

3. Ergebnisse

3.1 Einflüsse der Herzinsuffizienzmodelle auf Hämodynamik und kardiale Hypertrophie

3.1.1 Untersuchung des Infarktmodells

3.1.1.1 Hämodynamische Charakterisierung des Infarktmodells

Die Versuchstiere der Infarktgruppe wiesen 30 Tage nach Induktion des Myokardinfarkts keine Veränderung der Herzfrequenz auf. Systolischer, diastolischer und zentralvenöser Blutdruck blieben zwischen beiden Untersuchungsgruppen ebenfalls unverändert. Die Messwerte können den **Tabellen 1 und 2** entnommen werden.

| | Kontrolle | Infarkt |
|------------------------------------|-------------|-------------|
| Herzfrequenz [min^{-1}] | 446 ± 5 | 458 ± 5 |
| Systolischer Blutdruck [mmHg] | 94 ± 2 | 89 ± 2 |
| Diastolischer Blutdruck [mmHg] | 70 ± 2 | 69 ± 1 |
| Mittlerer arterieller Druck [mmHg] | 78 ± 3 | 76 ± 1 |

Tabelle 1 : Herzfrequenz und arterieller Blutdruck 30 Tage nach Myokardinfarkt. Angaben als Mittelwert \pm SEM, n = 10 – 11

Als Hinweis auf eine eingeschränkte systolische Funktion des linken Ventrikels konnten signifikant verminderte Werte für den Kontraktilitätsparameter $\text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$ gemessen werden.

| | Kontrolle | Infarkt |
|---|----------------|---------------------|
| Zentraler Venendruck [mmHg] | 1 ± 0 | 2 ± 0 |
| LVEDP [mmHg] | 20 ± 2 | 22 ± 1 |
| $\text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$ [mmHg/s] | 6200 ± 351 | $4712 \pm 219^{**}$ |

Tabelle 2 : Zentraler Venendruck, linksventrikulärer enddiastolischer Blutdruck (LVEDP) und $\text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$ 30 Tage nach Myokardinfarkt. Angaben als Mittelwert \pm SEM, ** p < 0,01 vs. Kontrolle, n = 10 – 11

3.1.1.2 Kardiale und pulmonale Auswirkungen des Infarkts

Die Herzgewichte der Tiere aus der Infarktgruppe waren nach 30 Tagen im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht. Im Vergleich zu den anderen untersuchten Modellen war diese Veränderung mit einer Zunahme um 10% am geringsten ausgeprägt. Auf Ebene der Herzkammern ließ sich die Hypertrophie ausschließlich für die Atrien nachweisen. Der linke Vorhof zeigte in der Infarktgruppe den prozentual größten Anstieg des Gewichts.

Ein Anstieg des Lungengewichts als Indiz für eine pulmonale Stauung in der Infarktgruppe konnte nicht nachgewiesen werden. **Tabelle 3** fasst die Organgewichte zusammen.

| | Kontrolle | Infarkt |
|--------------------|-----------|---------------|
| Körpergewicht [g] | 383 ± 6 | 373 ± 4 |
| Herzgewicht [mg] | 1014 ± 15 | 1123 ± 21 *** |
| Lungengewicht [mg] | 1457 ± 28 | 1437 ± 29 |

Tabelle 3: Körper-, Herz- und Lungengewicht 30 Tage nach Myokardinfarkt. Angaben als Mittelwert ± SEM, n = 10 – 11, *** p < 0,001 vs. Kontrolle

3.1.2 Untersuchung des Bandingmodells

3.1.2.1 Häodynamische Charakterisierung des Bandingmodells

Bei den Tieren mit thorakalem Aortenbanding wurde nach 30 Tagen ein im Vergleich zu den Kontrolltieren verminderter systolischer und mittlerer arterieller Blutdruck gemessen (**Tabelle 4**). Zur Abschätzung der kardialen Funktion wurden auch für dieses Modell zentralvenöser Druck (ZVD), LVEDP und dp/dt_{max} bestimmt. Die Tiere der Bandinggruppe wiesen einen signifikant erhöhten ZVD bei gleichzeitig vermindertem dp/dt_{max} auf. Die linksventrikulären Füllungsdrücke waren zwischen beiden Untersuchungsgruppen unverändert. Einen Überblick über die erhobenen Messwerte gibt **Tabelle 5**.

| | Kontrolle | Banding |
|------------------------------------|-------------|---------------|
| Herzfrequenz [min^{-1}] | 451 \pm 5 | 436 \pm 11 |
| Systolischer Blutdruck [mmHg] | 100 \pm 2 | 86 \pm 4 ** |
| Diastolischer Blutdruck [mmHg] | 76 \pm 2 | 68 \pm 3 |
| Mittlerer arterieller Druck [mmHg] | 84 \pm 3 | 74 \pm 3 * |

Table 4: Herzfrequenz und arterieller Blutdruck 30 Tage nach thorakalem Aortenbanding. Angaben als Mittelwert \pm SEM, n = 12 – 13, * p < 0,05 vs. Kontrolle, ** p < 0,01 vs. Kontrolle

| | Kontrolle | Banding |
|--------------------------------|----------------|-------------------|
| Zentraler Venendruck [mmHg] | 4 \pm 0 | 6 \pm 0 *** |
| LVEDP [mmHg] | 7 \pm 1 | 9 \pm 2 |
| dp/dt _{max.} [mmHg/s] | 6458 \pm 396 | 4179 \pm 458 ** |

Table 5: Zentraler Venendruck, LVEDP und dp/dt_{max.} 30 Tage nach thorakalem Aortenbanding. Angaben als Mittelwert \pm SEM, n = 12 – 13, ** p < 0,01 vs. Kontrolle, *** p < 0,001 vs. Kontrolle

3.1.2.2 Kardiale und pulmonale Auswirkungen des thorakalen Aortenbandings

Die Herzen der Tiere mit thorakalem Aortenbanding waren durch eine ausgeprägte Hypertrophie gekennzeichnet, die sich in einer signifikanten Zunahme des Herzgewichts um 63% ausdrückte. Als Ausdruck einer pulmonalen Stauung war das Lungengewicht in der Bandinggruppe gegenüber der Kontrolle stark erhöht. **Table 6** fasst die Tier- und Organgewichte zusammen.

| | Kontrolle | Banding |
|--------------------|---------------|-------------------|
| Körpergewicht [g] | 304 \pm 5 | 294 \pm 4 |
| Herzgewicht [mg] | 941 \pm 14 | 1534 \pm 69 *** |
| Lungengewicht [mg] | 1341 \pm 25 | 1846 \pm 91 *** |

Table 6: Körper-, Herz- und Lungengewicht 30 Tage nach thorakalem Aortenbanding. Angaben als Mittelwert \pm SEM, n = 12 – 13, *** p < 0,001 vs. Kontrolle

Die Entwicklung einer kardialen Hypertrophie war sowohl für die Vorhöfe als auch die Ventrikel nachweisbar. Eine wesentlich größere Gewichtszunahme konnte für das linke Atrium und den linken Ventrikel im Vergleich zur korrespondierenden rechtsseitigen Herzkammer festgestellt werden. In **Abbildung 13** ist die Gewichtsentwicklung grafisch dargestellt.

