

Aus der Klinik für Kardiovaskuläre Chirurgie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Der Einfluss von „Digoxigenin“ auf die mechanische  
Dysfunktion („atriales stunning“) nach Gleichstromschock  
an humanen Vorhofmyokardstreifen von Patienten mit und  
ohne Vorhofflimmern**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Christoph Huth

aus Berlin

Gutachter:       1. Doz. Dr. D. Modersohn  
                      2. Prof. Dr. med. F. X. Kleber  
                      3. Prof. Dr. med. D. Pfeiffer

Datum der Promotion: 03.06.2012

---

1. Einführung	1
2. Grundlagen	2
2.1 Epidemiologie, Prognose und klinische Bedeutung von Vorhofflimmern	2
2.2 Pathophysiologie des Vorhofflimmerns	3
2.2.1 Atriale Kontraktion	3
2.2.2 Regulation der Herzarbeit	4
2.2.3 Die Wirkung von Isoprenalin auf Vorhofmyokard	5
2.2.4 Kontraktionsverhalten und Remodellingprozesse bei Vorliegen eines Vorhofflimmerns	5
2.3 Bisherige Therapieoptionen	7
2.4 Atrial stunning: bisheriger Erkenntnisstand und Pathophysiologie	8
2.5 Digoxigenin und seine Wirkung auf Vorhofmuskelzellen	11
2.6 Ziel der Arbeit	13
2.7 Aufgabenstellung	15
3. Material und Methoden	16
3.1 Untersuchtes Gewebe	16
3.2 Verwendete Lösungen und Substanzen	17
3.2.1 Perfusionslösung	17
3.2.2 Transport- und Präparationslösung (kardioplege BDM-Lösung)	17
3.2.3 Isoproterenol (Isoprenalin)	18
3.2.4 Digoxigenin	18
3.3 Versuchsaufbau	19
3.3.1 Verwendete Geräte	19
3.3.2 Technische Hilfsmittel	19
3.3.3 Einrichtung des Arbeitsplatzes	20
3.4 Versuchsdurchführung	21
3.4.1 Materialgewinnung und Transport	21
3.4.2 Präparation	22
3.4.3 Versuchsablauf	22
3.5 Messmethoden	24
3.6 Kontraktions- und Relaxationsverhalten	25

---

3.7	Statistische Auswertung	26
3.8	Kritik der Methodik	27
4.	Ergebnisse	29
4.1	Kraft-Frequenz-Beziehung und adrenerge Ansprechbarkeit	29
4.1.1	Kraft-Frequenz-Modulation bei Patienten mit Sinusrhythmus (SR) und Vorhofflimmern (VHF)	29
4.1.2	Adrenerge Ansprechbarkeit der Vorhofstreifen bei SR und VHF	31
4.2	Kontraktionskraft (FOC/A) nach dem ersten Schock der Vorhofstreifen ohne Medikamentenzugabe bei SR und VHF	32
4.3	FOC/A nach dem zweiten Schock und der sich anschließenden Erholungsphase unter Einfluss von Digoxigenin bei SR- und VHF-Streifen	34
4.4	Maximale Kontraktions- ( $dF/dt_{max}$ ) und Relaxationsgeschwindigkeit ( $dF/dt_{min}$ ) bei Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit SR und VHF	40
4.4.1	$dF/dt_{max}$ und $dF/dt_{min}$ nach Frequenzstimulation bei Vorhofmuskelstreifen von SR und VHF	40
4.4.2	Einfluss von Isoprenalin auf $dF/dt_{max}$ und $dF/dt_{min}$ bei Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit SR und VHF	42
4.5	$dF/dt_{max}$ und $dF/dt_{min}$ bei Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit SR und VHF mit und ohne Einfluss von Digoxigenin	44
4.5.1	$dF/dt_{max}$ und $dF/dt_{min}$ bei Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit VHF nach Schock mit und ohne Einfluss von Digoxigenin	48
4.5.2	$dF/dt_{max}$ und $dF/dt_{min}$ bei Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit SR nach Schock mit und ohne Einfluss von Digoxigenin	52
5.	Diskussion	61
5.1	Kraft-Frequenz-Beziehung und adrenerge Ansprechbarkeit bei Streifen von Patienten mit VHF und SR	61
5.2	$\beta$ -adrenerger Effekt von Isoprenalin auf Vorhofmuskelstreifen	62

5.3	Veränderung der entwickelten FOC/A und der erreichten $dF/dt_{\max}$ und $dF/dt_{\min}$ nach Gleichstromschädigung der Muskelstreifen ohne Medikamenteneinfluss	63
5.4	Möglicher kardioprotektiver Effekt von Digoxigenin auf Vorhofmuskelstreifen nach Gleichstromschock	64
5.4.1	Einfluss von Digoxigenin auf die auf veränderte $Ca^{2+}$ -Konzentrationen im Zytosol	65
5.4.2	Einfluss von Digoxigenin auf atriale Hibernation, Zelldifferenzierung und Zellproliferation	68
5.5	Klinische Bedeutung und Ausblick	70
6.	Zusammenfassung	71
7.	Literaturverzeichnis	72
8.	Abkürzungsverzeichnis	85
9.	Abbildungsverzeichnis	87
10.	Danksagung	90
11.	Curriculum vitae	91
12.	Eidesstattliche Erklärung	92

## 1. Einführung

Vorhofflimmern ist die am häufigsten auftretende supraventrikuläre Rhythmusstörung des Herzens (Fuster et al., 2006). In einigen Fällen wird es von den betroffenen Patienten gar nicht wahrgenommen. Dennoch kann es aufgrund dieser Erkrankung zum Teil zu gravierenden Komplikationen wie Embolien kommen, die eine effektive und dauerhafte Therapie notwendig machen (Hart und Hamperin, 2001).

In der Praxis existieren pharmakologische Therapiekonzepte, elektrische Kardioversion sowie chirurgische Techniken für die Behandlung des Vorhofflimmerns. Dennoch konnten viele Fragen in Bezug auf die Entstehung und die genauen pathophysiologischen Mechanismen des Vorhofflimmerns noch nicht eindeutig beantwortet werden. Daher ist es nicht verwunderlich, dass die Therapie des Vorhofflimmerns trotz vieler Erfolge im Einzelfall immer noch nicht ausreichend und weiterhin eine Langzeitbehandlung mit Antiarrhythmika und Antikoagulanzen mit den jeweiligen Risiken notwendig ist.

Ein besonderes Problem stellt das sogenannte „atrial stunning“ dar. Hierbei handelt es sich um eine mechanische Dysfunktion der Vorhofmuskulatur trotz erfolgreicher Konversion in einen Sinusrhythmus und ein damit weiter bestehendes erhöhtes Thromboserisiko. Das atrial stunning wurde nach allen Formen der Kardioversion beobachtet (Khan, 2003). Bisher konnte keine ausreichende Therapie entwickelt werden, welche die Dauer dieses Phänomens verkürzen oder die Auswirkungen abschwächen kann.

Deshalb ist es sinnvoll, experimentelle Untersuchungen zur medikamentösen Beeinflussung dieser beeinträchtigten Vorhofsfunktion durchzuführen.

In der vorliegenden Arbeit sollen ein möglicher positiver Effekt von Digoxigenin auf die atriale mechanische Dysfunktion nach Gleichstromschock und die zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen untersucht werden.

## 2. Grundlagen

### 2.1 Epidemiologie, Prognose und klinische Bedeutung von Vorhofflimmern

Statistisch gesehen ist das Vorhofflimmern die häufigste Form von Herzrhythmusstörungen im Erwachsenenalter (Fuster et al., 2006). Es führt in vielen Fällen zu subjektiven Beschwerden beim Patienten und ist somit auch verantwortlich für Krankenhausaufenthalte und den damit verbundenen hohen Kosten (Brundel et al., 2004). Ein Teil der Betroffenen bemerkt jedoch zunächst keine Symptome und die Krankheit wird im Rahmen anderer Untersuchungen zufällig entdeckt. Die Prävalenz wird auf 1-2 % der Gesamtbevölkerung angegeben (Hammwöhner et al., 2006; Knecht et al., 2010; Nattel, 2002). Die Wahrscheinlichkeit, ein Vorhofflimmern zu entwickeln, steigt dabei exponentiell mit dem Lebensalter an. Während bei Patienten unter 50 Jahren eine Häufigkeit von weniger als 0,5 % zu verzeichnen ist, kann bei Patienten über 80 Jahren ein Auftreten in mehr als 10% der Fälle beobachtet werden (Fatkin et al., 2007).

Ein zuvor noch nicht beschriebenes Vorhofflimmern wird als erstmalig entdecktes Vorhofflimmern bezeichnet. Wenn das Vorhofflimmern innerhalb von 7 Tagen nach vermutetem Beginn spontan endet, so wird es als paroxysmal bezeichnet. Sollte das Vorhofflimmern länger als 7 Tage anhalten oder durch medikamentöse oder elektrische Kardioversion beendet werden, so wird es als persistierend klassifiziert. Wenn die Kardioversion eines Vorhofflimmerns jedoch erfolglos blieb, so spricht man von einem permanenten Vorhofflimmern (Fuster et al., 2006).

Da die Schwere des Krankheitsbildes jedoch mit anhaltender Dauer und auch mit dem Schweregrad weiterer Herzerkrankungen zunimmt, kommt es bei vielen Patienten zu einer dauerhaften Ausbildung eines Vorhofflimmerns. Die Statistik belegt, dass 30% aller Patienten mit paroxysmalem Vorhofflimmern letztlich an einem persistierenden oder permanenten Vorhofflimmern leiden. Dies hat zur Folge, dass sich mit fortschreitendem Stadium der Krankheit eine pharmakologische oder elektrische Kardioversion in einen Sinusrhythmus immer schwieriger gestaltet (Brundel et al., 2004).

Bei der Ätiologie des Vorhofflimmerns kann in eine primäre bzw. idiopathische und eine sekundäre Form unterschieden werden. Das Hauptaugenmerk liegt auf der sekundären Form, da diese bedeutend häufiger auftritt (etwa 90% der Fälle). Hierbei sind als

häufigste Ursachen die koronare Herzkrankheit und vorangegangene Herzinfarkte zu nennen. Ebenfalls können Mitralvitien oder eine Linksherzinsuffizienz als Auslöser gefunden werden. Extrakardiale Ursachen wie arterielle Hypertonie, Hyperthyreose oder medikamentös-toxische Wirkungen begünstigen ebenfalls das Auftreten von Vorhofflimmern (Hammwöhner et al., 2006).

Neben vielen subjektiven Beschwerden der Patienten wie unregelmäßiger Puls, Schwindel und Dyspnoe bis hin zum Auftreten von Synkopen stellt die Bildung von Vorhoffthromben mit der Gefahr einer arteriellen Embolie die größte Komplikation des Vorhofflimmerns dar (Berger et al., 1998). Patienten mit persistierendem Vorhofflimmern haben ein doppelt erhöhtes Risiko, einen zerebralen Insult zu erleiden. Hart und Hamperin (2001) konnten in einer Studie belegen, dass das Vorhofflimmern die häufigste Ursache für einen Schlaganfall bei Patienten über 75 Jahren darstellt.

## **2.2 Pathophysiologie des Vorhofflimmerns**

### **2.2.1 Atriale Kontraktion**

Grundlage für die mechanische Verkürzung von Herzmuskelzellen ist eine elektrische Erregung. Diese stellt sich in Form eines Aktionspotentials mit einer Gesamtdauer von 200 ms bis 400 ms dar. Diese Zeitspanne wird als Aktionspotentialdauer (APD) bezeichnet. Voraussetzung für die Entstehung eines Aktionspotentials ist eine Membranruhespannung der Zelle von  $-80$  mV. Dieses Zellpotential beruht auf der spezifischen  $K^+$  - Leitfähigkeit ( $g_{K1}$ ) der Zellmembran. Die Erregung der Zelle wird durch einen raschen  $Na^+$ -Einstrom durch spannungsgesteuerte Natriumkanäle eingeleitet. Ermöglicht wird dies durch eine Erhöhung der spezifischen Leitfähigkeit ( $g_{Na}$ ) dieser Kanäle. Die Schrittmacherzellen lösen eine Erregung durch Spontandepolarisation aus, wohingegen die Zellen des Arbeitsmyokards dazu nicht in der Lage sind. Durch die schnelle Aufstrichphase des Aktionspotentials kommt es zu einer Änderung der Membranspannung auf  $+40$  mV. Nun erfolgt eine teilweise Repolarisation mit Ausbildung der Plateauphase. Ursächlich hierfür ist eine verminderte  $g_{K1}$ , die den repolarisierenden  $K^+$ -Auswärtsstrom reduziert. Zusätzlich kommt es zu einer verzögerten Öffnung von spannungsabhängigen  $Ca^{2+}$ -Kanälen ( $I_{Ca}$ ), die einen depolarisierenden, langsamen  $Ca^{2+}$ -Einstrom ermöglichen und somit die abgeflachte Plateauphase aufrecht erhalten werden kann. Ausgelöst durch den  $Ca^{2+}$ -Einstrom durch

die  $I_{Ca}$  kommt es zu einer weiteren  $Ca^{2+}$ -Freisetzung aus den intrazellulären Depots, dem sarkoplasmatischen Retikulum. Dieser sogenannte Triggereffekt führt zu einer Aktivierung des kontraktiven Apparates. Genau wie der  $Ca^{2+}$ -Rücktransport in das sarkoplasmatische Retikulum trägt der  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -Tauscher (NCX) durch den  $Ca^{2+}$ -Transport aus der Zelle heraus dazu bei, dass eine Relaxation erfolgen kann. Die abschließende Repolarisation zurück zum Ruhepotential erfolgt durch eine Abnahme der Leitfähigkeit der  $I_{Ca}$  und der Zunahme der spezifischen Leitfähigkeit für verzögert aktivierte Kaliumkanäle ( $I_K$ ), den sogenannten verzögerten Gleichrichtern. Dieses Gleichgewicht von Ionenströmen bestimmt letztlich die APD. Diese wiederum ist maßgeblich dafür verantwortlich, wie schnell die Zelle erneut erregt werden kann. Eine Erhöhung der Ionenströme in die Zelle hinein verlängern die APD, wohingegen vermehrte Auswärtsströme eine Verkürzung derselben hervorrufen (Bers, 1985).

### 2.2.2 Regulation der Herzarbeit

Einen besonderen Einfluss auf die Kontraktionskraft des gesunden Herzens hat die Schlagfrequenz. Bereits 1871 wurde von Bowditch das sogenannte Treppenphänomen beschrieben. Er konnte bei Untersuchungen am Froschmyokard einen positiven Zusammenhang zwischen Erhöhung der Schlagfrequenz und einer Kontraktilitätssteigerung aufzeigen (Kraft-Frequenz-Beziehung). Diese Erkenntnisse konnten auch in späteren in-vivo und in-vitro Versuchen mit Ventrikelmyokard bestätigt werden (Bers et al., 1990; Buckley et al., 1972). Bei Erhöhung der Schlagfrequenz innerhalb eines bestimmten Bereiches kommt es zu einer Verbesserung der Kontraktilität und somit auch der Schlagkraft. Das Optimum beim gesunden Herzen wird im Frequenzbereich zwischen 150 und 200 Kontraktionen pro Minute (bpm) erreicht.

Vorgeschädigtes Myokard kann einen derartigen Regulationsmechanismus nicht vorweisen; es zeigt sogar das Gegenteil, eine inverse Kraft-Frequenz-Beziehung, auf. Die optimale Kraftentwicklung des insuffizienten Myokards liegt bei einer Frequenz von deutlich unter 60 bpm. In weiteren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass auch weitere Kontraktilitätsparameter wie die maximale Kontraktions- und Relaxationsgeschwindigkeit bei vorgeschädigtem Myokard bei steigender Frequenz abnahmen. Ursächlich hierfür ist eine verminderte intrazelluläre Aktivierung von kontraktiven Proteinen (Mulieri et al., 1992).

### 2.2.3 Die Wirkung von Isoprenalin auf Vorhofmyokard

Isoprenalin ist ein synthetisches Noradrenalinderivat, das durch agonistische Wirkung an den  $\beta$ -Adrenozeptoren eine positiv inotrope Wirkung erzeugt. Dies geschieht durch eine Aktivierung der  $\beta_1$ - und  $\beta_2$ -Adrenozeptoren, welche wiederum die Adenylylcyclase aktivieren. Infolgedessen kommt es zu einem Anstieg von cAMP, dessen erhöhte intrazelluläre Konzentration eine Aktivierung der Proteinkinase A herbeiführt. Dies bewirkt wiederum eine Phosphorylierung von  $I_{Ca}$ , was eine Zunahme des langsamen  $Ca^{2+}$ -Einstroms während der Depolarisation zur Folge hat. Somit kommt es zu einer positiven Beeinflussung der Kontraktilität des Myokards (Banach et al., 2003).

Lefkowitz et al. konnten 1984 nachweisen, dass sowohl die Anzahl der  $\beta$ -Rezeptoren in den Zellmembranen als auch die einzelnen Schritte der fortgeleiteten intrazellulären Informationskaskade zum Teil deutlich variieren können. Hierbei ist besonders hervorzuheben, dass bei vorgeschädigtem Herzgewebe eine geringere Anzahl an  $\beta$ -Rezeptoren zu beobachten ist als bei gesundem. Dies ist auf eine verminderte Genexpression dieser Rezeptoren zurückzuführen.

### 2.2.4 Kontraktionsverhalten und Remodellingprozesse bei Vorliegen eines Vorhofflimmerns

Liegt eine Herzrhythmusstörung in Form von Vorhofflimmern vor, so ist die primäre Störung nicht direkt im Sinusknoten zu finden, sondern liegt vielmehr im Vorhof selbst. Hierbei handelt es sich um sogenannte Mikro-Reentry Störungen; viele Erregungen, die ständig ihre Lage und Größe ändern, finden simultan an verschiedenen Orten des Vorhofmyokards statt. Dadurch kommt es zu einer unregelmäßigen Erregung der Vorhofmuskulatur mit einer Frequenz von 350-600 Erregungen pro Minute. Eine hämodynamisch wirksame Vorhofkontraktion ist nicht mehr möglich, was die Pumpleistung des Herzens um bis zu 20 % reduzieren kann (Fuster et al., 2006; Gaspo et al. 1997).

Neuere Forschungsergebnisse zeigen, dass elektrophysiologische Veränderungen innerhalb der Zelle die Grundlage sowohl für Entstehung als auch das Fortbestehen eines vorhandenen Vorhofflimmerns sind. Diese Abweichungen vom normalen Erregungsablauf werden als „elektrisches remodelling“ bezeichnet.

Ausgangspunkt hierfür ist die bei Vorhofflimmern bis um das zehnfache erhöhte Erregungsfrequenz. Damit ist auch eine erhöhte  $\text{Ca}^{2+}$ -Aufnahme in die Zelle verbunden, da diese Ionen bei jeder einzelnen Erregung durch die  $I_{\text{Ca}}$  in die Zelle hineinströmen (Goette et al., 2002; Marban et al., 1988; Sun et al., 2001). Dieses Resultat wird bei jeglicher Form einer Tachykardie beobachtet (Wijffels et al., 1997). Auch im Tiermodell konnte nachgewiesen werden, dass durch „atrial pacing“ ausgelöstes Vorhofflimmern eine intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Akkumulation nach sich zieht (Daoug et al., 1997; Wijffels, 1995; Yue et al., 1997). Da eine erhöhte  $\text{Ca}^{2+}$ -Aufnahme eine toxische Gefahr für die Zelle darstellt, werden Mechanismen aktiviert, um eine vermehrte  $\text{Ca}^{2+}$ -Ansammlung (calcium overload) zu verhindern (Kitakaze et al., 1988). Der erste Schritt, der innerhalb von Sekunden einsetzt, ist eine Inaktivierung der  $I_{\text{Ca}}$ , da diese sowohl auf die Veränderung der Spannungsgradienten entlang der Zellmembran als auch die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration reagieren (Wijffels et al., 1997). Im weiteren Verlauf kommt es zu einer Abnahme der Konzentration der für die  $I_{\text{Ca}}$  alpha-Untereinheit kodierenden mRNA, was wiederum eine weitere Abnahme von  $I_{\text{Ca}}$  zur Folge hat (Lai et al., 1999). Aufgrund der so veränderten Ionenströme kommt es jedoch zu einer Verkürzung der APD, was zu einer verkürzten Refraktärperiode der Zelle führt (Yu et al., 1998). Damit ist diese weniger vor vorzeitigen Depolarisationen geschützt, was wiederum ein Fortbestehen von Vorhofflimmern und Mikro-Reentry Kreisläufen begünstigt (Gaspo et al., 1997). Wie Nattel et al. (1993) dazu feststellten, verursacht das elektrische remodelling der Zelle einen unaufhaltsamen Weg hin zum dauerhaften Vorhofflimmern, unabhängig von dessen Entstehungsmechanismus. Ein vorhandenes Vorhofflimmern begünstigt somit das weitere Fortbestehen des Vorhofflimmerns (Wijffels et al., 1995).

Aufgrund der veränderten Konzentrationen der  $I_{\text{Ca}}$ , kommt es zu einem veränderten  $\text{Ca}^{2+}$ -Haushalt in der Zelle. Ohkusa (1999) konnte zeigen, dass dies die Ursache für eine verminderte  $\text{Ca}^{2+}$ -Ausschüttung während der Systole ist. Infolgedessen verringert sich auch die Konzentration an Proteinen, die die benötigte  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration während der Systole und der Diastole regulieren. Des Weiteren konnte ein fortschreitender Verlust von kontraktilen Proteinen beobachtet werden (Gaspo et al. 1997). Die Ergebnisse weiterer Studien zeigten Myolysen innerhalb der Zelle mit entsprechend negativem Einfluss auf die Kontraktilität (Ausma et al., 1997). Dies hat weitreichende Folgen für das gesamte Vorhofmyokard. Dies wird als strukturelles

remodelling bezeichnet. Es tritt unter Vorhofflimmern in unterschiedlichem Ausmaß auf. Ganz wesentlich hierfür ist die Zeitspanne, über die das Vorhofflimmern bestanden hat. Die Folgen sind Hypertrophie und interstitielle Fibrosierung, welche mit der Aktivierung des atrialen Angiotensinsystems assoziiert sind (Li D et al., 1999).

### **2.3 Bisherige Therapieoptionen**

Die Therapie des Vorhofflimmerns ist komplex und umfasst die beiden grundlegenden Ansätze: Frequenzkontrolle und Rhythmuskontrolle (Hammwöhner et al., 2006). Aufgrund seiner negativ chronotropen Wirkung stellen auch heute noch die Digitalispräparate eine absolut berechnigte und wirksame Therapieoption im Bereich der Frequenzkontrolle dar.

Zur Wiederherstellung eines Sinusrhythmus existieren drei grundlegende Ansätze: pharmakologische Kardioversion, elektrische Kardioversion sowie die chirurgische Ablation. Ziel aller Therapien ist ein verbesserter atrialer Blutfluss und damit die Senkung des Thrombose- und Insultrisikos.

Die pharmakologische Kardioversion mit Antiarrhythmika der Klassen Ia, Ic und III ist eine traditionell bewährte Methode. Die Erfolgsaussichten sind jedoch hier am höchsten bei kurzfristig bestehendem Vorhofflimmern. Da aber bei einem großen Teil der Patienten bereits ein persistierendes Vorhofflimmern vorliegt, reicht die einfache medikamentöse Therapie in den meisten Fällen nicht aus.

Die transthorakale Elektrokardioversion stellt ein non-invasives Verfahren dar, bei dem mittels EKG-getriggertem Defibrillator ein Gleichstrom appliziert wird (Knecht et al., 2010). Der Vorteil dieses Verfahrens besteht in der Vermeidung einer Operation beziehungsweise der Möglichkeit der Anwendung bei Patienten, die keine kardiochirurgische Intervention benötigen. Die Rückfallquote in ein Vorhofflimmern nach einem Jahr beträgt 60 bis 70 %.

Unter den chirurgischen Therapien nimmt die Cox-Maze III Operation seit den 1990er Jahren eine bedeutende Rolle ein. Hierbei erfolgt mittels linienförmigen Inzisionen eine Unterbindung der Reentrykreisläufe; der Vorhof wird in zusammenhängende Kompartimente unterteilt. Die Schnitfführung lässt nur einen vorher festgelegten Weg der Erregungsausbreitung vom Sinus- zum AV-Knoten zu. (Williams et al., 2001). Dieses Verfahren gilt als effektiv, jedoch ist die Durchführung sehr komplex und deshalb nicht immer uneingeschränkt anwendbar (Chen et al., 2008). Es kommt zu einer

verlängerten Operationszeit sowie zu häufig auftretenden Nachblutungen aus den Inzisionsschnitten im Vorhof (Williams et al., 2001). Deshalb wurden alternative Prozeduren entwickelt. Anwendung finden hierbei verschiedene Energiequellen wie Radiofrequenzenergie, Mikrowellenenergie sowie Kryoablation (Jahangiri et al., 2006). Bei der Radiofrequenzablation erfolgt eine strichförmige Erwärmung des Vorhofgewebes mittels unipolarer Elektrode, um eine transmurale Läsion entstehen zu lassen (Gilinov et al., 2002). Bei der Mikrowellenablation werden Wassermoleküle mittels hochfrequenten elektromagnetischen Wellen in Erregung versetzt und somit Hitze erzeugt. Der Vorteil gegenüber der Radiofrequenzablation besteht darin, dass kein permanenter Kontakt mit der Gewebeoberfläche notwendig ist; Beschädigungen können so minimiert werden (Spitzer et al., 1999). Ebenfalls in der Praxis angewandt wird die Kryotherapie. Bei diesem Verfahren wird durch Kälteapplikation lokal eine Vernarbung im Vorhofgewebe erzeugt. Diese Gewebe kann nun die elektrischen Reize nicht mehr weiterleiten; eine Ausbreitung der Arrhythmie kann so unterbunden werden (Doll et al., 2005).

#### **2.4 Atrial stunning: bisheriger Erkenntnisstand und Pathophysiologie**

Unabhängig von der Wiederherstellung eines Sinusrhythmus als Folge eines erfolgreichen Therapieversuches stellt sich anschließend ein immer wieder auftretendes Problem dar – das atrial stunning. Dies ist definiert als vorübergehende mechanische Dysfunktion bzw. reduzierte Kontraktilität des linken Vorhofmyokards einschließlich des linken Herzohres nach erfolgreicher Kardioversion eines Vorhofflimmerns in einen Sinusrhythmus (Khan, 2002). Dieses Phänomen, welches analog zum stunning nach einer Ischämie angesehen werden kann, konnte nach allen bisher angewandten Methoden der Kardioversion beobachtet werden (Mattioli et al., 1999). In verschiedenen Studien konnten mittels Echokardiographie eine verminderte Pumpleistung des linken Vorhofs und infolgedessen ein verminderter Blutfluss aus dem Vorhof dokumentiert werden (Falcone et al., 1996; Grimm et al., 1993). Die Prävalenz dieses Phänomens lag zwischen 38 % und 80 % (Dogan et al., 2009). Die verminderte Kontraktilität kann von wenigen Minuten über Stunden bis hin zu mehreren Wochen andauern (Dogan et al., 2009; O'Neill et al., 1990). Die maximale Auswirkung des AS kann sofort nach erfolgreicher Kardioversion beobachtet werden. Es erfolgt dann eine progressiv-

ansteigende Verbesserung der mechanischen Funktion innerhalb von Minuten bis hin zu vier bis sechs Wochen (Harjai et al., 1998). Die Funktionsverbesserung ist abhängig von Vorhofgröße (Omran et al., 1997), Dauer des vorbestehenden Vorhofflimmerns und der Koexistenz weitere Herzerkrankungen (Mattioli et al., 1996). Hierbei konnte eine Korrelation von kleineren Vorhofdurchmessern und einem weniger stark ausgeprägtem AS aufgezeigt werden. Weiterhin wurde gezeigt, dass bei einem VHF, das lediglich für eine Woche bestand, eine Rückbildung des AS innerhalb von 24 Stunden zu beobachten war. Erfolgte jedoch eine Kardioversion bei chronischem Vorhofflimmern, lag ein AS bis zu vier Wochen vor (Manning et al., 1994). Das Vorliegen von AS bestimmt somit die Dauer der erforderlichen Antikoagulationstherapie nach Wiederherstellung eines Sinusrhythmus; aktuell beträgt dieser Zeitraum mindestens vier Wochen. Ebenfalls kann erst nach Abklingen des AS mit einer unterstützenden Pumpleistung der Vorhöfe gerechnet werden, was dem Allgemeinbefinden und der Leistungsfähigkeit des Patienten zugute kommt. Im Rahmen einer klinischen Studie, anhand von transoesophagealen Echokardiographien, konnte eine positive proportionale Korrelation zwischen der Dauer des bekannten Vorhofflimmerns und der Dauer der atrialen mechanischen Dysfunktion aufgezeigt werden (Irani et al., 1997; Sanders et al., 2003). Je länger ein Vorhofflimmern bei einem Patienten besteht, desto länger dauert es, bis eine normale Pumpfunktion des linken Vorhofes einsetzt (Dogan et al., 2009). Es ist somit offensichtlich, dass eine Verkürzung des AS eine schnellere Belastbarkeit der Herzfunktion begünstigt (Khan, 2002).

Das AS tritt sowohl nach pharmakologischer Kardioversion als auch nach elektrischer Kardioversion mittels Gleichstrom auf. Nach den Erkenntnissen von Fatkin et al. (1994) und Grimm et al. (1997) kommt es bei letztgenannter Methode auch durch den Gleichstromschock selbst zu erheblicher Schädigung der Zellen sowohl auf biochemischer als auch auf histologischer Ebene. Die akute Schädigung durch den Stromschlag ist jedoch noch nicht erklärend für das Phänomen des AS (Khan, 2003).

Derzeitige Forschungsergebnisse liefern Hinweise darauf, dass die Auswirkungen des AS auf den Veränderungen des Myokards basieren, die sich während der Zeit des Vorhofflimmerns ereigneten (Khan, 2003). Der genaue Mechanismus des AS konnte jedoch noch nicht geklärt werden. Derzeit werden vier verschiedene zelluläre Mechanismen diskutiert. Als erste Möglichkeit wurde die  $\text{Ca}^{2+}$ -Akkumulation im Zytosol, im sarkoplasmatischen Retikulum und in den Mitochondrien als Ursache diskutiert

(Manning et al., 1994). Aufgrund erhöhter  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen innerhalb der Zelle kommt es zu einer Desensibilisierung oder Downregulation der  $I_{\text{Ca}}$ . Mit Wiedereintritt eines Sinusrhythmus und der so reduzierten  $\text{Ca}^{2+}$ -Zufuhr aus dem extrazellulären Raum kommt es zu einer relativen Knappheit an bindungsfähigem  $\text{Ca}^{2+}$ . Da das Ereignis der Kardioversion sehr akut eintritt, kommt es zu einer verminderten atrialen Kontraktilität, bis eine Normalisierung der Konzentration von  $I_{\text{Ca}}$  erfolgt ist. Des Weiteren kann während der Periode des Vorhofflimmerns eine Hochregulierung von NCX-Molekülen beobachtet werden; diese bewirken eine zusätzliche  $\text{Ca}^{2+}$ -Eliminierung aus der Zelle. Auch hier kann es nicht sofort zu einer Normalisierung der Zahl der Kanäle kommen; eine weitere relative  $\text{Ca}^{2+}$ -Knappheit innerhalb der Zelle wird so verstärkt.

Einen weiteren Erklärungsansatz liefert die Tachykardie-induzierte atriale Kardiomyopathie. Im Gegensatz zur vollständig reversiblen Tachykardie-induzierten ventrikulären Kardiomyopathie, bei der eine Desensibilisierung und Downregulation der  $\beta$ -Adrenozeptoren sowie die Dysfunktion des sarkoplasmatischen Retikulums als Ursachen im Vordergrund stehen (Sparks et al., 1999; Suzuki et al., 1991), wird bei der Tachykardie-induzierten atrialen Kardiomyopathie eine zytosolische  $\text{Ca}^{2+}$ -Akkumulation als Ursache diskutiert (Schotten et al., 2002).

Der nächste Erklärungsansatz für das AS beinhaltet die atriale Hibernation mit einhergehender Dedifferenzierung der Myozyten sowie einer einsetzenden Myolyse. Hierbei handelt es sich jedoch nicht um degenerative Veränderungen im Sinne irreversibler Schädigungen bis hin zum Zelltod (Ausma et al., 1997). Dennoch wird eine verminderte Zahl kontraktiler Proteine beobachtet. Insbesondere die Dedifferenzierung zu einem embryonalen Muskeltyp scheint eine besondere Rolle zu spielen, da dieser scheinbar einen höheren Widerstand sowohl gegen den  $\text{Ca}^{2+}$ -induzierten Zelltod als auch ischämische Schädigungen bietet (Grice et al., 1987).

