

Aus dem Institut für  
Molekulare und Klinische Kardiologie  
der Medizinischen Fakultät der Charité - Universitätsmedizin Berlin

Eingereicht über das Institut für Veterinär-Physiologie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Die Etablierung der humanen Elektrophysiologischen Untersuchung (EPU)  
an Ratte und Maus mit dem Nachweis einer sicheren Anwendung  
am dTGR-Modell**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Ines Schwarz  
Tierärztin  
aus Berlin

Berlin 2010

Journal-Nr.: 3397

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Holger Martens  
Zweiter Gutachter: PD Dr. Ralf Dechend  
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Fink

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

rats, mice, animal models, animals, genetically modified [MeSH], cardiovascular diseases, sudden death, electrophysiology, electrical stimulation, arrhythmia, electrocardiography

Tag der Promotion: 04.03.2011

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-951-4

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2010**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2011

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

Meinen Eltern, meinen beiden Schwestern.

Sowie all den Versuchstieren, denen wir die Fortschritte in der  
Medizin zu verdanken haben!

**„Ohne Ehrfurcht vor dem Leben hat die Menschheit keine  
Zukunft.“** Albert Schweitzer





# Inhalt

1	Einleitung .....	1
2	Literatur .....	6
2.1	Herzkreislauferkrankungen: Immer noch Todesursache Nr. 1 .....	6
2.2	Physiologie des Erregungsbildungssystems des Herzens .....	8
2.3	Herzrhythmusstörungen .....	9
2.3.1	Erregungsbildungsstörungen mit supraventrikulärer Lokalisation .....	9
2.3.2	Erregungsbildungsstörungen mit ventrikulärer Lokalisation .....	10
2.3.3	Erregungsleitungsstörungen .....	11
2.4	Tachyarrhythmien .....	13
2.5	Das EKG .....	14
2.6	Die humane EPU .....	15
2.7	Wichtige Parameter der EPU .....	19
2.8	Entstehung und Formen der pathologischen Herzhypertrophie .....	21
2.8.1	Entstehung einer pathologischen Herzhypertrophie .....	21
2.8.2	Formen der Herzhypertrophie .....	21
2.9	Tierexperimentelle Hypertrophie-Modelle .....	23
2.10	Therapieansätze von Herzrhythmusstörungen und hypertropher Kardiomyopathie .....	26
3	Material und Methode .....	28
3.1	Die Etablierung der humanmedizinischen Elektrophysiologischen Untersuchung (EPU) in Ratte und Maus (Versuchteil 1) .....	28
3.1.1	Versuchstiere .....	28
3.2	EKG .....	28
3.2.1	Ablauf der Elektrophysiologischen Untersuchung am Versuchstier .....	30
3.2.2	Begriffsbestimmungen .....	33
3.2.3	Isoprenalinstimulation .....	34
3.3	Durchführung der EPU an Ratte und Maus .....	35
3.3.1	Die vorbereitende Präparation .....	36
3.3.2	Platzierung und Fixierung des Katheters im Versuchstier .....	39
3.3.3	Versuchsprotokolle .....	40
3.3.4	Tipps, Tricks, Kniffe .....	43

3.4	Nachweis der gelungenen Etablierung im Renin-Angiotensinogen-dTGR-Modell (Versuchsteil 2) .....	45
3.4.1	Die Blutdruckmessung .....	47
3.5	Statistische Auswertung .....	47
4	Ergebnisse .....	48
4.1	Versuchsteil 1: Etablierung der humanen EPU .....	48
4.1.1	Ruhe-EKG .....	48
4.1.2	Isoprenalin-EKG .....	49
4.1.3	EKG-Auswertung .....	50
4.1.4	EPU .....	51
4.1.5	Vorhofstimulationsprotokoll .....	55
4.1.6	Kammerstimulationsprotokoll .....	60
4.1.7	Stressprotokoll .....	61
4.1.8	Zusammenfassung der EPU's .....	62
4.1.9	Schlussfolgerung .....	67
4.2	Nachweis der gelungenen Etablierung im Renin-Angiotensinogen-dTGR-Modell .....	68
4.2.1	Mortalität .....	68
4.2.2	Herzgewicht .....	69
4.2.3	Blutdruckmessung .....	70
4.2.4	EKG-Veränderungen .....	71
4.2.5	Elektrophysiologische Veränderungen .....	73
5	Diskussion .....	83
5.1	Versuchsteil 1 .....	84
5.2	Versuchsteil 2 .....	89
5.3	Schlussfolgerung .....	93
6	Zusammenfassung .....	94
7	Summary .....	96
8	Zitierte Literatur .....	98
9	Verwendete Abbildungen .....	111
10	Publikationsverzeichnis .....	113
11	Danksagung .....	114
12	Selbständigkeitserklärung .....	115

# 1 Einleitung

Herz-Kreislauf-Erkrankungen gehören weltweit zu den häufigsten Todesursachen, weshalb die Aufdeckung neuer therapeutischer Ansätze von hohem Interesse ist.

Die Gesamtprävalenz klinischer Fälle wird auf 3 bis 20 Fälle pro 1000 Einwohner geschätzt. Die Zahl der Neuerkrankungen ist bei Männern höher als bei Frauen und steigt mit zunehmendem Alter an (McMurray u. Stewart, 2000).

Kein anderer Muskel im menschlichen Körper arbeitet so ununterbrochen und exakt wie das Herz. Unabhängig von äußeren Einflüssen schlägt es im immer gleichen Takt und ist fähig, sich automatisch an Belastungen anzupassen.

Die für die Herztätigkeit erforderlichen elektrischen Impulse werden in speziellen Muskelfasern generiert. Diese Zellen besitzen die Fähigkeit zur spontanen, rhythmischen Erregungsbildung und -fortleitung und werden zusammen als das Erregungsbildungs- und -leitungssystem bezeichnet (Benninghoff, 1994). Die Reizbildung erfolgt im Sinusknoten und wird vom vegetativen Nervensystem, genauer gesagt vom Nervus sympathicus und Nervus Vagus (Parasympathicus) beeinflusst. Der physiologische bzw. normale Herzrhythmus wird als Sinusrhythmus bezeichnet (Tilley, 1997). Der Ursprung der Impulsbildung liegt im Sinusknoten im rechten Vorhof in der Nähe der Einmündung der Vena cava cranialis. Vom Sinusknoten aus breitet sich die Erregung über alle Muskelfasern der Vorhöfe aus und führt zu einer Kontraktion des Vorhofmyokards. Die Erregungswelle erreicht den atrioventrikulären Knoten (AV-Knoten), der sich septumnah in der rechten Vorhof-Kammer-Ebene befindet. Aus dem AV-Knoten wird die Erregung kammerwärts über das His-Bündel geleitet, die einzige muskuläre elektrische Verbindung zwischen Vorhof- und Kammermyokard. Erst nachdem die Vorhofkontraktion weitgehend abgeschlossen ist, wird die Erregung über das His-Bündel zu den Kammern weitergeleitet und die Ventrikelkontraktion ausgelöst. Das His-Bündel läuft am membranösen Kammerseptum entlang, führt die Erregung weiter an den rechten und linken Tawara-Schenkel, und von hier aus wird die Erregung über die im Ventrikelmyokard fein verzweigt liegenden Purkinje-Fasern weitergeleitet und so die Kontraktion aller Myokardzellen beider Kammern bewirkt (Schneider, 2005; Anderson und Becker, 1980).

Herzrhythmusstörungen (HRST) gehören zu den häufigsten Erkrankungen in der Kardiologie. Der Pschyrembel (Pschyrembel, 2002) definiert HRST als „alle Veränderungen der elektrischen Herztätigkeit, die durch eine unregelmäßige Abfolge der Erregungen (Arrhythmie), eine Abweichung von der normalen Herzfrequenz oder eine Störung des

zeitlichen Ablaufs der einzelnen Herzaktionen gekennzeichnet sind“. Herzrhythmusstörungen sind Unregelmäßigkeiten des normalen Herzschlags: es schlägt zu schnell, zu langsam oder unregelmäßig. Herzrhythmusstörungen werden nach ihrem Entstehungsort (Vorhof oder Kammer) oder der Herzfrequenz eingeteilt, entsprechend gibt es bradykarde und tachykarde Herzrhythmusstörungen sowie Extrasystolen. Solche Herzrhythmusstörungen können permanent auftreten oder paroxysmal (spontan beginnend und meist selbstlimitierend), sie können harmlos sein oder auch lebensgefährlich. Körperliche Anstrengung, Aufregung, Krankheiten oder Medikamente können das Herz langsamer oder schneller schlagen lassen, ohne dass dies krankhaft ist. Lebensbedrohliche Herzrhythmusstörungen bezeichnet man als „maligne HRST“.

Bei einer Bradyarrhythmie schlägt das Herz langsam und der Puls liegt unter 60 Schlägen pro Minute (beim Menschen). Hierbei sind zu unterscheiden die Sinusbradykardie, bei der die Herzschlagfrequenz unterhalb der physiologischen Schwankungsbreiten liegt, aber einen regelmäßigen Rhythmus aufweist; das Sick-Sinus-Syndrom, bei dem die natürliche Schrittmacherfunktion des Sinusknotens gestört oder blockiert ist und dadurch der Herzschlag verlangsamt ist; das Karotissinussyndrom, bei dem der biologische Messfühler für den Blutdruck, der Karotissinus, überempfindlich ist und falsche Blutdruckwerte an das Gehirn meldet; das bradykarde Vorhofflimmern sowie Störungen in der Erregungsleitung, evtl. mit Ausfall des Sinusknoten als Taktgeber, sodass andere Strukturen seine Funktion übernehmen. Bei einem Herzblock ist die Weiterleitung des Erregungsimpulses verzögert oder ganz gehemmt: bei einem sinusatrialen (SA-) Block ist die Überleitung vom Sinusknoten auf den Vorhof betroffen, beim atrioventrikulären (AV-) Block die Überleitung vom Vorhof auf die Kammer.

Bei der Tachyarrhythmie schlägt das Herz ungewöhnlich schnell. Hierbei unterscheidet man zwischen Vorhof- und Kammertachyarrhythmien. Zu den Vorhoftachyarrhythmien gehören die Sinustachykardie, bei der die Herzschlagfrequenz über den Normwerten liegt, aber mit einem regelmäßigen Rhythmus einhergeht, die supraventrikuläre (Vorhof-) Extrasystolie, bei der im Vorhof zusätzliche Impulse frühzeitig entstehen, deren Ursprung nicht im Sinusknoten liegt und die das Herz schnell und unregelmäßig schlagen lassen, sowie Vorhofflattern und -flimmern, wobei es zu nicht geordneten und sehr rasch aufeinander folgenden Impulsen vom Vorhof an die Herzkammer kommt. Zu den Kammertachyarrhythmien gehören die Kammertachykardie, welche eine Summation von ventrikulären Extrasystolen ist und entweder durchgehend oder vorübergehend mit mindestens drei Extrasystolen auftreten; die ventrikuläre (Kammer-) Extrasystolie, bei der es durch eine frühzeitige Impulsbildung aus

einem ektopen Schrittmacherzentrum zu einer verzögerten Depolarisation der Kammern kommt und das Kammerflattern und -flimmern, wobei das Herz nicht mehr richtig schlägt, sondern bei mehr als 300 Mal pro Minute nur noch zuckt. Diese schnelle Bewegung des Herzens ist unkoordiniert. Das Blut wird nicht mehr weitergepumpt, dieser Zustand wird auch "funktioneller Herzstillstand" genannt.

Extrasystolen sind plötzlich auftretende Herzschläge, die außerhalb des regelmäßigen Grundrhythmus liegen. Diese zusätzlichen Herzschläge können einzeln oder gehäuft und vor oder nach dem Grundrhythmus auftreten und führen zu einem unregelmäßigen Herzschlag.

Oft sind Herzerkrankungen die Ursache für Herzrhythmusstörungen. Koronare Herzerkrankung (KHK), Herzinfarkt, Herzschwäche, Herzklappenfehler, Herzmuskelentzündung oder Bluthochdruck können beispielsweise zu einer mangelhaften Sauerstoffversorgung führen, wodurch die Herzzellen nicht mehr richtig arbeiten können. Auch Narben im Herzmuskel (z.B. nach einem Herzinfarkt) können die Ausbreitung der elektrischen Impulse stören.

Auch bei Herzgesunden kann es zu Herzrhythmusstörungen kommen. Folgende Risikofaktoren sind bekannt: Alter, Übergewicht, Schilddrüsenüberfunktion, Diabetes, Schlafapnoe, Alkohol und Drogen.

Zur Routine-Diagnostik bei Herzrhythmusstörungen gehören in erster Linie das Messen von Puls und Blutdruck sowie die Auskultation mit dem Stethoskop. Gesichert wird die jeweils gestellte Diagnose durch die so genannte apparative Diagnostik. Dazu gehören das Elektrokardiogramm (EKG) und die Echokardiographie (Echo = Ultraschall des Herzens). Zu den EKG-Arten gehören das Ruhe-EKG (hierbei kann man unterscheiden, ob die Störung im Vorhof oder in der Kammer entsteht und um welche Art von Herzrhythmusstörung es sich handelt), das Langzeit-EKG (bei dem Rhythmusstörungen erfasst werden, die nur gelegentlich auftreten) und das Belastungs-EKG (bei dem Rhythmusstörungen erfasst werden, die nur unter Belastung auftreten). In speziellen Fällen wird auch eine elektrophysiologische Untersuchung (EPU) durchgeführt, bei der direkt vom Herzmuskel eine Art EKG abgeleitet wird und versucht wird, künstlich Herzrhythmusstörungen auszulösen, was Rückschlüsse auf die Art und den Entstehungsort der Rhythmusstörung sowie die Wirksamkeit von Medikamenten zulässt (Classen, Diehl und Kochsiek, 2004; Braunwald, 2006; Tilley, 1997).

Schon Anfang des 20. Jahrhunderts wurden erste Versuche zur Darstellung der intrakardialen Strukturen mit Hilfe eines transkutanen Katheters durchgeführt (Gonska, 1999). Werner Forssmann, ein junger Arzt aus Berlin, war der Überzeugung, dass die Katheterisierung, wie Bernard sie zur Druckmessung bereits am Pferd durchführte, auch für den Menschen

vollkommen harmlos sei (Forssmann-Falck, 1997). Zunächst konnte er jedoch seine Kollegen nicht davon überzeugen und anstatt die geforderten Tierversuche zum Nachweis der Sicherheit vorzunehmen, entschloss er sich 1929, das Experiment an sich selbst durchzuführen. Nach Punktion der linken Vena cubitalis führte er einen Urethalkatheter 65 cm weit ein. Unter Röntgenkontrolle konnte er die Lage beurteilen (Meyer, 1990). Courmand und Richards, zwei Amerikaner, entwickelten die Herzkatheterisierung weiter und etablierten sie als eine standardisierte kardiologische Untersuchungsmethode. Alle drei erhielten 1956 den Nobelpreis für Medizin (Forssmann-Falck, 1997).

Mit der elektrophysiologischen Untersuchung können komplexe Herzrhythmusstörungen lokalisiert und die Funktionen von Sinusknoten, AV-Knoten und dem elektrischen Reizleitungssystem bewertet werden. Durch programmierte elektrische Stimulation oder medikamentöse Provokation (z.B. durch Katecholamine) können viele Arrhythmien ausgelöst und somit ihr Entstehungsort oder der Verlauf der Erregung spezifisch analysiert werden. Sie dient ebenfalls der Risikoabschätzung maligner Arrhythmien bei Patienten mit angeborenen Herzfehlern.

Die humane EPU bietet darüber hinaus hervorragende Untersuchungsmöglichkeiten in der arrhythmogenen Forschung, sowohl in der Aufklärung von Pathomechanismen als auch in der Entdeckung neuer Therapieansätze.

Eine EPU wird dann erforderlich, wenn das normale Oberflächen-EKG nicht mehr ausreichend zu einer gesicherten Diagnose und effektiven Therapie führt. Dies kann bei allen Herzrhythmusstörungen wie Brady- oder Tachyarrhythmien der Fall sein. Bei der EPU werden Arrhythmien sowie Ort und Grad der Erregungsleitungsstörung analysiert. Bei tachykarden Rhythmusstörungen wird der zugrunde liegende Entstehungsmechanismus aufgezeigt. Dabei sind Ursprungsort und Ausbreitungsweg der Tachyarrhythmie sowie deren therapeutische Beeinflussbarkeit – medikamentös oder mittels Katheterablation – von Interesse.

Sie dient ebenfalls der Risikoabschätzung maligner Arrhythmien bei Patienten mit angeborenen Herzfehlern (Krakau und Lapp, 2005).

Bei folgenden Arten von Herzrhythmusstörungen ist die elektrophysiologische Untersuchung empfohlen: bradykarde - und tachykarde Rhythmusstörungen, Herzrhythmusstörungen bei Personen, die einen plötzlichen Herzstillstand überlebt haben, Herzrhythmusstörungen bei unklarer Bewusstlosigkeit (Synkope); Tachykardien: bei denen die Störungen von einem bestimmten Zentrum ausgehen (z.B. AV-Reentry-Tachykardie) und Herzrhythmusstörungen beim Wolff-Parkinson-White-Syndrom. Mithilfe der EPU können Herzrhythmusstörungen

analysiert, die geeignete Therapie gefunden und eine laufende Therapie auf ihren Erfolg hin kontrolliert werden (Schneider, 2005).

### *Die Rolle der experimentellen EPU im Ratten- und Mausmodell*

Für Studien, deren Schwerpunkt in der Erforschung von Pathomechanismen oder der Erprobung neuer Wirkstoffe liegt, sind Tierversuche an Maus oder Ratte heutzutage gängige Forschungsmodelle.

Für die Erforschung von Herzrhythmusstörungen oder zur Entwicklung neuer Antiarrhythmika sollten diese Tiere jedoch idealerweise eine gewisse Prädisposition für das Auftreten von Herzrhythmusstörungen aufweisen.

Das doppelt transgene Renin-Angiotensinogen-Rattenmodell (dTGR) ist dafür sehr gut geeignet, da dieses Modell ohne äußere Eingriffe innerhalb kurzer Zeit eine hypertoniebedingte Herzhypertrophie ausbildet. Patienten mit einer durch Bluthochdruck induzierten Linksherzhypertrophie haben ein erhöhtes Risiko Herzrhythmusstörungen zu entwickeln, was die kardiovaskuläre Mortalität um das zweifache ansteigen lässt (Diamond und Phillips, 2005). Auch die dTGR-Tiere weisen eine hohe Mortalität auf und sterben nach circa 8 Wochen Lebensdauer am plötzlichen Herztod. Eine wesentliche Ursache für den plötzlichen Herztod ist das Auftreten ventrikulärer Tachyarrhythmien (Fischer et al., 2008).

Pathohistologisch weisen die Herzen der Renin-Angiotensinogen-dTGR eine erhöhte perivaskuläre und interstitielle Fibrose und entzündliche Infiltration auf. Um diese Veränderungen jedoch auch in vivo feststellen und deren Verlauf beobachten zu können, muss die humane EPU an dieses kleine Versuchstier adaptiert werden.

In der vorliegenden Arbeit sollte somit die Etablierung der humanen elektrophysiologischen Untersuchung (EPU) an die Versuchstiere Ratte und Maus erfolgen bzw. die Technik so modifiziert werden, dass sie zuverlässig auf den Versuchstierbereich übertragbar ist.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Studien zum Nachweis einer sicheren Anwendungsmöglichkeit der EPU zur Darstellung von Störungen in der Erregungsbildung und –ausbreitung am Herzen der Ratte sind Teil der Arbeit „Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and direct renin inhibition improve electrical remodeling in a model of high human renin hypertension“ von Fischer et al. (2008).

## 2 Literatur

### *2.1 Herzkreislauferkrankungen: Immer noch Todesursache Nr. 1*

Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind die Todesursache Nummer eins in Deutschland. Fast jeder zweite Todesfall in Deutschland (47,2 Prozent) ging im Jahr 2001 auf eine Erkrankung des Herz-Kreislauf-Systems zurück. Vor allem ältere Menschen sind von Kreislauferkrankungen betroffen. Angesichts der steigenden Lebenserwartung und der wachsenden Zahl chronischer Herzerkrankungen ist deshalb mit einer weiteren Zunahme dieser Krankheiten zu rechnen. Störungen des Herz-Kreislauf-Systems manifestieren sich bereits in jüngeren Jahren (im Alter unter 50 Jahren). Zu den Risikofaktoren zählen Bluthochdruck, ein erhöhter Cholesterinspiegel, Übergewicht, Rauchen, Diabetes und die Arteriosklerose. An fast allen Hochschulen in Deutschland wird über Herz-Kreislauf-Erkrankungen geforscht. Da die Krankheitsbilder vielfältig sind, werden verschiedene Fachrichtungen in diese Forschungsprojekte involviert. Auch außerhalb der Universitäten beschäftigen sich Gruppen u. a. am Max-Delbrück-Centrum in Berlin und an dem Max-Planck-Institut in Bad Nauheim mit diesen Krankheitsbildern. Diagnose und Therapie von Herz-Kreislauf-Erkrankungen konnten durch die Forschung vergangener Jahre erheblich verbessert werden. Dennoch ist eine Heilung nur selten möglich. Durch neue molekular- und zellbiologische Methoden erwarten Experten in der kardiovaskulären Forschung zukünftig wesentliche Fortschritte.

Im Bereich Herz-Kreislauf werden derzeit zwei Verbände mit Bezug zur Erforschung von Herz-Kreislauferkrankungen unterstützt. Ziel des Verbundes "Atherogenomics" ist die Identifikation und Charakterisierung genetischer Varianten, die mit der Entstehung der Arteriosklerose in Verbindung stehen, während im Verbund "Genetik des Herzversagens" Risikogene für Herzversagen identifiziert und charakterisiert werden. Die Verbände haben sich zum Ziel gesetzt, über ihre Forschung Ansatzpunkte für die Entwicklung innovativer Verfahren und Produkte für Diagnose und Therapie zu schaffen. Um die Bevölkerung medizinisch optimal zu versorgen, ist es unerlässlich, dass Forscher, Kliniker, niedergelassene Ärzte, Reha-Kliniken, Selbsthilfegruppen und Krankenkassen zusammen arbeiten und miteinander kommunizieren. Zudem sollen sich die besten Forschungsgruppen bundesweit zusammen schließen, damit neue Methoden schneller entwickelt werden und den Patienten zu Gute kommen (Bundesministerium für Bildung und Forschung, 2004).

Viele Menschen leiden an Herzrhythmusstörungen, die sie sehr genau beschreiben können. Die Aufzeichnung von Elektrokardiogrammen gewann für die Lehre von den



Rhythmusstörungen bzw. den Reizbildungs- und Erregungsleitungsstörungen im Herzen innerhalb der letzten 100 Jahre größte Bedeutung.

Die erste Herzkatheterisierung erfolgte von dem deutschen Medizinstudenten Forßmann im Jahr 1929 in einem Selbstversuch: Er schob sich in eine Armvene einen Katheter 65 cm weit bis in die rechte Vorkammer des Herzens. Elf Jahre später führten Cournaud und Richards erstmals einem Patienten einen Katheter in das Herz ein. Die Herzkatheterisierung zur Diagnose von Herzkrankheiten wurde in den folgenden Jahren mit Hilfe der verbesserten Technik zur Routine. 13 Jahre später etablierte sich aus der rein diagnostischen Untersuchung ein therapeutisches Verfahren, die so genannte Katheterablation. Es wurde die Möglichkeit entdeckt, die Leitfähigkeit der Herzzellen mittels Kathetertechnik zu unterbinden. Damit hielten die Katheterablationen Einzug in die Herzkatheter-Labore und sind mittlerweile zu Routineuntersuchungen geworden.

Herzrhythmusstörungen haben verschiedene Ursachen und auslösende Faktoren: kardiale, extrakardiale, Medikamente und Toxine und vegetative Ursachen.

Die häufigsten Ursachen von Herzrhythmusstörungen sind organische Herzkrankheiten wie die koronare Herzerkrankung. Rhythmusstörungen entstehen während der Phase der Erregungsbildung, der Erregungsausbreitung und während der Phase der Erregungsrückbildung. Allgemein kann von einer Rhythmusstörung gesprochen werden, wenn kein regelrechter Sinusrhythmus mit der normalen Erregungsabfolge (Sinusknoten-Vorhof-AV-Knoten-Kammer) und der normalen Ruhfrequenz vorliegt.

