

Medizinische Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
aus dem Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie
Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. med. R. Stahlmann

Charakterisierung der Herzfunktion bei diabetischer Kardiomyopathie
und Myokardhypertrophie in einem SERCA2-transgenen Rattenmodell

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von Christoph Reißfelder
aus Heidelberg

Referent: PD Dr. R. Vetter

Korreferent: Prof. Dr. M. Bader

Gedruckt mit Genehmigung der Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 27.05.2005

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VIII
1. Einleitung	1
2. Grundlagen	3
2.1. Formen der Insuffizienz des Herzens	3
2.2. Tiermodelle für eine chronische Herzinsuffizienz	5
2.2.1 Hypertrophie-/Insuffizienzmodelle	5
2.2.2 Endokrine Kardiomyopathiemodelle	7
2.3. Kardiale Calciumregulation im intakten Myokard	8
2.3.1 Im intakten Myokard	8
2.3.2 Kardiale Ca ²⁺ -Homöostase bei Diabetes mellitus	11
2.3.3 Kardiale Ca ²⁺ -Homöostase bei Hypertrophie/ Insuffizienz	12
2.4. Die Calcium-ATPase des sarkoplasmatischen Retikulums	14
2.4.1 Molekulare Heterogenität und Struktur	14
2.4.2 Regulation der kardialen Ca ²⁺ -ATPase SERCA2a	15
2.5. Transgene Tiermodelle mit veränderter Transportfunktion der Calcium- ATPase des sarkoplasmatischen Retikulums	15
2.6. Zielstellung der Arbeit	17
3. Material und Methoden	18
3.1. Studienaufbau	18
3.1.1 Tierhaltung	18
3.1.2 Versuchstiere für das Streptozotocin Diabetesmodell	18

3.1.2.1	Versuchsablauf	18
3.1.2.2	Untersuchte Werte	18
3.1.3	Versuchstiere für das Modell der Drucküberlastherzhypertrophie	19
3.1.3.1	Versuchsablauf	19
3.1.3.2	Untersuchte Werte	19
3.2.	Methoden im Tierversuch	19
3.2.1	Erzeugen eines Diabetes mellitus	19
3.2.1.1	Dosierung von Streptozotocin	20
3.2.1.2	Lösung und Applikation	20
3.2.1.3	Kontrolle des diabetischen Status	20
3.2.2	Erzeugung einer Drucküberlasthypertrophie	21
3.2.2.1	Experimentelle Durchführung der mikrochirurgischen Aortenstenosierung	21
3.2.3	Invasive Hämodynamikmessung	22
3.2.4	Tötung und Organentnahme der Tiere	23
3.2.5	Kontraktilitätsmessung am isolierten Papillarmuskel	23
3.2.6	Histologische Untersuchung des Herzens	26
3.2.7	Herstellung der Homogenate	27
3.2.8	Oxalat-stimulierte Calciumaufnahme	28
3.2.9	Proteinbestimmung	30
3.3.	Genotypisierung der Rattenlinie 1167	32
3.3.1	Biopsie des Rattenschwanzes	32
3.3.2	Genomische DNA- Isolierung (Salz-Alkohol-Extraktion)	32
3.3.3	Bestimmung der DNA- Konzentration mittels Absorptionsspektrometrie	33
3.3.4	ApaI-Restriktionsverdau	34

3.3.5 DNA-Elektrophorese und Southern Blot	34
3.4. Bestimmung kardialer mRNA-Spiegel mit Northern Blot Technik	36
3.4.1 RNA- Isolierung	36
3.4.2 Northern Blot-Technik	37
3.5. RNA-Dotblot-Technik	40
3.6. Westernblot-Analyse	41
3.7. Herstellung des Clipgerätes	42
3.8. Verwendete Chemikalien, Geräte, Instrumente und Programme	43
3.8.1 Operation und Hämodynamikmessung	43
3.8.2 Histologische Untersuchung	44
3.8.3 Southern Blot	44
3.8.4 Northern Blot	45
3.8.5 Western Blot	45
3.9. Statistik	45
4. Ergebnisse	46
4.1 Allgemeine Charakterisierung von SERCA2a-transgenen Versuchstieren	46
4.2 Charakterisierung des Phänotyps von SERCA2a-transgenen Ratten	47
4.2.1 Herz- und Körpergewichte	47
4.2.2 Kardialer Ca ²⁺ -Transport in das SR	47
4.3 Kardialer Phänotyp von SERCA2a-transgenen Ratten mit diabetischer Kardiomyopathie	48
4.3.1 Blutzuckerprofil nach STZ-Behandlung	48
4.3.2 Herz- und Körpergewichte diabetischer Tiere	49
4.3.3 Kardiomyozytendurchmesser und interstitieller Fibrose	51
4.3.4 Hämodynamische Charakteristik	54

4.3.5 Kontraktile Charakteristik isolierter Papillarmuskelpräparate	55
4.3.6 Ca ²⁺ -Transport in das SR von Herzhomogenaten	58
4.3.7 Western Blot Analyse	58
4.4 Charakterisierung des Phänotyps von SERCA2a-transgenen Tieren mit einer Drucküberlastherzhypertrophie	60
4.4.1 Beziehung zwischen Stenosegrad der Aorta ascendens und dem Ausmaß der Myokardhypertrophie	60
4.4.2 Kardiomyozytendurchmesser und interstitieller Fibrose	63
4.4.3 Hämodynamische Charakteristik	65
4.4.4 Kardialer Ca ²⁺ -Transport in das SR von Herzhomogenaten	69
4.4.5 Dotplot-Analyse der SERCA2a-mRNA-Spiegel	69
5. Diskussion	72
5.1 Allgemeine Charakteristika der Versuchstiere	73
5.2 Diabetische Kardiomyopathie	74
5.3 Drucküberlasthypertrophie durch Einengung der Aorta ascendens	78
6. Zusammenfassung	83
7. Quellenverzeichnis	85
8. Anhang	97
8.1 Danksagung	97
8.2 Veröffentlichungen	98

Abkürzungsverzeichnis

A	Atrium
ANF	Antinatriuretisches Hormon
AS	Ratte mit Aortenstenose
ATP	Adenosintriphosphat
BZ	Blutglukosespiegel
C	Bis-Acrylamid-Monomerkonzentration in Gew.%
Ca ²⁺	Calcium
[Ca ²⁺]	Calciumkonzentration
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
D.m.	Diabetes mellitus
+dP/dt _{max}	maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit der Systole
-dP/dt _{max}	maximale Druckabfallsgeschwindigkeit der Diastole
EGTA	Ethylendinitrolotetraessigsäure
FG	Feuchtgewicht
HF	Herzfrequenz
HG	Herzgewicht
KG	Körpergewicht
LV	linker Ventrikel
LV + S	linker Ventrikel mit Septum
LVP	linksventrikulärer systolischer Druck
LVEDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
PKA	Proteinkinase A
PLB	Phospholamban
RV	rechter Ventrikel
Sh	Scheinbehandeltes Tier
SD	Sprague Dawley
SERCA	Sarko(endo)plasmatisches Retikulum Calcium-ATPase
SR	Sarkoplasmatische Retikulum
STZ	Streptozotocin
T	Gesamtkonzentration (g%) von Acrylamid und Bisacrylamid
TGR	SERCA2a transgene Ratte
WT	Wildtyp Ratte

Abbildungsverzeichnis

2.1	Schematisches Arbeitsdiagramm eines isolierten Herzens	4
2.2	Übersicht über die wesentlich beteiligten Proteine der kardialen Ca^{2+} -Transportvorgänge während der Ca^{2+} -Regulation	10
3.1	Schematische Darstellung der Messung der Hämodynamikparameter mittels eines Millar-Tip-Katheter [®] im linken Ventrikel über die Herzspitze	22
3.2	Parameter des Mechanogramms	25
3.3	Schematische Darstellung von extrasystolischer Potenzierung an isolierten Papillarmuskeln	26
3.4	Prinzip der Oxalat-stimulierten Ca^{2+} -Aufnahme	29
3.5	Versuchsaufbau der Millipore Filtrationstechnik	30
3.6	Clipzange mit Imbusschraube zum Verstellen des Durchmessers und dazugehörigen Hemoclips mit verschiedenen Durchmesser der kurzen Diagonalen	43
4.1	Autoradiogramm eines Southern Blots genomischer DNA von Nachkommen der SERCA2a transgenen Linie 1167	46
4.2	Auszug aus dem Stammbaum der SERCA2a-transgenen Linie 1167	46
4.3	Ca^{2+} -Abhängigkeit des Oxalat-stimulierten Ca^{2+} -Transportes in das sarkoplasmatische Retikulum linksventrikulärer Homogenate	48
4.4	Verlauf des Blutzuckerspiegels	49
4.5	Veränderungen des Körpergewichts	50
4.6	Exemplarische Hämotoxylin-Eosin-gefärbte Herzschnitte diabetischer und nicht diabetischer SERCA2a-transgener und nicht-transgener Ratten	52
4.7	Boxplotdarstellung der morphometrisch gemessenen Kardiomyozytendurchmesser	53
4.8	Darstellung der morphometrisch gemessenen interstitiellen Fibrose in SiriusRed-gefärbten Schnitte des linken Ventrikels diabetischer und nicht diabetischer SERCA2a-transgener und nicht-transgener Ratten	53
4.9	Kontraktile Eigenschaften von isolierten Papillarmuskelpräparaten von SERCA2a-transgenen- und Wildtyp-Ratten, mit Streptozotocin induzierten Diabetes mellitus im Vergleich zu nicht-diabetischen WT-Kontrollen.	56