Als vierte mögliche Ursache für das atrial stunning wird die Fibrosierung der Vorhofmuskulatur benannt (Mary-Rabine et al., 1983). Dabei kommt es, aufgrund einer relativen Zunahme von Bindegewebelementen im Vorhof, zu einer zunehmenden Steifigkeit des Herzmuskels.

## 2.5 Digoxigenin und seine Wirkung auf Vorhofmuskelzellen

Digoxigenin gehört zu den Herzglykosiden, die im Laufe der Jahrhunderte so intensiv wie kaum ein anderes Arzneimittel genutzt worden sind. Während Glykoside bei der chronischen Herzinsuffizienz in den letzten 200 Jahren zur Standardtherapie gehörten, ist der Einsatz heute umstritten. Ohne auf diese Problematik näher einzugehen, ist der Einsatz von Herzglykosiden zur Frequenzkontrolle bei der Therapie von Vorhofflimmern nie angezweifelt worden (Schmidt et al., 2011; Weisse, 2010).

Die Wirkung der verschiedenen Glykoside ist eher einheitlich: positiv inotrop und bathmotrop sowie negativ chronotrop und dromotrop (Fozzard und Sheets, 1985; Hassapoyannes et al., 1998; Schoner und Scheiner-Bobis, 2007). Unterschiede zwischen den einzelnen Vertretern bestehen hauptsächlich in der Pharmakokinetik. Im Folgenden soll besonders der positiv inotrope Effekt beleuchtet werden, welcher aufgrund einer Steigerung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration während der Systole erzielt wird.

Digoxigenin zeigt eine hohe Affinität zur plasmalemalen Na-K-ATPase, wo es durch direkte Anlagerung eine Fixierung dieses Proteins bewirkt; die unmittelbare Folge ist eine reduzierte Pumpleistung des Protonenauschers und somit eine Verschiebung des  $\text{Na}^+$ -Gradienten entlang der Zellmembran. Bereits durch Akera und Brody (1977) konnte gezeigt werden, dass die Beeinflussung dieses Proteins maßgeblich für den positiv inotropen Effekt ist. Bis heute ist es auch der einzig bekannte pharmakologische Rezeptor für Herzglykoside (Akera und Brody, 1977; D'Urso et al., 2008).

Entdeckt wurde die Na-K-ATPase im Jahr 1957 von Jens Christian Skou, der sie als transmembranöses Protein beschrieb, welches unter ATP-Verbrauch ein Konzentrationsgefälle entlang der Zellmembran aufrecht erhält (Skou, 1998). Es besteht aus einer  $\alpha$ - und einer  $\beta$ -Untereinheit. Die  $\alpha$ -Untereinheit stellt die katalytische Komponente des Proteins dar und enthält die Bindungsstellen sowohl für die Kat-Ionen als auch für die Nukleotide. Es konnten bis heute vier Subtypen identifiziert werden ( $\alpha$ -1 bis  $\alpha$ -4). Besonders gut untersucht sind bisher die Isoformen eins bis drei. Sowohl Munzer et al. (1994) als auch James et al. (1999) konnten zeigen, dass sich jede einzelne Unterform an spezifischen Stellen der Zellmembran finden lässt.

Die Na-K-ATPase katalysiert den aktiven Transport von drei  $\text{Na}^+$ -Ionen aus der Zelle heraus und zwei  $\text{K}^+$ -Ionen in die Zelle hinein. Somit stellt sie einen elektrischen und chemischen Gradienten her, der es dem NCX ermöglicht, entlang des so hergestellten Gefälles ein  $\text{Ca}^{2+}$ -Ion aus der Zelle heraus zu transportieren, indem drei  $\text{Na}^+$ -Ionen in

die Zelle hineingelangen (Jordaens et al., 1997). Daher ist sie auch Grundlage für eine Absenkung der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration. Dies ist notwendig, um nach erfolgter Kontraktion eine Relaxation des Muskels zu ermöglichen.

Unmittelbar nach Anlagerung von Digoxigenin an die Na-K-ATPase kommt es zu einer Unterbrechung der Pumptätigkeit. Die Folgen sind ein vermehrter  $\text{Na}^+$ -Einstrom in die Zelle mit einer damit verbundenen Erhöhung der intrazellulären  $\text{Na}^+$ -Konzentration sowie eines erhöhten  $\text{K}^+$ -Ausstroms aus der Zelle. Somit kommt es zu einer Verschiebung des transmembranösen Ionengefälles und als Resultat dessen zu einer Erhöhung der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration. Eine eindeutige Klärung des zugrundeliegenden Mechanismus konnte bisher nicht erbracht werden. Eine Möglichkeit stellt der  $\text{Na}^+$ -Einstrom dar, der entlang seines Gefälles in die Zelle geht. Dadurch können gleichzeitig in einem relativ festen Verhältnis  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen aus der Zelle ausströmen. Da jedoch durch die Blockierung der Na-K-ATPase eine intrazelluläre  $\text{Na}^+$ -Erhöhung bewirkt wurde, besteht ein geringerer Gradient zur extrazytosolischen Seite. Somit können weniger  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen aus der Zelle ausströmen und es stehen mehr bindungsfähige  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen intrazellulär zur Verfügung (James et al., 1999).

Damit der Muskel wieder erschlaffen kann, muss die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration jedoch wieder verringert werden. Dies geschieht hauptsächlich durch Aufnahme von freien  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen in das sarkoplasmatische Retikulum. Hierbei transportiert die Sarkoplasmatische-Retikulum-Kalzium-ATPase aktiv die überschüssigen  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen in den Speicher des sarkoplasmatischen Retikulums; es kommt somit zu keinem  $\text{Ca}^{2+}$ -Verlust in den Extrazellulärraum. Bei der darauffolgenden Kontraktion können somit vermehrt  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen ausgeschüttet werden, was zu einer verbesserten Kontraktionsleistung führt. Zusätzlich wurde beobachtet, dass spezielle Na-Kanäle besser leitend für  $\text{Ca}^{2+}$  werden, wenn eine teilweise Blockierung der Na-K-ATPase vorliegt.

Auch wenn die Na-K-ATPase der einzig bekannte Wirkungsort von Digitalis ist, so beschränkt sich deren Wirkung nicht allein auf eine Veränderung der Ionenkonzentrationen entlang der Zellmembran. Ihnen wird ebenfalls eine entscheidende Rolle bei der Beeinflussung der intrazellulären Signalwege zugeschrieben (Aperia, 2007; D'Urso et al., 2008).

Da im Rahmen der Metabolisierung im menschlichen Körper Digitalispräparate durch eine eher geringe therapeutische Breite gekennzeichnet sind, werden sie im heutigen

Klinikalltag oft durch Medikamente anderer Wirkungsgruppen verdrängt. Mögliche Folgen einer Überdosierung bzw. einer Digitalisintoxikation sind AV-Blöcke, Extrasystolen (Bigemini) und Kammerflimmern.

## **2.6 Ziel der Arbeit**

Nach jeder erfolgreich durchgeführten Behandlung eines Vorhofflimmerns kann eine Beeinträchtigung der mechanischen Pumpfunktion der Vorhöfe beobachtet werden. Dieser Effekt, das atrial stunning, wird sowohl nach elektrischer als auch nach spontaner, chirurgischer oder pharmakologischer Kardioversion beobachtet.

Die Gruppe der Digitalispräparate findet seit vielen Jahren Anwendung in der Therapie der Herzinsuffizienz und des Vorhofflimmerns. Bisher wurde die Na-K-ATPase als einzig anerkannter Wirkungsort identifiziert. Nach aktueller Studienlage kann festgestellt werden, dass durch die Blockade der Na-K-ATPase eine Veränderung im  $Ca^{2+}$ -Haushalt der Zelle erreicht wird (James et al., 1999). Es erscheint daher plausibel, dass durch eine kurzfristige Erhöhung der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration, wie sie durch Digitalis hervorgerufen werden kann, auch eine positive Beeinflussung des AS möglich wäre. Schließlich wurde als eine mögliche Ursache des AS eine plötzlich auftretende relative Knappheit von  $Ca^{2+}$  identifiziert (Schotten et al., 2002).

Sowohl die pathophysiologischen Mechanismen, die zu einer atrialen mechanischen Dysfunktion nach Kardioversion führen, als auch die pharmakologischen Eigenschaften von Digitalis erhärteten daher den Verdacht, dass durch Digoxigenin ein positiver Effekt auf die kontraktile Funktion der Vorhofmuskulatur ausgeübt werden kann. Es ist daher ein mildernder Effekt auf das atrial stunning denkbar.

In der Vergangenheit wurden viele in-vivo Versuche mit induziertem paroxysmalem Vorhofflimmern und dem nach erfolgter Kardioversion aufgetretenem atrial stunning durchgeführt. Sowohl in den Studien von You et al. (1998) als auch von Daoud et al. (1999) und Leistad et al. (1996) wurde eine abschwächende Wirkung von Verapamil auf das atrial stunning nachgewiesen.

Bereits Mokraoui et al. (1988) konnten im Tiermodell nachweisen, dass die Gabe von Acetyl-strophanthidin die Dauer des durch atrial pacing ausgelösten Vorhofflimmerns verkürzen konnte und eine Verbesserung der gemessenen Kraftentwicklung erreichen konnte. Friedemann et al. (2000) konnten in einer Versuchsreihe im Kaninchenmodell

zeigen, dass nach atrial pacing die Gabe von Acetyl-strophanthidin eine Verbesserung der Druckentwicklung im rechten Vorhof, bei sonst eingeschränkter mechanischer Kontraktilität im gestunnten Atrium, bewirkte. Im selben Jahr zeigten DeCara et al. (2000) im Rahmen einer klinischen Studie, dass das positiv inotrope Medikament Dofetilide, ein Antiarrhythmikum der Klasse III, einen nachweisbar abschwächenden Effekt auf das atrial stunning hat.

Sowohl Goette et al. (1996) als auch Schotten et al. (2003) konnte zeigen, dass bei länger anhaltendem Vorhofflimmern die vermehrte intrazelluläre Ansammlung von  $Ca^{2+}$  und das daraus resultierende elektrische remodelling als eine der Hauptursachen des atrial stunnings anzusehen sind. Aufgrund dieser Ergebnisse sollte versucht werden zu zeigen, ob das positiv inotrope Medikament Digoxigenin einen abschwächenden Effekt auf das atrial stunning ausüben könnte. Die Wahl fiel auf eine in-vitro Versuchsreihe, da hierbei Probleme der Pharmakokinetik und Interaktionen (z. B. mit dem ZNS) weitgehend eliminiert sind.

Da es innerhalb der Gruppe der Digitalispräparate keine grundsätzlichen Unterschiede im Wirkungsmechanismus in der Zelle gibt, wurde von unserer Arbeitsgruppe der Vertreter Digoxigenin ausgewählt.

Im Rahmen vieler Studien konnte bereits gezeigt werden, dass die Einwirkung eines Gleichstromschocks auf die Herzmuskulatur zu einer nennenswerten Schädigung der kontraktilen Strukturen führen kann. Dies betrifft sowohl die biochemischen Abläufe als auch die histologischen Strukturen der Zellen (Fatkin et al., 1994; Grimm et al., 1993). In einer Studie von Manning et al. aus dem Jahr 1994 konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit elektrischer Kardioversion im Vergleich zur pharmakologischen Kardioversion eine verlängerte mechanische Dysfunktion des linken Vorhofes beobachtet werden konnte. Ob die elektrische Schädigung jedoch ursächlich für das atrial stunning ist, wurde bisher noch nicht genauer untersucht.

Ziel dieser Arbeit ist es, an Vorhofstreifen von Patienten mit nachgewiesenem Vorhofflimmern und von solchen mit bestätigtem Sinusrhythmus diese anhaltende Funktionseinschränkung zu beeinflussen. Deshalb soll hier unter in-vitro Bedingungen die Kraft-Frequenz-Beziehung (FFR), die adrenerge Ansprechbarkeit (Isoprenalineffekt) und die Erholungszeit nach einem elektrischen Schock mit und ohne den Einfluss von Digoxigenin untersucht werden. Um möglichst genaue Daten über die Veränderungen der kontraktilen Eigenschaften der Vorhofmuskelstreifen erhalten zu können, wurden

mehrere physiologische Parameter bestimmt. Hierzu zählen die maximal entwickelte Kraft pro Fläche (FOC/A), die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit ( $dF/dt_{\max}$ ) sowie die maximale Relaxationsgeschwindigkeit ( $dF/dt_{\min}$ ). Anhand der gewonnenen Daten über die jeweilige Entwicklung der eben genannten Parameter im Verlauf der Experimente besteht die Möglichkeit, eine Aussage zu treffen, ob Digoxigenin einen positiven Effekt auf die mechanische Dysfunktion haben kann.

## 2.7 Aufgabenstellung

1. Kann Digoxigenin einen positiven Effekt auf die Erholung und somit eine schnellere Wiedererlangung der mechanischen Funktion der Vorhofmuskelseifen nach Gleichstromschock erreichen?
2. Kann aus den erhaltenen Messergebnissen ein kardioprotektiver Effekt von Digoxigenin abgeleitet werden?
3. Gibt es Unterschiede hinsichtlich der Wirkung von Digoxigenin auf Streifen von Patienten mit Vorhofflimmern und mit Sinusrhythmus?

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Untersuchtes Gewebe

Für die Untersuchungen wurden isolierte humane Myokardstreifen aus dem rechten Herzohr verwendet. Das gesamte Material wurde in der Klinik für Kardiovaskuläre Chirurgie der Charité Campus Mitte gewonnen. Die Entnahme erfolgte im Rahmen von Koronararterien-Bypassoperationen (CABG), Mitralklappenersatz- (MKE) und Mitralklappenrekonstruktionsoperationen oder Aortenklappenersatzoperationen (AKE). Es handelt sich hierbei um die Teile des rechten Vorhofs, die zum Anschluss des extrakorporalen Kreislaufs während der Operation entfernt wurden. Präoperativ erfolgte eine detaillierte Aufklärung der Patienten über die Möglichkeit der wissenschaftlichen Verwendung des gewonnenen Materials. Eine Untersuchung wurde nur dann durchgeführt, wenn eine schriftliche Einverständniserklärung vorlag. Insgesamt wurden 39 isolierte Vorhofstreifen untersucht. Davon waren 22 Streifen von Patienten mit gesichertem Vorhofflimmern. Als Kontrollgruppe wurden 17 Vorhofmuskelstreifen aus den Herzohren von Patienten mit Sinusrhythmus gewonnen.

Das Alter der Patienten variierte zwischen 45 und 85 Jahren. Alle Patienten hatten eine NYHA-Klassifikation zwischen II und IV.

	<b>VHF Gruppe</b>	<b>SR Gruppe</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Anzahl der Streifen</b>	22	17	
<b>Männlich</b>	14	11	ns
<b>Weiblich</b>	8	6	ns
<b>Alter in Jahren</b>	69,6 ± 1,3	67,8 ± 2,4	ns
<b>Prämedikation mit Digitalis</b>	8	0	p < 0,05

Tab. 3.1 Verwendetes Material und Patientenangaben (Mittelwert ± SEM)

### 3.2 Verwendete Lösungen und Substanzen

Während des gesamten Versuchsablaufes wurden zwei verschiedene Lösungen benötigt. Die Perfusionslösung wurde während der Messungen verwendet, wohingegen während des Transports und der Präparation des Muskelstreifens eine andere Lösung benötigt wurde, die Transport- und Präparationslösung.

#### 3.2.1 Perfusionslösung

Zur Durchführung der Versuche wurde eine Krebs-Ringer-Lösung (Tyrode-Lösung) mit Aqua-bidest hergestellt. Die Lösung wurde vor und während der Versuche mit Carbogen (95 % O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) gesättigt.

Die Lösung enthielt die folgenden Inhaltsstoffe in den angegebenen Konzentrationen:

Substanz	Konzentration	Hersteller
NaCl	128 mmol/l	Merck, Darmstadt
KCl	2,3 mmol/l	Merck, Darmstadt
NaHCO <sub>3</sub>	25 mmol/l	Merck, Darmstadt
MgSO <sub>4</sub>	0,6 mmol/l	Merck, Darmstadt
CaCl <sub>2</sub>	2,5 mmol/l	Merck, Darmstadt
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,3 mmol/l	Merck, Darmstadt
Insulin	10 I.E.	Berlinchemie, Berlin
Glukose	11,2 mmol/l	Merck, Darmstadt

Tab. 3.2 Bestandteile der Perfusionslösung.

#### 3.2.2 Transport- und Präparationslösung (kardioplege BDM-Lösung)

Die Transport- und Präparationslösung wurde ebenfalls anhand der Vorgaben der Krebs-Ringer-Lösung hergestellt, jedoch wurden einige Änderungen vorgenommen. Die Konzentration an CaCl<sub>2</sub> wurde auf 1,25 mmol/L herabgesetzt. Dies diente zur Herabsetzung der Kontraktilität der Herzmuskelzellen, um Hypoxieschäden während der Lagerung zu minimieren.

Zusätzlich erfolgte die Gabe von 30 mmol/l 2,3-Butane-dione-monoxime (BDM,  $C_4H_7NO_2$ , Hersteller: Sigma). Das Molekulargewicht beträgt 101.11 g/mol. Dieser Zusatz ist nachweislich dafür geeignet, zelluläre Schäden während der Lagerung und des Transportes zu vermindern (Schwinger et al., 1993). Die Wirkung beruht auf der reversiblen Inhibition der kardialen Kontraktilität durch elektromechanische Entkopplung. Des Weiteren bewirkt BDM eine verminderte  $Ca^{2+}$ -Sensitivität und einen abgeschwächten intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Strom. Zusätzlich wird so auch eine Schonung des Muskels erzielt, da der Energieverbrauch durch den Stoffwechsel reduziert wird (McKillop et al., 1994). Nach einer kurzen Auswaschphase mit der erstgenannten Lösung wird die volle Funktionsfähigkeit des Herzmuskels wiederhergestellt.

### **3.2.3 Isoproterenol (Isoprenalin)**

Für die adrenerge Stimulation wurde eine Konzentrationsreihe aus Isoprenalin hergestellt. Dazu wurden 25mg Isoprenalin (Molekulargewicht: 247,7 g/mol,  $C_{11}H_{17}NO_3HCl$ , Hersteller: Sigma) in 50ml Perfusionslösung aufgelöst. So erhielt man eine Ausgangskonzentration von  $10^{-4}$  mol/L als Stammlösung, welcher 0,02 mg Ascorbinsäure als Antioxidans hinzugefügt wurden. Mittels weiterer Verdünnung mit Perfusionslösung konnten die benötigten Mengen an Isoprenalinlösung von  $10^{-6}$  bis  $10^{-9}$  mol/L gewonnen werden.

### **3.2.4 Digoxigenin**

Um die Wirkung von Digitalis auf den Muskel in-vitro gut darstellen zu können, wurde Digoxigenin ( $C_{23}H_{34}O_5$ , Molekulargewicht: 390,52g/mol, Hersteller: Sigma) als Vertreter dieser Medikamentengruppe verwendet. Der Hauptvorteil liegt in der einfachen Standardisierung und der guten Zugänglichkeit dieses Wirkstoffes zum Herzmuskel. Digitalis bewirkt im menschlichen Organismus eine Senkung der Herzfrequenz; dieser Effekt kommt im Rahmen dieser Versuchsreihe jedoch nicht zum Tragen, da durch den Computer die jeweilige Stimulationsfrequenz selbst festgelegt werden konnte. Zunächst wurde eine  $10^{-6}$  mol/L Digoxigenin - Stammlösung hergestellt. Davon ausgehend erfolgte eine weitere Verdünnung mit Perfusionslösung zu einer Konzentration von  $2 \cdot 10^{-9}$  mol/L. Die Herstellung der Perfusionslösung mit dieser Konzentration erfolgte

aufgrund positiver Vorversuche mit verschiedenen Digoxigeninkonzentrationen und den Angaben des Herstellers.

### **3.3 Versuchsaufbau**

#### **3.3.1 Verwendete Geräte**

- Steuert Organperfuisionsbad mit Heizlampe der Firma HSE Freiburg/Br.
- Zu- und Absaugrollenpumpe
- PC mit AD - Messumwandlerkarte
- Oszilloskop HMEG HM205, Deutschland
- Muscle-research-System der Firma „Scientific Instrument GmbH Heidelberg“ mit Stimulator
- Gleichspannungsgenerator (15Volt)
- Zwei-Kanal-Brückenverstärker

#### **3.3.2 Technische Hilfsmittel**

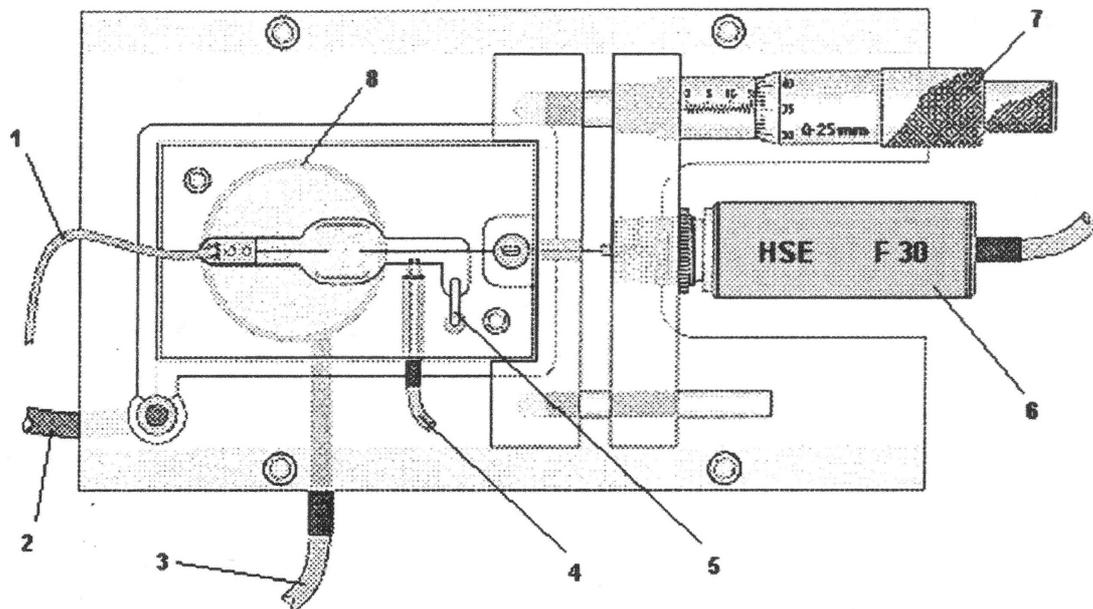
Während des gesamten Versuches wurde Carbogen (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) zur stabilen Sauerstoffsättigung in die verwendete Lösung feinblasig hinzugegeben.

Während des Präparierens, unter zu Hilfenahme von chirurgischen Instrumenten, diente das über der Präparierschale arretierte Präparationsmikroskop der Firma Meopta zur besseren Orientierung.

Zur Messung der Muskellänge stand ein Stereomikroskop ED 30 der Firma Olympus (Japan) zur Verfügung. Eine Präzisionswaage des Typ Balance BA 100 (0,00001g – 0,0001g) der Firma Sartorius Berlin diente zum Ermitteln des Gewichtes der Muskelfasern nach dem jeweiligen Versuch und zum Abwiegen der benötigten Substanzen.

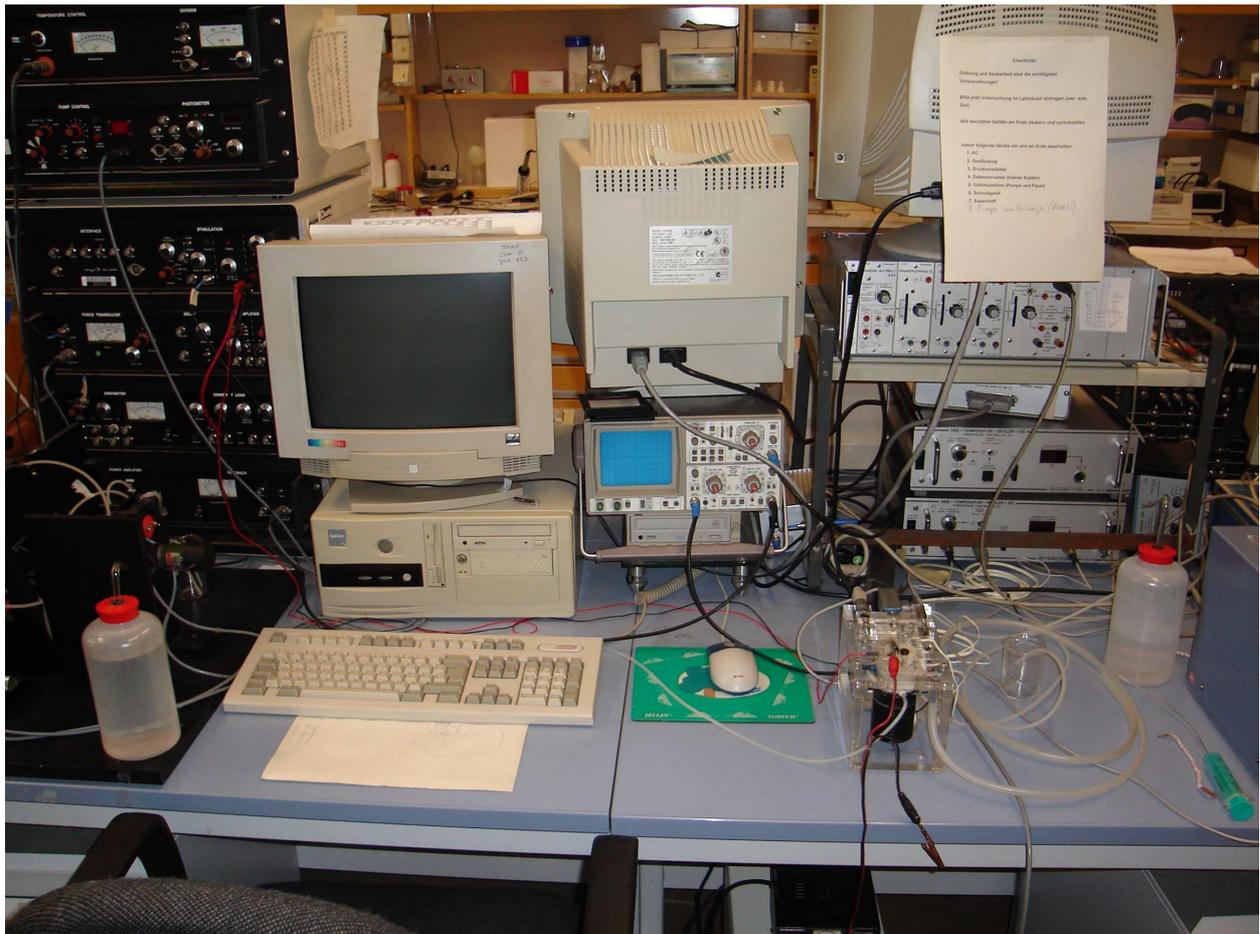
Die Auswertung und Speicherung der Daten erfolgte mit Hilfe eines PCs und der Software Labview 5.1 von The New Data Line Company, Berlin.

### 3.3.3 Einrichtung des Arbeitsplatzes



- |                            |                            |
|----------------------------|----------------------------|
| 1) Platinelektrodenkabel   | 5) Perfusionslösungsablauf |
| 2) Überlaufabfluss         | 6) Kraftaufnehmer          |
| 3) Perfusionslösungszulauf | 7) Mikrometerschraube      |
| 4) Temperatursensor        | 8) Heizeinheit             |

Abb. 3.1 Steiert Organbad von oben



von links nach rechts: Stimulator und Rollenpumpe, PC, Oszilloskop, Absaugpumpe, Zwei-Kanal-Brückenverstärker; vorn rechts: Steiert Organbad

Abb. 3.2 Aufbau des Messplatzes

### 3.4 Versuchsdurchführung

Die Durchführung aller Experimente erfolgte im Labor experimentelle Herzchirurgie auf dem Campus Mitte der Charité – Universitätsmedizin Berlin.

#### 3.4.1 Materialgewinnung und Transport

Für den Transport des entnommen Herzmuskelgewebes wurden Gefäße mit Transportflüssigkeit gefüllt und in den OP-Bereich gebracht. Dort wurden sie in einem Kühlschrank bei etwa  $+4^{\circ}\text{C}$  bis zur Verwendung gelagert. Bei der Probenentnahme durch den Operateur wurde darauf geachtet, dass die mechanische Schädigung des Materials so gering wie möglich gehalten wurde. Sobald das Material im Labor angekommen war, wurde es nach Möglichkeit sofort untersucht. War dies nicht möglich,

war eine Aufbewahrung der Vorhofmuskelzellen bis sechs Stunden nach Entnahme möglich.

### **3.4.2 Präparation**

Eine Präparierschale wurde mit Transportlösung gefüllt. Diese wurde konstant mit Carbogen begast. Unter Zuhilfenahme des Präparationsmikroskops wurden geeignete Muskelfasern herausgesucht. Mit Hilfe einer feinen Pinzette und einer kleinen Präparierschere wurden die verwendbaren Anteile aus dem Resektat parallel zur Muskelfaserrichtung reseziert. Diese hatten eine Länge von 10 mm ( $\pm 2,4$  mm) und einen Querschnitt von 0,5 mm ( $\pm 0,12$  mm). Dabei wurde darauf geachtet, den Muskel so wenig wie möglich zu berühren. Durch vorsichtiges Anfassen an den Rändern konnte der ausgeübte Druck auf das Gewebe so gering wie möglich gehalten werden. Fibrosierte Anteile des Muskels wurden nicht verwendet. Um den Muskelstreifen in die Messmaschine einspannen zu können wurden mittels Vicrylfäden (4-0) Schlaufen an beide Enden des Muskelstreifens geknotet.

### **3.4.3 Versuchsablauf**

Zunächst wurde die Perfusionslösung mit Carbogen begast, bis eine möglichst stabile Sättigung erreicht wurde. Nachdem das gesamte System mit Perfusionslösung durchgespült wurde und eine Temperatur von 37° C erreicht war, konnte der Muskelstreifen mit Hilfe einer Pinzette vorsichtig in die Haken des Kraftaufnehmers bzw. der Halterung der Perfusionskammer (Fassungsvermögen: 5 ml) eingehängt werden. Während des gesamten Versuches wurde eine konstante Durchflussgeschwindigkeit von 5 ml/min aufrecht erhalten. In Ruhestellung (Ruhespannung: 1,0 mN) wurde zunächst beobachtet, ob der Muskel bei einer Rechteckimpuls-Stimulation (Impulsdauer: 5 ms) mit einer Frequenz von 1 Hz ein kontraktiles Verhalten zeigte. Die Spannung betrug ca. 4 mV und wurde über 2 Platinelektroden abgegeben. Die aktuellen Messergebnisse für effektive Kraftentwicklung (FOC),  $dF/dt_{max}$ ,  $dF/dt_{min}$  sowie die isometrische Kontraktionskurve wurden auf dem Computer durch die Software „Labview“ angezeigt und gespeichert. War eine Kontraktion erkennbar, wurde mit der Mikrometerschraube vorsichtig die Vorlast solange stufenweise um 0,1 mN erhöht, bis

eine optimale Vordehnung des Muskels gegeben war. Die submaximale Vordehnung des Muskels war dann erreicht, wenn bei regelmäßigen Kurvenverläufen keine weitere positive Kraftentwicklung mehr zu erkennen war. Der nun erreichte Wert wurde als Ausgangswert (baseline) angesehen und dokumentiert.

Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, wurde anschließend eine Kontraktilitätsmessung bei unterschiedlichen Frequenzen durchgeführt (FFR). Dies erfolgte bei jedem Versuch nach folgendem Muster: Zunächst wurden die Stimulationsfrequenzen stufenweise verringert von 1 Hz auf 0,75 Hz, 0,5 Hz, 0,33 Hz und 0,25 Hz. Die Kraftentwicklung des Muskels wurde für jeweils 60-120 Sekunden beobachtet und bei Einstellung eines stabilen Wertes wurde dieser dokumentiert. Danach wurde wieder die Grundfrequenz von 1 Hz eingestellt. Anschließend erfolgte eine Erhöhung auf 1,5 Hz und 2,0 Hz. Abschließend wurde wieder die Grundfrequenz von 1 Hz eingestellt.