Die elektrophysiologische Untersuchung (EPU) ist eine spezielle Herzkatheteruntersuchung, die bei Patienten mit Herzrhythmusstörungen durchgeführt wird. Dieses spezielle Herzkatheterverfahren ist eine Art direktes Elektrokardiogramm (EKG). Die elektrischen Herzströme werden direkt am Herzen abgeleitet. Da im Prinzip von jedem Punkt innerhalb des Herzens EKGs aufgezeichnet werden können, kann man den Erregungsursprung und den Erregungsweg bzw. Erregungsablauf im Herzen exakt ermitteln. Mittels eines Ruhe- oder Langzeit-EKGs können Herzrhythmusstörungen zwar meist ebenfalls nachgewiesen werden, aber die genaue Herkunft ist häufig nur durch eine EPU zu bestimmen. Auch sehr selten auftretende Herzrhythmusstörungen bleiben beim EKG häufig verborgen, werden durch eine elektrophysiologische Untersuchung aber aufgeklärt. Für eine eindeutige Diagnose der Art der Herzrhythmusstörung und als Grundlage für die weitere Behandlung ist es zudem notwendig, gezielt solche Herzrhythmusstörungen auszulösen, wie sie möglicherweise früher bereits spontan aufgetreten sind.

Ziel einer EPU ist es, Herzrhythmusstörungen zu analysieren und eine medikamentöse Therapie zu finden oder eine laufende Therapie auf ihren Erfolg hin zu kontrollieren.

Gelingt dies nicht, besteht die Möglichkeit, die Herzrhythmusstörung durch eine Katheterablation oder Herz-Operation zu lokalisieren und zu beseitigen.

## ***2.2 Physiologie des Erregungsbildungssystems des Herzens***

Die Erregungsbildung und -leitung des Herzens wird ganz wesentlich von der Form des Aktionspotentials bestimmt. Die Depolarisation einer Zelle wird durch Überschreiten eines kritischen Schwellenpotentials ausgelöst (Ruhepotential  $-90\text{mV}$ , Schwelle ca.  $-60\text{mV}$ ). Das Erreichen der Schwelle löst einen fest determinierten Mechanismus mit Öffnung und Verschluss verschiedener spannungsabhängiger Ionenkanäle aus. In der Phase 0 öffnen sich die schnellen Natrium-Kanäle und führen zu einem Natriumstrom in die Zelle, den entsprechenden raschen Anstieg des Potentials nennt man Depolarisation. Über so genannte gap junctions (Zellverbindungen am Herzen) erfolgt die Weiterleitung der Erregung von Zelle zu Zelle, bis nach Überschreiten des Schwellenpotentials auch ein Aktionspotential in der Nachbarzelle ausgelöst wird. Je schneller die Depolarisationsgeschwindigkeit, desto schneller die Erregung der Nachbarzellen, desto schneller die Weiterleitung der Erregung.

Die Depolarisation wird spezifisch in kardialen Muskelzellen über ein längeres Plateau aufrechterhalten. Das Plateau wird durch einen  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom über langsame Kalziumkanäle gebildet. Der Einstrom positiver Ladungsträger unterbricht die in anderen erregbaren Zellen sonst übliche sofortige Repolarisation.

Die Repolarisation wird von einem Kaliumstrom nach extrazellulär getragen. Nach Kaliumausstrom kommt es durch aktive Transportmechanismen zu einer Wiederherstellung der für das Ruhepotential typischen Ionengradienten. Während der Repolarisationsphase kann zwischen absoluter und relativer Refraktärzeit unterschieden werden.

In nicht erregungsbildenden Herzmuskelzellen passiert in der Ruhephase nach einem abgelaufenen Aktionspotential nichts bzw. sind netto keine transmembranären Ionenbewegungen zu verzeichnen. Anders in Reizbildungszentren (z.B. Sinusknoten): hier kommt es durch Leckströme zu einem langsamen Anstieg des Ruhepotentials bis zum Erreichen des Schwellenpotentials und Auslösung des nächsten elektrischen Impulses.

Das Ruhemembranpotential wird durch einen Natrium- und Kalium-Leckstrom erzeugt. Durch permanentes einwandern von Na-Ionen ( $\text{Na}^+$ -Leckstrom), aufgrund der permeablen Zellmembran, können Kalium-Ionen entsprechend ihrem Konzentrationsgefälle die Zelle verlassen. Es kommt zum Aufbau eines elektrischen und Konzentrationsgradienten. Der

Kalium-Leckstrom geht aber so lange, bis elektrischer und Konzentrationsgradient wieder gleich sind (Fogoros, 1999; Klinke und Silbernagel, 2005).

### **2.3 Herzrhythmusstörungen**

Der normale bzw. physiologische Sinusrhythmus ist gekennzeichnet durch die regelmäßige Herzschlagfrequenz, die je nach Tierart und auch Rasse variieren kann. Der normale Sinusrhythmus wird durch ein weitgehend konstant bleibendes PP- und RR-Intervall, eine konstante PQ-Dauer und unauffällige QRS-Komplexe gekennzeichnet. Werden diese Kriterien nicht erfüllt, liegt eine Arrhythmie vor (Tilley, 1997). Der Entstehung von Arrhythmien liegen verschiedene Ursachen zugrunde. Zum Einen werden sie durch pathologische Abweichungen in der Erregungsbildung bzw. dem Ursprung der elektrischen Impulse ausgelöst. Zum Anderen können sie auch durch verschiedene Erregungsleitungsstörungen verursacht werden, die zu einer Veränderung der Depolarisationskaskade in den Vorhöfen und Kammern führen. (Silber und Katz, 1975). Anhand der verursachenden Veränderungen in der Erregungsbildung oder -leitung können die verschiedenen Arrhythmien in einer entsprechenden Systematik unterteilt werden.

#### **2.3.1 Erregungsbildungsstörungen mit supraventrikulärer Lokalisation**

##### *Vorhofextrasystolen*

Die Vorhofextrasystolen, auch atriale Extrasystolen genannt, entstehen durch eine frühzeitige Impulsbildung innerhalb der Vorhöfe, deren Ursprung nicht im Sinusknoten liegt. Es werden im EKG ein unregelmäßiger Rhythmus, der durch zusätzliche P-Wellen verursacht wird, festgestellt. Ihr Auslöser kann eine Vergrößerung der Vorhöfe sein. Die atrialen Extrasystolen können in eine Vorhoftachykardie, Vorhofflattern oder Vorhofflimmern übergehen (Tilley, 1997).

##### *Vorhoftachykardie*

Die Vorhoftachykardie ist ein sehr schneller aber meist regelmäßiger Rhythmus, dessen Schrittmacherzentrum innerhalb der Vorhöfe, aber außerhalb des Sinusknotens liegt. Die Frequenz liegt z. B. bei der Katze über 240 Schlägen pro Minute. Ihr Auftreten kann entweder permanent oder anfallsweise bzw. paroxysmal sein, ihr PP-Intervall ist regelmäßig. Als Vorhoftachykardie kann auch ein Herzrhythmus mit mindestens drei aufeinander folgenden Vorhofextrasystolen bezeichnet werden (Tilley, 1997).

### *Vorhofflattern*

Beim Vorhofflattern liegt die Vorhoffrequenz beim Menschen zwischen 300 und 500 Schlägen pro Minute. Im typischen Erscheinungsbild besitzen die P-Wellen eine charakteristische Sägeblattform, die so genannten Flatterwellen oder F-Wellen. Bei der atypischen Form treten die F-Wellen nicht auf und sind somit schwer von einer Vorhofftachykardie zu unterscheiden (Tilley, 1997).

### *Vorhofflimmern*

Das Vorhofflimmern zeigt noch höhere Frequenzen als das Vorhofflattern und der Rhythmus ist unregelmäßig. Im EKG fehlen die charakteristischen P-Wellen der Vorhöfe gänzlich und weisen nur eine undulierende Nulllinie mit schwach angedeuteten F-Wellen auf (Tilley, 1997).

### *AV-Ersatzrhythmus (sekundäre Arrhythmie auf AV-Knoten-Ebene)*

Der Sinusknoten gilt ursprünglich als primärer Schrittmacher. Falls dieser langsamer wird oder seine Funktion ganz ausfällt, übernimmt ein untergeordneter Schrittmacher seine Funktion. Durch das Ausbleiben des Impulses des Sinusknotens wird die Herzaktion durch den AV-Knoten, das nächste untergeordnete Schrittmacherzentrum, aufrechterhalten. Die Depolarisation erfolgt von dort aus vorwärts in Richtung der Kammern und rückwärts in Richtung der Vorhöfe. Kommt es nur zu einem kurzen Impuls aus einem untergeordneten Schrittmacher, bezeichnet man dies als Ersatzsystole. Wird die Funktion für kurze Zeit komplett übernommen, so nennt man dies Ersatzrhythmus. Beim AV-Ersatzrhythmus ist die Frequenz verlangsamt und nach den Ersatzsystolen folgt eine Pause (Tilley, 1997).

## **2.3.2 Erregungsbildungsstörungen mit ventrikulärer Lokalisation**

### *Ventrikuläre Extrasystolen (VES)*

Durch eine frühzeitige Impulsbildung aus einem ektopen Schrittmacherzentrum innerhalb der Hauptkammern kommt es zu einer Depolarisation des Herzens, die sich verzögert über das Myokard ausbreitet. Durch die verlangsamte Depolarisationsabfolge erscheinen die QRS-Komplexe verbreitert und bizarr. Die Störungen, die VES auslösen, können direkt vom Herzen ausgehen (z. B. Stauungsinsuffizienzen, Myokardinfarkte) oder indirekt das Herz beeinflussen (z. B. Hypoxie, Anämie) oder durch Medikamente verursacht werden (Tilley, 1997).

### *Kammertachykardie*

Die Kammertachykardie ist eine Summation von ventrikulären Extrasystolen. Ihr Auftreten kann durchgehend sein, wobei alle Primärimpulse aus dem Myokard stammen, oder sie treten nur vorübergehend mit mindestens drei Extrasystolen auf (Tilley, 1997).

Das Kammerflattern ist eine Form der Kammertachykardie mit einer sehr hohen Frequenz von VES (Tilley, 1997).

### *Kammerflimmern*

Beim Kammerflimmern sind im EKG keine normalen Komplexe mehr zu sehen, es sind lediglich unregelmäßige und bizarre Wellen zu sehen. Die Frequenz ist sehr hoch (Tilley, 1997).

### *Ventrikulärer Ersatzrhythmus (idioventrikulärer Rhythmus)*

Fällt der Sinus- und AV-Knoten aus, übernimmt das Erregungsbildungssystem der Ventrikel die Schrittmacherfunktion. Die Frequenz ist beim Menschen meist kleiner als 40 Schläge pro Minute und im EKG sind meist keine P-Wellen feststellbar. Wenn diese ventrikulären Ersatzsystolen (ES) den Herzrhythmus bestimmen, wird dies auch idioventrikulärer Rhythmus genannt (Tilley, 1997).

## **2.3.3 Erregungsleitungsstörungen**

### *AV-Block*

Der AV-Block ist eine verzögerte oder ganz unterbrochene Erregungsüberleitungsstörung im AV-Knoten oder dem His'schen Bündel. Die supraventrikulären Primärimpulse werden verspätet oder gar nicht übergeleitet. Je nach Ausmaß der Störung wird der AV-Block in drei Grade eingeteilt (Tilley, 1997):

### *AV-Block I° (partieller AV-Block)*

Beim AV-Block I° kommt es zu einer verzögerten Erregungsüberleitung. Die P-Wellen und der QRS-Komplex sind normal ausgeprägt, aber das PQ-Intervall ist entsprechend verlängert. Das Vorkommen eines AV-Blocks I° kann durch Digitalisintoxikationen, Propranolol oder Hyper- und Hypokaliämie verursacht werden (Tilley, 1997).

### *AV-Block II° (partieller AV-Block)*

Unter AV-Block II° versteht man eine Unterbrechung der atrioventrikulären Erregungsüberleitung, die allerdings nur vorübergehend ist. Er wird weiterhin noch in den Mobitz-Typ I und II eingeteilt. Der Mobitz-Typ I (oder auch Wenckebachsche Periodik genannt) kennzeichnet sich im EKG mit einem unregelmäßigen Rhythmus, der durch ein stetig kürzer werdendes RR-Intervall und länger werdendes PQ-Intervall gekennzeichnet ist. Dies hat zur Folge, dass die P-Welle dann nicht mehr übergeleitet wird. P und QRS sind normal geformt. Die Kammerfrequenz ist durch die gestörte Überleitung kleiner als die Vorhoffrequenz. Beim Mobitz-Typ II ist das PQ-Intervall konstant und die P-Wellen normal geformt. Der QRS-Komplex kann verbreitert sein und einem Schenkel-Block ähneln. Er kann durch einen erhöhten Vagotonus oder eine hypertrophe Kardiomyopathie ausgelöst werden (Tilley, 1997).

### *AV-Block III° (totaler AV-Block)*

Der AV-Block III° ist ein totaler AV-Block, d. h. die atrioventrikuläre Erregungsüberleitung ist permanent unterbrochen und die Primärerregungsimpulse der Vorhöfe erreichen die Ventrikel nicht. So müssen andere Schrittmacherzentren unterhalb des Blockes die Herzaktivität aufrechterhalten. Die Vorhöfe und die Kammern werden somit von zwei verschiedenen Schrittmachern depolarisiert. Zwischen den P-Wellen und den QRS-Komplexen besteht kein Zusammenhang. Die P-Wellen sind normal geformt und treten vermehrt isoliert auf, ihr PP-Intervall ist konstant. Die QRS-Komplexe treten nicht so häufig in Erscheinung. Wenn der Ersatzschrittmacher im Ventrikelmyokard liegt oder zugleich ein Schenkelblock vorhanden ist, sind die Komplexe verbreitert und bizarr geformt. Falls der Ersatzschrittmacherimpuls aus den unteren Teilen des AV-Knotens und oberhalb der Aufteilung des His'schen Bündels kommt und kein Schenkelblock vorliegt, so sind die QRS-Komplexe normal geformt. Bei beiden Typen ist das RR-Intervall weitgehend konstant. Der AV-Block III° kann bei verschiedenen Formen von Kardiomyopathien auftreten (Tilley, 1997).

### *Schenkel-Block*

Das ventrikuläre Erregungsleitungssystem besteht aus drei Hauptästen, diese können einzeln oder auch kombiniert blockiert sein. Die Hauptäste sind der rechte und der linke Tawara-Schenkel, wobei sich der linke Schenkel nochmals in einen linksanterioren, einen rechtsanterioren und einen septalen Faszikel aufteilt. Demzufolge kann es zu einem Rechtsschenkelblock, Linksschenkelblock, Hemiblock, kombinierten Block oder trifaszikulären Block (Block aller drei großen Leitungswege) kommen (Tilley, 1997).

## **2.4 Tachyarrhythmien**

Tachyarrhythmien machen den größeren Teil der arrhythmogenen Todesursachen aus, ihnen kommt daher auch in der Elektrophysiologie eine herausragende Bedeutung zu. Grundsätzlich werden drei Mechanismen, die zu einer tachykarden Rhythmusstörung führen, unterschieden: gesteigerte Automatie, getriggerte Aktivität und Reentry (Kreiserregung).

Die gesteigerte Automatie basiert meist auf metabolischen Störungen des Herzmuskels wie Ischämie, Elektrolytstörung, Sympathikotonus und Störungen des Säuren-Basen-Gleichgewichts (Fogoros, 1999).

Reentry-Tachykardien sind die häufigste Ursache tachykarder Herzrhythmusstörungen. Für das Zustandekommen von Reentry-Tachykardien bedarf es einiger anatomischer und physiologischer Voraussetzungen: es muss zwei benachbarte aber elektrische Leitungsbahnen geben, die deutliche Unterschiede in der Leitungsgeschwindigkeit zeigen und die deutliche Unterschiede in der Refraktärzeit zeigen. Dabei muss die langsamere Leitungsbahn eine kürzere Refraktärzeit haben. Diese Voraussetzungen ermöglichen eine Kreiserregung. Die Erkennung des Reentry-Mechanismus als Hauptursache von Tachyarrhythmien und deren problemlose Diagnostik und Therapie durch eine invasive elektrophysiologische Testung hat zu einer weiten Verbreitung der EPU entscheidend beigetragen (Fogoros, 1999).

Der plötzliche Herztod ist eine der häufigsten Todesursachen in der Bundesrepublik Deutschland. Obwohl so viele Menschen durch ihn betroffen sind, hat sich weder bei den medizinischen Laien noch bei den Medizinern die Erkenntnis durchgesetzt, dass es sich hierbei nicht um ein schicksalhaftes sondern ein durchaus vermeidbares Ereignis handelt. Denn in den meisten Fällen handelt es sich beim plötzlichen Herztod nicht um die akute Folge eines Myokardinfarktes, sondern um ein tachysystolisches akutes Herzversagen, also um eine

ventrikuläre Tachykardie oder Kammerflimmern. Gerade die Diagnostik dieser Rhythmusstörungen jedoch hat eine bedeutsame Verbesserung erfahren und es Elektrophysiologen ermöglicht, diejenigen Personen mit hohem Risiko rechtzeitig zu erkennen und zu behandeln (Fogoros, 1999).

## **2.5 Das EKG**

Das Elektrokardiogramm dient der graphischen bzw. visuellen Darstellung der elektrischen Potentiale des Herzens. Aufgrund der Spannungsschwankungen, die bei der Herzaktion in den einzelnen Herzmuskelzellen entstehen und durch den gesamten Körper fortgeleitet werden, können diese Potentiale mit einem EKG-Gerät direkt von der Körperoberfläche abgeleitet und in Form von Kurven und Zacken dargestellt werden. Diese "Ausschläge" entstehen durch die Addition der Stärken und Richtungen der Erregungsleitungen in den einzelnen Herzmuskelzellen und Nervenfasern (Klinge, 1997).

Die Ableitung der Herzpotentiale erfolgt in verschiedenen Aufzeichnungswinkeln relativ zum Herzen. Diese Aufzeichnungswinkel sind durch die unterschiedlich angelegten EKG-Ableitpunkte bzw. Elektroden definiert und bilden die entsprechenden Ableitungen. Durch die verschiedenen Ableitungen ist es möglich, ein nahezu vollständiges Bild über den Erregungsablauf im Herzen zu erhalten. So können präzise Aussagen über Herzrhythmus und -frequenz, Lagetyp des Herzens im Thorax sowie Störungen in Erregungsbildung, -ausbreitung und -rückbildung im Erregungsleitungssystem und im Myokard getroffen werden. Störungen der Erregungsrückbildung (Repolarisation) können zu so genannten Kammerendteilveränderungen (Veränderungen der ST-Strecke oder der T-Welle) führen. Das EKG kann auch Hinweise auf eine Verdickung der Herzwand (Hypertrophie des Myokards), eine abnorme Belastung des rechten oder linken Herzens, Entzündungen von Herzbeutel (Perikarditis) oder Herzmuskel (Myokarditis) sowie Elektrolytstörungen und unerwünschte Arzneimittelwirkungen liefern (Horacek, 2003; Klinge, 1997). Allerdings ist zu beachten, dass im EKG nur Herzrhythmusstörungen und pathologische Veränderungen des Myokards festgestellt werden können. Befunde über die mechanische Herzleistung können nicht erhoben werden. Dies bedeutet, dass unspezifische Veränderungen auch im EKG herzgesunder Tiere erscheinen können und hochgradig herzkrankte Tiere nicht zwingend ein verändertes EKG aufweisen müssen (Tilley, 1997).



Das Langzeit-EKG ist eine Form der EKG-Registrierung, bei der die abgeleiteten Herzaktionen über die gesamte Registrierzeit vorerst auf einem Festspeicher aufgezeichnet werden. Diese Art der Speicherelektrokardiographie ermöglicht es, einen besseren Überblick über die elektrischen Vorgänge des Herzens zu bekommen. Im Gegensatz zu einem Routine- bzw. Screening-EKG, das nur über einen Zeitraum von mehreren Sekunden bis wenigen Minuten mit drei bis zwölf Ableitungen aufgezeichnet wird, können bei der Langzeit-Elektrokardiographie die Herzaktionen über mehrere Stunden oder Tage, jedoch meist nur mit zwei Ableitungen aufgezeichnet werden (Fitscha, Tiso und Meisner, 1981). Dadurch stellt das Langzeit-EKG neben dem Screening-EKG die beste und sensitivste Methode dar, um Herzrhythmusstörungen, insbesondere intermittierend auftretende Arrhythmien, zu diagnostizieren (Egging, Osterhues und Kochs, 1992). Mit der sich in den letzten Jahren ständig weiterentwickelnden Computertechnologie haben sich in der Humanmedizin elektronisch aufzeichnende und finanziell erschwingliche computergestützte EKG-Rekorder (PC-EKG) erfolgreich etabliert. Dabei werden zur Kostenminimierung Personalcomputer und Drucker, die ohnehin in den Praxen vorhanden sind, für die Ableitung, Aufzeichnung, Speicherung und Vermessung der Elektrokardiogramme genutzt.

Im Jahr 1952 beschrieb LOMBARD und 1953 RICHARDS et al. das Elektrokardiogramm (EKG) kleiner Säugetiere. Die EKGs von Ratten, Mäusen und anderen kleinen Tieren unterschieden sich deutlich von dem des Menschen. So war bei einigen EKGs keine T-Welle oder aber eine T-Welle, die direkt auf die S-Zacke folgt, vorhanden. Dabei trat kein isoelektrisches ST-Segment auf. Desweiteren zeigten die Tiere eine schnellere Herzfrequenz mit kürzeren P-R und QRS-Intervallen. Diese bereits 50 Jahre alten Befunde geben bereits Hinweise auf typische Charakteristika der Elektrokardiogramme kleiner Säugetiere (Wehrens, Kirchhoff und Doevendans, 2000).

## ***2.6 Die humane EPU***

Für die Durchführung einer EPU werden in örtlicher Betäubung eine oder mehrere dünne Sonden (Katheter) in ein Blutgefäß eingeführt und unter Röntgenkontrolle in aller Regel schmerzfrei zum Herzen vorgeschoben. Über die Sonden werden dann EKG-Signale aus dem Herzen gemessen. Darüber hinaus kann das Herz nach einem bestimmten Schema wie über einen Herzschrittmacher stimuliert werden.

Die zur Untersuchung benötigten 2-4 Elektrodenkatheter sind kleine, verformbare Kunststoffschläuche mit Kontakten aus Metall (Elektroden) an der Spitze.

Zur Ableitung des intrakardialen EKGs werden die Elektrodenkatheter meist über Venen, zum Teil jedoch auch über Arterien in die jeweilige Herzhöhle eingeführt. An jedem Katheter sind zwei oder mehr Ringelektroden angebracht, die am Endokard plaziert werden und dort die lokalen elektrischen Potentialschwankungen des Myokards ableiten. Dazu bedarf es wiederum einer Verstärkereinheit für die eingehenden Signale sowie der Möglichkeit, die Signale darzustellen. Heute wird mit computergestützten Registriereinheiten gearbeitet, die eine Bearbeitung der digitalen Aufzeichnungen im Online- und Offline-Verfahren ermöglichen. Ein Monitor zur kontinuierlichen Überwachung des EKGs, ein Arbeitsmonitor für die computerunterstützte Bearbeitung und ein Stimulationsgerät ergänzen die Registriereinheit. Mit dem Stimulationsgerät werden u. a. bestimmte Stimulationstest durchgeführt. Die jeweiligen notwendigen elektrischen Impulse können in Stärke, Dauer und Abfolge mit diesem Gerät eingestellt werden. Eine elektrische Verbindungsleitung zwischen dem Stimulationsgerät und beliebigen zwei Ringelektroden eines Elektrodenkatheters ermöglicht, diese elektrischen Impulse an das Endokard zu leiten und so das Herz elektrisch zu reizen, d. h. zu stimulieren. Der Katheterschaft besteht aus Polyethylen und ist zur besseren Steuerbarkeit verstärkt. Der Katheter selbst ist i. d. R. Zwischen 4 und 8 French (F) dick (1 F=0,33 mm). An der Katheterspitze sind die einzelnen Ringelektroden aus Platin angebracht. Unterschiede können hier hinsichtlich der Elektrodenanzahl und Elektrodenlänge sowie der Elektrodenabstände bestehen. Sind zwei Ringelektroden vorhanden, spricht man von einem zweipoligen Katheter. Der Zugang erfolgt durch das entsprechende Gefäß. Nach der perkutanen Punktion des Gefäßes wird ein Führungsdraht durch die Punktionskanüle in das Gefäß eingeführt. Die Kanüle wird entfernt und über den Führungsdraht ein so genannter Dilatator geschoben, über dem zuvor eine Schleuse eingesetzt wurde. Führungsdraht und Dilatator werden dann wieder aus dem Gefäß entfernt. Über die eingebrachte Schleuse wird der Katheter in das Gefäß eingeführt und bis zur Zielregion vorgeschoben. Um die richtige Führung des Katheters sicherzustellen, geschieht dies in der Humanmedizin unter Röntgendurchleuchtungskontrolle.