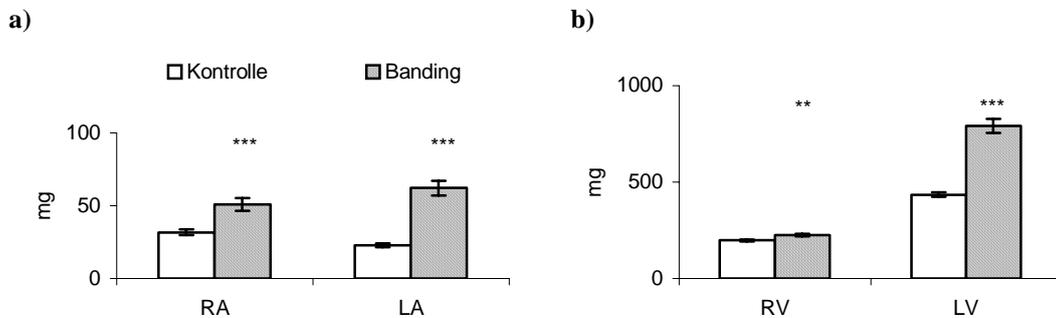


Abbildung 13: Entwicklung des Gewichts der einzelnen Herzkammern im Bandingmodell. Angaben als Mittelwert \pm SEM, n = 12 – 13, ** p < 0,01 vs. Kontrolle, *** p < 0,001 vs. Kontrolle; RA = rechtes Atrium, LA = linkes Atrium, RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel

3.1.3 Untersuchung des Shuntmodells

3.1.3.1 Häodynamische Charakterisierung des Shuntmodells

30 Tage nach Anlage des aortocavalen Shunts wurden Herzfrequenz, Blutdrücke und myokardiale Kontraktilität als Parameter der kardialen Funktion bestimmt. Eine Abnahme der Herzfrequenz konnte für das Modell des großen Shunts gemessen werden (großer Shunt vs. Kontrolle: 410 ± 13 / min. vs. 455 ± 8 / min., p < 0,05). Die Versuchstiere mit kleinem Shunt wiesen eine unveränderte Herzfrequenz auf (kleiner Shunt vs. Kontrolle: 460 ± 11 / min. vs. 455 ± 8 / min.). Die arteriellen Blutdruckwerte waren sowohl in der Gruppe kleiner Shunt wie auch großer Shunt im Vergleich zur Kontrolle vermindert. Darüber hinaus wiesen die Tiere mit großem Shunt gegenüber dem kleinen Shunt nochmals signifikant verminderte Blutdruckwerte auf. Eine zunehmende Shuntgröße war mit abnehmenden Blutdruckwerten assoziiert. Die **Abbildungen 14a) und 14b)** illustrieren die gemessenen Mittelwerte.

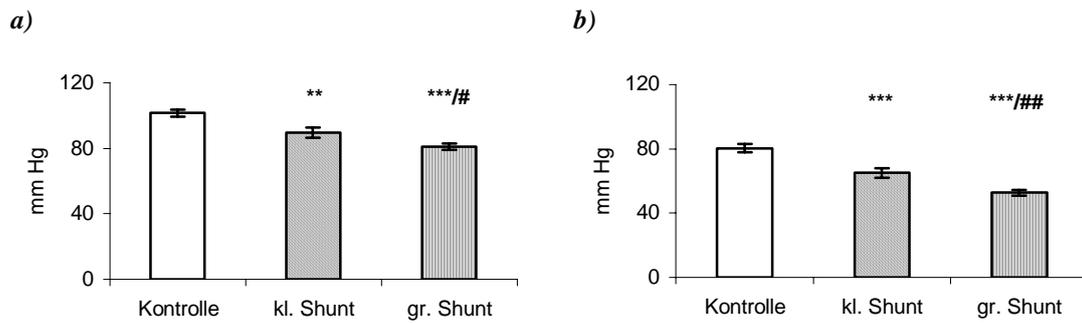


Abbildung 14: Entwicklung von a) systolischem und b) diastolischem Blutdruck in Abhängigkeit von der Shuntgröße. Angaben als Mittelwert \pm SEM, n = 13 – 14, ** p < 0,01 vs. Kontrolle, *** p < 0,001 vs. Kontrolle, # p < 0,05 vs. kleiner Shunt, ## p < 0,01 vs. kleiner Shunt

Der ZVD als Parameter für eine rechtsventrikuläre Belastung war 30 Tage nach Anlage sowohl des kleinen als auch des großen Shunts im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht. Mit zunehmender Shuntgröße kam es zum progredienten Anstieg des ZVD, der im Vergleich von kleinem und großem Shunt eine weitere, statistisch signifikante Steigerung aufwies (**Abbildung 15**).

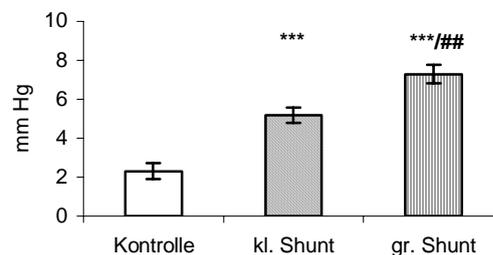


Abbildung 15: Zentraler Venendruck des Shuntmodells nach 30 Tagen. n = 13 – 14, *** p < 0,001 vs. Kontrolle, ## p < 0,01 vs. kleiner Shunt

Zur Quantifizierung der linksventrikulären Funktion wurden der LVEDP sowie als Maß der Kontraktilität die maximale Druckänderung pro Zeiteinheit gemessen (dp/dt_{max}). Die eingeschränkte systolische Funktion der Herzen der Versuchstiere mit großem Shunt zeigte sich in Form eines statistisch signifikant verminderten Quotienten dp/dt_{max} im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Messwerte können **Tabelle 7** entnommen werden.

| | Kontrolle | kleiner Shunt | großer Shunt |
|--------------------------------|------------|---------------|--------------|
| LVEDP [mmHg] | 22 ± 1 | 26 ± 2 * | 22 ± 1 |
| dp/dt _{max.} [mmHg/s] | 5846 ± 341 | 5154 ± 377 | 4600 ± 514 * |

Tabelle 7: LVEDP und dp/dt_{max.} 30 Tage nach Shuntanlage. Angaben als Mittelwert ± SEM, n = 13 – 14, * p < 0,05 vs. Kontrolle

3.1.3.2 Kardiale und pulmonale Auswirkungen des aortocavalen Shunts

Nach der Messung der hämodynamischen Parameter an den anästhesierten Versuchstieren wurden die Organe entnommen und gewogen. Die Mittelwerte der gemessenen Organgewichte können **Tabelle 8** entnommen werden.