Um die adrenerge Ansprechbarkeit des Muskels zu überprüfen, wurde das vollständig gelöste Isoprenalin bei einer konstanten Frequenz von 1 Hz, in ansteigender Konzentration von  $10^{-9}$  Mol,  $10^{-8}$  Mol und  $10^{-7}$  Mol dem Muskel zugeführt. Nach einer Wirkungszeit von jeweils 180 Sekunden wurde die Kraftentwicklung des Muskels dokumentiert. Danach wurde der Muskel mit Perfusionslösung umspült, um Isoprenalinrückstände vollständig zu entfernen.

Nach einer Erholungszeit von etwa 10 Minuten wurde nun der erste elektrische Schock auf den Muskel appliziert. Der Strom von 15 Volt wurde für 60 Sekunden auf den Muskel angewendet, wodurch eine Reduzierung der Kontraktionskraft um mindestens 50 % erreicht wurde. Darauf folgte die erste Erholungsphase. Es wurde nach jeweils 2 Minuten, 5 Minuten, 10 Minuten, 20 Minuten und 30 Minuten die jeweilige Kontraktionskraft des Muskels dokumentiert. Die Dauer und Stärke der Stromschädigung des Muskels wurden aufgrund positiver Ergebnisse bei Vorversuchen wie oben genannt gewählt.

Anschließend wurde das Medikament Digoxigenin, nach entsprechenden Vorversuchen, in einer Konzentration von  $2 \cdot 10^{-9}$  Mol in das System eingespült. Nach einer Wirkungszeit von 10 Minuten wurde die aktuelle Kraftentwicklung des Muskels dokumentiert und anschließend der zweite Schock für 60 Sekunden appliziert. Es musste wieder darauf geachtet werden, dass nach der Schockeinwirkung die Kraftentwicklung kleiner als 50 % des vorherigen Wertes war. Nun begann die zweite

Erholungsphase des Muskels. Die Kraftentwicklungen des Muskels wurden wiederum nach 2 Minuten, 5 Minuten, 10 Minuten, 20 Minuten und 30 Minuten gemessen und dokumentiert.

Nach Beendigung eines jeweiligen Experiments wurde der Muskelstreifen vorsichtig abgetrocknet und die Muskelfaseranteile, die aktiv an der Kontraktion während des Versuchs beteiligt waren, abgeschnitten. Das Gewicht der aktiven Anteile wurde mit Hilfe der Präzisionswaage bestimmt. Die Länge des Muskelstreifens wurde unter einem Stereomikroskop mit Längenskala ermittelt.

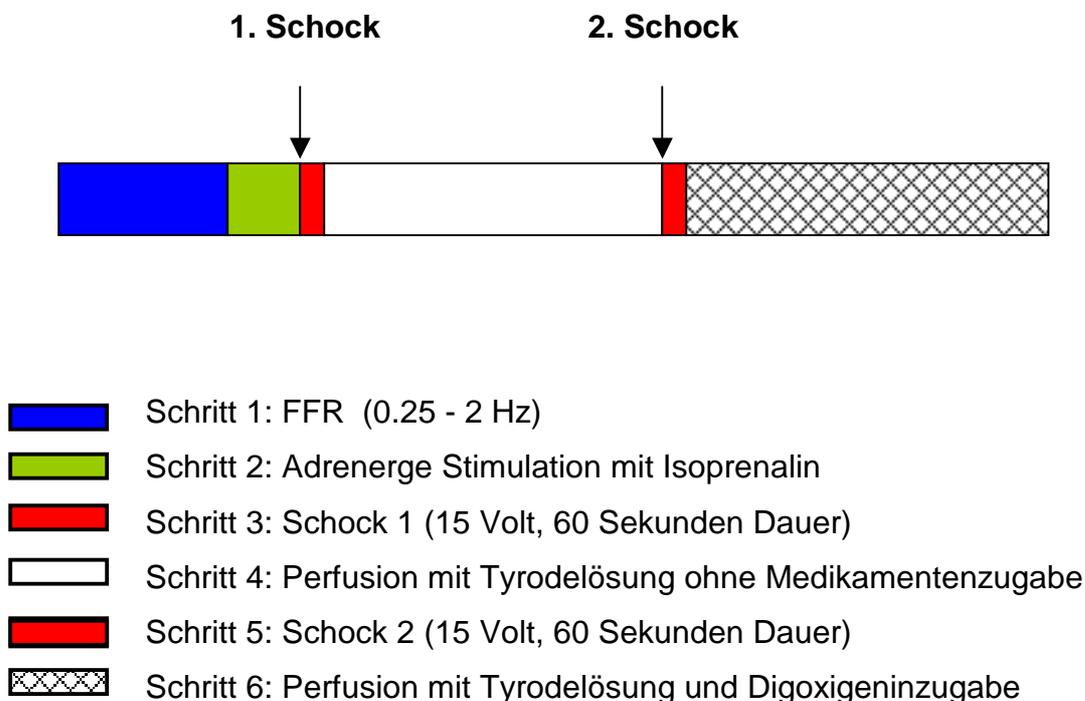


Abb. 3.3 Abfolge der einzelnen Untersuchungsschritte

### 3.5 Messmethoden

Bei allen 39 untersuchten Proben wurden Messungen hinsichtlich der erreichten Kontraktilität bei einer bestimmten vorgegebenen (stimulierten) Frequenz aufgezeichnet. Von den verschiedenen möglichen Parametern wurden hier die FOC,  $dF/dt_{\max}$  und die  $dF/dt_{\min}$  ausgewählt, da sie als am aussagekräftigsten im Hinblick auf

das atriale stunning und die sich anschließende Erholungsphase erschienen. Für eine bessere Vergleichbarkeit der gemessenen und aufgezeichneten Werte wurde die entwickelte Kraft (FOC) eines jeden einzelnen Muskels anschließend in die entwickelte Kraft pro Fläche (FOC/A) umgerechnet. Dies war notwendig, um die gemessenen Werte von verschiedenen langen und dicken Muskelstreifen vergleichbar zu machen.

Um aus der gemessenen FOC die gewünschte FOC/A ermitteln zu können, wurden die Querschnitte der untersuchten Muskelfasern berechnet. Diese ergaben sich aus der Länge der Faser und einer angenommenen Dichte  $\rho = 1,0 \text{ mg/mm}^3$  mit Hilfe der folgenden Gleichung:

$$\text{Fläche [mm}^2\text{]} = \text{Gewicht [mg]} / \text{Länge [mm]} * \rho \text{ [mg/mm}^3\text{]}$$

Auf diese Weise konnte die erreichte Kraft pro Fläche (FOC/A) berechnet werden. Die Notwendigkeit dieses Schrittes ergab sich aus der Tatsache, dass sich die untersuchten Muskelstreifen in Länge und Dicke zum Teil signifikant unterschieden. Dies führte zu einer Abweichung der gemessenen absoluten Kraftentwicklung.

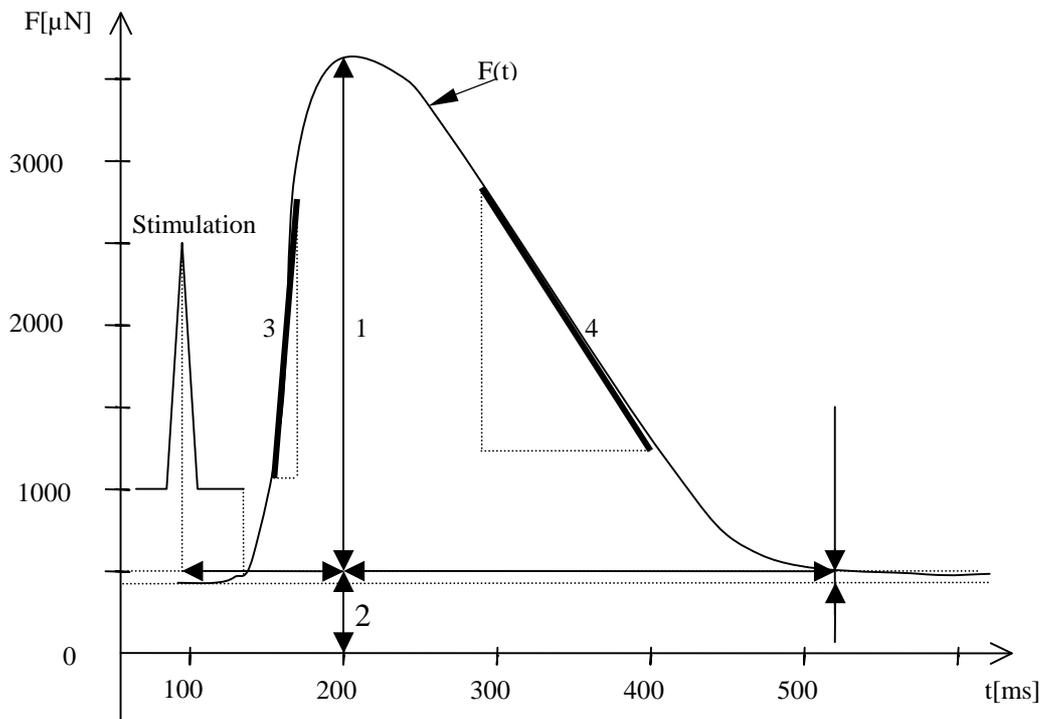
Im weiteren Verlauf wurde die FOC/A bei den unterschiedlich gemessenen Frequenzen bzw. Abschnitten des Versuchs mit der jeweiligen „baseline“ verglichen. Als baseline ist die FOC/A bei 37°C, 1 Hz und in normaler Perfusionslösung definiert. So erhielt man die jeweilige FOC/A in Prozent von der Ausgangslage.

### **3.6 Kontraktions- und Relaxationsverhalten**

Die am isolierten Myokard gemessene Kontraktionsform soll im folgenden Zweikomponenten-Modell vereinfacht dargestellt werden. Die in Abb. 3.4 aufgeführte Kurve stellt eine isometrische Kontraktionskurve dar.

Da die isometrische Kontraktion als Spannungszunahme bei konstant gehaltener Länge charakterisiert ist, können mehrere Kontraktilitätsparameter zur Beurteilung herangezogen werden. Die in der Abbildung eingezeichneten Parameter wurden vom Computer gemessen und aufgezeichnet. Es konnten zwar noch weitere Parameter aufgezeichnet werden, jedoch entschieden wir uns nur für die unten aufgeführten, da wir diese für am aussagefähigsten halten. In erster Linie diente die maximal entwickelte Kraft (FOC) zur Beschreibung des Kontraktionsverhaltens. Des Weiteren wurden die

maximale Kontraktionsgeschwindigkeit  $dF/dt_{\max}$  sowie die maximale Relaxationsgeschwindigkeit  $dF/dt_{\min}$  herangezogen.



Parameter:

- 1) FOC ( $\mu\text{N}$ ): Effektive Kontraktionskraft ( $F_{\max} - F_{\min}$ )
- 2)  $F_{\min}$  ( $\mu\text{N}$ ): diastolische Kraft
- 3)  $dF/dt_{\max}$  (mN/s): maximale Kontraktionsgeschwindigkeit
- 4)  $dF/dt_{\min}$  (mN/s): maximale Relaxationsgeschwindigkeit

Abb. 3.4 Schematische Darstellung der isometrischen Kontraktionskurve

### 3.7 Statistische Auswertung

Die aufgeführten Ergebnisse stellen sich als Mittelwert  $\pm$  des Standardfehlers (SEM) der jeweils gemessenen Werte dar. Bei den prozentualen Darstellungen handelt es sich jeweils um die prozentuale Abweichung der Mittelwerte in Bezug auf den Ausgangswert mit der Frequenz 1 Hz. Die Signifikanztests wurden jeweils zweiseitig ausgeführt. Zum Nachweis statistischer Veränderungen wurde der parameterfreie Wilcoxon-Test für die

Veränderungen innerhalb einer Versuchsgruppe verwendet und für den Vergleich zwischen zwei Gruppen der Mann-Whitney-Test bei einem Signifikanzwert von  $p < 0,05$  gewertet. Die Ergebnisse stellen sich jeweils als der Mittelwert  $\pm$  des Standardfehlers dar. Zur Umsetzung stand das Software-Paket Sigmastat 4.1 zur Verfügung.

### **3.8 Kritik der Methodik**

Bei der Durchführung der Versuche an den humanen Vorhofmyokardstreifen wurden stets konstante Bedingungen sowohl im Versuchsaufbau als auch im Versuchsablauf eingehalten. Somit konnte eine Beeinträchtigung der Messwerte durch äußere Faktoren wie Temperatur und Sauerstoffkonzentration der Perfusionslösungen auf ein Minimum reduziert werden. Trotz schonender Vorgehensweise während sämtlicher Arbeitsschritte und des Transports in das Labor ist eine mechanische Vorschädigung der Herzmuskelzellen nicht vollständig zu vermeiden gewesen. Die Lagerung und Präparation der Vorhofmuskelzellen erfolgte in einer speziellen Transportlösung, die eine verringerte  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration und einen Zusatz von BDM enthielt. Die Zellen wurden so in einen Ruhezustand mit herabgesetzter Kontraktilität, bedingt durch elektromechanische Entkopplung, versetzt (De Tombe et al., 1992; Mulieri et al., 1992). Sowohl bei der SR-Gruppe als auch bei der VHF-Gruppe handelt es sich um inhomogene Patientengruppen. Es liegen jeweils unterschiedliche kardiale Erkrankungen mit unterschiedlicher Dauer vor. Auch die Dauer und die Form des Vorhofflimmerns in der VHF-Gruppe variierte.

Die hier gewählte in-vitro Methode lieferte einfach zugängliche und genau messbare Werte. Ein Versuch mit isolierten Zellen würde im Gegensatz zu den Vorhofmuskelstreifen nur schwer eine Messung der genauen Kontraktilen Eigenschaften zulassen, da die Größe des Messabnehmers sehr klein sein müsste (Li G et al., 2009).

Jedoch konnten einige Aspekte durch den in-vitro Versuch nicht berücksichtigt werden. Im menschlichen Organismus stellt die mechanische Herztätigkeit einen komplexen Zusammenhang aus myokardialer Kontraktilität und anderen hämodynamischen sowie neurohumoralen Einflüssen dar. Die Kontraktilität der Vorhofmuskulatur ließe sich in einem in-vivo Versuch nicht direkt ermitteln, was eine Beurteilung der Werte deutlich schwieriger gestalten würde. Es müsste die Kontraktilität indirekt über Werte wie

Herzzeitvolumen, Schlagvolumen und Ejektionsfraktion ermittelt werden (Feldmann et al., 1988; Hasenfuss et al., 1994; Schwinger et al., 1993). Des Weiteren sind für in-vivo Studien teilweise invasive Untersuchungsmethoden mit den entsprechenden Risiken notwendig (Dogan et al., 2009). Diese entfallen bei der hier gewählten Methode.

In-vivo wird eine Unterstützungskontraktion ausgeführt, die sich aus einer isometrischen Spannungsentwicklung und einer auxotonen Kontraktion zusammensetzt. Die in unserem Modell durchgeführten Messungen beruhen hingegen auf einer isometrischen Verkürzungsreaktion. Eine direkte Übertragung vom Modell auf den Organismus ist somit nur bedingt möglich. Ein weiteres Problem stellt die Pharmakokinetik des Menschen dar. Die in den Versuchen verwendete Konzentration von Digoxigenin wurde mittels Vorversuchen in Form von Verdünnungsreihen als die günstigste erachtet; jedoch lässt sich keine Aussage darüber treffen, inwiefern sie auch in-vivo anwendbar ist. Faktoren wie die Resorption, Interaktion mit anderen Medikamenten sowie die Ausscheidung konnten hier nicht berücksichtigt werden. Es bleibt auch noch zu klären, ob eine Prämedikation der Patienten vor dem Eingriff die Wirksamkeit des hier verwendeten Medikaments beeinflussen könnte. Der unbestrittene Vorteil dieser Methodik liegt jedoch in der Beurteilungsmöglichkeit der direkten Wirkung des Medikaments am menschlichen Myokard.

## 4. Ergebnisse

Im Rahmen dieser Versuche wurden insgesamt 39 Vorhofmyokardstreifen untersucht. Diese wurden in zwei Gruppen unterteilt, wobei 22 Streifen von Patienten mit klinisch gesichertem Vorhofflimmern (VHF) und 17 Vorhofstreifen von Patienten mit Sinusrhythmus (SR) stammen. Bei beiden Gruppen wurde der gleiche Versuchsablauf durchgeführt.

Anhand der ausgewählten Kontraktilitätsparameter  $FOC/A$ ,  $dF/dt_{max}$  und  $dF/dt_{min}$  werden Vergleiche sowohl innerhalb der jeweiligen Gruppe dargestellt als auch beider Gruppen miteinander. Die Ergebnisse der Messungen sind in den Tabellen 4.1 bis 4.9 dargestellt.

### 4.1 Kraft-Frequenz-Beziehung und adrenerge Ansprechbarkeit

#### 4.1.1 Kraft-Frequenz-Modulation bei Patienten mit Sinusrhythmus (SR) und Vorhofflimmern (VHF)

In allen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Vorhofstreifen eine optimale Kraftentwicklung bei einer Stimulationsfrequenz von weniger als 1 Hz aufwiesen. Wie in Abb. 4.1 zu sehen ist, sind die Werte der  $FOC/A$  in  $mN/mm^2$  für die SR- und die VHF-Gruppe in Abhängigkeit der verschiedenen stimulierten Frequenzen dargestellt. Des Weiteren ist zu erkennen, dass in beiden Gruppen mit sinkender Frequenz eine Erhöhung der entwickelten  $FOC/A$  einhergeht. In der SR-Gruppe steigerte sich die Kraft von  $1,72 \pm 0,17 mN/mm^2$  bei 2 Hz auf  $3,50 \pm 0,31 mN/mm^2$  bei 0,25 Hz, wohingegen in der VHF-Gruppe die durchschnittliche Kraft pro Fläche von  $1,44 \pm 0,16 mN/mm^2$  bei 2 Hz auf  $3,33 \pm 0,29 mN/mm^2$  bei 0,25 Hz anstieg. Bei allen Frequenzen entwickelten die Streifen der SR-Gruppe mehr Kraft pro Fläche als die Streifen der VHF-Gruppe; das Signifikanzniveau wurde nicht erreicht.

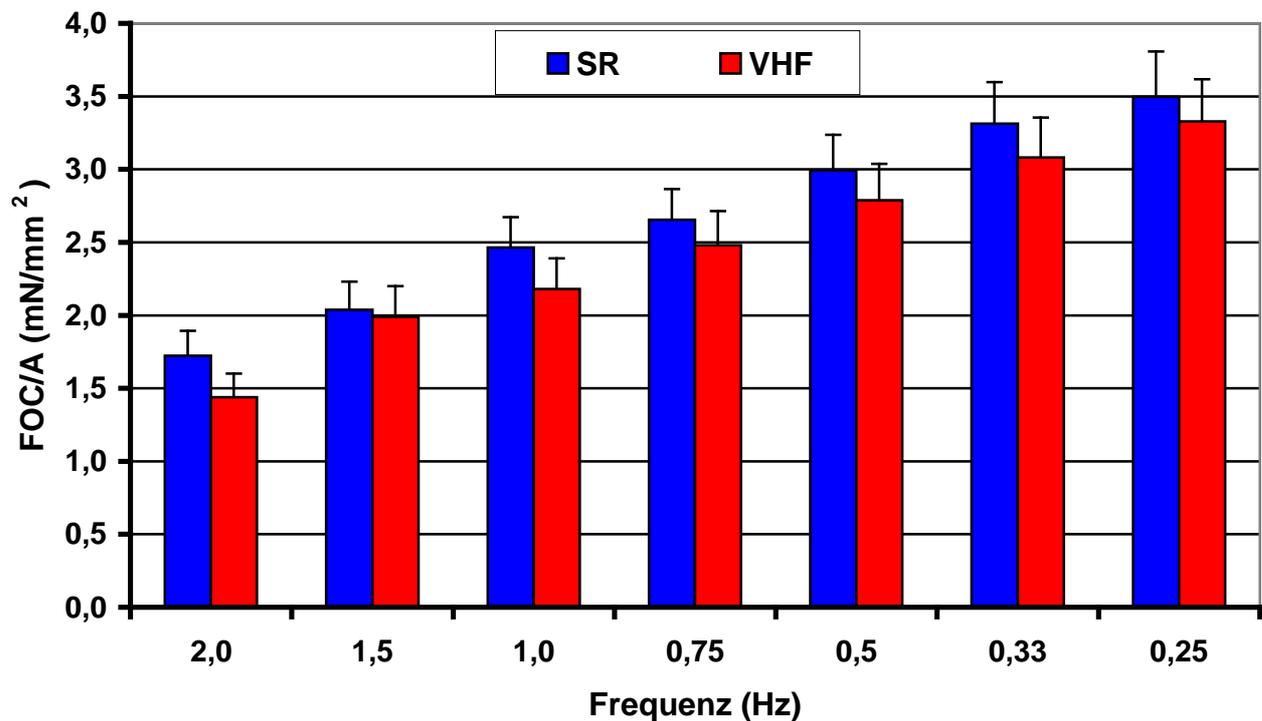


Abb. 4.1: Vergleich der FOC/A in  $\text{mN/mm}^2$  zwischen SR- und VHF-Gruppe bei ausgewählten Frequenzen (2 Hz – 0,25 Hz).

In Abb. 4.2 sind die prozentualen Veränderungen der FOC/A bei den jeweils stimulierten Frequenzen dargestellt. Hierbei beziehen sich Unterschiede auf die Basisfrequenz (baseline) von 1 Hz. Auch hier wird ersichtlich, dass mit steigender Frequenz (2 Hz und 1,5 Hz) eine Abnahme der entwickelten Kraft je Fläche verbunden ist. Bei Frequenzen unterhalb von 1 Hz kommt es hingegen zu einem Kraftanstieg. In beiden Gruppen kam es jeweils bei 0,25 Hz zur maximalen Kraftentfaltung im Vergleich zur baseline. In der SR-Gruppe kam es zu einer Steigerung der Kraft auf  $146,30 \pm 6,81$  %; in der VHF-Gruppe kam es zu einer Steigerung auf  $156,56 \pm 4,85$  %. Ein Signifikanzniveau wurde nicht erreicht.

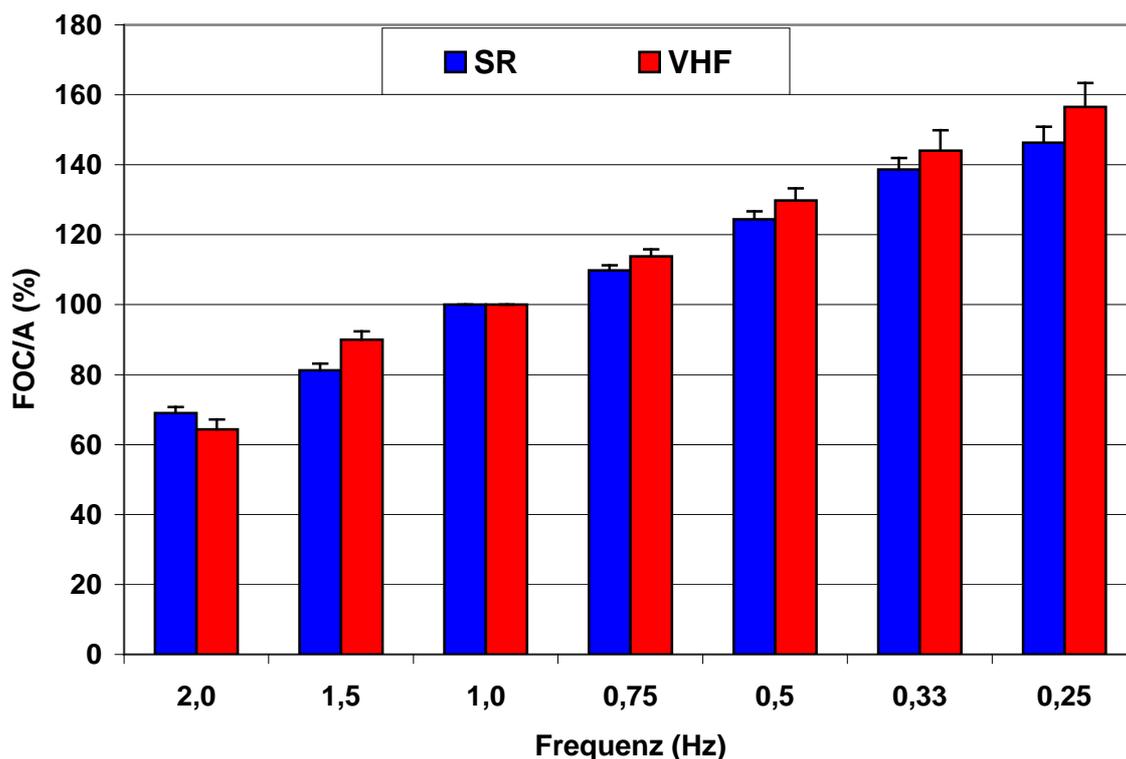


Abb. 4.2: Darstellung der FOC/A (%) bei ausgewählten stimulierten Frequenzen (2 Hz – 0,25 Hz).

#### 4.1.2 Adrenerge Ansprechbarkeit der Vorhofstreifen bei SR und VHF

Im Anschluss an die Kraft-Frequenz-Modulation erfolgte die Gabe von Isoprenalin. In allen Versuchen geschah dies bei einer Stimulationsfrequenz von 1 Hz. Sowohl die SR- als auch die VHF-Gruppe reagierten mit einer positiven Kraftentwicklung auf das Isoprenalin mit einer Konzentration von  $10^{-9}$  M. Bei der SR-Gruppe steigerte sich die Kraft von  $2,46 \pm 0,21$  mN/mm<sup>2</sup> auf  $3,44 \pm 0,27$  mN/mm<sup>2</sup>; in der VHF-Gruppe stieg die Kraft von  $2,18 \pm 0,21$  mN/mm<sup>2</sup> auf  $3,19 \pm 0,31$  mN/mm<sup>2</sup>. Die maximale Kraft wurde bei beiden Gruppen bei einer Erhöhung der Isoprenalinkonzentration auf  $10^{-8}$  M gemessen. Die SR-Gruppe steigerte sich auf  $3,53 \pm 0,25$  mN/mm<sup>2</sup>; die VHF-Gruppe erreichte eine Kraft von  $3,44 \pm 0,35$  mN/mm<sup>2</sup>. Wie in Abb. 4.3 zu sehen ist, steigerte sich die SR-Gruppe im Vergleich zur baseline auf  $154,36 \pm 9,20$  % wohingegen es in der VHF-Gruppe zu einer Steigerung auf  $154,26 \pm 9,45$  % kam. Bei einer weiteren Erhöhung der Isoprenalinkonzentration auf  $10^{-7}$  M kam es in beiden Gruppen zu einem geringfügigen Rückgang der Kraftentwicklung. Im Vergleich von SR- zu VHF-Gruppe konnte bei allen Konzentrationen kein signifikanter Unterschied aufgezeigt werden.

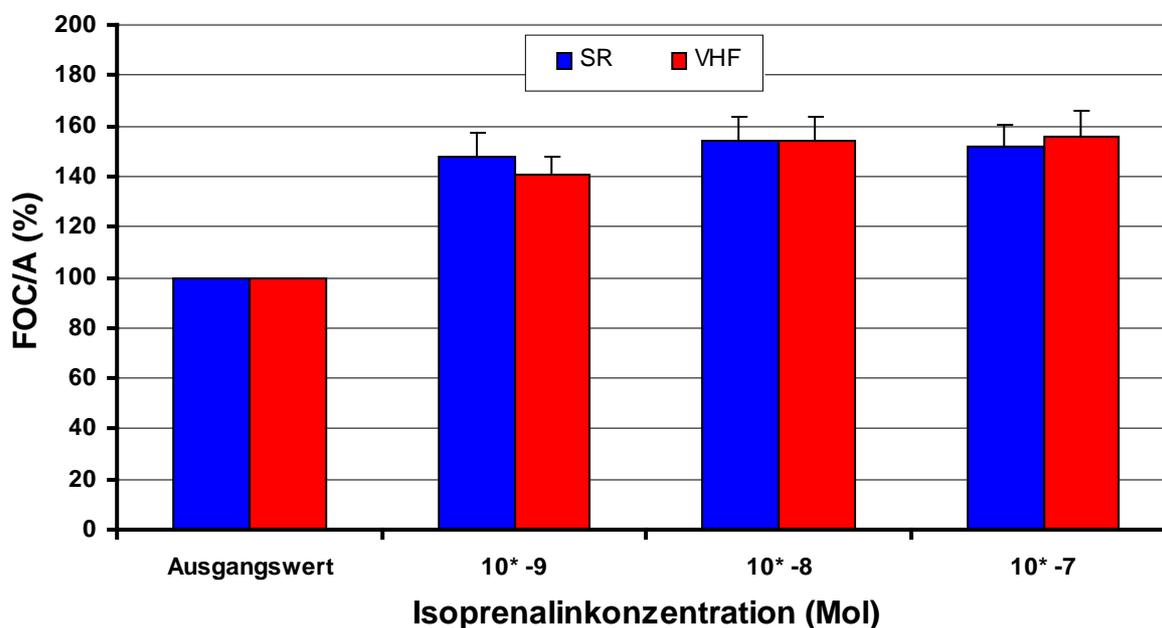


Abb. 4.3: Vergleich der FOC/A (%) zwischen SR- und VHF-Gruppe nach Isoprenalingabe ( $10^{-9}$  MOL bis  $10^{-7}$  MOL).

#### 4.2 Kontraktionskraft (FOC/A) nach dem ersten Schock der Vorhofmuskelstreifen ohne Medikamentenzugabe bei SR und VHF

Bevor die Experimente mit Einfluss von Digoxigenin durchgeführt wurden, wurde eine Reihe von Vorversuchen absolviert. Die Ergebnisse konnten belegen, dass es nach dem ersten Schock durch Gleichstrom mit einer Dauer von 60 Sekunden zu einer deutlichen Verminderung der entwickelten Kraft kam. Durchschnittlich sank die durchschnittliche FOC/A auf Werte zwischen 20 % und 30 % der jeweiligen Ausgangswerte. Diese Resultate waren sowohl bei SR- als auch bei VHF-Streifen zu beobachten. Die sich anschließende Erholungsphase, die bis zur 30. Minute aufgezeichnet wurde, zeigte, dass es zu einer Wiedererlangung der Kraft von maximal 80 % des Ausgangswertes kam. Bei einem darauffolgenden Schock kam es erneut zu einer Reduktion der Kontraktionskraft und einer sich anschließenden Erholungsphase. Nach 30 Minuten kam es jeweils wieder zu einem Kraftanstieg, jedoch konnte in keinem der Versuche nach dem zweiten Schock eine gleich hohe oder sogar höhere Kraft als nach dem ersten Schock gemessen werden. Die gemessenen Werte der FOC/A bis 30

Minuten nach dem zweiten Schock waren immer geringer als die Werte bis 30 Minuten nach dem ersten Schock.

Abb. 4.4 stellt den Zeitverlauf der Erholungsphase nach dem ersten Schock dar. In der SR-Gruppe lag die Ausgangskraft bei  $3,53 \pm 0,27 \text{ mN/mm}^2$  und in der VHF-Gruppe bei  $3,25 \pm 0,28 \text{ mN/mm}^2$ . Nach 60 Sekunden Gleichstromapplikation war in der SR-Gruppe eine Verminderung der Kraft auf  $1,15 \pm 0,27 \text{ mN/mm}^2$  ( $32,45 \pm 2,53 \%$ ) der Ausgangskraft erkennbar. In der VHF-Vergleichsgruppe wurde die Kraft auf  $0,81 \pm 0,11 \text{ mN/mm}^2$  ( $26,26 \pm 3,67 \%$  der Ausgangskraft) gesenkt. Während der nun einsetzenden Erholungsphase kam es in beiden Gruppen zu einem gleichmäßigen Anstieg der FOC/A. Nach 30 Minuten erreichten die Vorhofstreifen beider Gruppen ihre jeweilige Maximalkraft. In der Sinusgruppe konnte eine durchschnittliche Kraft von  $2,65 \pm 0,20 \text{ mN/mm}^2$  ( $75,27 \pm 2,22 \%$  im Vergleich zur baseline) gemessen werden. Die Streifen der VHF-Gruppe erlangten nach 30 Minuten eine durchschnittliche Kraft von  $2,56 \pm 0,23 \text{ mN/mm}^2$  ( $79,46 \pm 2,43 \%$  im Vergleich zur Ausgangslage). Es bestand kein signifikanter Unterschied.