Um in das rechte Herz zu gelangen, werden die Elektrodenkatheter i. d. R. über die Beinvene (V. femoralis) eingeführt. Alternativ kann der venöse Zugang auch über die Armvene (V. basilica), die Halsvene (V. jugularis) oder die Schlüsselbeinvene (V. subclavia) gelegt werden. Die linke Herzkammer wird retrograd, d. h. gegen den Blutstrom, über einen Zugang in der Beinarterie (A. femoralis) über die Aorta und Aortenklappe erreicht. Der linke Vorhof wird über einen transseptalen Zugang, d. h. durch die Herzscheidewand im Vorhof erreicht.

Um einen Erregungsablauf im Herzen verfolgen zu können, werden die Elektrodenkatheter üblicherweise an vier aussagekräftigen Stellen im Herzen positioniert. Es werden elektrische Signale sinusknottennah, von der His-Bündel-Region, von der rechten Ventrikelspitze und aus dem Coronarvenensinus gleichzeitig mit dem Oberflächen-EKG registriert.

Die eigentliche elektrophysiologische Untersuchung beginnt nach der Platzierung der Katheter und deren Anschluss an die Verstärker- und Registriereinheit mit der Aufzeichnung aller EKG-Ableitungen im Sinusrhythmus. Im Oberflächen- und intrakardialen EKG lassen sich bei normalem Sinusrhythmus typische Leitungsintervalle bestimmen: Als RR-Intervall bezeichnet man das Intervall zwischen zwei aufeinander folgenden R-Zacken im Oberflächen-EKG. Die Angabe des Intervalls erfolgt in Millisekunden. Das RR-Intervall gibt die Dauer eines Herzschlages an. Somit lässt sich aus diesem Intervall die Herzfrequenz (Herzschläge pro Minute) errechnen. Die modernen Computersysteme für die EPU zeigen die aktuelle Zykluslänge (RR-Intervall) und die Herzfrequenz auf dem Bildschirm an. Es folgt eine Interpretation des Oberflächen-EKGs.

Im Anschluss an die EKG-Interpretation werden im Rahmen einer EPU bestimmte Parameter und Stimulationstests durchgeführt. Diese dienen zur differenzierten Diagnostik von Arrhythmien. Dabei werden an die Spitzenelektroden eines Katheters an definierten Stellen im Herzen elektrische Stimulationsimpulse von einem externen programmierbaren Schrittmacher in bestimmten Intervallen und Reihenfolgen abgegeben. Durch diese externen elektrischen Impulse wird das Endokard an dieser Stelle erregt, so dass sich diese Erregung über das Herz weiter ausbreitet. Die Erregungsabfolge und die Leitungszeiten im Herzen werden unter der Stimulation beurteilt. Insbesondere achtet man darauf, ob eine Rhythmusstörung durch diese Stimulationstests ausgelöst werden kann, um so ggf. ihren Auslösemechanismus zu erfassen. Beurteilt wird außerdem die Arrhythmieform. Die differenzierte Diagnostik ist entscheidend für die Wahl der Therapie und wichtig für die Durchführung der Katheterablation. Bei einer EPU werden immer dieselben Stimulationstests mit identischen Grundeinstellungen, Stimulationsabfolgen und Stimulationsorten im Herzen angewendet, es wird ein so genanntes Stimulationsprotokoll abgearbeitet.

Dauer und Stärke der Stimulationsimpulse werden am Gerät eingestellt. Die Impulsstärke richtet sich nach der Reizschwelle. Als Reizschwelle bezeichnet man die niedrigstmögliche Stärke des Impulses, der noch eine Depolarisation des Myokards auslöst. Ermittelt wird die Reizschwelle, indem man oberhalb der spontanen Herzfrequenz festfrequentiert stimuliert und dabei die Stärke des Impulses kontinuierlich von Impuls zu Impuls reduziert, so lange, bis nach einem Impuls keine Depolarisation im EKG mehr sichtbar ist. Die Impulsstärke, die

zuletzt noch eine Depolarisation des Myokards hervorgerufen hat, gibt die Reizschwelle an. Die darauf folgenden Stimulationstests werden mit der doppelten Stärke der zum Erreichen der Reizschwelle nötigen Stärke durchgeführt, um die Effektivität der Stimulation sicherzustellen. In Abhängigkeit von Diagnose und Fragestellung der Untersuchung werden im Verlauf der EPU verschiedene Stimulationstests durchgeführt.

Die Stimulation im Vorhof erlaubt in erster Linie eine Beurteilung der Erregungsleitung vom Vorhof zur Kammer, umgekehrt zeigt die Stimulation in der Kammer die rückläufige Erregungsleitung, also von der Kammer zum Vorhof. Außerdem dienen die Stimulationstests dazu, Rhythmusstörungen zu induzieren, um den Auslösemechanismus zu erkennen und die Arrhythmieform zu diagnostizieren, damit entsprechend eine Therapie eingeleitet werden kann (Schneider, 2005; Deutsches Herzzentrum München, 2009).

Aus dem Ergebnis der EPU leiten sich dann weitere therapeutische Schritte ab, z. B. ob eine Katheterablation (elektrische Verödung) oder die Implantation eines Herzschrittmachers notwendig ist.

## 2.7 Wichtige Parameter der EPU

### *Bestimmung des Wenckebachpunktes (= Überprüfung der atrioventrikulären Überleitung)*

Der Wenckebach-Punkt ist bei Vorhofstimulation mit steigender Frequenz diejenige Frequenz, bei der keine 1:1-Überleitung mehr erfolgt. Die Stimulationszykluslänge, bei der erstmalig das 1:1-Verhältnis nicht mehr zustande kommt, wird als der so genannte Wenckebach-Punkt angegeben (Fogoros, 1999; Hombach, 2001).

### *Bestimmung der Sinusknotenerholungszeit (SNRT)*

Die Sinusknotenerholungszeit als Maß für die intrinsische Sinusknotenautomatie ist definiert als dasjenige Zeitintervall, welches bis zum Auftreten der ersten spontanen Sinusknotenaktion nach atrialer Überstimulation (d. h. einer Stimulation mit einer Frequenz oberhalb des Eigenrhythmus) verstreicht.

Die Zeitspanne bis zum Einsetzen der Spontandepolarisation des Sinusknotens spiegelt die SNRT wieder (Fogoros, 1999; Hombach, 2001)

### *Refraktärzeit*

Da die Refraktärzeit einer Einzelzelle mit der EPU nicht bestimmt werden kann, unterscheidet sich die elektrophysiologische Definition der Refraktärzeit von der der Physiologie. Die Refraktärzeit wird gemessen, indem ein vorzeitiger Stimulus abgegeben und die Antwort des Gewebes analysiert wird. Die effektive Refraktärzeit entspricht dem längsten Kupplungsintervall eines vorzeitigen Stimulus, bei dem es gerade noch nicht zu einer Reizantwort des Gewebes kommt (Fogoros, 1999).

Sie kann im Vorhof (*Bestimmung der effektiven Refraktärzeit des Vorhofes*)

und in der Kammer bestimmt werden (*Bestimmung der effektiven Refraktärzeit der Kammer*).

### *Bestimmung der effektiven Refraktärzeit des AV-Knotens*

Die effektive Refraktärzeit des AV-Knotens ist definiert als das längste Intervall zweier Vorhof-Impulse, bei dem der zweite Impuls nicht mehr zur Depolarisation des Ventrikels führt (Fogoros, 1999)

### *Die programmierte Ventrikelstimulation zur Induktion von Tachykardien*

Die programmierte Ventrikelstimulation bei mehreren Basiszykluslängen dient zur Induktion ventrikulärer Tachyarrhythmien, aber auch zur Induktion atrioventrikulärer Tachykardien (z. B. AV-Knoten-Reentry-Tachykardien) (Hombach, 2001).

### *Burststimulation*

Das Myokard lässt sich durch die Stimulation mit schnelleren Stimulationsfrequenzen leichter irritieren.

Die Burst-Stimulation ist eine Überstimulation mit rasch aufeinander folgenden Stimuli, deren Intervalle kürzer sind als die der Tachykardie. Sie kann im Vorhof und in der Kammer durchgeführt werden (Hombach, 2001).

### *Isoprenalin-Stimulation*

Isoprenalin ist ein synthetischer Beta1- und Beta2-Agonist (Keene, 1987; Plumb, 1999), in therapeutischen Dosen (Plumb, 1999) ohne nennenswerte Alpha-Aktivität (Plumb 1999; Keene 1987). Zu seinen Wirkungen gehören die Stimulation des Herzens (Plumb, 1999; Keene, 1987), eine periphere Vasodilatation (Plumb, 1999) und eine Bronchodilatation (Windholz, 1983). Durch Erhöhung des langsamen  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstroms werden die spontane diastolische Depolarisation und dadurch die Herzfrequenz und die Erregungsleitung beschleunigt, besonders im AV-Knoten. Isoprenalin wirkt positiv inotrop und chronotrop (Plumb, 1999; Keene, 1987), das Herzminutenvolumen wird erhöht (Keene, 1987; Plumb, 1999), der Blutdruck gesenkt (Keene, 1987). Isoprenalin führt zu einer erhöhten Schrittmacheraktivität am Herzen (Tilley, 1997; Plumb, 1999), die arrhythmogene Wirkung von Isoprenalin ist daher groß (Keene, 1987; Tilley, 1997). Das Stressprotokoll mittels Isoprenalin wird im Anschluss an das Kammerprotokoll durchgeführt und dient der Kontrolle der Auslösbarkeit von Arrhythmien unter Belastung. Während der Wirkungsphase von Isoprenalin (ca. 15–20 min) erfolgt die programmierte Kammerstimulation bei einem festgelegten Basiswert. Anschließend erfolgt der Kammer-Burst bei festgelegten Basiswerten (Fogoros, 1999; Hombach, 2001).

---

## **2.8 Entstehung und Formen der pathologischen Herzhypertrophie**

### **2.8.1 Entstehung einer pathologischen Herzhypertrophie**

Eine herabgesetzte kardiale Pumpfunktion durch verminderte myokardiale Kontraktilität oder eine erhöhte Wandspannung des Ventrikels durch erhöhte Vor- oder Nachlast führt zu einer Reduktion des Schlagvolumens. Als Folge kommt es zu einer Aktivierung des sympathischen Nervensystems (SNS) mit erhöhter Katecholaminausschüttung und zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) mit nachfolgender Natrium- und Wasserretention. Dies führt wiederum zu einer Steigerung der Vor- und Nachlast und zu einer myokardialen Hypertrophie mit Umbauvorgängen des Myokards auf zellulärer und molekularer Ebene (Remodeling). Diese Kompensationsmechanismen erhalten im Frühstadium der Erkrankung das Herzminutenvolumen, den Blutdruck und die Durchblutung lebenswichtiger Organe, im Spätstadium der Erkrankung kommt es jedoch zu einem Abfall des Herzminutenvolumens und zu einer herabgesetzten Pumpfunktion bei insgesamt unökonomischer Herzarbeit (Braunwald und Bristow, 2000; Schrier und Abraham, 1999; Cohn, 1995; Benedict, Shelton, et al., 1996).

### **2.8.2 Formen der Herzhypertrophie**

Grundsätzlich werden zwei Arten von pathologischen hypertrophen Reaktionen beobachtet: zum Einen die sich oft bei Volumenbelastung entwickelnde exzentrische Hypertrophie, welche durch ein verstärktes Längenwachstum der Myozyten mit nachfolgender Dilatation der Ventrikel gekennzeichnet ist. Zum Anderen die gehäuft nach Druckbelastung auftretende konzentrische Hypertrophie, bei der es zu einer parallel angeordneten Zunahme der kontraktilen Einheiten kommt und daraus ein Breitenwachstum der Myozyten und Ventrikelwand resultiert (Carabello, 2003). Beide Hypertrophieformen können sich im Rahmen einer dilatativen Kardiomyopathie oder hypertrophen Kardiomyopathie auch primär oder „idiopathisch“ entwickeln.

Exzentrische und konzentrische Hypertrophie führen auf lange Sicht zur Abnahme der Arbeitseffizienz der Herzmuskulatur und schließlich zur Herzinsuffizienz. Auch ist das Risiko für Arrhythmien deutlich erhöht (Kahan und Bergfeldt, 2005).

Pathologische Hypertrophie wird durch chronische Stresssignale wie Bluthochdruck (Hypertonie) ausgelöst. Die Ursachen von Hypertonie sind in den meisten Fällen nicht offensichtlich. Neben Lebensstilfaktoren (Übergewicht, hoher Salzkonsum etc.) kann eine genetische Veranlagung der Auslöser sein. In 10-20 % der Fälle entsteht die Hypertonie sekundär in Folge einer Organ- oder Systemerkrankung (Nierenleiden, Diabetes mellitus). Auch arterieller Bluthochdruck führt zu einer Druckbelastung des linken Ventrikels. „Arterielle Hypertonie“ bezieht sich auf den primären Ort, an dem dieser Überdruck auftritt: In den vom Herz ableitenden Arterien. Er ist definiert als eine dauerhafte Erhöhung des Blutdrucks. Gemessen werden der obere oder systolische und der untere, diastolische, Wert. Einmalige oder gelegentlich erhöhte Werte müssen jedoch nicht zwangsläufig einen krankhaften Hochdruck ausmachen. Die linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) ist ein wichtiger Risikofaktor für Herz-Kreislaufereignisse. Betroffene haben ein erhöhtes Risiko, an einer Herzinsuffizienz zu erkranken, einen Herzinfarkt oder Schlaganfall zu erleiden, oder am plötzlichen Herztod durch Herzrhythmusstörungen zu versterben. Der Bluthochdruck (Hypertonus) hat einen großen Einfluss auf die LVH. Untersuchungen haben in der Vergangenheit gezeigt, dass Hypertoniker mit einer im EKG gesicherten LVH von einer blutdrucksenkenden Behandlung mit bestimmten Medikamenten in mehrfacher Hinsicht profitieren können: In einigen Fällen bildet sich die linksventrikuläre Hypertrophie zurück und auch das Risiko für eine spätere Diabeteserkrankung sinkt. (Okin, Devereux und Harris, 2007).



## ***2.9 Tierexperimentelle Hypertrophie-Modelle***

Durch tierexperimentelle Versuche am lebenden Organismus ist es möglich, zugrunde liegende Prozesse zu verstehen, den Verlauf einer Erkrankung zu beobachten und mögliche therapeutische Optionen zu testen. Ein „ideales“ Tiermodell würde die menschliche Erkrankung nachahmen, Untersuchungen in einem stabilem Zustand der Erkrankung erlauben, genau vorhersagbare und messbare Symptome erzeugen, sowie ethische, technische und ökonomische Belange berücksichtigen (Elsner und Riegger, 1991; Doggrell und Brown, 1998). Ein Tiermodell, das alle diese Anforderungen in sich vereint, existiert jedoch bei der komplexen Entstehung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen naturgemäß nicht. Allerdings konnten einzelne wichtige pathophysiologische Veränderungen, die im Rahmen von Herz-Kreislauf-Erkrankungen beim Menschen entstehen (wie arterieller Bluthochdruck, Herzhypertrophie und chronische Herzinsuffizienz) erfolgreich in tierexperimentellen Modellen nachgeahmt werden.

Durch tierexperimentelle Modelle können Pathogenese und Auswirkungen der myokardialen Hypertrophie und Herzinsuffizienz erforscht werden. Es soll daher kurz auf die relevanten Tiermodelle eingegangen werden.

Auf der Basis einer Hypertonie durch Volumenbelastung z. B. durch Aldosteron-Dauerinfusion sowie salzreiche Kost, kann eine Herzwanddickenzunahme entstehen. Auch eine infrarenale Aorten-Ligatur, d. h. eine teilweise Unterbindung der Aorta, oder suprarenale Aorten-Ligatur mit Stenose der rechten A. renalis führt über den Weg der erhöhten Druckbelastung zur kardialen Hypertrophie. Diese Methoden lassen sich auf unterschiedliche Tierarten anwenden, z. B. auf Ratten (Del Monte et al. 2002), Mäuse (Hu et al. 2003), Hunde (Bache et al. 1987) oder Meerschweinchen (Tweedie et al. 1995).

Genetische Determinierung verursacht ebenfalls eine Hypertrophie. Wichtige Beispiele sind die Spontan-hypertensiven-Ratten (SHR) (Ganten et al. 1991) und die transgenen Tiere, die Angiotensinogen (TGR Ang-N) (Mazzolai et al., 1998) oder Renin (TGR(mRen2)) (Ganten et al., 1991) überexprimieren. Es werden vor allem Ratten und Mäuse verwendet. Die SHR entwickeln auf hereditärer und genetischer Basis eine Hypertonie und sind somit ein gutes Modell für natürlich entstehende primäre Hypertonie.

### *Angiotensin II-induzierte Hypertrophie in vivo*

Zur Induktion der Hypertrophie in vivo wird das Peptidhormon Angiotensin II (Ang II) eingesetzt. Zirkulierendes Angiotensin II (Ang II) kann über eine Reihe von Mechanismen zu einer Erhöhung des Blutdruckes führen, wobei die Verstärkung der sympathisch-adrenergisch vermittelten Vasokonstriktion und nicht die direkte Wirkung von Ang II an der glatten Muskulatur den entscheidenden Beitrag für die Erhöhung des Gefäßtonus liefert. Die Wirkung von Ang II wirkt im Wesentlichen über zwei Rezeptortypen, den AT1- und den AT2-Rezeptor. Beide Rezeptortypen haben eine starke Affinität für Ang II und praktisch keine für Ang I. So kommt es am Myokard wie auch an den Gefäßen im Zusammenwirken mit anderen Wachstumsfaktoren zu einer Hypertrophie der kontraktilen Zellen sowie zu einer verstärkten Synthese von Proteinen der extrazellulären Matrix. Aus diesen Effekten erklärt sich die zentrale Rolle von Ang II in der Pathogenese chronischer kardiovaskulärer Erkrankungen (Hypertonie, Arteriosklerose, Herzinsuffizienz)

Die arterielle Hypertonie wird tierexperimentell mittels Dauerinfusion mit Ang II hervorgerufen. Hierzu werden Minipumpen mit einer Ang II-Lösung gefüllt, die in ihrer Konzentration dem Gewicht des jeweiligen Tieres angepasst wurde. Die Pumpen werden unter Inhalationsnarkose mit Isofluran implantiert. Dazu wird im Bereich des Rückens ein Hautschnitt gesetzt und die Pumpe subkutan positioniert. Anschließend wird die Wunde mit chirurgischen Nähten verschlossen.

### *Abdominale Aortenligatur (Aortic banding)*

Bei der abdominalen Aortenligatur erfolgt unter Narkose die stumpfe Präparation der Bauchaorta und die anschließende Identifikation des Trunkus intestinalis und der Abgänge der beiden Nierenarterien. Genau zwischen diesen beiden Abgängen erfolgte die Ligatur der Aorta abdominalis, um die rechte Niere in ihrer Funktion nicht zu beeinträchtigen. Die Stelle wird aufgesucht und ein Ligaturfaden unter der Bauchaorta hindurchgezogen. Um den Durchmesser der Ligatur zu standardisieren, wird eine abgestumpfte Insulinkanüle zusammen mit der Aorta abdominalis eingebunden. Die erfolgreiche Unterbindung der Blutzufuhr kaudal der Ligatur kann sofort an einem „Blasswerden“ des linken Nierengewebes überprüft werden. Die Insulinkanüle wird dann wieder entfernt. Die Aorta kann sich nun in dem vorgegebenen Durchmesser erweitern, eine reduzierte Blutzufuhr zur linken Niere ist somit wieder gewährleistet.

---

*Thorakale Aortenligatur (Aortic banding nach Spillmann)*

Unter Narkose und Beatmung wird die linke Thoraxseite bis auf die Rippen freipräpariert und der Brustkorb mit einem Retraktor zwischen 2. und 3. Rippe aufgespreizt. Die Aortenwurzel wird frei gelegt und ein Clip vor der Abzweigung eines peripheren Gefäßes an der Aorta ascendens positioniert. Das Zusammendrücken des Clips mit der Clipzange bewirkt eine intraluminale Verengung der Aorta. Die Einstellung der Clipzange auf einen festen Abstand gewährleistet, dass die Aorten bei allen Tieren auf das gleiche Maß eingengt werden. Nach der Positionierung des Clips wird der Retraktor entfernt, die freie Luft aus dem Thorax verdrängt und der Brustkorb wieder verschlossen.

Aufgrund eines verringerten Gefäßdurchmessers der Aorta im Bereich von Aorta ascendens und Aortenbogen kommt es zum Anstieg der Nachlast des linken Ventrikels. Die erhöhte Nachlast des linken Ventrikels führt zur Entwicklung einer stark ausgeprägten konzentrischen Hypertrophie innerhalb von ca. 30 Tagen.

*RAAS-dTGR-Modell*

Neuere Experimente wurden an doppelt transgenen Ratten (dTGR), die humanes Renin und Angiotensinogen überexprimieren, durchgeführt. Durch den verstärkten Einfluss des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) entsteht die myokardiale Hypertrophie und die Endorganschädigung. Anhand dieses Modells kann die Wirkungsweise und Inhibition des RAAS sehr gut untersucht werden. Bohlender et al. zeigten, dass sich bei den dTGR eine arterielle Hypertonie mit den daraus resultierenden Folgen am Herzen und den Endorganen entwickelt (Bohlender et al., 1997). Der linke Ventrikel und der Durchmesser der Herzmuskelzellen (fast 20 %) waren vergrößert und das Herzgewicht schwerer als bei den Kontrolltieren. In den Nierengefäßen wurde eine Zunahme der Intima und Media beobachtet, und die Nierentubuli waren mit proteinhaltigem Material gefüllt. Es entwickelte sich eine Nephrosklerose. Die Tiere wiesen eine hohe Mortalität auf und starben nach circa 8 Wochen. Da das doppeltransgene Rattenmodell ohne äußere Eingriffe innerhalb kurzer Zeit eine hypertoniebedingte Herzhypertrophie ausbildet, eignet es sich sehr gut für Studien in der Herz-Kreislauf-Forschung.

## ***2.10 Therapieansätze von Herzrhythmusstörungen und hypertropher Kardiomyopathie***

Die Behandlung von Herzrhythmusstörungen ist zumeist noch eine Domäne der pharmakologischen Therapie, obwohl sowohl für supraventrikuläre als auch für ventrikuläre Arrhythmien invasive nicht-pharmakologische Therapieoptionen zur Verfügung stehen (Estner et al., 2005; Haissaguerre et al., 1998).

Neben dem klassischen Prinzip der Ionenkanalblockade durch Antiarrhythmika haben neue Untersuchungen auch die Bedeutung von strukturellen Veränderungen auf Zell- und Gewebeebene (Angiotensin II, oxidativer Stress usw.) für das Auftreten von Arrhythmien gezeigt (Allessie, Ausma und Schotten, 2002; Goette, 2000a; Arndt et al., 2000a; Goette et al., 2000b; Nattel, 2002; Nattel et al., 2000). Die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-System scheint v. a. bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen wie Herzinsuffizienz oder Hypertonus eine große Rolle zu spielen (Cohn, 1995; McEwan et al., 1998; Urata et al., 1990). Die Aktivierung des lokalen Angiotensinsystems begünstigt über AT-Rezeptoren die Entstehung eines „arrhythmogenen Substrats“ (Fibrose, myokardiale Zelldifferenzierung, Remodeling) innerhalb des Myokards, wobei auch direkte Angiotensin-II-Wirkung auf Ionenkanäle und –pumpen fokale Ektopien begünstigen.

Neben der Bedeutung des Angiotensin-II-Systems für das Entstehen von malignen Kammerarrhythmien und plötzlichem Herztod konnte auch eine Rolle für das Entstehen von Vorhofflimmern nachgewiesen werden (Goette et al., 2000b; Nattel, 2002; Teo et al., 2004).

Der therapeutische Stellenwert der Hemmung des RAAS durch den Einsatz von Angiotensin Converting-Enzyme (ACE)-Inhibitoren und AT1-Rezeptorantagonisten ist unbestritten (Paul et al., 1995; Rothermund und Paul, 1998).