Alle Herzkammern der Tiere mit aortocavalem Shunt wiesen eine signifikante Hypertrophie im Vergleich zur Kontrollgruppe auf. Bereits bei den Tieren mit kleinem Shunt war das Herzgewicht um 54% erhöht. Die prozentual größten Veränderungen wurden für die Vorhöfe gemessen. Der rechte Vorhof wies beim kleinen Shunt eine Gewichtszunahme um 120%, beim großen Shunt um 230% auf. Für die Ventrikel der Versuchstiere des Shuntversuchs zeigte sich mit einer relativ stärkeren Hypertrophie des rechten im Vergleich zum linken Ventrikel eine vergleichbare Konstellation. Die **Abbildungen 16a)** und **16b)** stellen die Messwerte für die einzelnen Herzkammern grafisch dar.

| | Kontrolle | kleiner Shunt | großer Shunt |
|--------------------|-----------|---------------|-------------------|
| Körpergewicht [g] | 378 ± 6 | 377 ± 5 | 373 ± 5 |
| Herzgewicht [mg] | 1048 ± 20 | 1616 ± 42 *** | 1980 ± 61 ***/### |
| Lungengewicht [mg] | 1580 ± 34 | 1808 ± 36 * | 2280 ± 92 ***/### |

Tabelle 8: Körper-, Herz- und Lungengewicht 30 Tage nach Shuntanlage. Angaben als Mittelwert ± SEM, n = 13 – 14, * p < 0,05 vs. Kontrolle, *** p < 0,001 vs. Kontrolle, ### p < 0,001 vs. kleiner Shunt

Neben dem Herzgewicht wurde unter anderem das Lungengewicht der Versuchstiere bestimmt, um einen Parameter für die Stauung vor der linken Herzhälfte bzw. für die linksventrikuläre Pumpfunktion zu erhalten. Sowohl für die Tiere mit kleinem als auch mit großem Shunt wurden im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöhte Lungengewichte gemessen. Tiere mit

großem Shunt hatten ein gegenüber dem kleinen Shunt nochmals erhöhtes Lungengewicht. Für die Gruppe mit großem Shunt betrug der Anstieg 44%.

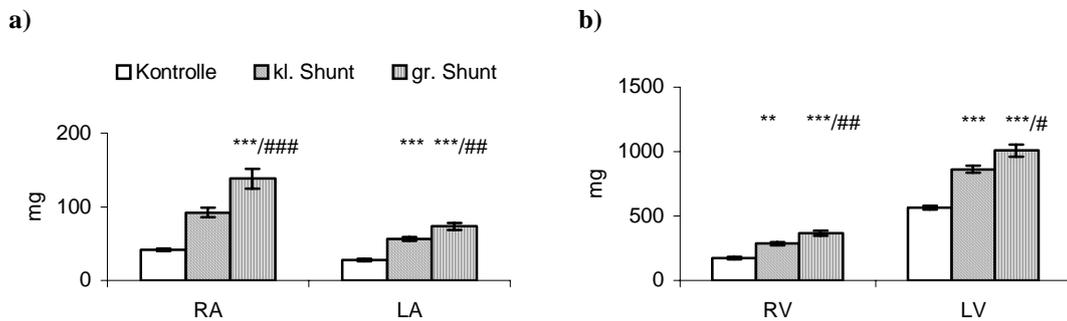


Abbildung 16a) – 16b): Entwicklung des Gewichts der einzelnen Herzkammern im Shuntmodell. Angaben als Mittelwert \pm SEM, $n = 13 - 14$, *** $p < 0,001$ vs. Kontrolle, # $p < 0,05$ vs. kleiner Shunt, ## $p < 0,01$ vs. kleiner Shunt, ### $p < 0,001$ vs. kleiner Shunt; RA = rechtes Atrium, LA = linkes Atrium, RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel

3.1.4 Zusammenfassung der Einflüsse der Herzinsuffizienzmodelle auf Hämodynamik und kardiale Hypertrophie

In allen untersuchten Modellen konnte in der Interventionsgruppe eine kardiale Hypertrophie nachgewiesen werden, die unterschiedlich stark ausgeprägt war und zum Teil nur einzelne Herzkammern betraf (**Abbildung 17**).

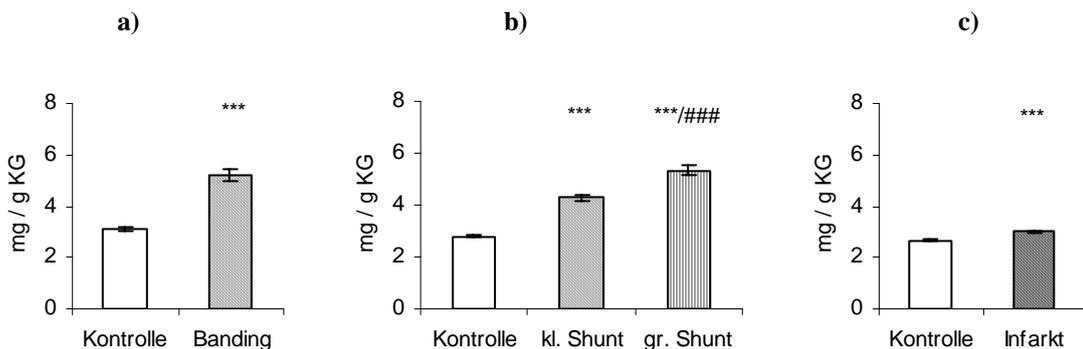


Abbildung 17: Relatives Herzgewicht der Tiere mit a) aortalem Banding, b) aortocavalem Shunt und c) Myokardinfarkt nach 30 Tagen. Angaben als Mittelwert \pm SEM in mg pro g Körpergewicht, $n = 10 - 14$, *** $p < 0,001$ vs. Kontrolle, ### $p < 0,001$ vs. kleinem Shunt

Die im Vergleich zum Infarktmodell besonders ausgeprägte Entwicklung einer linksventrikulären Hypertrophie im Shunt- und Bandingmodell ist in **Abbildung 18** zusammenfassend dargestellt.

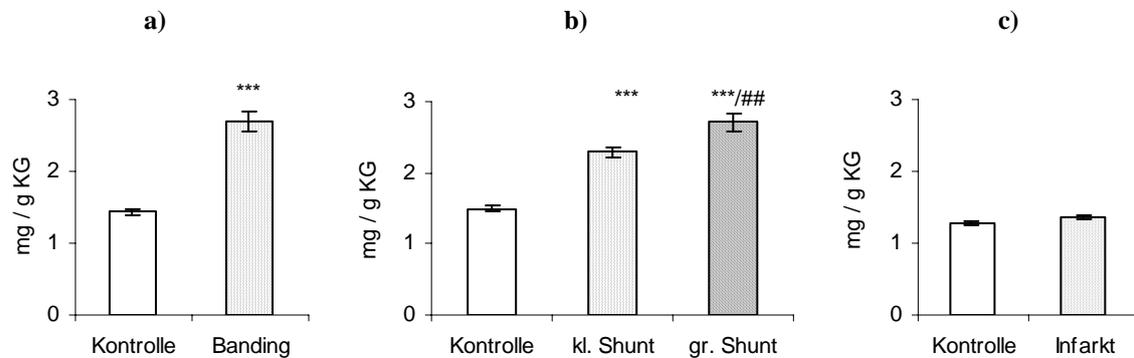


Abbildung 18: Relatives Gewicht des linken Ventrikels der Tiere mit a) aortalem Banding, b) aortocavalem Shunt und c) Myokardinfarkt nach 30 Tagen. Angaben als Mittelwert \pm SEM in mg pro g Körpergewicht, $n = 10 - 14$, *** $p < 0,001$ vs. Kontrolle, ## $p < 0,01$ vs. kleinem Shunt

Ein wesentliches Merkmal der chronischen Herzinsuffizienz ist neben der Entwicklung einer kardialen Hypertrophie die gestörte myokardiale Funktion, die sich unter anderem in einer verminderten Kontraktilität des linken Ventrikels widerspiegelt. Als Parameter kann hierfür der Quotient dp/dt_{max} herangezogen werden, der in allen drei Modellen vermindert war (**Abbildung 19**).