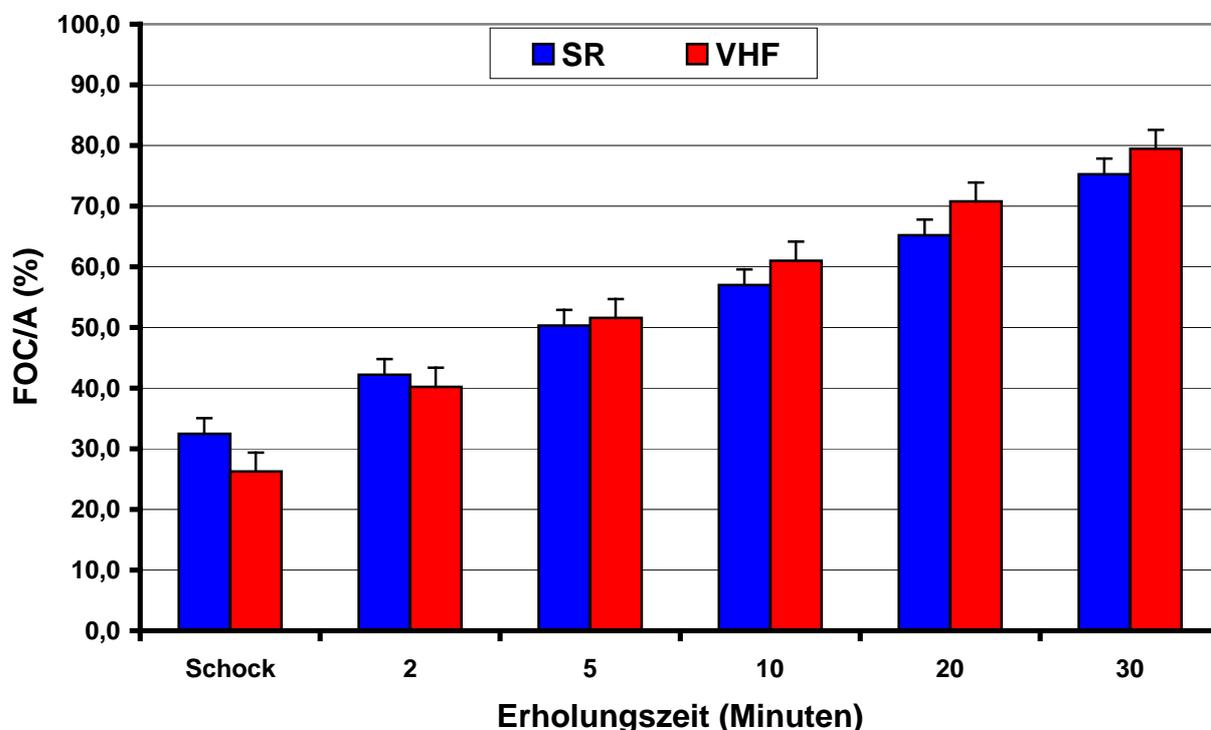


Abb. 4.4: Darstellung der Erholungsphase der Muskelstreifen der VHF-Gruppe nach dem ersten Stromschock ohne Medikamentengabe in FOC/A (%).

### **4.3 FOC/A nach dem zweiten Schock und der sich anschließenden Erholungsphase unter Einfluss von Digoxigenin bei SR- und VHF-Streifen**

Im Anschluss an die erste Erholungsphase wurde ein zweites Mal Gleichstrom appliziert, jetzt aber unter dem Einfluss von Digoxigenin. Nachdem die Muskelstreifen für 60 Sekunden dem Gleichstrom ausgesetzt waren, kam es in beiden Gruppen erneut zu einem Absinken der FOC/A. In der SR-Gruppe kam es zu einem Abfall auf  $0,62 \pm 0,05 \text{ mN/mm}^2$  ( $23,23 \pm 1,82 \%$  der Ausgangskraft); in der VHF-Gruppe kam es zu einer Verminderung der Kraft auf  $0,74 \pm 0,11 \text{ mN/mm}^2$  ( $22,92 \pm 2,32 \%$  der Ausgangskraft). Es ist zu erkennen, dass nach dem zweiten Schock die FOC/A in beiden Gruppen niedriger war als nach der erstmaligen Applikation.

Die Streifen beider Gruppen erholten sich wieder schrittweise. Nach 10 Minuten Erholungszeit konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Streifen der SR- und der VHF-Gruppe festgestellt werden. In der VHF-Gruppe erlangten die Muskelstreifen eine durchschnittliche FOC/A von  $2,59 \pm 0,24 \text{ mN/mm}^2$  ( $84,08 \pm 2,56 \%$  im Vergleich zur baseline), wohingegen die durchschnittliche FOC/A der SR-Gruppe bei  $2,19 \pm 0,19 \text{ mN/mm}^2$  ( $75,89 \pm 2,44 \%$  im Vergleich zur baseline) lag. Dieser signifikante Unterschied konnte bis zum Ende des Versuches nach 30 Minuten der zweiten Erholungsphase beobachtet werden. In der VHF-Gruppe konnte eine Kraftsteigerung über Werte der baseline hinaus auf  $3,31 \pm 0,30 \text{ mN/mm}^2$  ( $108,14 \pm 3,13 \%$  des Ausgangswertes) gemessen werden. Bei der SR- Gruppe lag die durchschnittliche FOC/A bei  $2,69 \pm 0,23 \text{ mN/mm}^2$  ( $93,14 \pm 2,59 \%$  im Vergleich zur baseline).

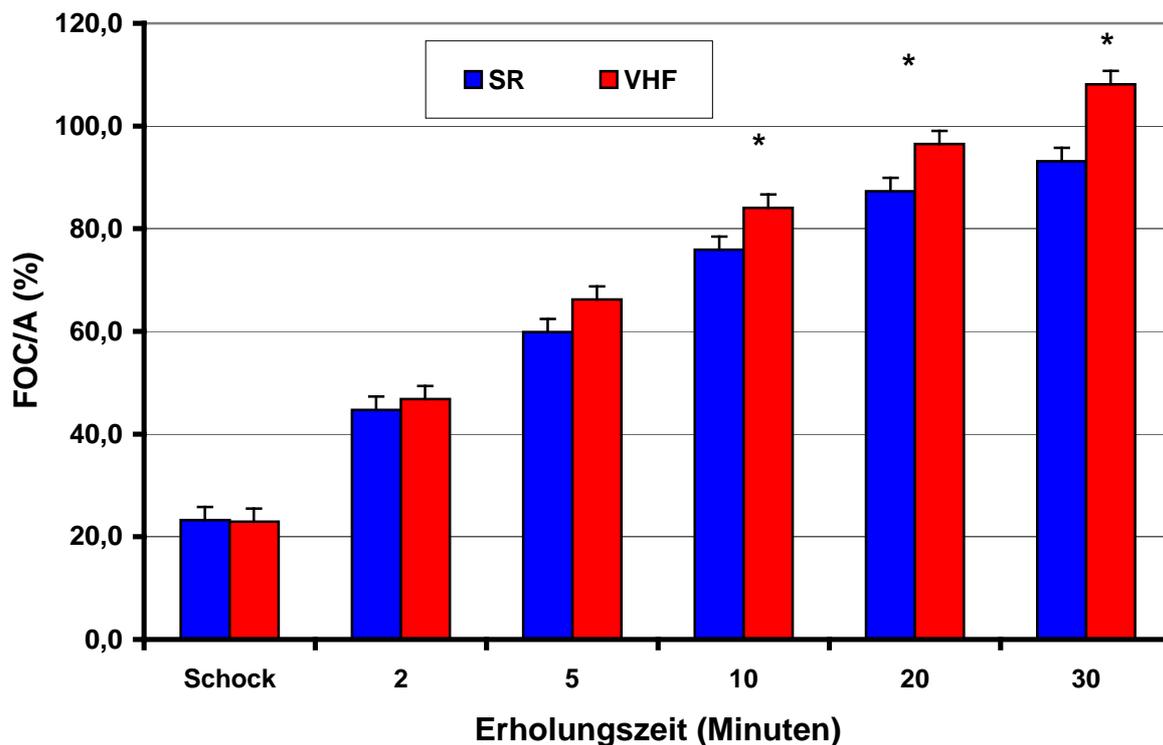


Abb. 4.5: Vergleich der FOC/A (%) von Vorhofstreifen der SR- und VHF-Gruppe nach der zweiten Gleichstromapplikation und Gabe von Digoxigenin.

In Abb. 4.6 wird die erste mit der zweiten Erholungsphase der Gruppe der VHF-Streifen verglichen. Nach der Stromzufuhr kam es in beiden Gruppen zu einem Abfall der FOC/A. Nach dem ersten Schock waren noch  $26,26 \pm 3,67$  % der Ausgangskraft vorhanden, wohingegen nach dem zweiten Stromschock nur noch  $22,92 \pm 2,32$  % messbar waren. Innerhalb der ersten 5 Minuten war bei beiden Gruppen eine gleichmäßige Erholung der FOC/A zu beobachten. Nach 5 Minuten Erholungszeit betrug die FOC/A ohne den Einfluss von Digoxigenin  $51,56 \pm 3,52$  % im Vergleich zur Ausgangskraft. Durch Zugabe des Medikaments konnten die Streifen in der gleichen Erholungszeit bereits  $66,20 \pm 2,92$  % der Ausgangskraft aufweisen. Dieser signifikante Unterschied war auch nach 10, 20 und 30 Minuten messbar. Nach 30 Minuten erreichten die VHF-Streifen ohne Medikamenteneinfluss durchschnittlich  $79,46 \pm 2,43$  % ihrer Ausgangskraft; mit Digoxigenin konnte eine Steigerung auf  $108,14 \pm 3,13$  % im Vergleich zur baseline gemessen werden. Die Differenz von behandelten zu unbehandelten Muskelstreifen liegt bei 28,68 %.

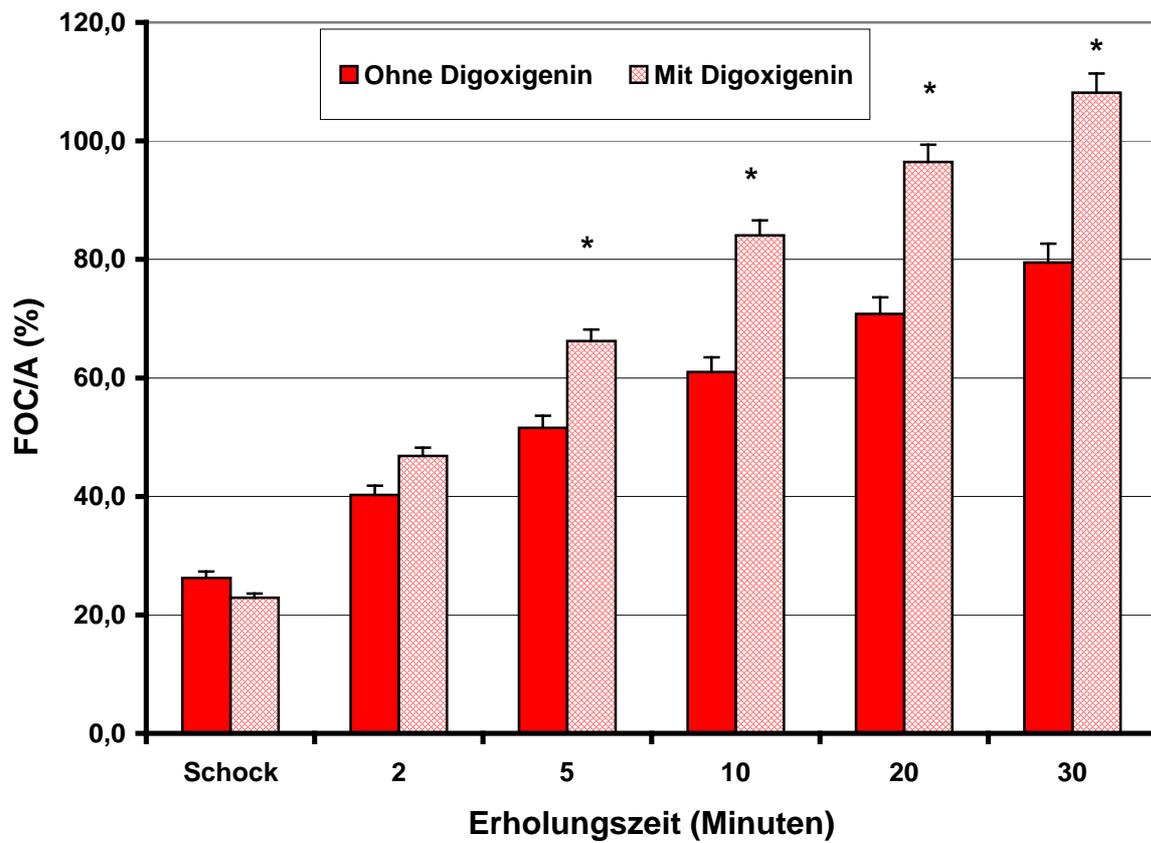


Abb. 4.6: Vergleich von Vorhofstreifen der VHF-Gruppe mit und ohne den Einfluss von Digoxigenin nach Elektroschockapplikation.

In der SR-Gruppe betrug die FOC/A nach dem ersten Elektroschock  $32,45 \pm 2,53$  %, nach dem zweiten Schock lediglich  $22,92 \pm 2,32$  % der Ausgangskraft. Zunächst kam es zu einem gleichmäßigen Anstieg der FOC/A in beiden Gruppen, ohne dass signifikante Unterschiede erkennbar waren. Erst nach 10 Minuten konnte ein Signifikanzniveau erreicht werden. Die Kraft der unbehandelten Gruppe betrug nun  $56,99 \pm 2,83$  % und in der mit Digoxigenin behandelten Gruppe  $75,89 \pm 2,44$  % im Vergleich zur baseline. Nach 30 Minuten Erholungszeit erreichte die durchschnittliche Kraft der unbehandelten Streifen  $75,27 \pm 2,22$  %, wohingegen die behandelten auf  $93,14 \pm 2,59$  % der Ausgangskraft anstiegen. Die Differenz von behandelten zu unbehandelten Streifen liegt bei  $17,87$  % und ist somit 10 % geringer als die gemessene Differenz nach der gleichen Zeit bei den Vorhofstreifen.

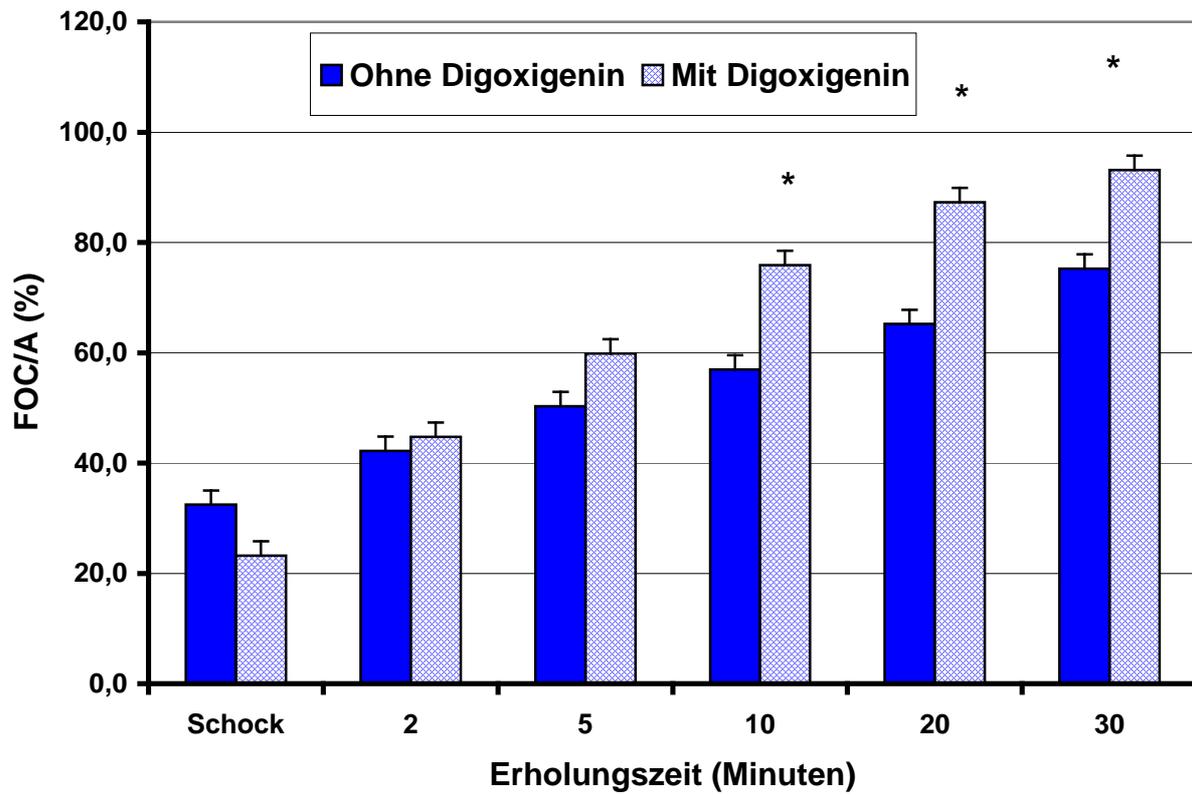


Abb. 4.7: Vergleich von Vorhofstreifen der SR-Gruppe mit und ohne den Einfluss von Digoxigenin nach Elektroschockapplikation.

Parameter	Sinusrhythmus	Vorhofflimmern	p-Wert
Anzahl der Proben	17	22	
Durchschnittliche Fläche in mm <sup>2</sup>	2,03 ± 0,12	2,15 ± 0,13	n.s.
FOC/A bei 2 Hz	1,72 ± 0,17	1,44 ± 0,16	n.s.
FOC/a bei 1.5 Hz	2,04 ± 0,19	1,99 ± 0,21	n.s.
FOC/A bei 1 Hz	2,46 ± 0,21	2,18 ± 0,21	n.s.
FOC/A bei 0.75 Hz	2,66 ± 0,21	2,48 ± 0,23	n.s.
FOC/A bei 0.5 Hz	3,00 ± 0,24	2,79 ± 0,25	n.s.
FOC/A bei 0.33 Hz	3,31 ± 0,28	3,08 ± 0,27	n.s.
FOC/A bei 0.25 Hz	3,50 ± 0,31	3,33 ± 0,29	n.s.
FOC/A (%) bei 2 Hz	69,01 ± 2,82	64,35 ± 1,73	n.s.
FOC/A (%) bei 1.5 Hz	81,28 ± 2,39	89,97 ± 1,86	n.s.
FOC/A (%) bei 0.75 Hz	109,77 ± 2,00	113,86 ± 1,46	n.s.
FOC/A (%) bei 0.5 Hz	124,46 ± 3,46	129,80 ± 2,27	n.s.
FOC/A (%) bei 0.33 Hz	138,65 ± 5,91	144,00 ± 3,31	n.s.
FOC/A (%) bei 0.25 Hz	146,30 ± 6,81	156,56 ± 4,58	n.s.
FOC/A Isoprenalin 10 <sup>-9</sup> M	3,44 ± 0,27	3,19 ± 0,31	n.s.
FOCA Isoprenalin 10 <sup>-8</sup> M	3,53 ± 0,25	3,44 ± 0,35	n.s.
FOC/A Isoprenalin 10 <sup>-7</sup> M	3,46 ± 0,23	3,38 ± 0,32	n.s.
FOC/A (%) Isoprenalin 10 <sup>-9</sup> M	148,16 ± 8,78	140,94 ± 7,15	n.s.
FOC/A (%) Isoprenalin 10 <sup>-8</sup> M	154,36 ± 9,20	154,26 ± 9,45	n.s.
FOC/A (%) Isoprenalin 10 <sup>-7</sup> M	152,07 ± 8,68	154,13 ± 10,45	n.s.

Tab. 4.1: Messwerte der FOC/A (mN/mm<sup>2</sup>) und die prozentuale Veränderung der FOC/A im Vergleich zur baseline (FOC/A % ) während der Kraft-Frequenz Modulation (FFR) und der adrenergen Stimulation.

Parameter	Sinusrhythmus	Vorhofflimmern	p-Wert
FOC/A baseline	3,53 ± 0,27	3,25 ± 0,28	n.s.
FOC/A nach Schock	1,15 ± 0,12	0,81 ± 0,11	n.s.
FOC/A nach 2 min	1,51 ± 0,14	1,33 ± 0,16	n.s.
FOC/A nach 5 min	1,82 ± 0,18	1,67 ± 0,18	n.s.
FOC/A nach 10 min	2,07 ± 0,20	1,99 ± 0,20	n.s.
FOC/A nach 20 min	2,33 ± 0,21	2,29 ± 0,21	n.s.
FOC/A nach 30 min	2,65 ± 0,20	2,56 ± 0,23	n.s.
FOC/A (%) nach Schock	32,45 ± 2,53	26,26 ± 3,67	n.s.
FOC/A (%) nach 2 min	42,22 ± 2,80	40,23 ± 2,86	n.s.
FOC/A (%) nach 5 min	50,32 ± 3,06	51,56 ± 3,52	n.s.
FOC/A (%) nach 10 min	56,99 ± 2,83	61,02 ± 3,54	n.s.
FOC/A (%) nach 20 min	65,21 ± 2,91	70,79 ± 2,78	n.s.
FOC/A (%) nach 30 min	75,27 ± 2,22	79,46 ± 2,43	n.s.

Tab. 4.2: Messwerte der FOC/A in  $\text{mN/mm}^2$  und die FOC/A (%) nach dem ersten Schock und der darauffolgenden Erholungsphase ohne den Einfluss von Digoxigenin.

Parameter	Sinusrhythmus	Vorhofflimmern	p-Wert
FOC/A baseline	2,88 ± 0,23	2,99 ± 0,25	n.s.
FOC/A nach 2. Schock	0,62 ± 0,05	0,74 ± 0,11	n.s.
FOC/A nach 2 min	1,26 ± 0,11	1,50 ± 0,18	n.s.
FOC/A nach 5 min	1,70 ± 0,14	2,05 ± 0,21	n.s.
FOC/A nach 10 min	2,19 ± 0,19	2,59 ± 0,24	n.s.
FOC/A nach 20 min	2,50 ± 0,20	2,98 ± 0,28	n.s.
FOC/A nach 30 min	2,69 ± 0,23	3,31 ± 0,30	n.s.
FOC/A (%) nach 2. Schock	23,23 ± 1,82	22,92 ± 2,32	n.s.
FOC/A (%) nach 2 min	44,73 ± 2,78	46,80 ± 2,81	n.s.
FOC/A (%) nach 5 min	59,86 ± 2,73	66,20 ± 2,92	n.s.
FOC/A (%) nach 10 min	75,89 ± 2,44	84,08 ± 2,56	0,0269
FOC/A (%) nach 20 min	87,29 ± 2,19	96,48 ± 2,63	0,0255
FOC/A (%) nach 30 min	93,14 ± 2,59	108,14 ± 3,13	0,0029

Tab. 4.3: Messwerte der FOC/A in  $\text{mN/mm}^2$  und die FOC/A (%) nach dem zweiten Schock mit Einfluss von Digoxigenin.

---

#### **4.4 Maximale Kontraktions- ( $dF/dt_{max}$ ) und Relaxationsgeschwindigkeit ( $dF/dt_{min}$ ) bei Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit SR und VHF**

##### **4.4.1 $dF/dt_{max}$ und $dF/dt_{min}$ nach Frequenzstimulation bei Vorhofmuskelstreifen von SR und VHF**

In den Abb. 4.8 und 4.9 sind die maximalen Kontraktions- und Relaxationsgeschwindigkeiten der SR- und VHF-Gruppe während der Stimulation verschiedener Frequenzen dargestellt. In beiden Gruppen konnte eine Zunahme der Kontraktions- bzw. Relaxationsgeschwindigkeit bei sinkender Frequenz beobachtet werden.

Wie in Abb. 4.8 zu erkennen, kam es sowohl in der SR- als auch in der VHF-Gruppe zu einer gleichmäßigen Steigerung der maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit mit abnehmender Stimulationsfrequenz. Beide Gruppen entwickelten bei gleichen Frequenzen ähnliche maximale Kontraktionsgeschwindigkeiten. Das jeweilige Maximum wurde bei 0,25 Hz erreicht. In der SR-Gruppe lag der Wert bei  $26,27 \pm 2,15$  mN/s; die VHF-Gruppe erreichte  $26,96 \pm 1,52$  mN/s. Prozentual betrachtet kam es, im Vergleich zur baseline bei 1 Hz, in der SR-Gruppe zu einer Steigerung auf  $137,99 \pm 4,81$  % und in der VHF-Gruppe auf  $140,02 \pm 5,72$  %. Bei einer Stimulationsfrequenz von 2 Hz wurde das jeweilige Minimum der maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit mit  $15,44 \pm 1,04$  mN/s in der SR-Gruppe und  $15,72 \pm 0,83$  mN/s in der VHF-Gruppe erreicht. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen beobachtet werden

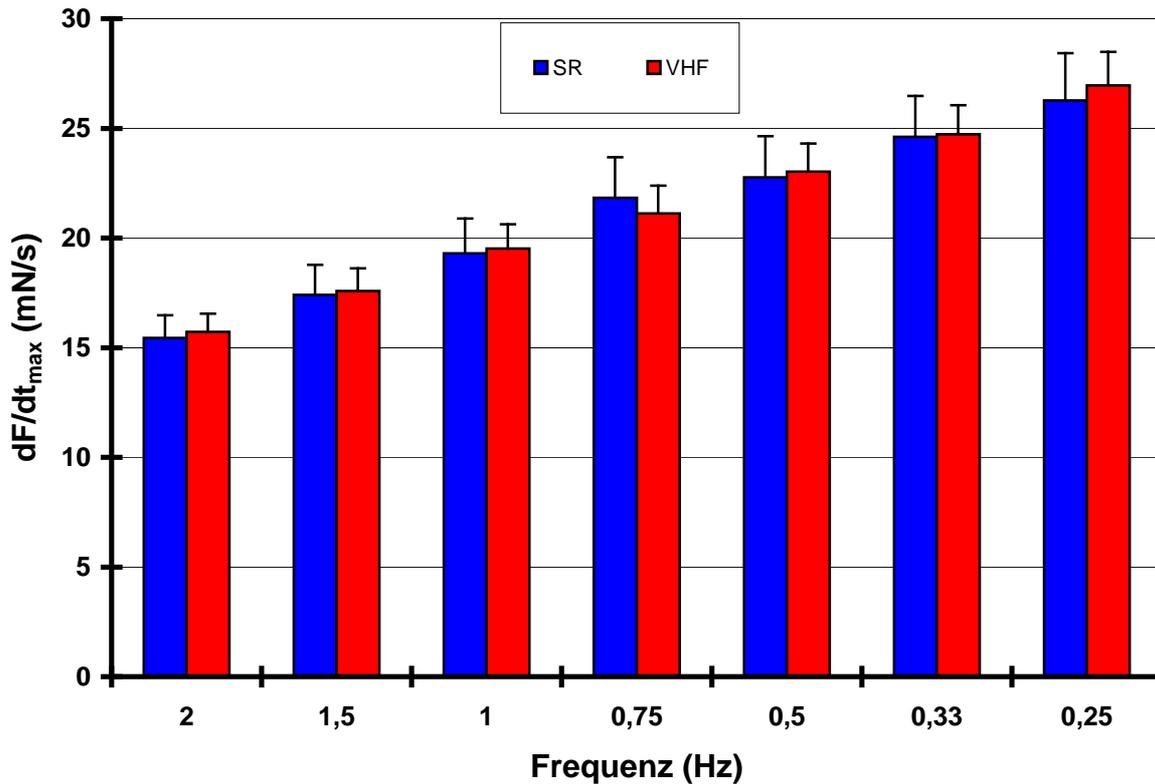


Abb. 4.8: Die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit von Vorhofstreifen der SR- und VHF-Gruppe in Abhängigkeit verschiedener stimulierter Frequenzen (2 Hz – 0,25 Hz).

In Abb. 4.9 ist zu erkennen, dass bei sinkender Frequenz die maximale Relaxationsgeschwindigkeit sowohl bei der SR- als auch bei der VHF-Gruppe gleichmäßig zunimmt. Wie auch bei der maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit werden in der SR- und der VHF-Gruppe bei den jeweiligen stimulierten Frequenzen ähnliche Geschwindigkeiten gemessen; es sind keine signifikanten Unterschiede aufgefallen. Im Vergleich zur absoluten maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit sind die gemessenen Werte der absoluten maximalen Relaxationsgeschwindigkeit um etwa 50 % geringer.

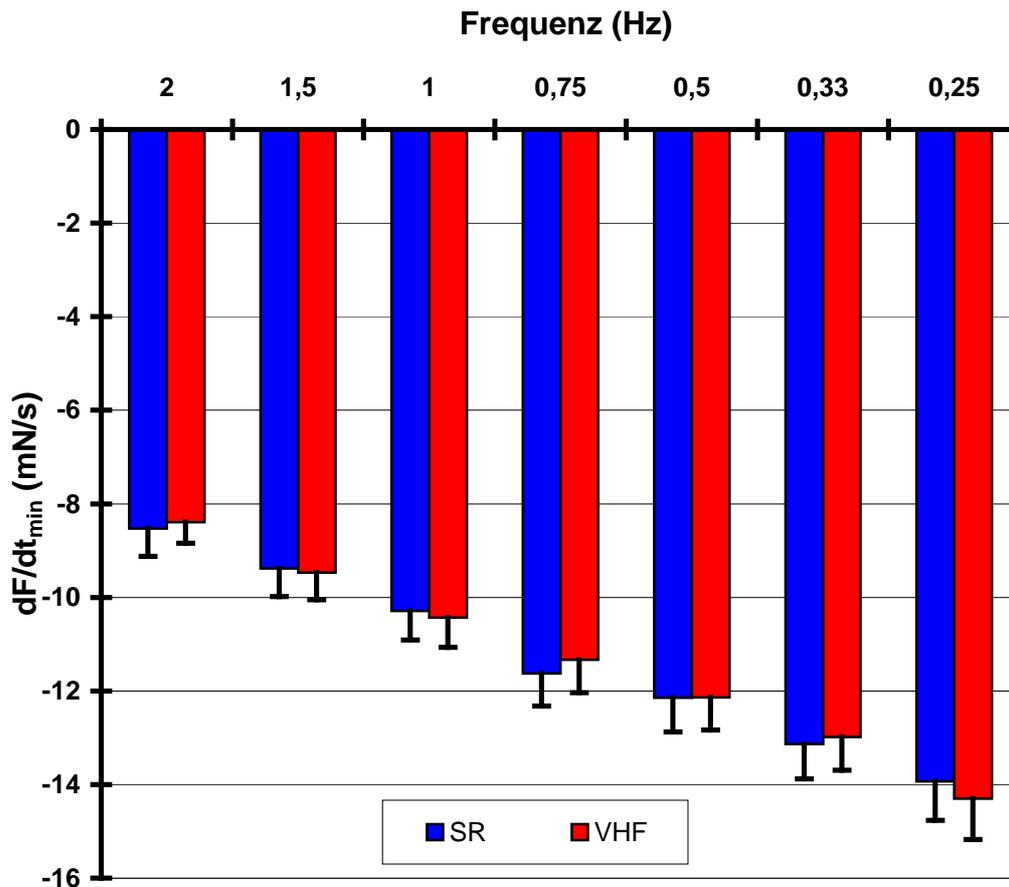


Abb. 4.9: Die maximale Relaxationsgeschwindigkeit von Vorhofstreifen der SR- und VHF-Gruppe während ausgewählter stimulierter Frequenzen (2 Hz – 0,25 Hz).

#### 4.4.2 Einfluss von Isoprenalin auf $dF/dt_{\max}$ und $dF/dt_{\min}$ bei Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit SR und VHF

Wie in Abb. 4.10 erkennbar, reagieren die Streifen beider Gruppen mit einer Zunahme der maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit auf Isoprenalin. Innerhalb der SR-Gruppe ist ein deutlicherer Effekt zu erkennen als in der VHF-Gruppe. Bei Zufuhr von Isoprenalin mit einer Konzentration von  $10^{-9}$  Mol stieg die  $dF/dt_{\max}$  in der SR- Gruppe auf  $30,50 \pm 2,00$  mN/s ( $160,89 \pm 7,85$  % der baseline) an; in der VHF-Gruppe auf  $25,90 \pm 1,50$  mN/s ( $135,29 \pm 5,81$  % der baseline). Bei einer weiteren Erhöhung der Isoprenalinkonzentration (schrittweise auf  $10^{-8}$  Mol und  $10^{-7}$  Mol) erhöhten sich die Werte der  $dF/dt_{\max}$  in beiden Gruppen stetig und erreichten bei  $10^{-7}$  Mol ihr Maximum von  $33,84 \pm 2,54$  mN/s ( $177,23 \pm 10,72$  % der baseline) in der SR-Gruppe. Die Streifen der VHF-Gruppe erreichten ebenfalls bei einer Konzentration von  $10^{-7}$  Mol ihr Maximum

von  $29,21 \pm 1,62$  mN/s ( $152,50 \pm 5,94$  % der baseline). Signifikante Unterschiede waren nicht erkennbar.