Die Prognose von Patienten nach Myokardinfarkt ist, neben Reinfarkt und Pumpversagen, vor allem durch das Ereignis des plötzlichen Herztodes (sudden cardiac death, SCD) bestimmt. Der plötzliche Herztod, definiert als „plötzlicher Tod“ nach Bewusstseinsverlust innerhalb einer Stunde nach Symptombeginn, tritt in den USA ca. 300.000 mal/Jahr auf. Davon werden 62 % durch Kammertachykardie mit Übergang ins Kammerflimmern, 8 % durch primäres Kammerflimmern, 13 % durch Torsades de pointes und nur 17 % durch bradykarde Rhythmusstörungen verursacht. 75 % der Fälle von SCD haben einen Herzinfarkt in der Vorgeschichte, 20 % einen akuten Herzinfarkt, 5–10 % erleiden einen plötzlichen Herztod ohne koronare Herzkrankheit durch dilatative oder hypertrophe Kardiomyopathie oder primäre arrhythmogene Erkrankungen.

---

Eine großangelegte Studie zur Beurteilung des Einflusses von Omega-3-Fettsäuren (polyunsaturated fatty acids, PUFA) und Vitamin E in der Sekundärprävention des Myokardinfarktes GISSI-P (GISSI-P-Investigators, 1999) wurde 1999 publiziert. Die Untersuchung zeigte unter Gabe von Omega-3-Fettsäuren (1 g/d), nicht aber unter Anwendung von Vitamin E (300 mg/d), eine Reduktion der Gesamtmortalität um 20 % und sogar um 30 % in Bezug auf die kardiale Mortalität. Eine weitere Analyse der Daten und sekundäre Auswertung der Einzelkomponenten zeigte eine Reduktion des plötzlichen Herztodes um 45 % (Marchioli R on behalf of the Gissi-Prevenzione Investigators, 2001; Marchioli et al., 2002).

Dieses positive Ergebnis führte zur Aufnahme der Therapie mit Omega-3-Fettsäuren in die Richtlinien der europäischen Gesellschaft für Kardiologie („Guidelines on sudden cardiac death“ der European Society of Cardiology, 2001) zur Prävention des plötzlichen Herztodes nach Myokardinfarkt als Klasse-IIa-Empfehlung und in die „Guidelines Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation – secondary prevention“ als Klasse I, Level-B-Richtlinie (Task Force Report, 2003).

Die Gabe von Omega-3-PUFA ist heute integrierender Bestandteil der Therapie des Postinfarktpatienten und ihre Bedeutung mit Aufnahme in die ESC-Guidelines auch offiziell wissenschaftlich anerkannt. Die nachgewiesene hohe Effektivität und gute Verträglichkeit, insbesondere das Fehlen proarrhythmischer Nebenwirkungen, sichern hochkonzentrierten Omega-3-Fettsäuren in Kapselform als Evidence-based-Therapie einen wichtigen Stellenwert in der Sekundärprävention nach Myokardinfarkt. Diese Behandlung sollte somit jedem Patienten im ersten Jahr nach Myokardinfarkt empfohlen und verordnet werden, um die Postinfarktmortalität weiter zu reduzieren.

### **3 Material und Methode**

#### ***3.1 Die Etablierung der humanmedizinischen Elektrophysiologischen Untersuchung (EPU) in Ratte und Maus (Versuchteil 1)***

##### **3.1.1 Versuchstiere**

Alle Versuche wurden an Mäusen des Stammes C57BL/6 und Ratten des Stammes Sprague Dawley durchgeführt. Sie wurden von Charles River Laboratories in Sulzfeld im Alter von 5-7 Wochen gekauft und während der gesamten Zeit der Versuchsdurchführung unter konventionellen Bedingungen ( $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , Luftfeuchtigkeit von 50-55 %, Wasser und Futter ad libitum, bis zu vier Ratten bzw. sechs Mäuse in einem Makrolonkäfig, künstlicher 12 h Tag-Nacht-Zyklus mit Tagphase von 6.00-18.00 Uhr bei 400 Lux) in den Tierställen des Max-Delbrück-Centrums (MDC), Berlin gehalten.

Alle Tierexperimente wurden von der Tierschutzkommission des Landesamtes für Gesundheit und Soziales (LAGeSo) Berlin genehmigt (G0237/02) und ordnungsgemäß aufgezeichnet.

##### **3.2 EKG**

Im Jahr 1952 beschrieb LOMBARD, 1953 RICHARDS et al. (Lombard, 1952; Richards, 1953) das Elektrokardiogramm (EKG) kleiner Säugetiere. Die EKGs von Mäusen und kleineren Tieren unterschieden sich deutlich von dem des Menschen. So war bei einigen EKGs keine T-Welle oder aber eine T-Welle, die direkt auf die S-Zacke folgt, vorhanden. Dabei trat kein isoelektrisches ST-Segment auf. Desweiteren zeigten die Tiere eine schnellere Herzfrequenz mit kürzeren P-R und QRS-Intervallen. Diese bereits 50 Jahre alten Befunde geben bereits Hinweise auf typische Charakteristika der Elektrokardiogramme kleiner Säugetiere. Charakteristisch für das Maus-EKG ist, dass kein klares ST-Segment nachweisbar ist und dass die T-Welle mit dem letzten Teil des QRS-Komplexes verschmilzt (Wehrens et al., 2000). Bei ausreichender Vergrößerung erfolgte für jedes EKG eine genauere Ausmessung der Parameter. Um eine Gleichheit in der Auswertung zwischen den einzelnen Ratten und den Gruppen zu gewährleisten, wurden alle Parameter aus der Ableitung II nach Einthoven bestimmt.

Die Amplituden wurden von ihrer Basis auf der isoelektrischen Linie bis zur Zackenspitze gemessen. Die Intervalle und die Dauer der P-Welle wurden gemessen, indem der früheste

Beginn und das späteste Ende der atrialen und ventrikulären Abweichungen von der isoelektrischen Linie in 3 im Oberflächen EKG simultan aufgezeichneten Ableitungen bestimmt wurde.

Für die Auswertung der EKGs wurden folgende Punkte entsprechend Royer et al. (2005) manuell am Computer ausgemessen und ausgewertet. Dabei wurden die Herzfrequenz, die Dauer der P-Welle, die Dauer des PQ- sowie des RR-Intervalls, der QR-Intervall, die Dauer des QRS-Komplexes, der QT-Intervall, QT-Peak, die Amplitude von T-Peak und QTend-Intervall bestimmt. Bei ausreichender Vergrößerung erfolgte für jedes EKG eine genauere Ausmessung der Parameter. Die Messungen erfolgten am Ende jeder EPU. Es wurden dabei jeweils 10 Einzelwerte gemessen und aus diesen der Mittelwert errechnet. Die Herzfrequenz/min wurde mit der Formel:  $60000\text{ms}/\text{RR-Abstand in ms}$  errechnet. Wobei  $60000\text{ms} = 1\text{min}$  sind.

Die gemessenen Herzraten wurden in Anlehnung an die Bazett-Formel für die Ratte an einem Durchschnittswert von 350 angepasst [Korrigierter Wert = gemessener Wert (ms) /  $\sqrt{350/\text{Herzrate (bpm)}}$ ]. Die Bazett-Formel ist eine empirisch ermittelte, mathematische Gleichung zur Berechnung der physiologischen QT-Zeit bei verschiedenen Herzfrequenzen. Die Formel zur Berechnung der frequenzorientierten QT-Zeit nach Bazett lautet:  $QT_c = \text{QT-Zeit}/\sqrt{\text{RR-Abstand}}$ . Der  $QT_c$ -Wert zeigt, welchen Wert die gemessene QT-Zeit hätte, wenn sie bei einer Herzfrequenz von 60/min, d.h. bei einem RR-Abstand von 1s bestimmt worden wäre.

### **3.2.1 Ablauf der Elektrophysiologischen Untersuchung am Versuchstier**

Eine EPU dauerte pro Tier ca. 1-1 ½ Stunden.

Für diese Untersuchung wurden zwei spezielle Mikro- Katheter EKG-gesteuert durch die rechte Jugularvene in den rechten Vorhof bzw. durch die rechte Arteria carotis in die linke Kammer eingeführt. Ein derartiger intrakardialer Katheter besteht aus einem biegsamen Kunststoffschlauch, an dessen Spitze sich acht ringförmige Elektroden befinden, über die die bipolaren elektrischen Signale mittels Software EpTracer (CardioTek) registriert werden.

Bei den verwendeten Kathetern handelte es sich um den Mikrokatheter „CIBer mouse cath, NuMed Inc.“ (oktapolar; Durchmesser 0,66 mm; Modell CIBer mouse EP, NuMed Inc.), über den sowohl elektrische Impulse abgeleitet werden können als auch das Herz durch einen externen Stimulator (EP Tracer, Cardio Tek, Niederlande) stimuliert werden kann.

Während der gesamten Untersuchung erfolgte die Ableitung eines Oberflächen-EKGs, wodurch die Beobachtung der elektrischen Erregungsausbreitung im Herzen möglich war.

Der eigentliche EPU-Untersuchungsgang besteht aus zwei Abschnitten: im ersten Abschnitt der EPU erfolgt die Charakterisierung der elektrophysiologischen Eigenschaften des Sinusknotens, der Vorhöfe, des AV-Knotens sowie der Kammern, im zweiten Abschnitt erfolgt die Stimulation der Kammer unter Isoprenalin.

Hierfür werden zunächst die Elektroden im Herzen platziert. Katheter 1 wird über die rechte Vena jugularis in den rechten Vorhof geschoben und untersucht die Potentiale des Sinusknotens, des Vorhofs und der Überleitung. Katheter 2 wird über die rechte Arteria carotis in die linke Kammer geschoben und untersucht die Potentiale der Kammer. Zuerst wird die normale Zeit der Erregungsausbreitung im Herzen gemessen. Auf dem Bildschirm ist eine ordentliche Vorhofstimulation am Auftreten der P-Welle mit anschließendem QRS-Komplex nach jedem Stimulus zu erkennen.

Eine programmierte Vorhofstimulation wird durchgeführt, um die atriale Refraktärzeit und die AV-Leitung zu beurteilen. Darüber hinaus besteht ein wesentliches Ziel in der Induktion supraventrikulärer Rhythmusstörungen, um anhand des intrakardialen Elektrogramms den zugrunde liegenden Mechanismus zu diagnostizieren.



Die Überleitung im Bereich des AV-Knotens wird bei Spontanrhythmus und bei atrialer Stimulation beurteilt. Physiologischerweise tritt bei abnehmender Zykluslänge eine Leitungsblockierung oberhalb des His-Bündels (Wenckebach-Punkt) auf. Hierbei erfolgt die Überprüfung der atrioventrikulären Überleitung, dem so genannten Wenckebach-Punkt (WP) bis hin zur 2:1 Übertragung. Es wird zunächst mit einer langsamen, wenig oberhalb der spontanen Frequenz liegenden festen Stimulationsfrequenz im hohen rechten Vorhof stimuliert. Nach jeweils 30 Stimuli erfolgt eine Verkürzung der Stimulationszykluslänge um 2 ms. Die Stimulations-Zykluslänge, bei der erstmalig das 1:1-Verhältnis nicht mehr zustande kommt, wird als der Wenckebach-Punkt angegeben. Dieser Leitungsblock ist erkennbar am Wegfallen eines Kammerkomplexes während der Stimulation.

Die Beurteilung der Sinusknotenfunktion erfolgt durch die Stimulation mit konstanter Zykluslänge im Vorhof. Hierzu wird die Sinusknotenautomatie durch schnelle atriale Stimulation inhibiert und das Intervall zwischen der letzten stimulationsinduzierten Vorhoferregung und der ersten vom Sinusknoten induzierten spontanen Vorhoferregung als Sinusknotenerholungszeit (Sinus Node Recovery Time, SNRT) gemessen. Die Messungen werden bei unterschiedlicher Basis-Zyklus-Länge durchgeführt.

Die effektive Refraktärzeit des AV-Knotens (AV-nodal refractory period, AVNERP) ist definiert als das längste Intervall zweier Impulse, bei dem der zweite Impuls nicht mehr zur Depolarisation des Ventrikels führt. Bestimmt wird die effektive Refraktärzeit des AV-Knotens durch die Ankopplung eines vorzeitigen atrialen Extrastimulus an eine atriale, festfrequent stimulierte Sequenz, bestehend aus zehn atrialen Schlägen bei wieder jeweils unterschiedlicher Basis-Zykluslänge. Das Kopplungsintervall des vorzeitigen Extrastimulus wird nun nach jeweils dreisekündiger Pause in 2-Millisekunden-Schritten verkürzt, bis die atriale Erregung nicht mehr über den AV-Knoten auf die Kammer geleitet wird. Die AVNERP ist auf dem Bildschirm durch das Ausbleiben des QRS-Komplexes nach dem letzten Stimulus erkennbar.

Als effektive Refraktärzeit des Vorhofes (atrial effective refractory period, AERP) wird das längste Intervall zweier Impulse definiert, bei der der zweite Impuls nicht mehr zur Depolarisation des Vorhofes führt. Bestimmt wird die effektive Refraktärzeit des AV-Knotens durch die Ankopplung eines vorzeitigen atrialen Extrastimulus an eine atriale, festfrequent stimulierte Sequenz, bestehend aus zehn atrialen Schlägen bei wieder jeweils unterschiedlicher Basis-Zykluslänge. Auf dem Bildschirm ist die AERP am Ausbleiben der P-Welle nach dem letzten Stimulus erkennbar. Das Kopplungsintervall des vorzeitigen Extrastimulus wird nun nach jeweils dreisekündiger Pause in 2-Millisekunden-Schritten

verkürzt, bis die atriale Erregung nicht mehr über den AV-Knoten auf die Kammer geleitet wird.

Das Vorhofstimulationsprotokoll schreibt zusätzlich eine Hochfrequenzstimulation, der so genannte Vorhof-Burst vor. Überprüft wird hier die Induzierbarkeit von supraventrikulären Arrhythmien. Hierbei wird der Vorhof bei einer festen, kurzen Zykluslänge (20 bis 50 ms) kontinuierlich jeweils 30 Sekunden lang stimuliert.

Nun erfolgt die Kammerstimulation. Auf dem Bildschirm ist eine ordentliche Kammerstimulation durch das Auftreten der QRS-Komplexe nach jedem Stimulus erkenntlich. Die effektive ventrikuläre Refraktärzeit (ventricular effective refractory period, VERP) ist das Intervall, bei dem der Ventrikel durch einen vorzeitigen Extrastimulus nicht mehr erregt wird. Im Rahmen der ventrikulären Stimulation wird die ventrikuläre effektive Refraktärzeit bestimmt. Zur Bestimmung der effektiven ventrikulären Refraktärzeit wird über einen in der rechten Kammer befindlichen Elektrodenkatheter stimuliert. Die ventrikuläre Refraktärzeit wird durch das vorzeitige Ankoppeln eines ventrikulären Extrastimulus an zehn aufeinanderfolgende ventrikuläre Stimuli einer fixen Grundfrequenz bestimmt. Es wird auch hier die Refraktärzeit bei den drei verschiedenen Grundfrequenzen bestimmt. Auf dem Bildschirm ist die VERP durch das Ausbleiben des QRS-Komplexes nach dem letzten Stimulus erkennbar.

Im Anschluss wird das Herz nach einem vorgegebenen Kammerstimulationprotokoll stimuliert und die Erregungsausbreitung verfolgt. Im Rahmen einer programmierten Ventrikelstimulation werden die Refraktärzeiten bestimmt, die ventrikuloatriale Überleitung getestet und die Auslösbarkeit ventrikulärer Arrhythmien überprüft. Dies beinhaltet eine Stimulation mit zwei und drei Extrastimuli bei jeweils unterschiedlicher Basis-Zykluslänge, die reproduzierbare Induktion tachykarder Herzrhythmusstörungen, die Differenzierung von Herzrhythmusstörungen und deren exakte Klassifizierung. Hierbei handelt es sich um das Ankoppeln von ventrikulären Extrastimuli mit zunehmender Vorzeitigkeit nach zehn ventrikulären Stimuli einer festen Grundfrequenz. Der ventrikuläre Rhythmus wird jeweils um 5 ms kürzer angekoppelt bis zur effektiven Refraktärzeit des Ventrikels. Danach wird ein zweiter ventrikulärer Extrastimulus abgegeben, wobei der erste fix 10 ms oberhalb der zuvor ermittelten effektiven Refraktärzeit bei entsprechender Grundfrequenz angekoppelt wird. Der zweite ventrikuläre Extrastimulus wird erneut jeweils um 5 ms frühzeitiger angekoppelt bis zum erneuten Erreichen der effektiven Refraktärzeit des Ventrikels. Gleiches geschieht nun bei allen verwendeten Grundfrequenzen mit drei ventrikulären Extrastimuli.

Anschließend erfolgt eine Hochfrequenzstimulation in der Kammer, der so genannte Kammer-Burst. Hierbei wird die Kammer mit einer festen, kurzen Zykluslänge (60 bis 80 ms) kontinuierlich jeweils 20 sec lang stimuliert. Auch hier wird die Induzierbarkeit von ventrikulären Arrhythmien überprüft.

Im Anschluss an das Kammerprotokoll wird das Isoprenalin-Stimmulationsprotokoll, ein so genanntes Stressprotokoll durchgeführt. Während ein gesundes Herz auch unter einer aggressiven Stimulation einen stabilen Rhythmus aufweist, lassen sich bei Tieren oder Patienten, die zu Herzrhythmusstörungen neigen, durch das Stressprotokoll Arrhythmien auslösen. Das Protokoll dient der Testung einer Arrhythmie-Auslösbarkeit unter Belastung.

Isoprenalin wurde bei Ratte und Maus intraperitoneal verabreicht (10 bzw. 2 mg/kg Körpergewicht), woraufhin die Herzfrequenz um ca. 100 bis 150 Schläge anstieg. Die Wirkung hielt ca. 20 Minuten an. In dieser Zeit erfolgte die Kammerstimulation bei einem Basiswert mit zuerst einem, dann zwei und dann drei Zusatzstimuli. Anschließend erfolgte der Kammer-Burst bei den jeweiligen Basiswerten.

### **3.2.2 Begriffsbestimmungen**

*Stimulation* Stromstöße mit einer Zykluslänge oberhalb des Eigenrhythmus (Abstand in ms), mit einer festgelegten Stärke von 1 mA und einer bestimmten Anzahl n (Stimuli)

*Zykluslänge* Länge eines Intervalls zwischen zwei Herzschlägen, ausgedrückt in ms. Ein Puls von 100/min entspricht einer Zykluslänge von 600 ms, eine kürzere Zykluslänge entspricht einem höheren Puls.

*Kopplungsintervall* Intervall zwischen dem letzten normalen Schlag und einem vorzeitigen Stimulus. Je länger das Kopplungsintervall, desto später der vorzeitige Stimulus.

*Recording* Die intrakardiale EKG-Ableitung erfolgt bipolar (Ableitung zwischen zwei Elektroden eines Katheters). Das EKG-Signal gibt nur die lokale elektrische Aktivität wieder und zeigt daher nur einen schmalen hochfrequenten Spikekomplex (entsprechend Phase 0 des AP).

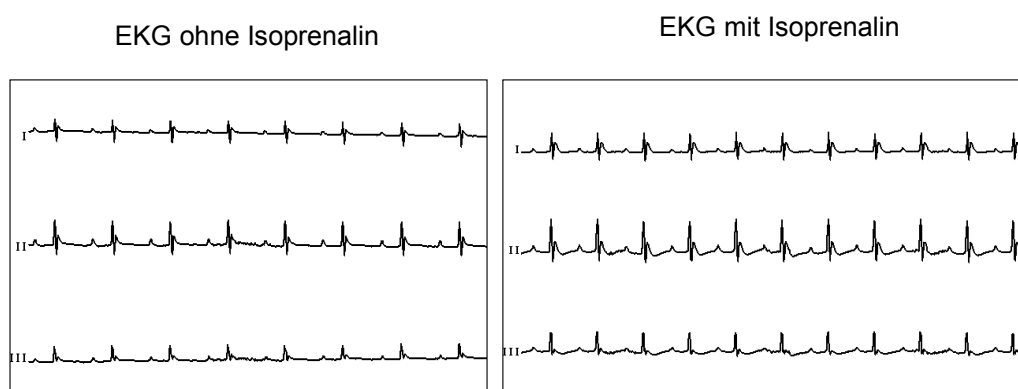
*Burst Pacing* Unter einem Burst versteht man eine Abfolge schneller Stimuli mit festgelegtem Kopplungsintervall.

*Extrastimulus (S2, S3...)* Ein Extrastimulus ist ein einzelner oder eine Abfolge mehrerer Stimuli mit verkürztem Kopplungsintervall. Die Extrastimuli folgen entweder einem physiologischen Schlag oder einer festfrequenten Vorstimulation (S1).

### 3.2.3 Isoprenalinstimulation

Stresshormone (Adrenalin, Noradrenalin) beeinflussen über Rezeptoren die Kontraktionskraft des Myokards, die Herzfrequenz sowie die Weite der Koronargefäße. Die chemische Stimulation mit Isoproterenol (Isoprenalin), welches intraperitoneal verabreicht wird, führt zu einer verstärkten  $\beta$ -selektiven sympathischen Reaktion. Besonders wichtige  $\beta_1$ -Rezeptoren finden sich am Sinusknoten (erhöhte Herzfrequenz bei Stimulation), an der Vorhof- und Kammermuskulatur (erhöhte Kontraktilität) und am AV-Knoten (erniedrigte Überleitungsverzögerung). Isoprenalin erhöht folglich Kontraktionskraft, Herzfrequenz und Herzminutenvolumen. Der Blutfluss in Kapillargebieten mit  $\beta$ -Rezeptoren steigt ebenfalls an. Die Auswirkungen auf das Herz sind von der Höhe der Dosis und von der Art der Dosisverteilung abhängig (Pierra et al., 1979). Es induziert kurzzeitig eine verstärkte Chronotropie des Herzens. Die Wirkungsdauer von Isoprenalin beträgt ca. 1 Stunde und bei wiederholter Anwendung kommt es zur Wirkungsabnahme durch Reduktion der Empfindlichkeit der  $\beta$ -Rezeptoren (so genannte Downregulation). Bei Überdosierung von Isoprenalin kann es zu tachykarden Herzarrhythmien kommen (Frey und Löscher, 2002). In Verbindung mit Herzerkrankungen kann eine erhöhte Stimulierung der  $\beta$ -Rezeptoren durch Katecholamine sogar zu Kammerflimmern führen (Houle et al., 2001).

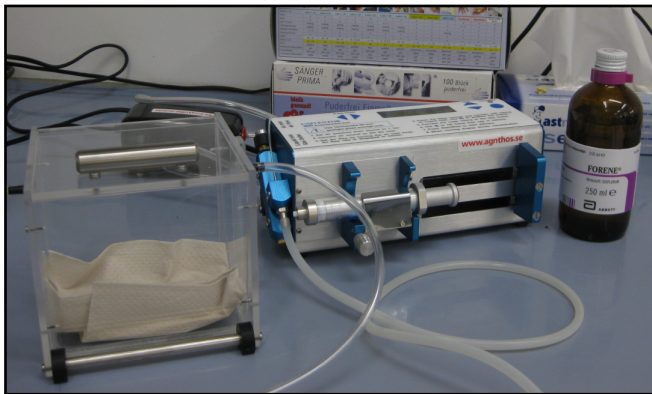
Isoprenalin dient der kurzzeitigen  $\beta$ -adrenergen Stimulation während der elektrophysiologischen Stimulation am Ende des Protokolls und simuliert den Stresszustand *in vivo*. Die Dosierung, die zu einer Herzfrequenzerhöhung von ca. 100 Schlägen mehr pro Minute führte, wurde durch Ausprobieren ermittelt.