4.10	Einfluss von Isoprenalin und extrasystolischer Stimuli auf das kontraktile Verhalten von SERCA2a-transgenen und nicht-transgenen Ratten mit Streptozotocin-induzierten Diabetes mellitus im Vergleich zu nicht-diabetischen WT-Kontrolltieren	57
4.11	Unterschiede in der SR Ca^{2+} -Aufnahme aus Homogenaten des linken Ventrikels	58
4.12	Immunreaktive linksventrikuläre SERCA2a- und Phospholamban-Spiegel diabetischer nicht-transgener und SERCA2a-transgener Ratten im Vergleich zu nicht-transgenen Tieren ohne Diabetes mellitus	59
4.13	Verhältnis zwischen Werten der retikulären Ca^{2+} -Aufnahme und immunreaktiven SERCA2a-Protein-Spiegeln in linksventrikulären Homogenaten nicht-diabetischer Wildtyp-Kontrollen, diabetischen WT und diabetischen SERCA2a-transgenen Ratten	60
4.14	Relative Masse verschiedener Herzabschnitte von SERCA2a-transgenen Ratten und nicht-transgenen Tieren 6 Wochen nach operativer Einengung der Aorta ascendens	61
4.15	Exemplarische Hämotoxylin-Eosin-gefärbte Schnitte SERCA2a-transgener und nicht-transgener Ratten 6 Wochen nach Aortenkonstriktion, bzw. nach Scheinoperation	63
4.16	Boxplotdarstellung der morphometrisch gemessenen Kardiomyozytendurchmesser SERCA2a-transgener und nicht-transgener Ratten mit einer Einengung der Aorta ascendens auf 0.4 mm 6 Wochen postoperativ im Vergleich zu scheinoperierten Tieren	64
4.17	Ausmaß der extrazellulären Kollagenmatrix im linksventrikulären Myokard von SERCA2a-transgenen und nicht-transgenen Ratten mit 6-wöchiger supra-avalvulären Aortenstenose im Vergleich zu scheinoperierten Kontrolltieren ohne Aortenstenose	65
4.18	Lineare Beziehung zwischen Masse des linken Ventrikels und entwickelten linksventrikulären Maximaldruck	66
4.19	Normierte linksventrikuläre Hämodynamikparameter	68
4.20	Oxalat-stimulierte Ca^{2+} -Transport in Membranvesikeln des sarkoplasmatischen Retikulum	69
4.21	Die linksventrikulären Spiegel von SERCA2a-, GAPDH- und ANF-mRNA von SERCA2a-transgenen und nicht-transgenen Ratten ohne und mit Drucküberlasthypertrophie unterschiedlicher Ausprägung	70

Tabellenverzeichnis

2.1	Ausgewählte Rattenmodelle für die Untersuchung der chronischen Herzinsuffizienz	6
2.2	Übersicht über die Leistungsfähigkeit membranärer Ca^{2+} -Transportsysteme	11
2.3	SERCA- Isoformen und deren Vorkommen	15
3.1	Zusammensetzung des Reaktionsansatz (200 μl) für die Bestimmung der oxalat-stimulierten Transportaktivität in Herzhomogenaten	28
3.2	Auflistung aller benutzten cDNA-Sonden zur Quantifizierung von mRNAs	39
4.1	Körper- und Herzgewichte von SERCA2a-transgenen Ratten und Tieren vom Wildtyp	47
4.2	Allgemeine Charakteristik von SERCA2a-transgenen- und Wildtyp-Ratten ohne und mit Streptozotocin-induziertem Diabetes mellitus	51
4.3	Hämodynamische Charakteristik von SERCA2a-transgenen- und nicht-transgenen Wildtyp-Ratten mit und ohne Streptozotocin-induziertem Diabetes mellitus	54
4.4	Körper-, Herz- und Lungengewichte von SERCA2a-transgenen- und nicht-transgenen Ratten 6 Wochen nach operativen Anlegen eines Hemoclips an die ascendierende Aorta	62
4.5	Veränderungen von Hämodynamikparametern bei 6-wöchiger Aortenstenose nicht-transgener Wildtyp- und transgener SERCA2a-Ratten	67

7 Literaturverzeichnis

1. Afzal N. and N.S.Dhalla. Differential changes in left and right ventricular SR calcium transport in congestive heart failure. *Am J Physiol* 262: H 868-H 874, 1992.
2. Akella A.B., X.L.Ding, R.Cheng, and J.Gulati. Diminished Ca^{2+} sensitivity of skinned muscle contractility coincident with troponin T-band shifts in the diabetic rat. *Circ Res* 76: 600-606, 1995.
3. Allo S.N., T.M.Lincoln, G.L.Wilson, F.J.Green, A.M.Watanabe, and Schaffer S.W. Non-insulin-dependent insulin-induced defects in cardiac cellular calcium regulation. *Am J Physiol* 260: C1165-C1171, 1991.
4. American Heart Association. Heart failure. www.americanheart.org 2003.
5. Anversa P., R.Ricci, and G.Olivetti. Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 7: 1140-1149, 1986.
6. Arai M., H.Matsui, and M.Periasamy. Sarcoplasmic reticulum gene expression and cardiac hypertrophy and heart failure. *Circ Res* 74(4): 555-564, 1994.
7. Arai M., N.Alpert, D.H.MacLennan, P.Barton, and M.Periasamy. Alterations in sarcoplasmic reticulum gene expression in human heart failure: a possible mechanism for alterations in systolic and diastolic properties of the failing myocardium. *Circ Res* 72: 463-469, 1993.
8. Arber S., J.J.Hunter, J.Ross Jr, M.Hongo, G.Sansig, J.Borg, J.C.Perriard, K.R.Chien, and P.Caroni. MLP-deficient mice exhibit a disruption of cardiac cytoarchitectural organization, dilated cardiomyopathy, and heart failure. *Cell* 88: 393-403, 1997.
9. Aronow W.S. Left ventricular hypertrophy. Significance in cardiac morbidity and mortality. *Postgrad Med* 87: 147-158, 1990.
10. Baker D.L., K.Hashimoto, I.L.Grupp, Y.Ji, T.Reed, E.Loukianov, G.Grupp, A.Bhagwhat, B.Hoit, R.Walsh, E.Marban, and M.Periasamy. Targeted overexpression of the sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase increases cardiac contractility in transgenic mouse hearts. *Circ Res* 83: 1205-1214, 1998.
11. Barsotti A., F.L.Dini, V.Nardini, M.Di Muzio, S.Gallina, P.Di Napoli, A.M.Calafiore, and G.Trevi. From myocardial hypertrophy to heart failure: role of the interstitium. *Cardiologia* 38: 67-77, 1993.
12. Bartosova D., M.Chvapil, and B.Korecky. The growth of the muscular and collagenous parts of the rat heart in various forms of cardiomegaly. *J Physiol Lond* 200: 285-295, 1969.
13. Bassani J.W., R.A.Bassani, and D.M.Bers. Relaxation in rabbit and rat cardiac cells: species-dependent differences in cellular mechanisms. *J Physiol* 476: 279-293, 1994.
14. Bentivegna L.A., L.W.Ablin, Y.Kihara, and J.P.Morgan. Altered calcium handling in left ventricular pressure- overload hypertrophy as detected with aequorin in the isolated, perfused ferret heart. *Circ Res* 69: 1538-1545, 1991.
15. Bergh C.H., A.Hjalmarson, K.G.Sjogren, and B.Jacobsson. The effect of diabetes on phosphatidylinositol turnover and calcium influx in myocardium. *Horm Metab Res* 20: 381-386, 1988.
16. Bers D.M. Ca transport during contraction and relaxation in mammalian ventricular muscle. *Basic Res Cardiol* 92: 1-10, 1997.
17. Beuckelmann D.J., M.Nabauer, and E.Erdmann. Intracellular calcium handling in isolated ventricular myocytes with terminal heart failure. *Circulation* 65: 334-343, 1989.
18. Bidasee K.R., Y.Zhang, C.H.Shao, M.Wang, K.P.Patel, U.D.Dincer, and H.R.Jr Besch. Diabetes increases formation of advanced glycation end products on Sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *Diabetes* 53: 463-473, 2004.

19. Bing O.H., W.W.Brooks, and C.H.Conrad. Intracellular calciumtransients in myocardium from spontaneously hypertensive rats during the transition to heart failure. *Circ Res* 68: 1390-1400, 1991.
20. Bonow R.O. and J.E.Udelson. Left ventricular diastolic dysfunction as a cause of congestive heart failure. Mechanisms and management. *Ann Intern Med* 117: 502-510, 1992.
21. Bouchard R.A. and D.Bose. Influence of experimental diabetes on sarcoplasmic reticulum function in rat ventricular muscle. *Am J Physiol* 260: H 341-H 354, 1991.
22. Brandau H. Effects of hyper- and hypothyreosis on enzyme patterns in the rat ovary. *Arch Gynakol* 211: 243-245, 1971.
23. Brandl C.J., N.M.Green, B.Korczak, and D.H.MacLennan. Two Ca²⁺-ATPase genes: homologies and mechanistic implications of deduced amino acid sequences. *Cell* 44: 597-607, 1986.
24. Brandl C.J., S.deLeon, D.R.Martin, and D.H.MacLennan. Adult form of the Ca²⁺-ATPase of sarcoplasmic reticulum. Expression in developing skeletal muscle. *J Biol Chem* 262: 3768-3774, 1987.
25. Brilla C.G. and B.Maisch. Regulation of the structural remodelling of the myocardium: from hypertrophy to heart failure. *Eur Heart J* 15: 45-52, 1994.
26. Brilla C.G., B.Maisch, and K.T.Weber. Myocardial collagen matrix remodelling in arterial hypertension. *Eur Heart J* 13: 24-32, 1992.
27. Brilla C.G., B.Maisch, and K.T.Weber. Renin- angiotensin system and myokardial collagen matrix. *Clin Invest* 71: 35-41, 1993.
28. Brilla C.G. and H.Rupp. Myocardial collagen matrix remodeling and congestive heart failure. *Cardiologia* 39: 389-393, 1994.
29. Bruckschlegel G., S.R.Holmer, K.Jandeleit, D.Grimm, F.Muders, E.P.Kromer, G.A.Riegger, and H.Schunkert. Blockade of the renin-angiotensin system in cardiac pressure-overload hypertrophy in rats. *Hypertension* 25: 250-259, 1995.
30. Brutsaert D.L., F.E.Rademakers, and U.S.Sys. Triple control of relaxation: Implications in cardiac disease. *Circulation* 69: 190-196, 1983.
31. Campbell S.E., A.M.Gerdes, and T.D.Smith. Comparison of regional differences in cardiac myocyte dimensions in rats, hamsters and guinea pigs. *Anat Rec* 219: 53-59, 1987.
32. Campbell S.E., B.Korecky, and K.Rakusan. Remodeling of myocyte dimensions in hypertrophic and atrophic rat hearts. *Circ Res* 68: 984-996, 1991.
33. Campbell S.E., K.Rakusan, and A.M.Gerdes. Change in cardiac myocyte size distribution in aortic constricted neonatal rat hearts. *Basic Res Cardiol* 84: 247-258, 1989.
34. Capasso J.M., P.Li, G.Guideri, A.Malhotra, R.Cortese, and P.Anversa. Myocardial mechanical, biomechanical, and structural alterations induced by chronic ethanol ingestion in rats. *Circ Res* 71: 346-356, 1992.
35. Carafoli E.T. The homeostasis of calcium in heart cells. *J Mol Cell Cardiol* 17: 203-212, 1985.
36. Carré F., F.Rannou, C.Sainte Beuve, B.Chevalier, J.M.Moalic, B.Swynghedauw, and D.Charlemagne. Arrhythmogenicity of the hypertrophied and senescent heart and relationship to membrane proteins involved in the altered calcium handling. *Cardiovasc Res* 27: 1784-1789, 1993.
37. Chomczynski P. and N.Sacchi. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162: 156-159, 1987.
38. Chua B.H., W.M.Long, N.Lautensack, J.A.Lins, and H.E.Morgan. Effects of diabetes on cardiac lysosomes and protein degradation. *Am J Physiol* 245: C 91-C 100, 1983.
39. Cohn J.N., G.Johnson, and Veterans Administration Cooperative Study Group. Heart failure with normal ejection fraction. The V-HeFT study. *Circulation* 81: 48-53, 1990.
40. Colyer J. Control of the calcium pump of the cardiac sarcoplasmic reticulum. A specific role for the pentameric structure of phospholamban? *Cardiovasc Res* 27: 1766-1771, 1993.

41. Conrad C.H., Brooks W.W., Sen S., Robinson K.G., and Bing O.H. Myocardial Fibrosis and Stiffness With Hypertrophy and Heart Failure in the Spontaneously Hypertensive Rat. *Circulation* 91: 161-170, 1995.
42. Cowie M.R., D.A.Wood, A.J.Coats, S.G.Thompson, P.A.Poole-Wilson, and V.Suresh. Incidence and aetiology of heart failure. A population based study. *European Heart Journal Eur Heart J* 1999;20:421-8: 421-428, 1999.
43. Dahl L.K., M.Heine, and L.Tassinari. Role of genetic factors in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion. *Naudni Tr Vissh Med Inst Sofia* 194: 480-482, 1962.
44. Dammrich J. and U.Pfeifer. Cardiac hypertrophy in rats after supraaortic constriction. I. Size and number of cardiomyocytes, endothelial and interstitial cells. *Virchows Archiv.B, Cell pathology including molecular pathology* 43: 265-286, 1983.
45. Datta B.N. and M.D.Silver. Cardiomegaly in chronic anemia in rats: an experimental study including ultrastructural, histometric and stereologic observations. *Lab Invest* 32: 503-514, 1975.
46. Davia K., E.Bernobich, H.K.Ranu, F.del Monte, C.M.Terracciano, K.T.MacLeod, D.L.Adamson, B.Chaudhri, R.J.Hajjar, and S.E.Harding. SERCA2A overexpression decreases the incidence of aftercontractions in adult rabbit ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 33: 1005-1015, 2001.
47. Davia K., R.J.Hajjar, C.M.Terracciano, N.S.Kent, H.K.Ranu, P.O'Gara, A.Rosenzweig, and S.E.Harding. Functional alterations in adult rat myocytes after overexpression of phospholamban with use of adenovirus. *Physiol Genomics* 1: 41-50, 1999.
48. De La Bastie D., D.Levitsky, L.Rappaport, J.J.Mercadier, F.Marotte, C.Wisnewsky, V.Brovkovich, K.Schwartz, and A.M.Lompré. Function of the sarcoplasmic reticulum and expression of its Ca²⁺-ATPase gene in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in the rat. *Circ Res* 66: 554-564, 1990.
49. Dhalla N.S., X.Liu, V.Panagia, and N.Takeda. Subcellular remodeling and heart dysfunction in chronic diabetes. *Cardiovasc Res* 40: 239-247, 1998.
50. Dillmann W.H. Diabetes mellitus induces changes in cardiac myosin of the rat. *Diabetes* 29: 579-582, 1980.
51. Dillmann W.H. Fructose feeding increases Ca²⁺- activated myosin ATPase activity and changes myosin isoenzyme distribution in the diabetic rat heart. *Endocrinology* 114: 1678-1685, 1984.
52. Dillmann W.H. Methyl palmitate increases Ca²⁺- myosin ATPase activity and changes myosin isoenzyme distribution in the diabetic rat heart. *Am J Physiol* 248: E 602-E 606, 1985.
53. Dillmann W.H. Diabetes and thyroid-hormon-induced changes in cardiac function and their molecular basis. *Annu Rev Med* 40: 373-394, 1989.
54. Ding B., R.L.Price, E.C.Goldsmith, T.K.Borg, X.Yan, P.S.Douglas, E.O.Weinberg, J.Bartunek, T.Thielen, V.V.Didenko, and B.H.Lorell. Left ventricular hypertrophy in ascending aortic stenosis mice. *Circulation* 101: 2854-2862, 2000.
55. Dougherty A.H., G.V.Naccarelli, E.Gray, C.H.Hicks, and R.A.Goldstein. Congestive heart failure with normal systolic function. *Am J Cardiol* 54: 778-782, 1985.
56. Dzau V.J. Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors and Cardiovascular System. *J Hypertens* 10: S 3-S 10, 1992.
57. Fabiato A. and F.Fabiato. Contractions induced by a calcium trigger release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of single skinned cardiac cells. *J Physiol Lond* 249: 469-495, 1975.
58. Fein F.S., B.Miller-Green, and E.H.Sonnenblick. Altered myocardial mechanics in diabetic rabbits. *Am J Physiol* 248: H 729-H 736, 1985.
59. Fein F.S. and E.H.Sonnenblick. Diabetic cardiomyopathy. *Prog Cardiovasc Dis* 27: 255-270, 1985.
60. Fein F.S. and E.H.Sonnenblick. Diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Drugs Ther* 8: 65-73, 1994.