Die maximalen Relaxationsgeschwindigkeiten beider Gruppen, wie in Abb. 4.11 erkennbar, steigerten sich ebenfalls deutlich, wenn auch nicht signifikant, im Vergleich zur baseline. Der jeweilige Maximalwert wurde in beiden Gruppen bei einer Isoprenalinkonzentration von  $10^{-7}$  Mol gemessen. Wie auch schon bei den maximalen Kontraktionsgeschwindigkeiten konnte in der SR-Gruppe, im Vergleich zur VHF-Gruppe, eine deutlichere Steigerung aufgezeigt werden. Die Streifen der SR-Gruppe konnten ihre Kraft auf  $164,75 \pm 15,59$  % im Vergleich zur baseline steigern; die VHF-Gruppe steigerte sich auf  $145,98 \pm 5,45$  %.

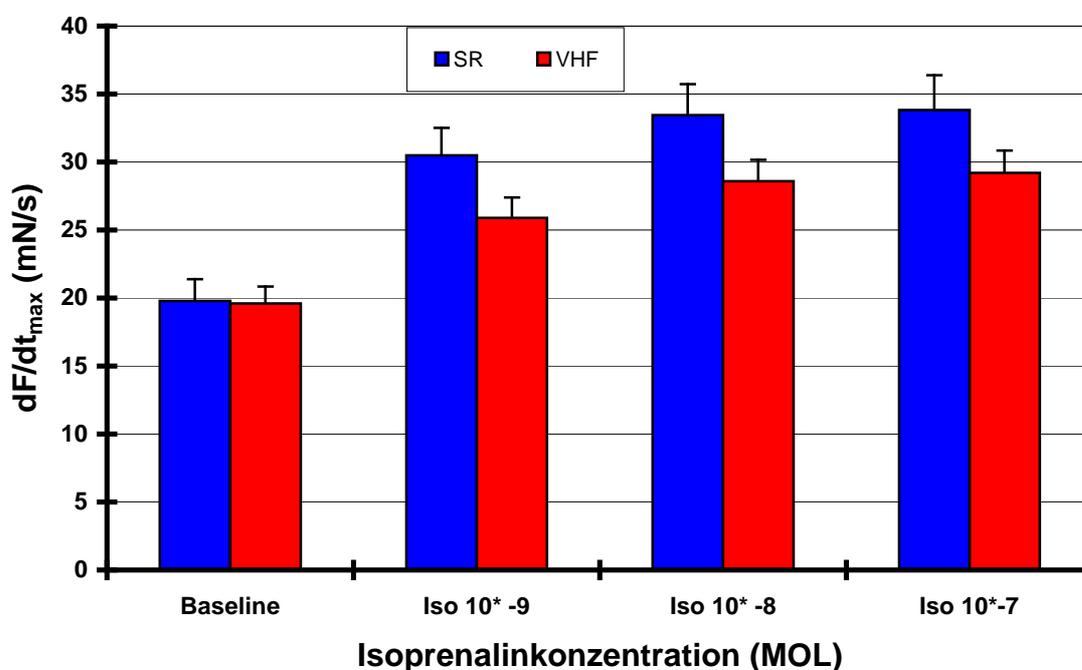


Abb. 4.10: Der Einfluss von Isoprenalin auf die  $dF/dt_{\max}$  von Vorhofstreifen der SR- und VHF-Gruppe bei Konzentrationen von  $10^{-9}$  bis  $10^{-7}$ .

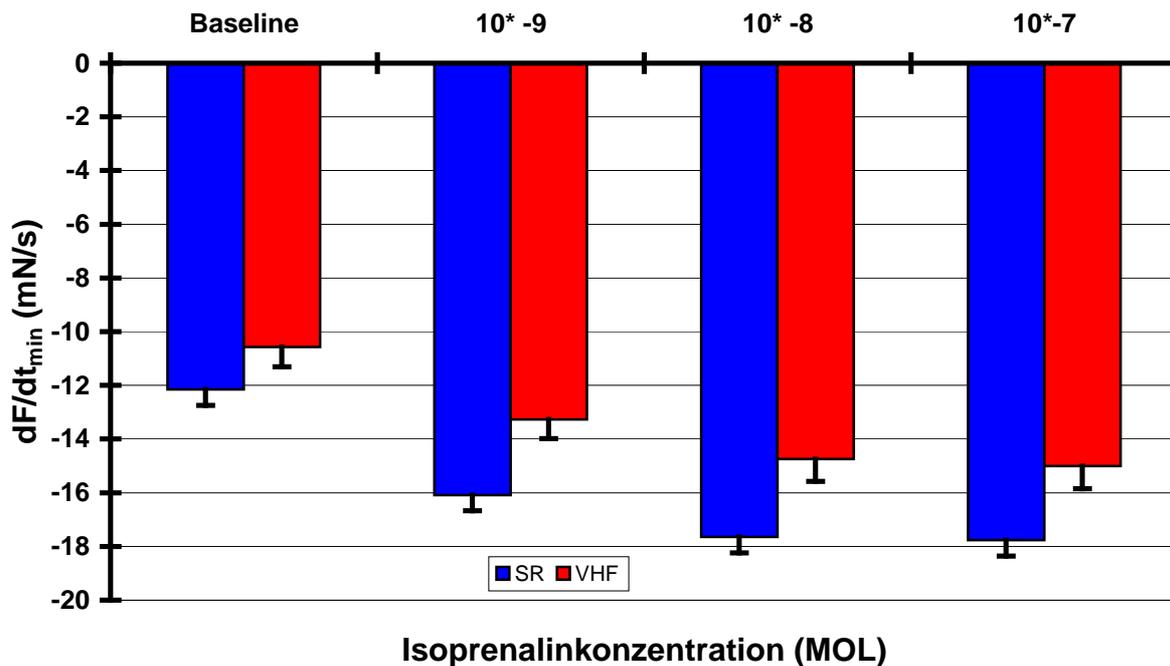


Abb. 4.11: Der Einfluss von Isoprenalin auf die maximale Relaxationsgeschwindigkeit von Vorhofstreifen von Patienten mit SR und VHF.

#### 4.5 $dF/dt_{\max}$ und $dF/dt_{\min}$ bei Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit SR und VHF mit und ohne Einfluss von Digoxigenin

In der Abb. 4.12 sind die absoluten Werte der jeweiligen maximalen Kontraktionsgeschwindigkeiten dargestellt, die während der Erholungsphase nach dem zweiten Schock für die SR- und die VHF-Gruppe gemessen wurden. Hierbei ist zu erkennen, dass sich zunächst die Streifen beider Gruppen schrittweise erholen. Ab der zehnten Minute war eine größere Steigerung bei den Streifen der VHF-Gruppe im Vergleich zur SR-Gruppe erkennbar. Nach 30 Minuten betrug die durchschnittliche  $dF/dt_{\max}$  der VHF-Gruppe  $29,54 \pm 2,02$  mN/s, wohingegen die durchschnittliche  $dF/dt_{\max}$  der SR-Gruppe lediglich  $27,14 \pm 1,93$  mN/s betrug.

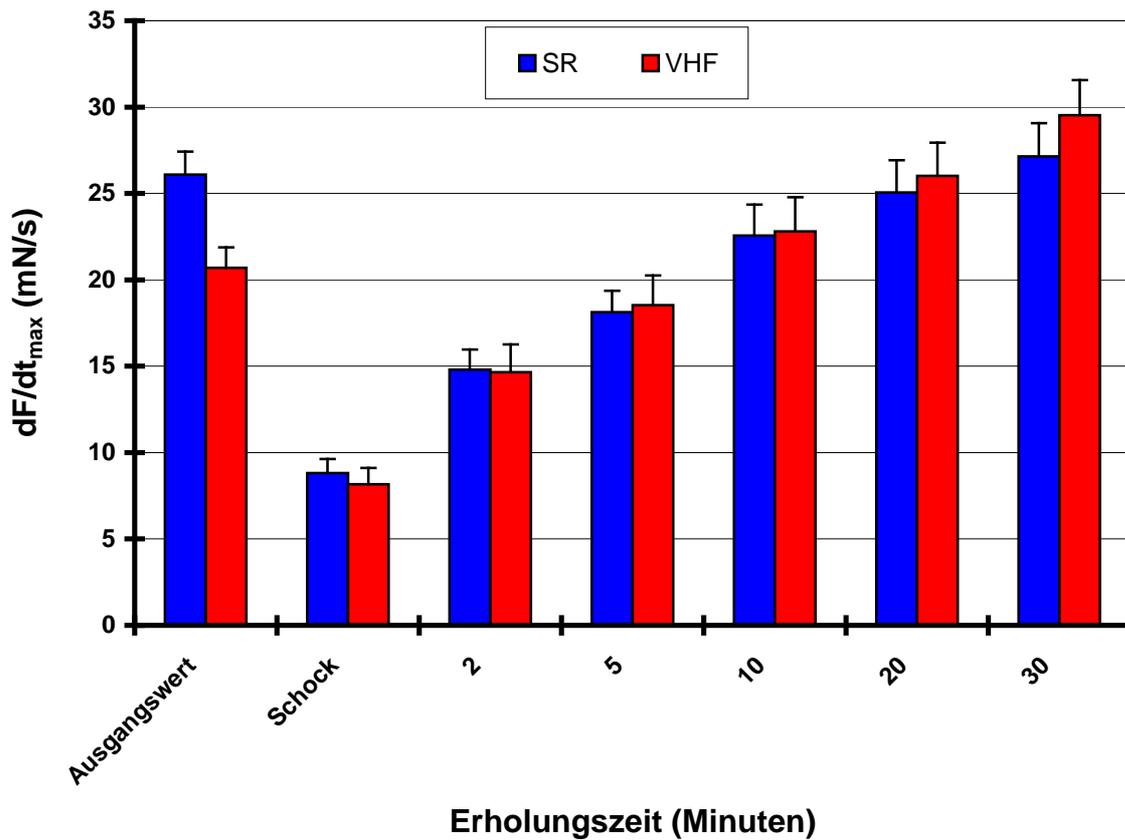


Abb. 4.12: Erholung des Kontraktilitätsparameters  $dF/dt_{\max}$  nach Schock mit Einfluss von Digoxigenin auf Vorhofmuskelstreifen der SR- und VHF-Gruppe.

Wie Abb. 4.13 zu entnehmen ist, kommt es auch bei der Betrachtung der  $dF/dt_{\min}$  beider Gruppen nach dem Schock zunächst zu einem Abfall der maximalen Relaxationsgeschwindigkeit und einer sich unmittelbar anschließenden Erholungsphase. Beide Gruppen erreichten zu den jeweiligen Messpunkten vergleichbare Geschwindigkeiten. In der SR-Gruppe wurden jeweils höhere Geschwindigkeiten verzeichnet; ein signifikanter Unterschied besteht jedoch nicht.

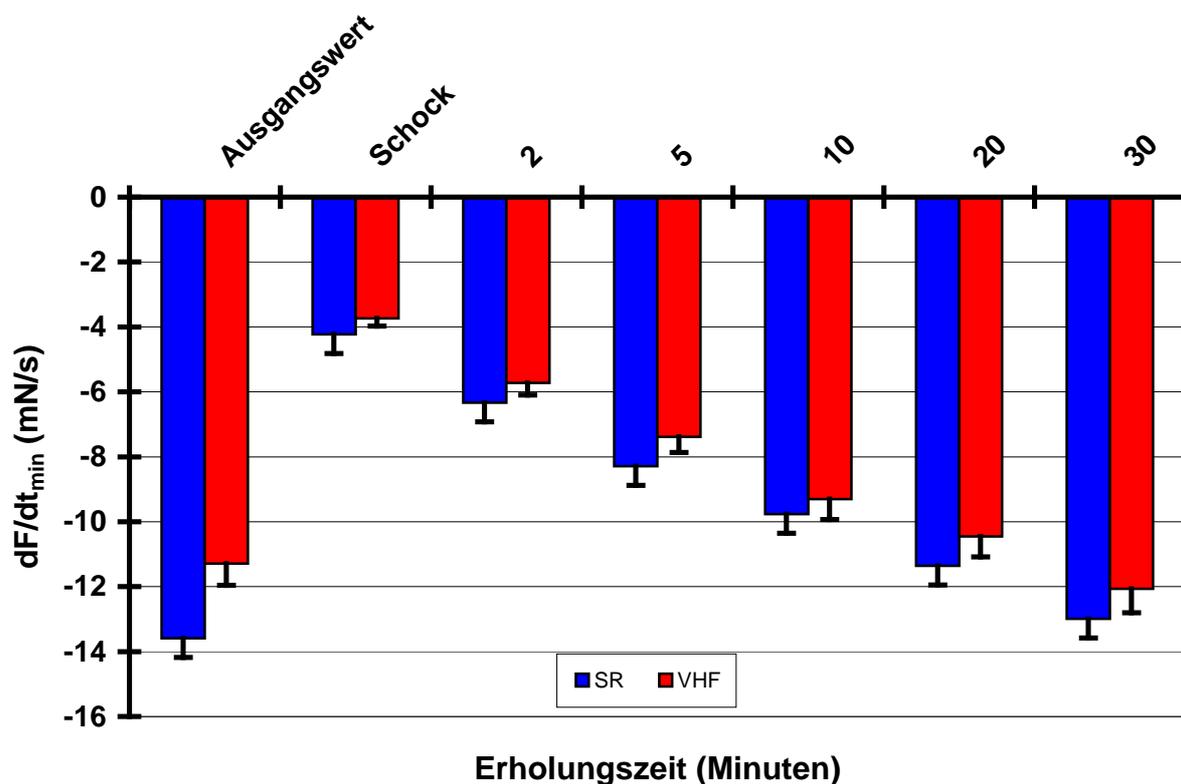


Abb. 4.13: Erholung der  $dF/dt_{\min}$  von Vorhofmuskelstreifen der SR- und VHF-Gruppe mit dem Einfluss von Digoxigenin.

In den Abb. 4.14 und 4.15 sind die jeweiligen prozentualen Unterschiede der Erholungszeiten der SR- und der VHF-Gruppe dargestellt. Um eine bessere Vergleichbarkeit zu ermöglichen, wurden auch die prozentualen Veränderungen während der ersten Erholungsphase ohne den Einfluss von Digoxigenin hinzugezogen. Hierbei wird deutlich, dass die mit Digoxigenin behandelten Streifen der VHF-Gruppe eine deutlichere Steigerung erreichen konnten als die der SR-Gruppe. Bereits nach fünf Minuten konnte ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen aufgezeigt werden. Die durchschnittliche  $dF/dt_{\max}$  (%) der VHF-Gruppe lag bei  $90,74 \pm 6,95$  % im Vergleich zur baseline; der vergleichbare Wert in der SR-Gruppe betrug lediglich  $70,64 \pm 4,16$  % im Vergleich zum Ausgangswert. Diese signifikanten Unterschiede konnten bis zur 30. Minute weiter beobachtet werden. Am Ende des Versuches konnten die Streifen der VHF-Gruppe eine durchschnittliche Steigerung auf  $146,01 \pm 8,35$  % im Vergleich zur baseline erreichen; die durchschnittliche Steigerung der SR-Gruppe betrug  $102,95 \pm 4,07$  % verglichen mit dem Ausgangswert.

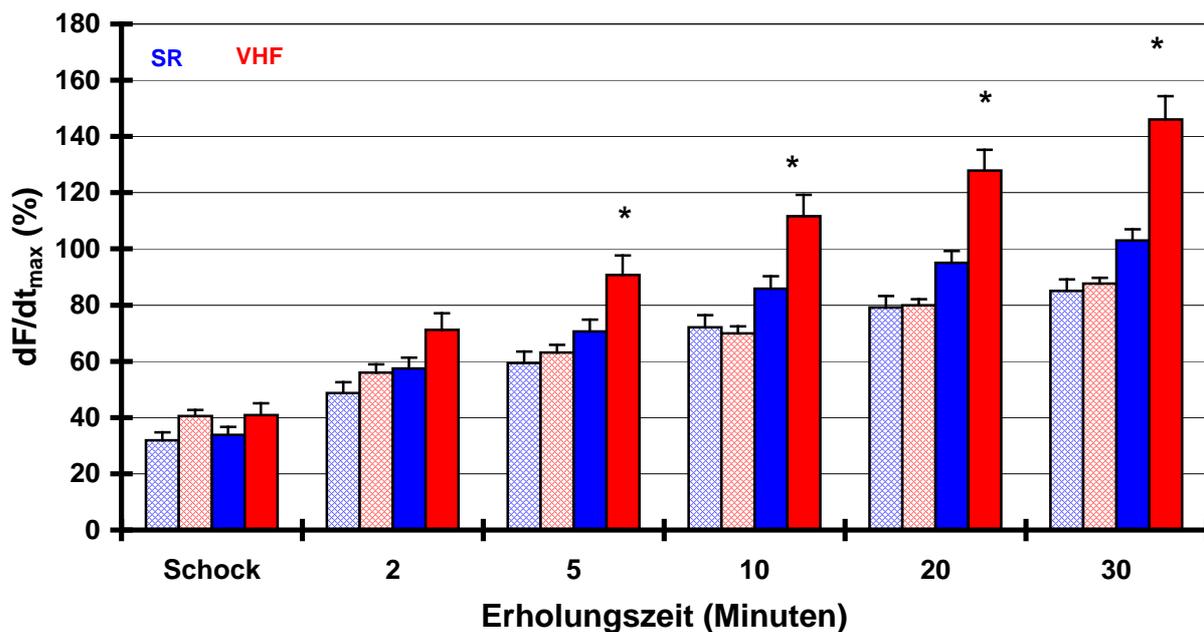


Abb. 4.14: Prozentuale Erholung der  $dF/dt_{max}$  bei Vorhofmuskelstreifen der SR- und VHF-Gruppe mit und ohne Einfluss von Digoxigenin. Die ausgefüllten Balken zeigen die Entwicklung der Streifen mit Digoxigeninbehandlung, die schraffierten Balken zeigen die Entwicklung der Streifen ohne Digoxigeninbehandlung.

In Abb. 4.15 sind die prozentualen Veränderungen der  $dF/dt_{min}$  mit und ohne den Einfluss von Digoxigenin dargestellt. Auch hier wird erkennbar, dass die Streifen der VHF-Gruppe unter Medikamenteneinfluss eine deutlich größere Steigerung aufzeigen konnten als die Streifen der SR-Gruppe. Ab der zweiten Minute war bei der VHF-Gruppe eine deutlichere Steigerung der  $dF/dt_{min}$  (%) als in der SR-Gruppe; dies setzte sich bis zur 30. Minute fort. Zu diesem Zeitpunkt betrug die prozentuale Steigerung der VHF-Gruppe  $107,20 \pm 2,81$  % im Vergleich zur baseline. In der SR-Gruppe lag der entsprechende Wert bei  $95,88 \pm 2,02$  %. Signifikante Unterschiede konnten nicht nachgewiesen werden.

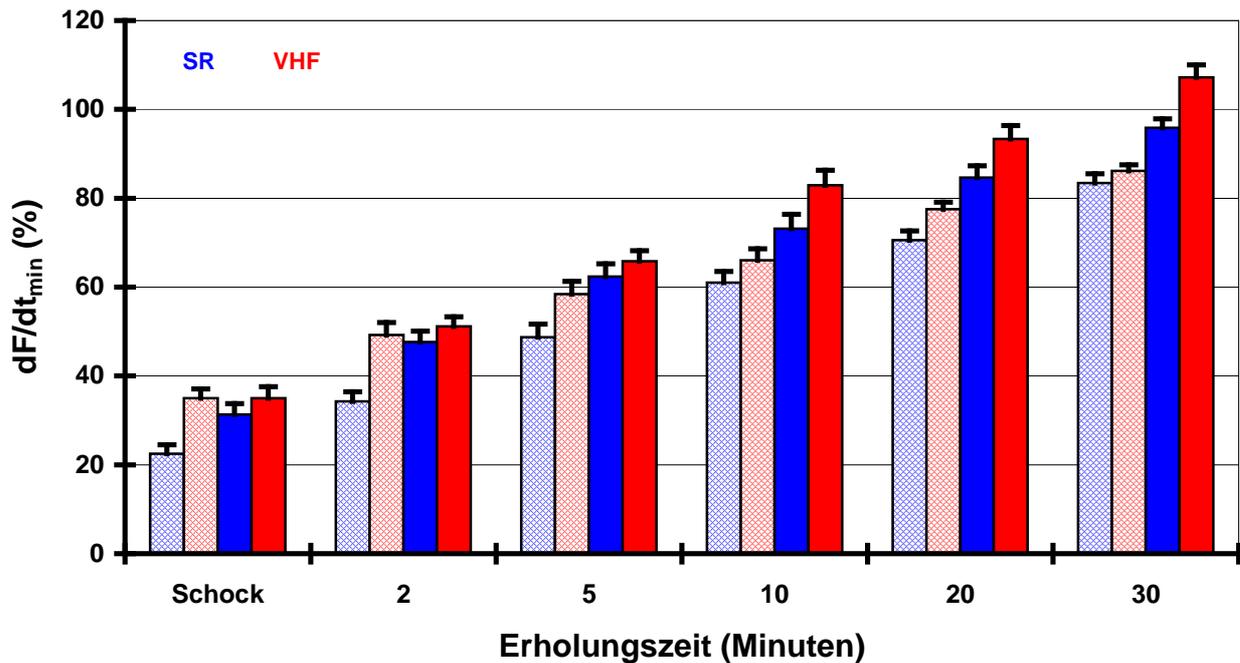


Abb. 4.15: Prozentuale Entwicklung von  $dF/dt_{min}$  unter Einfluss von Digoxigenin bei Vorhofstreifen der SR- und VHF-Gruppe. Die ausgefüllten Balken zeigen die Entwicklung der Streifen mit Digoxigeninbehandlung, die schraffierten Balken zeigen die Streifen ohne Digoxigeninbehandlung.

#### 4.5.1 $dF/dt_{max}$ und $dF/dt_{min}$ bei Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit VHF nach Schock mit und ohne Einfluss von Digoxigenin

Wie in den Abb. 4.16 bis 4.19 zu sehen ist, konnten die mit Digoxigenin behandelten Streifen der VHF-Gruppe im Vergleich zu den unbehandelten Streifen der VHF-Gruppe eine deutlich positivere Erholungstendenz zeigen. Sowohl bei den absoluten als auch den prozentualen Werten der  $dF/dt_{max}$  und der  $dF/dt_{min}$  zeigten die behandelten Streifen ab der zweiten Minute bis zum Ende der Versuche nach 30 Minuten eine bessere Leistung als die unbehandelten.

In Abb. 4.16 ist die Entwicklung der  $dF/dt_{max}$  in mN/s bei behandelten und unbehandelten Streifen der VHF-Gruppe dargestellt. Vor den Schocks entwickelten die Streifen jeweils eine  $dF/dt_{max}$  von  $21,16 \pm 1,14$  mN/s. Nach dem jeweiligen Schock sank der entsprechende Wert auf etwa ein Drittel der Ausgangswerte ab. Bereits nach zwei Minuten lag die  $dF/dt_{max}$  der behandelten VHF-Streifen bei  $14,66 \pm 1,59$  mN/s; die der unbehandelten lag bei lediglich  $11,85 \pm 0,91$  mN/s. Diese Beobachtung konnte sich bis zur zehnten Minute der Erholungszeit fortsetzen. Ab diesem Zeitpunkt, bis zum Ende

der Untersuchungen, konnte ein signifikanter Unterschied beim Vergleich von behandelten zu unbehandelten Streifen nachgewiesen werden. Nach Ablauf der Erholungszeit konnten die behandelten Streifen eine deutlich höhere  $dF/dt_{\max}$  aufzeigen als zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns. Im Vergleich zu  $20,69 \pm 1,19$  mN/s bei Versuchsbeginn wurden nach Ablauf der 30 Minuten und Zugabe von Digoxigenin  $29,54 \pm 2,02$  mN/s erreicht. Die unbehandelten Streifen hingegen zeigten vor dem Schock eine durchschnittliche  $dF/dt_{\max}$  von  $21,16 \pm 1,14$  mN/s und am Ende der Versuche lediglich  $18,61 \pm 1,15$  mN/s.

Abb. 4.17 zeigt den Verlauf der Erholungsphase der  $dF/dt_{\min}$  in mN/s. Wie auch schon bei der  $dF/dt_{\max}$  ist hier eine deutlich positivere Entwicklung bei den behandelten Streifen der VHF-Gruppe im Vergleich zu den unbehandelten Streifen erkennbar. Zu allen Messzeiten nach den jeweiligen Schocks war die durchschnittliche maximale Relaxationsgeschwindigkeit der behandelten Streifen größer als die der unbehandelten Streifen. Von der 20. Minute bis zur 30. Minute konnten signifikante Unterschiede festgestellt werden. Nach 30 Minuten erreichten die behandelten Streifen eine  $dF/dt_{\min}$  von  $-12,07 \pm 0,73$  mN/s (Ausgangsgeschwindigkeit vor dem Schock war  $-11,29 \pm 0,67$  mN/s); die unbehandelten Streifen hingegen zeigten nur eine  $dF/dt_{\min}$  von  $-9,75 \pm 0,57$  mN/s bei einer Ausgangsgeschwindigkeit von  $-11,29 \pm 0,61$  mN/s.

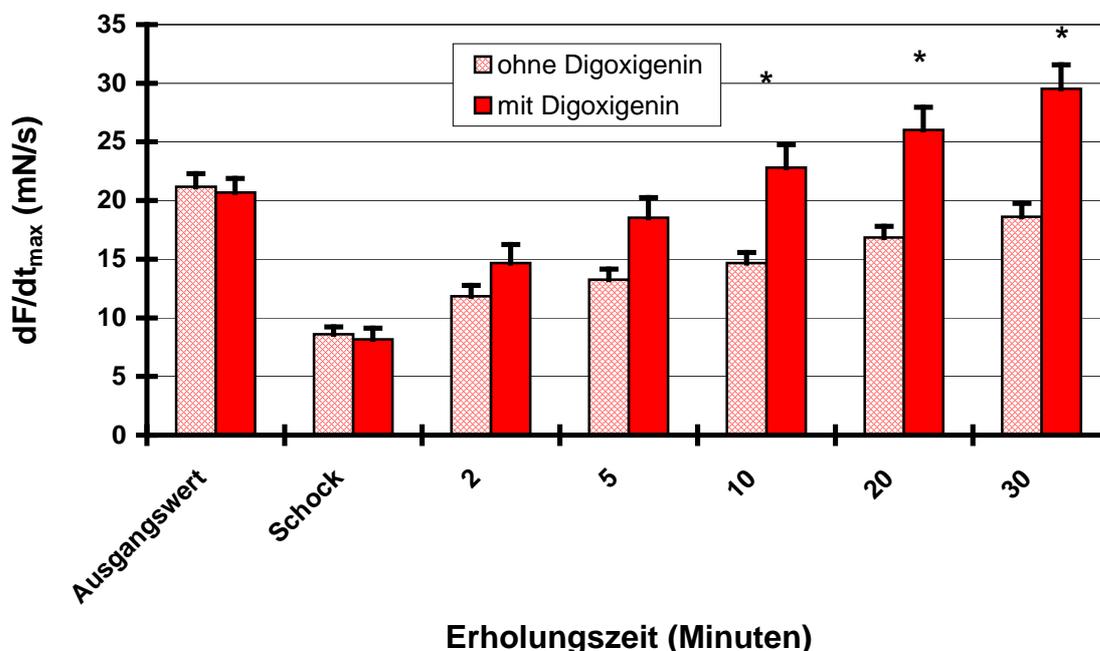


Abb. 4.16: Erholung der  $dF/dt_{\max}$  in mN/s bei Vorhofmuskelstreifen der VHF-Gruppe mit und ohne Einfluss von Digoxigenin.

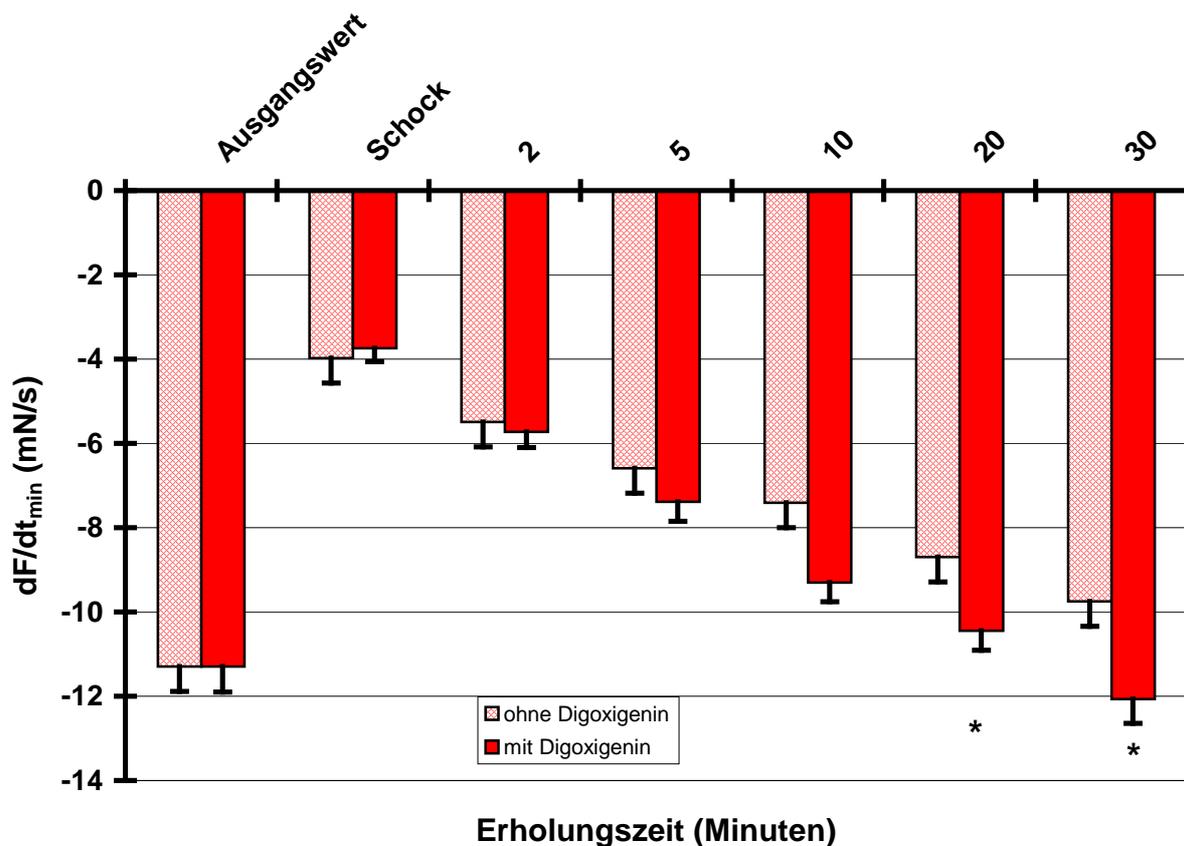


Abb. 4.17: Erholung der  $dF/dt_{\min}$  nach Schock mit Einfluss von Digoxigenin bei Vorhofmuskelstreifen der VHF-Gruppe.

Die Abb. 4.18 und 4.19 zeigen die prozentualen Entwicklungen der  $dF/dt_{\max}$  und  $dF/dt_{\min}$  bei Vorhofmuskelstreifen der VHF-Gruppe mit und ohne Zugabe von Digoxigenin. Wie in Abb. 4.18 zu erkennen ist, konnte bereits nach der 5. Minute der Erholungszeit bei der  $dF/dt_{\max}$  eine signifikant positivere Entwicklung bei den behandelten Streifen im Vergleich zu den unbehandelten gesehen werden ( $63,10 \pm 2,78$  % bei den unbehandelten und  $90,74 \pm 6,95$  % bei den behandelten Streifen im Vergleich zum Ausgangsniveau). Nach 10 Minuten konnten die behandelten Streifen ihre maximale Kontraktionsgeschwindigkeit sogar über das Ausgangsniveau um 20,76 % auf  $111,59 \pm 7,64$  % steigern, wohingegen die unbehandelten Streifen lediglich eine Verbesserung um 6,85 % auf  $69,95 \pm 2,51$  % erreichen konnten. Am Ende der Aufzeichnungszeit betrug die  $dF/dt_{\max}$  der mit Digoxigenin behandelten Streifen  $146,01 \pm 8,35$  % des

Ausgangswertes, wohingegen die unbehandelten Streifen lediglich  $87,69 \pm 2,05$  % des Ausgangswertes erreichen konnten.

In Abb. 4.19 wird verdeutlicht, dass auch die  $dF/dt_{\min}$  bei den mit Digoxigenin behandelten Streifen nach 10 Minuten Erholungszeit eine signifikant bessere Erholungstendenz zeigte als die Streifen der unbehandelten Vergleichsgruppe.

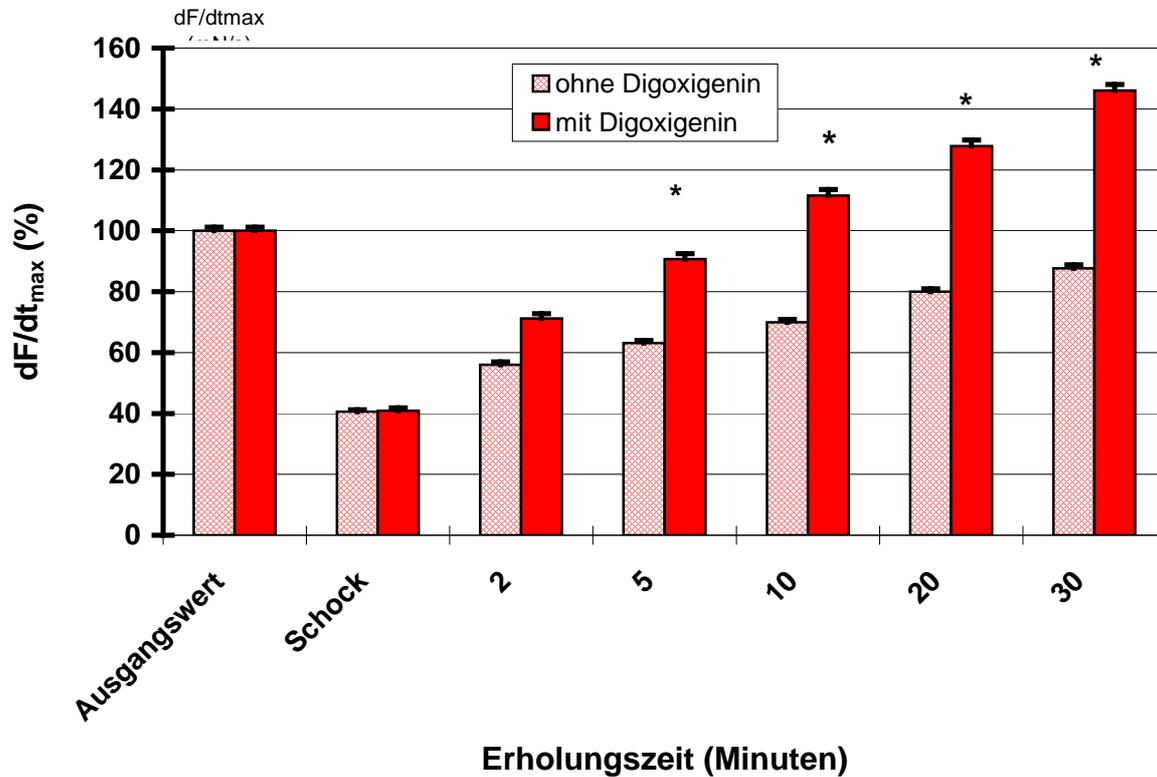


Abb. 4.18: Prozentuale Entwicklung der  $dF/dt_{\max}$  mit und ohne Einfluss von Digoxigenin bei Vorhofmuskelseifen der VHF-Gruppe.

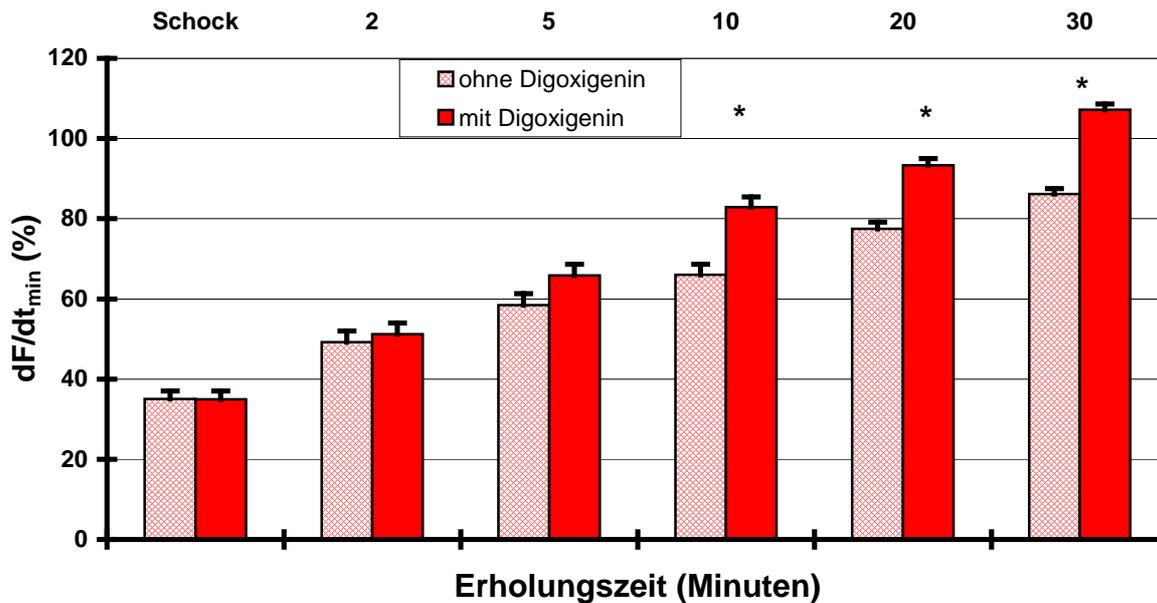


Abb. 4.19: Prozentuale Erholung der  $dF/dt_{\min}$  bei Vorhofmuskelstreifen der VHF-Gruppe mit und ohne den Einfluss von Digoxigenin.

#### 4.5.2 $dF/dt_{\max}$ und $dF/dt_{\min}$ bei Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit SR nach Schock mit und ohne Einfluss von Digoxigenin

In den Abb. 4.20 und 4.21 sind die Erholungsphasen von  $dF/dt_{\max}$  und  $dF/dt_{\min}$  der behandelten und unbehandelten Streifen der SR-Gruppe dargestellt. Sowohl bei  $dF/dt_{\max}$  als auch bei  $dF/dt_{\min}$  können die behandelten Streifen im Vergleich zu den unbehandelten eine positivere Erholungsbilanz aufweisen. Signifikante Unterschiede konnten jedoch nicht aufgezeigt werden. Nach 2 Minuten betrug die  $dF/dt_{\max}$  bei den behandelten Streifen  $14,79 \pm 1,18$  mN/s wobei der Wert bei den unbehandelten Streifen bei  $13,08 \pm 1,21$  mN/s lag. Im weiteren Messverlauf konnten sich beide Gruppen kontinuierlich steigern, wobei zu allen Messzeiten die behandelten Streifen höhere Messwerte erzielten. Nach 30 Minuten erreichten die behandelten Streifen eine  $dF/dt_{\max}$  von  $27,14 \pm 1,93$  mN/s; der Wert der unbehandelten Streifen lag zu diesem Zeitpunkt bei  $22,49 \pm 1,39$  mN/s.

Die Werte für die  $dF/dt_{\min}$  zeigten sowohl bei den behandelten als auch bei den unbehandelten SR-Streifen eine kontinuierliche Steigerung von der zweiten bis zur 30. Minute. Auch hier konnten die behandelten Streifen zu jedem Messzeitpunkt einen höheren Wert erzielen. Nach 5 Minuten Erholungszeit erreichten die behandelten Streifen eine  $dF/dt_{\min}$  von  $-8,29 \pm 0,38$  mN/s; die unbehandelten erreichten lediglich

$-6,38 \pm 0,32$  mN/s. Im Verlauf der Erholungsphase kam es bei beiden Gruppen zu einer kontinuierlichen Steigerung der maximalen Relaxationsgeschwindigkeiten. Die Maximalwerte wurden in beiden Gruppen nach 30 Minuten Erholungszeit erreicht. Bei den behandelten Streifen betrug die  $dF/dt_{\min}$   $-12,99 \pm 0,63$  mN/s; bei den unbehandelten Streifen hingegen nur  $-11,43 \pm 0,69$  mN/s. Signifikante Unterschiede konnten nicht aufgezeigt werden.

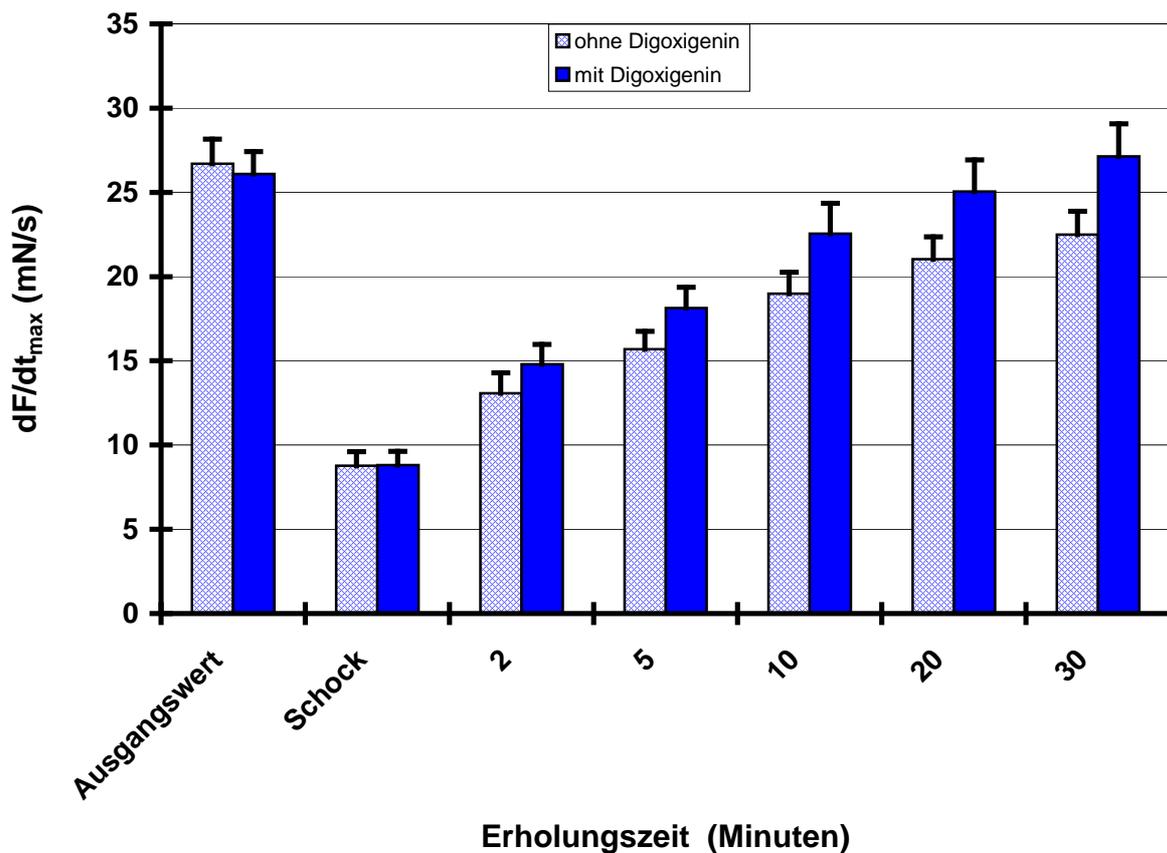


Abb. 4.20: Entwicklung der  $dF/dt_{\max}$  in mN/s bei Vorhofmuskelstreifen der SR-Gruppe mit und ohne Einfluss von Digoxigenin.

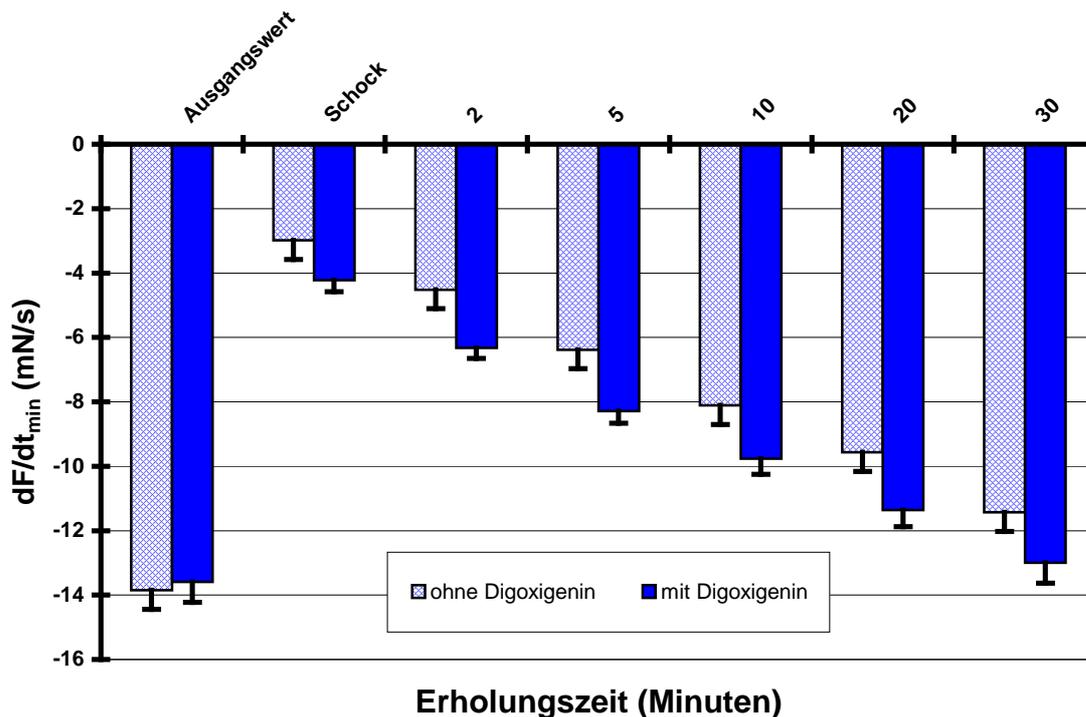


Abb. 4.21: Erholung des Relaxationsparameters  $dF/dt_{\min}$  nach Schock mit und ohne Digoxigenin bei Vorhofmuskelstreifen der SR-Gruppe.

Die Werte der  $dF/dt_{\max}$  (%) und  $dF/dt_{\min}$  (%) in den Abb. 4.22 und 4.23 verdeutlichen, dass es auch signifikante Unterschiede zwischen den behandelten und unbehandelten Sinusstreifen in Bezug auf die Entwicklung der  $dF/dt_{\min}$  gab. In beiden Gruppen kam es ab der zweiten Minute bis zur 30. Minute zu einer kontinuierlichen Steigerung der Messwerte.

Die Werte für die  $dF/dt_{\max}$  (%) zeigten nach 2 Minuten eine Steigerung auf  $48,71 \pm 3,55$  % des Ausgangswertes bei den unbehandelten Streifen; die behandelten Streifen steigerten sich auf  $57,43 \pm 3,92$  % des Ausgangswertes. Bereits ab der 10. Minute konnten signifikante Unterschiede aufgezeigt werden. Nach 30 Minuten erreichten beide Gruppen ihr jeweiliges Maximum; die behandelten Streifen der SR-Gruppe  $102,95 \pm 4,07$  % des Ausgangswertes, wohingegen die unbehandelten Streifen dieser Gruppe mit  $85,11 \pm 3,71$  % signifikant schlechter waren.

Beim Vergleich der Werte für die  $dF/dt_{\min}$  (%) konnten ähnliche Ergebnisse beobachtet werden wie bei der  $dF/dt_{\max}$  (%). Auch hier kam es in beiden Vergleichsgruppen zu einer kontinuierlichen Steigerung der maximalen Relaxationsgeschwindigkeiten, wobei auch hier zu jedem Messzeitpunkt die behandelten Streifen eine bessere Erholungsleistung zeigen konnten als die unbehandelten. Nach 2 Minuten erreichten die unbehandelten Streifen der SR-Gruppe  $34,26 \pm 2,18$  % des Ausgangswertes,

wohingegen die behandelten Streifen zu diesem Zeitpunkt bereits  $47,61 \pm 2,44$  % des ursprünglichen Wertes wiedererlangen konnten. Ab der 20. Minute konnten signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen aufgezeigt werden. Nach 30 Minuten Erholungszeit erreichten sowohl die behandelten als auch die unbehandelten Streifen ihr Maximum. Die behandelten Streifen konnten mit  $95,88 \pm 2,02$  % der Ausgangsgeschwindigkeit eine signifikant höhere Steigerung verzeichnen als die unbehandelten Streifen, die lediglich auf  $83,44 \pm 2,07$  % ihres ursprünglichen Wertes kommen konnten.

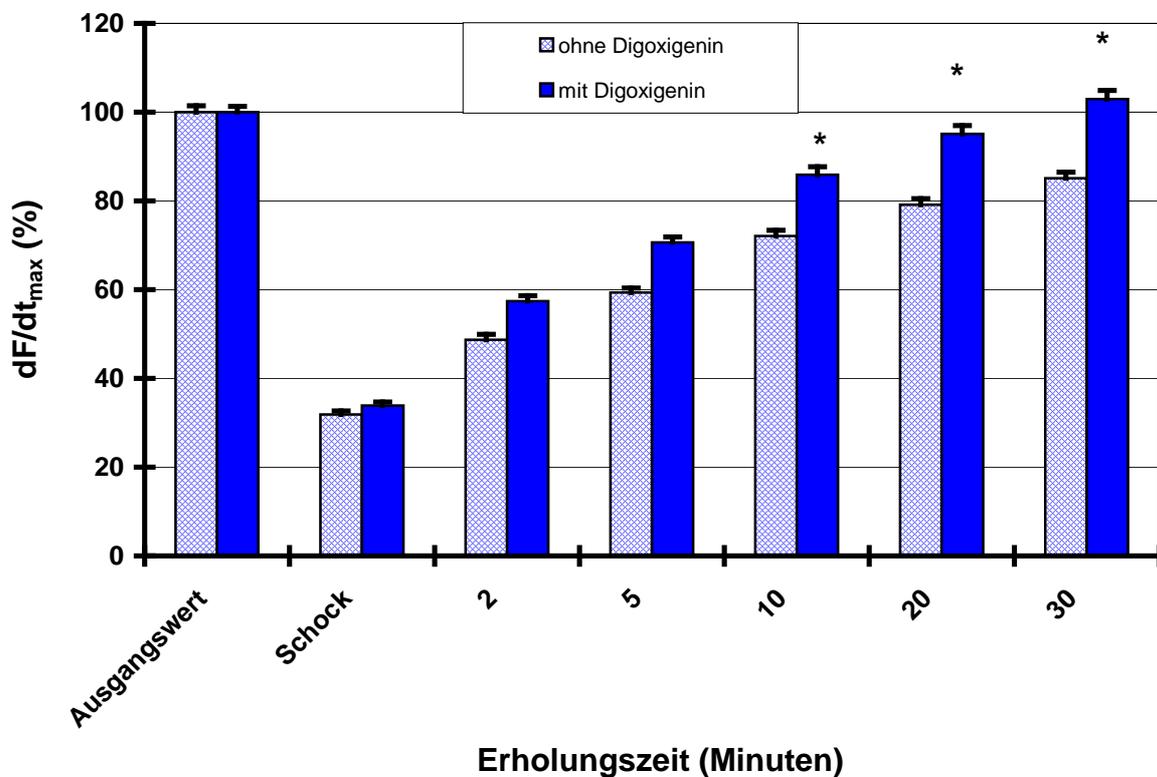


Abb. 4.22: Prozentuale Entwicklung der  $dF/dt_{\max}$  mit und ohne Einfluss von Digoxigenin bei Vorhofmuskelstreifen der SR-Gruppe.

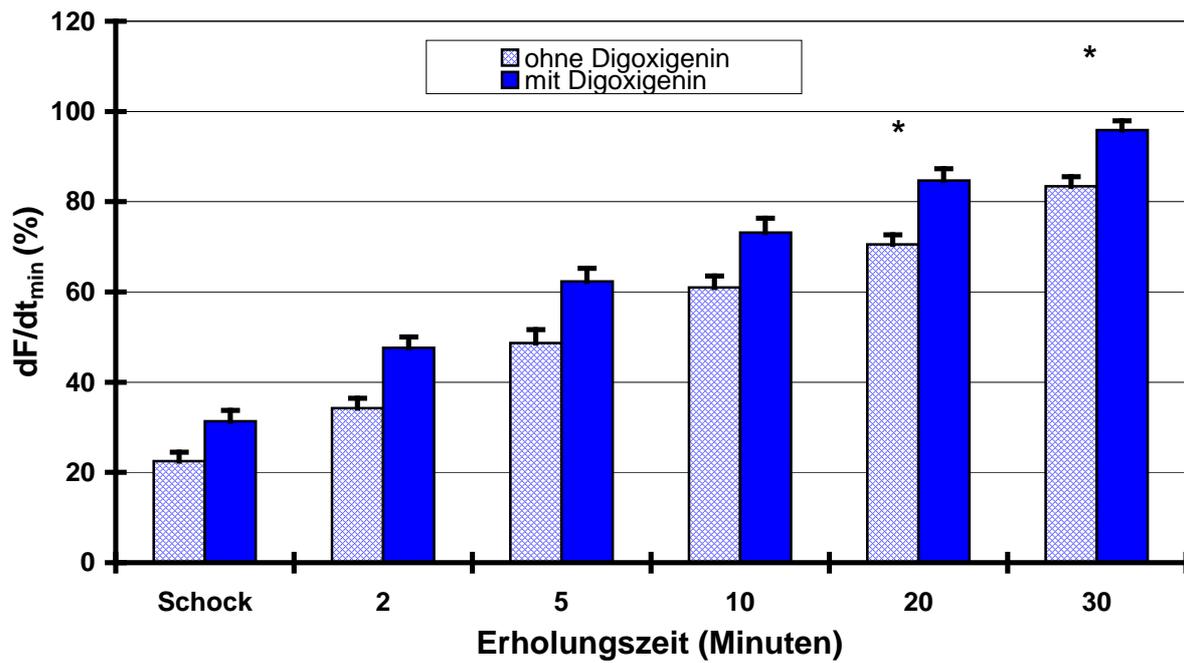


Abb. 4.23: Prozentuale Erholung der  $dF/dt_{\min}$  bei Streifen von Vorhofmuskelstreifen der SR-Gruppe mit und ohne Einfluss von Digoxigenin.

Parameter	Sinusrhythmus	Vorhofflimmern	p-Wert
Anzahl der Proben	17	22	
Durchschnittliche Fläche in mm <sup>2</sup>	2,03 ± 0,12	2,15 ± 0,13	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> bei 2 Hz	15,44 ± 1,04	15,72 ± 0,83	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> bei 1.5 Hz	17,40 ± 1,37	17,85 ± 1,03	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> bei 1 Hz	19,30 ± 1,59	19,52 ± 1,11	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> bei 0.75 Hz	21,84 ± 1,85	21,13 ± 1,27	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> bei 0.5 Hz	22,77 ± 1,87	23,03 ± 1,29	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> bei 0.33 Hz	24,61 ± 1,87	24,73 ± 1,32	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> bei 0.25 Hz	26,27 ± 2,15	26,96 ± 1,52	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) bei 2 Hz	82,60 ± 2,48	81,35 ± 1,56	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) bei 1.5 Hz	90,70 ± 1,04	90,13 ± 0,99	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) bei 0.75 Hz	113,49 ± 3,04	108,00 ± 1,40	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) bei 0.5 Hz	119,24 ± 3,34	118,27 ± 1,60	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) bei 0.33 Hz	129,65 ± 3,40	127,56 ± 2,32	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) bei 0.25 Hz	137,99 ± 4,81	140,02 ± 5,72	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> Isoprenalin 10 <sup>-9</sup> M	30,50 ± 2,00	25,90 ± 1,50	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> Isoprenalin 10 <sup>-8</sup> M	33,46 ± 2,26	28,60 ± 1,56	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> Isoprenalin 10 <sup>-7</sup> M	33,84 ± 2,54	29,21 ± 1,62	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) Isoprenalin 10 <sup>-9</sup> M	160,89 ± 7,85	135,29 ± 5,81	0,0173
dF/dt <sub>max</sub> (%) Isoprenalin 10 <sup>-8</sup> M	176,62 ± 9,29	149,55 ± 6,08	0,0251
dF/dt <sub>max</sub> (%) Isoprenalin 10 <sup>-7</sup> M	177,23 ± 10,72	152,50 ± 5,94	n.s.

Tab. 4.4: Werte für dF/dt<sub>max</sub> in mN/s bzw. das prozentuale Verhältnis zur baseline (dF/dt<sub>max</sub> (%) ) während der Frequenz- und der adrenergen Stimulation an.

Parameter	Sinusrhythmus	Vorhofflimmern	p-Wert
dF/dt <sub>max</sub> baseline	26,70 ± 1,46	21,16 ± 1,14	0,007
dF/dt <sub>max</sub> nach Schock	8,78 ± 0,83	8,60 ± 0,61	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> nach 2 min	13,08 ± 1,21	11,85 ± 0,91	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> nach 5 min	15,70 ± 1,05	13,26 ± 0,90	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> nach 10 min	18,99 ± 1,27	14,68 ± 0,89	0,0114
dF/dt <sub>max</sub> nach 20 min	21,02 ± 1,34	16,84 ± 0,97	0,0207
dF/dt <sub>max</sub> nach 30 min	22,49 ± 1,39	18,61 ± 1,15	0,0497
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach Schock	31,86 ± 2,12	40,55 ± 2,10	0,0101
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach 2 min	48,71 ± 3,55	56,01 ± 2,93	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach 5 min	59,34 ± 2,86	63,10 ± 2,78	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach 10 min	72,09 ± 3,55	69,95 ± 2,51	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach 20 min	79,15 ± 3,09	79,97 ± 2,19	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach 30 min	85,11 ± 3,71	87,69 ± 2,05	n.s.

Tab. 4.5: Messwerte der dF/dt<sub>max</sub> in mN/s und die dF/dt<sub>max</sub> (%) nach dem ersten Schock und der darauffolgenden Erholungsphase ohne den Einfluss eines Medikaments.

Parameter	Sinusrhythmus	Vorhofflimmern	p-Wert
dF/dt <sub>max</sub> baseline	26,09 ± 1,33	20,69 ± 1,19	0,0073
dF/dt <sub>max</sub> nach 2. Schock	8,81 ± 0,81	8,17 ± 0,95	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> nach 2 min	14,79 ± 1,18	14,66 ± 1,59	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> nach 5 min	18,13 ± 1,23	18,54 ± 1,71	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> nach 10 min	22,56 ± 1,80	22,80 ± 1,97	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> nach 20 min	25,05 ± 1,87	26,01 ± 1,93	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> nach 30 min	27,14 ± 1,93	29,54 ± 2,02	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach 2. Schock	33,85 ± 2,87	40,84 ± 4,29	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach 2 min	57,43 ± 3,92	71,21 ± 5,89	n.s.
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach 5 min	70,64 ± 4,16	90,74 ± 6,95	0,0311
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach 10 min	85,89 ± 4,35	111,59 ± 7,64	0,0123
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach 20 min	95,09 ± 4,14	127,83 ± 7,46	0,0014
dF/dt <sub>max</sub> (%) nach 30 min	102,95 ± 4,07	146,01 ± 8,35	0,0002

Tab. 4.6: Messwerte der dF/dt<sub>max</sub> in mN/s und die dF/dt<sub>max</sub> (%) nach dem zweite Schock mit Einfluss von Digoxinin.

Parameter	Sinusrhythmus	Vorhofflimmern	p-Wert
Anzahl der Proben	17	22	
Durchschnittliche Fläche in mm <sup>2</sup>	2,03 ± 0,12	2,15 ± 0,13	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> bei 2 Hz	-8,53 ± 0,59	-8,39 ± 0,45	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> bei 1.5 Hz	-9,38 ± 0,60	-9,47 ± 0,59	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> bei 1 Hz	-10,29 ± 0,62	-10,43 ± 0,63	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> bei 0.75 Hz	-11,62 ± 0,70	-11,33 ± 0,70	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> bei 0.5 Hz	-12,14 ± 0,73	-12,14 ± 0,70	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> bei 0.33 Hz	-13,14 ± 0,74	-12,98 ± 0,72	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> bei 0.25 Hz	-13,93 ± 0,83	-14,30 ± 0,87	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) bei 2 Hz	82,60 ± 2,48	81,46 ± 1,74	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) bei 1.5 Hz	90,70 ± 1,04	90,70 ± 0,73	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) bei 0.75 Hz	113,49 ± 3,04	108,43 ± 1,01	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) bei 0.5 Hz	119,24 ± 3,34	116,82 ± 1,37	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) bei 0.33 Hz	129,65 ± 3,40	125,50 ± 2,20	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) bei 0.25 Hz	137,99 ± 6,81	139,43 ± 6,51	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> Isoprenalin 10 <sup>-9</sup> M	-16,08 ± 0,99	-13,27 ± 0,72	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> Isoprenalin 10 <sup>-8</sup> M	-17,65 ± 1,15	-14,75 ± 0,83	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> Isoprenalin 10 <sup>-7</sup> M	-17,77 ± 1,28	-15,01 ± 0,84	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) Isoprenalin 10 <sup>-9</sup> M	149,46 ± 13,66	129,01 ± 4,58	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) Isoprenalin 10 <sup>-8</sup> M	163,63 ± 15,09	143,38 ± 5,60	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) Isoprenalin 10 <sup>-7</sup> M	164,75 ± 15,59	145,98 ± 5,45	n.s.

Tab. 4.7: Messwerte der dF/dt<sub>min</sub> in mN/s und die dF/dt<sub>min</sub> (%) während der Frequenz- und der adrenergen Stimulation.

Parameter	Sinusrhythmus	Vorhofflimmern	p-Wert
dF/dt <sub>min</sub> baseline	-13,85 ± 0,85	-11,29 ± 0,61	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> nach Schock	-2,99 ± 0,27	-3,98 ± 0,32	0,0178
dF/dt <sub>min</sub> nach 2 min	-4,52 ± 0,28	-5,49 ± 0,37	0,0392
dF/dt <sub>min</sub> nach 5 min	-6,38 ± 0,32	-6,59 ± 0,47	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> nach 10 min	-8,11 ± 0,36	-7,41 ± 0,46	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> nach 20 min	-9,57 ± 0,55	-8,70 ± 0,46	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> nach 30 min	-11,43 ± 0,69	-9,75 ± 0,57	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach Schock	22,52 ± 1,95	35,00 ± 2,04	0,0002
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach 2 min	34,26 ± 2,18	49,20 ± 2,81	0,0008
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach 5 min	48,71 ± 2,96	58,45 ± 2,84	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach 10 min	61,00 ± 2,54	66,05 ± 2,56	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach 20 min	70,54 ± 2,11	77,50 ± 1,62	0,0388
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach 30 min	83,44 ± 2,07	86,18 ± 1,37	n.s.

Tab. 4.8: Messwerte der dF/dt<sub>min</sub> in mN/s und die dF/dt<sub>min</sub> (%) nach dem ersten Schock und der darauffolgenden Erholungsphase ohne den Einfluss von Digoxigenin.

Parameter	Sinusrhythmus	Vorhofflimmern	p-Wert
dF/dt <sub>min</sub> baseline	-13,59 ± 0,63	-11,29 ± 0,67	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> nach 2. Schock	-4,22 ± 0,36	-3,74 ± 0,23	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> nach 2 min	-6,33 ± 0,32	-5,73 ± 0,37	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> nach 5 min	-8,29 ± 0,38	-7,39 ± 0,48	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> nach 10 min	-9,76 ± 0,49	-9,30 ± 0,63	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> nach 20 min	-11,36 ± 0,51	-10,45 ± 0,63	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> nach 30 min	-12,99 ± 0,63	-12,07 ± 0,73	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach 2. Schock	31,32 ± 2,42	34,96 ± 2,62	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach 2 min	47,61 ± 2,44	51,17 ± 2,18	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach 5 min	62,35 ± 2,88	65,82 ± 2,37	n.s.
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach 10 min	73,17 ± 3,19	82,92 ± 3,36	0,0319
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach 20 min	84,66 ± 2,61	93,33 ± 3,04	0,0227
dF/dt <sub>min</sub> (%) nach 30 min	95,88 ± 2,02	107,20 ± 2,81	0,0033

Tab. 4.9: Messwerte der dF/dt<sub>min</sub> in mN/s und die dF/dt<sub>min</sub> (%) nach dem zweite Schock mit Einfluss von Digoxigenin.