**Abb. 1: Isoprenalin-EKG im Vergleich zum normalen EKG.**

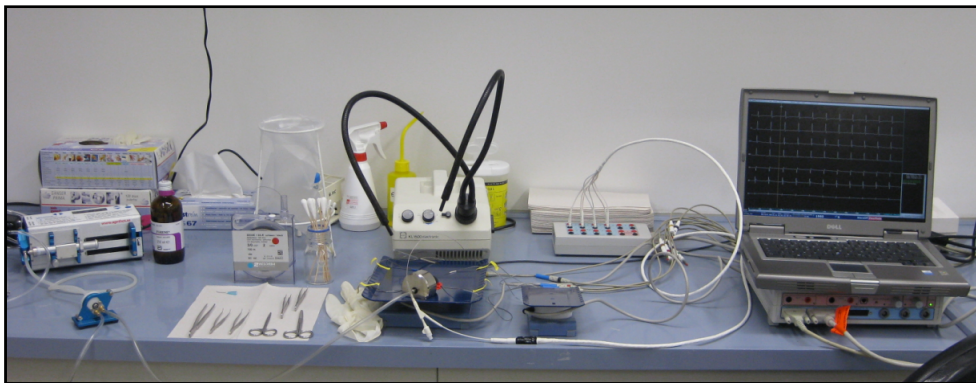
Die Abbildung zeigt die Frequenzerhöhung durch Isoprenalin im EKG.

### 3.3 Durchführung der EPU an Ratte und Maus



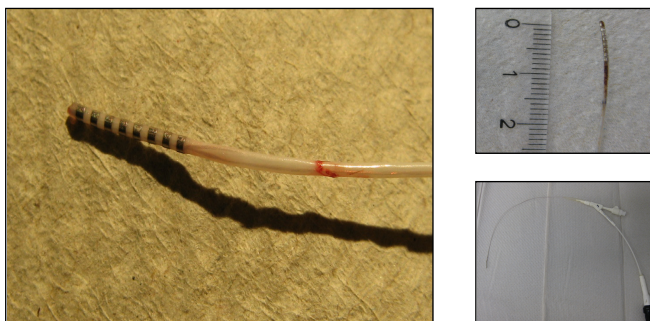
**Abb. 2: Narkose.**

Die Abbildung zeigt die Einleitungskammer, welche mit der Isoflurananlage über ein Schlauchsystem verbunden ist.



**Abb. 3: Versuchsaufbau (von rechts nach links).**

Monitor der auf dem EP-Tracer-Gerät steht, Katheterbox, zwei Wärmeplatten (klein und groß), Schwanenhalslampe, Instrumente und Isoflurananlage.



**Abb. 4: Der EPU-Katheter**

Im linken Bild sind die Stimulationselektroden am Katheter dargestellt.

### 3.3.1 Die vorbereitende Präparation

Für die Durchführung einer EPU wurden die Ratten und Mäuse mit einem Gemisch aus 2-3 Vol % Isofluran in Sauerstoff narkotisiert. Dazu wurden die Tiere in eine mit einem Tuch abgedunkelte Einleitungskammer verbracht, in die das Gasgemisch aus einem Perfusor (zum Vernebeln des Inhalationsanästhetikums) über ein Schlauchsystem eingeleitet wurde. Nach der Einleitungsphase erfolgte die Umschaltung der Narkose auf das Schlauchsystem bzw. auf die Gesichtsmaske für kleine Säugetiere und wurde mit 1,6 Vol % Isofluran weitergeführt.

Eine Wärmeplatte mit dazugehöriger Rektalsonde (Heizplatte: Harvard apparatus -> Homeothermic blanket control unit) diente der Überwachung und Aufrechterhaltung der Körpertemperatur. Auf dieser Wärmeplatte wurden die Tiere in Rückenlage an den Vorderbeinen mittels Klebeband fixiert. Die Hinterbeine blieben unfixiert, um die Tiefenschmerz-Reflexantwort durch Kneifen mit einer Arterienklemme zu testen und damit Sicherheit über eine ausreichende Tiefe der Narkose zu gewinnen. Über subkutan angebrachte Stechelektroden wurde während der gesamten Untersuchung ein Extremitäten-EKG in Form der bipolaren Ableitung nach Einthoven und zusätzlichen drei Brustwandableitungen mit dem Ep tracer, Cardio Tek-Gerät abgeleitet.

Für die Präparation der Gefäße wurden eigens für kleine Säugetiere hergestellte feine Pinzetten und Scheren verwendet.

*Bei der Ratte* erfolgt die Freilegung der rechten Jugularvene und der rechten Carotis (Halsschlagader). Hierzu wurde ein Hautschnitt an der rechten Halsregion gesetzt und die dort verlaufenden Gefäße von dem darüber liegenden Fett- und Bindegewebe durch stumpfes Präparieren freigelegt. Für das korrekte Schieben des Katheters musste das jeweilige Gefäß noch von Fett- und Bindegewebsresten befreit werden. Zum Abbinden des Gefäßes wurde um das jeweilige Gefäß ein Faden (3.0 Seide) verbracht. An der Jugularvene erfolgte die erste Ligatur (Abbindung) kopfnah. Sie diente der Unterbrechung der Blutzufuhr und der Straffung und Fixation des Gefäßes, indem der Faden festgeklebt wurde. Ein zweiter Faden wurde brustkorbnah um die Jugularis gelegt, an der Stelle, wo die Jugularvene aus dem Thorax austritt. Diese Ligatur wurde jedoch nicht zugezogen, da sie dem Fixieren des Katheters im Gefäß dienen sollte. Zudem sollte sie eine Blutung aus der Eintrittsstelle des Katheters verhindern.

Die Halsschlagader befindet sich zwischen Jugularvene und Luftröhre. Sie liegt unterhalb der Halsmuskulatur und muss mit einer Pinzette zwischen zwei Muskelbäuchen hervorgehoben

werden. Die erste Ligatur wurde ebenfalls kopfnah am Gefäß gesetzt und zur Spannung des Gefäßes nach kopfwärts mittels Klebeband fixiert. Die zweite Ligatur erfolgte brustkorbnah, wurde jedoch noch nicht zugezogen, da sie in erster Linie der Verhinderung einer Blutung aus der Eintrittsstelle des Katheters, aber auch zum Fixieren und Spannen diene. Im Unterschied zur Vene wurde die Arterie aufgrund des hohen Gefäßinnendruckes nach schwanzwärts hin mit Hilfe eines Klebebandes gespannt. Eine dritte Fadenschlinge, die ebenfalls noch nicht zugezogen wurde, erfolgte mittig zwischen den beiden anderen Ligaturen und diene der Fixierung des Katheters nach Einbringen in das Gefäß.

Die Jugularvene wurde mit Hilfe einer sehr feinen Schere flach angeschnitten und somit das Lumen eröffnet. Mit Hilfe einer sehr feinen und spitzen Pinzette wurde das Gefäß an dieser Stelle aufgespannt. Das dabei austretende Blut aus der Öffnung diene dabei als Beweis für die Eröffnung des Lumens. Die Pinzette als Führungsschiene benutzend, erfolgte das Schieben des Katheters 1 in das Gefäß. Die Elektroden des Katheters fingen nun elektrische Signale vom Herzen auf, sichtbar auf dem Monitor. Unter Kontrolle wurde der Katheter im Gefäß in Richtung Herz vorgeschoben. Ziel war es, den Katheter so nah wie möglich am Sinusknoten, welcher sich direkt im Einmündungsbereich der oberen und unteren Hohlvene des rechten Vorhofes befindet, zu platzieren. Je größer das Vorhofsignal auf dem Monitor sich darstellte, umso näher befand sich der Katheter am Sinusknoten. Das Vorhofsignal war daran zu erkennen, dass es mit der P-Welle des Ruhe-EKGs übereinstimmte. War dies der Fall, wurde der Katheter mit Zuziehen der zweiten Ligatur endgültig fixiert und es wurde mit dem Vorhofprotokoll begonnen.

Katheter 2 wurde in die Carotis verbracht. Hierbei wurde genauso vorgegangen wie bei der Jugularvene. Nachdem sich Katheter 2 im Gefäß befand, wurde die dritte Ligatur leicht zugezogen, um sein Herausrutschen zu verhindern. Die zweite Ligatur wurde leicht gelockert, damit ein weiteres Vorschieben in Richtung Herz erfolgen konnte. Unter Beobachtung der Signale erfolgte das Platzieren des Katheters in der linken Kammer, im Optimalfall nahe der Kammer Spitze. Je größer das Kammersignal auf dem Monitor, umso größer war die Wahrscheinlichkeit, dass Katheter 2 in der Kammer lag. Das Kammersignal war daran zu erkennen, dass es mit den QRS-Komplexen des Ruhe-EKGs übereinstimmte. Da das Kammersignal jedoch keinen Garantien für eine ausreichende Kammerstimulation darstellt, erfolgte hierfür ein kurzes Pacen mit Hilfe des Stimulators. Folgte auf jeden Stimulus direkt ein QRS-Komplex, lag der Katheter direkt in der Kammer. Im Optimalfall war der durch

einen Stimulus gefolgte QRS-Komplex in der II.-Ableitung leicht negativ, was für eine Erregungsausbreitung nach superior sprach und der Katheter sich demnach in der Kammer Spitze befand. Nun erfolgte die Kammerstimulation.

Am Ende der Untersuchung wurden die Tiere mittels zervikaler Dislokation getötet.

*Bei der Maus* erfolgt im Unterschied zur Ratte nur eine Präparation der Jugularvene, und dies unter Verwendung eines Mikroskops. (Mikroskop: Hund wetzlar; SM 33). Nachdem das Gefäß präpariert, ligiert und fixiert war, erfolgte das Platzieren des Mikrokatheters im Gefäßlumen mit Hilfe einer Kanüle (22 Gauge), deren scharfe Spitze vorher im 90° Winkel abgebogen wurde. Das Gefäß wurde nun eröffnet, indem man das abgewinkelte Ende der Kanüle in das Gefäß einführte. Die Kanüle wurde zunächst im Gefäß belassen und leicht angehoben, um als Führungsschiene zu fungieren, sodass der Katheter unterhalb der Kanülenspitze in das Lumen des Gefäßes geschoben werden konnte.

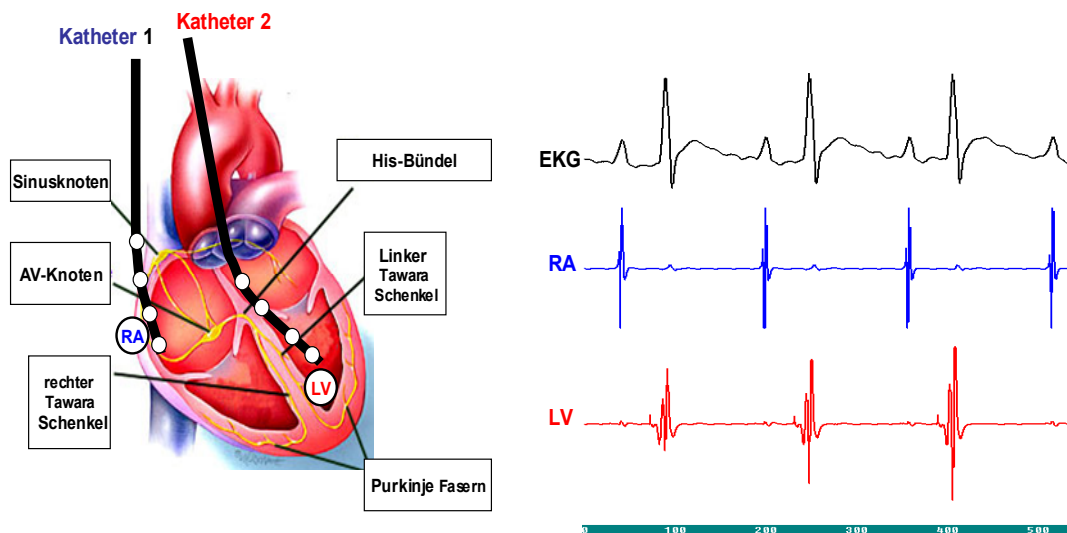
Wie schon bei der Ratte beschrieben, wurde der Katheter in den rechten Vorhof geschoben und dort das Vorhofprotokoll ausgeführt. Anschließend wurde der Katheter weiter, im Gegensatz zur Ratte, in die rechte Kammer geschoben und das Kammerprotokoll im rechten Herzen durchgeführt.



### 3.3.2 Platzierung und Fixierung des Katheters im Versuchstier

Für die Registrierung der abgeleiteten elektrischen Signale stehen heute moderne computergestützte Systeme zur Verfügung. Diese Systeme verfügen über einen Monitor zur Darstellung der Signale. Er dient der dauerhaften Online-Registrierung und Aufnahme. Das während der Untersuchung abgeleitete Elektrokardiogramm sowie alle intrakardialen Signale werden mittels der Software EpTracer (Cardio Tek Stimulator, Made in the Netherlands, [www.cardiotek.com](http://www.cardiotek.com)) gespeichert und anschließend analysiert (Abb.5).

Die intrakardiale Stimulation wird mittels eines externen Stimulationsgeräts durchgeführt. Diese sind in der Lage, elektrische Impulse festfrequent oder an Eigenschläge gekoppelt abzugeben.



**Abb. 5: Katheterlage im Herzen mit elektrophysiologischer Ableitung.**

Links: Katheterposition im Versuchstierherz, RA=rechter Vorhof, LV=linke Kammer

Rechts: EKG vom Versuchstier (schwarz, oben) in Verbindung mit dem Katheter-Vorhofsignal (blau, mitte) und dem Katheter-Kammersignal (rot, unten).

### 3.3.3 Versuchsprotokolle

#### Versuchsprotokoll Ratte

##### Vorhofstimulationsprotokoll

- **Sinusknotenerholungszeit:** Messungen nach 30 Sekunden Stimulation mit Zykluslängen von 170, 150 und 120 ms
- **Wenckebach-Punkt:** Es wird mit einer langsamen, wenig oberhalb des spontanen R-R-Intervalls liegenden Zykluslänge festfrequent im hohen rechten Vorhof stimuliert, wobei 30 Stimuli im 3-Sekunden-Takt um eine Zykluslänge von 2 ms verkürzt werden
- **Effektive Refraktärzeit des AV-Knoten (AVNERP):** vorzeitiger atrialer Extrastimulus (auf eine atriale, festfrequent stimulierte Sequenz) bestehend aus zehn atrialen Schlägen bei den Basis-Zykluslängen 170, 150 und 120 ms
- **Effektive Refraktärzeit des Vorhofes (AERP):** vorzeitiger atrialer Extrastimulus (auf eine atriale, festfrequent stimulierte Sequenz) bestehend aus zehn atrialen Schlägen bei den Basis-Zykluslängen 120, 150 und 170 ms
- **Vorhofburst:** 30-sekündige Stimulation des Vorhofs bei einer festen Zykluslänge von 50, 40 und 30 ms

##### Kammerstimulationsprotokoll

- **Effektive ventrikuläre Refraktärzeit (VERP):** vorzeitiger ventrikulärer Extrastimulus (auf eine ventrikuläre, festfrequent stimulierte Sequenz) bestehend aus zehn ventrikulären Schlägen bei den Basis-Zykluslängen 170, 150 und 120 ms
- **Kammerstimulationsprotokoll:** vorzeitige ventrikuläre Extrastimuli mit zunehmender Vorzeitigkeit (auf eine ventrikuläre, festfrequent stimulierte Sequenz) bestehend aus zehn ventrikulären Schlägen bei den Basis-Zykluslängen 170, 150 und 120 ms. Induziert die Stimulation mit zwei und drei Extrastimuli reproduzierbar tachykarde Herzrhythmusstörungen → Differenzierung und Klassifizierung der Rhythmusstörungen.
- **Kammerburst:** 20-sekündige Stimulation der Kammer bei einer festen Zykluslänge von 80, 70 und 60 ms

##### Isoprenalin-Stimmulationsprotokoll

- **Isoprenalin-Kammerstimulation:** bei einem Basiswert von 120 intraperitoneale Gabe von 9 mg Isoprenalin/ml NaCl; Endkonzentration 0,01 mg/g Körpergewicht.
- **Isoprenalin-Kammerburst:** 20-sekündige Stimulation der Kammer bei einer festen Zykluslänge von 80, 70 und 60 ms

## Versuchsprotokoll Maus

### Vorhofstimulationsprotokoll

- **Sinusknotenerholungszeit:** Messungen nach 30 Sekunden Stimulation mit Zyklus-längen von 100, 90 und 80 ms
- **Wenckebach-Punkt:** Es wird mit einer langsamen, wenig oberhalb des spontanen R-R-Interval liegenden Zykluslänge festfrequent im hohen rechten Vorhof stimuliert, wobei 30 Stimuli im 3-Sekunden-Takt um eine Zykluslänge von 2 ms verkürzt werden
- **Effektive Refraktärzeit des AV-Knoten (AVNERP):** vorzeitiger atrialer Extrastimulus (auf eine atriale, festfrequent stimulierte Sequenz) bestehend aus zehn atrialen Schlägen bei den Basis-Zykluslängen 100, 90 und 80 ms
- **Effektive Refraktärzeit des Vorhofes (AERP):** vorzeitiger atrialer Extrastimulus (auf eine atriale, festfrequent stimulierte Sequenz) bestehend aus zehn atrialen Schlägen bei den Basis-Zykluslängen 100, 90 und 80 ms
- **Vorhofburst:** 30-sekündige Stimulation des Vorhofs bei einer festen Zykluslänge von 50, 40 und 30 ms

### Kammerstimulationsprotokoll

- **Effektive ventrikuläre Refraktärzeit (VERP):** vorzeitiger ventrikulärer Extrastimulus (auf eine ventrikuläre, festfrequent stimulierte Sequenz) bestehend aus zehn ventrikulären Schlägen bei den Basis-Zykluslängen 100, 90 und 80 ms
- **Kammerstimulationsprotokoll:** vorzeitige ventrikuläre Extrastimuli mit zunehmender Vorzeitigkeit (auf eine ventrikuläre, festfrequent stimulierte Sequenz) bestehend aus zehn ventrikulären Schlägen bei den Basis-Zykluslängen 100, 90 und 80 ms. Induziert die Stimulation mit zwei und drei Extrastimuli reproduzierbar tachykarde Herzrhythmusstörungen → Differenzierung und Klassifizierung der Rhythmusstörungen.
- **Kammerburst:** 20-sekündige Stimulation der Kammer bei einer festen Zykluslänge von 80, 70 und 60 ms

### Isoprenalin-Stimmulationsprotokoll

- **Isoprenalin-Kammerstimulation:** bei einem Basiswert von 90 intraperitoneale Gabe von 2 mg Isoprenalin/ml NaCl; Endkonzentration 0,02 mg/g Körpergewicht.
- **Isoprenalin-Kammerburst:** 20-sekündige Stimulation der Kammer bei einer festen Zykluslänge von 50, 40 und 30 ms

Vordruck eines Versuchsprotokolls zur Dokumentation erster Ergebnisse während der EPU

**KG: 424 g**  
**Herzgewicht:**  
 total 1,510  
 RV+LV 1,350  
 LV 1,117

### Experimental EPS Protocol

animal: \_\_\_\_\_ age: \_\_\_\_\_ sex: \_\_\_\_\_  
 EPS typ: \_\_\_\_\_ date: \_\_\_\_\_ investigator: \_\_\_\_\_  
 Stim ( mA / ms ) : \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ Amp Gain ( ECG / IC leads ) : \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

#### Basal Parameters

	RR	HF	P	PQ	QRS	QT <sub>Peak</sub>	QT <sub>End</sub>	QTc
Start	194		18	52	22	35	120	
End								

PA:  AH  HV

AV WP : 134 AV 2:1 : 122

	Start			End		
SNRT:	130	150	170			
AVNRP:	249	320	384			
RAVNRP	123	128	128			
AERP	40	47	40			
VERP	71	78	76			

#### PAS

**Store ON !!!!**

: bcl 150 (+S2-S4) \_\_\_\_\_  
 : bcl 120 (+S2-S4) \_\_\_\_\_  
 : bcl 100 (+S2-S4) \_\_\_\_\_  
 : 30sec 30x50ms+5x30ms \_\_\_\_\_  
 : 30sec 30x30ms+5x20ms \_\_\_\_\_  
 : Burst <sup>30 50</sup> 13sec 20ms / \_\_\_\_\_  
 : Burst <sup>30 40</sup> 13sec 18ms / \_\_\_\_\_  
 : Burst 30x30ms / \_\_\_\_\_

#### PVS (10xS1+S2/S3/S4)

**Store ON !!!!**

: bcl 170 / \_\_\_\_\_  
 : bcl 150 / \_\_\_\_\_  
 : bcl 120 / \_\_\_\_\_  
 : bcl 80 \_\_\_\_\_  
 Burst : <sup>80 us 15 sec</sup> / \_\_\_\_\_  
           <sup>70 us</sup> " / \_\_\_\_\_  
           <sup>60 us</sup> " / \_\_\_\_\_

**Isoprenaline-Protokoll (0,5ul → 2ul ≙ 18mg Isoprenaline)**  
 zentr. 120µg S1-S4 / \_\_\_\_\_  
 zentr. 80/70/60 / \_\_\_\_\_

### 3.3.4 Tipps, Tricks, Kniffe

Wichtig für eine gute Auswertbarkeit der EPU ist die Aufnahme rauschfreier Signale.

Die Optimierung der Einstellungen erfolgt während der Ruhe-EKG-Aufnahme, da ein sauberes Ruhe-EKG maßgebend ist für das Gelingen der EPU-Auswertung. Eine störfreie Aufnahme wird erreicht, wenn in der näheren Umgebung des Stimulators keine stromerzeugenden Geräte stehen. Außerdem wird durch variieren der Lage der Stechelektrodenkabel ebenfalls eine Veränderung in der Qualität der aufgenommenen Signale erreicht.

Während der Präparation der Gefäße ist ein vorsichtiges und stumpfes Vorgehen ratsam, damit ein Reißen des zu präparierenden Gefäßes oder kleinerer Gefäße verhindert wird. Da es sich um kleine Säugetiere handelt, führt eine Blutung schnell zum Tod. Bei der Maus sollte daher ein Mikroskop zum Einsatz kommen. Nicht nur für die Positionierung des Katheters, sondern auch, um bei der vorbereitenden Präparation Gefäßabgänge zu erkennen und zu schonen. Die Jugularvene reagiert sensibel auf mechanische Reizung, indem sie kollabiert. Durch die geringere Durchblutung ist sie kaum noch erkennbar und das Schieben des Katheters erschwert.

Während der Katheter im Gefäß platziert werden soll, kann es durch eine unsaubere Präparation passieren, dass er statt ins Lumen, in eine bindegewebige Tasche geschoben wird. Zu bemerken ist dies an einem erschwerten Vorschieben und den fehlenden Signalen. Ein Hinweis für seine richtige Lage ist, wenn während des Schiebens etwas Blut aus der Eintrittsstelle entweicht. Ist seine richtige Lage durch entsprechende Signale gesichert, kann es trotzdem vorkommen, dass ein weiteres Vorschieben nur erschwert möglich ist. Das Schieben sollte immer langsam, mit Gefühl und an einem gespannten Gefäß erfolgen, um ein perforieren des Gefäßes zu verhindern. Sobald man auf einen Widerstand trifft, muss der Katheter wieder leicht zurückgezogen und erneut vorgeschoben werden. Eine kritische Stelle befindet sich am Brustkorbeingang, da hier die Jugularvene in die Tiefe zieht. Diese Engstelle ist z.B. bei größeren Ratten mit einem Anheben mittels Pinzette an der Brustmuskulatur zu überwinden. Die Halsschlagader ist weitaus stabiler gegenüber mechanischer Reizung. Zum Einen besitzt sie eine elastische Gefäßwand und zum anderen einen hohen Gefäßinnendruck. Hier gilt es zur Verhinderung großer Blutungen, das Gefäß während der Eröffnung und der Einbringung des Katheters gut zu spannen. Beim Vorschieben in der Halsschlagader ist es wichtig, anatomisch die richtige Richtung zu nehmen. Denn am Aortenbogen angekommen gibt es zwei Richtungen, in die der Katheter geschoben werden kann. Die eine Richtung führt

zum absteigenden Abschnitt der Aorta (thorakale Aorta) und die andere Richtung führt zur linken Kammer des Herzens. Anhand der Stärke der Signale ist erkennbar, ob man sich vom Herzen weg oder zum Herzen hin bewegt. Am Eingang zur linken Kammer gilt es die Taschenklappen zu passieren. An dieser Stelle spürt man einen starken Widerstand, den es durch vorsichtiges Vor- und Zurückschieben zu überwinden gilt.

Die Herzwände der Maus sind sehr dünn und können leicht perforiert werden.

Während des gesamten Simulationsprotokolls ist auf die Atmung, Körpertemperatur und eine ausreichende Narkosetiefe beim Tier zu achten.

### 3.4 Nachweis der gelungenen Etablierung im Renin-Angiotensinogen-dTGR-Modell (Versuchsteil 2)

Im Versuchsteil 2 erfolgte der Nachweis einer gelungenen Etablierung bzw. der Beweis, dass die humanmedizinische EPU zuverlässig zur Untersuchung von Rhythmusstörungen bei Ratten angewendet werden kann und die durch ein Stimulationsprotokoll ausgelösten kardialen Arrhythmien sicher darstellbar sind.

Hierfür wurden Ratten verwendet, bei denen die Auslösbarkeit von Arrhythmien durch Herzhypertrophie und vermehrte myokardiale Fibrosierung gesteigert war. Induziert wurden diese Veränderungen durch einen dauerhaften Bluthochdruck, der wiederum durch Überexpression von Renin und Angiotensinogen in hierfür doppelt transgenen Ratten (dTGR) verursacht wurde. Die Studie wurde 2008 publiziert (Fischer et al., 2008) und soll im Folgenden in Bezug auf die mittels EPU untersuchten unterschiedlichen Anfälligkeiten für kardiale Arrhythmien (dTGR verglichen mit Sprague Dawley und verglichen mit dTG-Ratten, die entweder einen arrhythmogenen Futterzusatz oder eine Therapie mit einem direkten Renin-Inhibitor erhalten hatten) kurz zusammengefasst werden.

## Ang II-induziertes hypertrophes Rattenherz

dTGR (humanes renin x humanes angiotensinogen)

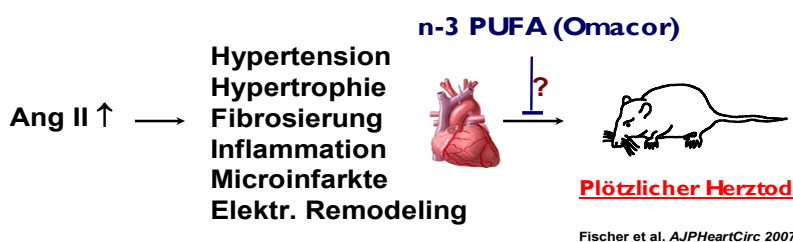


Abb. 6: Das doppelt Transgene Rattenmodell und seine Angiotensin II-bedingten kardialen Veränderungen

Doppelt transgene Ratten (dTGR, Tierzucht Schönwalde), welche die humanen Gene für Renin und Angiotensinogen exprimierten, erhielten von der 4. Lebenswoche bis zur 7. Lebenswoche entweder ein Standardfutter (n=16) oder eine mit Omega-3 Fettsäuren angereicherte Diät (Omacor, Solvay Pharmaceuticals; n=18). Eine weitere dTGR-Gruppe erhielt im gleichen Lebensabschnitt wiederum Standardfutter, zusätzlich jedoch einen

direkten Renin-Inhibitor (Aliskiren; 3 mg/kg und Tag; n=9) über eine implantierte Minipumpe. Bis zur 4. Lebenswoche erhielten alle Tiergruppen ein Standardfutter. Zehn gleichaltrige Sprague Dawley Ratten (SD), ebenfalls auf Standardfutter, dienten als nicht-transgene Kontrolltiere.

Die Omega-3 Fettsäuren-reiche Diät enthielt je Kilogramm 25 g  $\Omega$ 3-mehrfach ungesättigte Fettsäuren ( $\Omega$ 3 poly-unsaturated fatty acids,  $\Omega$ 3 PUFA), davon 46 % Eicosapentaensäure (EPA) und 38 % Docasahexaensäure-Ethyl-Ester (DHA). Durch die Einlagerung von EPA und DHA in bestimmte Bereiche von Ionenkanälen sollte die Stabilität der Herzmuskelzelle gegenüber arrhythmogenen Stimuli erhöht werden.

**Tab. 1: Gruppeneinteilung.**

Die Tabelle zeigt die Gruppeneinteilung mit der jeweiligen Anzahl der Versuchstiere und ihre unterschiedliche Fütterungsart ab der vierten bis zur siebten Lebenswoche. Mit der siebten Lebenswoche wurde die elektrophysiologische Untersuchung begonnen

	dTGR	$\Omega$ 3 PUFA-dTGR	dTGR+Aliskiren	SD
Gruppengröße	n=16	n=18	n=9	n=10
bis zur 4. Lebenswoche	Standardfutter			
4.-7. Lebenswoche	Standardfutter	Omacor (25g $\Omega$ 3PUFA/ kg Futter)	Standardfutter + Aliskiren 3mg/kg und Tag	Standardfutter
Untersuchungszeitpunkt	7.Lebenswoche (Mortalität in der unbehandelten dTGR-Gruppe bereits bei 31 %)			

Ab der 7. Lebenswoche lag die Sterblichkeit in der unbehandelten dTGR-Gruppe bereits bei 31 % (5/16). Mit Beginn der Sterblichkeit erfolgte die EPU nach dem im Versuchsteil 1 beschriebenen Stimulationsprotokoll. Zusätzlich wurde der Herzindex sowie Blutdruckmessungen mittels „Tail Cuff-Methode“ durchgeführt (d.h. mit einer Druckmanschette an der Schwanzwurzel) und die Blutdruckwerte mit einem 2-Kanal Kompensationsschreiber gemessen, wobei alle registrierten Daten auf den Computer übertragen wurden.



### **3.4.1 Die Blutdruckmessung**

Für die Bestimmung der indirekten Blutdruck-Messung an der Ratte, wurde ein automatisches, computergestütztes, oszillatorisches Messsystem (TSE, Bad Homburg) verwendet. Mit diesem System konnte der systolische Blutdruck gemessen werden. Am Ende der Studie wurden die Kontroll- und die dTGRs gemessen. Die wachen Ratten wurden für die Messung einzeln in den entsprechenden Messkäfig gelegt. In dem Käfig betrug die Temperatur ca.32°C. Um den Schwanz der Ratte wurde ein Pulswellen-Detektor (Staumanschette) gelegt. Zur Gewöhnung der Ratten an die Messmethode führte man vor der eigentlichen Messung mehrere Probemessungen durch, die anschließend verworfen wurden. Für die eigentliche Messung wurden drei Einzelwerte bestimmt. Am Ende der Messung entfernte man die Staumanschette vom Schwanz und nahm die Tiere wieder aus ihrem Messkäfig.

Ein 2-Kanal-Kompensationsschreiber wurde zur Registrierung der Blutdruckwerte verwendet. Alle registrierten Daten wurden auf den Computer übertragen. Aus den drei ermittelten systolischen Blutdruckwerten, konnte für die genauere Aussage der Mittelwert berechnet werden.

### **3.5 Statistische Auswertung**

Die in den Messreihen erhobenen Einzelwerte wurden zur statistischen Auswertung den jeweiligen Versuchsgruppen zugeordnet. Die Auswertung erfolgte auf Grundlage der arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichung der Mittelwerte.

Die Berechnung der arithmetischen Mittelwerte und der jeweiligen Standardabweichungen erfolgte mit Microsoft Office Excel.

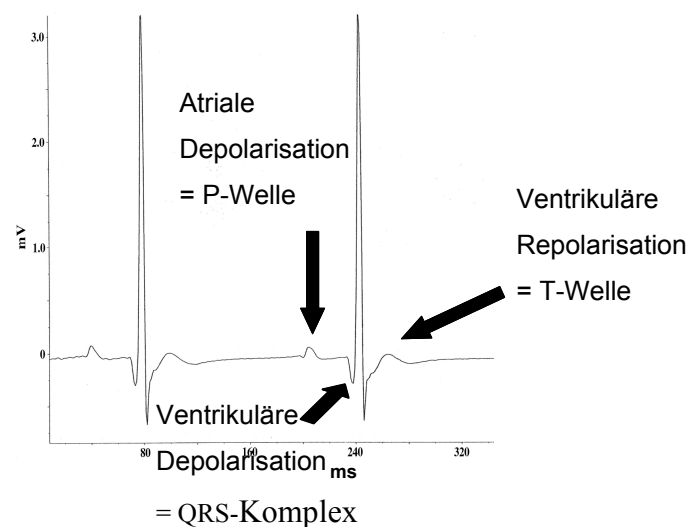
Die Visualisierung der Ergebnisse erfolgte in Form von Säulendiagramme .

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Versuchsteil 1: Etablierung der humanen EPU

#### 4.1.1 Ruhe-EKG

Zur Durchführung einer EPU gehört die Aufzeichnung und Auswertung eines Ruhe-EKGs. Dieses kann bereits Aufschluss über gewisse pathologische Veränderungen im elektrischen Reizleitungssystem geben.



**Abb. 7: Das EKG.**

P-Welle = Depolarisation der Vorhöfe, QRS-Komplex = Depolarisation der Kammern, T-Welle = Repolarisation der Kammern. Q-Zacke, definiert als negativer Ausschlag, der der R-Zacke vorausgeht und den Kammerkomplex einleitet.

#### *Maus*

Die Herzfrequenz der Maus liegt im Durchschnitt bei 500-600 Schlägen pro Minute, mit einer unteren Grenze von 450 und einer oberen Grenze von 650 Schlägen. Im Unterschied zum menschlichen EKG findet sich bei der Ableitung des Maus-EKGs keine Q-Zacke. Da kein negativer Ausschlag der R-Zacke vorausgeht, wird der Kammerkomplex mit R(Q)RS bezeichnet und entspricht dem QRS-Komplex beim menschlichen EKG. Charakteristisch für das Maus-EKG ist, dass kein klares ST-Segment nachweisbar ist und dass die T-Welle mit dem letzten Teil des QRS-Komplexes verschmilzt (Wehrens et al., 2000). Sie geht damit häufig direkt aus dem R(Q)RS-Komplex hervor. Tatsächlich war bei einigen EKGs keine T-Welle vorhanden oder es war eine T-Welle zu beobachten, die direkt auf die S-Zacke folgte.

Dabei trat häufig kein isoelektrisches ST-Segment auf bzw. erreichte in Ableitung III der absteigende Schenkel der R-Zacke die isoelektrische Linie nicht ganz und ging in sanftem Bogen direkt in die T-Welle über.

### *Ratte*

Die Herzfrequenz der Ratte liegt im Durchschnitt bei 300-400 Schlägen pro Minute, mit einer unteren Grenze von 260 und einer oberen Grenze von 420 Schlägen. Bei der Ratte ist die Unterteilung des EKGs in einen Vorhof- und einen Kammerteil immer gut möglich. Die P-Welle ist in Ableitung I bei der üblichen Lagerung auf dem Rücken stets positiv, in Ableitung II und III kann sie, auch bei völlig normalen Tieren, negativ sein. Der Kammerkomplex weist jedoch eine Besonderheit auf: die T-Welle geht – wie bei der Maus auch – direkt aus der S-Zacke hervor, ohne dass eine ST-Strecke differenziert werden kann. Auch die Q-Zacke ist im normalen Ratten-EKG oft nicht ausgeprägt. Die R-Zacke weist bei der überwiegenden Zahl der Tiere in Ableitung II den größten Ausschlag auf. In Ableitung II und III ist die S-Zacke meist deutlich zu sehen. Bei einer großen Anzahl an EKGs erreichte in Ableitung III der absteigende Schenkel der R-Zacke nicht die isoelektrische Linie und ging direkt in die T-Welle über. Die PQ-Zeit war gleichmäßig. Insgesamt war das Elektrokardiogramm von klinisch und anatomisch normalen Ratten jedoch sehr variabel.

#### **4.1.2 Isoprenalin-EKG**

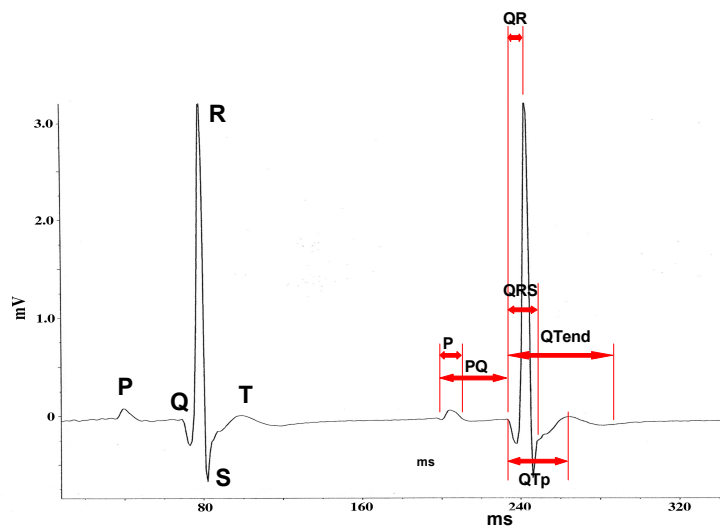
Hierbei wurde die elektrophysiologische Aktivität nach der  $\beta$ -adrenergen Stimulation mit Isoprenalin bewertet. Nachdem Isoprenalin intraperitoneal verabreicht wurde, konnte im EKG eine positiv chronotrope Veränderung der Herzfrequenz registriert werden. Eine einmalige Gabe von Isoprenalin bewirkte einen rapiden Anstieg der Herzschlagrate bei C57BL/6-Mäusen im Mittel auf 490/min und bei SD-Kontrollratten im Mittel auf 427/min.

### 4.1.3 EKG-Auswertung

Die Oberflächen-EKGs wurden manuell ausgewertet. Dabei wurden der Herzrhythmus, die Dauer der P-Welle, die Amplitude des QRS-Komplexes, die Dauer des PQ-, QR-, QRS-, QTp-, QTend- sowie des RR-Intervalls bestimmt. Die Messungen erfolgten am Ende jeder Registrierungsperiode. Es wurden dabei jeweils 10 Einzelwerte gemessen und aus diesen der Mittelwert errechnet. Die Herzfrequenz wurde aus den Daten rechnerisch ermittelt.

Die Amplituden wurden von ihrer Basis auf der isoelektrischen Linie bis zur Zackenspitze gemessen.

Die Intervalle und die Dauer der P-Welle wurden gemessen, indem Beginn und Ende der atrialen Abweichungen von der isoelektrischen Linie in allen drei Ableitungen des Oberflächen-EKGs bestimmt wurde.



**Abb. 8: EKG-Auswertung.**

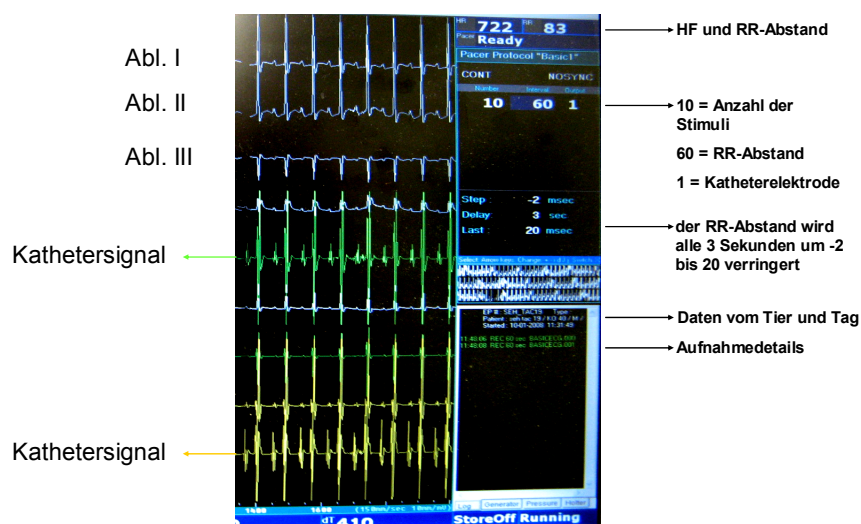
Folgende Strecken wurden ausgemessen: P-Intervall, PQ-, QR-, QRS-, QTpeak- (Abstand von Q bis zum höchsten Punkt der T-Welle) und QTend-Strecke (Abstand von Q bis zum Ende der T-Welle).

#### 4.1.4 EPU

Mit der angewandten Methodik konnten die elektrischen Herzimpulse in den Wildtypen der C57Bl/6-Maus und der Sprague Dawley-Ratte qualitativ gut abgeleitet und dargestellt werden. Wie in der Abb. 9 abgebildet, stellen sich die Kathetersignale im unteren Bereich des Bildschirms grün dar und die EKG-Ableitungen im oberen Bereich des Bildschirms weiß.

In den folgenden dargestellten EPU-Ergebnissen finden sich zum einen die originalgetreue Wiedergabe der auf den Bildschirm dargestellten Messsignale und zum anderen die daraus ermittelten physiologischen Parameter.

Während der EPU wurde Protokoll geführt, um erste Ergebnisse vorab festzuhalten. Die ausführliche Auswertung der EPU fand dann im Nachhinein mit Hilfe der Aufzeichnungen statt. So konnten genaue Messwerte zu den jeweiligen Parametern ermittelt werden. Bei eventuell aufgetretenen Arrhythmien konnte somit nicht nur die Form dieser, sondern auch ihre Quantität bestimmt werden.



**Abb. 9: EP-Tracer-Software.**

Neben der EKG- und EPU-Signale werden auf der rechten Seite des Computerbildschirms im oberen Bereich die Herzfrequenz und der entsprechende RR-Abstand, im mittleren Bereich die Einstellungen für die programmierte Stimulation und im unteren Bereich die Daten des Tieres mit den folgenden Protokollaufnahmedetails dargestellt.

#### *Positionieren der Katheter*

Um das Stimulationsprotokoll abarbeiten zu können, mussten bei der Ratte zwei Katheter im Herzen platziert werden: ein Katheter im rechten Atrium und einer im linken Ventrikel.

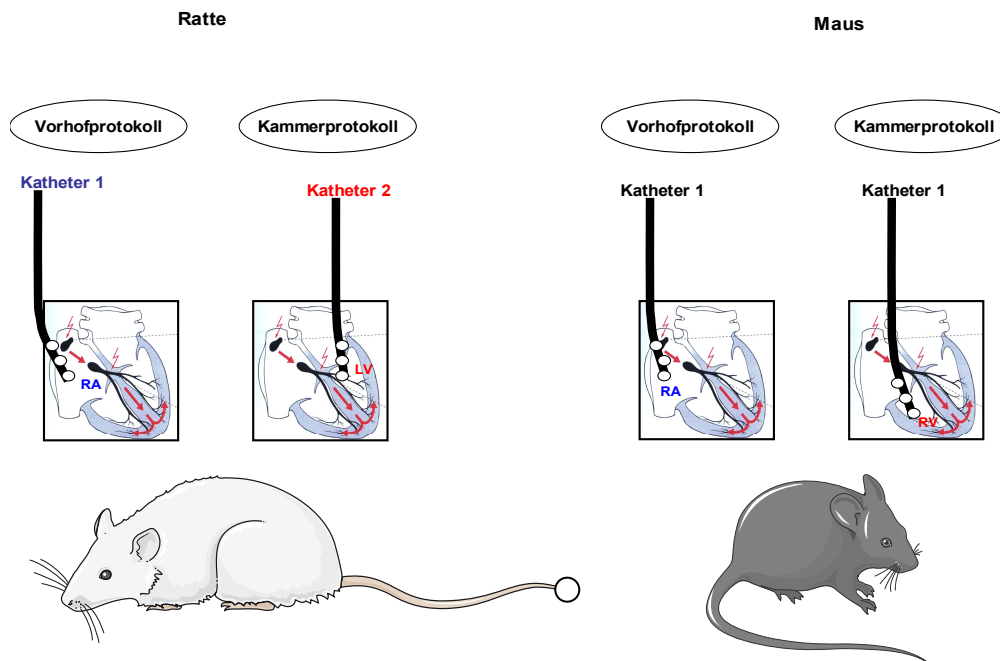
Das Signal des ersten Katheters (Vorhofsignal) wird in dem Moment sichtbar, sobald sich der Katheter, der über die V. jugularis in die V. cava cranialis geschoben wird, in der Nähe des

Herzen befindet. Das Vorhofsignal stimmt auf dem Monitor mit der P-Welle des Ruhe-EKGs überein. Je näher der Katheter dem Vorhof kommt, umso größer wird sein elektrisches Signal. Sein Maximum ist im Bereich des Sinusknotens erreicht. Ziel ist es, den Katheter im Bereich des Sinusknotens zu platzieren, da an dieser Stelle der Vorhof elektrisch optimal beeinflussbar bzw. stimulierbar ist. Zur Überprüfung der richtigen Lage erfolgt eine kurzzeitige Stimulation des Vorhofes. Löst jeder Stimulus eine P-Welle aus, so liegt der Katheter in richtiger Position. Das Kammersignal wird auf dem Monitor sichtbar, sobald sich der zweite Katheter, der über die rechte A. carotis vorgeschoben wird, in der Nähe der linken Kammer befindet. Das Kammersignal stimmt mit dem QRS-Komplex aus dem Ruhe-EKG überein. Je größer das Kammersignal, umso näher befindet sich der Katheter an den Aortenklappen. Ziel ist es, den Katheter im Apex der linken Kammer zu positionieren. Folgt nach jedem Test-Stimulus ein QRS-Komplex, so stimuliert der Katheter die linke Kammer vollständig und sauber. Im optimalen Fall sollte der stimulierte QRS-Komplex in der zweiten Ableitung leicht negativ sein. Dies bedeutet die perfekte Positionierung des Katheters in der Kammer und gewährleistet somit ihre richtige Stimulation.



**Abb. 10: Vorhof- und Kammersignal.**

In der ersten Zeile stellt sich das Basis-EKG aus Ableitung II dar. Es dient der Zuordnung der Kathetersignale: das Signal, das zeitlich mit der P-Welle zusammenfällt, ist das Vorhofsignal, das Signal, das mit dem QRS-Komplex zusammenfällt, ist das Kammersignal. Katheter 1 liegt demnach im Atrium (A) und Katheter 2 im Ventrikel (V). Beide Signale sind deutlich voneinander abgrenzbar und werden von dem jeweiligen Katheter am größten dargestellt.

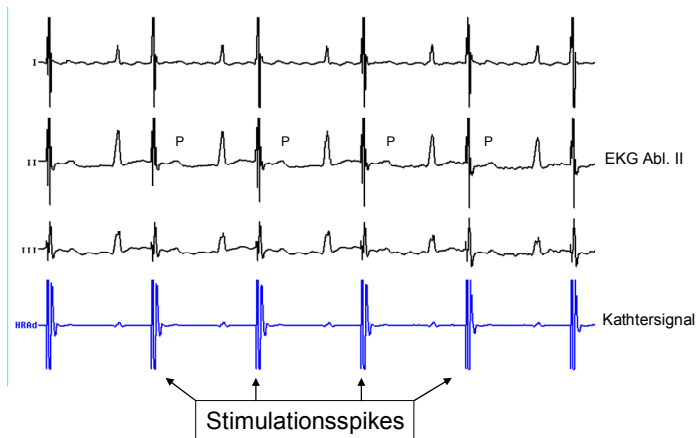


**Abb. 11: Katheter-Positionierung in Ratte und Maus.**

Diese Abbildung zeigt die Positionierung der Katheter in Ratte und Maus. Bei der Ratte wurden zwei Katheter verwendet. Katheter 1 wurde über die rechte Vena Jugularis in den rechten Vorhof (RA) geschoben und Katheter 2 wurde über die rechte Carotis in die linke Kammer (LV) geschoben. Mit Katheter 1 wurde das Vorhofprotokoll und mit Katheter 2 das Kammerprotokoll durchgeführt.

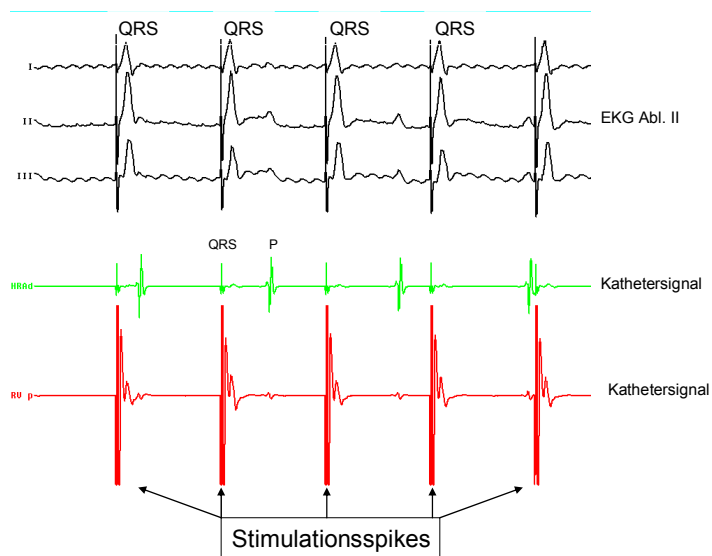
Waren die Katheter richtig positioniert und fixiert, erfolgte die Stimulation am schlagenden Herzen. Die Weiterleitung der von den Kathetern abgegebenen Stromimpulse entsprach dem physiologischen Reizleitungsweg.

In der Maus wurde mit nur einem Katheter stimuliert, der nach Beendigung des Vorhofprotokolls direkt vom rechten Vorhof in die rechte Kammer geschoben wurde.



**Abb. 12: Katheter-Positionierung im Vorhof.**

Diese Abbildung zeigt die Überprüfung der richtigen Lage des Katheters im Vorhof. Wenn nach jedem Stimulus die P-Welle folgt, dann stimuliert der Katheter den Vorhof ordnungsgemäß und das Vorhofprotokoll kann beginnen.



**Abb. 13: Katheter-Positionierung in der Kammer.**

Diese Abbildung zeigt die Überprüfung der richtigen Lage des Katheters in der Kammer. Nach jedem Stimulus muss direkt ein QRS-Komplex folgen.



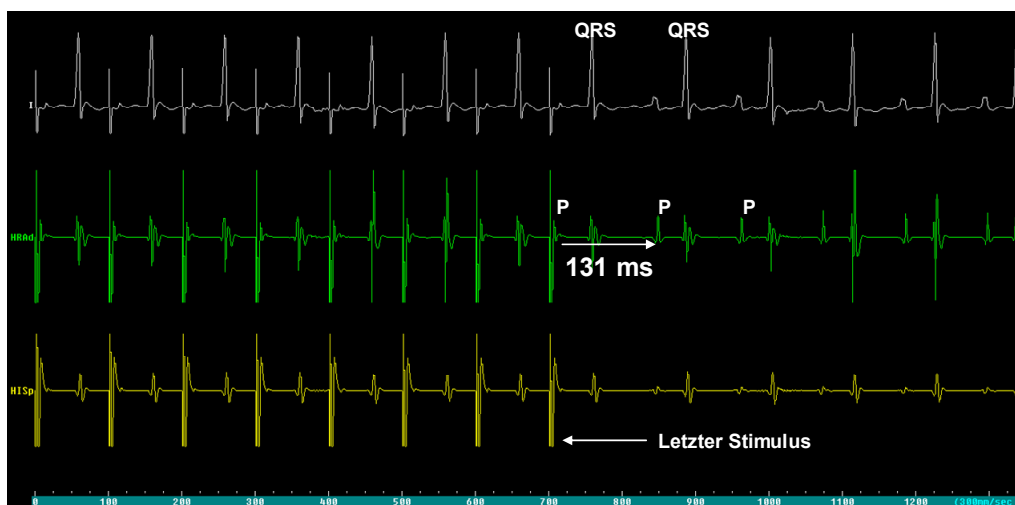
#### 4.1.5 Vorhofstimulationsprotokoll

##### *Sinusknotenerholungszeit SNRT*

Die Sinusknotenerholungszeit ist während des Stimulationsprotokolls nicht ermittelbar. Seine Ermittlung erfolgt durch Ausmessen der Strecke ab dem letzten Stimulus bis zum ersten Auftreten einer vom Sinusknoten erzeugten P-Welle (Vorhoferregung). Die Messung erfolgt mit Hilfe der Aufzeichnungen. Eine pathologisch veränderte SNRT (Sinus node recovery time) weist auf eine Sinusknotenerkrankung hin. Eine normale SNRT schließt diese jedoch nicht aus.

Maus: SNRT im Mittel 149 ms (bei Basis-Zykluslänge von 100)

Ratte: SNRT im Mittel 179 ms (bei Basis-Zykluslänge von 150)

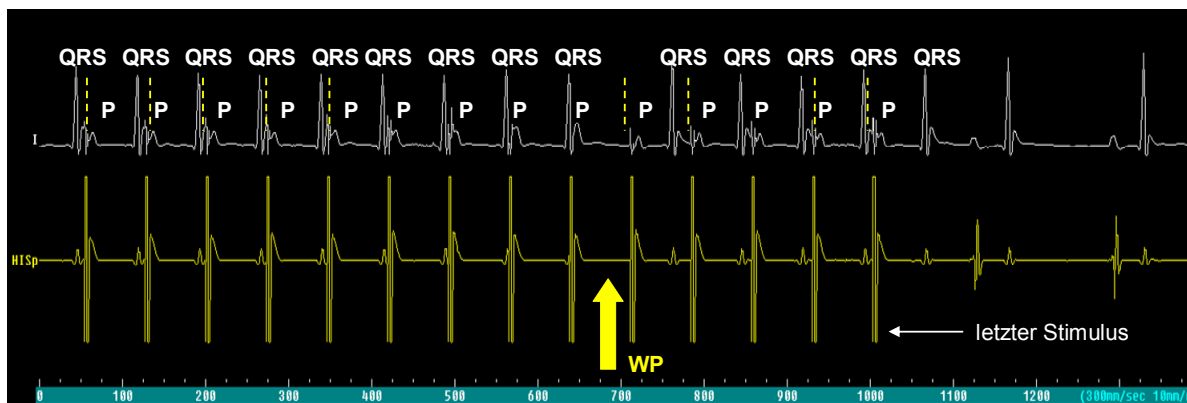


**Abb. 14: Sinusknotenerholungszeit SNRT.**

Die SNRT beträgt 131 ms nach 60 sec pacing mit 600 Schlägen pro Minute. Der letzte Stimulus erzeugt eine P-Welle. Der Abstand zwischen dieser stimulierten P-Welle und der folgenden erstmals wieder vom Sinusknoten erzeugte P-Welle beträgt in diesem Fall 131 ms. Diese Zeit hat der Sinusknoten gebraucht, um wieder seine Schrittmacherfunktion zu übernehmen.

*Wenckebach-Punkt WP*

Der Wenckebach-Punkt ist der Punkt, ab dem der AV-Knoten zum ersten Mal die Erregung nicht mehr überleitet, da das Stimulationsintervall zu klein ist. Er ist während der Stimulation aufgrund der schnell aufeinander folgenden Stimuli nur grob erkennbar. Für das vorläufige Protokoll kann ein ungefährer Zeitpunkt angegeben werden. Für die genaue Zeitangabe bezüglich der Auswertung dient letztendlich die computergestützte Aufzeichnung. Mit Hilfe der Probanden konnte folgender Durchschnittswert für Maus und Ratte ausgearbeitet werden:  
Maus: WP im Mittel bei 82 ms; Ratte: im Mittel 98 ms



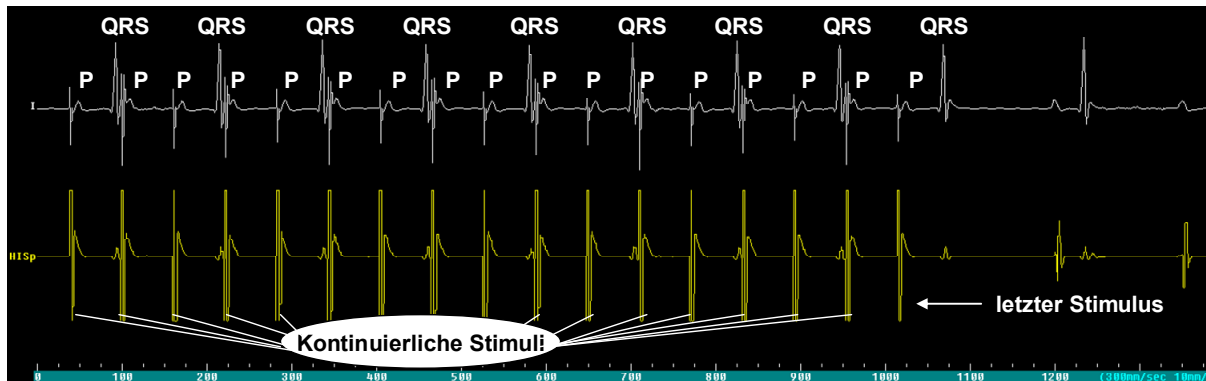
**Abb. 15: Wenckebach Punkt.**

WP 73 ms. Mit kontinuierlicher Verringerung des Stimulationsintervalls (RR-Abstand) in regelmäßigen Abständen (s. Protokoll), zeigt sich ab einer bestimmten Frequenz der Wenckebach-Punkt (gelber Pfeil). An dieser Stelle findet zum ersten Mal keine atrioventrikuläre Übertragung der Erregung statt. Deswegen folgt nach der P-Welle kein QRS-Komplex.

### 2:1-Überleitung

Die 2:1-Überleitung ist dann gegeben, wenn nur noch jede zweite P-Welle einen QRS-Komplex auslöst, also nur jeder zweiten Vorhofdepolarisation eine Kammerkontraktion folgt. Sie kann während der Aufzeichnung für das vorläufige Protokoll ebenfalls nur grob angegeben werden. Der genaue Zeitpunkt ist im Nachhinein der Aufzeichnung zu entnehmen. Auch hier konnte mit Hilfe der Probanden ein Durchschnittswert ermittelt werden:

Maus: 65 ms; Ratte: 82 ms



**Abb. 16: 2:1-Überleitung.**

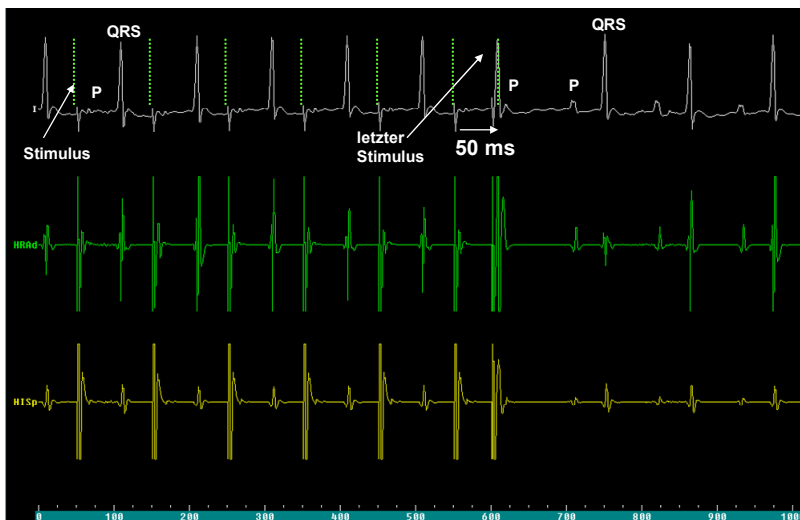
2:1 Überleitung 61 ms. Die 30 Stimuli, die kontinuierlich in absteigender Frequenz abgegeben werden, bewirken ab einem bestimmten RR-Abstand, dass der AV-Knoten als Schutzfunktion nur noch jede zweite Erregung zur Kammer durchlässt. Normalerweise folgt nach jeder P-Welle ein QRS-Komplex. In diesem Fall folgt nur nach jedem zweiten P ein QRS-Komplex.

*Effektive AV-Knoten-Refraktärzeit (AVNERP)*

Die AVNERP konnte bereits während der Untersuchung genau bestimmt werden, wurde jedoch zusätzlich im Anschluss anhand der Aufzeichnungen überprüft. Es konnte mit Hilfe der Probanden ein AVNERP-Durchschnittswert für Maus und Ratte ermittelt werden.

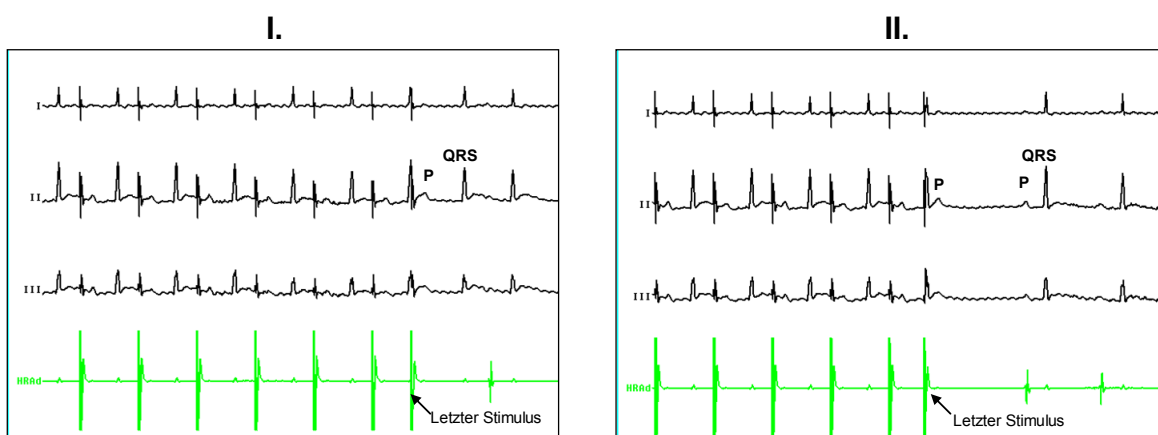
Maus: AVNERP im Mittel 62 ms (bei Basis-Zykluslänge von 100)

Ratte: AVNERP im Mittel 77 ms (bei Basis-Zykluslänge von 150)



**Abb. 17: AVNERP (effektive Refraktärzeit des AV-Knotens).**

AVNERP 50 ms bei einer basalen Zykluslänge von 100 ms. Die Zeit, bei der nach dem letzten Stimulus auf die folgende P-Welle kein QRS-Komplex folgt, ist die AV-Knoten-Refraktärzeit. Der letzte Stimulus wird dem vorletzten kontinuierlich angenähert. Man spricht von einem so genannten Kopplungsintervall.



**Abb. 18: AVNERP.**

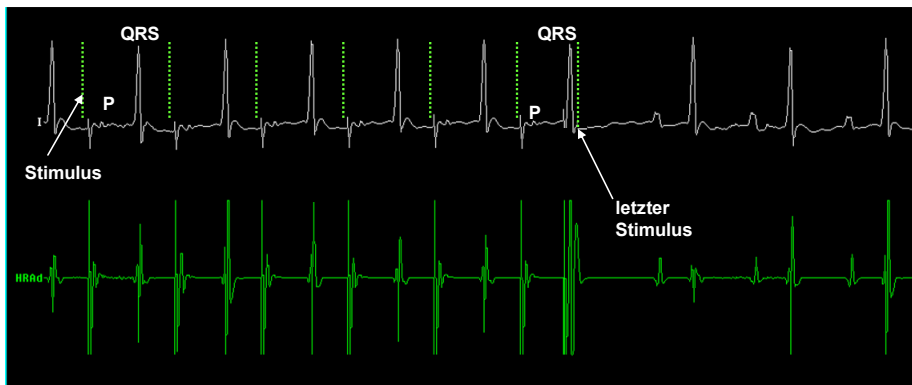
Das Bild I zeigt, dass die Erregung vom letzten Stimulus noch zur Kammer weitergeleitet wird. Zu sehen am QRS-Komplex nach der P-Welle. Im Bild II wird die Erregung des letzten Stimulus vom AV-Knoten nicht mehr an die Kammer weitergeleitet. Zu sehen am fehlenden QRS-Komplex nach der P-Welle.

### Effektive Vorhof-Refraktärzeit (AERP)

Das Auftreten von AERPs konnte während der Untersuchung nur geschätzt werden. Erst anhand der Aufzeichnungen war eine genaue Bestimmung der AERP möglich. Aufgrund mehrerer Messungen an Wildtypen ergaben sich folgende Durchschnittswerte:

Maus: AERP im Mittel 34 ms (bei Basis-Zykluslänge von 100)

Ratte: AERP im Mittel 33 ms (bei Basis-Zykluslänge von 150)

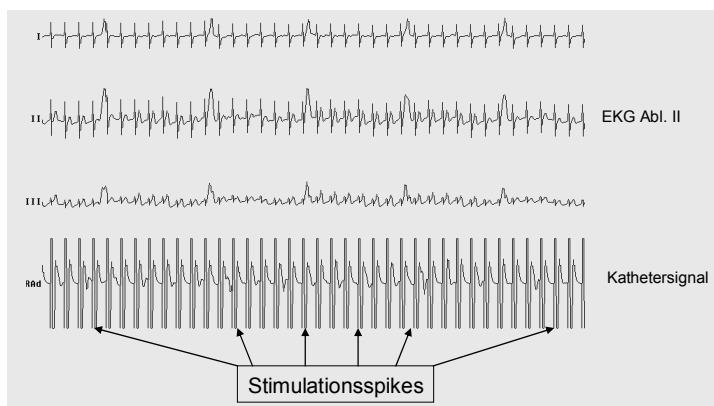


**Abb. 19: AERP (atriale effektive Refraktärzeit).**

Diese Abbildung zeigt die Refraktärzeit des Vorhofes. Ab einem bestimmten Kopplungsintervall zwischen vorletztem und letzten Stimulus ist der Vorhof vorübergehend refraktär. Dies zeigt sich im Ausfall der P-Welle nach dem letzten Stimulus.

### Vorhof-Burst

Die Wildtypen zeigten im Vorhofpacing vereinzelt Arrhythmien in Form von Vorhofflimmern.



**Abb. 20: Burst-Pacing.**

Die Abbildung zeigt eine schnelle Abfolge von Stimuli mit einem festgelegten Kopplungsintervall für 30 Sekunden. Zu sehen ist außerdem die Schutzfunktion des AV-Knoten als regulierender Schrittmacher. In diesem Fall lässt er nur ca. jede siebte Erregung zur Kammer durch. Alle anderen Erregungen werden zur Entlastung der Kammer von ihm abgeblockt. Im Anschluss an den Vorhoffburst zeigt sich entweder ein stabiler Sinusrhythmus oder Vorhofflimmern.

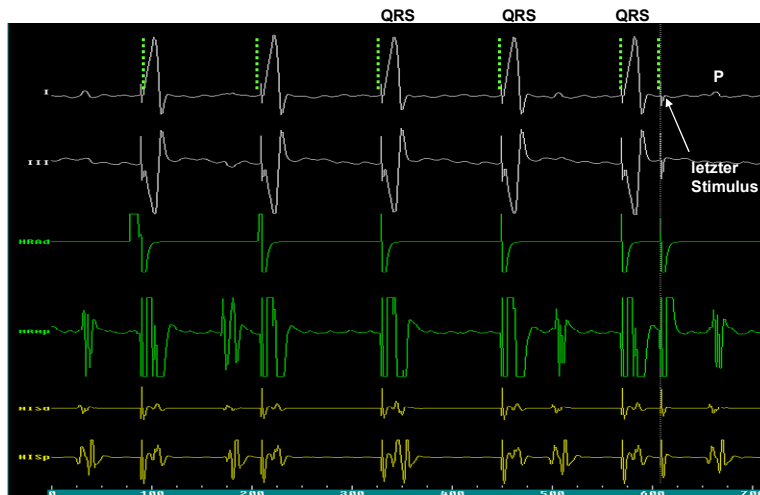
### 4.1.6 Kammerstimulationsprotokoll

#### Effektive Kammer-Refraktärzeit (VERP)

VERP konnte während der Aufzeichnung ermittelt und in der Aufzeichnung überprüft werden. Auch hier konnte aus den Ergebnissen ein Durchschnittswert für den jeweiligen Wildtyp errechnet werden.

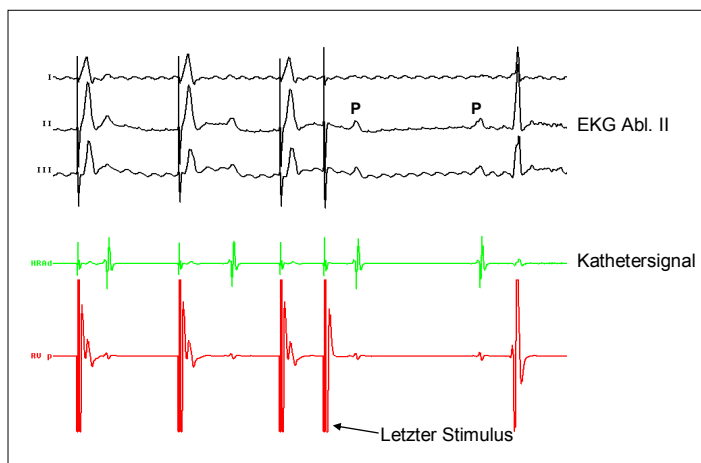
Maus: VERP im Mittel 29 ms (bei Basis-Zykluslänge von 100)

Ratte: VERP im Mittel 39 ms (bei Basis-Zykluslänge von 150)



**Abb. 21: VERP (ventrikuläre effektive Refraktärzeit).**

Die Abbildung zeigt die Refraktärzeit der Kammer. Nach dem letzten Stimulus folgt kein QRS-Komplex mehr. Die Kammer ist ab einem bestimmten Kopplungsintervall zwischen vorletztem und letztem Stimulus vorübergehend nicht mehr erregbar.

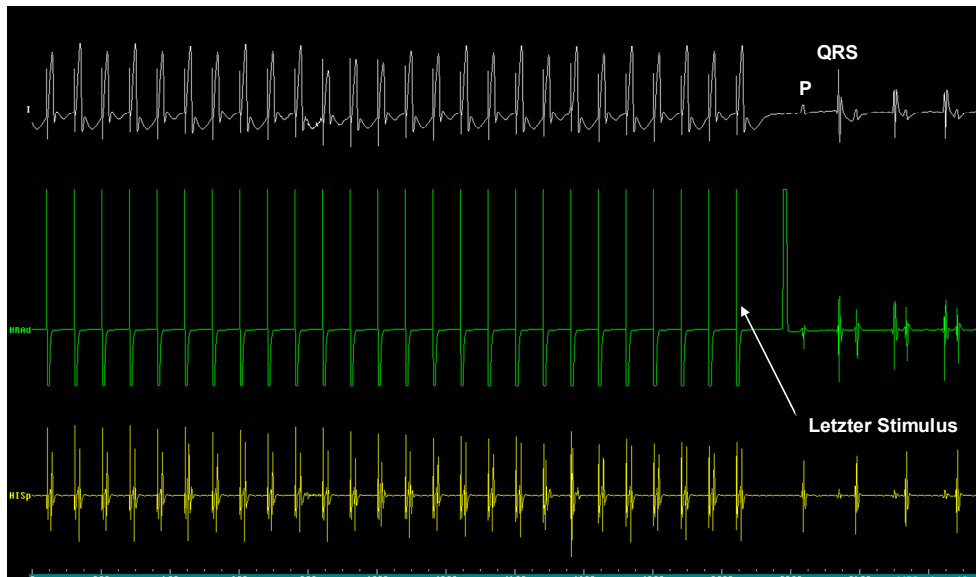


**Abb. 22: VERP.**

Es zeigt sich die korrekte Stimulation der Kammer. Jeder Stimulus löst ein QRS-Komplex aus. Nur der letzte zusätzliche Stimulus, der alle zwei Sekunden sich um einen definierten Abstand dem vorletzten Stimulus nähert, löst keinen QRS-Komplex mehr aus, da er sich gerade in der effektiven Refraktärzeit der Kammer befindet.

### *Kammerstimulation (mit zwei und drei Zusatzstimuli)*

Während der Kammerstimulation zeigten sich nur vereinzelt auftretende VES (ventrikuläre Extrasystolen). Ansonsten waren beide Wildtypen im Stimulationsprotokoll stabil, d.h. es waren keine weiteren Arrhythmien auslösbar, auch nach Kammerburst nicht. Nach jedem Pacing stellte sich wieder ein stabiler Herzrhythmus ein.



**Abb. 23: Kammerstimulation.**

Die Abbildung zeigt die Abfolge schneller Stimuli mit festgelegtem Kopplungsintervall für jeweils 20 Sekunden. Nach dem Burst zeigt sich ein stabiler Sinusrhythmus.

## 4.1.7 Stressprotokoll

### *Isoprenalin-Kammerstimulation*

Zusätzlich zur Kammerstimulation und dem Burst ist es noch möglich, die Induktion einer ventrikulären Tachykardie durch die Gabe von Isoprenalin zu erleichtern.

Im Isoprenalin-Stimulationsprotokoll zeigten beide Wildtypen vereinzelt Arrhythmien in Form von ventrikulären Extrasystolen und Couplets.

### *Isoprenalin-Kammerburst*

Die Wildtypen zeigten vereinzelt unter Isoprenalinbelastung nach dem Kammerpacing Arrhythmien in Form von ventrikulären Extrasystolen, Couplets, Triplets und Vorhofflimmern.

#### 4.1.8 Zusammenfassung der EPUs

##### *Induzierbarkeit von Arrhythmien in der Wildtyp-Maus*

(Tabellen 2-5 geben die Anzahl der auslösbaren Wildtiere wieder).