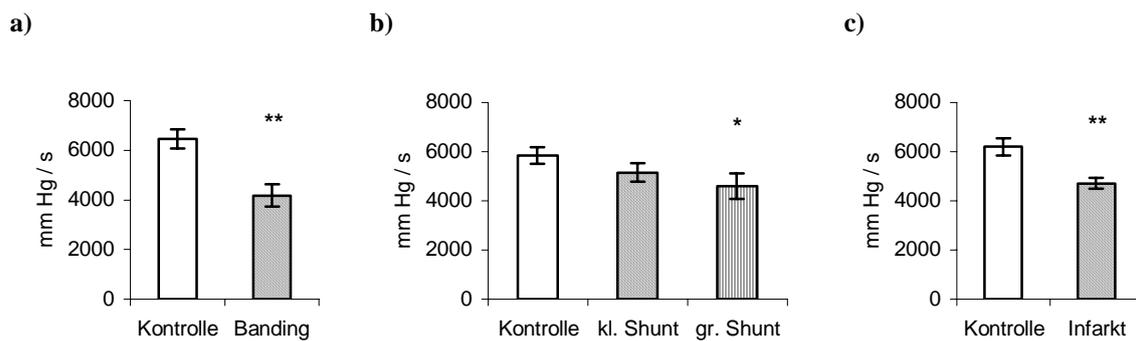


Abbildung 19: dp/dt_{max} als Parameter der Kontraktilität in den drei untersuchten Modellen der Herzinsuffizienz. a) Banding, b) Shunt, c) Infarkt nach jeweils 30 Tagen; Angaben als Mittelwert \pm SEM, $n = 10 - 14$, * $p < 0,05$ vs. Kontrolle, ** $p < 0,01$ vs. Kontrolle

3.1.5 Aktivierung des natriuretischen Peptidsystems

Die ANP- Plasmakonzentrationen wurden von den Tieren aller drei Herzinsuffizienzmodelle bestimmt. Für die Versuchstiere mit aortalem Banding, Infarkt oder großem Shunt konnten signifikant erhöhte ANP- Plasmaspiegel nachgewiesen werden. Die höchste Plasmakonzentration wiesen die Tiere der Infarktgruppe auf. Die **Tabelle 9** fasst die Mittelwerte für das Shunt- und Infarktmodell zusammen.

| | Kontrolle Shunt | Kleiner Shunt | Großer Shunt | Kontrolle Infarkt | Infarkt |
|--|-----------------|---------------|---------------|-------------------|----------------|
| ANP- Plasma- konzentration [fmol/ml] | 1152 ± 206 | 2580 ± 432 * | 4165 ± 1058 * | 1807 ± 448 | 6365 ± 1207 ** |

Tabelle 9: ANP- Plasmakonzentration 30 Tage nach Shuntanlage bzw. Myokardinfarkt. Angaben als Mittelwert ± SEM, n = 10 – 14, * p < 0,05 vs. Kontrolle Shunt, ** p < 0,01 vs. Kontrolle Infarkt

Die gemessenen ANP- Konzentrationen von Versuchstieren der Bandinggruppe waren ebenfalls gegenüber der Kontrollgruppe erhöht (2275 ± 429 fmol/ ml vs. 288 ± 33 fmol/ ml , p < 0,001).

3.2 Expression und Enzymaktivität der kardialen NEP

3.2.1 Ergebnisse des experimentellen Myokardinfarkts

3.2.1.1 Analyse der NEP- Proteinexpression

3.2.1.1.1 NEP- Proteinexpression im vitalen Myokardgewebe

Die höchsten Expressionswerte wurden in den Proben des rechten Ventrikels sowohl in der Kontroll- als auch in der Infarktgruppe gemessen. Rechter und linker Vorhof sowie rechter Ventrikel wiesen keine signifikante Veränderung der NEP- Proteinexpression auf. Nur im linken Ventrikel der Infarktgruppe zeigte die Auswertung des Western Blot eine signifikante Expressionsverminderung. Die grafische Darstellung der Ergebnisse der Expressionsanalyse erfolgt in **Abbildung 20**.

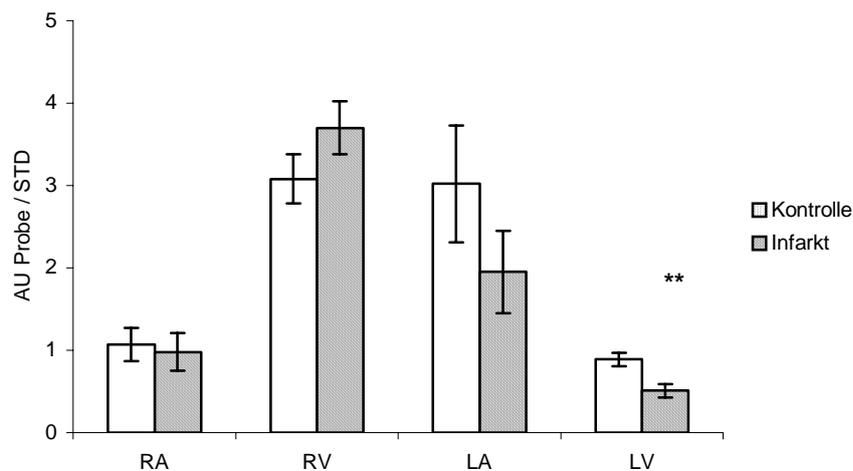


Abbildung 20: Kardiale NEP- Proteinexpression 30 Tage nach Myokardinfarkt. Angaben als Mittelwert \pm SEM, n = 9 – 11, ** p < 0,01 vs. Kontrolle, Probe jeweils normalisiert auf internen Standard, AU = arbitrary unit, entspricht dem Grauwert der Proteinbande, RA = rechter Vorhof, RV = rechter Ventrikel, LA = linker Vorhof, LV = linker Ventrikel

Abbildung 21 zeigt ein repräsentatives Detektionsergebnis eines Western Blots von Proben des LV aus Kontroll- und Infarktgruppe. Erkennbar ist eine im Vergleich geringere Bandenintensität von Proben der Infarktgruppe.

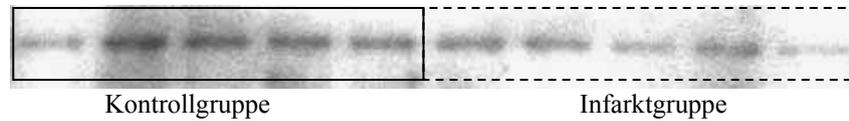


Abbildung 21: Detektionsergebnis eines Western Blot aus dem Infarktversuch.

3.2.1.1.2 NEP- Proteinexpression im Narbenareal

Die NEP- Proteinexpression des makroskopisch resezierten Narbenareals des linken Ventrikels wurde in einer separaten Untersuchung analysiert. Proben des linken Ventrikels der Kontrollgruppe fungierten als Kontrolle. Im Vergleich zu den Kontrollproben wies das untersuchte Narbengewebe wesentlich höhere Expressionswerte auf. Das Ergebnis wurde in **Abbildung 22** grafisch dargestellt.

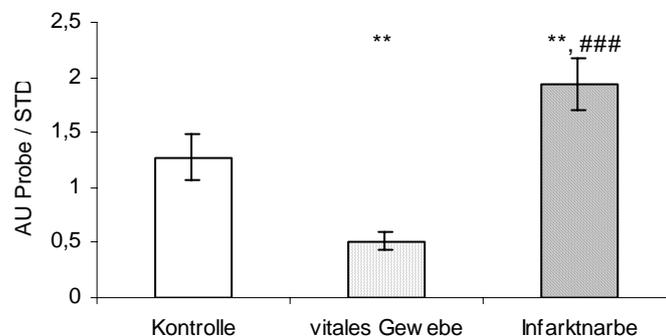


Abbildung 22: Kardiale NEP- Proteinexpression im linken Ventrikel von Kontrolltieren, im vitalen Myokard von Tieren der Infarktgruppe und im Narbenareal des linken Ventrikels 30 Tage nach Myokardinfarkt. Angaben als Mittelwert \pm SEM, $n = 8 - 10$, ** $p < 0,01$ vs. Kontrolle, ### $p < 0,001$ vs. vitalem Myokardgewebe Infarktgruppe, AU = arbitrary unit, entspricht dem Grauwert der Proteinbande

Abbildung 23 enthält jeweils ein Detektionsergebnis aus Untersuchungen des vitalen Myokards des linken Ventrikels nach Myokardinfarkt und des Narbengewebes im Vergleich zu entsprechenden Proben von Kontrolltieren. Die unterschiedlichen Bandendichten kommen jeweils deutlich zur Darstellung.



Abbildung 23: Repräsentative Detektionsergebnisse von Proben von Kontrolltieren des Infarktversuchs, vitalem Myokard von Tieren der Infarktgruppe und des Narbenareals des linken Ventrikels 30 Tage nach Myokardinfarkt.

3.2.1.2 Analyse der Enzymaktivität

3.2.1.2.1 NEP- Enzymaktivität

Proben des rechten Ventrikels wiesen in Kontroll- und Infarktgruppe höhere Messwerte auf als sie in den Proben der anderen Herzkammern gemessen wurden. In den Proben des linken Ventrikels von Tieren mit Myokardinfarkt konnte eine signifikant verminderte NEP-Enzymaktivität nachgewiesen werden. Die relative Reduktion auf 68% der Kontrollgruppe entsprach dem Ergebnis der vorangegangenen Proteinexpressionsanalyse. Gewebeproben von rechtem und linkem Vorhof sowie rechtem Ventrikel wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontroll- und Infarktgruppe auf. Für einen zusammenfassenden Überblick wurden die Ergebnisse für alle untersuchten Herzkammern in **Abbildung 24** grafisch dargestellt.

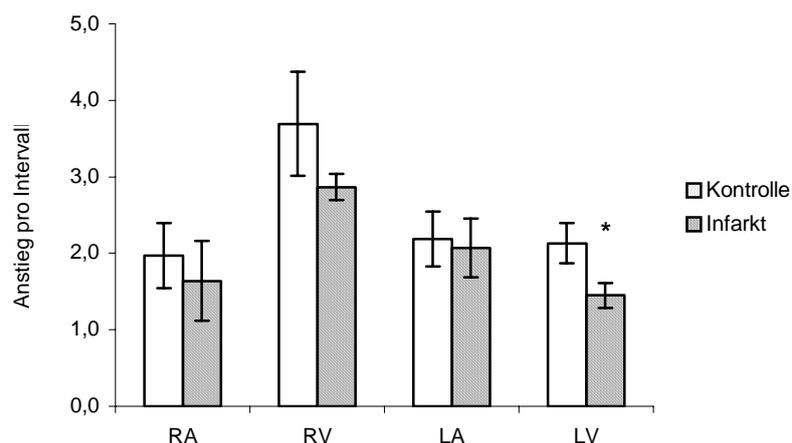


Abbildung 24: Kardiale NEP- Enzymaktivität 30 Tage nach Myokardinfarkt. Angaben als Mittelwert \pm SEM, $n = 7 - 10$, * $p < 0,05$ vs. Kontrolle, RA = rechter Vorhof, RV = rechter Ventrikel, LA = linker Vorhof, LV = linker Ventrikel

3.2.1.2.2 ACE- Aktivität, kombinierte Enzymaktivität

Die höchsten Werte der ACE- Enzymaktivität wurden in den Proben des linken Ventrikels bestimmt, die niedrigsten im linken Vorhof. In allen Herzkammern war die kombinierte Enzymaktivität erwartungsgemäß größer als die alleinige NEP- Enzymaktivität. Die kombinierte NEP- ACE- Enzymaktivität war in Gewebeproben des rechten Ventrikels am größten. Statistisch signifikante Unterschiede von ACE- Aktivität und kombinierter Enzymaktivität zwischen beiden Untersuchungsgruppen konnten für keine Herzkammer nachgewiesen werden. Die gemessenen Werte sind in **Tabelle 10** enthalten.

| | | RA | RV | LA | LV |
|-----------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Kontrolle | ACE | 0,49 ± 0,11 | 0,78 ± 0,19 | 0,40 ± 0,10 | 0,91 ± 0,05 |
| | ACE + NEP | 2,35 ± 0,40 | 4,25 ± 0,73 | 1,58 ± 0,29 | 2,38 ± 0,26 |
| Infarkt | ACE | 0,43 ± 0,09 | 0,47 ± 0,07 | 0,22 ± 0,09 | 0,81 ± 0,10 |
| | ACE + NEP | 2,14 ± 0,45 | 3,11 ± 0,21 | 1,62 ± 0,22 | 1,71 ± 0,16 |

Tabelle 10: ACE- und ACE- NEP- Enzymaktivität 30 Tage nach Myokardinfarkt. Angaben als Mittelwert ± SEM des Anstiegs pro Intervall, n = 7 – 10, RA = rechter Vorhof, RV = rechter Ventrikel, LA = linker Vorhof, LV = linker Ventrikel

3.2.1.2.3 Enzymaktivität in der Zytosolfraktion

Zur Überprüfung der Hypothese einer Herabregulation der NEP durch Internalisierung wurde ein Aktivitätsassay mit Proben der in der Gewebeaufarbeitung isolierten Zytosolfraktion von Kontroll- und Infarktgruppe durchgeführt. Aufgrund der vorangegangenen Expressions- und Aktivitätsanalyse des Infarktversuchs wurde diese Untersuchung auf Proben von rechtem und linkem Ventrikel beschränkt. Die gemessene NEP- Enzymaktivität war bedeutend geringer als in den untersuchten Membranpräparationen. Weder für die Proben von linkem noch von rechtem Ventrikel konnte eine signifikante Veränderung nachgewiesen werden (LV Infarkt vs. Kontrolle, $0,36 \pm 0,11$ vs. $0,48 \pm 0,24$, $p = 0,65$; RV Infarkt vs. Kontrolle, $0,51 \pm 0,17$ vs. $0,29 \pm 0,16$, $p = 0,36$; Angabe jeweils als Mittelwert ± SEM des Anstiegs pro Intervall). Die weiteren

berechneten Aktivitäten wiesen ebenfalls keine statistisch signifikante Veränderung auf. **Tabelle 11** enthält die gemessenen Mittelwerte.

| | | RV | LV |
|-----------|-----------|-------------|-------------|
| Kontrolle | ACE | 0,07 ± 0,21 | 0,58 ± 0,31 |
| | ACE + NEP | 0,44 ± 0,19 | 0,93 ± 0,13 |
| Infarkt | ACE | 0,22 ± 0,10 | 0,41 ± 0,13 |
| | ACE + NEP | 0,87 ± 0,16 | 0,76 ± 0,06 |

Tabelle 11: ACE- und ACE- NEP- Enzymaktivität in der Zytosolfraktion von Myokardgewebe 30 Tage nach Myokardinfarkt. Angaben als Mittelwert ± SEM des Anstiegs pro Intervall, n = 10, RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel

3.2.1.3 Untersuchung der NEP- mRNA- Expression

Zur weiteren Untersuchung der NEP- Regulation im Infarktmodell wurde im Anschluss an die Analyse von Proteinexpression und Enzymaktivität eine Quantifizierung der NEP- mRNA- Expression durchgeführt. In den Proben der Infarktgruppe des linken Ventrikels konnte eine Abnahme des mRNA- Gehalts im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Die Proben des rechten Ventrikels zeigten keine signifikante Veränderung der mRNA- Konzentration in der Infarktgruppe. Die Ergebnisse der NEP- mRNA- Expressionsanalyse wurden in **Abbildung 25** dargestellt.

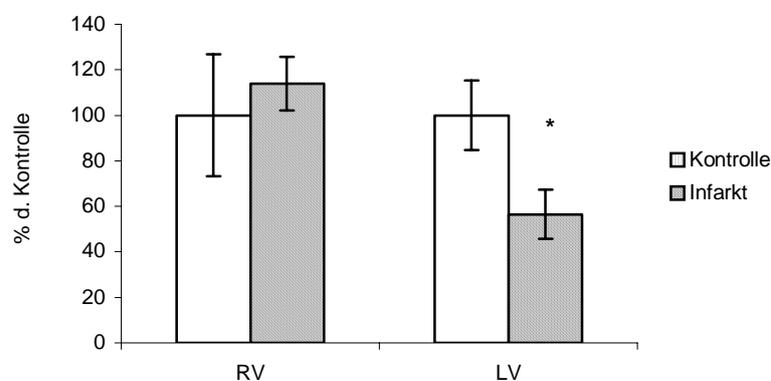


Abbildung 25: NEP- mRNA- Expression 30 Tage nach Myokardinfarkt. Angaben als Mittelwert ± SEM, n = 8 – 13, * p < 0,05 vs. Kontrolle, RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel

3.2.2 Ergebnisse des aortalen Banding

Die Untersuchung der NEP- Regulation im Banding- Modell wurde auf die Messung von Expression und Enzymaktivität im rechten und linken Ventrikel beschränkt. Eine Untersuchung der Vorhöfe erfolgte aufgrund der Ergebnisse der Untersuchungen von Shunt- Modell und Infarkt- Modell nicht.

3.2.2.1 Analyse der NEP- Proteinexpression

In der Proteinexpressionsanalyse wiesen die Gewebeproben des linken Ventrikels im Vergleich zum rechten Ventrikel eine höhere NEP- Proteinexpression auf. Signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und Bandinggruppe wurden weder für den rechten Ventrikel (Banding vs. Kontrolle, $2,20 \pm 0,51$ AU vs. $1,97 \pm 0,41$ AU, $p = 0,68$) noch für den linken Ventrikel (Banding vs. Kontrolle, $3,26 \pm 0,25$ AU vs. $3,45 \pm 0,24$ AU, $p = 0,28$) festgestellt. In **Abbildung 26** ist die nahezu gleiche Bandenintensität von Kontroll- und Bandinggruppe in den Detektionsergebnissen erkennbar. Die Messergebnisse der Proteinexpressionsanalyse sind in **Abbildung 27** grafisch dargestellt.

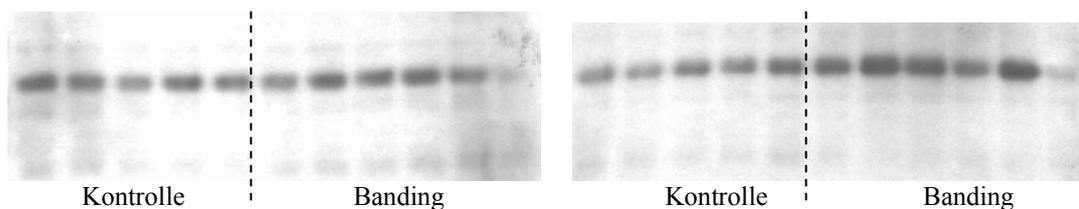


Abbildung 26: Repräsentative Detektionsergebnisse von Proben des linken Ventrikels (links) und des rechten Ventrikels (rechts) aus Kontroll- und Bandinggruppe 30 Tage nach aortalem Banding. Die Bandenintensität beider Gruppen zeigt nur geringe Differenzen.

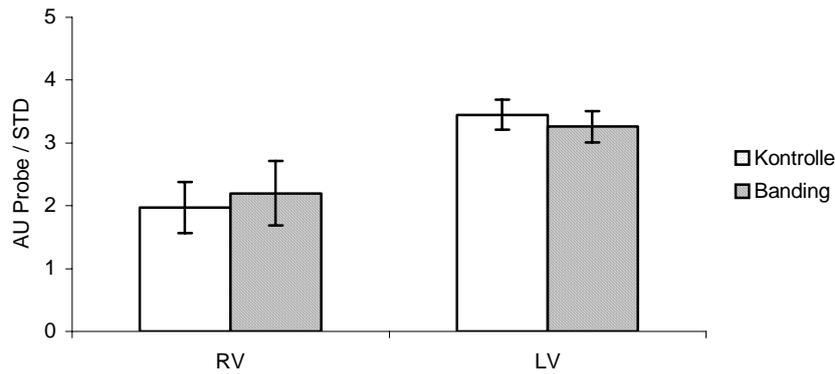


Abbildung 27: NEP- Proteinexpression 30 Tage nach aortalem Banding. Angaben als Mittelwert \pm SEM, Probe jeweils normalisiert auf internen Standard, n = 10, AU = arbitrary unit, entspricht dem Grauwert der Proteinbande, RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel

3.2.2.2 Analyse der Enzymaktivität

Die NEP- Enzymaktivität war in den Kontrollgruppen von rechtem und linkem Ventrikel annähernd gleich groß (RV: $1,97 \pm 0,24$, LV: $2,09 \pm 0,17$; Angabe jeweils als Mittelwert \pm SEM des Anstiegs pro Intervall). Die Messung der enzymatischen Aktivität zeigte für die Proben des linken Ventrikels eine signifikante Reduktion der NEP- Enzymaktivität in der Bandinggruppe. Die NEP- Aktivität verringerte sich von $2,09 \pm 0,17$ auf $1,01 \pm 0,12$ ($p < 0,001$). In der Bandinggruppe des rechten Ventrikels wurde keine signifikante Abnahme der NEP- Aktivität gemessen (Banding vs. Kontrolle, $1,65 \pm 0,09$ vs. $1,97 \pm 0,24$, $p = 0,26$; Angabe jeweils als Mittelwert \pm SEM des Anstiegs pro Intervall). Die Daten zur enzymatischen NEP- Aktivität sind in **Abbildung 28** dargestellt.