---

## 5. Diskussion

Das atrial stunning, die temporär auftretende mechanische Dysfunktion des Atriums, ist ein immer wieder auftretendes Problem nach erfolgreicher Kardioversion eines Vorhofflimmerns in einen Sinusrhythmus. Dieses Phänomen kann nach allen Methoden der Kardioversion beobachtet werden. Aufgrund der mangelnden Kontraktilität des Atriums sind die Patienten innerhalb eines Zeitintervalls von bis zu drei Monaten einem deutlich erhöhten Risiko eines thromboembolischen Infarktes ausgesetzt (Goette et al., 2006; Takagi et al., 2005). Eine effektive Therapie, die das Zeitintervall verkürzt oder das Ausmaß des atrial stunning abschwächt, konnte bisher noch nicht gefunden werden.

Bis heute ist der genaue pathophysiologische Zusammenhang, der zum Auftreten des atrial stunning führt, nicht eindeutig geklärt. Aktuell werden in der Literatur mehrere mögliche Phänomene diskutiert, die zur Ausprägung des atrial stunning führen. Insbesondere die durch das atrial remodelling hervorgerufenen Veränderungen auf verschiedenen zellulären Ebenen wie die veränderte  $Ca^{2+}$ -konzentrationen im Zytosol der Vorhofmuskelzellen, atriale Hibernation sowie atriale Fibrosierung stehen hierbei im Fokus (Sun et al., 1998). Ein eindeutig ursächlicher Mechanismus wurde bisher nicht isoliert. Es kann auch nicht davon ausgegangen werden, dass nur ein einziger pathologischer Mechanismus die Veränderungen der kontraktilen Eigenschaften hervorruft (Dispersy et al., 1999; Schotten et al., 2002).

Ziel der nachfolgenden Diskussion ist es, einen möglichen Effekt von Digoxigenin auf die Mechanismen des atrial stunning aufzuzeigen, die pathophysiologischen Hintergründe und mögliche klinische Konsequenzen darzulegen.

### 5.1 Kraft-Frequenz-Beziehung bei Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit VHF und SR

Es konnte gezeigt werden, dass die absolut entwickelte Kraft der Herzmuskelzellen bei Patienten mit Vorhofflimmern durchweg niedriger war (durch die relativ hohe Streuung aber nicht signifikant) als die bei Patienten mit Sinusrhythmus. Wie in Abb. 4.1 ersichtlich, wurde bei jeder der ausgewählten Frequenzen von den Vorhofmuskelstreifen der SR-Gruppe eine höhere durchschnittliche maximale

Kontraktionskraft pro Fläche erreicht als bei denen der VHF-Gruppe. Bei einer Stimulationsfrequenz von 0,25 Hz erreichten Streifen der VHF-Gruppe  $3,33 \pm 0,29$  mN / mm<sup>2</sup>, wohingegen die der SR-Gruppe durchschnittlich  $3,50 \pm 0,31$  mN / mm<sup>2</sup> entwickeln konnten. Bei 2 Hz erreichten die Streifen der VHF-Gruppe  $1,44 \pm 0,16$  mN / mm<sup>2</sup>; die der SR-Gruppe erreichten  $1,72 \pm 0,17$  mN / mm<sup>2</sup>.

Bei normalem Herzmuskelgewebe führt eine erhöhte Schlagfrequenz zu einer erhöhten Kraftentwicklung. Dies wird als das Bowditch Treppenphänomen bezeichnet. In verschiedenen Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass bei chronisch insuffizientem Herzmuskelgewebe ein umgekehrter Effekt zu beobachten ist (Mulieri et al., 1992; Schwinger et al., 1993). Die hier gemessenen Ergebnisse decken sich mit denen der vorangegangenen Studien. Ursächlich ist eine veränderte intrazelluläre Kalziumhomöostase im Sinne einer eingeschränkten Funktion des sarkoplasmatischen Retikulums (Bers et al., 1985).

Die Vorhofmuskelstreifen der VHF-Gruppe zeigten eine prozentual deutlichere Veränderung als die Streifen der SR-Gruppe. Dies ist ein Zeichen für das Vorliegen des atrial remodelling bei den VHF-Streifen.

## 5.2 $\beta$ -adrenerger Effekt von Isoprenalin auf Vorhofmuskelstreifen

Im zweiten Arbeitsschritt wurde die Reaktion der Vorhofstreifen auf den  $\beta$ -Adrenozeptoragonisten Isoprenalin untersucht. Dieser wirkt sowohl an den  $\beta$ -1- als auch an den  $\beta$ -2-Rezeptoren positiv inotrop und stellt so einen bedeutenden Regulationsmechanismus der Herzarbeit dar. In den Arbeiten von Khamssi und Broder (1990) und Pieske et al. (1992) konnte eine deutliche Verbesserung der Schlagkraft im Vergleich zur Ausgangslage nachgewiesen werden.

Dieser Effekt konnte auch in dieser Versuchsreihe aufgezeigt werden. Wie in den Abb. 4.3, 4.10 und 4.11 zu erkennen ist, äußerte sich dies in einer Verbesserung der FOC/A, der  $dF/dt_{\max}$  und der  $dF/dt_{\min}$  sowohl in der SR- als auch in der VHF-Gruppe. Bei einer Zufuhr von Isoprenalin mit einer Konzentration von  $10^{-9}$  Mol kam es in der SR-Gruppe zu einem Anstieg der FOC/A auf  $148,16 \pm 8,78$  % im Vergleich zur baseline (37°C, 1 Hz, Tyrode-Lösung); in der VHF-Gruppe konnte, im Vergleich zur baseline, eine Steigerung auf  $140,94 \pm 7,15$  % verzeichnet werden. Die maximale Steigerung wurde in beiden Gruppen bei einer Erhöhung der Isoprenalinkonzentration auf  $10^{-8}$  Mol erreicht.

---

Bei einer weiteren Steigerung auf  $10^{-7}$  Mol kam es in beiden Gruppen zu einem leichten Rückgang der FOC/A. Eine Ursache dafür könnte eine verminderte Ansprechbarkeit auf höhere Dosen aufgrund der reduzierten Anzahl der  $\beta$ -Adrenozeptoren sein. Bei VHF-Muskelstreifen ist dieser Effekt deutlicher zu erkennen als bei SR-Muskelstreifen. Auslöser hierfür ist eine dauerhaft erhöhte Katecholaminkonzentration im Blut bei chronisch herzinsuffizienten Patienten. Es besteht eine positive Korrelation zwischen Schweregrad der Herzschädigung und des Ausmaßes der verminderten Genexpression der  $\beta$ -Adrenozeptoren. Die Auswertung der Ergebnisse der Versuche zeigt eine größere Vorschädigung der Muskelstreifen der VHF-Gruppe im Vergleich zur SR-Gruppe.

### **5.3 Veränderung der entwickelten FOC/A und der erreichten $dF/dt_{\max}$ und $dF/dt_{\min}$ nach Gleichstromschädigung der Muskelstreifen ohne Medikamenteneinfluss**

Nach dem ersten Stromschock reduzierte sich die Kontraktionskraft auf etwa 20 % des Ausgangswertes. Während der Erholungsphase von 30 Minuten konnte jedoch nur eine langsame Kraftsteigerung erreicht werden. Dabei wurde jedoch ein Wert von 80 % des Ausgangswertes nicht überschritten. Somit konnte eine Simulation der Schädigung im Sinne eines atrialen stunnings erreicht werden. Der Muskel ist zwar noch vital, jedoch besteht eine deutliche Einschränkung der Kontraktilität. Nach dem zweiten Schock direkt im Anschluss reduzierte sich die Kraft erneut; die Kontraktionskraft lag jedoch im zweiten Durchlauf unterhalb des Wertes nach dem ersten Schock. Auch hier erfolgte nun eine Erholungsphase von 30 Minuten. Jedoch lag die erreichte Kraft danach unterhalb der Werte des ersten Schocks. Somit ist davon auszugehen, dass sich der Muskel nach zweimaligem Schocken nicht im Sinne eines preconditioning daran gewöhnt haben kann, sondern vielmehr eine stärkere Schädigung als nach dem ersten Schock vorliegt (Rodrigo et al., 2008). Deshalb kann daraus die Schlussfolgerung gezogen werden, dass durch das Hinzugeben des Medikamentes nach dem ersten Schock, ein positiver Effekt auf die Kontraktilität nicht auf andere Ursachen zurückzuführen ist als auf das Medikament selbst.

#### 5.4 Möglicher kardioprotektiver Effekt von Digoxigenin auf Vorhofmuskelstreifen nach Gleichstromschock

Um einen möglichen kardioprotektiven Effekt von Digoxigenin auf Vorhofmuskelstreifen nach Gleichstromschock aufzuzeigen, wurde die maximal entwickelte Kontraktionskraft pro Fläche (FOC/A) mit und ohne den Einfluss des Medikamentes ermittelt und gemessen. Die Hauptaussage der Versuche mit Medikamenteneinfluss spiegelt sich in den Abb. 4.5 und Abb. 4.6 wider. Insbesondere Abb. 4.5 macht deutlich, dass mit Einfluss von Digoxigenin bereits nach 10 Minuten Erholungszeit die prozentuale maximale Kontraktionskraft pro Fläche bei den Streifen der VHF-Gruppe signifikant höher lag als bei den Muskeln der SR-Gruppe. Auch im Vergleich von Streifen mit nachgewiesenem Vorhofflimmern untereinander konnte bereits nach 5 Minuten eine signifikant höhere FOC/A % durch die Zugabe von Digoxigenin erreicht werden. Ebenfalls untersucht wurden die maximalen Kontraktions- und Relaxationsgeschwindigkeiten  $dF/dt_{max}$  und  $dF/dt_{min}$ . In der Abb. 4.14 ist zu erkennen, dass die  $dF/dt_{max}$  bereits nach 5 Minuten sowohl im Vergleich zu unbehandelten Streifen der VHF-Gruppe als auch im Vergleich zu behandelten Streifen der SR-Gruppe signifikant besser war.

Mehrere experimentelle Studien konnten zeigen, dass Digitalis die Kontraktilität der Vorhofmuskelzellen positiv beeinflusst (Fozzard und Sheets, 1985; D'Urso et al., 2008). Ein Einfluss auf die Relaxationszeit konnte jedoch bisher nicht experimentell nachgewiesen werden. Auch in der klinischen Untersuchung mit Hilfe von Doppler- und Echosonographie von Hassapoyannes et al. (2001) konnte kein Einfluss auf die Relaxationsgeschwindigkeit durch Digitalis nachgewiesen werden. Es bleibt zu klären, weshalb Digoxigenin die kontraktiven Eigenschaften der VHF-Muskelzellen signifikant gegenüber den SR-Muskelzellen verbessert.

Der wesentliche Unterschied zwischen den Vorhofmuskelzellen der SR- und der VHF-Gruppe liegt darin, dass die Zellen der VHF-Gruppe während des Vorhofflimmerns einem strukturellen und elektrischen remodelling unterworfen waren. Es besteht ein direkter Zusammenhang zwischen Ausmaß der Remodellingprozesse und der Dauer des Vorhofflimmerns. Daoug et al. (1999) zeigten, dass Verapamil, ein Kalziumkanalblocker, eine abschwächende Wirkung auf das atrial stunning zeigen konnte. In dieser Studie wurden jedoch Patienten mit gesichertem Vorhofflimmern, ausgelöst durch atrial pacing für eine Dauer von 10 Minuten, untersucht. Dies stellt

lediglich einen kurzen Zeitraum dar. Es ist daher nur bedingt davon auszugehen, dass das elektrische remodelling bereits in vollem Ausmaß ausgeprägt war.

Dies lässt den Schluss zu, dass die Auswirkungen der Remodellingprozesse, die eine verminderte Kontraktilität bewirken, positiv durch Digoxigenin beeinflusst werden.

Die genauen Mechanismen, die dem atrial stunning zugrunde liegen, sind noch nicht endgültig geklärt worden. Es ist jedoch bereits anerkannt, dass die Ursache für die mechanische Dysfunktion der Vorhofmuskelzellen in den zellulären Veränderungen liegt, die sich während der Phase des persistierenden Vorhofflimmerns, also vor der Kardioversion und der sich anschließenden Erholungsphase, vollziehen. In den aktuellen Studien werden verschiedene mögliche Ursachen für das atriale stunning aufgeführt. Die am intensivsten diskutierten pathophysiologischen Mechanismen, ausgelöst durch atriales remodelling, sind veränderte  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen im Zytosol sowie die atriale Hibernation (Khan, 2003).

Im Folgenden soll erläutert werden, inwiefern der oben beschriebene positive Effekt von Digoxigenin durch Beeinflussung der bisher anerkannten pathophysiologischen Mechanismen des atrialen stunnings erklärt werden kann.

#### **5.4.1 Einfluss von Digoxigenin auf die auf veränderte $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen im Zytosol**

Die Tachykardie-induzierte ventrikuläre Kardiomyopathie ist ein sehr genau untersuchtes Phänomen, das durch Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren sowie der Dysfunktion des sarkoplasmatischen Retikulums erklärt werden kann (Gao et al., 1997). Es handelt sich um ein vollständig reversibles Erscheinungsbild. Diese Veränderungen können jedoch bei der Tachykardie-induzierten Vorhofmyopathie (atrial remodelling) nicht beobachtet werden (Friedman et al., 2000; Sun et al., 1998). Einen ersten Erklärungsansatz für diesen bisher noch nicht vollständig verstandenen Vorgang konnten Schotten et al. (2002) liefern, indem sie eine vermehrte  $\text{Ca}^{2+}$ -Ansammlung (calcium overload) während der Phase des bestehenden Vorhofflimmerns beschrieben. Bei Rückkehr zum Sinusrhythmus kommt es jedoch, aufgrund der deutlich reduzierten Erregungsfrequenz, zu einem raschen Absinken der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration. Es ist bereits anerkannt, dass der positiv-inotrope Effekt von Herzglykosiden durch die Beeinflussung des NCX durch Inhibition der Na-K-ATPase erreicht wird (Akeru und

---

Brody, 1977). Durch Bindung von Digoxigenin kommt es zu einer Fixierung des Enzyms in der geschlossenen  $E_2$ -Konformation; die Funktion ist nun deutlich eingeschränkt.

Um die Herzmuskelzellen erschlaffen zu lassen, muss die intrazelluläre  $Ca^{2+}$ -Konzentration nach erfolgter Kontraktion wieder verringert werden. Um dies zu ermöglichen, setzen zwei prinzipielle Mechanismen ein. Zum einen wird durch die SERCA ein aktiver Transport von  $Ca^{2+}$ -Ionen zurück in das sarkoplasmatische Retikulum realisiert. Zum anderen kann der NCX mit Hilfe des  $Na^+$ -Gradienten entlang der Zellmembran  $Ca^{2+}$ -Ionen aus der Zelle heraus und in die Zelle hinein transportieren (Bers, 1985). Digitalispräparate bewirken über eine Hemmung der Na-K-ATPase einen Anstieg der intrazellulären  $Na^{2+}$ -Konzentration. Dies hat zur Folge, dass den NCX das notwendige Konzentrationsgefälle fehlt, um  $Ca^{2+}$ -Ionen aus der Zelle heraus zu transportieren. Es verbleiben mehr  $Ca^{2+}$ -Ionen im Zytosol, was wiederum zu einer gesteigerten Kontraktilität führt (Bauer et al., 1989; James et al., 1999). Im Zytosol der von Vorhofflimmern betroffenen Vorhofmuskelzellen liegt jedoch ein calcium overload vor. Es erscheint daher paradox, weshalb eine zusätzliche Steigerung der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration zu einer verbesserten Kontraktilität führt.

Einen möglichen Erklärungsansatz lieferten die Ergebnisse mehrerer Studien, in denen gezeigt werden konnte, dass verschiedene Isoformen der  $\alpha$ -Untereinheit der Na-K-ATPase existieren (He et al., 2001; Golovina et al., 2003; Lee et al., 2006). Bereits in mehreren Studien konnte aufgezeigt werden, dass alle Isoformen ähnliche enzymatische Fähigkeiten besitzen, nahezu die gleiche Affinität zu Kationen aufweisen und bei nahezu allen Säugetieren die gleiche Affinität zu Herzglykosiden besitzen (Munzer et al., 1994; James et al., 1999). Insbesondere die Isoformen der  $\alpha$ -Untereinheit ( $\alpha$ -1 und  $\alpha$ -2) der Na-K-ATPase sind von besonderem Interesse. Während die  $\alpha$ -1-Unterform ubiquitär verteilt in den Zellmembranen aller humaner Zellen nachgewiesen werden konnte, konnte die  $\alpha$ -2-Untereinheit bisher nur in Herzmuskelzellen, Neuronen und in Skelettmuskelzellen gefunden werden (Aperia, 2007; Golovina et al., 2003; Lee et al., 2006). Nicht nur bei Herzmuskelzellen sondern auch bei quergestreifter Muskulatur konnte aufgezeigt werden, dass die  $\alpha$ -1- und  $\alpha$ -2-Isoformen unterschiedliche Aufgaben erfüllen. Golovina et al. (2003) führten Versuche durch, in denen zunächst die  $\alpha$ -1-Untereinheit in Tierzellen vermindert exprimiert wurde. Die Folge war eine erhebliche Veränderung der intrazellulären  $Na^+$ -Konzentration durch die nachfolgende Inhibition der Na-K-ATPase mit einem Digitalis.

Golovina et al. (2003) wiesen in einem Tiermodell mit Hilfe von Knockout-Mäusen nach, dass eine Reduktion der  $\alpha$ -2-Isoformen nahezu keinen Effekt auf die intrazelluläre  $\text{Na}^+$ -Konzentration hatte. Eine andere Forschungsgruppe um He et al. (2001) konnte im Tiermodell mit Knockout-Mäusen aufzeigen, dass eine isolierte Inhibition der  $\alpha$ -2-Unterform eine Verbesserung der Kontraktilität der Herzmuskelzellen nach sich zog. Es stellte sich also die Frage, weshalb eine Inhibition der  $\alpha$ -2-Unterform scheinbar eine besondere Rolle zu spielen scheint, obwohl alle Untereinheiten nahezu dieselbe Affinität zu Digitalis besitzen? Diese besondere Isoform befindet sich innerhalb der Zellmembran nahezu ausschließlich in unmittelbarer Nähe des sarkoplasmatischen Retikulums. Die Einheit aus Na-K-ATPase mit  $\alpha$ -2-Unterform und dem sarkoplasmatischen Retikulum wird als Plasmerosom bezeichnet (Juhaszova et al., 1997). Des Weiteren konnte eine Kollokalisierung von NCX in den Bereichen der Plasmerosomen nachgewiesen werden (James et al., 1999). Es ist daher nicht verwunderlich, dass durch diese spezifische Anordnung eine Regulation der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen und somit auch der Kontraktilität dieser Zelle möglich ist, die durch Digoxigenin effektiv beeinflusst werden kann. Im Vergleich von VHF- und SR-Muskelzellen fällt eine signifikante Verbesserung der FOC/A der VHF-Gruppe nach 10 Minuten Erholungszeit mit Einfluss von Digoxigenin auf. Während bei SR-Muskelstreifen eine weitestgehend physiologischen Kalziumhomöostase vorliegt, kommt es bei VHF-Muskelzellen zu einem initialen calcium overload mit den anschließend einsetzenden Regulationsmechanismen. Während der Versuchsreihe kommt es jedoch plötzlich durch regelmäßige Schlagfrequenz zu einer  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenknappheit da deutlich weniger  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen in die Zelle gelangen. Die Folge ist eine verminderte Kontraktilität der Zelle. Aufgrund der speziellen Anordnung in Form des Plasmerosomen kann durch Digitalis die lokale  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration bereits durch die Hemmung weniger Moleküle der Na-K-ATPase gesteigert werden. Die Folge ist eine deutlich vermehrte Freisetzung von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen an die kontraktilen Proteine. Durch diese gezielte Steuerung kann durch Digoxigenin ein abschwächender Effekt auf das atriale stunning erreicht werden.

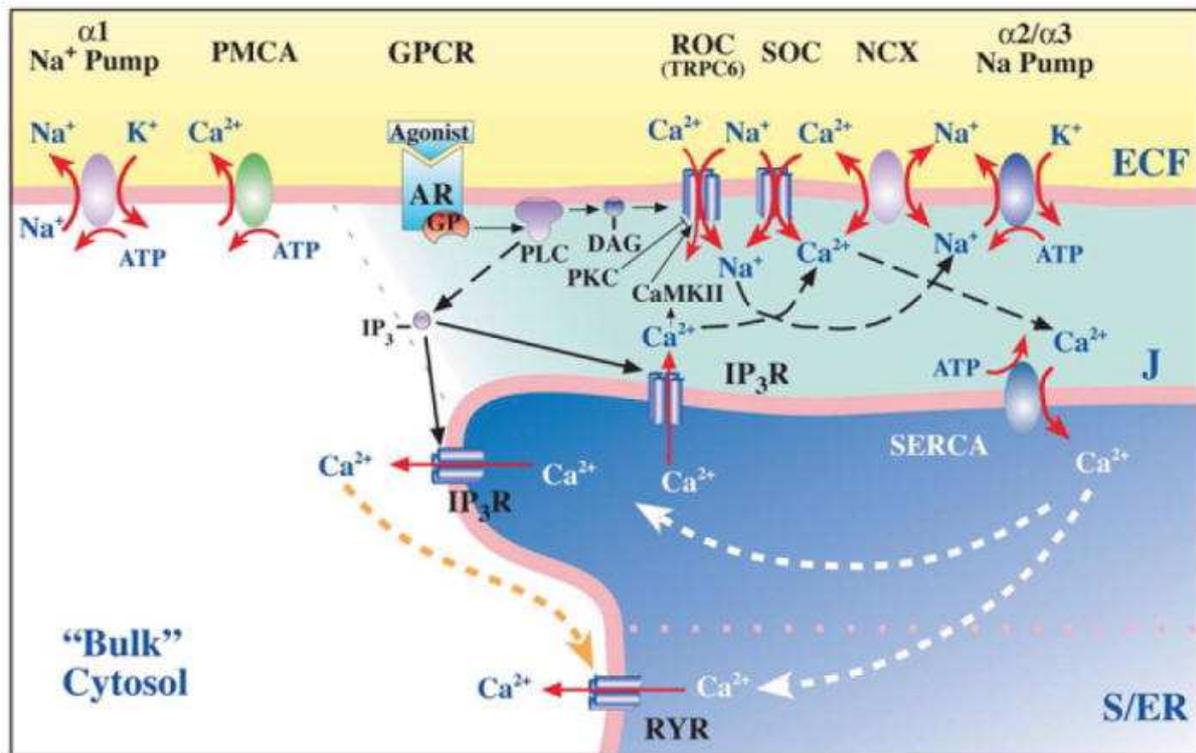


Abb. 5.1 Modell des Plasmerosomen sowie der Anordnung der α-2-Isoformen im Bereich der Zellmembran (aus: Blaustein und Wier, 2007)

#### 5.4.2 Einfluss von Digoxigenin auf atriale Hibernation, Zelldifferenzierung und Zellproliferation

Permanentes Vorhofflimmern führt zu verschiedenen elektrophysiologischen, kontraktilen und strukturellen Veränderungen in den Zellen des Vorhofmyokards, unter anderem auch zu einer Dedifferenzierung zu einer eher embryonalen Vorstufe (Grice et al., 1987; Thijssen et al., 2000). Diese Vorgänge werden als Hibernation bezeichnet. Ausma et al. (1997) konnten beobachten, dass nach mehrwöchigem atrial pacing das so ausgelöste Vorhofflimmern bei Ziegen zu einer Veränderung der intrazellulären Strukturen führte. Mit Hilfe der Elektronenmikroskopie fielen insbesondere die Auslöschung von Sarkomeren, eine verminderte Anzahl von Myofibrillen, Ansammlungen von Glykogen sowie eine Fragmentierung des sarkoplasmatischen Retikulums auf.

Eine mögliche Ursache für die verminderte Kontraktilität nach Wiedererlangung des Sinusrhythmus könnte die verminderte Zahl an kontraktilen Elementen sein (Ausma et al., 1997; Banach et al., 2003; Dispersyn et al., 1999). Eindeutige Hinweise auf einen bevorstehenden Zelltod, wie Lipideinlagerungen oder Unterbrechungen der

---

Zellmembran, konnten jedoch nicht gesehen werden. Ausma et al. (1997) werteten diese beschriebenen Adaptionsmechanismen als programmiertes Zellüberleben. Die Abläufe und Veränderungen entsprachen den Mechanismen der chronischen Hibernation von Ventrikelmuskelzellen, welche durch die Reduktion der Zellfunktionen und –aktivität gekennzeichnet sind. Ziel ist der Schutz der Zelle vor äußeren Einflüssen wie Sauerstoffmangel oder calcium overload (Gao et al., 1995).

In den Forschungsergebnissen von Cuff et al. (1975) und Kaplan et al. (1978) zeigten sich bereits erste Hinweise darauf, dass Digitalis nicht nur eine hemmende Wirkung auf die Na-K-ATPase ausüben, sondern auch mitverantwortlich sind für die Regulation der Zellproliferation. Darauf aufbauend wurde gezeigt, dass zusätzlich zur Konformationsänderung am Enzym eine Aktivierung der SERCA erfolgt. Deshalb ist in diesem Falle auch vom Na-K-ATPase-SERCA-Rezeptorkomplex die Rede, da dieser, über eine Aktivierung der SERCA über mehrere Zwischenschritte, zu einer Phosphorylierung der ERK-1 und ERK-2 führt (Aizman et al., 2001; Aperia, 2007; Gheorghide et al., 1991; Li Z et al., 2009; Lichtstein et al., 2000; Sweadner, 2008). In der Studie von D'Urso et al. (2008) wurde ebenfalls die Möglichkeit diskutiert, dass es neben dem bekannten Wirkungsort der Digitalis, an der Na-K-ATPase, noch alternative Wirkungsmechanismen geben könnte. Auch hier kam man zu dem Ergebnis, dass über die Aktivierung der ERK-1 und ERK-2, ausgelöst durch die Bindung eines Digitalispräparates, eine Proliferation der Zelle durch Regulierung der Gen-Expression, des Zellmetabolismus sowie der Zellmorphologie möglich erscheint (Peng et al., 1996). Li J et al. (2006) und Trevisi et al. (2004) konnten unabhängig voneinander nachweisen, dass Ouabain einen protektiven Effekt auf Nierenzellen ausübt und so eine Apoptose verhindern konnte. Cuff et al. (1975), Liu et al. (2004) und Khundmiri et al. (2007) belegten, dass es durch niedrige Dosierung von Ouabain zu einer Zellproliferation und einem dezenten Zellwachstum kommen konnte. Es ist daher möglich, dass funktionell beeinträchtigtes Vorhofmyokard durch Digoxigenin zu einer schnelleren Regeneration aus der Hibernation angeregt wird. Die Folge wäre eine schnellere Wiedererlangung der optimalen Kontraktionskraft der Vorhofmuskelzellen.

### **5.5 Klinische Bedeutung und Ausblick**

Da es im Rahmen von Kardioversionen, gleich mit welcher Methode umgesetzt, zum immer wiederkehrenden Phänomen des atrialen stunnings kommt, ist es absolut notwendig eine Therapie zu entwickeln, die diese mechanische Dysfunktion zumindest effektiv abschwächen kann. Oberstes Ziel ist es, thromboembolische Ereignisse so weit wie möglich zu verhindern. Ein weiteres wichtiges Ziel stellt die damit verbundene verkürzte Anwendung von Antikoagulantien dar. Somit wäre auch eine Verringerung des Komplikationsrisikos, welches durch diese Medikamente nicht unerheblich erhöht ist, möglich.

In einer aktuellen Studie von Yujing et al. (2010) wurden klinische Untersuchungen mit Digitalisgabe nach erfolgreicher elektrischer Kardioversion durchgeführt. Dabei konnten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Digitalis- und der Placebo-Gruppe aufzeigen lassen. Da in diesem Beispiel jedoch nur eine kleine Gruppe von Patienten untersucht wurde und das beim jeweils untersuchten Patienten nachgewiesene Vorhofflimmern erst seit relativ kurzer Zeit bestand, bleibt weiterhin die Frage offen, ob Digitalis trotzdem eine therapeutische Konsequenz haben kann. In der hier durchgeführten Versuchsreihe wurden Muskelstreifen von Patienten mit einem relativ lange bestehendem permanenten Vorhofflimmern verwendet. Möglicherweise entfaltet Digoxigenin seine vollständige Wirkung erst bei bereits längerfristig geschädigten Herzmuskelzellen. Des Weiteren ist festzuhalten, dass die Patienten erst nach der durchgeführten Kardioversion für eine Woche mit Digitalis behandelt wurden. Vielleicht ist im Rahmen der Studie von Yujing et al. (2010) nicht bei jedem Patienten ein therapeutisch wirksamer Spiegel erreicht worden.

Im Rahmen der hier durchgeführten in-vitro Versuche kann insgesamt ein signifikanter abschwächender Effekt auf das atrial stunning durch die Behandlung mit Digitalis nachgewiesen werden. Direkte Rückschlüsse auf klinische Konsequenzen oder Auswirkungen können damit jedoch noch nicht getroffen werden. Es würde sich aber dennoch anbieten, aufgrund der erhobenen Labordaten weitere klinische Versuche durchzuführen.

## 6. Zusammenfassung

Die am häufigsten auftretende supraventrikuläre Herzrhythmusstörung, das Vorhofflimmern, ist eine komplexe und in der Praxis oft nur schwer zu behandelnde Erkrankung. Aktuell existieren mehrere Therapieansätze, um ein Vorhofflimmern in einen Sinusrhythmus zu konvertieren. Die temporär auftretende mechanische Dysfunktion der Vorhofmuskulatur nach erfolgreicher Kardioversion, das atrial stunning, stellt aber ein wesentliches Problem dar. Da diese Beeinträchtigung der Kontraktionskraft der Vorhofmuskelzellen trotz wiederhergestelltem Sinusrhythmus nach jeder Form der Kardioversion auftritt und weiterhin ein deutlich erhöhtes Embolie- und Schlaganfallrisiko besteht, ist eine Fortführung der Antikoagulation mit den damit verbundenen Risiken bisher unverzichtbar. Die Möglichkeit der pharmakologischen Beeinflussung dieses Effekts sollte daher genauer erforscht werden.

Bisherige Laboruntersuchungen lieferten Hinweise, dass Digitalispräparate das Ausmaß des atrial stunnings möglicherweise abschwächen könnten. Es sind jedoch bisher noch keine in-vitro Versuche an humanen Vorhofmuskelstreifen durchgeführt worden. Im Rahmen der hier durchgeführten Versuchsreihe wurden Vorhofmuskelstreifen von Patienten mit nachgewiesenem Vorhofflimmern und mit gesichertem Sinusrhythmus elektrischem Gleichstrom ausgesetzt, um ein atrial stunning zu simulieren.

Um eine objektive Beurteilung des Einflusses von Digitalis auf die mechanische Dysfunktion der Vorhofmuskelzellen nach Gleichstromschock zu ermöglichen, wurden ausgewählte Kontraktilitätsparameter sowohl mit als auch ohne den Einfluss von Digoxigenin untersucht. Hierbei wurde in eine Gruppe von Patienten mit nachgewiesenem Vorhofflimmern und in eine Kontrollgruppe von Patienten mit gesichertem Sinusrhythmus unterteilt.

Im Rahmen dieser in-vitro Versuche gelang es nachzuweisen, dass die mit Digoxigenin behandelten Vorhofmuskelstreifen der VHF-Gruppe sowohl im Vergleich zu den Streifen der SR-Gruppe als auch den unbehandelten Streifen derselben Gruppe eine signifikant höhere Kraftentwicklung (FOC/A) und eine signifikante Steigerung der maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit ( $dF/dt_{max}$ ) aufweisen konnten. Aufgrund dieser vielversprechenden Ergebnisse sollten weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um eventuell auch einen klinisch relevanten Nutzen zu ermöglichen.

## 7. Literaturverzeichnis

- 1 Allesie M, Ausma J, Schotten U. Electrical, contractile and structural remodeling during atrial fibrillation. *Cardiovasc Res.* 2002;54:230-246.
- 2 Aizman O, Uhlén P, Lal M, et al. Ouabain, a steroid hormone that signals with slow calcium oscillations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:13420-13424.
- 3 Akera T, Brody T. The role of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase in the inotropic action of digitalis. *Pharmacol Rev* 1977;29:187-220.
- 4 Aperia A. New roles for an old enzyme: Na,K-ATPase emerges as an interesting drug target. *J Intern Med* 2007;261:44-52.
- 5 Ausma J, Wijffels M, Thoné F. Structural changes of atrial myocardium due to sustained atrial fibrillation in the goat. *Circulation* 1997;96:3157–3163.
- 6 Ausma J, Wijffels M, van Eys G, et al. Dedifferentiation of atrial cardiomyocytes as a result of chronic atrial fibrillation. *Am J Pathol* 1997;151:985-997.
- 7 Banach K, Halbach M, Hu P, et al. Development of electrical activity in cardiac myocyte aggregates derived from mouse embryonic stem cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;284:2114-2123.
- 8 Berger M, Schweitzer P. Timing of thromboembolic events after electrical cardioversion of atrial fibrillation or flutter: a retrospective analysis. *Am J Cardiol* 1998;82:1545-1547.
- 9 Bauer S, Schwarz K, Ruegg J. Glutathione alters calcium responsiveness of cardiac skinned fibers. *Basic Res Cardiol* 1989;84:591-596.
- 10 Bers D. Ca influx and sarcoplasmic reticulum Ca release in cardiac muscle activation during postrest recovery. *Am J Physiol* 1985;248:366–381.

- 11 Bers D, Lederer W, Berlin J. Intracellular Ca transients in rat cardiac myocytes: role of Na-Ca exchange in excitation-contraction coupling. *Am J Physiol* 1990;258:944-954.
- 12 Blaustein M, Wier W. Local sodium, global reach: filling the gap between salt and hypertension. *Circ Res* 2007;101:959-961.
- 13 Bowditch H. Über die Eigenthümlichkeiten der Reizbarkeit, welche die Muskelfasern des Herzens zeigen. *Ber Sächs Akad Wiss* 1871;23:652-689,
- 14 Brundel H, Kampinga R, Henning F. Calpain inhibition prevents pacing-induced cellular remodeling in a HL-1 myocyte model for atrial fibrillation. *Cardiovascular Research* 2004;62:521-528.
- 15 Buckley N, Penefsky Z, Litwak S. Comparative force-frequency relationships in human and mammalian ventricular myocardium. *Pflügers Arch* 1972;332:259-270.
- 16 Chang C, Wu T, Zhou S, et al. Nerve sprouting and sympathetic hyperinnervation in a canine model of atrial fibrillation produced by prolonged right atrial pacing. *Circulation* 2001;103:22-25.
- 17 Chen M, Chang JP, Chen YL. Surgical treatment of atrial fibrillation with concomitant mitral valve disease: an Asian review. *Chang Gung Med J* 2008;31:538-545.
- 18 Chen Y, Kejriwal N, Smith J, et al. Experience with unipolar radiofrequency ablation for atrial fibrillation. *ANZ J Surg* 2006;76:774-777.
- 19 Cuff J, Lichtman A. The early effects of ouabain on potassium metabolism and rate of proliferation of mouse lymphoblasts. *J Cell Physiol* 1975;85:209-215.

- 20 Daoud E, Marcovitz P, Knight B, et al. Short-term effect of atrial fibrillation on atrial contractile function in humans. *Circulation* 1999;99:3024-3027.
- 21 DeCara J, Pollak A, Dubrey S, et al. Positive atrial inotropic effect of dofetilide after cardioversion of atrial fibrillation or flutter. *Am J Cardiol* 2000;86:685-688.
- 22 De Tombe P, Burkoff D, Hunter W. Comparison Between the effects of 2 -3 Butanedione Monoxime and Calcium Chloride on Myokardial Oxygen Consumption. *J Mol Cell Cardiol* 1992;24:783-797.
- 23 Dispersyn G, Ausma J, Thoné F, et al. Cardiomyocyte remodelling during myocardial hibernation and atrial fibrillation: prelude to apoptosis. *Cardiovasc Res* 1999;43:947-957.
- 24 Doll N, Fabricius A, Meyer R, et al. Surgical treatment of atrial fibrillation with argon-based cryotechnology. *Future Cardiol.* 2005;1:381-391
- 25 D'Urso G, Frascarelli S, Zucchi R, et al. Cardioprotection by ouabain and digoxin in perfused rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008;52:333-337.
- 26 Dogan A, Gedikli O, Ozaydin M, et al. Mitral annular velocity by Doppler tissue imaging for the evaluation of atrial stunning after cardioversion of atrial fibrillation. *Int J Cardiovasc Imaging* 2009;25:113-120.
- 27 Elhendy A, Gentile F, Khandheria BK, et al. Thromboembolic complications after electrical cardioversion in patients with atrial flutter. *Am J Med* 2001;111:433-438.
- 28 Falcone R, Morady F, Armstrong W. Transesophageal echocardiographic evaluation of left atrial appendage function and spontaneous contrast formation after chemical or electrical cardioversion of atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 1996;78:435-439.

- 29 Fatkin D, Kuchar D, Thorburn C, et al. Transesophageal echocardiography before and during direct current cardioversion of atrial fibrillation: evidence for atrial stunning as a mechanism of thromboembolic complications. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:307-316.
- 30 Fatkin D, Otway R, Vandenberg J. Genes and atrial fibrillation: a new look at an old problem. *Circulation* 2007;116:782-92.
- 31 Feldman A, Baumgartner W, van Dop C, et al. Increase of the 40,00-mol wt Pertussis Toxin substrate (G-Protein) in the failing human heart. *J Clin Invest* 1988;11:189-197.
- 32 Fozzard H, Sheets M. Cellular mechanism of action of cardiac glycosides. *J Am Coll Cardiol* 1985;5:10-15.
- 33 Friedman H, Win M, Hussain A, et al. Effects of cardiac glycosides on atrial contractile dysfunction after short-term atrial fibrillation. *Chest* 2000;118:1116-1126.
- 34 Fuster V, Rydén L, Cannom D, et al. ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for the Management of Patients with Atrial Fibrillation: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2001 Guidelines for the Management of Patients With Atrial Fibrillation): developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Circulation* 2006;114:257-354.
- 35 Gao W, Atar D, Backx D, et al. Relationship between intracellular calcium and contractile force in stunned myocardium: direct evidence for decreased myofilament  $Ca^{2+}$  sensitivity and altered diastolic function in intact ventricular muscle. *Circ Res* 1995;76:1036-1048.

- 36 Gao W, Atar D, Marban E, et al. Role of troponin I proteolysis in the pathogenesis of stunned myocardium. *Circ Res* 1997;80:393-399.
- 37 Gaspo R, Bosch R, Talajic M, et al. Functional mechanisms underlying tachycardia-induced sustained atrial fibrillation in a chronic dog model. *Circulation* 1997;96:4027–4035.
- 38 Gheorghiade M, Ferguson D. Digoxin. A neurohormonal modulator in heart failure? *Circulation* 1991;84:2181-2186.
- 39 Gillinov A, Blackstone E, McCarthy P. Atrial fibrillation: current surgical options and their assessment. *Ann Thorac Surg* 2002;74:2210-2217.
- 40 Goette A, Arndt M, Röcken C, et al. Calpains and cytokines in fibrillating human atria. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:264–272.
- 41 Goette A, Honeycutt C, Langberg JJ. Electrical remodeling in atrial fibrillation. Time course and mechanisms. *Circulation* 1996;94:2968-2974.
- 42 Goette A, Schotten U. Inhibition of angiotensin II type 1 receptors reduces atrial stunning and spontaneous echo contrast after electrical cardioversion of atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2006 ;27:2034-2035.
- 43 Golovina V, Song H, James P, et al. Na<sup>+</sup> pump alpha 2-subunit expression modulates Ca<sup>2+</sup> signaling. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003;284:475-46.
- 44 Grice W, Konishi T, Apstein CS. Resistance of neonatal myocardium to injury during normothermic and hypothermic ischemic arrest and reperfusion. *Circulation* 1987;76:150-155.

- 
- 45 Grimm R, Stewart W, Arheart K, et al. Left atrial appendage “stunning” after electrical cardioversion of atrial flutter: an attenuated response compared with atrial fibrillation as the mechanism for lower susceptibility to thromboembolic events. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:582–589.
- 46 Grimm R, Stewart W, Maloney J, et al. Impact of electrical cardioversion for atrial fibrillation on left atrial appendage function and spontaneous echocontrast: Characterization by simultaneous transesophageal echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:1359-1366.
- 47 Hammwöhner M, D’Alessandro A, Dobroev D, et al. New antiarrhythmic drugs for therapy of atrial fibrillation: II. Non-ion channel blockers. *Herzschrittmacherther Elektrophysiol* 2006;17:73-80.
- 48 Harjai K, Mobarek S, Abi-Samra F, et al. Mechanical dysfunction of the left atrium and the left atrial appendage following cardioversion of atrial fibrillation and its relation to total electrical energy used for cardioversion. *Am J Cardiol* 1998;81:1125-1129.
- 49 Hart R., Hamperin J. Atrial fibrillation and stroke; Concepts and controversies. *Stroke* 2001;32:803-808.
- 50 Hasenfuss G, Holubarsch C, Hermann H, et al. Influence of the force-frequency relationship on haemodynamics and left ventricular function in patients with non-failing hearts and in patients with dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1994;2:164-170.
- 51 Hassapoyannes C, Bergh M, Movahed M, et al. Diastolic effects of chronic digitalization in systolic heart failure. *Am Heart J* 1998;136:688-695.
- 52 He S, Shelly D, Moseley A, et al. The alpha(1)- and alpha(2)-isoforms of Na-K-ATPase play different roles in skeletal muscle contractility. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;281:917-925.

- 53 Irani W, Grayburn P, Afridi I, et al. Prevalence of thrombus, spontaneous echo contrast, and atrial stunning in patients undergoing cardioversion of atrial flutter: a prospective study using transesophageal echocardiography. *Circulation* 1997;95:962–966.
- 54 Jahangiri M, Weir G, Mandal K, et al. Current strategies in the management of atrial fibrillation. *Ann Thorac Surg* 2006;82:357-364.
- 55 James P, Grupp I, Grupp G, et al. Identification of a specific Role for the Na, K-ATPase alpha2 Isoform as a Regulator of Calcium in the Heart. *Molecular Cell* 1999;3:555-563.
- 56 Jordaens L, Trouerbach J, Calle P, et al. Conversion of atrial fibrillation to sinus rhythm and rate control by digoxin in comparison to placebo. *Eur Heart J* 1997;18:643-648.
- 57 Juhaszova M, Blaustein M. Na<sup>+</sup> pump low and high ouabain affinity alpha subunit isoforms are differently distributed in cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:1800-1805.
- 58 Kaplan J. Membrane cation transport and the control of proliferation of mammalian cells. *Annu Rev Physiol* 1978;40:19-41.
- 59 Khamssi M, Brodde O. The role of cardiac beta1- and beta2-adrenoceptor stimulation in heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1990;5:133-137.
- 60 Khan I. Transient atrial mechanical dysfunction (stunning) after cardioversion of atrial fibrillation and flutter. *Am Heart J* 2002;144:11-22.
- 61 Khan I. Atrial stunning: basics and clinical considerations. *Int J Cardiol* 2003;92;113-128.

- 
- 62 Khundmiri S, Amin V, Henson J, et al. Ouabain stimulates protein kinase B (Akt) phosphorylation in opossum kidney proximal tubule cells through an ERK-dependent pathway. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007;293:1171-1180.
- 63 Kitakaze M, Weisman H, Marban E, et al. Contractile dysfunction and ATP depletion after transient calcium overload in perfused ferret hearts. *Circulation* 1988;77:685-695.
- 64 Knecht S, Wilton S, Haïssaguerre M. The 2010 update of the ESC guidelines for the management of atrial fibrillation. *Circ J* 2010;74:2534-2537.
- 65 Lai L, Su M, Lin J, et al. Down-regulation of L-type calcium channel and sarcoplasmic reticular Ca(2+)-ATPase mRNA in human atrial fibrillation without significant change in the mRNA of ryanodine receptor, calsequestrin and phospholamban: an insight into the mechanism of atrial electrical remodeling. *J Am Coll Cardiol* 1999;33:1231-1237.
- 66 Lefkowitz R, Caron M, Stiles G. Mechanisms of membrane-receptor regulation. Biochemical, physiological, and clinical insights derived from studies of the adrenergic receptors. *N Engl J Med* 1984;310:1570-1579.
- 67 Lee M, Song H, Nakai J, et al. Local subplasma membrane Ca<sup>2+</sup> signals detected by a tethered Ca<sup>2+</sup> sensor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:13232-13237.
- 68 Leistad E, Aksnes G, Verburg E, et al. Atrial contractile dysfunction after short-term AF is reduced by verapamil but increased by BAY K8644. *Circulation* 1996;93:1747-1754.
- 69 Li D, Fareh S, Leung T, et al. Promotion of atrial fibrillation by heart failure in dogs: atrial remodeling of a different sort. *Circulation* 1999;100:87–95.

- 
- 70 Li G, Sun H, Zhang X, *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit transient outward and ultra-rapid delayed rectifier K<sup>+</sup> currents and Na<sup>+</sup> current in human atrial myocytes. *Cardiovasc Res* 2009;81:286-293.
- 71 Li J, Zelenin S, Aperia A, *et al.* Low doses of ouabain protect from serum deprivation-triggered apoptosis and stimulate kidney cell proliferation via activation of NF-kappaB. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:1848-1857.
- 72 Li Z, Xie Z. The Na/K-ATPase/Src complex and cardiotoxic steroid-activated protein kinase cascades. *Pflugers Arch* 2009;457:635-644.
- 73 Lichtstein D, McGowan M, Russell P, *et al.* Digitalis and digitalislike compounds down-regulate gene expression of the intracellular signaling protein 14-3-3 in rat lens. *Hypertens Res* 2000;23:51-53.
- 74 Liu L, Abramowitz J, Askari A, *et al.* Role of caveolae in ouabain-induced proliferation of cultured vascular smooth muscle cells of the synthetic phenotype. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;287:2173-2182.
- 75 Manning W, Silverman D, Katz S, *et al.* Impaired left atrial mechanical function after cardioversion: relation to the duration of atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 1994;2:1535-1540.
- 76 Marban E, Kitakaze M, Chacko V, *et al.* Ca<sup>2+</sup> transients in perfused ferret hearts revealed by gated F NMR spectroscopy. *Circ Res* 1988;63:673-678.
- 77 Mary-Rabine L, Albert A, Pham T, *et al.* The relationship of human atrial cellular electrophysiology to clinical function and ultrastructure. *Circ Res* 1983;5:188-199.
- 78 Mattioli A, Castelli A, Bastia E, *et al.* Atrial ejection force in patients with atrial fibrillation: comparison between DC shock and pharmacological cardioversion. *Clin Electrophysiol* 1999;22:33-38.

- 
- 79 Mattioli A, Tarabini Castellani E, Vivoli D, et al. Restoration of atrial function after atrial fibrillation of different etiological origins. *Cardiology* 1996;8:205-211.
- 80 McKillop D, Fortune N, Ranatunga K, et al. The influence of 2,3-butanedione 2-monoxime (BDM) on the interaction between actin and myosin in solution and in skinned muscle fibres. *J Muscle Res Cell Motil* 1994;15:309-318.
- 81 Mokraoui A, Friedman H, Melniker L, et al. Effects of acetyl strophanthidin on duration of atrial fibrillation in the neurally-intact and blockaded dog. *Cardiovasc Drugs Ther* 1988;2:569-577.
- 82 Mulieri L, Hasenfuss G, Leavitt B. Altered myocardial force-frequency relation in human heart failure. *Circulation* 1992;85:1743–1750.
- 83 Munzer J, Daly S, Jewell-Motz E, et al. Tissue- and isoform-specific kinetic behavior of the Na,K-ATPase. *J Biol Chem* 1994;269:16668-16676.
- 84 Nattel S. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature* 2002 ;415:219–226.
- 85 Nattel S, Wang Z, Fermini B. Sustained depolarization-induced outward current in human atrial myocytes: evidence for a novel delayed rectifier K<sup>+</sup> current similar to Kv1.5 cloned channel currents. *Circ Res* 1993;73:1061–1076.
- 86 Ohkusa H. Alterations in cardiac sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-regulatory proteins in the atrial tissue of patients with chronic atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:255–263.
- 87 Omran H, Jung W, Rabahieh R, et al. Left atrial chamber and appendage function after internal atrial defibrillation: a prospective and serial transesophageal echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol* 1997;2:131-138.
- 88 O'Neill P, Puleo P, Bolli R, et al. Return of atrial mechanical function following electrical conversion of atrial dysrhythmias. *Am Heart J* 1990;12:353-359.

- 89 Peng M, Huang L, Xie Z, et al. Partial inhibition of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase by ouabain induces the Ca<sup>2+</sup>-dependent expressions of early-response genes in cardiac myocytes. *J Biol Chem* 1996;271:10372-10378.
- 90 Pieske B, Just H, Hasenfuss G, et al. Calcium-dependent and calcium-independent regulation of contractility in isolated human myocardium. *Basic Res Cardiol* 1992;1:75 -86.
- 91 Rodrigo R, Cereceda M, Castillo R et al. Prevention of atrial fibrillation following cardiac surgery: basis for a novel therapeutic strategy based on non-hypoxic myocardial preconditioning. *Pharmacol Ther.* 2008;118:104-127
- 92 Sanders P, Morton J, Kistler P, et al. Reversal of atrial mechanical dysfunction after cardioversion of atrial fibrillation. Implications for the mechanisms of tachycardia-mediated atrial cardiomyopathy. *Circulation* 2003;108:1976–1984.
- 93 Schmidt C, Kisselbach J, Schweizer PA, et al. The pathology and treatment of cardiac arrhythmias: focus on atrial fibrillation. *Vasc Health Risk Manag* 2011;7:193-202.
- 94 Schoner W, Scheiner-Bobis G. Endogenous and exogenous cardiac glycosides and their mechanisms of action. *Am J Cardiovasc Drugs* 2007;7:173-189.
- 95 Schotten U, Duytschaever M, Ausma J, et al. Electrical and contractile remodeling during the first days of atrial fibrillation go hand in hand. *Circulation* 2003; 107:1433-1439
- 96 Schotten U, Greiser M, Benke D, et al. Atrial fibrillation-induced atrial contractile dysfunction: a tachycardiomyopathy of a different sort. *Cardiovasc Res* 2002;53:192-201.

- 
- 97 Schwinger R, Böhm M, Koch A. Inotropic effect of the cardioprotective agent 2,3-Butanedione Monoxime in failing and nonfailing human myocardium. *J Pharmacol* 1993;269:778 -786.
- 98 Skou J. The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:2170-2177.
- 99 Sparks P, Jayaprakash S, Mond H, et al. Left atrial mechanical function after brief duration atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 1999;3:342-349.
- 100 Spitzer S, Richter P, Knaut M, et al. Treatment of atrial fibrillation in open heart surgery – the potential role of microwave energy. *Thorac Cardiovasc Surg* 1999;47:374-378.
- 101 Sun H, Chartier D, Nattel S. Intracellular calcium changes and tachycardia-induced contractile dysfunction in canine atrial myocytes. *Cardiovasc Res* 2001;49:751–761.
- 102 Sun H, Gaspo R, Leblanc N, et al. Cellular mechanisms of atrial dysfunction caused by atrial tachycardia. *Circulation* 1998;98:719-27.
- 103 Suzuki S, Kaneko M, Chapman D. Alterations in cardiac contractile proteins due to oxygen free radicals. *Biochem Biophys Acta* 1991;1074:95-100.
- 104 Sweadner K. A third mode of ouabain signaling. Focus on "Regulation of ERK1/2 by ouabain and Na-K-ATPase-dependent energy utilization and AMPK activation in parotid acinar cells". *Am J Physiol Cell Physiol* 2008;295:588-589.
- 105 Takagi M, Doi A, Shirai N, et al. Acute improvement of atrial mechanical stunning after electrical cardioversion of persistent atrial fibrillation: comparison between biatrial and single atrial pacing. *Heart* 2005;91:58-63.

- 106 Thijssen V, Ausma J, Liu G, et al. Structural changes of atrial myocardium during chronic atrial fibrillation. *Cardiovasc Pathol* 2000;9:17-28.
- 107 Trevisi L, Visentin B, Cusinato F, et al. Antiapoptotic effect of ouabain on human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;321:716-721.
- 108 Weisse A. A fond farewell to the foxglove? The decline in the use of digitalis. *J Card Fail.* 2010;16:45-48.
- 109 Wijffels M. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 1995;92:1954–1968.
- 110 Wijffels M, Kirchhof C, Dorland R, et al. Electrical remodeling due to atrial fibrillation in chronically instrumented conscious goats: roles of neurohumoral changes, ischemia, atrial stretch, and high rate of electrical activation. *Circulation* 1997;96:3710–3720.
- 111 Williams M, Stewart J, Bolling S, et al. Surgical treatment of atrial fibrillation using radiofrequency energy. *Ann Thorac Surg* 2001;71:1939–1944.
- 112 Yu W, Chen S, Lee S, et al. Tachycardia-induced change of atrial refractory period in humans: rate dependency and effects of antiarrhythmic drugs. *Circulation* 1998;97:2331-2337.
- 113 Yue L, Feng J, Gaspo R, et al. Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation. *Circ Res* 1997;81:512-525.
- 114 Yujing W, Congxin H, Shaning Y, et al. Digitalis does not improve left atrial mechanical dysfunction after successful electrical cardioversion of chronic atrial fibrillation. *Cell Biochem Biophys* 2010;5:27-34.

## 8. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AKE	Aortenklappenersatzoperation
APD	Aktionspotentialdauer
AR	Agonistenrezeptor
ATP	Adenosintri-phosphat
baseline FOC/A	Ausgangswert der jeweiligen Untersuchungsreihe
BDM	2,3-Butane-dione-monoxime
bpm	Kontraktionen pro Minute (beats per minute)
Ca <sup>2+</sup>	Kalzium-Ionen
CABG	coronary artery bypass graft (Koronararterien-Bypassoperationen)
CAMKII	Calcium-Modulin-abhängige Kinase II
cAMP	zyklisches Adenosin-Monophosphat
DAG	Diacylglycerol
dF/dt <sub>max</sub>	Maximale Kontraktionsgeschwindigkeit (maximum contraction velocity)
dF/dt <sub>min</sub>	Maximale Relaxationsgeschwindigkeit (maximum relaxation velocity)
ECF	Extracellular fluid
ERK	Extrazellulär regulierte Kinase (extracellular-regulated-kinases)
FFR	Kraft-Frequenz-Beziehung (Force-Frequency-Relationship)
F <sub>max</sub>	systolische Maximalkraft
F <sub>min</sub>	diastolische Kraft
FOC	Kontraktionskraft (force of contraction)
FOC/A	Kontraktionskraft pro Fläche (force of contraction per unit area)
FOC/A %	FOC/A * 100 / baseline FOC/A
g <sub>K1</sub>	spezifische Leitfähigkeit für einwärts gleichrichtende K <sup>+</sup> -Kanäle
g <sub>K</sub>	spezifische Leitfähigkeit für verzögert aktivierten K <sup>+</sup> -Kanal zur Repolarisation
g <sub>Na</sub>	spezifische Leitfähigkeit für spannungsgesteuerte Natriumkanäle
GP	G-Protein
GPCR	G-Protein-gekoppelter-Rezeptor
I <sub>Ca</sub>	spannungsabhängige Ca <sup>2+</sup> -Kanäle vom L-Typ

IP <sub>3</sub> R	Inositoltriphosphatrezeptor
J	Junctional space
K <sup>+</sup>	Kalium-Ionen
MKE	Mitralklappenersatzoperation
mRNA	messengerRNA
Na <sup>+</sup>	Natrium-Ionen
Na-K-ATPase	Natrium-Kalium-Pumpe
NCX	Natrium-Calcium-Austauscher (Na <sup>+</sup> -Ca <sup>2+</sup> -Exchanger)
n.s.	nicht signifikant
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
PMCA	Plasma membrane calcium pump
ROC	Receptor operated channel
RYR	Ryanodin-Rezeptor
SEM	Standardfehler (Standard error of the mean)
S/ER	Sarcoplasmic / endoplasmatic reticulum
SERCA	Sarcoplasmic / endoplasmatic reticulum calcium ATPase
SOC	store-operated channel
SR	Patienten mit nachgewiesenem Sinusrhythmus
VHF	Patienten mit nachgewiesenem Vorhofflimmern

## 9. Abbildungsverzeichnis

- Abb. 3.1 Steiert Organbad von oben
- Abb. 3.2 Aufbau des Messplatzes
- Abb. 3.3 Abfolge der einzelnen Untersuchungsschritte
- Abb. 4.1: Vergleich der FOC/A in  $\text{mN}/\text{mm}^2$  zwischen SR- und VHF-Gruppe bei ausgewählten Frequenzen (2 Hz – 0,25 Hz).
- Abb. 4.2: Darstellung der FOC/A (%) bei ausgewählten stimulierten Frequenzen (2 Hz – 0,25 Hz).
- Abb. 4.3: Vergleich der FOC/A (%) zwischen SR- und VHF-Gruppe nach Isoprenalingabe ( $10^{-9}$  MOL bis  $10^{-7}$  MOL).
- Abb. 4.4: Darstellung der Erholungsphase der Vorhofstreifen nach dem ersten Stromschock ohne Medikamentengabe in FOC/A (%).
- Abb. 4.5: Vergleich der FOC/A (%) von Vorhofstreifen der SR- und VHF-Gruppe nach der zweiten Gleichstromapplikation und zusätzlicher Gabe von Digoxigenin.
- Abb. 4.6: Vergleich von Vorhofstreifen der VHF-Gruppe mit und ohne den Einfluss von Digoxigenin nach Elektroschockapplikation
- Abb. 4.7: Vergleich von Vorhofstreifen der SR-Gruppe mit und ohne den Einfluss von Digoxigenin nach Elektroschockapplikation.
- Abb. 4.8: Die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit von Vorhofstreifen der SR- und VHF-Gruppe in Abhängigkeit verschiedener stimulierter Frequenzen (2 Hz – 0,25 Hz).
- Abb. 4.9: Die maximale Relaxationsgeschwindigkeit von Vorhofstreifen der SR- und VHF-Gruppe während ausgewählter stimulierter Frequenzen (2 Hz – 0,25 Hz).
- Abb. 4.10: Der Einfluss von Isoprenalin auf die  $dF/dt_{\text{max}}$  von Vorhofstreifen mit SR oder VHF bei Konzentrationen von  $10^{-9}$  bis  $10^{-7}$ .
- Abb. 4.11: Der Einfluss von Isoprenalin auf die maximale Relaxationsgeschwindigkeit von Vorhofstreifen von Patienten mit SR und VHF.
- Abb. 4.12: Erholung des Kontraktilitätsparameters  $dF/dt_{\text{max}}$  nach Schock mit Einfluss von Digoxigenin bei SR und VHF.
- Abb. 4.13: Erholung der  $dF/dt_{\text{min}}$  der SR- und VHF-Gruppe mit dem Einfluss von Digoxigenin.

- Abb. 4.14: Prozentuale Erholung von  $dF/dt_{\max}$  bei SR und VHF mit und ohne Einfluss von Digoxigenin. Die ausgefüllten Balken zeigen die Entwicklung der Streifen mit Digoxigeninbehandlung, die schraffierten Balken zeigen die Entwicklung der Streifen ohne Digoxigeninbehandlung.
- Abb. 4.15: Prozentuale Entwicklung von  $dF/dt_{\min}$  unter Einfluss von Digoxigenin bei SR- und VHF-Streifen. Die ausgefüllten Balken zeigen die Entwicklung der Streifen mit Digoxigeninbehandlung, die schraffierten Balken zeigen die Streifen ohne Digoxigeninbehandlung.
- Abb. 4.16: Erholung der  $dF/dt_{\max}$  in mN/s bei VHF-Streifen mit und ohne Einfluss von Digoxigenin.
- Abb. 4.17: Erholung der  $dF/dt_{\min}$  nach Schock mit Digoxigenin bei VHF-Streifen.
- Abb. 4.18: Prozentuale Entwicklung der  $dF/dt_{\max}$  mit und ohne Einfluss von Digoxigenin bei VHF.
- Abb. 4.19: Prozentuale Erholung der  $dF/dt_{\min}$  bei Patienten mit VHF mit und ohne den Einfluss von Digoxigenin.
- Abb. 4.20: Entwicklung der  $dF/dt_{\max}$  in mN/s der SR-Gruppe mit und ohne Einfluss von Digoxigenin
- Abb. 4.21: Erholung des Relaxationsparameters  $dF/dt_{\min}$  nach Schock mit und ohne Digoxigenin bei SR-Streifen.
- Abb. 4.22: Prozentuale Entwicklung der  $dF/dt_{\max}$  mit und ohne Einfluss von Digoxigenin der SR-Gruppe.
- Abb. 4.23: Prozentuale Erholung der  $dF/dt_{\min}$  bei Streifen von Streifen der SR-Gruppe mit und ohne Einfluss von Digoxigenin.
- Abb. 5.1: Modell des Plasmerosomen sowie der Anordnung der  $\alpha$ -2-Isoformen im Bereich der Zellmembran (aus: Blaustein und Wier, 2007)

- 
- Tab. 4.1: Messwerte der FOC/A ( $\text{mN/mm}^2$ ) und die prozentuale Veränderung der FOC/A im Vergleich zur Baseline (FOC/A % ) während der Kraft-Frequenz Modulation (FFR) und der adrenergen Stimulation
- Tab. 4.2: Messwerte der FOC/A in  $\text{mN/mm}^2$  und die FOC/A (%) nach dem ersten Schock und der darauffolgenden Erholungsphase ohne den Einfluss von Digoxigenin.
- Tab. 4.3: Messwerte der FOC/A in  $\text{mN/mm}^2$  und die FOC/A (%) nach dem zweiten Schock mit Einfluss von Digoxigenin.
- Tab. 4.4: Werte für  $dF/dt_{\text{max}}$  in  $\text{mN/s}$  bzw. das prozentuale Verhältnis zur Baseline ( $dF/dt_{\text{max}}$  (%) ) während der Frequenz- und der adrenergen Stimulation an.
- Tab. 4.5: Messwerte der  $dF/dt_{\text{max}}$  in  $\text{mN/s}$  und die  $dF/dt_{\text{max}}$  (%) nach dem ersten Schock und der darauffolgenden Erholungsphase ohne den Einfluss eines Medikaments.
- Tab. 4.6: Messwerte der  $dF/dt_{\text{max}}$  in  $\text{mN/s}$  und die  $dF/dt_{\text{max}}$  (%) nach dem zweite Schock mit Einfluss von Digoxigenin.
- Tab. 4.7: Messwerte der  $dF/dt_{\text{min}}$  in  $\text{mN/s}$  und die  $dF/dt_{\text{min}}$  (%) während der Frequenz- und der adrenergen Stimulation.
- Tab. 4.8: Messwerte der  $dF/dt_{\text{min}}$  in  $\text{mN/s}$  und die  $dF/dt_{\text{min}}$  (%) nach dem ersten Schock und der darauffolgenden Erholungsphase ohne den Einfluss von Digoxigenin.
- Tab. 4.9: Messwerte der  $dF/dt_{\text{min}}$  in  $\text{mN/s}$  und die  $dF/dt_{\text{min}}$  (%) nach dem zweite Schock mit Einfluss von Digoxigenin

## **10. Danksagung**

Ich bedanke mich für die umfangreiche Betreuung bei meinem Doktorvater Doz. Dr. Diethelm Modersohn, der diese Arbeit durch seine fachliche Unterstützung möglich machte.

Danken möchte ich auch allen Mitarbeitern der herzchirurgischen Klinik der Charité Mitte unter Leitung von Prof. Dr. Konertz, die mir das verwendete Material bei den jeweiligen Operationen überließen. Mein spezieller Dank geht hierbei an Dr. Herko Grubitzsch, der mich mit Material, Informationen und Hilfe unterstützte sowie auch dem OP-Personal, das die Materialien für mich verwahrte.

Der Firma Sigma möchte ich meinen Dank aussprechen, die mir das Medikament Digoxigenin zur Verfügung stellte.

## **11. Curriculum vitae**

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

## 12. Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Christoph Huth, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:  
„Der Einfluss von „Digoxigenin“ auf die mechanische Dysfunktion („atriales stunning“) nach Gleichstromschock an humanen Vorhofmyokardstreifen von Patienten mit und ohne Vorhofflimmern“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift