ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Mausgruppe "operiert" und "sham" bezüglich Herzkammergewichte sowie Herz-Gewicht-Index, was ebenfalls in Gegensatz zu Wiesel et al. [100] steht. Jedoch zeigen die operierten Mäuse mit 11,1±3,4 mg hoch signifikant höhere Vorhofgewichte (p = 0,006) im Vergleich zur Gruppe "sham" mit 7,3 ± 1,2 mg. Das Ergebnis einer isolierten Vorhofgewichtszunahme überrascht. Der Vergleich der operierten TnT-Trunk Tiere mit den operierten Wildtyp Tieren zeigte sich erstmalig bei den transgenen Tieren signifikant geringeres absolutes Herzgewicht (p = 0,029) sowie signifikant kleinerer Herz-Körper-Gewicht-Index (p = 0,016). Dies deckt sich auch mit Ergebnissen von Maass et al. [87] und Tardiff et al. [63]. Beide kommen außerdem zum Schluss, dass das geringere absolute Herzgewicht bzw. der kleinere Herz-Körpergewicht-Index durch den Massenverlust des linken Ventrikels bewirkt werden [63, 87].

5. Zusammenfassung

Die Myokardhypertrophie ist in hohem Maß mit einer vorbestehenden bereits niedrig gradigen arteriellen Hypertonie verbunden und gilt als ein unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse [13, 27, 33]. Für die familiäre hypertrophische Kardiomyopathie sind aktuell mehr als 450 Mutationen in über 13 Genen, welche für Sarkomerproteine codieren, insbesondere im kardialen Troponin T und im α -Myosin-Schwerkette Gen bekannt [41, 54, 55, 58, 81, 82]. Die hypertrophe Kardiomyopathie ist mit einer Prävalenz von 0,2% die häufigste monogenetisch autosomal-dominant vererbte kardiovaskuläre Erkrankung und eine der häufigsten Ursachen des plötzlichen Herztodes [17, 35, 40, 41, 44]

Unter Berücksichtigung der dargelegten wissenschaftlichen Erkenntnisse resultierte die Aufgabenstellung dieser Arbeit in der Charakterisierung des kardialen Phänotyps bei transgenen Mausmodellen mit Mutationen in kardialen kontraktilen Proteinen (Troponin T und α -Myosin-Schwerkette) und dessen Veränderung durch arterielle Hypertonie (ausgelöst nach dem Goldblattmodell).

In der Zusammenschau zeigten operierte Tiere bedeutend signifikant höhere systolische Blutdruckwerte als die "sham" Gruppe (Messreihe 2007). Die MyHC-R403Q Gruppe zeigte im EKG präoperativ hoch signifikant verlängerte QT-Zeiten zur Kontrollgruppe auf. Dieses Ergebnis bestätigt, dass hypertrophe Kardiomyopathien mit einer QT-Zeit-Verlängerung assoziiert sind. Die MyHC-R403Q Tiere zeigten vier Wochen postoperativ im EKG ebenfalls eine signifikant verlängerte QT-Zeit, jedoch geringeren Ausmaßes, was vermutlich an einer zu starken Stenosierung des Gefäßlumens der Niere mit konsekutiven Niereninfarkt lag. Weiterhin wies diese Mauslinie präoperativ in der Echokardiographie signifikant größere linke Ventrikel ohne Wandverdickung auf. Man kann dies als Hinweis auf eine exzentrische Hypertrophie betrachten, postoperativ konnte allerdings keine Veränderung nachgewiesen werden. Möglicherweise beruht die exzentrische Hypertrophie auf sich entwickelnde schwere Klappenfehler. Eine eingeschränkte systolische Funktion der MyHC-R403Q Tiere konnte durch eine geringere fraktionelle Faserverkürzung prä- und postoperativ zur Kontrollgruppe festgestellt werden sowie zusätzlich eine Tendenz zur postoperativen links-ventrikulären Hypertrophie.

Die TnT-Trunk Gruppe zeigte präoperativ eine Tendenz zu geringeren linksventrikulären Wanddicken im Vergleich zur Kontrollgruppe als Hinweis auf eine geringere Herzmasse sowie signifikant geringere absolute Herzgewichte. Im Trend wiesen postoperativ TnT-Trunk Tiere eine auffallend gut erhaltene systolische Funktion auf.

Zusammenfassend scheint die MyHC-R403Q Mutation im Vergleich zur TnT-Trunk Mutation eine bedeutendere Rolle für die Ausprägung einer hypertrophen Kardiomyopathie einzunehmen, wobei die geringere Fallzahl berücksichtigt werden sollte. Hierbei sollten sich weitere Studien mit größeren Fallzahlen anschließen, mit dem Ziel einer Risikostratifizierung in der klinischen Anwendung. Auf diese Weise wäre auch für Hochrisikopatienten ein frühzeitiger Therapiebeginn möglich.

6. Literaturverzeichnis

- [1] Zak R. Growth of the Heart in Health and Disease. 480 edn. New York: Raven Press; 1984.
- [2] Soonpaa MH, Kim KK, Pajak L, Franklin M, Field LJ. Cardiomyocyte DNA synthesis and binucleation during murine development. Am J Physiol 1996;271:H2183-H2189.
- [3] McMullen JR, Jennings GL. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. Clin Exp Pharmacol Physiol 2007;34:255-62.
- [4] Herold G. Innere Medizin. 2006 edn. Köln: Gerd Herold; 2006: 193.
- [5] Wilkins BJ, Molkentin JD. Calcineurin and cardiac hypertrophy: where have we been? Where are we going? J Physiol 2002;541:1-8.
- [6] Frey N, Olson EN. Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly. Annu Rev Physiol 2003;65:45-79.
- [7] Olson EN, Molkentin JD. Prevention of cardiac hypertrophy by calcineurin inhibition: hope or hype? Circ Res 1999;84:623-32.
- [8] Kannel WB. Role of blood pressure in cardiovascular morbidity and mortality. Prog Cardiovasc Dis 1974;17:5-24.
- [9] Seidman JG, Seidman C. The genetic basis for cardiomyopathy: from mutation identification to mechanistic paradigms. Cell 2001;104:557-67.
- [10] Levy D, Anderson KM, Savage DD, Kannel WB, Christiansen JC, Castelli WP. Echocardiographically detected left ventricular hypertrophy: prevalence and risk factors. The Framingham Heart Study. Ann Intern Med 1988;108:7-13.
- [11] Huppelsberg J, Walter K. Kurzlehrbuch Physiologie. 1. Auflage edn. Stuttgart; New York: Georg Thieme Verlag; 2003: 61.
- [12] Lohr M. GK2 Original-Prüfungsfragen mit Kommentar Pathophysiologie Pathobiochemie. 12. Auflage edn. Stuttgart; New York: Georg Thieme Verlag; 2001: 206-207.
- [13] Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. N Engl J Med 1990;322:1561-6.
- [14] Weimann A, Engel I. GK2 Original-Prüfungsfragen mit Kommentar Allgemeine Pathologie. 14. Auflage edn. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2001: 220-221.
- [15] Post WS, Larson MG, Myers RH, Galderisi M, Levy D. Heritability of left ventricular mass: the Framingham Heart Study. Hypertension 1997;30:1025-8.

- [16] Swan L, Birnie DH, Padmanabhan S, Inglis G, Connell JM, Hillis WS. The genetic determination of left ventricular mass in healthy adults. Eur Heart J 2003;24:577-82.
- [17] Marian AJ, Roberts R. The molecular genetic basis for hypertrophic cardiomyopathy. J Mol Cell Cardiol 2001;33:655-70.
- [18] Classen M, Diehl V, Kochsiek K, Berdel WE, Böhm M, Schmiegel W. Innere Medizin. 5. Auflage edn. München; Jena: Urban&Fischer; 2004: 211-213.
- [19] Levy D. Left ventricular hypertrophy. Epidemiological insights from the Framingham Heart Study. Drugs 1988;35 Suppl 5:1-5.
- [20] Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Left ventricular mass and incidence of coronary heart disease in an elderly cohort. The Framingham Heart Study. Ann Intern Med 1989;110:101-7.
- [21] Kannel WB. Left ventricular hypertrophy as a risk factor: the Framingham experience. J Hypertens Suppl 1991;9:S3-S8.
- [22] Vasan RS, Larson MG, Levy D, Evans JC, Benjamin EJ. Distribution and categorization of echocardiographic measurements in relation to reference limits: the Framingham Heart Study: formulation of a height- and sex-specific classification and its prospective validation. Circulation 1997;96:1863-73.
- [23] Casale PN, Devereux RB, Milner M, et al. Value of echocardiographic measurement of left ventricular mass in predicting cardiovascular morbid events in hypertensive men. Ann Intern Med 1986;105:173-8.
- [24] Koren MJ, Ulin RJ, Koren AT, Laragh JH, Devereux RB. Left ventricular mass change during treatment and outcome in patients with essential hypertension. Am J Hypertens 2002;15:1021-8.
- [25] Verdecchia P, Porcellati C, Schillaci G, et al. Ambulatory blood pressure. An independent predictor of prognosis in essential hypertension. Hypertension 1994;24:793-801.
- [26] Verdecchia P, Schillaci G, Borgioni C, et al. Prognostic significance of serial changes in left ventricular mass in essential hypertension. Circulation 1998;97:48-54.
- [27] Verdecchia P, Carini G, Circo A, et al. Left ventricular mass and cardiovascular morbidity in essential hypertension: the MAVI study. J Am Coll Cardiol 2001;38:1829-35.
- [28] de SG, Verdecchia P, Pede S, Gorini M, Maggioni AP. Prognosis of inappropriate left ventricular mass in hypertension: the MAVI Study. Hypertension 2002;40:470-6.
- [29] Palmieri V, de SG, Roman MJ, Schwartz JE, Pickering TG, Devereux RB. Ambulatory blood pressure and metabolic abnormalities in hypertensive subjects with inappropriately high left ventricular mass. Hypertension 1999;34:1032-40.

- [30] Celentano A, Palmieri V, Esposito ND, et al. Inappropriate left ventricular mass in normotensive and hypertensive patients. Am J Cardiol 2001;87:361-3, A10.
- [31] Palmieri V, Wachtell K, Gerdts E, et al. Left ventricular function and hemodynamic features of inappropriate left ventricular hypertrophy in patients with systemic hypertension: the LIFE study. Am Heart J 2001;141:784-91.
- [32] de SG, Palmieri V, Koren MJ, Mensah GA, Roman MJ, Devereux RB. Prognostic implications of the compensatory nature of left ventricular mass in arterial hypertension. J Hypertens 2001;19:119-25.
- [33] Schillaci G, Verdecchia P, Porcellati C, Cuccurullo O, Cosco C, Perticone F. Continuous relation between left ventricular mass and cardiovascular risk in essential hypertension. Hypertension 2000;35:580-6.
- [34] Hughes SE, McKenna WJ. New insights into the pathology of inherited cardiomyopathy. Heart 2005;91:257-64.
- [35] Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, et al. Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th Edition edn. New York: McGraw-Hill Professional; 2008: 1481, 1484.
- [36] Maron BJ, McKenna WJ, Danielson GK, et al. American College of Cardiology/European Society of Cardiology clinical expert consensus document on hypertrophic cardiomyopathy. A report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol 2003;42:1687-713.
- [37] TEARE D. Asymmetrical hypertrophy of the heart in young adults. Br Heart J 1958;20:1-8.
- [38] Clark CE, Henry WL, Epstein SE. Familial prevalence and genetic transmission of idiopathic hypertrophic subaortic stenosis. N Engl J Med 1973;289:709-14.
- [39] van Dorp WG, ten Cate FJ, Vletter WB, Dohmen H, Roelandt J. Familial prevalence of asymmetric septal hypertrophy. Eur J Cardiol 1976;4:349-57.
- [40] Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, Gidding SS, Kurosaki TT, Bild DE. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. Circulation 1995;92:785-9.
- [41] Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. JAMA 2002;287:1308-20.
- [42] Maass A, Leinwand LA. Animal models of hypertrophic cardiomyopathy. Curr Opin Cardiol 2000;15:189-96.
- [43] Maron BJ, Shirani J, Poliac LC, Mathenge R, Roberts WC, Mueller FO. Sudden death in young competitive athletes. Clinical, demographic, and pathological profiles. JAMA 1996;276:199-204.

- [44] Maron BJ, Roberts WC, Epstein SE. Sudden death in hypertrophic cardiomyopathy: a profile of 78 patients. Circulation 1982;65:1388-94.
- [45] Maron BJ. Sudden death in young athletes. N Engl J Med 2003;349:1064-75.
- [46] Maron BJ, Roberts WC, McAllister HA, Rosing DR, Epstein SE. Sudden death in young athletes. Circulation 1980;62:218-29.
- [47] Maron BJ, Epstein SE, Roberts WC. Hypertrophic cardiomyopathy: a common cause of sudden death in the young competitive athlete. Eur Heart J 1983;4 Suppl F:135-44.
- [48] Spirito P, Maron BJ. Relation between extent of left ventricular hypertrophy and occurrence of sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol 1990;15:1521-6.
- [49] Ly HQ, Greiss I, Talakic M, et al. Sudden death and hypertrophic cardiomyopathy: a review. Can J Cardiol 2005;21:441-8.
- [50] Campbell NA. Biologie. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akademischer Verlag; 1997: 1141, 1143.
- [51] Tardiff JC, Factor SM, Tompkins BD, et al. A truncated cardiac troponin T molecule in transgenic mice suggests multiple cellular mechanisms for familial hypertrophic cardiomyopathy. J Clin Invest 1998;101:2800-11.
- [52] Marian AJ, Roberts R. Recent advances in the molecular genetics of hypertrophic cardiomyopathy. Circulation 1995;92:1336-47.
- [53] Thierfelder L, Watkins H, MacRae C, et al. Alpha-tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of the sarcomere. Cell 1994;77:701-12.
- [54] Richard P, Charron P, Carrier L, et al. Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. Circulation 2003;107:2227-32.
- [55] Alcalai R, Seidman JG, Seidman CE. Genetic basis of hypertrophic cardiomyopathy: from bench to the clinics. J Cardiovasc Electrophysiol 2008;19:104-10.
- [56] Maron BJ, Nichols PF, III, Pickle LW, Wesley YE, Mulvihill JJ. Patterns of inheritance in hypertrophic cardiomyopathy: assessment by M-mode and two-dimensional echocardiography. Am J Cardiol 1984;53:1087-94.
- [57] Watkins H, McKenna WJ, Thierfelder L, et al. Mutations in the genes for cardiac troponin T and alpha-tropomyosin in hypertrophic cardiomyopathy. N Engl J Med 1995;332:1058-64.
- [58] Bonne G, Carrier L, Richard P, Hainque B, Schwartz K. Familial hypertrophic cardiomyopathy: from mutations to functional defects. Circ Res 1998;83:580-93.

- [59] Maass AH, Leinwand LA. Mechanisms of the pathogenesis of troponin T-based familial hypertrophic cardiomyopathy. Trends Cardiovasc Med 2003;13:232-7.
- [60] Geisterfer-Lowrance AA, Christe M, Conner DA, et al. A mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. Science 1996;272:731-4.
- [61] Marian AJ, Wu Y, Lim DS, et al. A transgenic rabbit model for human hypertrophic cardiomyopathy. J Clin Invest 1999;104:1683-92.
- [62] Yang Q, Sanbe A, Osinska H, Hewett TE, Klevitsky R, Robbins J. A mouse model of myosin binding protein C human familial hypertrophic cardiomyopathy. J Clin Invest 1998;102:1292-300.
- [63] Tardiff JC, Hewett TE, Palmer BM, et al. Cardiac troponin T mutations result in allelespecific phenotypes in a mouse model for hypertrophic cardiomyopathy. J Clin Invest 1999;104:469-81.
- [64] Van Driest SL, Ommen SR, Tajik AJ, Gersh BJ, Ackerman MJ. Yield of genetic testing in hypertrophic cardiomyopathy. Mayo Clin Proc 2005;80:739-44.
- [65] Arad M, Maron BJ, Gorham JM, et al. Glycogen storage diseases presenting as hypertrophic cardiomyopathy. N Engl J Med 2005;352:362-72.
- [66] Arad M, Moskowitz IP, Patel VV, et al. Transgenic mice overexpressing mutant PRKAG2 define the cause of Wolff-Parkinson-White syndrome in glycogen storage cardiomyopathy. Circulation 2003;107:2850-6.
- [67] Brito D, Richard P, Isnard R, Pipa J, Komajda M, Madeira H. Familial hypertrophic cardiomyopathy: the same mutation, different prognosis. Comparison of two families with a long follow-up. Rev Port Cardiol 2003;22:1445-61.
- [68] Arad M, Seidman JG, Seidman CE. Phenotypic diversity in hypertrophic cardiomyopathy. Hum Mol Genet 2002;11:2499-506.
- [69] Mohiddin SA, Begley DA, McLam E, et al. Utility of genetic screening in hypertrophic cardiomyopathy: prevalence and significance of novel and double (homozygous and heterozygous) beta-myosin mutations. Genet Test 2003;7:21-7.
- [70] Ho CY, Lever HM, DeSanctis R, Farver CF, Seidman JG, Seidman CE. Homozygous mutation in cardiac troponin T: implications for hypertrophic cardiomyopathy. Circulation 2000;102:1950-5.
- [71] Lekanne Deprez RH, Muurling-Vlietman JJ, Hruda J, et al. Two cases of severe neonatal hypertrophic cardiomyopathy caused by compound heterozygous mutations in the MYBPC3 gene. J Med Genet 2006;43:829-32.
- [72] Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 7. Edition edn. New York: McGraw-Hill; 1995.
- [73] Hengstenberg C, Schwartz K. Molecular genetics of familial hypertrophic cardiomyopathy. J Mol Cell Cardiol 1994;26:3-10.

- [74] Watkins H, Rosenzweig A, Hwang DS, et al. Characteristics and prognostic implications of myosin missense mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy. N Engl J Med 1992;326:1108-14.
- [75] Anan R, Greve G, Thierfelder L, et al. Prognostic implications of novel beta cardiac myosin heavy chain gene mutations that cause familial hypertrophic cardiomyopathy. J Clin Invest 1994;93:280-5.
- [76] Epstein ND, Cohn GM, Cyran F, Fananapazir L. Differences in clinical expression of hypertrophic cardiomyopathy associated with two distinct mutations in the betamyosin heavy chain gene. A 908Leu----Val mutation and a 403Arg----Gln mutation. Circulation 1992;86:345-52.
- [77] Matsuoka R, Yoshida MC, Kanda N, Kimura M, Ozasa H, Takao A. Human cardiac myosin heavy chain gene mapped within chromosome region 14q11.2----q13. Am J Med Genet 1989;32:279-84.
- [78] Jaenicke T, Diederich KW, Haas W, et al. The complete sequence of the human betamyosin heavy chain gene and a comparative analysis of its product. Genomics 1990;8:194-206.
- [79] Swynghedauw B. Developmental and functional adaptation of contractile proteins in cardiac and skeletal muscles. Physiol Rev 1986;66:710-71.
- [80] Mercadier JJ, Bouveret P, Gorza L, et al. Myosin isoenzymes in normal and hypertrophied human ventricular myocardium. Circ Res 1983;53:52-62.
- [81] Lyons GE, Schiaffino S, Sassoon D, Barton P, Buckingham M. Developmental regulation of myosin gene expression in mouse cardiac muscle. J Cell Biol 1990;111:2427-36.
- [82] Ng WA, Grupp IL, Subramaniam A, Robbins J. Cardiac myosin heavy chain mRNA expression and myocardial function in the mouse heart. Circ Res 1991;68:1742-50.
- [83] Vikstrom KL, Factor SM, Leinwand LA. Mice expressing mutant myosin heavy chains are a model for familial hypertrophic cardiomyopathy. Mol Med 1996;2:556-67.
- [84] Rayment I, Holden HM, Whittaker M, et al. Structure of the actin-myosin complex and its implications for muscle contraction. Science 1993;261:58-65.
- [85] Klues HG, Schiffers A, Maron BJ. Phenotypic spectrum and patterns of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy: morphologic observations and significance as assessed by two-dimensional echocardiography in 600 patients. J Am Coll Cardiol 1995;26:1699-708.
- [86] Townsend PJ, Farza H, MacGeoch C, et al. Human cardiac troponin T: identification of fetal isoforms and assignment of the TNNT2 locus to chromosome 1q. Genomics 1994;21:311-6.
- [87] Maass AH, Ikeda K, Oberdorf-Maass S, Maier SK, Leinwand LA. Hypertrophy, fibrosis, and sudden cardiac death in response to pathological stimuli in mice with mutations in cardiac troponin T. Circulation 2004;110:2102-9.

- [88] Zot AS, Potter JD. Structural aspects of troponin-tropomyosin regulation of skeletal muscle contraction. Annu Rev Biophys Biophys Chem 1987;16:535-59.
- [89] Moolman JC, Corfield VA, Posen B, et al. Sudden death due to troponin T mutations. J Am Coll Cardiol 1997;29:549-55.
- [90] Forissier JF, Carrier L, Farza H, et al. Codon 102 of the cardiac troponin T gene is a putative hot spot for mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy. Circulation 1996;94:3069-73.
- [91] Genetics Home Reference. Splice-site mutation. http://ghr.nlm.nih.gov/glossary =splicesitemutation. 2010.
- [92] Talerico M, Berget SM. Effect of 5' splice site mutations on splicing of the preceding intron. Mol Cell Biol 1990;10:6299-305.
- [93] Oberst L, Zhao G, Park JT, et al. Dominant-negative effect of a mutant cardiac troponin T on cardiac structure and function in transgenic mice. J Clin Invest 1998;102:1498-505.
- [94] Green MR. Pre-mRNA splicing. Annu Rev Genet 1986;20:671-708.
- [95] Robberson BL, Cote GJ, Berget SM. Exon definition may facilitate splice site selection in RNAs with multiple exons. Mol Cell Biol 1990;10:84-94.
- [96] Ishii Y, Lehrer SS. Two-site attachment of troponin to pyrene-labeled tropomyosin. J Biol Chem 1991;266:6894-903.
- [97] Watkins H, Seidman CE, Seidman JG, Feng HS, Sweeney HL. Expression and functional assessment of a truncated cardiac troponin T that causes hypertrophic cardiomyopathy. Evidence for a dominant negative action. J Clin Invest 1996;98:2456-61.
- [98] Varnava AM, Elliott PM, Baboonian C, Davison F, Davies MJ, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy: histopathological features of sudden death in cardiac troponin T disease. Circulation 2001;104:1380-4.
- [99] Field LJ, Gross KW. Ren-1 and Ren-2 loci are expressed in mouse kidney. Proc Natl Acad Sci U S A 1985;82:6196-200.
- [100] Wiesel P, Mazzolai L, Nussberger J, Pedrazzini T. Two-kidney, one clip and one-kidney, one clip hypertension in mice. Hypertension 1997;29:1025-30.
- [101] Bunag RD, Teravainen TL. Tail-cuff detection of systolic hypertension in different strains of ageing rats. Mech Ageing Dev 1991;59:197-213.
- [102] Johns C, Gavras I, Handy DE, Salomao A, Gavras H. Models of experimental hypertension in mice. Hypertension 1996;28:1064-9.
- [103] Lüllmann-Rauch R. Histologie Verstehen-Lernen-Nachschlagen. 1. Auflage edn. Stuttgart; New York: Georg Thieme Verlag; 2003: 394.

- [104] Reid IA, Morris BJ, Ganong WF. The renin-angiotensin system. Annu Rev Physiol 1978;40:377-410.
- [105] Naftilan AJ. The role of angiotensin II in vascular smooth muscle cell growth. J Cardiovasc Pharmacol 1992;20 Suppl 1:S37-S40.
- [106] Sadoshima J, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin II--induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT1 receptor subtype. Circ Res 1993;73:413-23.
- [107] Berul CI, Christe ME, Aronovitz MJ, Seidman CE, Seidman JG, Mendelsohn ME. Electrophysiological abnormalities and arrhythmias in alpha MHC mutant familial hypertrophic cardiomyopathy mice. J Clin Invest 1997;99:570-6.
- [108] Bevilacqua LM, Maguire CT, Seidman JG, Seidman CE, Berul CI. QT dispersion in alphamyosin heavy-chain familial hypertrophic cardiomyopathy mice. Pediatr Res 1999;45:643-7.
- [109] Buja G, Miorelli M, Turrini P, Melacini P, Nava A. Comparison of QT dispersion in hypertrophic cardiomyopathy between patients with and without ventricular arrhythmias and sudden death. Am J Cardiol 1993;72:973-6.
- [110] Dritsas A, Sbarouni E, Gilligan D, Nihoyannopoulos P, Oakley CM. QT-interval abnormalities in hypertrophic cardiomyopathy. Clin Cardiol 1992;15:739-42.
- [111] Zaidi M, Robert A, Fesler R, Derwael C, Brohet C. Dispersion of ventricular repolarization in hypertrophic cardiomyopathy. J Electrocardiol 1996;29 Suppl:89-94.
- [112] Sakata K, Shimizu M, Ino H, et al. QT dispersion and left ventricular morphology in patients with hypertrophic cardiomyopathy. Heart 2003;89:882-6.
- [113] Yi G, Elliott P, McKenna WJ, et al. QT dispersion and risk factors for sudden cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. Am J Cardiol 1998;82:1514-9.
- [114] Miorelli M, Buja G, Melacini P, Fasoli G, Nava A. QT-interval variability in hypertrophic cardiomyopathy patients with cardiac arrest. Int J Cardiol 1994;45:121-7.
- [115] Yetman AT, Hamilton RM, Benson LN, McCrindle BW. Long-term outcome and prognostic determinants in children with hypertrophic cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol 1998;32:1943-50.
- [116] Schwartz PJ, Wolf S. QT interval prolongation as predictor of sudden death in patients with myocardial infarction. Circulation 1978;57:1074-7.
- [117] Yi G, Poloniecki J, Dickie S, Elliott PM, Malik M, McKenna WJ. Is QT dispersion associated with sudden cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy? Ann Noninvasive Electrocardiol 2001;6:209-15.
- [118] Maron BJ, Leyhe MJ, III, Casey SA, et al. Assessment of QT dispersion as a prognostic marker for sudden death in a regional nonreferred hypertrophic cardiomyopathy cohort. Am J Cardiol 2001;87:114-5, A9.
- [119] Spirito P, Bellone P, Harris KM, Bernabo P, Bruzzi P, Maron BJ. Magnitude of left ventricular hypertrophy and risk of sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. N Engl J Med 2000;342:1778-85.
- [120] McConnell BK, Fatkin D, Semsarian C, et al. Comparison of two murine models of familial hypertrophic cardiomyopathy. Circ Res 2001;88:383-9.
- [121] Freeman K, Colon-Rivera C, Olsson MC, et al. Progression from hypertrophic to dilated cardiomyopathy in mice that express a mutant myosin transgene. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001;280:H151-H159.
- [122] Wolf CM, Moskowitz IP, Arno S, et al. Somatic events modify hypertrophic cardiomyopathy pathology and link hypertrophy to arrhythmia. Proc Natl Acad Sci U S A 2005;102:18123-8.
- [123] Spindler M, Saupe KW, Christe ME, et al. Diastolic dysfunction and altered energetics in the alphaMHC403/+ mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. J Clin Invest 1998;101:1775-83.
- [124] James JF, Hewett TE, Robbins J. Cardiac physiology in transgenic mice. Circ Res 1998;82:407-15.

7. Anhang

7.1 Liste der verwendeten Abkürzungen

Mutation in der α -Myosin-Schwerkette

TnT-Trunk

Mutation im kardialen Troponin T

7.2 Verwendete Chemikalien und molekularbiologische Produkte

Chemikalien	Тур	Hersteller/Lieferant
2,2,2 - Tribromethanol 97%	Cat.: T4,840-2	Sigma-Aldrich, Taufkirchen
Isoamylalkohol 98%	Cat.:W20,571-0-K	SAFC, Hamburg
NaCl 0,9% und 15%		Braun, Melsungen
Isofluran	6%	Dräger, Lübeck
Sauerstoff	GA 201	Linde Gas GmbH, Stadl-Paura
Pilca Enthaarungsmousse		GlaxoSmithKline Consumer
		Healthcare, Bühl

7.3 Verwendete Geräte und Einmalartikel

Geräteart	Modellbezeichnung	Hersteller/Lieferant
Heizplatte, 24 V, 37 W	EHE-3501/140	Föhr Medical Instruments
		GmbH, Seeheim-Ober
		Beerbach
Temperatur-Kontroll-Modul	TKM-0902	Föhr Medical Instruments
		GmbH, Seeheim-Ober
		Beerbach
Druck-Volumen	MPVS Ultra	Millar Intruments Inc., USA
Aufzeichnungs-gerät		
Stereo Mikroskop	SZ 40	Olympus, Hamburg
Blutdruckmessgerät	NIBP Controller ML125	ADInstruments, Australien
Verstärker	Animal Bio Amplifier ML136	ADInstruments, Australien
Datenerfassungsgerät	PowerLab/4SP	ADInstruments, Australien
Kunststofftunnel	ML5016	ADInstruments, Australien
Analysewaage	TE 214S	Sartorius, Göttingen

Herzkatheter	SPR-839, Länge 3cm, Size 1,4F	Millar Intruments Inc., USA
Respirator	Rodent Ventilator, Typ 7025	UGO Basile, Italien
Verdampfer	Vapor 2000	Dräger, Lübeck
Kaltlicht	KL 1500 LCD	Schott AG, Mainz
Notebook	Dell	Dell, Deutschland
Vortex	Vortex-Genie 2	Scientific Industries, USA
Schermaschine	GT104	Aesculap AG, Tuttlingen
Digitalkamera	Coolpix 450	Nikon
Präparationsbesteck		Aesculap, Tuttlingen
Einmalartikel		
Polyethylen-Faser Faden	Fireline 0,12 mm	Berkley, USA
Nahtmaterial	Prolene USP 6/0, metric 0,7	Ethicon, Norderstedt
Nahtmaterial	Perma-Hand*Seide USP 8/0,	Ethicon, Norderstedt
	metric 0,4	
Nahtmaterial	Perma-Hand*Seide 6-0	Ethicon, Norderstedt
Nathmaterial	USP 8/0, metric 0,4	Vömel, Kronberg
Verweilkanüle	G 22-1 blau	Braun, Melsungen
Nervnadeln	Länge 021, Größe 460	Antaeos, München
Einmalspritze	Mikroliterspritze	Hamilton, Schweiz
Einmal-Feindosierungsspritze	Omnifix-F 1ml	Braun, Melsungen
Röhrchen	Volumen 14ml	Greiner Holding AG,
		Österreich
Klebeband	Micropore	3M, Neuss
Desinfektionsspray	Cutasept F	Bode Chemie, Hamburg
Desinfektionsspray	Kodan	Schülke & Mayr, Norderstedt
Watte	Pur-Zellin 4cm x 5cm	Hartmann, Heidenheim
Plastikbehälter		
Klemme	Wundrandklemme	
Nierenschale	Edelstahl, 25cm	Brinkmann Med.Dr.Jungh,
		Deutschland

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn **Dr. med. A. Maass** und Herrn **Priv.-Doz. Dr. med. S. Maier** für die Überantwortung des vielschichtigen Themas sowie die Möglichkeit zum selbstständigen Experimentieren.

Des Weiteren danke ich sehr meinem Betreuer Herrn **Priv.-Doz. Dr. med. Sebastian Maier** für seine umfassende wissenschaftliche und sehr freundliche Betreuung sowie seine wertvolle Hilfe bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau **Dr. med. Susann Kaufmann** für ihre Unterstützung bei der statistischen Ausarbeitung, ihren sehr hilfreichen Tipps und auch Aufmunterungen bedanken.

Auch danke ich sehr herzlich Herrn **Marco Abeßer**, mittlerweile Mitarbeiter des Lehrstuhls für Physiologie I in Würzburg. Sein außerordentlicher Sachverstand, nicht nur im technischen Bereich, sowie seine allzeitige Hilfsbereitschaft waren für mich unverzichtbar und hatten einen maßgeblichen Anteil für das zügige Gelingen meiner experimentellen Arbeit.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn **Dr. med. Kai Hu** für seine Hilfe bei der Auswertung der hämodynamischen Parameter.

Für die gute, humorvolle Atmosphäre und ständige Hilfsbereitschaft bedanke ich mich bei den Mitarbeitern im kardiologischen Labor des Universitätsklinikums Würzburg, vor allem bei Frau **Jenny Muck**, **Frau Charlotte Dienesch** sowie **Frau Barbara Bayer**.

Auch möchte ich mich bei meinem **Bruder**, meinen **Eltern** und meiner **Freundin** bedanken, die für mich während des Zeitraums meiner Doktorarbeit ein großer Rückhalt waren.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name, Vorname:	Schmid, Eric
Geburtsdatum, -ort:	28. Juni 1982, Würzburg

Hochschulausbildung:

Okt. 2003 bis vor. Apr./Mai 2010

Studium der Humanmedizin an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Facharztausbildung:

Seit 1. August 2010

Assistenzarzt im Institut für Röntgendiagnostik im Universitätsklinikum Würzburg

Eric Schmid