61. Fein F.S., L.B.Kornstein, J.E.Strobeck, J.M.Capasso, and E.H.Sonnenblick. Altered myocardial mechanics in diabetic rats. *Circ Res* 47: 922-933, 1980.
62. Feldman A.M., E.O.Weinberg, P.E.Ray, and B.H.Lorell. Selective changes in cardiac gene expression during compensated hypertrophy and the transition to cardiac decompensation in rats with chronic aortic banding. *Circ Res* 73: 184-192, 1993.
63. Fitzl G., R.Martin, D.Dettmer, V.Hermsdorf, H.Drews, and K.Welt. Protective effects of Ginkgo biloba extract EGb 761 on myocardium of experimentally diabetic rats. I: ultrastructural and biochemical investigation on cardiomyocytes. *Exp Toxicol Pathol* 51: 189-198, 1999.
64. Flaim S.F., W.J.Minteer, S.H.Nellis, and D.P.Clark. Chronic arteriovenous shunt: evaluation of a model for heart failure in rat. *Am J Physiol* 236: H 698-H 704, 1979.
65. Foy J.M. and P.D.Lucas. Effect of experimental diabetes, food deprivation and genetic obesity on the sensitivity of pithed rats to autonomic agents. *Br J Pharmacol* 57: 229-234, 1976.
66. Freestone N.S., S.Ribaric, M.Scheuermann, U.Mauser, M.Paul, and R.Vetter. Differential lusitropic responsiveness to beta-adrenergic stimulation in rat atrial and ventricular cardiac myocytes. *Pflugers Arch* 441: 78-87, 2000.
67. Gaasch W.H., M.R.Zille, A.S.Blaustein, and O.H.L.Bing. Loading conditions and left ventricular relaxation. In: Diastolic relaxation of the heart. *Martinus Nijhoff Publishing* 133-142, 1987.
68. Ganguly P.K., G.N.Pierce, K.S.Dhalla, and N.S.Dhalla. Defective sarcoplasmic reticular calcium transport in diabetic cardiomyopathy. *Am J Physiol* 244: E 528-E 535, 1983.
69. Geenen D.L., A.Malhotra, P.M.Buttrick, and J.Scheuer. Ventricular pacing attenuates but does not reverse cardiac atrophy and an isomyosin shift in the rat heart. *Am J Physiol* 267: H 2149-H 2154, 1994.
70. Gehlbach B.K. and E.Geppert. The pulmonary manifestations of left heart failure. *Chest* 125: 669-682, 2004.
71. Geisterfer-Lowrance A.A., M.Christe, D.A.Conner, J.S.Ingwall, F.J.Schoen, C.E.Seidman, and J.G.Seidman. A mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Science* 272: 731-734, 1996.
72. Goldstein D.S. Plasma norepinephrine as an indicator of sympathetic neural activity in clinical cardiology. *Am J Cardiol* 48: 1147-1154, 1981.
73. Gotzsche O. Myocardial cell dysfunction in diabetes mellitus. A review of clinical and experimental studies. *Diabetes* 35: 1158-1162, 1986.
74. Grimm D., D.Elsner, H.Schunkert, M.Pfeifer, D.Griese, G.Bruckschlegel, F.Muders, G.A.Rieger, and E.P.Kromer. Development of heart failure following isoproterenol administration in the rat: role of the renin- angiotensin system. *Cardiovasc Res* 37: 91-100, 1998.
75. Grimm D., H.C.Jabusch, P.Kossmehl, M.Huber, S.Fredersdorf, D.P.Griese, B.K.Kramer, and E.P.Kromer. Experimental diabetes and left ventricular hypertrophy: effects of beta-receptor blockade. *Cardiovasc Pathol*. 11: 229-237, 2002.
76. Grossman W. Diastolic dysfunction and congestive heart failure. *Circulation* 81: 3-1-3-7, 1990.
77. Grossman W., L.P.McLaurin, S.P.Moos, M.A.Stefadouras, and D.T.Young. Wall thickness and diastolic properties of left ventricle. *Circulation* 49: 129-135, 1974.
78. Gunasekaran S., J.A.Young, and T.E.J.Tenner. Pharmacological study of isoproterenol and diabetic cardiomyopathies in rat right ventricular strips. *Pharmacology* 46: 101-108, 1993.
79. Gupta R.C., H.Shimoyama, M.Tanimura, R.Nair, M.Lesch, and H.N.Sabbah. SR Ca²⁺- ATPase activity and expressio in ventricular myocardium of dogs with heart failure. *Am J Physiol* 273 (1 Pt. 2): H 12-H 18, 1997.
80. Gwathmey J.K., L.Copelas, R.MacKinnon, F.J.Schoen, W.Grossmann, and J.P.Morgan. Abnormal intracellular calcium handling in myocardium from patients with endstage heart failure. *Circ Res* 61: 70-76, 1987.

81. Gwathmey J.K. and Morgan J.P. Sarcoplasmic reticulum calcium mobilization in right ventricular pressure-overload hypertrophy in the ferret: relationships to diastolic dysfunction and a negative treppe. *Pflugers Arch* 422: 599-608, 1993.
82. Han X., D.R.Abendschein, J.G.Kelley, and R.W.Gross. Diabetes- induced changes in specific lipid molecular species in rat myocardium. *Biochem J* 352: 79-89, 2000.
83. Hasenfuss G., H.Reinecke, R.Studer, M.Meyer, B.Pieske, J.Holtz, C.Holubarsch, H.Posival, H.Just, and H.Drexler. Relation between myocardial function and expression of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} - ATPase in failing and nonfailing human myocardium. *Circ Res* 75: 434-442, 1994.
84. He H., F.J.Giordano, R.Hilal-Dandan, D.J.Choi, H.A.Rockman, P.M.McDonough, W.F.Bluhm, M.Meyer, M.R.Sayen, E.Swanson, and W.H.Dillmann. Overexpression of the rat sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase gene in the heart of transgenic mice accelerates calcium transients and cardiac relaxation. *J Clin Invest* 100: 380-389, 1997.
85. Hess O.M., B.Villari, and H.P.Krayenbuehl. Diastolic dysfunction in aortic stenosis. *Circulation* 87: IV-73-IV-76, 1993.
86. Heylinger C.E., A.Prakash, and J.H.McNeill. Alterations in cardiac sarcolemmal Ca^{2+} pump activity during diabetes mellitus. *Am J Physiol* 252 : H 540-H 544, 1987.
87. Hicks M.J., M.Shigekawa, and A.M.Katz. Mechanism by which cyclic adenosine 3':5'-monophosphate-dependent protein kinase stimulates calcium transport in cardiac sarcoplasmic reticulum. *Circ Res* 44: 384-391, 1979.
88. Ho K.K., J.L.Pinsky, W.B.Kannel, and D.Levy. The epidemiology of heart failure: the Framingham study. *J Am Coll Cardiol* 22: 6A-13A, 1993.
89. Holtz J. The significance of myocardial hypertrophy in heart failure. *Z Kardiol* 81: 41-48, 1992.
90. Horackova M. and M.G.Murphy. Effects of chronic diabetes mellitus on the electrical and contractile activities, $^{45}Ca^{2+}$ -transport, fatty acid profiles and ultrastructure of isolated rat myocytes. *Pflugers Arch* 411: 564-572, 1988.
91. Ito K., X.Yan, X.Feng, W.J.Manning, W.H.Dillmann, and B.H.Lorell. Transgenic expression of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase modifies the transition from hypertrophy to early heart failure. *Circ Res* 89: 422-429, 2001.
92. Jackson T., M.F.Allard, C.M.Sreenan, L.K.Doss, S.P.Bishop, and J.L.Swain. The c-myc protooncogene regulates cardiac development in transgenic mice. *Mol Cell Biol* 10: 3709-3716, 1990.
93. Junqueira Junior L.F., P.S.Beraldo, E.Chapadeiro, and P.C.Jesus. Cardiac autonomic dysfunction and neuroanglionitis in a rat model of chronic Chagas` disease. *Cardiovasc Res* 26: 324-329, 1992.
94. Junqueira L.C., G.Bignolas, and R.R.Brentani. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen in tissue section. *Histochem J* 11: 447-455, 1979.
95. Junqueira L.C., W.Cossermelli, and R.Brentani. Differential staining of collagen Typ I, II and III by sirius red and polarization microscopy. *Arch histol jpn* 41: 267-274, 1978.
96. Kalon K.L., J.L.Pinsky, W.B.Kannel, and D.Levy. The Epidemiology of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 22: 6A-13A, 1993.
97. Kannel W.B. and A.J.Belanger. Epidemiology of heart failure. *Am Heart J* 121: 951-957, 1991.
98. Kapelko V.I., V.I.Veksler, M.I.Popovich, and R.Ventura-Clapier. Energy-linked functional alterations in experimental cardiomyopathies. *Am J Physiol* 261: 39-44, 1991.
99. Kaplinsky E. Significance of left ventricular hypertrophy in cardiovascular morbidity and mortality. *Cardiovasc Drugs Therapy* 8: 549-556, 1994.
100. Karczewski P., R.Vetter, M.Holtzhauer, and E.G.Krause. Indirect technique for the estimation of cAMP- dependent and Ca^{2+} /calmodulin- dependent phospholamban phosphorylation state in canine heart in vivo. *Biomed Biochem Acta* 45: S 227-S 231, 1986.

101. Katz A.M. Biochemical "defect" in the hypertrophied and failing heart: deleterious or compensatory? *Circulation* 47: 1076-1079, 1973.
102. Khandoudi N., A.C.Guo, M.Chesnais, and D.Feuvery. Skinned cardiac fibres of diabetic rats: contractile activation and effects of 2,3-butanedione monoxime (BDM) and caffeine. *Cardiovasc Res* 27: 447-452, 1993.
103. Kiernan J.A. Histological and histochemical methods. *Butterworth Heinemann.Oxford, England and Woburn, MA,USA* 1999.
104. Kirchberger M.A., M.Tada, and A.M.Katz. Adenosine 3':5'-monophosphate-dependent protein kinase-catalyzed phosphorylation reaction and its relationship to calcium transport in cardiac sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 249: 6166-6177, 1974.
105. Komamura K., R.P.Shannon, T.Ihara, Y.T.Shen, I.Mirsky, S.P.Bishop, and S.F.Vatner. Exhaustion of Frank-Starling mechanism in conscious dogs with heart failure. *Am J Physiol* 265: H 1119-H 1131, 1994.
106. Komuro I., M.Kurabayashi, Y.Shibazaki, F.Takaku, and Y.Yazaki. Molecular cloning and characterization of a $Ca^{2+} + Mg^{2+}$ -dependent adenosine triphosphatase from rat cardiac sarcoplasmic reticulum. Regulation of its expression by pressure overload and developmental stage. *J Clin Invest* 83: 1102-1108, 1989.
107. Kotsanas G., L.M.Delbridge, and I.R.Wendt. Stimulus interval-dependent differences in Ca^{2+} transients and contractile responses of diabetic rat cardiomyocytes. *Cardiovasc Res* 46: 450-462, 2000.
108. Koyama S., M.Kodama, T.Izumi, and A.Shibata. Experimental rat model representing both acute and chronic heart failure related to autoimmune myocarditis. *Cardiovasc Drugs Ther* 9: 701-707, 1995.
109. Kozlowski R.Z., L.J.Goodstadt, V.W.Twist, and T.Powell. Modulation of cardiac L-type Ca^{2+} channels by GTP gamma S in response to isoprenaline, forskolin and photoreleased nucleotides. *Br J Pharmacol* 111: 250-258, 1994.
110. Ku D.D. and B.M.Sellers. Effects of streptozotocin diabetes and insulin treatment on myocardial sodium pump and contractility of the rat heart. *J Pharmacol Exp Ther* 222: 395-400, 1982.
111. Kubo H., K.B.Margulies, V.Piacentino 3rd, J.P.Gaughan, and S.R.Houser. Patients with end-stage congestive heart failure treated with beta-adrenergic receptor antagonists have improved ventricular myocyte calcium regulatory protein abundance. *Circulation* 104: 1012-1018, 2001.
112. Kuhn C.M. and S.M.Schanberg. Metabolism of amphetamine after acute and chronic administration to the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 207: 544-554, 1978.
113. Langheinrich M., M.A.Lee, and M.Bohm. The hypertensive Ren-2 transgenic rat TGR (mREN2) 27 in hypertension research. Characteristics and functional aspects. *Am J Hypertens* 9: 506-512, 1996.
114. Le Peuch C.J., J.Haiech, and J.G.Demaille. Concerted regulation of cardiac sarcoplasmic reticulum calcium transport by cyclic adenosine monophosphate dependent and calcium--calmodulin-dependent phosphorylations. *Biochemistry* 18: 5150-5157, 1979.
115. Litwin S.E., T.E.Raya, P.G.Anderson, S.Daugherty, and S.Goldman. Abnormal cardiac function in the streptozotocin-diabetic rat. Changes in active and passive properties of the left ventricle. *J Clin Invest* 86: 481-488, 1990.
116. Lompré A.M., M.Anger, and D.Levitsky. Sarco(endo)plasmic reticulum calcium pumps in the cardiovascular system: function and gene expression. *J Mol Cell Cardiol* 26: 1109-1121, 1994.
117. Lopaschuk G.D., A.G.Tahiliani, R.V.Vadlamudi, S.Katz, and J.H.McNeill. Cardiac sarcoplasmic reticulum function in insulin- or carnitine- treated diabetic rats. *Am J Physiol* 245: H 969-H 976, 1983.
118. Lopaschuk G.D. and J.C.Russel. Myocardial function and energy substrate metabolism in the insuline-resistant JCR: LA corpulent rat. *J Appl Physiol* 71: 1302-1308, 1991.

119. Lopaschuk G.D., S.Katz, and J.H.McNeill. Studies on the mechanism by which diabetes alters cardiac sarcoplasmic reticulum function. *Proc West Pharmacol Soc* 25: 47-50, 1982.
120. Lorell B.H. Left ventricular diastolic pressure-volume relations: Understanding and managing congestive heart failure. *Heart Failure* 4: 223-232, 1988.
121. Lorell B.H. Significance of diastolic dysfunction of the heart. *Ann Rev Med* 42: 411-436, 1991.
122. Lowry O.H., N.J.Rosebrough, A.L.Farr, and R.J.Randall. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951.
123. MacLean I.M., R.V.Rajotte, and A.N.Belcastro. Insulin and islet cell transplants: effects on diabetic rat cardiac myofibril ATPase. *Am J Physiol* 252: E 244-E 247, 1987.
124. MacLennan D.H., C.J.Brandl, B.Korczak, and N.M.Green. Calcium ATPases: contribution of molecular genetics to our understanding of structure and function. *Soc Gen Physiol Ser* 41: 287-300, 1987.
125. Malhotra A., S.Penpargkul, T.Schaible, and J.Scheuner. Contractile proteins in sarcoplasmic retikulum in physiologic cardiac hypertrophy. *Am J Physiol* 241: H 263-H 267, 1981.
126. Malhotra A. and V.Sanghi. Regulation of contractile proteins in diabetic heart. *Cardiovasc Res* 34: 34-40, 1997.
127. Medvedev O.S. and E.A.Gorodetskaya. Systemic and regional hemodynamic effects of peridopril in experimental heart failure. *Am Heart J* 126: 764-769, 1993.
128. Mercadier J.J., A.M.Lompré, P.Duc, K.R.Boheler, J.B.Fraysse, C.Wisnewsky, P.D.Allen, M.Komajda, and K.Schwartz. Altered sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase gene expression in the human ventricle during end-stage heart failure. *J Clin Invest* 85: 305-309, 1990.
129. Merit-HF StudyGroup. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure. *Lancet* 353: 2001-2007, 1999.
130. Meyer M., W.Schillinger, B.Pieske, C.Holubarsch, C.Heilmann, H.Posival, G.Kuwajima, K.Mikoshiba, H.Just, and G.Hasenfuss. Alterations of sarcoplasmic reticulum proteins in failing human dilated cardiomyopathy. *Circulation* 92: 778-784, 1995.
131. Mirsky I. and A.Pasipoularides. Clinical assessment of diastolic function. *Prog Cardiovasc Dis* 32: 291-318, 1990.
132. Morgan J.P. Abnormal intracellular modulation of calcium as a major cause of cardiac contractile dysfunction. *N Engl J Med* 325: 625-632, 1991.
133. Muders F., E.P.Kromer, U.Bahner, D.Elsner, B.Ackermann, H.Schunkert, M.Palkovits, and G.A.Riegger. Central vasopressin in experimental aortic stenosis in the rat. *Cardiovasc Res* 73: 184-192, 1995.
134. Nagai R., A.Zarain-Herzberg, C.J.Brandl, J.Fuji, M.Tada, D.H.MacLennan, N.R.Alpert, and M.Periasamy. Regulation of myocardial Ca²⁺ ATPase and phospholamban mRNA expression in response to pressure overload and thyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 2966-2970, 1989.
135. Nair K.G., A.F.Cutiletta, R.Zak, T.Koide, and M.Rabinowitz. Biochemical correlates of cardiac hypertrophy. I. Experimental model; changes in heart weight, RNA content and nuclear RNA polymerase activity. *Circ Res* 23: 451-462, 1968.
136. Napolitano R., L.Vittone, C.Mundina, G.Chiappe de Cingolani, and A.Mattiazzi. Phosphorylation of phospholamban in the intact heart. A study on the physiological role of the Ca²⁺-calmodulin-dependent protein kinase system. *J Mol Cell Cardiol* 24: 387-396, 1992.
137. Naudin V., P.Oliviero, F.Rannou, C.SainteBeuve, and D.Charle-Magne. The density of ryanodine receptors decreases with pressure overload-induced rat cardiac hypertrophy. *FEBS Lett* 285: 135-138, 1991.
138. Nayler W.G. Sydney Ringer -- physician and scientist. *J Mol Cell Cardiol* 16: 113-116, 1984.

139. Nayler W.G., P.A.Poole-Wilson, and A.Williams. Hypoxia and calcium. *J Mol Cell Cardiol* 11: 683-706, 1997.
140. Netticadan T., R.M.Temshah, A.Kent, V.Elimban, and N.S.Dhalla. Depressed levels of Ca²⁺ cycling proteins may underlie sarcoplasmic reticulum dysfunction in the diabetic heart. *Diabetes* 50: 2133-2138, 2001.
141. Nobe S., M.Aomine, M.Arita, S.Ito, and R.Takai. Chronic diabetic mellitus prolongs action potential duration of rat ventricular muscles: circumstantial evidence for impaired Ca²⁺ channel. *Cardiovasc Res* 24: 381-389, 1990.
142. Okruhlicova L., N.Tribulova, M.Misejkova, M.Kucka, R.Stetka, J.Slezak, and M.Manoach. Gap junction remodelling is involved in the susceptibility of diabetic rats to hypokalemia-induced ventricular fibrillation. *Acta Histochem* 104: 387-391, 2002.
143. Park S., S.A.McCune, M.J.Radin, T.M.Hoep, J.Hensle, C.M.Hoh, and R.A.Alschul. Verapamil accelerates the transition to heart failure in obese, hypertensive, female SHHF/Mcc-fa(cp) rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 29: 726-733, 1997.
144. Penpargkul S., F.Fein, E.H.Sonnenblick, and J.Scheuer. Depressed cardiac sarcoplasmic reticular function from diabetic rats. *J Mol Cell Cardiol* 13: 303-309, 1981.
145. Penpargkul S., T.Schaible, T.Yipintsoi, and J.Scheuer. The effect of diabetes on performance and metabolism of rat hearts. *Circ Res* 47: 911-921, 1980.
146. Periasamy M., T.D.Reed, L.H.Liu, Y.Ji, E.Loukianov, R.J.Paul, M.L.Nieman, T.Riddle, J.J.Duffy, T.Doetschman, J.N.Lorenz, and G.E.Shull. Impaired cardiac performance in heterozygous mice with a null mutation in the sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase isoform 2 (SERCA2) gene. *J Biol Chem* 274: 2556-2562, 1999.
147. Perreault C.L., R.P.Shannon, K.Komamura, S.F.Vatner, and J.P.Morgan. Abnormalities in intracellular calcium regulation and contractile function in myocardium from dogs with pacing-induced heart failure. *J Clin Invest* 89: 932-938, 1993.
148. Pfeffer M.A., J.M.Pfeffer, M.C.Fishbein, P.J.Fletcher, J.Spadaro, R.A.Kloner, and E.Braunwald. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res* 44: 503-512, 1979.
149. Pierce G.N. and Dhalla N.S. Cardiac myofibrillar ATPase activity in diabetic rats. *J Mol Cell Cardiol* 13: 1063-1069, 1981.
150. Pierce G.N., M.K.Lockwood, and C.D.Eckhart. Cardiac contractile protein ATPase activity in a diet induced model of noninsulin dependent diabetes mellitus. *Can J Cardiol* 5: 117-120, 1989.
151. Pierce G.N. and N.S.Dhalla. Mechanisms of the defect in cardiac myofibrillar function during diabetes. *Am J Physiol* 248: E 170-E 175, 1985.
152. Qi M., T.R.Shannon, D.E.Euler, D.M.Bers, and A.M.Samarel. Downregulation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase during progression of left ventricular hypertrophy. *Am J Physiol* 272: H 2416-H 2424, 1997.
153. Rabinovitch M., W.Gamble, A.S.Nadas, O.S.Miettinen, and L.Reid. Rat pulmonary circulation after chronic hypoxia: hemodynamic and structural features. *Am J Physiol* 236: H818-H827, 1979.
154. Raeymaekers L., F.Hofmann, and R.Casteels. Cyclic GMP-dependent protein kinase phosphorylates phospholamban in isolated sarcoplasmic reticulum from cardiac and smooth muscle. *Biochem J* 252: 269-273, 1988.
155. Regan T.J., C.F.Wu, C.K.Yeh, H.A.Oldewurtel, and B.Haider. Myocardial composition and function in diabetes. The effect of chronic insuline use. *Circ Res* 49: 1268-1277, 1981.
156. Regan T.J., P.O.Ettinger, M.I.Kahn, M.U.Jesrani, M.M.Lyons, H.A.Oldewurtel, and M.Weber. Altered myocardial function and metabolism in chronic diabetes mellitus without ischemia in dogs. *Circ Res* 35: 222-237, 1974.

157. Reiss K., W.Cheng, A.Ferber, J.Kajstura, P.Li, B.Li, G.Olivetti, C.J.Homcy, R.Baserga, and P.Anversa. Overexpression of IGF-1 in the heart is coupled with myocyte proliferation in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 8630-8635, 1996.
158. Ren J., G.A.Gintant, R.E.Miller, and A.J.Davidoff. High extracellular glucose impairs cardiac E-C coupling in a glycosylation-dependent manner. *Am J Physiol* 273: H 2876-H 2883, 1997.
159. Ribadeau D.A., C.Wisnewsky, K.R.Boheler, H.Ter Keurs, M.Y.Fiszman, and K.Schwartz. The sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase gene is regulated at the transcriptional level during compensated left ventricular hypertrophy in the rat. *Comptes rendus de l'Academie des sciences.Serie III, Sciences de la vie* 320: 963-969, 1997.
160. Rodriguez B. and J.H.McNeill. The diabetic heart: metabolic causes for the development of a cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 26: 913-922, 1992.
161. Ross J., E.H.Sonnenblick, R.R.Taylor, and J.W.Covell. Diastolic geometry and sarcomere lengths in the chronically dilated canine left ventricle. *Circ Res* 28: 49, 1971.
162. Rupp H. and R.Vetter. Sarcoplasmic reticulum function and carnitine palmitoyltransferase-1 inhibition during progression of heart failure. *Br J Pharmacol* 131: 1748-1756, 2000.
163. Russ M., H.Reinauer, and J.Eckel. Diabetes-induced decrease in the mRNA coding for sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase in adult rat cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 178: 906-912, 1991.
164. Sauviat M.P. and D.Feuvsray. Electrophysiological analysis of the sensitivity to calcium in ventricular muscle from alloxan diabetic rats. *Basic Res Cardiol* 81: 489-496, 1986.
165. Schannwell C.M., M.Schneppenheim, S.Perings, G.Plehn, and B.E. Strauer. Left ventricular diastolic dysfunction as an early manifestation of diabetic cardiomyopathy. *Cardiology* 98: 33-39, 2002.
166. Schmitt J.P., M.Kamisago, M.Asahi, F.Ahmad, U.Mende, E.G.Kranias, and J.G.Seidmann. Dilated Cardiomyopathy and heart failure caused by a mutation in phospholamban. *Science* 299: 1410-1413, 2003.
167. Schwartz K., C.Chassagne, and K.R.Boheler. The molecular biology of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 22: 30 A-33 A, 1993.
168. Shull M.M., I.Ormsby, A.B.Kier, S.Pawlowski, R.J.Diebold, M.Yin, R.Allen, C.Sidman, G.Proetzel, and D.Calvin. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature* 359: 693-699, 1997.
169. Siltanen P. Drug treatment of heart failure. Where are we now? *Drugs* 39: 1-3, 1990.
170. Simmerman H.K.B., J.H.Collins, J.L.Theiber, A.D.Wegener, and L.R.Jones. Sequence analysis of phospholamban. Identification of phosphorylation sites and two major structural domains. *J Biol Chem* 261: 13333-13341, 1986.
171. Solaro R.J. and F.N.Briggs. Estimating the functional capabilities of sarcoplasmic reticulum in cardiac muscle. Calcium binding. *Circ Res* 34: 531-540, 1974.
172. Sordahl L.A., W.B.McCollum, W.G.Wood, and A.Schwartz. Mitochondria and sarcoplasmic reticulum in cardiac hypertrophy and failure. *Am J Physiol* 224: 497-502, 1978.
173. Soufer R., D.Wohlgeleitner, N.A.Vita, M.Amucchestegni, H.D.Sostman, H.J.Berger, and B.L.Zaret. Intact systolic left ventricular function in clinical congestive heart failure. *Am J Cardiol* 55: 1032-1036, 1985.
174. Spencer G.G., X.H.Yu, I.Khan, and A.K.Grover. Expression of isoforms of internal Ca^{2+} pump in cardiac, smooth muscle and non-muscle tissues. *Biochim Biophys Acta* 1063: 15-20, 1991.
175. Studer R., H.Reinecke, J.Bilger, T.Eschenhagen, M.Böhm, G.Hasenfuss, H.Just, J.Holtz, and H.Drexler. Gene expression of the cardiac Na^{+} - Ca^{2+} exchanger in end-stage human heart failure. *Circ Res* 75: 443-453, 1994.
176. Swank R.T. and K.D.Munkres. Molecular weight analysis of oligopeptides by electrophoresis in polyacrylamide gel with sodium dodecyl sulfate. *Anal Biochem* 39: 462-477, 1971.

177. Tada M. and A.M.Katz. Phosphorylation of the sarcoplasmic reticulum and sarcolemma. *Annu Rev Physiol* 44: 401-423, 1982.
178. Tada M., M.A.Kirchberger, D.I.Repke, and A.M.Katz. The stimulation of calcium transport in cardiac sarcoplasmic reticulum by adenosine 3':5'-monophosphatedependent protein kinase. *J Biol Chem* 249: 6174-6180, 1974.
179. Tada M., M.Kadoma, J.Fujii, Y.Kimura, and Y.Kijima. Molecular structure and function of phospholamban: the regulatory protein of calcium pump in cardiac sarcoplasmic reticulum. *Adv Exp Med Biol* 255: 79-89, 1989.
180. Tada M., M.Yamada, F.Ohmori, T.Kuzuya, and H.Abe. Role of phospholamban (22,000-dalton protein) in cyclic AMP-mediated control of Ca²⁺- dependent ATPase of cardiac sarcoplasmic reticulum. *Adv Myocardiol* 1: 161-171, 1980.
181. Tada M., T.Yamamoto, and Y.Tonomura. Molecular mechanism of active calcium transport by sarcoplasmic reticulum. *Physiol Rev* 58: 1-79, 1978.
182. Tanvetyanon T. and J.C.Leighton. Life-sustaining treatments in patients who died of chronic congestive heart failure compared with metastatic cancer. *Crit Care Med* 1: 60-64, 2003.
183. Teshima Y., N.Takahashi, T.Saikawa, M.Hara, S.Yasunaga, S.Hidaka, and T.Sakata. Diminished expression of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺- ATPase and ryanodine sensitive Ca²⁺ Channel mRNA in streptozotocin-induced diabetic rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 32: 655-664, 2000.
184. Thiedemann K.U., C.Holubarsch, and I.Medugorac. Connective tissue content and myocardial stiffness in pressure overload hypertrophy. A combined study of morphologic, morphometric, biochemical and mechanical parameters. *Basic Res Cardiol* 78: 140-155, 1983.
185. Tomlinson K.C., S.M.Gardiner, R.A.Hebden, and T.Bennett. Functional consequences of streptozotocin-induced diabetes mellitus, with particular reference to the cardiovascular system. *Pharmacol Rev* 44: 103-150, 1992.
186. Towbin H., T.Staehelin, and J.Gordon. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76: 4350-4354, 1979.
187. Trost S.U., D.D.Belke, W.F.Bluhm, M.Meyer, E.Swanson, and W.H.Dillmann. Overexpression of the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase improves myocardial contractility in diabetic cardiomyopathy. *Diabetes* 51: 1166-171, 2002.
188. Tschöpe C., F.Spillmann, C.Altmann, M.Koch, D.Westermann, N.Dhayat, S.Dhayat, J.L.Bascands, L.Gera, S.Hoffmann, H.P.Hoffmann, and T.Walther. The bradykinin B 1 receptor contributes to the cardioprotective effects of AT1 blockade after experimental myocardial infarction. *FASEB J* 61: 559-569, 2004.
189. Turcani M. and H.Rupp. Etomoxir improves left ventricular performance of pressure-overloaded rat hearts. *Circulation* 96: 3681-3686, 1997.
190. Van Bilsen M. and K.R.Chien. Growth and hypertrophy of the heart: towards an understanding of cardiac specific and inducible gene expression. *Cardiovasc Res* 27: 1140-1149, 1993.
191. van Hoeven K.H. and S.M.Factor. A comparison of the pathological spectrum of hypertensive, diabetic, and hypertensive-diabetic heart disease. *Circulation* 82: 848-855, 1990.
192. Veksler V.I., I.Murat, and R.Ventura-Clapier. Creatine kinase and mechanical and mitochondrial functions in hereditary and diabetic cardiomyopathies. *Can J Physiol Pharmacol* 69: 852-858, 1991.
193. Vetter R. and H.Will. Sarcolemmal Na-Ca exchange and sarcoplasmic reticulum calcium uptake in developing chick heart. *J Mol Cell Cardiol* 18: 1267-1275, 1986.
194. Vetter R., R.Studer, H.Reinecke, F.Kolar, I.Ostadalova, and H.Drexler. Reciprocal changes in the postnatal expression of the sarcolemmal Na⁺-Ca²⁺-exchanger and SERCA2 in rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 27: 1689-1701, 1995.

195. Vetter R., U.Rehfeld, C.Reissfelder, W.Weiss, K.D.Wagner, J.Gunther, A.Hammes, C.Tschope, W.Dillmann, and M.Paul. Transgenic overexpression of the sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase improves reticular Ca^{2+} handling in normal and diabetic rat hearts. *FASEB J* 16: 1657-1659, 2002.
196. Villari B., S.E.Campbell, O.M.Hess, G.Mall, K.T.Weber, and H.P.Krayenbuehl. Influence of collagen network on left ventricular systolic and diastolic function in aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol* 22: 1477-1484, 1993.
197. Wakasugi S., A.J.Fischmann, J.W.Babich, R.J.Callahan, D.R.Elmaleh, R.Wilkinson, and H.W.Strauss. Myocardial substrate utilization and left ventricular function in adriamycin cardiomyopathy. *J Nucl med* 34: 1529-1535, 1993.
198. Watts G.F. and T.H.Marwick. Ventricular dysfunction in early diabetic heart disease: detection, mechanisms, significance. *Clin Sci (Lond)* 105: 537-540, 2003.
199. Weber K.T., C.G.Brilla, S.E.Campbell, and H.K.Reddy. Myocardial fibrosis and the concepts of cardioprotection and cardioreperation. *J Hypertens Suppl* 10: S87-S94, 1992.
200. Weber K.T., J.S.Janicki, S.G.Shroff, R.Pick, R.M.Chen, and R.L.Bashey. Collagen remodelling of pressure overloaded hypertrophied nonhuman primate myocardium. *Circ Res* 62: 757-765, 1988.
201. Wegener A.D., H.K.Simmermann, J.P.Lindemann, and L.R.Jones. Phospholamban phosphorylation in intact ventricle. Phosphorylation of serine 16 and threonine 17 in response to beta-adrenergic stimulation. *J Biol Chem* 264: 11468-11474, 1989.
202. Wiesner R.J., H.Ehmke, J.Faulhaber, R.Zak, and J.C.Ruegg. Dissociation of left ventricular hypertrophy, β -myosin heavy chain gene expression, and myosin isoform switch in rats after ascending aortic stenosis. *Circulation* 95: 1253-1259, 1997.
203. Xu K.Y., J.L.Zweier, and L.C.Becker. Functional coupling between glycolysis and sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} transport. *Circ Res* 77: 88-97, 1995.
204. Yu Z. and J.H.McNeill. Altered inotropic responses in diabetic cardiomyopathy and hypertensive diabetic cardiomyopathy. *J Pharmacol Exp Ther* 257: 64-71, 1991.
205. Yu Z. and J.H.McNeill. Force-interval relationship and its response to ryanodine in streptozotocin-induced diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol* 69: 1268-1276, 1991.
206. Zhong Y., S.Ahmed, I.L.Grupp, and M.A.Matlib. Altered SR protein expression associated with contractile dysfunction in diabetic rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281: H 1137-H 1147, 2001.

8. Anhang

8.1. *Danksagung*

Im Folgenden möchte ich mich bei allen bedanken, die mich auf dem langen Weg des Dissertationsverfahrens begleitet haben.

Ich möchte mich bei Herrn **PD Dr. R. Vetter** für die Bereitstellung des Dissertationsthemas und die Betreuung bedanken. Er hat mir nicht nur in schwierigen Situationen geholfen, sondern war auch im wahrsten Sinne des Wortes mein Doktorvater.

Dem früheren geschäftsführenden Direktor des Institutes der klinischen Pharmakologie und Toxikologie, Lehrstuhlinhaber der Abteilung für Toxikologie und jetzigen Dekan der Charité – Universitätskliniken Berlin Herr **Prof. Dr. M. Paul**.

Dann möchte ich mich bei den Technischen Assistenten **Norbert Hinze, Ursula Jacob-Müller** und **Claudia Plum** für die tägliche Hilfe im Labor bedanken, für die Einweisung in verschiedene Techniken und Tricks.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinen beiden Mitdoktoranden **Uwe Rehfeld** und **Wolfgang Weiß** bedanken. Uwe Rehfeld insbesondere für die Unterstützung bei den Hämodynamikmessungen und den histologischen Auswertungen, Wolfgang Weiß für die Unterstützung bei der Ca^{2+} -Oxalat Messung. Sie sind darüber hinaus auch im Privaten eine feste Größe geworden.

Meinen Eltern möchte ich für die Unterstützung und Liebe danken, die Sie mir während des gesamten Studiums zuteil haben kommen lassen. Sie sind nie müde geworden den mahnenden Zeigefinger zu heben.

Der letzte Dank geht an meine Freundin **Julia Wolfram**, die mich während der gesamten Zeit wahlweise aufgebaut, unterstützt oder ertragen hat und dabei nie die Geduld mit mir verloren hat.

8.2. *Veröffentlichungen*

Veröffentlichte Manuskripte

VEITTE R., U. REHFELD, **C. REISSFELDER**, W. WEIß, K-D., J. GÜNTHER, A. HAMMES, C. TSCHÖPE, W. DILLMANN, M. PAUL.

Transgenic overexpression of the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase improves reticular Ca²⁺ handling in normal and diabetic rat hearts.

FASEB J. 16(12):1657-1659

REISSFELDER C., U. REHFELD, W. WEIß, M. PAUL, VETTER

Transgenic overexpression of the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase improves reticular Ca²⁺ handling in hypothyroid rat hearts.

In Arbeit

Buchartikel

VEITTE R., U. REHFELD, **C. REISSFELDER**, W. WEIß, F. KOLAR, M. PAUL

Developmental Changes of Sarcoplasmic Reticular Calcium Ion Transport and Phospholamban in Rat Heart.

In: CARDIAC DEVELOPMENT, editors B OSTADAL, M. NAGANO, N.S. DHALLA, Boston, Kluwer Academic Publishers:149-161, 2002

VEITTE R., W. WEIß, U. REHFELD, **C. REISSFELDER**, K-D. WAGNER, J. GÜNTHER, W. DILLMANN, M. PAUL.

Influence of transgenic expression of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ATPase on reticular Ca²⁺ transport in rat hearts.

In: CARDIAC REMODELLING AND FAILURE, editors P.K. SINGAL et al., Boston, Kluwer Academic Publishers: pp.401-415, 2002

Abstracts

REISSFELDER C., U. REHFELD, F. SPILLMANN, M. BADER, M. PAUL, H-P. SCHULTHEISS, C. TSCHÖPE, R. VETTER.

Prevention of sarcoplasmic reticular Ca transport dysfunction in diabetic heart with transgenic human Kallikrein expression is not due to altered SERCA2 and Phospholamban expression

Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 362, No. 4-5 (Suppl.): R29, 2000 (Abstr 60)

VEITTE R, F. SPILLMANN, U. REHFELD, **C. REISSFELDER**, M. BADER, H-P. SCHULTHEISS, M. PAUL, C. TSCHÖPE

Transgenic expression of human kallikrein prevents sarcoplasmic reticular calcium ion transport dysfunction in diabetic rat heart

Hypertension 36 (No 4): 659, 2000 (Abstr 3.03)

UKBF Jahrbuch

TSCHÖPE C., F. SPILLMANN, U. REHFELD, **C. REIßFELDER**, T. WALTHER, M. BADER, M. PAUL, H. P. SCHULTHEISS, R. VETTER

Die verbesserte linksventrikuläre Pumpfunktion humankallikrein- transgener diabetischer Ratten ist mit einer Normalisierung des SR Ca²⁺-Transportes verbunden

UKBF Jahrbuch 2000, 3. Preis

REHFELD U., **C. REIßFELDER**, W. WEIß, M. PAUL, R. VETTER

Transgene Überexpression der Ca²⁺-ATPase SERCA2a verbessert die retikuläre Ca²⁺-Transportfunktion bei experimenteller diabetischer Kardiomyopathie

UKBF Jahrbuch 2001

REHFELD U., **C. REIßFELDER**, M. PAUL, R. VETTER

Transgene SERCA2a-Überexpression bei experimenteller Hypothyreose verbessert die kardiale Relaxation und den Ca²⁺-Rücktransport in das sarkoplasmatische Retikulum

UKBF Jahrbuch 2002

REIßFELDER C., U. REHFELD, M. PAUL, R. VETTER

SERCA2 Überexpression im transgenen Rattenmodell verbessert die diastolische Dysfunktion bei Drucküberlasthypertrophie

UKBF Jahrbuch 2003, 2. Preis

Poster

REIßFELDER, C., U. REHFELD, F. SPILLMANN, M. BADER, M. PAUL, H.-P. SCHULTHEISS, C. TSCHÖPE, R. VETTER.

Prevention of sarcoplasmic reticular Ca transport dysfunction in diabetic heart with transgenic human Kallikrein expression is not due to altered SERCA2 and Phospholamban expression

Fall meeting of the German Society for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology 2000

REIßFELDER C., U. REHFELD, W. WEISS, M. PAUL, R. VETTER

Improved diastolic performance and reticular Ca²⁺-transport in chronic pressure-overload due to cardiac SERCA2 overexpression in transgenic rats

8th Annual Meeting of the European Council for Blood Pressure & Cardiovascular Research 2003

Vorträge

REIßFELDER C., U. REHFELD, M. PAUL, R. VETTER

Verbesserung der diastolischen Dysfunktion von drucküberlasteten Herzen SERCA2-überexprimierender transgener Ratten

70. Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Mannheim 2004

REIßFELDER C., J.P. RITZ, H.J. BUHR

Co- Morbidität und prädisponierende Faktoren in der Chirurgie gastroduodenaler Ulcuskomplifikationen – Vergleich der Ergebnisse über zwei 10-Jahres Zeiträume

121. Kongress der deutschen Gesellschaft für Chirurgie, Berlin 2004

REIßFELDER C., J.P. RITZ, A.J. KROESEN, H.J. BUHR

Die komplizierte Sigmadivertikulitis – Soll die laparoskopisch assistierte Sigmaresektion frühelektiv oder im entzündungsfreien Intervall durchgeführt werden?

122. Kongress der deutschen Gesellschaft für Chirurgie, München 2005

REIßFELDER C., H.J. BUHR

Physiologie und Pathophysiologie von Mesh-Implantaten – Gibt es das ideale Netz?

12. Operationskurs-Kurs – Hernienchirurgie, Berlin 2004

REIßFELDER C., H.J. BUHR

Fast Track Chirurgie bei kolorektalen Eingriffen – für jeden Patienten geeignet?

3. Pflegesymposium zum 29. Symposium Aktuelle Chirurgie, Berlin 2004

REIßFELDER C.

Entwicklung der Hernienchirurgie zur Lichtenstein-Technik

Hernienhospitalisationskurs, Berlin 2003, 2004, 2005

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich eidesstattlich, daß die vorgelegte Arbeit von mir eigenständig und ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfaßt wurde, auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig aufgeführt sind.

Berlin, den 08.02.2005

Christoph Reißfelder