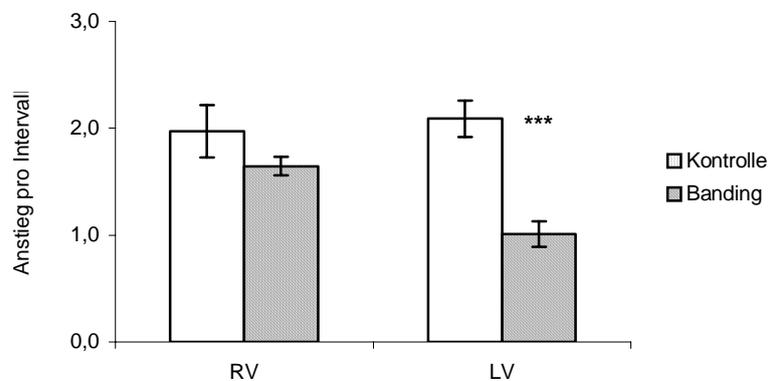


Abbildung 28: NEP- Enzymaktivität 30 Tage nach thorakalem Aortenbanding. Angaben als Mittelwert \pm SEM, n = 9 – 11, *** $p < 0,001$ vs. Kontrolle, RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel

Neben den Werten für die NEP- Aktivität waren die ACE- Aktivität und die kombinierte Enzymaktivität im linken Ventrikel der Bandinggruppe im Vergleich zu Kontrolltieren vermindert. Im rechten Ventrikel wiesen ACE- und kombinierte Enzymaktivität keine Veränderung in der Bandinggruppe auf. Die Messwerte von ACE- und kombinierter Enzymaktivität sind in **Tabelle 12** aufgeführt.

| | | RV | LV |
|-----------|-----------|-------------|-----------------|
| Kontrolle | ACE | 1,83 ± 0,19 | 1,80 ± 0,12 |
| | ACE + NEP | 2,35 ± 0,26 | 2,47 ± 0,19 |
| Banding | ACE | 1,60 ± 0,10 | 1,16 ± 0,08 *** |
| | ACE + NEP | 1,97 ± 0,08 | 1,33 ± 0,13 *** |

Tabelle 12: ACE- und ACE- NEP- Enzymaktivität 30 Tage nach thorakalem Aortenbanding. Angaben als Mittelwert ± SEM des Anstiegs pro Intervall, n = 9 – 11, *** p < 0,001 vs. Kontrolle, RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel

3.2.3 Ergebnisse des aortocavalen Shunts

3.2.3.1 Analyse der NEP- Proteinexpression

Die Untersuchung der Proteinexpression der NEP wurde in allen vier Herzkammern der drei Versuchsgruppen Kontrolle, kleiner Shunt und großer Shunt durchgeführt. Die Ergebnisse können **Tabelle 13** entnommen werden.

| | RA | RV | LA | LV |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Kontrolle | 1,46 ± 0,41 | 0,89 ± 0,03 | 0,92 ± 0,09 | 1,98 ± 0,51 |
| Kleiner Shunt | 1,78 ± 0,47 | 0,80 ± 0,05 | 0,84 ± 0,09 | 1,64 ± 0,48 |
| Großer Shunt | 1,57 ± 0,30 | 0,80 ± 0,08 | 0,76 ± 0,09 | 1,34 ± 0,34 |

Tabelle 13: Kardiale NEP- Proteinexpression bei Tieren mit aortocavalem Shunt nach 30 Tagen. Angaben als Mittelwert ± SEM in AU Probe/ AU Standard, n = 10, AU = arbitrary unit, entspricht dem Grauwert der Bande; RA = rechter Vorhof, RV = rechter Ventrikel, LA = linker Vorhof, LV = linker Ventrikel

Proben des linken Ventrikels der Kontrollgruppe zeigten die höchste NEP- Proteinexpression, im rechten Ventrikel konnten im Vergleich der drei Untersuchungsgruppen nahezu unveränderte Expressionswerte gemessen werden. Die gemessene NEP- Proteinexpression wies in keiner Herzkammer einen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchsgruppen auf.

3.2.3.2 Analyse der Enzymaktivität

3.2.3.2.1 NEP- Enzymaktivität

Mit der Messung der enzymatischen NEP- Aktivität konnte im Shuntmodell eine Abnahme der Aktivität im rechten Ventrikel, linken Vorhof und linken Ventrikel nachgewiesen werden. Die Messwerte der einzelnen Herzkammern sind in **Abbildung 29** dargestellt.

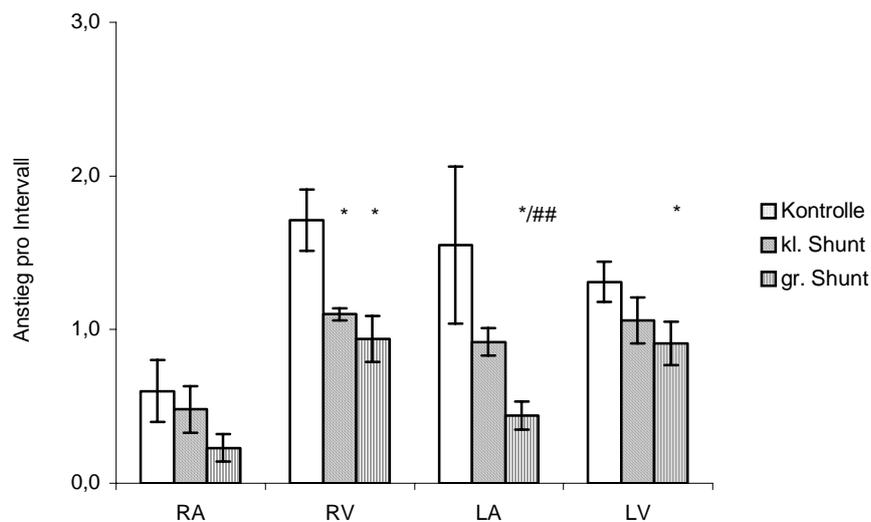


Abbildung 29: Kardiale NEP- Enzymaktivität von Tieren mit aortocavalem Shunt nach 30 Tagen. Angaben als Mittelwert \pm SEM, n = 6 – 10, * p < 0,05 vs. Kontrolle, ## p < 0,01 vs. kleiner Shunt, RA = rechter Vorhof, RV = rechter Ventrikel, LA = linker Vorhof, LV = linker Ventrikel

In beiden Ventrikeln konnten vergleichbare Enzymaktivitätswerte gemessen werden. Eine zunehmende Shuntgröße war mit einer progredienten Verminderung der NEP- Enzymaktivität assoziiert. Proben des rechten Ventrikels zeigten bereits bei Tieren mit kleinem Shunt eine signifikante Abnahme der NEP- Enzymaktivität. Eine statistisch signifikant verminderte

Aktivität im Vergleich zur Kontrollgruppe lag beim großen Shunt in den Proben von linkem Vorhof sowie rechtem und linkem Ventrikel vor. Im linken Vorhof reduzierte sich die gemessene NEP- Aktivität im Vergleich zur Kontrolle auf 28% bei Tieren mit großem Shunt. Eine signifikante Reduktion der Aktivität vom kleinen zum großen Shunt konnte nur für den linken Vorhof nachgewiesen werden. Im Vergleich zu den anderen Herzkammern wurden für den rechten Vorhof in allen Untersuchungsgruppen keine signifikanten Veränderungen gemessen.

3.2.3.2.2 ACE- Aktivität, kombinierte Enzymaktivität

Für das ACE wurden mit dem Substrat DAGNPG nur sehr niedrige Aktivitätswerte gemessen. Statistische signifikante Veränderungen in Abhängigkeit von der Shuntgröße konnten nicht nachgewiesen werden. Die gemessene ACE- Enzymaktivität in den einzelnen Untersuchungsgruppen ist in **Tabelle 14** aufgeführt.

| | RA | RV | LA | LV |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Kontrolle | 0,33 ± 0,07 | 0,11 ± 0,07 | 0,05 ± 0,16 | 0,40 ± 0,07 |
| Kleiner Shunt | 0,54 ± 0,08 | 0,30 ± 0,08 | 0,32 ± 0,07 | 0,26 ± 0,06 |
| Großer Shunt | 0,42 ± 0,04 | 0,21 ± 0,04 | 0,24 ± 0,05 | 0,24 ± 0,05 |

Tabelle 14: ACE- Enzymaktivität bei Tieren mit aortocavalem Shunt nach 30 Tagen. Angaben als Mittelwert ± SEM des Anstiegs pro Intervall , n = 3 – 10, RA = rechter Vorhof, RV = rechter Ventrikel, LA = linker Vorhof, LV = linker Ventrikel

Die kombinierte ACE- und NEP- Aktivität (**Tabelle 15**) wies nur für Proben des rechten Ventrikels signifikante Veränderungen zwischen den Versuchsgruppen auf. Sowohl für Tiere mit kleinem als auch mit großem Shunt wurden verminderte Aktivitätswerte im Vergleich zu Kontrolltieren gemessen.

| | RA | RV | LA | LV |
|---------------|-------------|---------------|-------------|-------------|
| Kontrolle | 0,94 ± 0,26 | 1,98 ± 0,24 | 0,45 ± 0,17 | 1,58 ± 0,12 |
| Kleiner Shunt | 0,90 ± 0,11 | 1,29 ± 0,06 * | 0,92 ± 0,13 | 1,32 ± 0,17 |
| Großer Shunt | 0,84 ± 0,14 | 1,18 ± 0,19 * | 0,78 ± 0,15 | 1,26 ± 0,14 |

Tabelle 15: Enzymaktivität nach Inhibitorkombination bei Tieren mit aortocavalem Shunt nach 30 Tagen. Angaben als Mittelwert ± SEM des Anstiegs pro Intervall, n = 3 – 10, * p < 0,05 vs. Kontrolle, RA = rechter Vorhof, RV = rechter Ventrikel, LA = linker Vorhof, LV = linker Ventrikel

3.2.4 Einfluss der chronischen ANP- Infusion auf die kardiale NEP

Zur Untersuchung der beobachteten Regulation der kardialen NEP wurde Tieren ohne Herzinsuffizienz ANP infundiert. Hiermit sollte der Zusammenhang zwischen chronischer Herzinsuffizienz, erhöhten ANP- Plasmakonzentrationen und kardialer NEP- Regulation untersucht werden.

3.2.4.1 NEP- Enzymaktivität

Die gemessene NEP- Enzymaktivität war sowohl im rechten als auch im linken Ventrikel in der ANP- Infusionsgruppe signifikant höher als in der Gruppe, die eine Vehikelinfusion erhielt. Im rechten Ventrikel konnte ein stärkerer Anstieg der NEP- Aktivität als im linken Ventrikel beobachtet werden (RV: ANP vs. Kontrolle, $2,69 \pm 0,25$ vs. $1,78 \pm 0,2$, p < 0,05; LV: ANP vs. Kontrolle, $2,38 \pm 0,13$ vs. $1,97 \pm 0,09$, p = 0,02; Angabe jeweils als Mittelwert ± SEM des Anstiegs pro Intervall). Die grafische Darstellung erfolgt in **Abbildung 30**.

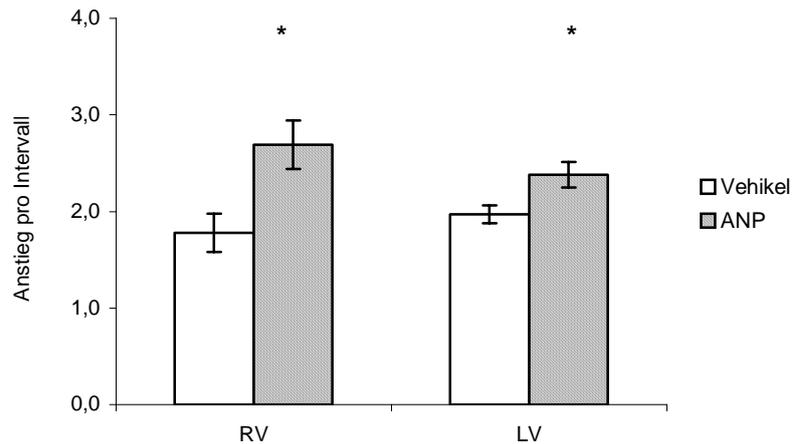


Abbildung 30: NEP- Enzymaktivität nach 14 Tagen ANP- Infusion. Angaben als Mittelwert \pm SEM des Anstiegs pro Intervall, n = 7 – 9, * p < 0,05 vs. Vehikel, RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel

3.2.4.2 ACE- Aktivität, kombinierte Enzymaktivität

In der ANP- Infusionsgruppe wiesen alle erfassten Enzymaktivitäten im rechten Ventrikel höhere Mittelwerte auf als im linken Ventrikel. In der Kontrollgruppe wurden hingegen im linken Ventrikel höhere oder gleich große Werte gemessen. ACE- Enzymaktivität und die kombinierte Enzymaktivität wiesen in den Proben des rechten Ventrikels ebenfalls erhöhte Werte in der ANP- Infusionsgruppe auf. Im linken Ventrikel konnte nur für die ACE- Aktivität ein erhöhter Mittelwert nach ANP- Infusion nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse für ACE- und kombinierte Enzymaktivität der Gewebeproben von linkem und rechtem Ventrikel sind in **Tabelle 16** zusammengefasst.

| | | Vehikel | ANP |
|----|-----------|-----------------|-------------------|
| RV | ACE | 1,54 \pm 0,16 | 2,39 \pm 0,20 * |
| | ACE + NEP | 2,04 \pm 0,15 | 2,89 \pm 0,23 * |
| LV | ACE | 1,52 \pm 0,09 | 2,00 \pm 0,18 * |
| | ACE + NEP | 2,12 \pm 0,12 | 2,27 \pm 0,25 |

Tabelle 16: ACE- und ACE- NEP- Enzymaktivität nach 14 Tagen ANP- Infusion. Angaben als Mittelwert \pm SEM des Anstiegs pro Intervall, n = 7 – 9, * p < 0,05 vs. Vehikel, RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel