

Aus der medizinischen Klinik m. S.
Kardiologie, Angiologie und Pneumologie
der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Applikation von rekombinantem humanem Relaxin
bei Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Julia Maren Böhmer

aus Berlin

Gutachter/in: 1. Priv.-Doz. Dr. med. Th. Dschietzig
 2. Prof. Dr. med. S. Felix
 3. Priv.-Doz. Dr. med. C. Opitz

Datum der Promotion: 03.09.2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung
1.1	Herzinsuffizienz
1.1.1	Epidemiologie
1.1.2	Definition und Klassifikation der Herzinsuffizienz
1.1.3	Pathophysiologie der Herzinsuffizienz
1.1.3.1	Veränderungen neurohumoraler Systeme
1.1.3.2	Funktionelle Veränderung des Herzens
1.1.3.3	Strukturelle Veränderung des Herzens
1.2	Das Peptidhormon Relaxin
1.2.1	Geschichte
1.2.2	Aufbau
1.2.3	Klassifikation
1.2.4	Zirkulierende Relaxin-Spiegel
1.2.5	Synthese und Genexpression
1.2.6	Signaltransduktion
1.2.7	Biologische Effekte von Relaxin
2	Material und Methoden
2.1	Studiendesign
2.2	Patientenkollektiv
2.2.1	Einschlusskriterien
2.2.2	Ausschlusskriterien
2.2.3	Studienpatienten

- 2.3 Prozeduren
 - 2.3.1 Voruntersuchung und Aufnahme
 - 2.3.2 Hämodynamische Parameter
 - 2.3.3 Neurohormonale Messungen
 - 2.3.4 Sicherheitsmessungen
 - 2.3.4.1 Unerwünschte Ereignisse
 - 2.3.4.2 Vitalparameter
 - 2.3.4.3 Körperliche Untersuchung
 - 2.3.4.4 EKG
 - 2.3.4.5 Laboruntersuchungen
 - 2.3.4.6 Telefonische Befragung

- 2.4 Instrumentation und Blutprobenentnahme
 - 2.4.1 Rechtsherzkatheter
 - 2.4.2 Arterielle Katheterisierung
 - 2.4.3 Periphervenöse Verweilkanüle

- 2.5 rekombinantes Relaxin

- 2.6 Statistische Auswertung

3 Ergebnisse

- 3.1 Studienpatienten
 - 3.1.1 Patienten und Protokoll
 - 3.1.2 Demographie

- 3.2 Studienprozeduren
 - 3.2.1 Voruntersuchung und Aufnahme
 - 3.2.1.1 Hämodynamik bei Aufnahme
 - 3.2.1.2 Komedikation

3.2.2	Rlx-Infusion
3.2.2.1	Hämodynamik
3.2.2.1.1	CI
3.2.2.1.2	PCWP
3.2.2.1.3	SVR
3.2.2.1.4	SBP
3.2.2.1.5	HR
3.2.2.1.6	RAP, PVR
3.2.2.2	Renale Parameter
3.2.2.3	NT pro BNP
3.2.2.4	Unerwünschte Ereignisse

4 Diskussion

4.1	Relaxin- „neuer“ Mediator der Herzinsuffizienz
4.2	Anwendung von Rlx bei kompensierter Herzinsuffizienz
4.2.1	Studienziele und Ergebnisse
4.2.1.1	Effekte von Rlx auf die hämodynamischen Parameter
4.2.1.2	Effekte von Rlx auf die renalen Parameter
4.3	Limitationen
4.4	Aussichten

5 Zusammenfassung

6 Abkürzungsverzeichnis

7 Literaturverzeichnis

8 Lebenslauf

9 Danksagung

1 Einleitung

Die chronische kongestive Herzinsuffizienz ist vor allem in den Industrieländern ein wachsendes medizinisches Problem. Sie ist mit ihrer altersabhängigen Prävalenz und Inzidenz eine der häufigsten internistischen Krankheiten (Lip und Gibbs, 2000). Das klinische Syndrom ist dadurch gekennzeichnet, dass das Herz aufgrund unterschiedlicher Ursachen nicht mehr in der Lage ist die Gewebe mit ausreichend Sauerstoff zu versorgen. Die Abnahme der Pumpfunktion und das daraus resultierende pulmonale und venöse Stauungsphänomen stehen dabei im Vordergrund. Die häufigste Ursache der Herzinsuffizienz stellt heute die koronare Herzkrankheit dar (Hoppe, 2005).

In den letzten 15- 20 Jahren sind enorme Fortschritte im Verständnis der komplexen Pathophysiologie der Herzinsuffizienz gemacht worden. Das therapeutische Eingreifen ist an verschiedenen Stellen der neurohumoralen Regulation erfolgreich gelungen, besonders durch den Einfluss auf die in der Herzinsuffizienz überwiegenden vasokonstriktorisches und natriumretinierenden Mediatoren Noradrenalin und Angiotensin-II. In großen prospektiven Studien konnte durch die Gabe von Inhibitoren des Angiotensin-Converting Enzymes (ACE) und Inhibitoren des adrenergen β -Rezeptors ein signifikanter Abfall der Mortalitäts- und Hospitalisierungsrate bei der Herzinsuffizienz nachgewiesen werden (The CONSENSUS Study Group, 1987; The SOLVD Investigators, 1991; The CIBIS-II Investigators, 1999; The MERIT-HF Study Group, 1999).

Zudem haben verstärkt auch „neue Mediatoren“ der Herzinsuffizienz wie Endothelin-1, Adrenomedullin und Relaxin das wissenschaftliche Interesse auf sich gezogen.

Relaxin, ein Peptidhormon, welches lange als reines Schwangerschaftshormon galt, wurde 1926 von Frederick Hisaw entdeckt und isoliert (Hisaw, 1926). Es spielt unter anderem eine wichtige Rolle bei der Implantation des Embryos bei Menschen, und bei Nagern auch bei der Weitung des Geburtskanals. Seit den 80er Jahren wurden in experimentellen Untersuchungen allmählich weitere Effekte des Peptids auf den Gefäßtonus, die Nierenfunktion und das kardiale System dargelegt. Studien wiesen nach, dass Relaxin im kardiovaskulären System exprimiert wird, dass der Plasmaspiegel des Hormons mit dem Schweregrad einer Herzinsuffizienz korreliert, und dass es ein funktioneller Antagonist des Vasokonstriktors Endothelin-1 ist (Dschietzig et al., 2001b). Basierend auf diesen Befunden führten wir die erste

klinische Pilot-Studie in der Anwendung von Relaxin bei Patienten mit chronisch kongestiver Herzinsuffizienz durch. Die Ergebnisse werden in der vorliegenden Arbeit präsentiert und diskutiert.

1.1 Herzinsuffizienz

In den letzten Jahren ist die Mortalitätsrate infolge koronarer Herzkrankheit (KHK) in den westlichen Ländern zurückgegangen. Die Gründe sind verbesserte Primär- und Sekundärmaßnahmen und bessere Reperfusionenmaßnahmen. Gleichzeitig wird eine stetige Zunahme der Inzidenz und Prävalenz der chronischen kongestiven Herzinsuffizienz beobachtet (Rickenbacher, 2001). Dies kann durch die demographische Entwicklung und die damit einhergehende Änderung der Altersstruktur der Bevölkerung erklärt werden, und durch das längere Überleben der KHK-Patienten, die oftmals sekundär eine Herzinsuffizienz entwickeln.

Die kongestive Herzinsuffizienz ist das Endstadium verschiedener Krankheitsprozesse, welche die kardiale Funktion beeinträchtigen. Die gestörte kardiale Funktion ist für das Unvermögen des Herzens verantwortlich, das Blut dem Bedarf der Gewebe entsprechend auszuwerfen (Braunwald, 2003). Die häufigste Ursache stellt heute die KHK dar, die für 60- 70% der Fälle verantwortlich ist. (Lip und Gibbs, 2000). Andere Ursachen sind die arterielle Hypertonie, Herzklappenerkrankungen, Myokarditiden und idiopathische Kardiomyopathien (Cowie, 1999).

Die Herzinsuffizienz ist in den meisten Fällen ein voranschreitender Prozess, selbst wenn keine neue direkte Schädigung des Myokards auftritt. Das Syndrom geht mit erheblicher Beeinträchtigung der Lebensqualität, hoher Mortalität, sowie mit enormen Kosten einher (Klein, 1999). In der Framingham-Studie lag die 5- Jahresmortalität bei Männern bei 75% und bei Frauen bei 62%. Die mittlere Überlebenszeit nach Diagnosestellung betrug bei Männern 1,7 Jahre, bei Frauen 3,2 Jahre (Kannel, 1991). In den letzten Jahren wurden wesentliche Fortschritte im Verständnis der komplexen Pathophysiologie und der therapeutischen Umsetzung jener Kenntnisse gemacht. Trotzdem stellt die Herzinsuffizienz nach wie vor ein erhebliches medizinisches und gesundheitspolitisches Problem dar.

1.1.1 Epidemiologie

Epidemiologische Daten zur Herzinsuffizienz müssen mit Vorsicht interpretiert werden. Unterschiede in der Methodik, der Definition und der demographischen Charakteristika der untersuchten Populationen haben zu variierenden und schwer vergleichbaren

Resultaten geführt. Trotzdem konnten aus großen epidemiologischen Studien in Europa und den USA einige Kenntnisse gewonnen werden. Beispiele sind die US-amerikanische Framingham-Studie (Kannel, 1991), die britische Hillingdon-Studie (Cowie et al., 1999) und die niederländische Rotterdam-Studie (Mosterd et al., 1999). Die Herzinsuffizienz ist eine der häufigsten internistischen Erkrankungen. Weltweit sind schätzungsweise 15 Millionen Menschen betroffen (Lip und Gibbs, 2000). Eine vergleichbar große Gruppe weist darüber hinaus eine asymptomatische systolische kardiale Dysfunktion auf (Hoppe, 2005).

Die Daten der Framingham-Studie (Kannel, 1991) zeigen eine jährliche Inzidenz der Herzinsuffizienz in der Altersgruppe der 35 - 64-Jährigen von 1 - 3%. Sie ist altersabhängig und verdoppelt sich etwa mit jeder Lebensdekade. Bei 65 - 94-Jährigen liegt sie bereits bei 7% pro Jahr. Männer sind 1,5-mal häufiger betroffen als Frauen. Das mittlere Alter bei Diagnosestellung wird in der britischen Hillingdon-Studie mit 76 Jahren angegeben (Cowie et al., 1999).

Die Prävalenz der Gesamtbevölkerung wird mit 0,3 - 2,4% angegeben, steigt jedoch bei über 65-Jährigen auf 3,0 - 13% an (Cowie et al., 1997).

In der Glasgow-Studie (Isles, 1986) wurde die echokardiographische linksventrikuläre Dysfunktion untersucht. Dabei wurden 2000 Männer und Frauen zwischen 25 und 74 Jahren zufällig ausgesucht und echokardiographiert. Die Prävalenz der linksventrikulären systolischen Dysfunktion, definiert als linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) von unter 30%, lag bei 2,9%. In etwa der Hälfte der Fälle lag eine symptomatische Herzinsuffizienz vor, bei der anderen Hälfte eine asymptomatische linksventrikuläre Dysfunktion.

Die Lebensqualität ist bei der Herzinsuffizienz sehr beeinträchtigt. Sie verschlechtert sich mit der Progression der Erkrankung, der Zahl der Arztbesuche, dem Medikamentenverbrauch und der Hospitalisation (Klein, 1999). Gemäß Schätzungen werden 85% der Patienten mit Herzinsuffizienz ambulant betreut. Nach der Hypertonie stellt sie den zweit häufigsten Grund für die Konsultation in ärztlichen Praxen dar (McMurray, 1998). Insgesamt ist die Herzinsuffizienz der häufigste stationäre Aufnahmegrund bei über 65-Jährigen in Industrieländern. Dies hat sich über die letzten 10- 15 Jahre etwa verdoppelt (Cowie et al., 1999). Die Rehospitalisationsrate der Herzinsuffizienzpatienten lag in England innerhalb der nächsten drei bis sechs Monate nach Hospitalisation bei 29- 47% (Cowie et al., 1999). Die durchschnittliche

stationäre Aufenthaltsdauer von Patienten mit Herzinsuffizienz betrug 2001 in Deutschland bei Frauen 13,9 Tage/ Jahr und bei Männern 14,4 (Krankheitsartenstatistik der AOK, 2003). Im Jahre 2002 entstanden der BRD Kosten von 35,4 Mrd. Euro durch Krankheiten des Kreislaufsystems. Für die Herzinsuffizienz waren es 1009 Mill. Euro bei Frauen und 1727 Mill. Euro bei Männern (BRD, Statistisches Bundesamt, 2004; www.gbe-bund.de).

Die Prognose der Erkrankung ist ungünstig und verschlechtert sich mit dem Schweregrad der kardialen Dysfunktion. In der Rotterdam-Studie lag die 5-Jahres-Letalität (krankheitsbezogene Sterblichkeit) nach Diagnosestellung bei durchschnittlich 65% (Mosterd et al., 1999). In der Framingham-Studie waren nur 25% der Männer und 38% der Frauen fünf Jahre nach Diagnosestellung noch am Leben (Kannel, 1991). Die Prognose bei rein diastolischer Dysfunktion, welche erst in den letzten zehn Jahren als eigenständige Entität erkannt wurde, scheint mit einer jährlichen Mortalitätsrate von etwa 8% etwas günstiger zu sein (Hoppe, 2005).

In einigen großen prospektiven klinischen Studien zur Langzeittherapie von ACE-Hemmern oder Antagonisten der adrenergen β -Rezeptoren konnten signifikante Verbesserungen der Prognose unter medikamentöser Therapie nachgewiesen werden. Die CONSENSUS-Studie (The CONSENSUS Study Group, 1987) und die SOLVD-Studie (The SOLVD Investigators, 1991) untersuchten doppelblind und placebokontrolliert die Langzeitgabe des ACE-Hemmers Enalapril an Patienten mit kongestiver Herzinsuffizienz. Diese führte in beiden Studien zu einer signifikanten Reduktion der Mortalität bei den Patienten mit dekompensierter (CONSENSUS) und kompensierter (SOLVD) Herzinsuffizienz. In der SOLVD-Studie konnte auch eine deutliche Senkung der Hospitalisierungsfrequenz, mit resultierender Verbesserung der Lebensqualität und Senkung der Kosten nachgewiesen werden. Die SOLVD-Studie hat sich zusätzlich auch mit dem Problem der asymptomatischen Herzinsuffizienz auseinandergesetzt. Sie belegt, dass die präventive Gabe von Enalapril die Weiterentwicklung einer asymptomatischen in eine symptomatische Herzinsuffizienz deutlich verzögert. Auch der Einsatz der therapeutischen Blockade der adrenergen β -Rezeptoren bei Herzinsuffizienzpatienten wurde in große Studien untersucht. In der CIBIS-II- (The CIBIS-II Investigators, 1999), der MERIT-HF- (The MERIT-HF Study Group, 1999) und der COPERNICUS-Studie (Packer, 2002) wurden die drei Substanzen Bisoprolol, Metoprolol und Carvedilol untersucht. In allen drei

randomisierten Studien konnte eine Verbesserung der Prognose der Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz (CIBIS-II, MERIT) und Patienten mit dekompensierter Herzinsuffizienz (COPERNICUS) durch Gabe eines β -Blockers belegt werden.

1.1.2 Definition und Klassifikation der Herzinsuffizienz

Bei der Herzinsuffizienz ist das Herz nicht mehr in der Lage die Gewebe mit ausreichend Sauerstoff zu versorgen, um den Gewebestoffwechsel in Ruhe und unter Belastung sicherzustellen. Klinisch liegt dann eine Herzinsuffizienz vor, wenn typische Symptome (Dyspnoe, Müdigkeit, Flüssigkeitsretention) bestehen, denen ursächlich eine ventrikuläre Funktionsstörung im Sinne einer systolischen oder diastolischen Funktionsstörung zu Grunde liegt (Hoppe, 2005).

Die systolischen Ventrikelfunktionsstörungen sind Folge einer Kontraktionsstörung des Myokards durch Kontraktionsschwäche (z.B. KHK, Kardiomyopathien, Myokarditis), erhöhter Volumen- (=Vorlast) oder Druckbelastung (=Nachlast) (Vitien, Arterielle Hypertonie, Pulmonale Hypertonie). Diastolischen Ventrikelfunktionsstörungen liegt eine verminderte diastolische Dehnbarkeit (Compliance) und Relaxation des linken Ventrikels zu Grunde (Arterielle Hypertonie, Konstriktive Perikarditis, Restriktive Kardiomyopathie).

Die Symptome der Herzinsuffizienz unterscheiden sich hinsichtlich Links- oder Rechtsherzinsuffizienz. Bei der Rechtsherzinsuffizienz stehen Halsvenenstauung, Pleuraergüsse, periphere Ödeme und Aszites im Vordergrund, bei der Linksherzinsuffizienz Lungenödem und Dyspnoe. Die Herzinsuffizienz stellt somit eher ein komplexes Syndrom als eine einheitliche Erkrankung dar.

Der funktionale Schweregrad der Herzinsuffizienz wird klinisch nach den revidierten Kriterien der New York Heart Association (NYHA) in die Stadien I- IV eingeteilt (Hoppe, 2005):

- I. Herzerkrankung ohne körperliche Limitation. Alltägliche körperliche Belastung verursacht keine inadäquate Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.

- II. Herzerkrankung mit leichter Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Alltägliche körperliche Belastung verursacht Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
- III. Herzerkrankung mit höhergradiger Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit bei gewohnter Tätigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Geringe körperliche Belastung verursacht Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
- IV. Herzerkrankung mit Beschwerden bei allen körperlichen Aktivitäten und in Ruhe. Bettlägerigkeit.

Die Leitlinien (2001) des American College of Cardiology/ der American Heart Association (ACC/AHA) führten eine erweiterte Klassifikation mit den Stadien A - D ein, welche stärker die zugrunde liegende Pathologie berücksichtigt und die Progression der Erkrankung betont (Hunt et al., 2001).

- A Patienten mit einem hohen Risiko, eine Herzinsuffizienz auszubilden, da Bedingungen vorliegen, die stark mit der Entwicklung einer Herzinsuffizienz assoziiert sind. Solche Patienten besitzen keine nachgewiesenen strukturellen oder funktionellen Abnormalitäten des Perikards, des Myokards oder der Herzklappen und haben niemals Symptome einer Herzinsuffizienz gezeigt.
- B Patienten, die eine strukturelle Herzerkrankung entwickelt haben, welche eng mit der Entwicklung einer Herzinsuffizienz assoziiert ist, jedoch noch nie Zeichen oder Symptome einer Herzinsuffizienz gezeigt haben.
- C Patienten mit aktuellen oder zurückliegenden Symptomen einer Herzinsuffizienz auf dem Boden einer strukturellen Herzerkrankung.
- D Patienten mit fortgeschrittener struktureller Herzerkrankung und ausgeprägten Symptomen einer Herzinsuffizienz trotz maximaler medikamentöser Therapie, welche spezielle Interventionen benötigen.

1.1.3 Pathophysiologie der Herzinsuffizienz

Die Beeinträchtigung der linksventrikulären Pumpfunktion führt über eine erhöhte kardiale Wandspannung, die Aktivierung von Barorezeptoren und die Minderperfusion der Gewebe zu verschiedenen Kompensationsmechanismen. Die neuroendokrinen Aktivierungsmechanismen können die Myokardfunktion kurzfristig stabilisieren, stellen jedoch bei Chronifizierung einen Circulus Vitiosus dar, der mit funktionalen und strukturellen (kardiales Remodeling) Veränderungen des Herzens einhergeht. Es kommt zur Progredienz der Erkrankung und letztendlich zur terminalen Herzinsuffizienz.

1.1.3.1 *Veränderung neurohumoraler Systeme*

Durch die frühe Aktivierung des Sympathikus bei Abfall von Herzzeitvolumen (HZV) und Perfusionsdruck über die Barorezeptoren kommt es zu einer Erhöhung der Adrenalin- und Noradrenalin-synthese. Die Katecholamine führen zu systemischer und renaler Vasokonstriktion, Steigerung der Herzfrequenz und Kontraktionskraft (positive Chronotropie und Inotropie) am Herzmuskel, erhöhter Natrium-Reabsorption in der Niere und Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteronsystems (RAAS). Resultat ist der Anstieg der drei Mediatoren.

Bei der chronischen Herzinsuffizienz steigt der Plasma-Noradrenalin-Spiegel und es entsteht ein starkes Ungleichgewicht des kardialen autonomen Nervensystems (Kaye, 2005). Die dauerhafte adrenerge Stimulation führt durch negative Rückkopplung zur Reduktion der Noradrenalin-Speicher und der β_1 -Rezeptordichte (Colucci, 1990). Infolge dessen lässt der Effekt der positiven Inotropie durch die Katecholamine bei zunehmender Herzinsuffizienz nach. Die α -adrenergen Rezeptoren sind dabei voll funktionsfähig und verstärken die Progredienz der Herzinsuffizienz zusätzlich durch die Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstandes und eine damit einhergehende Erhöhung der Nachlast (Colucci, 1990). Dies trägt zusätzlich zur Verschlechterung der hämodynamischen Situation des Patienten bei.

Das RAAS ist das zweite neurohormonale System, welches in die Pathophysiologie der Herzinsuffizienz involviert ist. Über den Abfall des HZV und einer damit einhergehenden Verminderung des zirkulierenden Blutvolumens wird vermehrt AT-II

sezerniert. Dieses greift direkt in den Wasser- und Elektrolythaushalt, sowie in die Regulation des peripheren Widerstandes ein. AT-II führt zu einer Steigerung des Auswurfwiderstandes des insuffizienten Herzens, also zu einer Erhöhung der Nachlast (Unger, 2004). Das Blutvolumen nimmt durch die AT-II- induzierte Aldosteronsekretion und die damit verbundene gesteigerte Na- und Wasserretention zu. Die Folge davon ist eine erhöhte Volumenbelastung, also die Zunahme der Vorlast am Herzen.

Neben der systemischen Aktivierung des RAAS wurde eine lokale Synthese von AT-II am Herzen beschrieben (Unger, 2004). Es wird als zentraler Faktor des kardialen Remodeling angesehen. Neben den gefäßverengenden Effekten schädigt es das Endothel und führt zu Hypertrophie und Fibrosierung des Myokards.

Die Hypothese der Daueraktivierung neurohumoraler Systeme wird durch den günstigen therapeutischen Effekt der β -Blocker und ACE-Hemmer bei der Therapie von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz gestützt (The CONSENSUS Study Group, 1987; The SOLVD Investigators, 1991; The CIBIS-II Investigators, 1999; The MERIT-HF Study Group, 1999; Packer, 2002).

Endothelin (ET), ein potenter Vasokonstriktor, wird unter anderem von Endothel und Myokard produziert. Es ist ebenfalls an der Regulation von Myokardfunktion, Gefäßtonus und peripherem Widerstand bei der Herzinsuffizienz beteiligt. Es existieren drei pharmakologisch unterschiedliche Isopeptide (ET-1, ET-2, ET-3), wobei ET-1 im kardiopulmonalen System die größte Relevanz hat. Seine Wirkung entfaltet ET über den ET-A- oder den ET-B-Rezeptor. Die ET-Produktion ist bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz gesteigert. ET-1-Plasmaspiegel und die des Vorläufers Big-ET korrelieren mit dem Schweregrad der Erkrankung und stellen einen verlässlichen Prädiktor der Mortalität bei fortgeschrittener kongestiver Herzinsuffizienz dar (Mc Murray et al., 1992). Insgesamt trägt das Peptid zu einer Steigerung des Widerstandes in der peripheren Zirkulation und im Pulmonalkreislauf bei. Jedoch gibt es auch eine NO-vermittelte vasodilatatorische Komponente, vermittelt durch den ET-B2-Rezeptor (Nambi, 2001). Die potente und lang andauernde Vasokonstriktion durch ET hat dazu geführt, dass Wissenschaftler sich diesem möglichen therapeutischen Ansatzpunkt bei der Behandlung der Herzinsuffizienz angenommen haben. Dieser befindet sich derzeit in der klinischen Untersuchung. Die Arbeitsgruppe von Sakai

konnte in einem Rattenmodell mit Herzinsuffizienz durch die Therapie mit einem Endothelinrezeptor-Antagonisten bessere Überlebensraten der Tiere und die Protektion vor dem kardialen Remodeling beobachten (Sakai et al., 1996). Jener Nachweis der Mortalitätsreduktion konnte bei Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz in der ENABLE-Studie mit dem gemischten ET-Rezeptorantagonisten Bosentan jedoch nicht erbracht werden (Kalra, 2002). In den BREATH-Studien zeigte sich unter der Behandlung mit Bosentan aber eine deutliche Verbesserung der Hämodynamik und der Leistungsfähigkeit von Patienten mit pulmonaler Hypertonie (Rubin, 2002). Wegen der fehlenden Verbesserung der Überlebenszeit durch die therapeutische Gabe von ET-Rezeptorantagonisten ist die Diskussion über die möglichen Vorteile einer selektiven ET-A-Rezeptorblockade bei Herzinsuffizienz verstärkt in den Vordergrund getreten.

Als Weiteres ist bei schwerer Herzinsuffizienz die Freisetzung von antidiuretischem Hormon (ADH) aus der Hypophyse gesteigert. Vermittelt wird dies über die Barorezeptoren. ADH führt unter anderem zu einer Vasokonstriktion sowie zur Induktion der Translokation von Aquaporin-2-Wasserkanälen, welche die Rückresorption von Wasser, damit das Blutvolumen und somit die Vorlast am Herzen steigern (Chatterjee, 2005).

Die bisher genannten vasokonstriktorisches und flüssigkeitsretinierenden Systeme werden unter physiologischen Bedingungen durch antagonistische Systeme in einem Gleichgewicht gehalten. Dabei sind aus der Gruppe der natriuretischen Peptide vor allem das „atrial natriuretic peptide“ (ANP) und das „brain natriuretic peptide“ (BNP) zu nennen. ANP wird überwiegend im Atrium, BNP in den Ventrikeln des Herzens gebildet (Baxter, 2004). Auslösender Reiz für die Freisetzung ist die Dehnung der Vorhöfe (ANP) oder Kammern (BNP). Die Peptide wirken vasodilatierend, natriuretisch durch Hemmung des RAAS und haben antiproliferative Effekte am Myokard. Sie bilden also einen wichtigen Gegenspieler zum AT-II. Bei der chronischen Herzinsuffizienz ist die Expression von ANP und BNP gesteigert. Der Plasmaspiegel ist eng mit dem Grad der linksventrikulären Dysfunktion assoziiert, welches diagnostische und prognostische Bedeutung hat (Richards et al., 2004).

Die rekombinante Form des BNP, Nesiritide, wird bei der Therapie der akuten

Herzinsuffizienz klinisch erprobt. Die vasodilatierende Wirkung steht dabei im Vordergrund (Colucci et al., 2000).

Adrenomedullin, ein 1993 erstmals beschriebenes Peptid, führt neben Vasodilatation zu vermehrter Diurese und möglicherweise auch zu gesteigerter Inotropie am Myokard (Kitamura 1993). Letzteres konnten Stangl et al. in ihren Untersuchungen jedoch nicht bestätigen (Stangl et al., 2002). Andere Studien haben gezeigt, dass Plasma-Adrenomedullin bei Veränderung der neurohumoralen Systeme im insuffizienten Herzen erhöht ist (Jougasaki et al., 1995, Willenbrock et al., 1999). Plasmaadrenomedullin korreliert positiv mit dem Pulmonalkapillären Verschlussdruck (PCWP) und negativ mit der Ejektionsfraktion (EF). Nach der Behandlung der Herzinsuffizienz sinkt der Plasma-Adrenomedullin-Spiegel signifikant. Demnach scheint das Peptid neben den natriuretischen Peptiden ein wichtiger Kompensator der chronischen Herzinsuffizienz zu sein (Stangl et al., 2002).

1.1.3.2 Funktionelle Veränderungen des Herzens

Im Falle eines gesteigerten Sauerstoffbedarfs, z. B. unter Druck- oder Volumenbelastung, ist der Organismus fähig die Pumpleistung des Herzens über Regulationsprozesse an die veränderte Situation anzupassen. Herzfrequenz, Kontraktibilität und Vorlast und können adaptiert werden. Bei der Herzinsuffizienz laufen einige Adaptationsprozesse überschießend oder abgeschwächt ab und führen in ihrer Folge zu negativen Auswirkungen.

Neurohumorale Regulation der Kontraktibilität

Über die sympatho-adrenerge Aktivierung bewirken Noradrenalin und Adrenalin durch Stimulation der β -Rezeptoren eine Kontraktionszunahme. Durch die Down-Regulation der Betarezeptoren nimmt dieser Effekt am insuffizienten Herzen ab (Baumann, 1981).

Herzfrequenz: Bowditch-Effekt

Die Kraft-Frequenz-Beziehung des Herzens wird durch den „Bowditch-Effekt“ beschrieben. Unter physiologischen Bedingungen kommt es durch die

Sympathikusaktivierung zu einer Steigerung der Herzfrequenz. Diese führt nach Bowditch zu einer Zunahme der myokardialen Kontraktionskraft und somit einer Erhöhung des HZV (Bowditch, 1871). Am insuffizienten Herzen ist dieser Mechanismus aufgehoben. Es können im Gegenteil eine verminderte Maximalspannung und eine Kraftreduktion bei ansteigender Herzfrequenz nachgewiesen werden (Mulieri et al., 1992).

Vorlast: Frank- Starling- Mechanismus

Der „Frank-Starling-Mechanismus“ beschreibt den Zusammenhang zwischen Vordehnung und Kraftentwicklung am Herzen. Ein Anstieg des linksventrikulären enddiastolischen Ventrikeldrucks (LVEDP) durch ein erhöhtes enddiastolisches Volumen (=erhöhte Vorlast) führt über eine vermehrte Vordehnung des Ventrikels zur Zunahme der Muskelverkürzung und damit zu einer Anhebung des Schlagvolumens (SV) (Frank, 1885, Starling, 1918). Der Frank-Starling-Mechanismus konnte auch am insuffizienten Herzen nachgewiesen werden (Holubarsch et al., 1996). Die verminderte Wandspannung wird durch Vergrößerung des enddiastolischen Volumens kompensiert. Trotz verminderter Funktion kann das insuffiziente Herz prinzipiell ein normales oder annähernd normales Schlagvolumen auswerfen (Holubarsch et al., 1996).

1.1.3.3 Strukturelle Veränderungen des Herzens

Durch die gesteigerte Arbeitsbelastung des Herzens mit hohem Druck oder Volumen aufgrund der oben genannten Mechanismen kommt es zu Umbauprozessen am Myokard (kardiales Remodeling) und zu myokardialer Hypertrophie (Francis et al., 1990, Liu et al., 1999).

Die Drucküberbelastung führt zu konzentrischem Remodeling mit konzentrischer Hypertrophie. Dabei nimmt der Myozytenquerschnitt zu und eine Vermehrung der kontraktilen Einheiten ist zu beobachten.

Eine anhaltende Volumenbelastung führt zu einer gesteigerten Wandspannung des linken Ventrikels. Folge ist die Zunahme der Myozytenlänge, die zur Dilatation des Ventrikels führt (exzentrisches Remodeling). Primär entsteht eine exzentrische Hypertrophie (Holtz, 1992). Überschreitet die Myokardhypertrophie eine kritische

Grenze, so kommt es durch ventrikuläre Dilatation zu einem dehnungsinduzierten Zelltod und dadurch zu weiterer Dilatation. Da die Zahl der Kapillaren nicht im gleichen Maße wie die Muskelmasse zunimmt, resultiert daraus eine Ischämie im subendothelialen Versorgungsgebiet. Die arterielle Versorgung wird zudem durch die gesteigerte Wandspannung verschlechtert (Holtz, 1992, Katz, 1992).

Bei anhaltender hämodynamischer Belastung kommt es außerdem zu einer Umstrukturierung der Bindegewebszellen mit zunehmender Fibrosierung (Katz, 1992). Dabei spielt die Aktivierung des RAAS und der Mediator AT-II eine zentrale Rolle (Weber, 1997).

1.2 Das Peptidhormon Relaxin

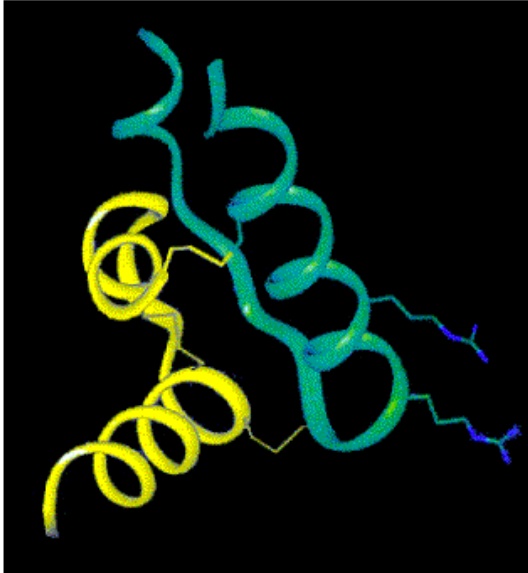
1.2.1 Geschichte

Relaxin (Rlx), ein Peptidhormon der Insulin-Superfamilie, wurde 1926 von Frederick Hisaw entdeckt, der es 1930 erstmals extrahierte und isolierte. Seinen Namen erhielt es durch die Eigenschaft das Lig. pubicum zu verlängern (Fevold et al. 1930). Lange galt Rlx als reines Schwangerschaftshormon, das unter anderem an der Dehnung des Geburtskanals (Fevold et al., 1930), der Veränderung des Myometriums (Krantz et al., 1950) und des Wachstums und der Differenzierung der Brustdrüse (Hamolsky und Sparrow, 1945) beteiligt ist. In den 1980er Jahren begannen Wissenschaftler allmählich die Pleiotropie des Peptidhormons zu erkennen. Heute gilt es als multifunktionaler parakriner und endokriner Faktor mit einer Vielzahl von Zielgeweben (Samuel, 2003). Neben antifibrotischen, zentralnervösen, renalen und vaskulären Effekten wurde auch seine kompensatorische Rolle bei chronischer Herzinsuffizienz experimentell belegt (Dschietzig, 2004). Das therapeutische Potential des Peptids rückt zunehmend in den Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses.

1.2.2 Aufbau

Das Insulin-ähnliche Rlx hat ein Molekulargewicht von 6000 Dalton und besteht aus zwei Ketten, A und B. Diese sind durch zwei Disulfidbrücken verbunden. Die A-Kette besitzt zusätzlich eine interne Disulfidbrücke (Schwabe et al. 1978). Ende der siebziger Jahre konnten James und Schwabe (James et al., 1977; Schwabe et al., 1978) erstmals die Aminosäuresequenz von Rlx entschlüsseln. Relaxine unterschiedlicher Spezies zeigen eine große Heterogenität in ihrer Sequenz, jedoch ist die Lage der Disulfidbrücken meist gleich. Es wird daher vermutet, dass alle Relaxine eine ähnliche Tertiärstruktur haben (Bryant- Greenwood & Schwabe, 1994).

Abb. 1: Struktur des Relaxins



Alpha-Kette: 24 Aminosäuren
Beta-Kette: 33 Aminosäuren
Präkursor-Peptid (einkettig):
Signalpeptid - B-Kette - C-Peptid –
A-Kette (Präprorelaxin)
Prohormone-Konvertase-1:
Prorelaxin \Rightarrow Relaxin + C-Peptid

1.2.3 Klassifikation

Zu der Familie der insulinartigen Peptidhormone gehören neben Insulin, den Insulin-like-growth-factors-1 und -2 auch die verschiedenen Relaxine und die Insulin-like peptides (INSL).

Beim Menschen und Menschenaffen sind bisher drei verschiedene Relaxine (H1, H2, H3) bekannt. H1 und H2 wurden 1983 bzw. 1984 von Hudson et al. entschlüsselt, H3 erst 2002 von Bathgate et al., wobei sich H3 als das phylogenetisch älteste Rlx herausgestellt hat. H2Rlx gilt heute als das funktionell wichtigste Relaxin und ist möglicherweise auch die einzige im Plasma zirkulierende Form (Bani D, 1997a). Andere Säugetiere besitzen nur Rlx1 und Rlx3, wobei humanes Rlx1 das funktionale Äquivalent zu Rlx2 bei den Nichtprimaten darstellt.

1.2.4 Zirkulierende Relaxin-Spiegel

Beim Menschen findet man die höchsten Plasmakonzentrationen von Rlx im ersten Trimenon der Schwangerschaft (~900 pg/ml in Woche 10), danach kommt es zum Abfall auf einen Plasmaspiegel von ~400 pg/ml in Woche 24, der bis zum Ende der Schwangerschaft etwa konstant bleibt (Sherwood, 1994). Bei nicht schwangeren Frauen kommt es zu einer Erhöhung des Relaxinspiegels während der Lutealphase des Zyklus auf ca. 100 pg/ml (Steward et al., 1990). Bei postmenopausalen Frauen und bei Männern ist ein Plasmawert von weniger als 10 pg/ml zu messen (Dschietzig et al., 2001b).

1.2.5 Synthese und Genexpression

Die Synthese von Rlx erfolgt als Präprohormon, welches aus einem Signalpeptid, einer B-Kette, einer C-Domäne und einer A-Kette besteht. Die Abspaltung des Signalpeptids überführt das Präprorelaxin in das Prorelaxin. Die Entfernung des C-Peptids erfolgt wahrscheinlich durch die Serinprotease Prohormon-Convertase-1 (Marriott et al., 1992), welches dann zur Entstehung des reifen Rlx führt.

Im Gegensatz zu Proinsulin besitzt Prorelaxin bereits eine vergleichbare Bioaktivität wie reifes Rlx, weist somit also schon Effekte auf seine Zielorgane aus (Bryant-Greenwood & Schwabe 1994).

Die Gene für H1 und H2 befinden sich in enger Nachbarschaft zueinander auf Chromosom 9 (9p24) (Hudson et al., 1983 und 1984), wogegen sich das Gen für H3 auf Chromosom 19 (19p13.3) befindet (Bathgate et al., 2002).

In der Vergangenheit ging man davon aus, dass H2 das einzige funktionsfähige humane Rlx wäre. H1 galt als Pseudogen, da man keine Genexpression nachweisen konnte (Hudson et al., 1983). Durch die Entwicklung der sensitiveren RT-PCR gelang jedoch der Nachweis von H1-mRNA-Synthese in Prostata, Decidua (Hansell et al., 1991) und Brustdrüse (Tashima et al., 1994). 2001 konnten Dschietzig et al. H1-Genexpression am menschlichen Vorhof- und Ventrikelmyokard, Arterien und Venen nachweisen.

Verschiedene Studien konnten die Sekretion von H2 in den weiblichen Reproduktionsorganen Corpus Luteum, Endometrium, Decidua, Placenta, Trophoblasten und Brustdrüse (Hudson et al., 1984; Tashima et al., 1994; Bigazzi,

1980; Fields, 1992) belegen. Außerdem wird Rlx in der Prostata sezerniert (Winslow et al., 1990). H2-mRNA konnte im menschlichen Vorhof- und Ventrikelmyokard nachgewiesen werden (Dschietzig et al., 2001b).

Für H3 gibt es erst wenige gefestigte Ergebnisse. Die Expression des Genes konnte bisher vor allem im Zentralnervensystem (Bathgate et al., 2001), aber auch in Testis, Thymus, Milz, Lunge und Herz der Ratte nachgewiesen werden (Bathgate et al., 2002).

1.2.6 Signaltransduktion

Bislang sind vier spezifische Rlx-Rezeptoren identifiziert. LGR7 und LGR8 wurden 2002 von Hsu et al. identifiziert und werden heute als RXFP1- und RXFP2-Rezeptor klassifiziert. Sie sind membranständige, sieben-transmembranäre Domänen enthaltende, G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR) und haben strukturelle Ähnlichkeit mit dem FSH/TSH-Rezeptor. Reichliche Expression wurde unter anderem im Gehirn, in den weiblichen Reproduktionsorganen, in der Niere und im kardiovaskulärem System nachgewiesen (Hsu et al., 2002). Durch die Bindung von H1, H2 und H3 kommt es am RXFP1-Rezeptor über eine Aktivierung der Adenylatcyclase (AC) zu einem Anstieg des cAMP. Der RXFP2-Rezeptor bindet neben H1 und H2 auch INSL-3, welches ebenso zu einer cAMP-Erhöhung führt (Bathgate, 2006). Bartsch et al. konnten in ihren Arbeiten in humanen Makrophagen (THP-1-Zellen) zeigen, dass der LGR7 zusätzlich eine Aktivierung von Tyrosinkinasen durch Phosphorylierung hervorruft, was zu einer Hemmung von Phosphodiesterasen (PDE), vor allem der PDE-4, mit weiterer Verstärkung des cAMP-Anstiegs führt (Bartsch et al., 2001a und 2001b).

2003 wurden zwei weitere GPCR als spezifische H3-Rezeptoren identifiziert, GPCR 135 (RXFP3) und GPCR 142 (RXFP4) (Liu et al., 2003a und 2003b). Im Gegensatz zum RXFP1- und zum RXFP2-Rezeptor bewirkt die Bindung von H3 an RXFP3 und RXFP4 eine Inhibition der AC und somit einen Abfall des cAMP. RXFP3 wird bei der Ratte in Gehirn, Nebenniere, Testis und Thymus expremiert (Liu et al., 2003b), RXFP4 beim Menschen in Colon, Gehirn, Testis, Prostata, Niere, Plazenta und Schilddrüse (Liu et al., 2003a). Neben H3 bindet der RXFP4 außerdem INSL5 (Bathgate, 2006). In vivo scheinen folgende, physiologische Rezeptor-Liganden-Zuordnungen vorzuliegen

(Bathgate, 2006): RXFP1-H2, RXFP2-INSL-3, RXFP3-H3 und RXFP4-INSL-5.

Ein bis dahin unbekannter weiterer Signalweg wurde 1994 von Masini et al. beschrieben. Die Wissenschaftler konnten die Rlx-Signaltransduktion über die Erhöhung von Stickstoffmonoxid (NO) nachweisen. In weiteren Untersuchungen an Ratten und Meerschweinchen konnte gezeigt werden, dass diesem NO-Anstieg die Erhöhung des cGMP folgt (Bani-Sacchi et al., 1995). Jenes scheint zelltypabhängig über die Aktivierung unterschiedlicher NO-Synthasen (NOS) zu erfolgen (Bani D et al., 1999a). Während in koronaren Endothelzellen von Ratten (Failli, 2002) und Endothelzellen der Aorta von Schweinen (Bani D et al., 1998b) Rlx-Gabe zu einer Aktivierung der NOS-2 mit resultierendem NO-Anstieg führte, blieb die NOS-3 in diesen Geweben inaktiviert. In Uteruszellen kam es dagegen zu einer Rlx-induzierten Aktivierung der NOS-3 mit keinerlei Effekt auf die NOS-2 (Bani D et al., 1999a). Die Hemmung der NOS-Aktivität an koronaren Endothelzellen mittels L-NMMA führte zu einer Verminderung der Rlx-induzierten Effekte auf myokardiale Kontraktilität und koronaren Blutfluss (Masini, 1997). Diese Ergebnisse stützen die Hypothese, dass die kardiovaskulären Effekte des Relaxins u. a. über die Stimulation der endogenen NO-Produktion vermittelt werden (Bigazzi, 2001).

2004 untersuchten Dschietzig et al. mögliche Interaktionen von Rlx mit dem humanen Glukokortikoidrezeptor (GR). Sie kamen zu dem Ergebnis, dass mindestens humanes Rlx2 und Rlx1 vom Schwein die Fähigkeit besitzen am GR zu binden, ihn zu aktivieren und eine erhöhte GR-Expression zu stimulieren. Dieses konnte die Arbeitsgruppe in drei verschiedenen Zellreihen (Makrophagen, HeLa-Zellen, embryonale Nierenzellen) nachweisen. Rlx hemmte über den GR die Endotoxin-induzierte Produktion von inflammatorischen Zytokinen (IL1, IL6, TNF α). Es konnte dargelegt werden, dass endogenes und exogenes Rlx mit zytoplasmatischen und nukleären Glukokortikoid-Rezeptoren interagieren. Des Weiteren zeigte Rlx einen kompetitiven Agonismus um GR-Bindungsstellen mit Dexamethason und Corticosteron.

1.2.7 Biologische Effekte von Relaxin

Bindegewebe:

Neben der namensgebenden Eigenschaft des Relaxins, das Lig. pubicum zu verlängern (Hisaw, 1926; Fevold et al., 1930), sind mittlerweile eine Vielzahl weiterer Effekte des Peptids auf das Bindegewebe nachgewiesen worden.

Too et al. wiesen 1984 eine Rlx-induzierte Freigabesetzung von Plasminogen-Aktivator, Kollagenase und Proteoglykanase in Granulosazellen von Ratten nach. Andere Wissenschaftler kamen bei Untersuchungen an schwangeren-, nichtschwangeren- und ovariectomierten Ratten zu dem Ergebnis, dass Rlx die zervikale Kollagenkonzentration herabsetzt und die Kollagenlöslichkeit während der Schwangerschaft steigert (Downing und Sherwood, 1986). Später fanden Samuel und seine Arbeitsgruppe heraus, dass jene Effekte durch Östrogen gesteigert beziehungsweise durch Progesteron antagonisiert werden (Samuel et al., 1996).

Rlx erhöht in vitro die Expression der MMP-1, -2 und -3 (Paljewala et al., 2002), welches zu einem Abbau des Kollagens führt und damit zu einer Auflockerung des Bindegewebes. Überdies führt das Peptidhormon zur Downregulation der Inhibitoren TIMP-1 und -2 (Ivell und Einspanier, 2002).

In dermalen Fibroblasten reduziert Rlx die Kollagensynthese und senkt die Aktivität profibrotischer Zytokine, wie z. B. des Interleukins-1 β (Unemori, 1990).

In Ratten- und Mäuseversuchen war eine Verminderung von Bleomycin-induzierten Lungenfibrosen (Unemori et al., 1993) und Bromoethylamin-induzierten Nierenfibrosen zu beobachten (Garber et al., 2001).

Weitere Experimente mit Rlx-defizienten Mäusen bestärken die Annahme über das antifibrotische Potential des Hormons. Diese Tiere entwickelten pulmonale, renale und myokardiale Fibrosen, welche bei Rlx-Gabe rückläufig waren (Samuel et al., 2004a, Samuel et al., 2004b).

Die in vitro und in Tiermodellen erzielten Ergebnisse führten zu der Annahme eines möglichen therapeutischen Potentials des Peptids in der Behandlung von Krankheiten, die durch Fibrosierung charakterisiert sind.

Daraufhin wurde 2000 eine randomisierte, doppelblinde, plazebokontrollierte Studie über die Anwendung von Rlx bei diffuser Sklerodermie durchgeführt. Erstmals wurde die Rlx-Gabe in einer klinische Phase-II-Studie untersucht (Seibold et al., 2000).

Seibold behandelte 20 Patienten, die an der zu bindegewebiger Verhärtung der Haut und zu Organfibrosen führenden Erkrankung litten. Sie erhielten über 24 Wochen rekombinantes humanes Rlx2 (rhRlx) als subkutane Infusion. Resultate waren eine Verminderung der Hautdicke, eine verbesserte Beweglichkeit und eine Verbesserung der Lungenfunktion. Die folgende Phase-III-Studie (Erikson und Unemori, 2000) konnte jedoch keine signifikanten Besserungen primärer und sekundärer Symptome nachweisen.

Reproduktionsorgane:

Die Relaxation des Lig. pubicum (Hisaw, 1926) und der Umbau des Geburtskanals während der Schwangerschaft durch Rlx (Fevold et al., 1930) können auf die bereits erwähnten kollagenmodulierenden Eigenschaften des Peptidhormons zurückgeführt werden.

Zudem scheint Rlx die Einnistung der Blastozyste in das Endometrium nach der Befruchtung durch eine cAMP-abhängige Induktion von Prolaktin zu fördern (Telgmann & Gellersen, 1998). Rlx ist möglicherweise an der Implantation des Embryos beteiligt. Hinweis darauf geben Untersuchungen an Mäusen, in denen Rlx die Lamininproduktion in Stromazellen des Endometriums induzierte (Bani G et al., 1995d). Laminin fördert die Annäherung des Trophoblasten an das Endometrium und die anschließende Invasion.

In Rattenmodellen wurde beobachtet, dass Rlx die Apoptoserate in Zervix und Vagina während der zweiten Hälfte der Schwangerschaft herabsetzt und somit zum Gewebewachstum in diesem Bereich beiträgt (Zhao et al., 2001).

Mammotrophe Effekte des Peptidhormons wurden schon 1945 von Hamolsky und Sparrow in Experimenten an Ratten beschrieben. Es folgten Erkenntnisse über den bestehenden Einfluss von Rlx auf das Wachstum und die Differenzierung der Mamma (Bani G et al., 1985; Bani G et al., 1986). Zhao et al. demonstrierten später, dass das Peptid auch eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung der Brustwarze und dessen Funktion spielt. Untersuchungen an Rlx1-defizienten Mäusen ergaben eine Minderentwicklung der Brustwarzen der Tiere (Zhao et al., 2001).

Die Hemmung von Uteruskontraktionen durch Rlx (Krantz et al., 1950) erwies sich beim Menschen im Gegensatz zu einer Vielzahl anderer Spezies, bei denen das Peptid sowohl Frequenz als auch Amplitude spontaner oder elektrisch ausgelöster

Kontraktionen senkte, als kaum sensitiv (Mac Lennan et al., 1986; Mac Lennan & Grant, 1991; Bryant-Greenwood & Schwabe, 1994; Mac Lennan et al., 1995).

Neben den schwangerschaftserhaltenden und -fördernden Eigenschaften ist Rlx jedoch auch in die Ruptur fetaler Membranen involviert, welche Ursache einer Großzahl von Frühgeburten ist. In Dezidua und Plazenta von Patientinnen mit diesem Ereignis fand man erhöhte Rlx1- und Rlx2-Spiegel (Tashima et al., 1994; Bryant-Greenwood et al., 2005). Dieses ist möglicherweise durch die durch Rlx beeinflusste Aktivierung der MMP-1, -3 und -9 und damit eventuell einhergehende Degradation extrazellulärer Matrix zu erklären.

Gehirn:

Schon bevor Osheroff et al. den Beweis von Rlx-Bindungsstellen im Gehirn erbrachten (Osheroff et al., 1991), beobachteten andere Wissenschaftler eventuelle Effekte von Rlx auf die Hypophyse (Summerlee et al., 1984). Anhand von Untersuchungen an laktierenden Ratten konnte eine Rlx-abhängige Inhibition der Milchsekretion beobachtet werden. In folgenden Studien konnte mehrfach belegt werden, dass Rlx die Abgabe von Oxytocin in der Neurohypophyse beeinflusst (O'Byrne et al., 1986; Dayanithi et al., 1987). Jedoch bestehen bis heute heterogene Meinungen darüber, in welchem Effekt dieser Einfluss resultiert. Die von O' Byrne et al. beschriebene Rlx-induzierte Inhibition auf die Oxytocinfreigabe konnte von Dayanithi et al. zwar unter basalen Konditionen bestätigt werden, dagegen wiesen die Ergebnisse jener Gruppe zusätzlich eine Potenzierung der Oxitocinsekretion bei Depolarisation der Nervenendigungen auf. Neben dem Einfluss auf das Oxytocin besteht eine Stimulation der Vasopressin-(ADH)-Abgabe durch Rlx (Dayanithi et al., 1987). Die bekanntermaßen niedrige Plasma-Osmolarität während der Schwangerschaft ist somit Folge der Rlx-induzierten ADH- Abgabe (Weisinger et al., 1993).

Des Weiteren hat Rlx auch Wirkung auf den Hypophysenvorderlappen. Einerseits förderte es in Ratten- und Affenmodellen die Prolaktin- und Wachstumshormon-Sekretion (Bethea et al., 1998) andererseits zeigte sich eine Hemmung der LH-Abgabe (Summerlee et al., 1991).

In einem Ratten-Schlaganfall-Modell mit Verschluss der A. cerebri media, rückte auch das antiischämische und neuroprotektive Potential des Peptids in den Vordergrund. Die Infarktgröße zeigte sich nach Gabe von H2 merklich reduziert (Wilson et al.,

2006).

Lunge:

Bei experimentell induziertem Asthma bronchiale an Meerschweinchen supprimierte Rlx deutlich die Symptomatik der ovalbuminsensitivierten Tiere (Bani D et al., 1997). Weitere Studien erwiesen eine Rlx-induzierte Mastzellstabilisation in vitro (Masini et al., 1994) und antifibrotische Effekte an der Basalmembran bei akuten und chronischen Allergiemodellen (Mookerjee et al., 2005). Bezogen auf die antifibrotischen und die vasodilatatorischen Eigenschaften bietet Rlx eventuelle Möglichkeiten in der Behandlung der Pulmonalen Hypertension (Tozzi et al., 2005).

Blut:

Einzelne Rattenmodelle zeigten eine Rlx-induzierte Hemmung der Plättchenaggregation, die über Stimulation der NO-Freisetzung erfolgt und einen Abfall der Thrombozytenzahl durch Hemmung ihrer Abgabe aus Megakaryozyten (Bani D et al., 1995a). Dies lässt auf einen möglichen antithrombotischen Effekt des Hormons schließen.

Der schon genannte vermutliche antiasthmatische Effekt des Peptids wird zusätzlich durch die Entdeckung untermauert, dass Rlx die Umwandlung von antigenspezifischen T-Zellen in T1-Helferzellen fördert und die Interferon- γ -Produktion von T-Zellen steigert (Piccini et al., 1999). Zusätzlich hemmt es die Bildung von allergenreaktiven T-Helfer Zellen. Diese spielen eine wichtige Rolle in der Rekrutierung IgE-Antikörper produzierender Plasmazellen, Mastzellen und eosinophiler Granulozyten, welche in allergische Reaktionen involviert sind (Piccini et al., 2000). Zusammenfassend weisen all die genannten Effekte auf eine antiinflammatorische Wirkung von Rlx hin.

Neoplasien:

Da die Immunreaktivität von Rlx auch in neoplastischen Zellen der Brustdrüse nachgewiesen wurde, stellte sich die Frage, welchen Einfluss das Peptid auf das Wachstum von Neoplasien der Mamma hat. Rlx wirkte sich bei Mäusen auf die Differenzierung, jedoch nicht auf das Wachstum von Tumorzellen aus (Bani D et al., 1999b). In einer Studie an Patientinnen mit Mammakarzinom zeigte sich ein signifikant

erhöhter Plasma-Rlx-Spiegel bei den Patientinnen mit Metastasen im Vergleich zu denen mit ausschließlich lokalem Tumor (Binder et al., 2004). Experimente mit Prostatakarzinomzellen, die erhöhte H2-Expression aufwiesen, zeigten eine Vergrößerung der Tumormasse und eine gesteigerte Angiogenese (Silvertown et al., 2006). Bezüglich des Endometriumkarzinoms konnte nachgewiesen werden, dass der Grad der Invasivität mit einer höheren Rlx-Expression in vitro assoziiert ist (Kamat et al., 2006).

Kreislauf und Niere:

Das vasodilatatorische Potential von Rlx wurde erstmals von Bani und Bigazzi in den frühen 1980er Jahren in der Brustdrüse von Mäusen (Bani G und Bigazzi, 1984) beschrieben. Später gelang eine Blutdrucksenkung durch Rlx-Infusion bei spontan hypertensiven Ratten (St. Louis und Massicotte, 1985). Es folgten mehrere experimentelle Studien, bei denen an unterschiedlichen Organen eine Rlx-induzierte Vasodilatation nachgewiesen werden konnte (Bigazzi et al., 1986; Bani-Sacchi et al., 1995). In Untersuchungen an Lebersinusoiden und Koronararterien von Ratten wurde dargelegt, dass die Vasodilatation über den NO-Signalweg vermittelt wird (Bani D et al., 1998a; Bani D et al., 2001).

In Bezug auf die Effekte an der Niere, existieren Resultate über eine signifikant reduzierte myogene Aktivität der kleinen renalen Arterien in mit Rlx behandelten Ratten (Novak et al., 2001). Außerdem konnten eine deutliche Vasodilatation der renalen Gefäße, glomeruläre Hyperfiltration und Abschwächung der AT-II-induzierten Reduktion des glomerulären Plasmaflusses durch chronische Rlx-Gabe demonstriert werden (Danielson et al., 1999). Die genannten Effekte zeigten in vitro eine deutliche Empfindlichkeit gegenüber ET-B-Rezeptor-Antagonisten sowie gegenüber NOS-Inhibitoren was auf eine NO-Freigabe über die Aktivierung des ET-B-Rezeptors schließen lässt (Danielson et al., 2000). Die Rolle des ET-B- Rezeptors als Vermittler Rlx-induzierter Vasodilatation wurde in Untersuchungen von Dschietzig et al. näher beleuchtet und die zugrunde liegende Signaltransduktion erläutert. Rlx hemmt die Vasokonstriktion des ET-1 durch Stimulation der Expression endothelialer ET-B-Rezeptoren, welche einerseits die Clearance von ET-1 vermitteln, andererseits vasodilatatorisches NO freisetzen. Weitere Ergebnisse der Studie zeigten, dass Rlx zu einer selektiven ET-B- Stimulation in Endothel- und Epithelzellen führt, nicht jedoch in

glatten Gefäßmuskelzellen. In jenen zeigte sich die Existenz eines ET-B-Rezeptortyps, der zur Vasokonstriktion durch ET-1 führt. An unterschiedlichen Gefäßen der Ratte (Aorta, A. renalis, A. mesenterica) konnte durch eine Vorbehandlung mit Rlx die endothelininduzierte Vasokonstriktion signifikant vermindert werden. Die Signaltransduktion erfolgt dabei über Aktivierung der Kinasekaskade Raf-1-MEK-1-ERK-1/2 und den Transkriptionsfaktor NF-kappaB (Dschietzig, 2003). Rlx übt also über zwei Wege einen antagonistischen Effekt gegenüber des kontrahierenden Effektes des ET-1 aus: Einmal über die Erhöhung der endothelialen ET-B-Rezeptoren, die ihrerseits zu einem verstärkten ET-1-Abbau („Clearance“) führen, zweitens über die endothelabhängige Vasodilatation durch Freigabe von NO und Prostazyklin (Dschietzig, 2003).

Herz:

1992 wiesen Kakouris et al. direkte, von Rlx vermittelte chronotrope und inotrope Effekte auf das Vorhofmyokard von Ratten nach, was von anderen Wissenschaftlern bestätigt werden konnte (Piedras-Renteria, 1997b; Dschietzig et al., 2005b). Es zeigte sich, dass Rlx2 im isolierten Vorhofmyokard von Ratten ein größeres Potential aufwies als ET-1, AT-II, Isoprenalin, Adrenalin, Histamin und Serotonin (Kakouris et al., 1992). Die Kontraktionssteigerung scheint über eine Rlx-induzierte Steigerung der Aktivität und der Dauer und Menge des Kalziumeinstroms in atriale Myozyten zu erfolgen (Piedras-Renteria, 1997a; Piedras-Renteria, 1997b). Die positive Chronotropie entsteht vermutlich über einen dosisabhängigen, cAMP-vermittelten Anstieg der Spontanaktivität des L-Typ-Kalziumkanals (Han et al., 1994). Positive Inotropie auf das Ventrikelmyokard konnte bisher nicht nachgewiesen werden.

2001 wurde erstmals belegt, dass Myozyten und interstitielle Zellen fähig sind Rlx zu produzieren und dass das Peptidhormon ein potentieller kompensatorischer Mediator bei kongestiver Herzinsuffizienz ist (Dschietzig et al., 2001b).

In einer klinischen Studie an Patienten mit kompensierter und dekompensierter Herzinsuffizienz korrelierte die Plasmakonzentration und -expression von H1- und H2-Rlx im Myokard mit dem Schweregrad der Erkrankung. Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz zeigten gegenüber der Kontrollgruppe 4-6-fach erhöhte Rlx-Spiegel, Patienten mit dekompensierter Herzinsuffizienz Plasmarelixin, welches 12-16-fach erhöht war. Bei Letzteren lag der Rlx-Spiegel 2,2-2,6-fach höher als der der Patienten

mit kompensierter Herzinsuffizienz. Die therapeutische Gabe von NPN induzierte eine rasche hämodynamische Verbesserung bei den Patienten mit dekompensierter Herzinsuffizienz, welches dann auch in einem Abfall des Rlx-Spiegels resultierte (Dschietzig et al., 2001).

Die experimentelle Steigerung des enddiastolischen Ventrikeldrucks, welcher bei der Herzinsuffizienz charakteristisch erhöht ist, führte zu einer Up-Regulation der Rlx-Expression im Rattenmodell (Dschietzig, 2002).

Die im Abschnitt Kreislauf und Niere bereits erwähnte Folgestudie (Dschietzig et al., 2003) belegt, dass Rlx als Inhibitor des ET-1, einem der stärksten Vasokonstriktoren in der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz agiert. Neben den oben genannten Mechanismen (Vasodilatation, ET-1 Clearance) wird durch Rlx zusätzlich die AT-II-vermittelte ET-1-Abgabe in pulmonalvaskulären Endothelzellen gehemmt. Die von den Wissenschaftlern aufgezeigte signifikante inverse Korrelation zwischen zirkulierendem ET-1 und Rlx weist auf die potentielle Relevanz des Peptidhormons bei Herzinsuffizienz hin (Dschietzig et al., 2003).

Des Weiteren konnte eine Stimulation der Abgabe von ANP durch Rlx an isolierten Rattenherzen nachgewiesen werden (Toth et al., 1996). Dieser Effekt wird über die Aktivierung der Proteinkinase-C vermittelt. Die Gabe eines Proteinkinase-Inhibitors zu den mit Rlx behandelten Rattenherzen resultierte in einer Abnahme der ANP-Konzentration (Toth et al., 1996). ANP stellt als Antagonist des RAAS einen wichtigen Gegenspieler in der neurohumoralen Regulation bei der Herzinsuffizienz dar.

Wegen Stimulation der NO-Abgabe und der damit zusammenhängenden koronardilatierenden Eigenschaft des Peptids und der angiogenen Wirkung, bietet Rlx möglicherweise auch ein therapeutisches Potential in der Behandlung von Myokardinfarkten. In Experimenten an isolierten Rattenherzen zeigte sich unter anderem eine Minderung zerstörten Gewebes, die Anzahl neutrophiler Granulozyten sank und es traten weniger Arrhythmien auf (Masini et al., 1996).

Tab. 1: Übersicht über die Effekte von Relaxin auf die Organsysteme

Organsystem	Relaxineffekt
Bindegewebe	<ul style="list-style-type: none"> • Induktion der Kollagenase • MMP-Expression↑ • Downregulation von TIMP-1 und -2 • Aktivität profibrotischer Zytokine ↓
Reproduktionsorgane	<ul style="list-style-type: none"> • Umbau des Geburtskanals • Implantation des Embryos • Wachstum und Differenzierung der Mamma und Mamille • Ruptur fetaler Membranen
Gehirn	<ul style="list-style-type: none"> • Beeinflussung der Oxitocinabgabe • ADH↑ • Prolaktin↑ • LH↓ • Reduktion der Infarktgrösse
Lunge	<ul style="list-style-type: none"> • antiasthmatischer Effekt • Mastzellstabilisation • Antifibrotischer Effekt an Basalmembran
Blut	<ul style="list-style-type: none"> • Thrombozytenfreisetzung und –aggregation↓ • Differenzierung von T-Zellen • antiinflammatorischer Effekt
Neoplasien	<ul style="list-style-type: none"> • Differenzierung des Mammakarzinoms
Kreislauf und Niere	<ul style="list-style-type: none"> • Vasodilatation in verschiedenen Geweben • Glomeruläre Filtrationsrate↑ • Renaler Plasmafluss↑ • Antagonist des ET-1
Herz	<ul style="list-style-type: none"> • Positiv inotrop und chronotrop am Vorhofmyokard • kompensatorischer Mediator bei Herzinsuffizienz • ANP↑ • Koronardilatation

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

In dieser offenen Dosisfindungs- und Verträglichkeitsstudie wurde die intravenöse Gabe von rhRlx (H2) bei Patienten mit kompensierter kongestiver Herzinsuffizienz untersucht. Insgesamt wurden 16 Patienten in die Pilotstudie eingeschlossen.

Die Patienten wurden nacheinander eingeschlossen, so dass zu keinem Zeitpunkt mehr als ein Patient mit der Rlx-Infusion behandelt wurde. Drei Gruppen (A, B, C) wurden nacheinander auf die kardiologische Intensivstation der Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte, aufgenommen. Die Gruppeneinteilung erfolgte in der Reihenfolge der Rekrutierung. Gruppe A bestand aus vier Patienten, Gruppe B und C jeweils aus sechs. Allen Personen wurden ein Rechtsherzkatheter (Swan-Ganz-Katheter), ein arterieller und ein peripher-venöser Zugang gelegt. Die Hämodynamik wurde permanent am Monitor aufgezeichnet. Für die 24-stündige Dauer der Rlx-Infusion und die 24-stündige Nachbeobachtungsphase blieben die Studienpatienten auf der ITS. Nach neun Tagen kamen sie zur Nachuntersuchung und Blutentnahme. Nach 30 Tagen folgte eine telefonische Befragung zu Beschwerden innerhalb des letzten Monats.

Die Studie stellt eine Dosis-Eskalations-Studie dar. Der Übergang von Gruppe A zu Gruppe B erfolgte erst nach Auswertung der Sicherheit in Gruppe A. Folglich wurde dann die Dosis für Gruppe B bestimmt. Der Übergang von Gruppe B in Gruppe C erfolgte erst nach Festlegung der höchsten sicheren Dosis in Gruppe B.

Gruppe A

In Gruppe A wurden vier Patienten eingeschlossen (drei Männer und eine Frau), die ein Durchschnittsalter von 74 ± 8 Jahren hatten.

Drei der vier Personen litten an einer Herzinsuffizienz ischämischer Genese, eine an einer Herzinsuffizienz hypertensiver Genese. Die durchschnittliche LVEF lag bei $29 \pm 4\%$. Alle vier Patienten wurden basistherapeutisch mit einem ACE-Hemmer und einem β -Blocker, drei mit einem Diuretikum und einer mit einem Aldosteronantagonisten behandelt.

Die Patienten dieser Gruppe erhielten die folgenden Rlx- Dosierungen:

- Stunde 0 – 8 rhRlx 0,42 µg/kg/hr (10 µg/kg/d)
- Stunde 9 – 16 rhRlx 1,25 µg/kg/hr (30 µg/kg/d)
- Stunde 17 – 24 rhRlx 4,20 µg/kg/hr (100 µg/kg/d)
- Stunde 25 – 48 rhRlx Überwachung (keine Rlx-Infusion)

Die kumulative Gesamtdosis der Gruppe A betrug 47 µg/kg/d.

Gruppe B

In Gruppe B wurden sechs Patienten (sechs Männer) im Durchschnittsalter von 60±13 Jahren eingeschlossen. Davon litten zwei Personen an einer Herzinsuffizienz ischämischer Genese, drei an einer durch DCMP hervorgerufenen Herzinsuffizienz und einer an einer Herzinsuffizienz hypertensiver Genese. Die durchschnittliche LVEF betrug bei dieser Gruppe 26±3%. Fünf Patienten hatten als orale Basismedikation einen β-Blocker, drei einen ACE-Hemmer, vier ein Diuretikum, zwei einen Aldosteronantagonisten, einer einen AT-II-Rezeptorblocker und einer einen Ca-Kanal-Blocker.

Die Patienten der Gruppe B wurden mit den folgenden Rlx-Dosierungen behandelt:

- Stunde 0 – 8 rhRlx 10 µg/kg/hr (240 µg/kg/d)
- Stunde 9 – 16 rhRlx 20 µg/kg/hr (480 µg/kg/d)
- Stunde 17 – 24 rhRlx 40 µg/kg/hr (960 µg/kg/d)
- Stunde 25 – 48 rhRlx Überwachung (keine Rlx-Infusion)

Die kumulative Gesamtdosis der Gruppe B betrug 560 µg/kg/d.

Gruppe C

In die Gruppe C wurden sechs Patienten (sechs Männer) im Durchschnittsalter von 68±10 Jahren eingeschlossen. Fünf Personen litten dabei an einer Herzinsuffizienz ischämischer Genese und einer an einer durch DCMP hervorgerufenen Herzinsuffizienz. Die mittlere LVEF betrug in dieser Gruppe 24±3%. Fünf Patienten hatten als orale Basismedikation einen β-Blocker, vier einen ACE-Hemmer, alle sechs ein Diuretikum, drei einen Aldosteronantagonisten, drei einen AT-II-Rezeptorblocker

und zwei einen Ca-Kanal-Blocker.

Die Patienten der Gruppe C wurden mit der folgenden kontinuierlichen Rlx-Dosierung behandelt:

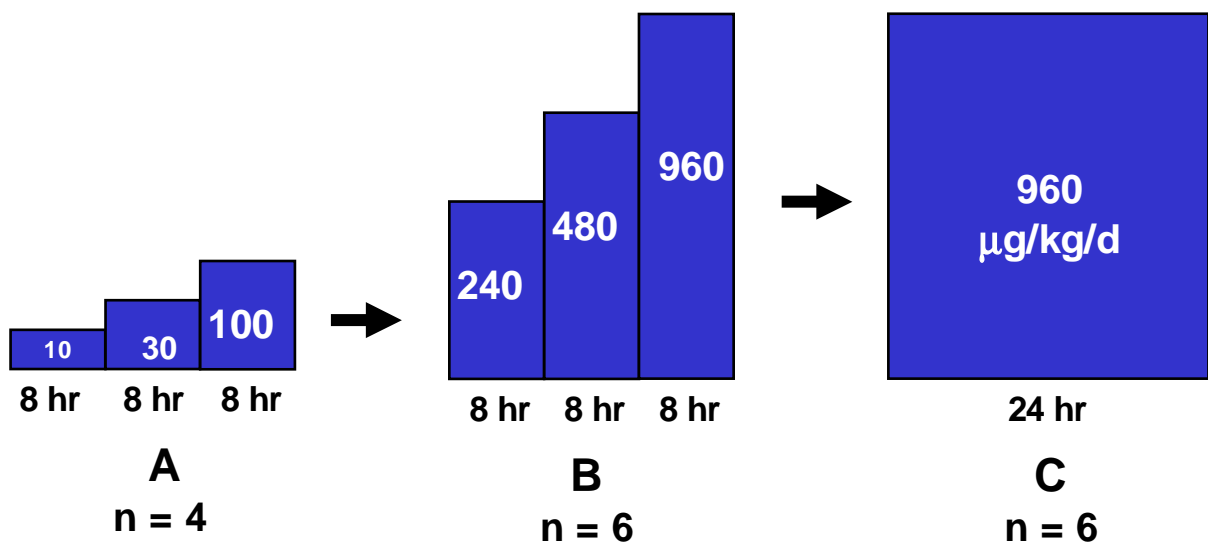
- Stunde 0 – 24 rhRlx 40 µg/kg/hr (960 µg/kg/d)
- Stunde 25 – 48 rhRlx Überwachung (keine Rlx-Infusion)

Die kumulative Gesamtdosis der Gruppe C betrug 960 µg/kg/d.

Vor, während und nach der Infusion wurden in allen drei Gruppen hämodynamische Messungen durchgeführt.

Als Abbruchkriterium galt ein MAP < 60 mmHg oder der Abfall des CI um mehr als 20% des Ausgangswertes. Dieser Fall ist bei keinem der Patienten eingetreten.

Abb. 2: Übersicht über die Dosisgruppen



2.2 Patientenkollektiv

In die klinische Studie wurden Männer und Frauen mit einem Mindestalter von 18 Jahren eingeschlossen, welche an kompensierter kongestiver Herzinsuffizienz litten. Zur Vermeidung etwaiger Beeinflussungen der Rlx-Spiegel während unterschiedlicher

Phasen des Menstruations-Zyklus der Frau wurden nur postmenopausale Frauen eingeschlossen, bei denen der Eintritt in die Menopause mindestens sechs Monate zurück lag.

2.2.1 Einschlusskriterien

Die Patienten mussten alle der nachfolgenden Kriterien erfüllen, um in die Studie eingeschlossen zu werden:

- Männer und postmenopausale Frauen. Postmenopausal wurde definiert als Amenorrhoe, die mindestens seit sechs Monaten besteht.
- Herzinsuffizienz Grad NYHA II-III, der eine ischämische oder hypertensive kardiale Erkrankung oder eine dilatative Kardiomyopathie (DCMP) zu Grunde liegt.
- LVEF<35%, welche in einer echokardiographischen Untersuchung oder Kontrast-Ventrikulographie innerhalb der letzten sechs Monate bestimmt wurde.
- Etablierte orale Medikation zur Behandlung der Herzinsuffizienz, die voraussichtlich während der gesamten Studie nicht verändert werden musste.
- Bereitschaft und Fähigkeit den Instruktionen und den Abläufen der Studie zu folgen.
- Die Fähigkeit die Bereitschaftserklärung zu verstehen und zu unterschreiben.

2.2.2 Ausschlusskriterien

Die folgenden Kriterien führten zum Ausschluss aus der Studie:

- PCWP<16 mmHg.
- CI>2,5 L/min/m².
- Akutes Koronarsyndrom (innerhalb der letzten vier Wochen), Herzinfarkt oder Herzoperation (innerhalb der letzten sechs Monate).
- Akute Dekompensation der Herzinsuffizienz.
- Hypotonie bei SBP von <85 mmHg bei der Basismessung.
- Relevante (> Grad II) Herzklappenerkrankung (außer relative Mitralinsuffizienz)
- Obstruktive oder restriktive Kardiomyopathie.
- Kürzliche Episode von ventrikulärer Tachykardie oder Kammerflimmern.

- Kürzlicher ischämischer oder embolischer Hirninfarkt.
- Niereninsuffizienz mit einem Plasmakreatinin > 2,0 mg/dL.
- Leberschädigung (Transaminasen und/oder totales Bilirubin > 2,5-fach höher als obere Normgrenze).
- Aktuelle Behandlung mit einem ET-1-Antagonisten.
- Elektrokardiographisch nachgewiesene Abnormalitäten: PQ-, QRS-, QT-Verlängerungen, AV-Block ersten, zweiten oder dritten Grades.
- Gebärfähige Frauen.
- Schwangerschaft oder Laktation.
- Drogen- oder Alkoholmissbrauch.
- Unfähigkeit die Studieninstruktionen zu verstehen.
- Bekannte Allergie oder Hypersensitivität auf Rlx.
- Maligne Neoplasie innerhalb der letzten fünf Jahre.
- Rlx-Gebrauch innerhalb der letzten 30 Tage.
- Diabetische Retinopathie.
- Endometriose.
- Anderweitige signifikante Auffälligkeiten in körperlicher- und/oder Laboruntersuchung.

2.3 Prozeduren

2.3.1 Voruntersuchung und Aufnahme

Die Voruntersuchungen der Patienten fanden innerhalb von 28 Tagen vor dem Start der Rlx-Infusion statt. Eine schriftliche Einwilligungserklärung musste vorliegen, bevor mit den Untersuchungen begonnen wurde. Es wurden dann eine vollständige Anamnese inklusive Medikamenteneinnahme und eine körperliche Untersuchung inklusive Größen-, Gewichts-, Blutdruck-, Temperatur- und Atemfrequenzmessung durchgeführt. Außerdem wurde ein Standard-12-Kanal-EKG in Ruhe, eine Nüchtern-Blutentnahme für klinische Chemie und Hämatologie und eine Urinanalyse durchgeführt. Die Ein- und Ausschlusskriterien wurden überprüft.

Am Aufnahmetag wurden die Untersuchungen wiederholt und die Ein- und Ausschlusskriterien erneut überprüft. Die Patienten erhielten einen Rechtsherzkatheter (Swan-Ganz), eine peripher-venöse- und eine arterielle Verweilkanüle. Zusätzlich wurden Laborproben zur Bestimmung des Serum-NT-pro-BNP entnommen.

2.3.2 Häodynamische Parameter

Die untersuchten häodynamischen Parameter waren:

- CO und CI
- PCWP
- SBP, DBP, HR
- PAP
- RAP
- SVR
- PVR

Vor dem Start der Infusion (innerhalb von 20 min) wurden bei jedem Patienten drei Ausgangs-(Basis-)messungen durchgeführt.

In Gruppe A und B erfolgten außerdem Messungen zu den folgenden Zeitpunkten: 1, 4, 8, 9, 12, 16, 17, 20 und 24 Stunden nach Start der Infusion.

In Gruppe C erfolgten die Messungen neben den drei Basismessungen zu den Zeitpunkten: 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16, 20 und 24 Stunden nach dem Start der Infusion.

In der 24-stündigen Nachbeobachtungszeit erfolgten in allen drei Gruppen häodynamische Messungen zu den Zeitpunkten: 1, 2, 3, 4, 8 und 24 Stunden nach dem Start der Infusion.

2.3.3 Neurohormonale Messungen

Die neurohormonalen Messungen beinhalteten die Bestimmung der Serumspiegel von:

- NT-pro-BNP.

Diese erfolgten bei allen drei Gruppen zu den Zeitpunkten:

- Aufnahme
- 8, 16 und 24 Stunden nach dem Start der Infusion.
- 2, 8 und 24 Stunden nach Beenden der Infusion.
- Bei Nachuntersuchung am Tag 9.

2.3.4 Sicherheitsmessungen

2.3.4.1 Unerwünschte Ereignisse

Ein unerwünschtes Ereignis wurde definiert als unerwünschte, nachteilige oder pathologische Veränderung des Studienpatienten. Diese wurden durch körperliche Symptome und/oder klinisch signifikante Veränderungen der Laborparameter (klinische Chemie, Hämatologie, Urinanalyse) identifiziert.

Die unerwünschten Ereignisse wurden in die vier folgenden Schweregrade eingeteilt:

Grad 1 = Mild

- Flüchtliges nicht behandlungsbedürftiges Symptom.
- Keine Beeinträchtigung des aktuellen Gesundheits- und Aktivitätszustandes.
- Asymptomatische tolerierbare Veränderungen der Laborparameter.

Grad 2 = Moderat

- Klinische Symptome oder Veränderungen der Laborparameter, welche leicht behandelbar sind, jedoch den aktuellen Gesundheitszustand beeinträchtigen.

Grad 3 = Schwer

- Klinische Symptome oder Veränderungen der Laborparameter, welche gewohnte Tätigkeiten unmöglich machen und interventionsbedürftig

sind.

Grad 4 = Sehr schwer

- Klinische Symptome oder Veränderungen der Laborparameter, welche Notfallversorgung bedürfen oder lebensbedrohlich sind.

2.3.4.2 *Vitalparameter*

Folgende Vitalparameter wurden gemessen:

- BP
- HR
- RR
- T

In Gruppe A und B erfolgten die Messungen neben den Basismessungen zu folgenden Zeitpunkten:

- Stunde 0-8: 15 min., 30 min., 2, und 8 (vor der ersten Dosisescalation) Stunden nach dem Start der Infusion.
- Stunde 9-16: 8,25, 8,5, 10, und 14 Stunden nach dem Start der Infusion.
- Stunde 17-24: 16,25, 16,5, 18, und 22 Stunden nach dem Start der Infusion.

In Gruppe C erfolgten die Messungen neben den Messungen bei Aufnahme zu den folgenden Zeitpunkten:

- Während der 24-stündigen Infusion um 15 min., 30 min., 2, 6, 10, und 22 Stunden nach dem Start der Infusion.

In allen drei Gruppen erfolgten weitere Messungen der Vitalparameter um 15 min. und 30 min. nach Beenden der Infusion, sowohl am Nachuntersuchungstag 9.

2.3.4.3 *Körperliche Untersuchung*

Eine vollständige körperliche Untersuchung inklusive Größen-, Gewichts-, Blutdruck-,

Temperatur- und Atemfrequenzmessung wurde in der Voruntersuchung, bei Aufnahme und am Nachuntersuchungstag 9 durchgeführt.

2.3.4.4 EKG

Zu den folgenden Zeitpunkten wurde ein 12-Kanal-Standard-EKG mit den Extremitätenableitungen nach Einthoven und Goldberger und Brustwandableitungen nach Wilson geschrieben:

- Bei der Voruntersuchung und bei Aufnahme.
- 4, 12 und 24 Stunden nach dem Start der Infusion.
- Bei der Nachuntersuchung am Tag 9.

2.3.4.5 Laboruntersuchungen

Hämatologie: Vollständiges Differentialblutbild, inklusive Hb, Hämatokrit, Erythrozyten, Leukozyten und Lymphozyten. Blutprobenentnahmen für Hämatologie erfolgten zu folgenden Zeitpunkten:

- Bei der Voruntersuchung und bei Aufnahme.
- 24 Stunden nach dem Start der Infusion.
- 24 Stunden nach Beenden der Infusion.
- Am Nachuntersuchungstag 9.

Klinische Chemie: Natrium, Kalium, Chlorid, Bikarbonat, Phosphat, Kreatinin Phosphokinase, Triglyceride, Cholesterin, Glukose, Harnstoff, Harnsäure, Bilirubin, Calcium, Totalprotein, Albumin, ALAT, ASAT und AP. Blutprobenentnahmen für klinische Chemie erfolgten zu folgenden Zeitpunkten:

- Bei der Voruntersuchung und bei Aufnahme.
- 8, 16 und 24 Stunden nach dem Start der Infusion.
- 2, 8 und 24 Stunden nach Beenden der Infusion.
- Am Nachuntersuchungstag 9.

Urinanalyse: Spezifisches Gewicht, pH, Farbe, Glukose, Bilirubin, Protein, Erythrozyten und mikroskopische Untersuchung. Urinanalysen erfolgten zu folgenden

Zeitpunkten:

- Bei der Voruntersuchung und bei Aufnahme.
- Am Nachuntersuchungstag 9.

2.3.4.6 *Telefonische Befragung*

Am Tag 32 wurde eine telefonische Befragung bezüglich unerwünschter Ereignisse während des letzten Monats durchgeführt.

2.4 **Instrumentation und Blutprobenentnahmen**

2.4.1 **Rechtsherzkatheter**

Alle 16 Patienten erhielten unter Durchleuchtungskontrolle einen Rechtsherzkatheter (Swan-Ganz-Katheter), welcher der transvenösen Sondierung der rechten Herzhälfte und der Pulmonalisstrombahn dient.

Die Anlage erfolgte über die transkutane Punktion der Vena jugularis oder Vena subclavia mittels der Seldinger-Technik. Bei dieser Technik wird ein elastischer Führungsdraht durch eine liegende Kanüle in das Gefäß eingeführt. Nach dem Entfernen der Kanüle kann über die Führungssonde ein röntgen-positiver Katheter vorgeschoben werden. Durch einen aufblasbaren Ballon an der Spitze des Katheters wird dieser als Einschwemmkatheter mit dem Blutstrom über den rechten Ventrikel in die Pulmonalarterie getragen. Auf den unterschiedlichen Wegstrecken des rechten Herzens können nach Entfernen des Führungsdrahtes verschiedene hämodynamische Parameter bestimmt werden: Der RAP wird auf Höhe des rechten Vorhofes, der enddiastolische rechtsventrikuläre Druck auf Höhe des rechten Ventrikels gemessen. Durch vorübergehende Blockung des Ballons an der Katheterspitze kann durch Verschluss der Pulmonalarterie distal des Ballons der PCWP gemessen werden, welcher näherungsweise dem Druck im linken Vorhof entspricht. Nach Ablassen der Luft aus dem Ballon wird kontinuierlich die pulmonalarterielle Druckkurve aufgezeichnet.

Das HZV wurde mittels Thermodilutionsmethode erfasst. Dabei wird ein 10ml Bolus

einer $<10^{\circ}\text{C}$ gekühlten isotonen Kochsalzlösung rasch über den proximalen Schenkel des Katheters in den rechten Vorhof injiziert. Der Temperaturunterschied wird durch einen an der Spitze des Ballonkatheters angebrachten Thermistor registriert und elektronisch verarbeitet. Das aufgezeichnete Integral ist umgekehrt proportional zum Volumenfluss hinter dem Thermistor. Anhand der Temperatur von Injektionslösung und Pulmonalarterienblut lässt sich das HZV in Liter pro Minute (l/min) berechnen.

2.4.2 Arterielle Katheterisierung

Der Blutdruck wurde bei allen Patienten kontinuierlich über die invasive Methode durch arterielle Katheterisierung aufgezeichnet. Bei dieser Methode erfolgt die Punktion der A. radialis mit anschließender Anlage eines Katheters, welcher mittels eines Kathetertipmanometers den SBP, den DPB und den MAP misst. Über den arteriellen Katheter wurden außerdem nach den im Studienprotokoll vorgegebenen Zeiten die Blutproben für die Bestimmung von klinischer Chemie, Hämatologie, Rlx, Anti-Rlx-Antikörper, BNP und zur Blutgasanalyse entnommen.

2.4.3 Periphervenöse Verweilkanüle

Über die periphervenöse Verweilkanüle wurde über 24 Stunden die Rlx-Infusion appliziert.

2.5 rhRlx

Das Studienmedikament wurde in Ampullen (3,5 ml Inhalt) mit einer Konzentration von 4,07 mg/mL gelöst in einer sterilen Acetatpufferlösung bereitgestellt.

Die Herstellung erfolgte mittels rekombinanter DNA-Technologie und wurde von der Firma Corthera Inc. (San Mateo, California, USA) bereitgestellt. Das rhRlx ist mit dem H2-Rlx identisch. Die Halbwertszeit von rhRlx liegt bei Menschen unter 10 Minuten.

2.6 Statistische Auswertung

Die angegebenen Daten sind als Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) präsentiert. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit für einen Fehler 1. Art von $p < 0,05$ wird als signifikant angesehen. Die Ausgangswerte der Teilnehmer wurden mittels Kruskal-Wallis-ANOVA und dem Test nach Dunn verglichen. Unterschiede innerhalb der einzelnen Gruppen (Hämodynamik, renale Parameter, NT-pro-BNP) wurden zunächst mit dem Friedmann-Test (Friedman Repeated Measures Analysis of Variance on Ranks) analysiert und anschließend mit dem Dunnett-Test bearbeitet um den Vergleich gegen die Ausgangswerte vorzunehmen.

3. Ergebnisse

3.1 Studienpatienten

3.1.1 Patienten und Protokoll

Insgesamt wurden 16 Patienten in die Studie eingeschlossen. Vier in Gruppe A und jeweils sechs in die Gruppen B und C. Alle 16 Patienten (100%) erhielten die Rlx-Infusion, und alle 16 Patienten haben die Studie vollendet.

3.1.2 Demographie

Die Studienpopulation bestand fast ausschließlich aus Männern, mit Ausnahme einer Frau in Gruppe A. Tab. 2 fasst die demografischen und anthropometrischen Daten der Studienpatienten zusammen.

Tab. 2: Demographie und Anthropometrie

Variable	Gruppe A (N=4)	Gruppe B (N=6)	Gruppe C (N=6)
Alter [Jahre]	75,2 ± 7,1	60,8 ± 10,0	69,0 ± 5,6
Geschlecht, N (%) männlich	3 (75,0)	6 (100,0)	6 (100,0)
Rasse, N (%) Kaukasier	4 (100,0)	6 (100,0)	6 (100,0)
Gewicht[kg]	76,3 ± 16,9	91,1 ± 12,1	83,7 ± 11,1
Größe [cm]	167,3 ± 12,0	176,8 ± 5,8	171,0 ± 3,0

3.2 Studienprozeduren

3.2.1 Voruntersuchung und Aufnahme

3.2.1.1 Hämodynamik bei Aufnahme

In Tab. 3 sind die Ausgangswerte der hämodynamischen Parameter der Studienteilnehmer bei Aufnahme zusammengefasst.

Gruppe A zeigte dabei insgesamt weiter von der Norm abweichende Werte als die anderen beiden Gruppen. Die hämodynamischen Parameter der Gruppe B wichen insgesamt am wenigsten von der Norm ab.

Gruppe B hatte signifikant niedrige Werte des SVR als Gruppe A. Gruppe C hatte signifikant höhere PVR-Werte als Gruppe B.

Tab. 3: Hämodynamische Parameter bei Aufnahme

Parameter	Gruppe A (N=4)	Gruppe B (N=6)	Gruppe C (N=6)
<i>CI (l/min/m²)</i>	2,1±0,2	2,3±0,1	2,1±0,1
<i>PCWP (mm Hg)</i>	20±1	19±2	20±2
<i>SBP (mm Hg)</i>	128±9	109±5	118±8
<i>HR (Schläge/min)</i>	71±6	68±2	66±5
<i>MPAP (mm Hg)</i>	30±1	27±2	33±4
<i>RAP (mm Hg)</i>	8±2	12±2	10±2
<i>SVR (dynes*sek/cm⁵)</i>	1518±134	1010±52*	1254±98
<i>PVR (dynes*sek/cm⁵)</i>	194±34	128±12	267±69*

*Signifikanz (P<0,05)

3.2.1.2 Komedikation

Alle Patienten wurden vor, während und nach der Studie mit mindestens einem oralen

Basismedikament zur Therapie der Herzinsuffizienz und anderer Vorerkrankungen behandelt. Die meist verwendeten Medikamente waren: Thrombozytenaggregationshemmer (100%), Diuretika (100%) und Medikamente, welche in das RAAS eingreifen (94%). Einen Überblick über die Medikamente, die jeweils von über 50% der Studienpatienten eingenommen wurden gibt Tab. 4.

Tab. 4: Komedikamente, die von über 50 % aller Patienten eingenommen wurden

Klasse/Wirkstoff	Anzahl (%) der Patienten		
	Gruppe A (N=4)	Gruppe B (N=6)	Gruppe C (N=6)
<i>Anti-Thrombose</i>	4 (100)	6 (100)	6 (100)
ASS	4 (100)	2 (33)	4 (67)
Heparin	4 (100)	5 (83)	6 (100)
Phenprocoumon	3 (75)	3 (50)	2 (33)
Clopidogrel	2 (50)	2 (33)	3 (50)
Fraktioniertes Heparin	2 (50)	3 (50)	3 (50)
<i>Beta Blocker</i>	4 (100)	6 (100)	6 (100)
Metoprolol	2 (50)	6 (100)	4 (67)
<i>Diuretika</i>	4 (100)	6 (100)	6 (100)
Torasemid	1 (25)	4 (67)	5 (83)
Hydrochlorothiazid	2 (50)	2 (33)	3 (50)
Spironolacton	1 (25)	3 (50)	3 (50)
Eplerenon	0 (0)	3 (50)	0 (0)
<i>Wirkstoffe mit Einfluss auf das RAAS</i>	4 (100)	5 (83)	6 (100)
Ramipril	4 (100)	4 (67)	3 (50)
<i>Antibiotika</i>	4 (100)	5 (83)	5 (83)
Flucloxacillin	4 (100)	5 (83)	4 (67)
<i>Antiarrhythmika</i>	2 (50)	4 (67)	3 (50)
Digitoxin	1 (25)	3 (50)	2 (33)
<i>Serumlipidsenker</i>	3 (75)	2 (33)	4 (67)
Atorvastatin	2 (50)	2 (33)	3 (50)
<i>Antacida</i>	2 (50)	2 (33)	4 (67)
Esomeprazol	1 (25)	2 (33)	3 (50)
<i>Mineralien</i>	2 (50)	1 (17)	2 (33)
Kalium	2 (50)	1 (17)	2 (33)
<i>Hustenlöser</i>	3 (75)	1 (17)	0 (0)
Acetylcysteine	3 (75)	0 (0)	0 (0)

3.2.2 Rlx-Infusion

3.2.2.1 *Hämodynamik*

3.2.2.1.1 *CI*

Die Änderungen des CI von der Basismessung sind für alle Dosisgruppen in Abb. 3 dargestellt.

In den Gruppen A und B wurde der größte mittlere Anstieg des CI vom Ausgangswert während der letzten 8 Stunden der Infusion dokumentiert. In Gruppe A lag dieser bei 0,4 L/min/m², in Gruppe B bei 0,5 L/min/m². Gruppe B hat dabei einmal Signifikanz erreicht, in Gruppe A zeigt sich nur eine Tendenz, welche nicht signifikant ist.

Die Anstiege des mittleren CI in Gruppe C überstiegen solche der Gruppen A und B zu jedem Messpunkt. Dabei lag der größte mittlere Anstieg bei 0,8 L/min/m². Dieser wurde im letzten Drittel der Infusion aufgezeichnet.

Abb. 3: Herzindex

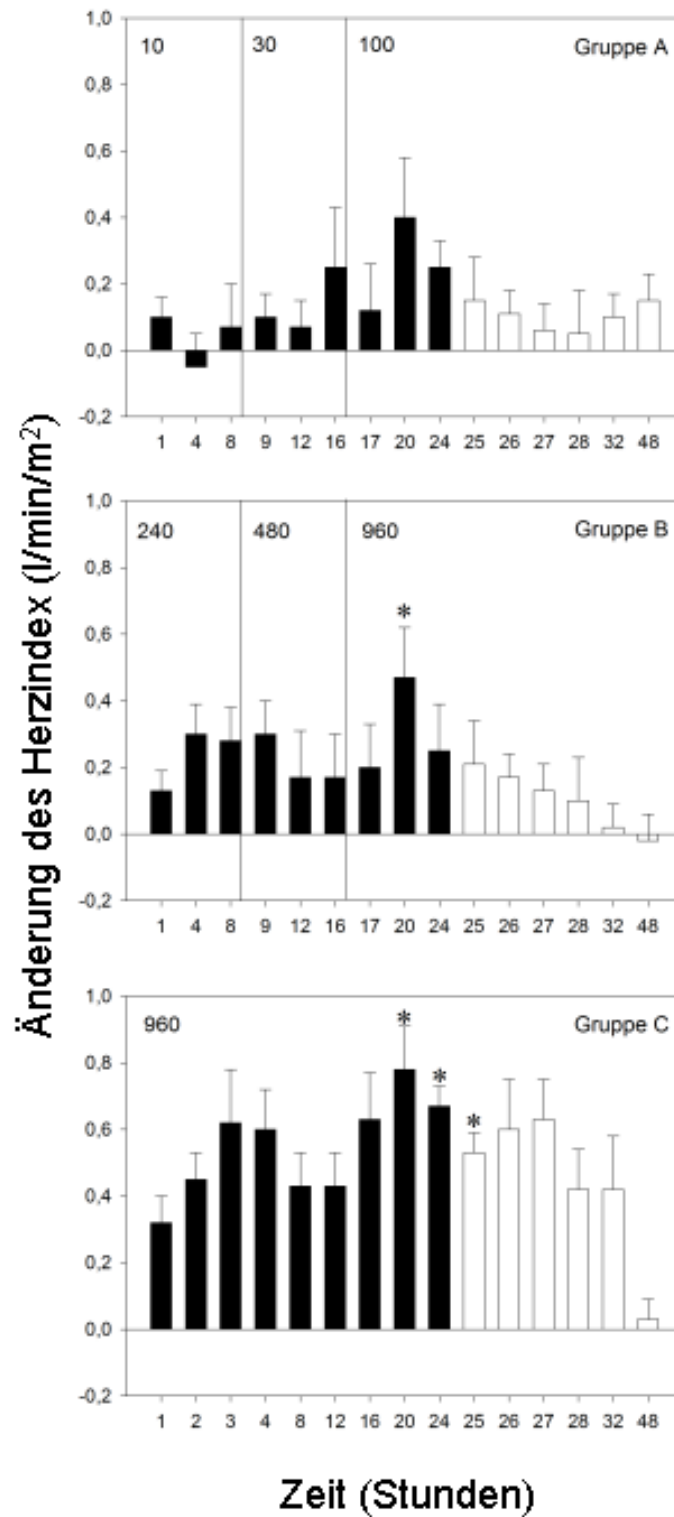


Abb. 3: Änderungen des CI von den Basismessungen während und nach der Rlx-Infusion.

*Signifikanz ($P < 0,05$)

3.2.2.1.2 Pulmonalkapillärer Verschußdruck (PCWP)

Abb. 4 zeigt die Änderungen des PCWP von der Basismessung aller drei Dosisgruppen während des Beobachtungszeitraumes.

Gruppe A zeigt ab Dosierungen von 0,42µg/kg/hr Abfälle des PCWP. Diese halten sich über die Dosierung von 4,20µg/kg/hr bis in die Nachbeobachtungszeit. Signifikant waren diese bei 16, 20 und 26 Stunden nach Start der Infusion.

Gruppe B wich bei keiner Dosierung signifikant von den Werten in der Ausgangsmessung ab.

Gruppe C zeigte im Vergleich bei konstanter Dosierung von 40µg/kg/hr Abfälle des PCWP von bis zu 20% zur Basismessung. Signifikant waren diese bei 12 und 20 Stunden nach Beginn der Infusion. Auffällig ist in Gruppe C der tendenzielle Anstieg des PCWP bis auf einen Mittelwert von 2,5 mmHg über die Basismessung innerhalb der 24-stündigen-Nachbeobachtungsperiode.

Abb. 4: Pulmonaler Kapillärer Verschlussdruck

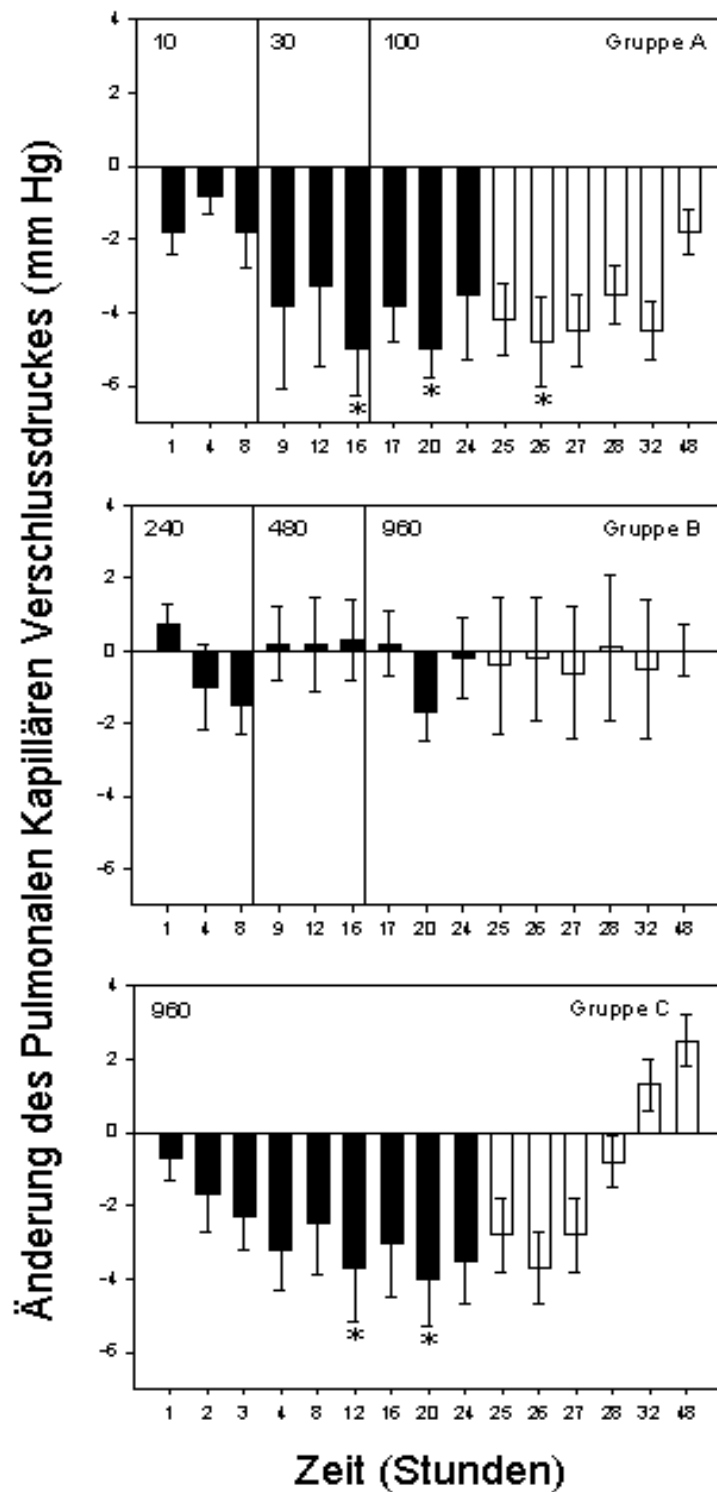


Abb. 4: Änderungen des PCWP von den Basismessungen während und nach der Rlx-Infusion.

*Signifikanz ($P < 0,05$)

3.2.2.1.3 SVR

Abb. 5 zeigt die Änderungen des SVR von der Basismessung aller drei Dosisgruppen während des Beobachtungszeitraumes.

In Gruppe A zeigt sich ein tendenzieller Abfall des SVR, Signifikanz wird jedoch nicht erreicht.

Gruppe B weist initial einen Abfall des SVR auf. Auf dem zweitem Dosisniveau kann man aber wieder eine Rückkehr zu den Basalwerten beobachten. Danach kommt es wieder zu einem tendenziellen Abfall und in der Nachbeobachtungszeit zur Rückkehr zu den Ausgangswerten. Keiner der Abfälle in Gruppe B erreicht Signifikanz.

Gruppe C zeigt konstante Abfälle des SVR schon ab einer Stunde nach dem Start der Infusion.

signifikant sind diese bei 16, 20 und 24 Stunden. Danach erfolgte langsam die Rückkehr zu den Ausgangswerten.

Abb. 5: Systemischer Vaskulärer Widerstand

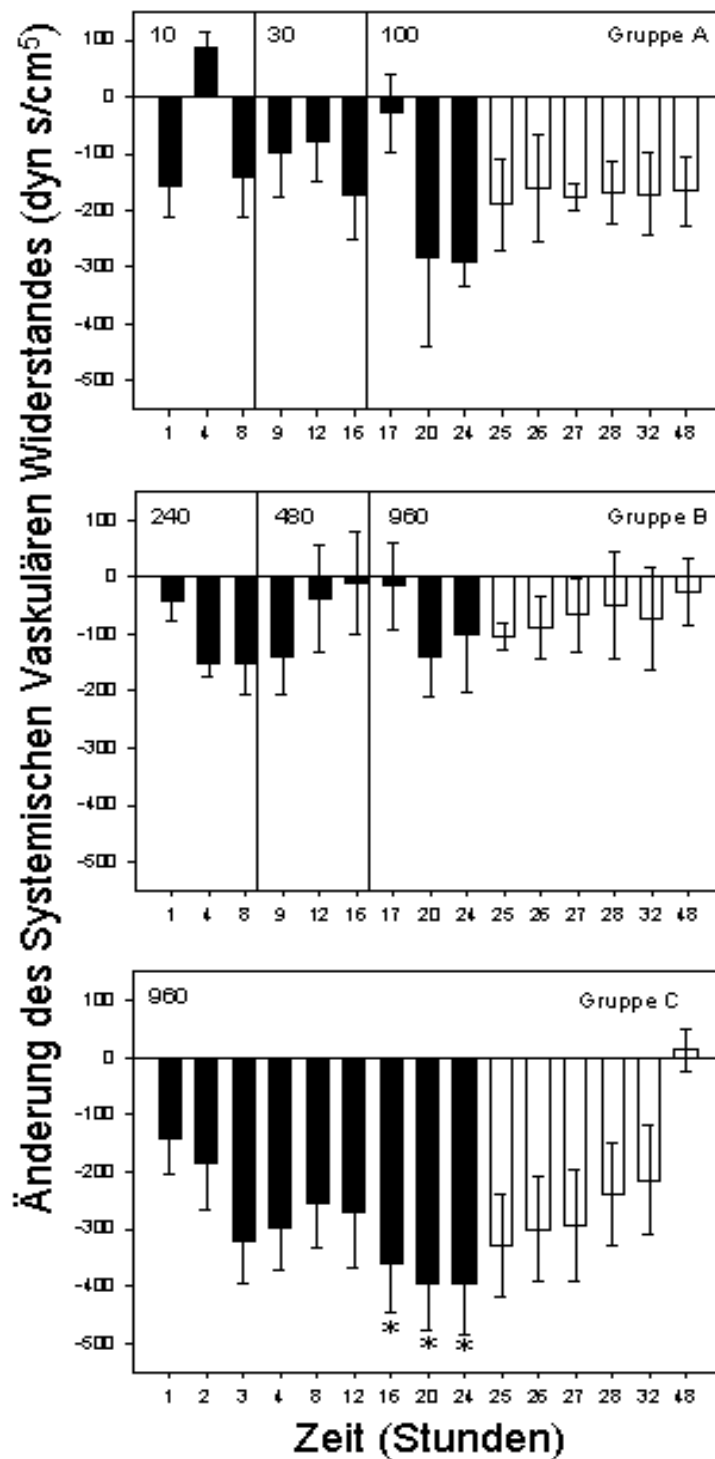


Abb. 5: Änderungen des SVR von der Basismessung während und nach der Infusion
*Signifikanz ($P < 0,05$).

3.2.2.1.4 SBP

Abb. 6 zeigt die Änderungen des SBP von der Basismessung in allen drei Dosisgruppen während des Beobachtungszeitraumes.

Insgesamt traten keine signifikanten Änderungen auf. Die Tendenz zu einem SBP-Abfall in Gruppe A ist auf den niedrigen SBP bei einem der vier Patienten zurückzuführen.

Abb. 6: Systolischer Blutdruck

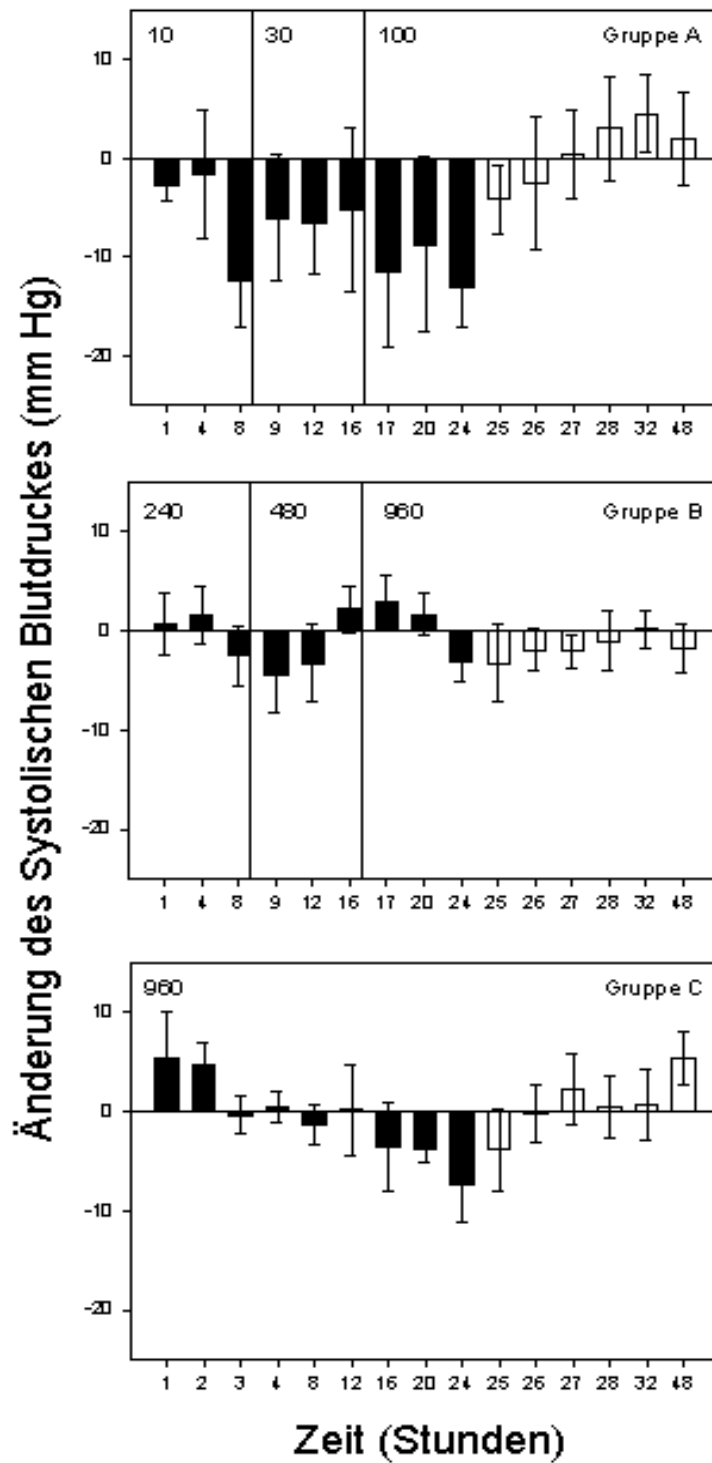


Abb. 6: Änderungen des SBP von der Basismessung während und nach der Infusion
 *Signifikanz ($P < 0,05$).

3.2.2.1.5 *HR*

Abb. 6 zeigt die Änderung der HR von der Basismessung in allen drei Dosisgruppen während des Beobachtungszeitraumes.

Es traten keinerlei signifikante Änderungen der HR auf.

Abb. 7: Herzfrequenz

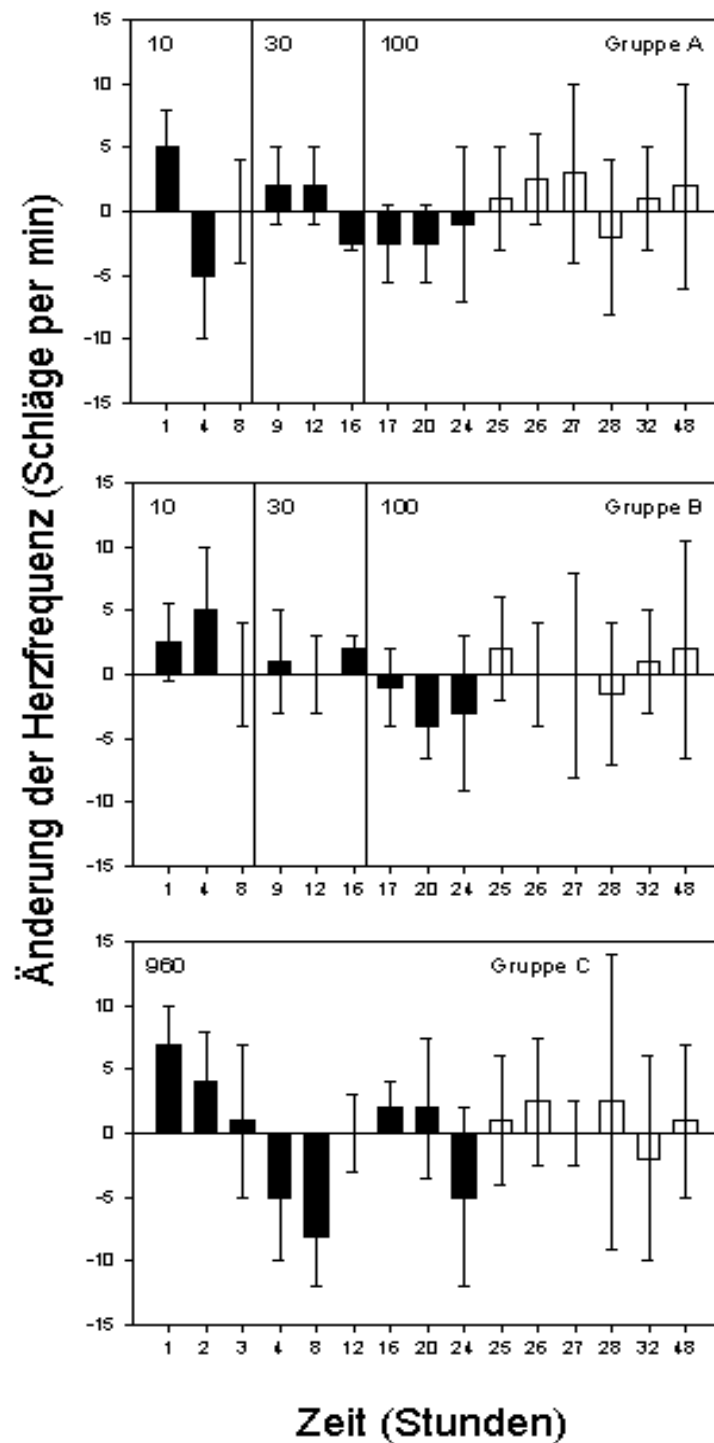


Abb. 7: Änderungen der HR von der Basismessung während und nach der Infusion.
 *Signifikanz ($P < 0,05$).

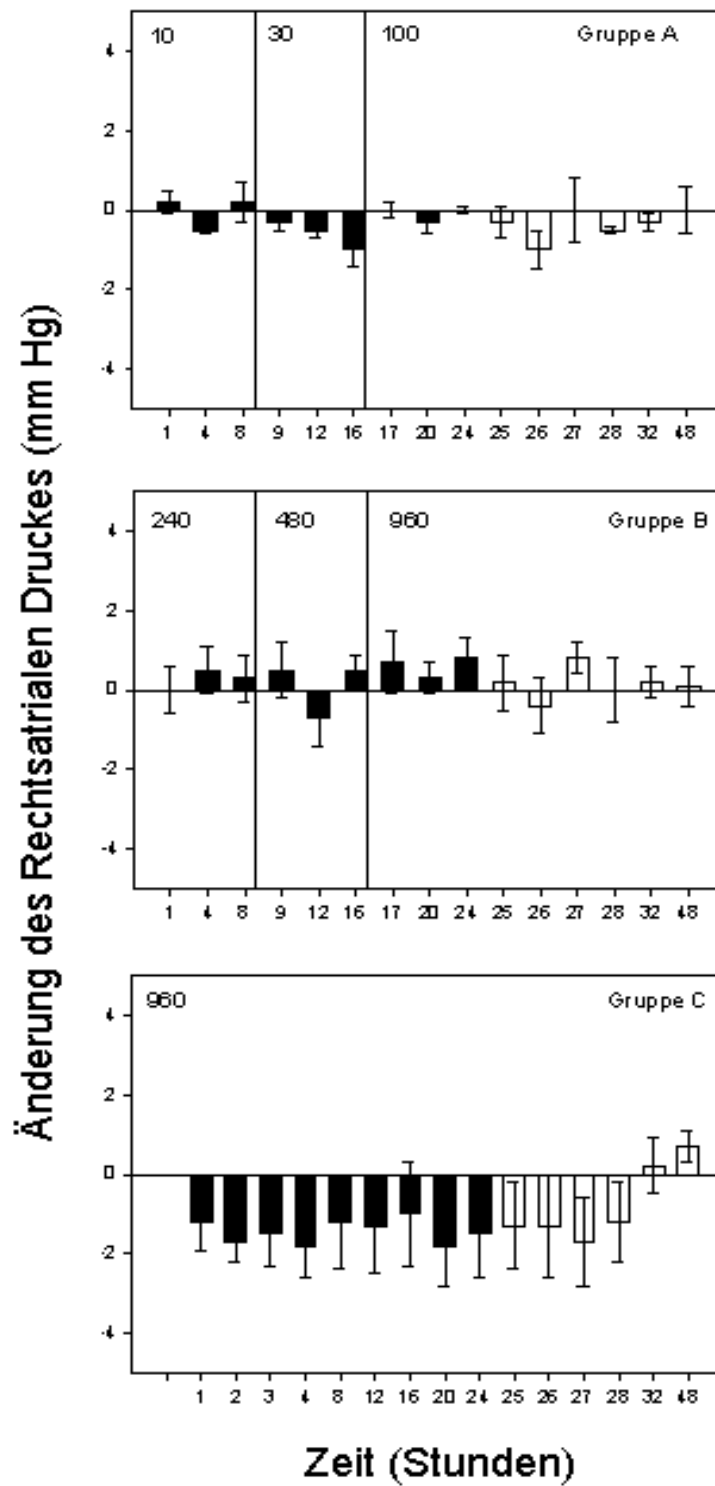
3.2.2.1.6 *RAP, PVR*

Die Abbildungen 8 und 9 zeigen die Änderungen des RAP und des PVR von der Basismessung aller drei Dosisgruppen während des Beobachtungszeitraumes.

Es konnten keine signifikanten Änderungen des RAP in den drei Gruppen beobachtet werden (Abb. 8).

Der PVR zeigte in den Gruppen A und B keine signifikanten Änderungen, in Gruppe C jedoch signifikante Abfälle zu den Zeitpunkten 16, 20 und 24 Stunden nach Infusionsbeginn.

Abb. 8: Rechtsatrialer Druck



**Abb. 8: Änderungen des RAP von der Basismessung während und nach der Infusion.
*Signifikanz ($P < 0,05$).**

Abb. 9: Pulmonalvaskulärer Widerstand

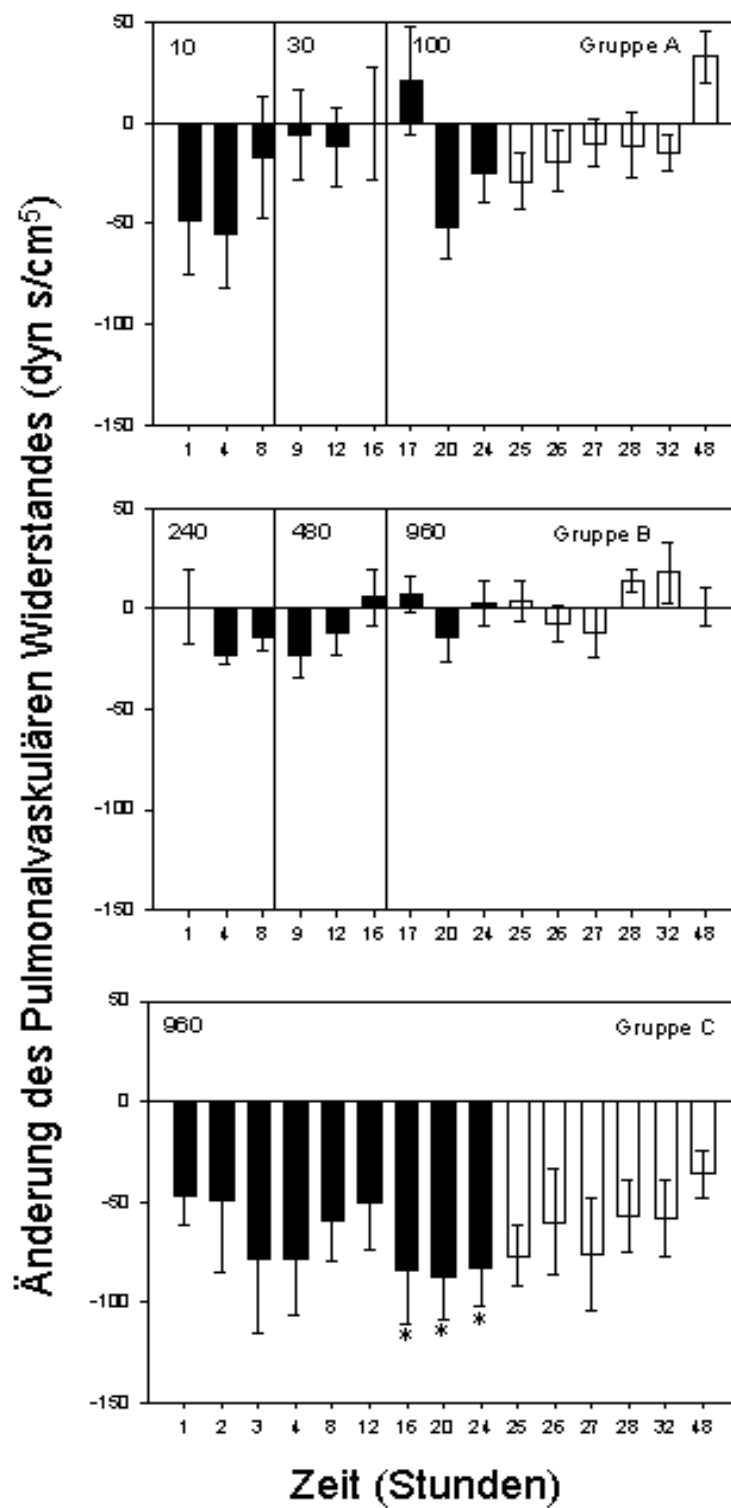


Abb. 9: Änderungen des PVR von der Basismessung während und nach der Infusion.

*Signifikanz ($P < 0,05$).

3.2.2.2 Renale Parameter

Tab. 5 zeigt die Basalwerte der renalen Parameter der drei Gruppen. Obwohl die Werte in Gruppe C tendenziell eine stärkere Einschränkung der Nierenfunktion anzeigen, erreichte dieser Unterschied keine statistische Signifikanz.

Tab. 5: Basismessung der Renalen Parameter

	Gruppe A (N=4)	Gruppe B (N=6)	Gruppe C (N=6)
Kreatinin (mg/dl)	1,08±0,13	1,19±0,10	1,46±0,16
Harnstoff (mg/dl)	39±7	47±8	72±12
eGFR (ml/min)	70±12	78±10	48±10

Abb. 10 zeigt die Änderungen des Serum-Kreatinins von der Basismessung in den Dosisgruppen A, B und C während und nach der Rlx-Infusion, Abb. 11 die des Harnstoffs.

In allen drei Gruppen ist während der Infusion ein Abfall des Serum-Kreatinins zu beobachten, signifikant ist er in den Gruppen A und C. In A bei 16 und 24 Stunden, in C bei 16 Stunden nach Beginn der Infusion. Gegen Ende der Nachbeobachtungszeit kommt es in Gruppe C zu einem signifikanten „Rebound-Effekt“.

Die Werte des Harnstoffs verhalten sich ähnlich wie die des Kreatinins. In allen drei Gruppen kommt es zu signifikanten Abfällen. In A bei 24 Stunden, in B bei 16, 26 und 32 Stunden, in C bei 26, 32 und 48 Stunden. Ein „Rebound-Effekt“ zeigt sich auch hier in allen Gruppen, jedoch ohne Signifikanz.

Abb. 10: Serum-Kreatinin

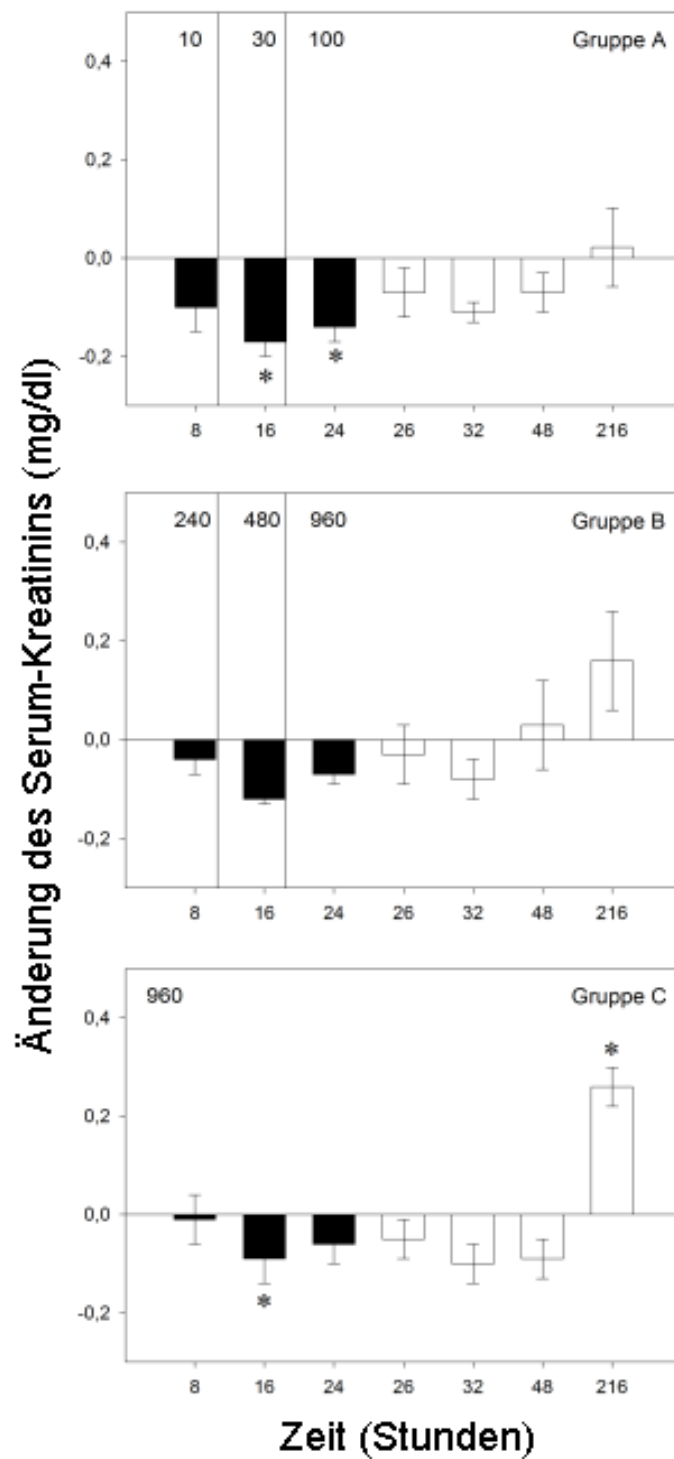


Abb. 10: Änderungen des Serum-Kreatinins von der Basismessung während und nach der Infusion. *Signifikanz ($P < 0,05$).

Abb. 11: Serum-Harnstoff

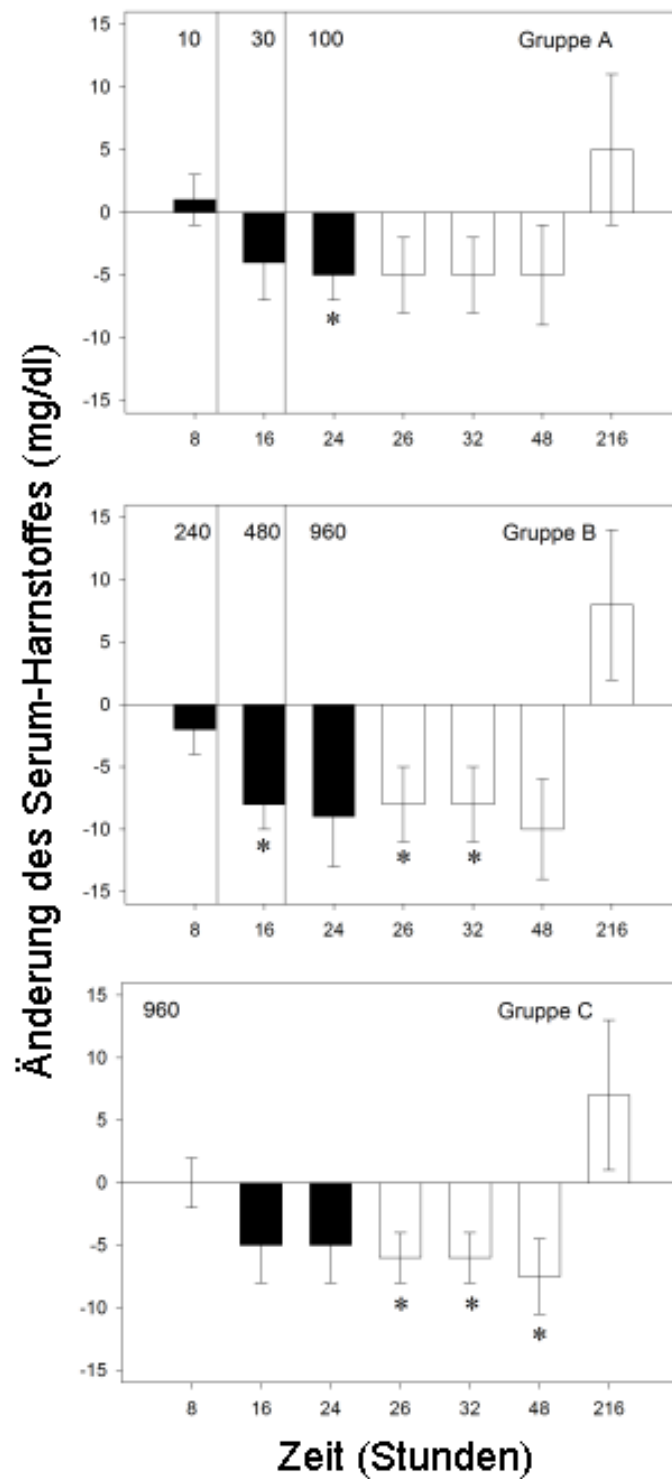


Abb. 11: Änderungen des Serum-Harnstoffs von der Basismessung während und nach der Infusion. *Signifikanz ($P < 0,05$).

3.2.2.3 NT-pro-BNP

Abb. 12 zeigt die Änderungen des Plasma-NT-pro-BNP von der Basismessung in allen drei Dosisgruppen während des Beobachtungszeitraumes.

Die mittleren Serumspiegel lagen in den Voruntersuchungen in Gruppe A bei 3716 ± 2098 pg/ml, in Gruppe B bei 2273 ± 1030 pg/ml und in Gruppe C bei 2636 ± 1222 pg/ml. Sie unterschieden sich nicht signifikant voneinander. In den Gruppen A und B konnten passend zu den hämodynamischen Veränderungen signifikante Abfälle der Werte dokumentiert werden. In Gruppe B dagegen zeigten sich in Analogie zum Verlauf von PCWP und SVR keine signifikanten Veränderungen

Abb. 12: NT-pro BNP

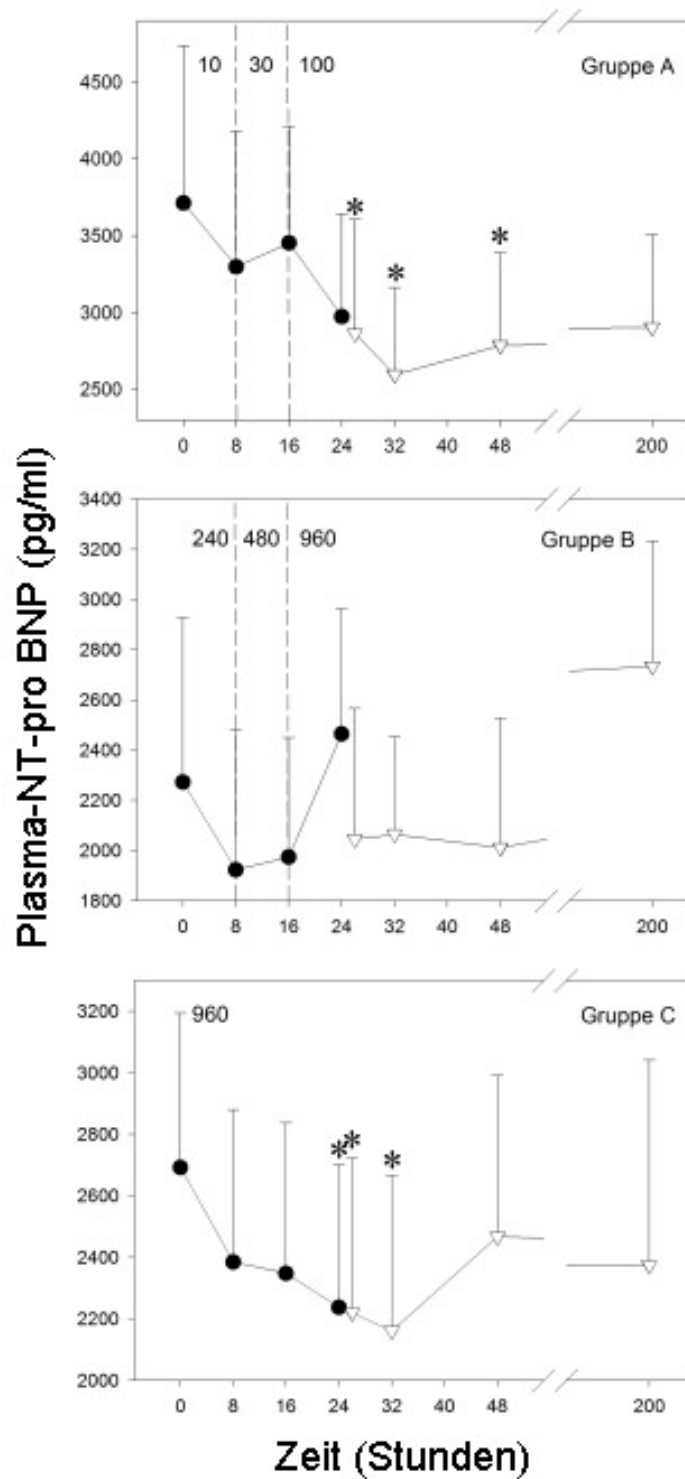


Abb. 12: Änderungen des Serum-NT-pro-BNP von der Basismessung während und nach der Infusion. *Signifikanz ($P < 0,05$).

3.2.2.4 Unerwünschte Ereignisse

In Gruppe A traten während der Infusion keine unerwünschten Ereignisse auf. In Gruppe B kam es zu einem, in Gruppe C zu zwei unerwünschten Ereignissen. Details darüber stellt Tab. 6 dar.

In der Nachuntersuchung gab ein Patient in Gruppe A und zwei Patienten in Gruppe B unerwünschte Ereignisse an. Details darüber stellt Tab. 7 dar.

Alle unerwünschten Ereignisse konnten in die Intensität „mild“ eingestuft werden. Keines davon hat eine kausale Beziehung zu dem Studienmedikament. Bei allen Patienten waren die Symptome bis zum Ende der Studie rückläufig.

Tab. 6: Unerwünschte Ereignisse während der Infusion

Gruppe (Anzahl der Patienten)	Einschluss	Unerwünschtes Ereignis	Anzahl
B (6)	# 10	Insomnie	1
C (6)	# 14	Hämoptysis	1
	# 16	Angina pectoris	1
		Hypotonie	1

Tab. 7: Unerwünschte Ereignisse in der Nachbeobachtungszeit

Gruppe (Anzahl der Patienten)	Einschluss	Unerwünschtes Ereignis	Anzahl
A (4)	# 02	Angina pectoris	1
B (6)	# 09	Kopfschmerzen	1

4. Diskussion

Nachdem das 1926 von Frederick Hisaw entdeckte Peptidhormon Relaxin lange Zeit als reines Schwangerschaftshormon galt, wurde seit den 1980er Jahren allmählich seine Pleiotropie bekannt. Effekte auf Nierenfunktion, Kollagenstoffwechsel, Gefäßtonus und die Herzfunktion wurden in einer Vielzahl wissenschaftlicher Arbeiten publiziert.

4.1 Relaxin- „neuer“ Mediator der Herzinsuffizienz

2001 wurde von Dschietzig und Mitarbeitern erstmals bewiesen, dass Myozyten und myokardiale interstitielle Zellen die Fähigkeit besitzen Rlx zu produzieren. In diesem Zusammenhang untersuchten sie die Rolle des Hormons als „neuer“ kompensatorischer Mediator in der Pathophysiologie der chronisch kongestiven Herzinsuffizienz (Dschietzig et al., 2001).

Die chronisch kongestive Herzinsuffizienz ist durch die Aktivierung neurohumoraler Systeme charakterisiert, einhergehend mit Vasokonstriktion, Natriumretention und kompensatorischem Anstieg gegen-regulierender Hormone.

In der klinischen Studie an Patienten mit kompensierter und dekompensierter Herzinsuffizienz korrelierten die Plasmaspiegel und die myokardiale Expression der beiden Rlx-Gene (H1 und H2) bei den Patienten mit dem Schweregrad der Erkrankung. Nach medikamentöser Behandlung der Patienten mit dekompensierter Herzinsuffizienz sank mit Verbesserung der hämodynamischen Parameter auch der Rlx-Spiegel (Dschietzig et al., 2001).

Das insuffiziente Herz spielt also eine relevante Rolle bei der Produktion von Rlx-Peptiden. Gesteigerter ventrikulärer Füllungsdruck führt zu einem Anstieg der Rlx-Expression durch Myozyten und interstitielle Zellen.

Rlx inhibiert die durch Angiotensin-II oder gesteigerten Perfusionsdruck stimulierte Sekretion von ET-1 in pulmonalvaskulären Endothelzellen (Dschietzig, 2003). ET-1 ist durch seine potente Vasokonstriktion maßgeblich an der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz beteiligt. Es gilt als verlässlicher Prädiktor der fortgeschrittenen Herzinsuffizienz, da seine Plasmaspiegel mit der Schwere der Herzinsuffizienz korrelieren (Mc Murray et al., 1992). Zwischen Rlx und ET-1 besteht bei herzinsuffizienten Patienten eine signifikante inverse Korrelation zwischen den

zirkulierenden Spiegeln (Dschietzig et al., 2001).

Die gewonnenen Erkenntnisse über die biologischen Eigenschaften von Rlx als kompensatorischer Mediator der Herzinsuffizienz und als „funktioneller“ ET-1-Antagonist führten dazu, die therapeutische Nutzung des Peptids an Patienten mit chronischer kongestiver Herzinsuffizienz zu prüfen.

4.2 Anwendung bei kompensierter Herzinsuffizienz

Die in dieser Arbeit präsentierte Pilotstudie beschreibt die erste klinische Studie mit Untersuchung der Sicherheit und Toleranz sowie hämodynamischer und neurohormonaler Veränderungen bei der Anwendung von rhRlx bei Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz.

Die Studie stellt die erste Anwendung von Rlx bei Patienten mit Erkrankungen des kardiovaskulären Systems dar. Eine bedeutende Langzeitanwendung von rhRlx gab es bislang nur bei Patienten mit Sklerodermie. Seibold et al. waren die ersten, die Rlx in der klinischen Anwendung bei diesen Patienten prüften (Seibold et al., 2000). Dabei kam es in der Phase-II-Pilotstudie zu viel versprechenden Ergebnissen, die das antifibrotische Potential des Hormons untermauern konnten. Die Folgestudie (Phase-III) führte dann nicht zu den erhofften Resultaten (Erikson und Unemori, 2000). Es konnten keine signifikanten Verbesserungen der Symptome der Patienten, die an diffuser Sklerodermie litten, nachgewiesen werden. Dieses liegt möglicherweise daran, dass die Krankheit bei der ausgewählten Patientenpopulation bereits zu weit fortgeschritten war.

Die vorliegende Arbeit stellt die Ergebnisse der offenen Dosisescalationsstudie in der Anwendung von rhRlx bei Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz dar. Erwartungen wurden bestätigt (proof of principle) und neue Erkenntnisse gewonnen.

4.2.1 Studienziele und Ergebnisse

Die Ziele der Studie waren:

1. Untersuchung und Bestimmung der Sicherheit und Toleranz von Rlx in der Anwendung bei Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz und Beobachtung der pharmakodynamischen Effekte.
2. Bestimmung der therapeutischen Dosis zur Anwendung von Relaxin in weiteren Studien.

Folgendes konnte demonstriert werden:

- Die intravenöse Gabe von rhRlx führte innerhalb eines breiten Dosisbereichs (10 - 960 µg/kg/d) zu keinen relevanten Nebenwirkungen und wurde exzellent vertragen.
- rhRlx bewirkt positive hämodynamische Effekte bei Patienten mit CHF:
- Beständige Vasodilatation mit resultierendem Anstieg des CI infolge erhöhten Schlagvolumens sowie mit Senkung des PCWP. Dabei kam es nicht zu einer Induktion einer signifikanten Hypotension.
- rhRlx führte rasch zu einer Verbesserung der Nierenfunktion (Abfall von Kreatinin und Harnstoff).
- Bei Gabe der höchsten Rlx-Dosis (960 µg/kg/d) kam es zu einem möglicherweise dosislimitierenden Anstieg der Nierenparameter in der Nachbeobachtungsperiode. Folglich läge die maximal tolerierte Dosis (MTD) dann bei 240 – 480 µg/kg/d.

Insgesamt fällt auf, dass sich in Gruppe A und C ähnlich günstige hämodynamische Veränderungen als Antwort auf die Rlx-Infusion zeigen. Im Vergleich dazu werden in Gruppe B kaum positive Effekte deutlich. Wahrscheinlich ist dies durch die Unterschiede in der hämodynamischen Lage vor Studienbeginn zurückzuführen. Die Patienten der Gruppe B zeigten sich anhand der Basalwerte als therapeutisch maximal vasodilatiert, welches an den signifikant niedrigeren Werte des SVR sichtbar war. Eine weitere, durch rhRlx ausgelöste Dilatation führte in dieser Gruppe offensichtlich zu keinem weiteren Effekt, sondern eher zur Aktivierung gegenregulatorischer Systeme.

4.2.1.1 *Effekte von Rlx auf die hämodynamischen Parameter*

Zusammenfassend kann man das pharmakologische Potential von rhRlx wie folgt beschreiben:

Steigerung des CO, zurückzuführen auf gesteigertes SV, somit gesteigerter CI. Abfall des SVR und PCWP. Kein Abfall des MAP und SBP. Deutliche Verbesserung der die Nierenfunktion beschreibenden Parameter Kreatinin und Harnstoff.

In unseren Untersuchungen konnte beobachtet werden, dass die intravenöse Gabe von rhRlx trotz signifikanten Abfalls des SVR zu keiner symptomatischen Hypotension geführt hat. In Gruppe A zeigte nur eine Person einen anhaltenden, aber asymptomatischen Abfall des SBP (von 120/65 auf 100/50). In Gruppe B und C wurden keinerlei Abfälle des SBP trotz Steigerung der Rlx-Dosis beobachtet.

Wenn Rlx ein reiner Vasodilatator wäre, würde man einen Abfall des SBP, welcher durch ein gesteigertes SV teilkompensiert wird, erwarten. Unsere Ergebnisse werden durch Untersuchungen an hypertensiven und normotensiven Ratten bekräftigt, in denen Rlx einen Anstieg des CI und einen Abfall des SVR hervorruft, ohne den MAP zu beeinflussen (Debrah, 2005). Für dieses hämodynamische Profil gibt es verschiedene Hypothesen, die nachfolgend diskutiert werden:

1. Rlx hat positiv chronotrope Effekte auf das Vorhofmyokard von Nagern (Kakouris et al., 1992, Piedras-Renteria 1997b): In der vorliegenden Studie konnte jedoch keine positive Chronotropie beobachtet werden. Dieses liegt möglicherweise an der beim Menschen niedrigeren Rezeptordichte im Vorhof.

2. Rlx hat positiv inotrope Effekte auf das Vorhofmyokard von Ratten (Piedras-Renteria 1997 b):

Vielfach konnte in Untersuchungen mit Rlx positive Inotropie am Vorhofmyokard von Ratten nachgewiesen werden, welches am menschlichen Vorhofmyokard bestätigt werden konnte. Niemals jedoch konnte positive Inotropie am Ventrikelmyokard beobachtet werden (Dschietzig et al., 2005b). Die positiv inotropen Effekte von Rlx auf das Vorhofmyokard haben hier möglicherweise durch eine Verbesserung des linksventrikulären Füllungsdruckes zur Konstanthaltung des SBP beigetragen. Dies

kann auf Grund der kleinen Fallzahl von Patienten aber nicht abschließend beantwortet werden. Potentiell profitieren nur die Patienten mit intaktem Sinusrhythmus von atrialer positiver Inotropie. Ein Vergleich zwischen Patienten mit SR und Patienten mit VHF konnte in dieser Studie ebenso auf Grund der geringen Anzahl der Teilnehmer nicht durchgeführt werden; diese Fragestellung zu klären bleibt größeren Folgestudien überlassen.

3. Keine der drei Dosisgruppen A, B, C zeigte einen signifikanten Abfall des RAP, obwohl insbesondere in Gruppe C ein deutlicher Abfall des PVR zu dokumentieren war (~30%) und in den Gruppen A und C deutliche Abfälle des PCWP beobachtet wurden: Dieses lässt darauf schließen, dass Rlx möglichen falls den venösen Rückstrom begünstigt und somit den ZVD aufrecht erhält. Die hämodynamische Situation in der Schwangerschaft kann hier vergleichend herangezogen werden: auch hier kommt es zu einem Anstieg des CI und einem Abfall des SVR ohne Abfall des SBP. Edouard et al. beschrieben eine Venokonstriktion im Unterschenkelbereich beginnend im ersten Trimenon der Schwangerschaft (Edouard et al., 1998), zu einem Zeitpunkt also, an dem die höchsten zirkulierenden Rlx-Spiegel gemessen werden. Rlx, lange als Schwangerschaftshormon bekannt, gilt außerdem als Schlüsselfaktor für die renale Anpassung in der Schwangerschaft. Letztlich bleibt die Wirkung von Rlx auf den Tonus der Venenmuskulatur jedoch noch zu klären.

Dennoch dürfen die gewonnenen Ergebnisse bezüglich der fehlenden Hypotension nicht überbetont werden. Aufgrund der sehr kleinen Anzahl der Studienteilnehmer könnten die hier erlangten Resultate auch ein zufälliger Befund sein. Möglicherweise könnte ein hypotensiver Effekt bei Patienten mit höherem Blutdruck als jener der hier in der Studie präsentierten Patienten deutlicher ins Gewicht fallen. Um mehr Erkenntnisse und Erklärungen über diese hämodynamische Konstellation zu erlangen bedarf es in jedem Falle weiterer kontrollierter hämodynamischer Studien.

Würden unsere Ergebnisse bestätigt werden, hätten die hämodynamischen Effekte des Rlx einen deutlichen Vorteil vor reinen Vasodilatoren, welche gleichzeitig den Blutdruck senken.

4.2.1.2 *Effekte von Rlx auf die renalen Parameter*

Bei fast allen Patienten kam es durch die rhRlx-Infusion zu positiven Auswirkungen auf die Parameter, welche die Nierenfunktion betreffen (Kreatinin, Harnstoff). Signifikant wurden diese Auswirkungen in den Gruppen A und C. In Studien an Tieren konnte bereits gezeigt werden, dass rhRlx die glomeruläre Filtration und den glomerulären Plasmafluss steigert (Danielson et al., 1999). Wahrscheinlich ist dieser Mechanismus auch in der vorliegenden Studie der Grund für die deutliche Verbesserung der Nierenparameter. Bisher wurde in keiner Veröffentlichung ein Rlx-induzierter Anstieg der GFR beim Menschen beschrieben. Smith demonstrierte aber in einer kleinen offenen Studie an gesunden Personen eine Steigerung des renalen Plasmaflusses durch Rlx (Smith, 2006). In klinischen Sklerodermie-Studien konnte außerdem eine Verbesserung der Kreatinin-Clearance demonstriert werden (Seibold, 2000).

Gruppe C zeigte am Nachuntersuchungstag 9 Anstiege des Kreatinins und Harnstoffs bei einer Rlx-Dosis von 960 µg/kg/d. Diese waren jedoch bei allen Patienten rückläufig. Die Kreatinin-Anstiege in keinem Fall bei über 0,5 mg/dl, der Schwelle für die Definition eines akuten Nierenversagens (Sackner-Bernstein, 2005), und bei allen Patienten kam es ohne Medikationsänderung zur spontanen Restitution der Nierenwerte. Es traten demzufolge auch keine unerwünschten Ereignisse bezüglich der Nierenfunktion auf. Eine eindeutige Erklärung für den Anstieg der Nierenwerte kann hier leider noch nicht präsentiert werden. Möglicherweise stimuliert eine hohe Dosis eine Gegenregulation, welche zu reaktiver Reduktion der Nierenperfusion führt, wodurch es zu einem späten Anstieg von Kreatinin und Harnstoff kommt. In der Tat steigen tendenziell auch PCWP und RAP bei der höchsten Rlx-Dosis von 960 µg/kg/d in der Nachbeobachtungszeit über die Basiswerte bei Aufnahme hinaus. In anderen Dosierungen wurden keine solcher Beobachtungen gemacht. In jedem Fall weisen diese Ergebnisse darauf hin, dass Rlx in der Dosierung von 960 µg/kg/d dosislimitierende Effekte sowohl auf die renale Funktion als auch auf die hämodynamische Lage der Patienten hat. Daraus ergibt sich in dieser Studie, dass die MTD in einem Bereich zwischen 240 und 480 µg/kg/d liegt.

Die viel versprechenden und interessanten Ergebnisse bezüglich der Nierenfunktion legen es nahe in Folgestudien einen Schwerpunkt auf die Prüfung dieser Parameter zu legen.

4.3 Limitationen

Die Ergebnisse dieser Studie liefern wichtige Informationen über die Effekte von rekombinantem Relaxin in der Anwendung bei Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz. Trotzdem muss bei der Interpretation dieser Resultate die kleine Fallzahl der Teilnehmer beachtet werden, welche wohl die größte Limitation der Studie darstellt. Die Schwierigkeit stabile Patienten dafür zu gewinnen, sich freiwillig für zwei Tage einer hämodynamischen Studie mit aufwendigen Untersuchungen und Prozeduren (Rechtsherzkatheterisierung, arterielle Katheterisierung, Blutabnahmen etc.) zu unterziehen, darf dabei nicht außer Acht gelassen werden.

Des Weiteren limitiert die unterschiedliche hämodynamische Ausgangslage der Patienten Schlussfolgerungen über dosisabhängige Effekte. Dies erklärt möglicherweise, warum in manchen Fällen niedrigere Rlx-Dosierungen zu größeren Auswirkungen führten.

Die vorliegende Studie ist offen, nicht randomisiert und wurde nur an einem Ort durchgeführt. Die Studie war nicht plazebokontrolliert, damit wurde die Tatsache der 48-Stunden-Bettruhe und möglicher daraus resultierender Effekte außer Acht gelassen.

Zuletzt ist noch zu erwähnen, dass Rlx als „Schwangerschaftshormon“ eventuell Geschlechterunterschiede im Ansprechen auf die rekombinante Form zeigen kann. Dieses kann in der vorliegenden Arbeit nicht weiter bewertet werden, da alle Personen, außer einer Frau, männlich waren. Vorangehende Untersuchungen an Tieren und Menschen ergaben jedoch, dass rhRlx unabhängig vom Geschlecht agiert (Smith, 2006).

Nichtsdestotrotz sind die vorliegenden Untersuchungen in der Lage die günstigen Effekte von rhRlx bei Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz zu bestätigen (proof of principle). Sie zeigen eine Vasodilatation, welche zu einer verbesserten hämodynamischen Lage führt.

4.4 Aussichten

Betrachtet man das therapeutische Potential von Rlx in Hinsicht auf die hämodynamischen und die renalen Effekte, bietet das Peptid nicht nur Möglichkeiten in der Behandlung der CHF, sondern auch im Bereich der akuten Herzinsuffizienz

(AHF). AHF ist definiert als der plötzliche Beginn von Herzinsuffizienzsymptomen wie Dyspnoe, Müdigkeit und Ödemen auf Grund einer kardialen Funktionsstörung. Dabei kann es das erste Zeichen einer Herzerkrankung sein oder die rapide Verschlechterung einer bis dahin kompensierten Herzinsuffizienz. Die AHF geht mit einem Abfall des CO, des CI, einem Anstieg des PCWP, mit Gewebehypoperfusion und Stauung der Gewebe einher. Häufig kommt es zum kardiogenen Schock und lebensbedrohlichem Zustand. Ältere Patienten mit AHF leiden häufig zusätzlich an einer Nierenfunktionsstörung, welche durch die therapeutische Behandlung der AHF oft verschlechtert wird, dem so genannten Kardiorenenalen Syndrom. Die Hypotonie im kardiogenen Schock oder die therapeutisch induzierte Hypotonie sind prognoseverschlechternde Parameter bei AHF. Im Gegensatz zur CHF wurden im therapeutischen Bereich der AHF über die letzten 30 Jahre keine signifikanten Erfolge bezüglich Mortalitätsreduktion verzeichnet. In unserer Studie konnte kein signifikanter Abfall des SBP infolge intravenöser Behandlung mit rhRlx dokumentiert werden. Zudem trat in allen drei Dosisgruppen eine Verbesserung der Nierenfunktion ein. Mit diesem Potential gilt rhRlx als viel versprechender Kandidat in der Behandlung der AHF. Die vorliegende Studie hat die Sicherheit und Toleranz einer intravenösen Kurzzeitgabe von rhRlx an Patienten mit CHF bestätigt und somit den Weg bereitet für eine Folgestudie mit Patienten mit AHF und kardiorenalem Syndrom.

5 Zusammenfassung

Patienten mit chronisch kongestiver Herzinsuffizienz weisen eine vermehrte Expression des Peptidhormons Relaxin auf. In vielen experimentellen und klinischen Arbeiten konnte im Vorfeld gezeigt werden, dass Relaxin bei Menschen und Tieren günstige Effekte auf die Hämodynamik, sowie die Nierenfunktion hat.

In der vorliegenden Studie wurden Sicherheit, Verträglichkeit, Toleranz und Pharmakodynamik von rekombinantem Relaxin bei Patienten mit stabiler chronischer Herzinsuffizienz untersucht und neue Erkenntnisse gewonnen.

Sechzehn Patienten wurden in einer offenen Dosisfindungsstudie über 24 Stunden unter kardiopulmonaler Überwachung mit intravenösem rhRlx behandelt. Die Studienteilnehmer waren in drei Gruppen eingeteilt. Innerhalb der Gruppen A und B erfolgte jeweils die stufenweise Eskalation der Dosis. Gruppe C erhielt durchgehend die maximale Dosis der Gruppe B. Nach 24 Stunden Infusionsdauer erfolgte eine 24-stündige Nachbeobachtungsperiode, in der weiterhin hämodynamische und laborchemische Untersuchungen stattfanden. Zusätzlich erfolgten 9 und 30 Tage nach der Rlx-Gabe Nachuntersuchungen.

Rlx zeigte keinerlei ernste unerwünschte Wirkungen. Durch die hervorgerufene Vasodilatation konnten beständige positive Effekte auf die Hämodynamik der Patienten erzielt werden: Tendenzieller Anstieg des Herzindex, Abfall des pulmonalkapillären Verschlussdruckes und Abfall der NT-pro BNP Spiegel, ohne einen signifikanten Abfall des Blutdrucks zu induzieren. Die Parameter der Nierenfunktion (Kreatinin, Harnstoff) verbesserten sich zunächst in allen Gruppen, zum Teil signifikant, wobei es am Nachuntersuchungstag 9 in den Gruppen B und C zu einem vorübergehendem „Reboundeffekt“ mit Anstieg der Werte, ohne klinische Auswirkung kam. Möglicherweise kann dieser Effekt als Dosislimitation gewertet werden.

RhRlx wurde von den Patienten mit stabiler, chronisch kongestiver Herzinsuffizienz gut toleriert. Die positiven Effekte auf die hämodynamische Situation der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz sollten weiterführend in klinischen Studien untersucht

werden. Zudem sind die Effekte auf die Nierenfunktion viel versprechend und könnten auch bei Patienten mit akuter Herzinsuffizienz therapeutisches Potential haben.

6 Abkürzungsverzeichnis

A	Arteria
AC	Adenylatzyklase
ACC	American College of Cardiology
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ADH	Antidiuretisches Hormon
AHA	American Heart Association
AHF	Acute Heart Failure
ALAT	Alanin-Amino-Transferase
ANP	Atrial Natriuretic Peptide
AP	Alkalische Phosphatase
ASAT	Aspartat-Amino-Transferase
AT-II	Angiotensin-II
AV-Block	Atrio-Ventrikulärer Block
Big-ET	Big Endothelin
BNP	Brain Natriuretic Peptide
BP	Blutdruck (Bloodpressure)
BUN	Harnstoff (Blood Urea Nitrogen)
BRD	Bundesrepublik Deutschland
Ca	Kalzium
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CHF	Kongestive Herzinsuffizienz (Congestive Heart Failure)
CI	Herzindex (Cardiac Index)
CO	Herzleistung (Cardiac Output)
DCMP	Dilatative Kardiomyopathie
DBP	diastolischer arterieller Blutdruck (Diastolic Blood Pressure)
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiogramm
ET-1	Endothelin-1
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GPCR	G- Protein-gekoppelte Rezeptoren

GR	Glukokortikoidrezeptor
H1, H2, H3	humanes Relaxin-1, -2, -3
Hb	Hämoglobin
HR	Herzfrequenz
HZV	Herzzeitvolumen
INSL	Insulin-like peptides
ITS	Intensivstation
KHK	Koronare Herzerkrankung
Lig	Ligamentum
L-NMMA	NG- Monomethyl-L-Arginin
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVEDP	Linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LGR	leucinreiche G- Protein- gekoppelte Rezeptoren
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
MMP	Matrix-Metallo-Proteasen
mRNA	messenger RNA
MTD	maximally tolerated dose
Na	Natrium
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
NPN	Nitroprussid-Natrium
NT-pro BNP	N-terminales pro brain natriuretic peptide
NYHA	New York Heart Association
PAP	Pulmonalarterieller Druck
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PCWP	Pulmonalkapillärer Verschlussdruck
PDE	Phosphodiesterase
PVR	Pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstand
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RAP	mittlerer rechtsatrialer Druck
rhRlx	Rekombinantes Humanes Relaxin
Rlx	Relaxin
RR	Atemfrequenz (Respiratory Rate)

RT	Reverse Transkriptase
RXFP	Relaxin family peptide
SA	Standardabweichung
SBP	systolischer arterieller Blutdruck
SR	Sinusrhythmus
SV	Schlagvolumen
SVR	Vaskulärer Gefäßwiderstand
T	Temperatur
TIMP	Tissue Inhibitor of Metalloprotease
TSH	Thyroidea-stimulierendes Hormon

7 Literaturverzeichnis

1. Bani D, Failli P, Bello MG, Thiemermann C, Bani Sacchi T, Bigazzi M, et al. Relaxin activates the L-argininenitric oxide pathway in vascular smooth muscle cells in culture. *Hypertension* 1989; 31 (6): 1240-7.
2. Bani D, Bigazzi M, Masini E, Bani G and Sacchi TB. Relaxin depresses platelet aggregation: in vitro studies on isolated human and rabbit platelets. *Lab. Invest.* 1995a; 73: 709–16.
3. Bani D, Masini E, Bello MG, Bigazzi M and Sacchi TB. Relaxin activates the L-arginine-nitric oxide pathway in human breast cancer cells. *Cancer Res.* 1995b; 55: 5272–75.
4. Bani D, Maurizi M and Bigazzi M. Relaxin reduces the number of circulating platelets and depresses platelet release from megakaryocytes: studies in rats. *Platelets.* 1995c; 6: 330– 35.
5. Bani D, Ballati L, Masini E, Bigazzi M and Sacchi TB. Relaxin counteracts asthma-like reaction induced by inhaled antigen in sensitized guinea pigs. *Endocrinology.* 1997; 138: 1909–15.
6. Bani D. Relaxin: a pleiotropic hormone. *Gen. Pharmacol.* 1997a; 28: 13- 22.
7. Bani D. Relaxin and breast cancer. *Bull. Cancer.* 1997b; 84: 179–82.
8. Bani D, Failli P, Bello MG, Thiemermann C, Bani Sacchi T, Bigazzi M et al. Relaxin activates the L-argininenitric oxide pathway in vascular smooth muscle cells in culture. *Hypertension.* 1998a; 31: 1240–47.
9. Bani D, Masini E, Bello MG, Bigazzi M and Sacchi TB. Relaxin protects against myocardial injury caused by ischemia and reperfusion in rat heart. *Am. J. Pathol.* 1998b; 152: 1367–76.
10. Bani D, Baccari MC, Nistri S, Calamai F, Bigazzi M, Sacchi TB. Relaxin up-regulates the nitric oxide biosynthetic pathway in the mouse uterus: involvement in the inhibition of myometrial contractility. *Endocrinology,* 1999a; 140: 4434-41.
11. Bani D, Flagiello D, Poupon MF, Nistri S, Poirson-Bichat F et al. Relaxin promotes differentiation of human breast cancer cells MCF-7 transplanted into nude mice. *Virchows Arch.* 1999b; 435: 509-19.
12. Bani D, Nistri S, Quattrone S, Bigazzi M and Bani Sacchi T. The vasorelaxant hormone relaxin induces changes in liver sinusoid microcirculation: a morphologic study in the rat. *J. Endocrinol.* 2001; 171: 541–49.
13. Bani G and Bigazzi M. Morphological changes induced in mouse mammary gland by porcine and human relaxin. *Acta. Anat. (Basel),* 1984; 119: 149-54.

14. Bani G, Bigazzi M and Bani D. Effects of relaxin on the mouse mammary gland. I. The myoepithelial cells. *J. Endocrinol. Invest.* 1985; 8: 207–15.
15. Bani G, Bigazzi M and Bani D. The effects of relaxin on the mouse mammary gland. II. The epithelium. *J. Endocrinol. Invest.* 1986; 9: 145–52.
16. Bani G, Maurizi M, Bigazzi M, Bani ST. Effects of relaxin on the endometrial stroma. Studies in mice. *Biol. Reprod.*, 1995d; 53: 253-62.
17. Bani-Sacchi T, Bigazzi M, Bani D, Mannaioni PF and Masini E. Relaxin-induced increased coronary flow through stimulation of nitric oxide production. *Br. J. Pharmacol.* 1995; 116: 1589-94.
18. Bartsch O, Bartlick B, Ivell R. Relaxin signalling links tyrosine phosphorylation to phosphodiesterase and adenylyl cyclase activity. *Mol. Hum. Reprod.* 2001a; 7: 799–809
19. Bartsch O. Relaxin signal transduction couples tyrosine phosphorylation to cAMP upregulation. In *Relaxin 2000* (Tregear, G.W. et al., eds) Kluwer Academic Publishers. 2001b: 309–16.
20. Bathgate RAD, Samuel CS, Burazin TCD, Layfield S, Claasz AA, Reytomas IGT et al. Human relaxin gene 3 (H3) and the equivalent mouse relaxin (M3) gene: novel members of the relaxin peptide family. *J. Biol. Chem.* 2001; 277: 1148-57.
21. Bathgate RAD, Samuel CS, Burazin TCD, Layfield S., Claasz A. A., Reytomas I. G. T. et al.: Human relaxin gene 3 (H3) and the equivalent mouse relaxin (M3) gene: novel members of the relaxin peptide family. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 1148-57.
22. Bathgate RA, Ivell R, Sanborn BM, Sherwood OD, Summers RJ. Recommendations for the nomenclature of receptors for relaxin family peptides. *Pharmacol. Rev.* 2006; Mar 58(1), 7-31.
23. Baumann G, Riess G, Erhardt WD, Felix SB, Ludwig L, Blümel G, Blömer H. Impaired beta-adrenergic stimulation in the uninvolved ventricle post-acute myocardial infarction: reversible defect due to excessive circulating catecholamine-induced decline in number and affinity of beta-receptors. *Am. Heart J.* 1981; 101 (5): 569-81.
24. Baxter GF. The natriuretic peptides. *Basic Res Cardiol.* 2004; 99: 71–75.
25. Bethea CL, Cronin MJ, Haluska GJ, Novy MJ. The effect of relaxin infusion on prolactin and growth hormone secretion in monkeys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998; 69: S. 956-62.
26. Bigazzi M, Nardi E, Bruni P and Petrucci F. Relaxin in human decidua. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1980; 51: 939-41.

27. Bigazzi M, Del Mese A, Petrucci F, Casali R and Novelli GP. The local administration of relaxin induces changes in the microcirculation of the rat mesocaecum. *Acta Endocrinol.* 1986; 112: 296-99.
28. Bigazzi M, Bani D, Sacchi TB. Relaxin: a possible future preventive therapy for cardiovascular disease in postmenopausal women and men? *Climacteric*; 2001; 4; 137- 43.
29. Binder C, Simon A, Binder L, Hagemann T, Schulz M, Emons G et al. Elevated concentrations of serum relaxin are associated with metastatic disease in breast cancer patients. *Breast Cancer Res. Treat.* 2004; 87: 15-66.
30. Bowditch HP. Über die Eigenthümlichkeiten der Reizbarkeit, welche die Muskelfasern des Herzens zeigen. *Arbeiten aus der Physiologischen Anstalt zu Leipzig*; 1871: 139-76.
31. Braunwald E, Hauci AS, Kasper DL et al. *Harrisons Innere Medizin Band 1* (deutsche Auflage in Zusammenarbeit mit der Charité). Mc Graw-Hill ABW Wissenschaftsverlag GmbH. 2003: 1451-56.
32. BRD, Statistisches Bundesamt; www.gbe-bund.de
33. Bryant-Greenwood GD and Schwabe C. Human relaxins: chemistry and biology. *Endocrine Rev.* 1994; 15: 5-26.
34. Bryant-Greenwood GD, Yamamoto SY, Lowndes KM, Webster LE, Parg SS, Amano A. et al: Human decidua relaxin and preterm birth. *Ann. N. Y. Acad Sci.* 2005; 1041: 338-44.
35. Chatterjee K. Neurohormonal activation in congestive heart failure and the role of vasopressin. *Am J Cardiol.* 2005; 95: 8B–13B.
36. Colucci WS. In vivo studies of myocardial beta-adrenergic receptor pharmacology in patients with congestive heart failure. *Circulation.* 1990; 82: 144-51.
37. Colucci WS et al. Intravenous nesiritide, a natriuretic peptide, in the treatment of decompensated congestive heart failure. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343: 246-253
38. Cowie MR, Mosterd A, Wood DA, Deckers JW, Poole-Wilson PA, Sutton GC, Grobbee DE: The epidemiology of heart failure. *Eur. Heart J.* 1997; 18: 208- 225
39. Cowie MR, Wood DA, Coats AJS, Thompson SG, Poole-Wilson PA, Suresh V et al. Incidence and aetiology of heart failure. A population based study. *Eur. Heart J.* 1999; 20: 421- 8.
40. Danielson LA, Sherwood OD and Conrad KP. Relaxin is a potent renal vasodilator in conscious rats. *J. Clin. Invest.* 1999; 103: 525–533.
41. Danielson LA, Kercher LJ, Conrad KP. Impact of gender and endothelin on renal

- vasodilatation and hyperfiltration induced by relaxin in conscious rats. *Am. J. Physiol.* 2000; 279: 1298-304.
42. Dayanithi G, Cazalis M and Nordmann JJ. Relaxin affects the release of oxytocin and vasopressin from the neurohypophysis. *Nature.* 1987; 325: 813-16.
 43. Debrah DO, Conrad KP, Jeyabalan A, Danielson LA, Shroff SG. Relaxin increases cardiac output and reduces systemic arterial load in hypertensive rats. *Hypertension* 2005; 46: 745-50.
 44. Downing SJ, Sherwood OD. The physiological role of relaxin in the pregnant rat: The influence of relaxin on cervical collagen and glycosaminoclycans. *Endocrinology* 1986; 118: 471-79.
 45. Dschietzig T, Richter C, Bartsch C, Bohme C, Heinze D, Ott F et al. Flow-induced pressure differentially regulates endothelin-1, urotensin II, adrenomedullin, and relaxin in pulmonary vascular endothelium. *Biochem. Biophys. Res.* 2001a; 289: 245-51.
 46. Dschietzig T, Richter C, Bartsch C, Laule M, Armbruster FP, Baumann G et al. The pregnancy hormone relaxin is a player in human heart failure. *FASEB J.* 2001b; 15: 2187-195.
 47. Dschietzig T, Stangl K. Relaxin: a pregnancy hormone as central player of body fluid and circulation homeostasis. *Cell. Mol. Life Sci.* 2002; 59: 1-13.
 48. Dschietzig T, Bartsch C, Richter C, Laule M, Baumann G, Stangl K. Relaxin, a pregnancy hormone, is a functional endothelin-1 antagonist: attenuation of endothelin-1-mediated vasoconstriction by stimulation of endothelin type-B receptor expression via ERK-1/2 and nuclear factor-kappaB. *Circ Res.* 2003; 92: 32-40.
 49. Dschietzig T, Bartsch C, Stangl V, Baumann G, Stangl K. Identification of the pregnancy hormone relaxin as a glucocorticoid receptor agonist. *FASEB J.* 2004; 18: 1536-38.
 50. Dschietzig T, Bartsch C, Greinwald M, Baumann G, Stangl K. The pregnancy hormone relaxin binds to and activates the human glukokortikoid receptor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005a; 1041: 256-71.
 51. Dschietzig T, Bartsch C, Kinkel T, Baumann G, Stangl K. Myocardial relaxin counteracts hypertrophy in hypertensive rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005b; 1041: 441-43.
 52. Edouard DA, Pannier BM, London GM, Cuche JL, Safar ME. Venous and arterial behavior during normal pregnancy. *Am. J. Physiol.* 1998; 274: 1605-12.
 53. Erikson MS and Unemori EN. Relaxin trials in systemic sclerosis. In: *Proceedings of the 3rd Int. Conf. on RLX and Related Peptides (Broome, Aus.)*. 2000: 373–381.

54. Failli P, Nistri S, Quattrone S, Mazzetti L, Bigazzi M, Sacchi TB, Bani D. Relaxin up-regulates inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide generation in rat coronary endothelial cells. *FASEB J.* 2002; 16: 252-54.
55. Fevold HL, Hisaw FL and Meyer RK. The relaxative hormone of the corpus luteum. 1st purification and concentration. *J. Am. Chem. Soc.* 1930; 52: 3340-48.
56. Fields PA, Lee AB, Haab LM, Hwang J and Sherwood D. Evidence for a dual source of relaxin in the pregnant rat: immunolocalization in the corpora lutea and endometrium. *Endocrinology.* 1992; 130: 2985-90.
57. Francis GS, Benedict C et al. FOR THE SOLVD INVESTIGATORS. Comparison of neuroendocrine Activation in Patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure. A substudy of the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD). *Circulation.* 1990; 82/5: 1724-29.
58. Frank O. Zur Dynamik des Herzmuskels. *Z Biol.* 1885; 32: 370-477.
59. Garber SL, Mirochnik Y, Brecklin CS, Unemori EN, Singh AK, Slobodskoy L et al. Relaxin decreases renal interstitial fibrosis and slows progression of renal disease. *Kidney Int.* 2001, 59, S. 876–882.
60. Hamolsky M and Sparrow RC. Influence of relaxin on mammary development in sexually immature female rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1945; 60: 8-9.
61. Han X, Habuchi Y, Giles WR. Relaxin increases heart rate by modulating calcium current in cardiac pacemaker cells. *Circ. Res.* 1994; 74: 537-41.
62. Hansell DJ, Bryant-Greenwood GD and Greenwood FC. Expression of the human relaxin H1 in the decidua, trophoblast, and prostate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1991; 72: 899-04.
63. Hisaw FL. Experimental relaxation of the pubic ligament of guinea pigs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1926; 23: 661-63.
64. Holtz J. The significance of myocardial hypertrophy in heart failure. *Zeitschrift für Kardiologie.* 1992; 81: 41-48.
65. Holubarsch C, Ruf T, Goldstein DJ, Ashton RC, Nickl W, Pieske B et al. Existence of the Frank-Starling mechanism in the failing human heart. Investigations on the organ, tissue, and sarcomere levels. *Circulation* 1996 Aug 15; 94 (4): 683-9.
66. Hoppe UC, Böhm M, Dietz R, Hanrath P, Kroemer HK, Osterspey A, Schmaltz A A, Erdmann E. Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz. *Z. Kardiol.*, 2005; 94: 488-09.
67. Hudson P, Haley J, John M, Cronk M, Crawford R, Haralambidis J et al. Structure of a genomic clone encoding biologically active human relaxin. *Nature.* 1983;

301: 628-31.

68. Hudson P, John M, Crawford R, Haralambidis J, Scanlon D, Gorman J et al. Relaxin gene expression in human ovaries and the predicted structure of a human prorelaxin by analysis of cDNA clones. *EMBO J.* 1984; 3: 2333-39.
69. Hunt et al. ACC/AHA Guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: Executive summary A report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation; Endorsed by the Heart Failure Society of America. *Circulation* 2001; 104: 2996-3007.
70. Hsu SY, Nakabayashi K, Nishi S, Kumagai J, Kudo M, Sherwood OD et al. Activation of orphan receptors by the hormone relaxin. *Science.* 2002; 295: 671-4.
71. Isles CG, Walker LM, Beevers GD et al. Mortality in patients of the Glasgow Blood Pressure Clinic. *J. Hypertens;* 1986, 4: 141.
72. Ivell R, Einspanier A. Relaxin peptides are new global players. *Trends Endocrinol Metab.* 2002; 13: 343-8.
73. James R, Niall H, Kwok S, Bryand-Greenwood G et al. Primary structure of porcine relaxin: homology with insulin and related growth factors. *Nature* 1977; 267: 544-6.
74. Jougasaki M, Wei CM, McKinley LJ. Elevation of circulating and ventricular Adrenomedullin in human congestive heart failure. *Circulation* 1995; 92: 286-9.
75. Kakouris H, Eddie LW and Summers RJ. Cardiac effects of relaxin in rats. *Lancet.* 1992; 339: 1076-8.
76. Kalra PR, Moon JC, Coats AJ. Do results of the ENABLE (Endothelin Antagonist Bosentan for Lowering Cardiac Events in Heart Failure) study spell the end for non- selective endothelin antagonism in heart failure? *Int. J. Cardiol.* 2002; 85: 195-7.
77. Kamat AA, Feng S, AgoulNIK IU, Kheradmand F, Bogatcheva NV, Coffey D et al. The role of relaxin in endometrial cancer. *Cancer Biol.* 2006; 5.
78. Kannal WB, Belanger AJ. Epidemiology of heart failure. *Am. Heart J.* 1991; 121: 951-7.
79. Katz AM. Heart failure. *The heart and cardiovascular system* 1992; second edition: Kapitel 14: 333-51
80. Kaye D, Esler M. Sympathetic neuronal regulation of the heart in aging and heart failure. *Cardiovasc Res.* 2005; 66: 256-4.

81. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, Eto T. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 192 (2): 553-60.
82. Klein W. Gesundheitsökologische Überlegungen zum Thema Herzinsuffizienz-Kosten der Krankheit. *J. Kard.* 1999; 6: 612-6.
83. Krankheitsartenstatistik 1994 bis 2003. Arbeitsunfähigkeits- und Krankenhausfälle nach Krankheitsarten/Alter/Dauer. Hrg.: AOK- Bundesverband. Erscheinungsweise: jährlich. Bonn.
84. Krantz JC, Bryant HH and Carr CJ. The action of aqueous corpus luteum extract upon uterine activity. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1950; 90: 372-5.
85. Lip GY, Gibbs CR, Beevers DG, ABC of heart failure. *Aetiology. BMJ* 2000; 320: 104-7.
86. Liu JL, Zucker IH. Regulation of sympathetic nerve activity in heart failure. A role for nitric oxide and angiotensin II. *Circ. Res.* 1999; 84: 417-23.
87. Liu C, Chen J, Sutton S, Roland B, Kuei C, Farmer N. Identification of Relaxin-3/INSL7 as a ligand for GPCR 142. *J Biol Chem.* 2003a; 278: 50765-70.
88. Liu C, Eriste E, Sutton S, Chen J, Roland B, Kuei C. Identification of relaxin-3/INSL7 as an endogenous ligand for the orphan G- protein- coupled receptor GPCR 135. *J Biol Chem,* 2003b; 278: 50754-70.
89. Marriott D, Gillece-Castro B and Gorman CM. Prohormone convertase-1 will process prorelaxin, a member of the insulin family of hormones. *Mol. Endocrinol.* 1992; 6: 1441-50.
90. Masini E, Bani D, Bigazzi M, Mannaioni PF and Bani-Sacchi T. Effects of relaxin on mast cells. In vitro and in vivo studies in rats and guinea pigs. *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 1974-80.
91. Masini E, Salvemini D, Mugnai L, Bello MG, Bani D and Mannaioni PF. The effect of relaxin on myocardial ischaemia-reperfusion injury and histamine release in vitro and in vivo. *Inflamm. Res.* 1996; 45: S27-8.
92. Masini E, Bani D, Bello MG, Bigazzi M, Mannaioni PF, Sacchi TB. Relaxin counteracts myocardial damage induced by ischemia- reperfusion in isolated guinea pig hearts: evidence for an involvement of nitric oxide. *Endocrinology,* 1997; 138: 4713-20.
93. MacLennan AH, Grant P, Ness D and Down A. Effect of porcine relaxin and progesterone on rat, pig and human myometrial activity in vitro. *J. Reprod. Med.* 1986; 31: 43-49.
94. MacLennan AH and Grant P. Human relaxin. In vitro response of human and pig

- myometrium. *J. Reprod. Med.* 1991; 36: 630-4.
95. MacLennan AH, Grant P and Bryant-Greenwood G. rhRLX-1. In vitro response of human and pig myometrium. *J. Reprod. Med.* 1995; 40: 703-6.
 96. McMurray J, Ray S, Abdullah I, Dargie H, Morton J. Plasma endothelin in chronic heart failure. *Circulation* 1992; 85: 1374-9.
 97. McMurray JJV, Petrie MC, Murdoch DR, Davie AP. Clinical epidemiology of heart failure. Public and private health burden. *Eur. Heart J.* 1998; 19: 9-16.
 98. Mookerjee I, Tang ML, Solly N, Tregear GW, Samuel CS et al. Investigating the role of relaxin in the regulation of airway fibrosis in animal models of acute and chronic allergic airway disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005; 1041: 194-6.
 99. Mosterd A, Hoes AW, de Bruyne MC, Deckers JW, Linker DT, Hofman A et al. Prevalence of heart failure and left ventricular dysfunction in the general population; The Rotterdam Study. *Eur. Heart J.* 1999; 20: 447-55.
 100. Mulieri LA, Hasenfuss G, Leavitt B, Allen PD, Alpert NR. Altered myocardial force-frequency relation in human heart failure. *Circulation.* 1992; 85: 1743-50.
 101. Nambi P, Clozel M, Feuerstein G. Endothelin and heart failure. *Heart Fail Rev.* 2001; 6: 335-40.
 102. Novak J, Danielson LA, Kerchner LJ, Sherwood OD, Ramirez RJ, Moalli PA et al. Relaxin is essential for renal vasodilation during pregnancy in conscious rats. *J. Clin. Invest.* 2001; 107: 1469-75.
 103. O'Byrne KT, Eltringham L, Clarke G, Summerlee AJ. Effects of porcine relaxin on oxytocin release from the neurohypophysis in the anaesthetized lactating rat. *J. Endocrinol.* 1986; 109: 393-7.
 104. Osheroff PL and Phillips HS. Autoradiographic localization of relaxin binding sites in rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1991; 88: 6413-7.
 105. Packer M, Fowler MB, Roecker EB, Coats AJ, Katus HA, Krum H, Mohacsi P, Rouleau JL, Tendera M, Staiger C, Holcslaw TL, Amann-Zalan I, DeMets DL. Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival (COPERNICUS) Study Group. Effect of carvedilol on the morbidity of patients with severe chronic heart failure: results of the carvedilol prospective randomized cumulative survival (COPERNICUS) study. *Circulation* 2002; 106: 2194-9.
 106. Palejwala S, Tseng L, Wojtczuk A, Weiss G, Goldsmith LT. Relaxin gene and protein expression and its regulation of procollagenase and vascular endothelial growth factor in human endometrial cells. *Biol Reprod.* 2002; 66: 1743-8.
 107. Piedras-Renteria ES, Sherwood OD and Best PM. Effects of relaxin on rat atrial myocytes. II. Increased calcium influx derived from action potential prolongation. *Am. J. Physiol.* 1997A; 272: H1798-803.

108. Piedras-Renteria ES, Sherwood OD and Best PM. Effects of relaxin on rat atrial myocytes. I. Inhibition of I (to) via PKA-dependent phosphorylation. *Am. J. Physiol.* 1997B; 272: H1791-7.
109. Piccinni MP, Bani D, Beloni L, Manuelli C, Mavilia C, Vocioni F et al. Relaxin favors the development of activated human T cells into Th1-like effectors. *Eur. J. Immunol.* 1999; 29: 2241-7.
110. Piccinni MP, Maggi E and Romagnani S. Environmental factors favoring the allergen-specific Th2 response in allergic subjects. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000; 917: 844-52.
111. Pieske B, Kretschmann B, Meyer M, Holubarsch C, Weirich J, Posival H, Minami K, Just H, Hasenfuss G. et al. Alterations in intracellular calcium handling associated with the inverse force-frequency relation in human dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 1995; 92: 1169-78.
112. Richards AM. The natriuretic peptides in heart failure. *Basic Res. Cardiol.* 2004 (in press).
113. Rickenbacher P. Herzinsuffizienz: Epidemiologie, Pathophysiologie. *Swiss Medical Forum* 2001; Nr. 1/2.
114. Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, Galie N, Black CM, Keogh A, Pulido T, Frost A, Roux S, Leconte I, Landzberg M, Simonneau G. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346: 896-903.
115. Sackner-Bernstein JD, Skopicki HA, Aaronson KD. Risk of worsening renal function with nesiritide in patients with acutely decompensated heart failure. *Circulation* 2005; 111: 1487-91.
116. Sakai S, Miyauchi T, Kobayashi M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long- term survival in heart failure. *Nature* 1996; 384: 353-5.
117. Samuel CS, Butkus A, Coghlan JP, Bateman JF et al. The effect of relaxin on collagen metabolism in the nonpregnant rat pubic symphysis: The influence of estrogen and progesterone in regulating relaxin activity. *Endocrinology*, 1996; 137: 3884-90.
118. Samuel CS, Parry LJ, Summers RJ, Physical or Pathological- a role for relaxin in the cardiovascular system? *Current Opinion in pharmacology* 2003; 3: 152-8.
119. Samuel CS, Unermori EN, Mookerjee I, Bathgate RA, Layfield SL, Mak J et al. Relaxin modulates cardiac fibroblast proliferation, differentiation, and collagen production and reverses cardiac fibrosis in vivo. *Endocrinology* 2004a; 145: 4125-33.
120. Samuel CS, Zhao C, Bathgate RA, Bond CP, Hewitson TD, Amento EP,

- Summers R. J. Relaxin-1-deficient mice develop an age-related progression of renal fibrosis. *Kitney Int.* 2004b; 65: 2054-64.
121. Sherwood OD. Relaxin. In: *The Physiology of Reproduction*, 2nd Ed. (Knobil, E. and Neill, J.D., eds) Raven Press. 1994: 861-1009.
 122. Schwabe C, Steinetz BG, Weiss G, Segaloff A, McDonald K, O'Byrne E, Hochman J. et al. Relaxin. *Rec. Prog. Horm. Res.* 1978; 34: 123-99.
 123. Seibold JR, Korn JH, Simms R, Clements PJ, Moreland LW, Mayes MD et al. Recombinant human relaxin in the treatment of scleroderma. A randomized, doubleblind, placebo-controlled trial. *Ann. Intern. Med.* 2000; 132: 871-9.
 124. Silvertown JD, Ng J, Sato T, Summerlee AJ, Medin JA. H2 Relaxin overexpression increases in vivo prostate xenograft tumor growth and angiogenesis. *Int. J. Cancer*, 2006; 118: 62-73.
 125. Smith MC, Danielson LA, Conrad KP, Davison JM. Influence of recombinant human relaxin on renal hemodynamics in healthy volunteers. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 17: 3192-7.
 126. St. Louis J and Massicotte G. Chronic decrease of blood pressure by rat relaxin in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci.* 1985; 37: 1351-7.
 127. Stangl K, Dschietzig T, Richter C, Stangl V, Bartsch C, Zurbrügg HR et al. Cessation of Pulmonary and Coronary Secretion of Adrenomedullin Peptides in the Progression of Human Heart Failure. *Horm. Metab. Res.* 2002; 34: 81-6.
 128. Starling EH. *Linacre lecture on the law of the heart.* London: Longmans, Green 1918.
 129. Stewart DR, Celniker AC, Taylor C A, Cragun JR, Overstreet JW and Lasley BL. Relaxin in the periimplantation period. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1990; 70: 1771-3.
 130. Summerlee AJ, O'Byrne KT, Paisley AC, Breeze MF, Porter DG. Relaxin affects the central control of oxytocin release. *Nature* 1984; 309: 372-4.
 131. Summerlee AJ, Mumford AD, Smith MS. Porcine relaxin affects the release of luteinizing hormone in rats. *J. Neuroendocrinol.* 1991; 3: 133-8.
 132. Tashima LS, Mazoujian G and Bryant-Greenwood GD. Human relaxins in normal, benign and neoplastic breast tissue. *J. Mol. Endocrinol.* 1994; 12: 351-64.
 133. Telgmann R and Gellersen B. Marker genes of decidualization: activation of the decidual prolactin gene. *Hum. Reprod. Update.* 1998; 4: 472-9.
 134. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet* 1999; 353: 9-13.

135. The CONSENSUS TRIAL STUDY GROUP. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). *N. Engl. J. Med.* 1987; 316: 1429-35.
136. The MERIT-HF Study Group. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999; 353: 2001-7.
137. The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fraction and congestive heart failure. *N. Engl. J. Med.* 1991; 325: 293-302.
138. Too CK, Bryant-Greenwood GD and Greenwood FC. Relaxin increases the release of plasminogen activator, collagenase, and proteoglycanase from rat granulosa cells in vitro. *Endocrinology.* 1984; 115: 1043-50.
139. Toth M, Taskinen P and Ruskoaho H. Relaxin stimulates atrial natriuretic peptide secretion in perfused rat heart. *J. Endocrinol.* 1996; 150: 487-95.
140. Tozzi CA, Poiani GJ, Mc Hugh NA, Sharkarjian MP, Grove BH, Samuel CS et al: Recombinant human relaxin reduces hypoxic pulmonary hypertension in the rat. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2005; 18: 346-53.
141. Unemori EN, Amento EP. Relaxin modulates synthesis and secretion of procollagenase and collagen by human dermal fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 10681-5.
142. Unemori EN, Beck LS, Lee WP, Xu Y, Siegel M, Keller G et al. Human relaxin decreases collagen accumulation in vivo in two rodent models of fibrosis. *J. Invest. Dermatol.* 1993; 101: 280-5.
143. Unemori EN, Erikson ME, Rocco SE, Sutherland KM, Parsell DA, Mak J et al. Relaxin stimulates expression of vascular endothelial growth factor in normal human endometrial cells in vitro and is associated with menometrorrhagia in women. *Hum. Reprod.* 1999; 14: 800-6.
144. Unemori EN, Lewis M, Constant J, Arnold G, Grove BH, Normand J et al. Relaxin induces vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis selectively at wound sites. *Wound Repair Regen.* 2000; 8: 361-70.
145. Unger T, Li J. The role of the renin-angiotensin-aldosterone system in heart failure. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2004; 5: 7-11.
146. Weber KT. Extrazellular matrix remodelling in heart failure: a role for de novo angiotensin 2 generation. *Circulation* 1997; 96: 4065-82.
147. Weil J, Eschenhagen T, Hirt S, Magnussen O, Mittmann C, Remmers U, Scholz H. et al.: Preserved Frank-Starling mechanism in human end stage heart failure. *Cardiovasc Res.* 1998; 37: 541-48.

148. Weisinger RS, Burns P, Eddie LW and Wintour EM. Relaxin alters the plasma osmolality-arginine vasopressin relationship in the rat. *J. Endocrinol.* 1993; 137: 505-10.
149. Willenbrock R, Langenickel T, Knecht M. Regulation of cardiac adrenomedullin mRNA in different stages of experimental heart failure. *Life Sci.* 1999; 65: 2241-49.
150. Wilson BC, Conell B, Saleh TM. Relaxin- induced reduction of infarct size in male rats receiving MCAO is dependent on nitric oxide synthesis and not estrogenic mechanisms. *Neurosci Lett.* 2006; 393: 160-4.
151. Winslow JW, Shih A, Bourell JH, Weiss G, Reed B, Stults JT et al. Human seminal relaxin is a product of the same gene as human luteal relaxin. *Endocrinology.* 1990; 130: 2660-8.
152. Zhao L, Roche PJ, Gunnarsen JM, Hammond VE, Tregear GW, Wintour EM. Mice without a functional relaxin gene are unable to deliver milk to their pups. *Endocrinology* 2001; 140: 445-53.

Ich danke zunächst Herrn PD Dr. med. Thomas Dschietzig für die hervorragende und herzliche Betreuung und die Überlassung dieser Arbeit.

Ein besonderer Dank geht an meine Eltern für ihre fortwährende Unterstützung und an meinen Freund der mich immer bestärkt und motiviert hat.

Ich widme diese Arbeit meiner lieben Großmutter.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Ich, Julia Böhmer, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Applikation von rekombinantem humanem Relaxin bei Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Datum

Unterschrift