**Tab. 2: Arrhythmie-Auslösbarkeit in der Maus.**

In Wildtyp-Mäusen (n=10) konnten bei einigen Tieren im Stimulationsprotokoll ohne Isoprenalin im Vorhofburst Vorhofflimmern, während des Kammerprotokolls ventrikuläre Extrasystolen (VES) und im Kammerburst sowohl Vorhofflimmern als auch VES ausgelöst werden.

Arrhythmieform	Vorhofprotokoll	Vorhofburst	Kammerprotokoll	Kammerburst
VES	/	/	3	1
Couplets	/	/	/	/
Triplets	/	/	/	/
Vorhofflattern	/	/	/	/
Vorhofflimmern	/	2	/	2
Kammerflimmern	/	/	/	/
ventrikuläre Tachyarrhythmien	/	/	/	/
AV-Block I. Grades	/	/	/	/
AV-Block II. Grades	/	/	/	/
AV-Block III. Grades	/	/	/	/

*Benigne Arrhythmieformen (\*), Maligne Arrhythmieformen (\*\*)* s. S. 65-66



**Tab. 3: Arrhythmie-Auslösbarkeit in der Maus unter Isoprenalin.**

In Wildtyp-Mäusen (n=10) konnten bei einigen Tieren im Stressprotokoll während der Kammerstimulation VES, Couplets und Vorhofflimmern ausgelöst werden. Im Kammerburst waren VES, Triplets und Vorhofflimmern auslösbar.

Arrhythmieform	Kammerprotokoll	Kammerburst
VES	3	2
Couplets	1	/
Triplets	/	1
Vorhofflattern	/	/
Vorhofflimmern	1	2
Kammerflimmern	/	/
ventrikuläre Tachyarrhythmien	/	/
AV-Block I. Grades	/	/
AV-Block II. Grades	/	/
AV-Block III. Grades	/	/

*Benigne Arrhythmieformen (\*), Maligne Arrhythmieformen (\*\*)* s. S. 65-66

*Induzierbarkeit von Arrhythmien in der Wildtyp-Ratte***Tab. 4: Arrhythmie-Auslösbarkeit in der Ratte.**

In Wildtyp-Ratten (n=10) konnten bei einigen Tieren im Stimulationsprotokoll ohne Isoprenalin jeweils im Vorhofburst und Kammerprotokoll Vorhofflimmern ausgelöst werden.

Arrhythmieform	Vorhofprotokoll	Vorhofburst	Kammerprotokoll	Kammerburst
VES*	/	/	/	/
Couplets*	/	/	/	/
Triplets*	/	/	/	/
Vorhofflattern*	/	/	/	/
Vorhofflimmern*	/	2	1	/
Kammerflimmern**	/	/	/	/
ventrikuläre Tachyarrhythmien**	/	/	/	/
AV-Block I. Grades**	/	/	/	/
AV-Block II. Grades **	/	/	/	/
AV-Block III. Grades**	/	/	/	/

*Benigne Arrhythmieformen (\*), Maligne Arrhythmieformen (\*\*)* s. S. 65-66

**Tab. 5: Arrhythmie-Auslösbarkeit in der Ratte unter Isoprenalin.**

In Wildtyp-Ratten (n=10) konnten bei einigen Tieren im Stressprotokoll während der Kammerstimulation ventrikuläre Extrasystolen und Couplets ausgelöst werden. Im Kammerburst waren ventrikuläre Extrasystolen und Vorhofflimmern auslösbar.

Arrhythmieform	Kammerprotokoll	Kammerburst
VES*	2	1
Couplets*	1	/
Triplets*	/	/
Vorhofflattern*	/	/
Vorhofflimmern*	/	2
Kammerflimmern*	/	/
Ventrikuläre Tachyarrhythmien**	/	/
AV-Block I. Grades**	/	/
AV-Block II. Grades**	/	/
AV-Block III. Grades**	/	/

#### Benigne Arrhythmieformen (\*)

Diese wurden auch in den behandelten dTGRs registriert.

Zu den benignen Arrhythmien gehören VES, Couplets, Triplets und Salven kürzer als 30 sec. ohne strukturelle Herzveränderungen.

#### Supraventrikuläre Extrasystolen

Entstehen durch eine frühzeitige Impulsbildung innerhalb der Vorhöfe (ektopische Reizbildungszentren), deren Ursprung nicht im Sinusknoten liegt. Im EKG ist ein unregelmäßiger Rhythmus, der durch zusätzliche P-Wellen verursacht wird, zu erkennen. Die P-P-Abstände sind unregelmäßig. Auslöser kann z.B. eine Vergrößerung des Vorhofes sein.

#### Vorhofflimmern/-flattern

Beim Vorhofflattern ist der Kammerrhythmus regelmäßig mit relativ hoher Frequenz. Beim Vorhofflimmern ist der Kammerrhythmus absolut arrhythmisch. Beim Flimmern können p-Wellen nicht mehr voneinander abgegrenzt werden. Es resultiert eine unregelmäßige AV-Überleitung mit Absoluter Arrhythmie. Inzwischen ist klar, dass es sich auch bei diesen

Herzrhythmusstörungen um Reentry-Mechanismen auf Vorhofebene handelt. Besonders gut verstanden und durch eine EPU gut zu therapieren ist das Vorhofflattern, das sich im Oberflächen-EKG als Sägezahnlinie zeigt. Es kann durch eine Überstimulation auch gut terminiert werden.

Beides kann durch vorzeitige Stimuli oder einen Burst mit Kopplungsintervallen im Bereich der relativen atrialen Refraktärzeit ausgelöst werden. Von Bedeutung ist hierbei die Dauer und ob das ausgelöste Flimmern selbstlimitierend und reproduzierbar ist. Im Falle von Vorhofflattern können zwei mögliche Ergebnisse erfolgen, entweder der Übergang in Sinusrhythmus oder der Übergang ins Flimmern.

### Maligne Arrhythmieformen (\*\*)

Diese sind während der EPU vermehrt im unbehandelten dTGR-Modell registriert worden.

Der plötzliche Herztod ist eine der häufigsten Todesursachen in Deutschland und ist Folge eines tachysystolischen akuten Herzversagens, bei dem es sich entweder um eine ventrikuläre Tachykardie (VT) oder Kammerflimmern handelt. Die EPU ermöglicht, diejenigen mit hohem Risiko rechtzeitig zu erkennen und zu behandeln.

#### *ventrikuläre Tachykardien*

Zeigt sich im EKG als verbreiteter QRS-Komplex mit AV-Dissoziation und anhaltende VT (> 30 sec.). Reentry stellt auch hier den wesentlichen Mechanismus einer ventrikulären Tachykardie bei chronischen Herzerkrankungen oder nach überstandem Infarkt dar. Reentry-Zirkel bilden sich in der Regel um narbig veränderte Bezirke, wie sie nach Myokardinfarkt, nach Myokarditis oder bei einer Kardiomyopathie vorkommen. Auch jede andere Erkrankung, die zu einer wenn auch vielleicht nur minimalen Myokardfibrose führen kann, ist in der Lage derartige Herzrhythmusstörungen auszulösen. Allgemein kann hierzu gesagt werden: je ausgeprägter eine Myokardfibrosierung, je wahrscheinlicher eine ventrikuläre Tachykardie durch Reentry-Mechanismen.

Im Randbezirk dieser Narben finden sich Myokardzellen mit veränderter Refraktärität und Leitungsgeschwindigkeit. Reentry-Tachykardien können mittels EPU induziert und terminiert werden. Risikomerkmale sind z.B. eine verlängerte QT-Zeit im EKG. Je ausgeprägter die Veränderungen, desto höher auch das Risiko einer ventrikulären Tachykardie. Dies lässt sich im Labor auch gut untersuchen, da sie in der Regel durch vorzeitige Stimulation zuverlässig stimulierbar und terminierbar ist. Je schneller das Myokard stimuliert wird, desto schneller seine Leitung und desto kürzer seine Refraktärzeit. Man stimuliert daher den Ventrikel nicht nur mit einem vorzeitigen Impuls, sondern mit einer Reihe (meist 3 Impulse) mit hoher

Frequenz. Schließlich ist es noch möglich, die Induktion einer ventrikulären Tachykardie durch Gabe von Isoproterenol zu erleichtern.

#### *Kammerflimmern*

Kammerflimmern ist eine lebensbedrohliche pulslose Herzrhythmusstörung, bei der in den Herzkammern ungeordnete Erregungen ablaufen und der Herzmuskel sich nicht mehr geordnet kontrahiert. Beim Kammerflimmern kommt es durch lokale Störungen der Erregungsleitung oder des Erregungsablaufs dazu, dass die sich ausbreitende Erregung auf Gewebe trifft, das schon wieder erregbar ist und die Erregungsweiterleitung fortsetzt. Es kommt zu kreisenden Erregungswellen, sodass der Herzmuskel nicht mehr koordiniert pumpt, sondern unkoordiniert mit hoher Frequenz zuckt – er „flimmert“. Unbehandelt führt das Kammerflimmern wegen der fehlenden Pumpleistung des Herzens unmittelbar zum Tode. Im EKG sieht man Flimmerwellen. Es sind unregelmäßige Undulationen, mit wechselnden Konturen, Amplituden und Zeitintervallen zu sehen. Kammerflimmern kann z. B. als Komplikation eines Herzinfarktes auftreten.

#### **4.1.9 Schlussfolgerung**

In den Wildtypen von Maus und Ratte können mit der angewandten Methodik die elektrischen Impulse des Herzens gut abgeleitet und dargestellt werden. Mit Hilfe der humanen EPU kann in diesen Tierarten sowohl eine qualitativ hochwertige und vergleichbare Auswertung der elektrophysiologischen Eigenschaften des Myokards vorgenommen als auch die Induzierbarkeit von Arrhythmien überprüft werden.

## 4.2 Nachweis der gelungenen Etablierung im Renin-Angiotensinogen-dTGR-Modell

Im Versuchteil 2 erfolgte die Anwendung der zuvor etablierten EPU sowie Blutdruckmessung und echokardiographische Untersuchung am hypertensiv induzierten hypertrophen Rattenherzen zur Darstellung verschiedener Arrhythmieformen und deren Induzierbarkeit. Doppelt transgene Ratten für Renin und Angiotensinogen (dTGR), dTGR-Ratten auf einer mit Omega-3 Fettsäuren angereicherten Diät (n-3 PUFA-dTGR), dTGR-Ratten mit Renin-Inhibitor Aliskiren (dTGR+Aliskiren) und gleichaltrige, nicht-transgene Sprague Dawley Ratten (SD) wurden untersucht. Die Tiergruppen waren mit dTGR=16, n-3 PUFA-dTGR=18, dTGR+Aliskiren=9 und SD=10 unterschiedlich groß, da die Sterblichkeitsrate in den dTGR-Gruppen, insbesondere in der unbehandelten und der Diät-Gruppe, nicht einschätzbar war.

### 4.2.1 Mortalität

Ab der 7. Lebenswoche lag die Sterblichkeit in der unbehandelten dTGR-Gruppe bereits bei 31 % (5/16), während bis zu diesem Zeitpunkt alle n-3 PUFA-dTGR, dTGR+Aliskiren und SD-Tiere überlebten. Somit senkten n-3 PUFA und Aliskiren die Mortalitätsrate in dTGR-Tieren im Vergleich zu unbehandelten dTGR.

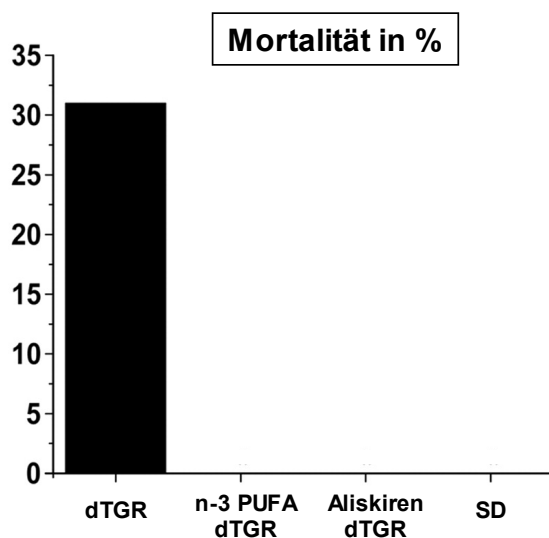


Abb. 24: Mortalitätsrate.

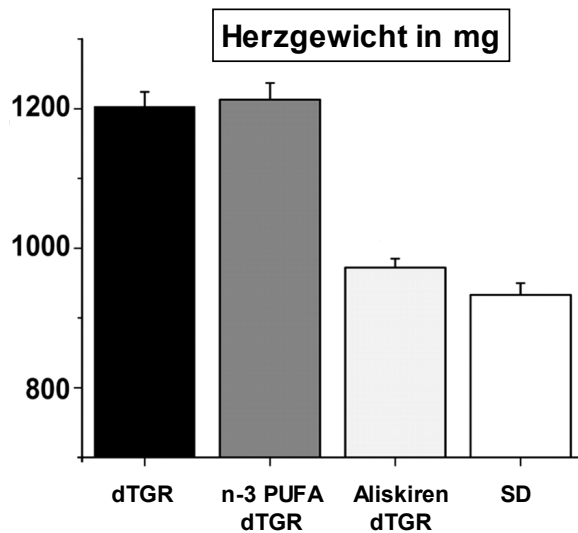
Prozentuale Mortalität bis zur 7. Lebenswoche in den drei Versuchstiergruppen.

Die unbehandelten dTGR zeigen eine Mortalität von 31 %, behandelte dTGR und der SD-Kontrollgruppe eine Mortalität von 0 %.

### 4.2.2 Herzgewicht

Die Herzhypertrophie war in dTGR und n-3 PUFA-dTGR gleichermaßen zu beobachten, dTGR+Aliskiren entwickelten keine Herzhypertrophie.

Die Herzgewichte beliefen sich auf  $1203 \pm 21$  mg in unbehandelten dTGR, auf  $1213 \pm 24$  mg in n-3 PUFA-dTGR, auf  $972 \pm 13$  mg in dTGR+Aliskiren und auf  $933 \pm 17$  mg in SD-Kontrolltieren.

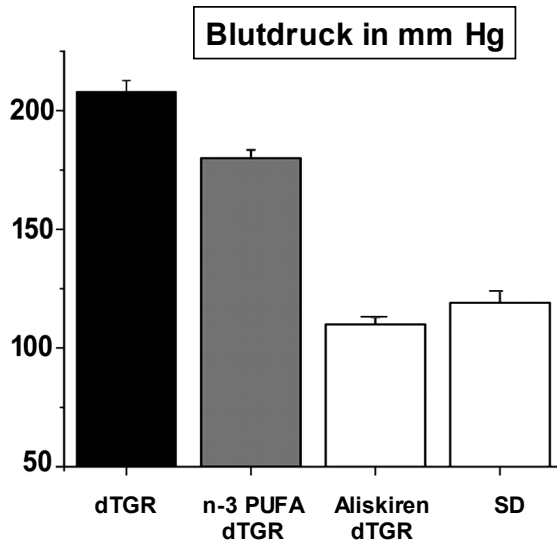


**Abb. 25: Herzgewichte.**

Die Abbildung zeigt die mittleren Herzgewichte in mg aus allen vier Versuchstiergruppen zur Darstellung der Herzhypertrophieentwicklung.

### 4.2.3 Blutdruckmessung

Unbehandelte dTGR entwickelten einen hohen systolischen Blutdruck ( $208 \pm 5$  mm Hg), welcher mit einer n-3 PUFA-reichen Diät nur geringgradig gesenkt wurde ( $180 \pm 3$  mm Hg). Im Gegensatz dazu war der Blutdruck bei der dTGR+Aliskiren-Gruppe und den SD-Kontrolltieren normotensiv ( $110 \pm 3$  bzw.  $119 \pm 6$  mm Hg).



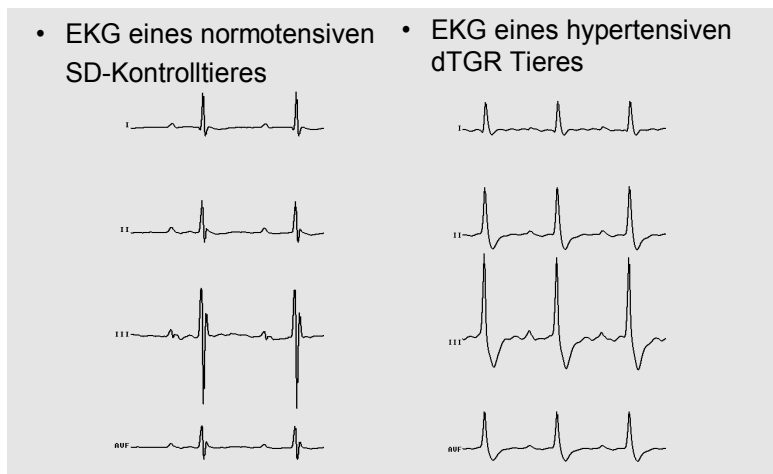
**Abb. 26: Blutdruck.**

Die Abbildung zeigt den gemessenen systolischen Blutdruck in mmHg aus allen vier Versuchstiergruppen zur Darstellung der Hypertonieentwicklung in der 7. Lebenswoche.



#### 4.2.4 EKG-Veränderungen

Die Auswertung der Daten erfolgte geblendet bezüglich der Gruppenzugehörigkeit. Die Oberflächen-EKGs wurden manuell ausgewertet. Schon im Ruhe-EKG zeigten sich bei den dTGR-Tieren pathologische Veränderungen: unbehandelte dTGR zeigten eine Verlängerung des QT- und QRS-Intervalls und eine Verbreiterung der T-Welle.

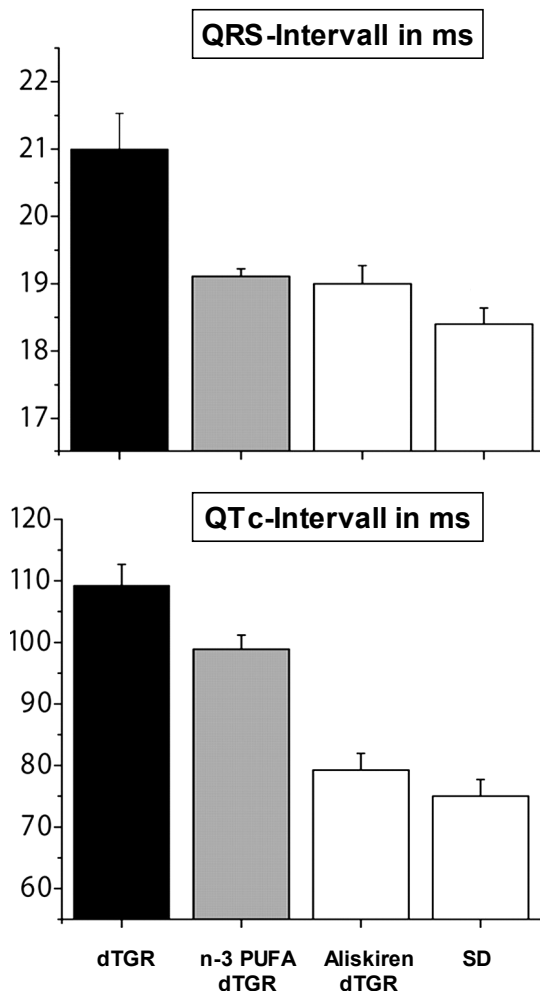


**Abb. 27: QRS-Intervall.**

Die Abbildung zeigt das Ruhe-EKG eines SD-Kontrolltieres gegenüber eines unbehandelten dTGR.

Tiere der dTGR-Gruppe zeigten im Vergleich zu den SD-Kontrolltieren eine Verlängerung im QRS-Intervall ( $21 \pm 0,5$  vs.  $18,4 \pm 0,2$  ms), was bei den behandelten dTGR reduziert war (n-3 PUFA-dTGR  $19,1 \pm 0,1$  und dTGR+Aliskiren  $19 \pm 0,3$  ms). Das erworbene lange QT-Syndrom in den dTGR (QT<sub>peak</sub>  $42 \pm 1$  ms und QT<sub>c</sub>  $109 \pm 3$  ms) im Vergleich zu den SD-Kontrolltieren ( $30 \pm 1$  ms und  $75 \pm 3$  ms) war bei den behandelten dTGR verhindert oder zumindest reduziert worden (dTGR+Aliskiren  $31 \pm 1$  ms und  $79 \pm 3$  ms; n-3 PUFA-dTGR  $37 \pm 1$  ms und  $99 \pm 2$  ms). Die QT-Zeit ist ein im EKG beschreibt die Zeitspanne der Depolarisation und der Repolarisation im Myokard. Im EKG beinhaltet dieser Parameter den QRS-Komplex, die ST-Strecke und die T-Welle. Definitionsgemäß beginnt das QT-Intervall mit der Q-Zacke und endet mit Abschluss der T-Welle. Die Bedeutung der QT-Zeit in der klinischen Praxis erklärt sich in der Länge dieses Parameters, indem sie ein nützlicher Wert bei der Einschätzung des Arrhythmie-Risikos der Patienten darstellt. Um QT-Zeiten bei verschiedenen Herzfrequenzen bewerten zu können, muss daher eine mathematische Korrektur erfolgen. Mit der Korrekturformel nach Bazett wird der Quotient aus QT-Zeit und Wurzel des RR Intervalls in Sekunden gebildet. Die Formel berücksichtigt den gemessenen Absolutwert des QT-

Intervalls und die Herzfrequenz. Die frequenzkorrigierte QT-Zeit wird als QTc-Zeit bezeichnet.



**Abb. 28: QRS-Intervall.**

Die Abbildung zeigt die Verteilung der in den Oberflächen-EKGs gemessenen QRS- und QTc-Intervalle in ms zwischen den Gruppen im Vergleich.

Die obere Abbildung zeigt die Veränderung im QRS-Intervall:

Die dTGR-Gruppe zeigt mit  $21 \pm 0,5$  ms im Vergleich zu den SD-Kontrolltieren mit  $18,4 \pm 0,2$  ms eine Verlängerung im QRS-Intervall, was bei den behandelten dTGR mit  $19,1 \pm 0,1$  ms bei den n-3 PUFA-dTGR und mit  $19 \pm 0,3$  ms dTGR+Aliskiren reduziert war.

Die untere Abbildung zeigt die Veränderung im QTc-Intervall:

Das erworbene lange QT-Syndrom in den dTGR mit QTc  $109 \pm 3$  ms im Vergleich zu den SD-Kontrolltieren mit  $75 \pm 3$  ms, war bei den behandelten dTGR mit QTc  $99 \pm 2$  ms bei den n-3 PUFA-dTGR und mit QTc  $79 \pm 3$  ms bei den dTGR+Aliskiren verhindert oder zumindest reduziert worden.

## 4.2.5 Elektrophysiologische Veränderungen

### *Im Ruhe-EKG*

Im Ruhe-EKG zeigten sich bei den unbehandelten dTGR vereinzelt ventrikuläre Extrasystolen.

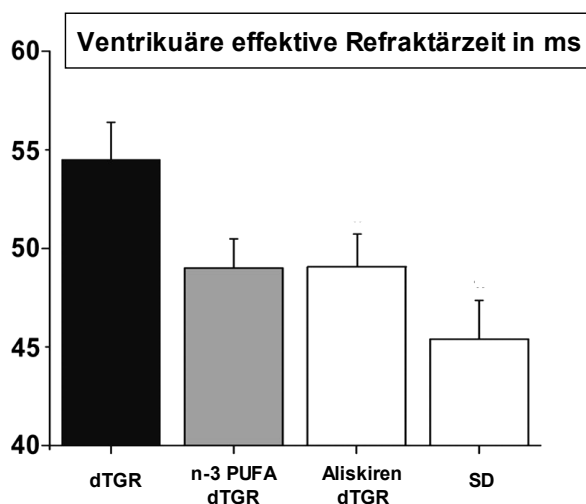


**Abb. 29: VES.**

Die Abbildung zeigt das Ruhe-EKG mit einer ventrikulären Extrasystole bei einem Tier der dTGR-Gruppe.

### *Im Stimulationsprotokoll*

Die ventrikuläre effektive Refraktärzeit (VERP) war im Vergleich zu den SD-Kontrolltieren bei den unbehandelten dTGRs verlängert ( $45,4 \pm 2$  vs.  $54,5 \pm 1,9$  ms). Bei den behandelten dTGRs war sie reduziert (n-3 PUFA-dTGR  $49 \pm 1,5$  ms und dTGR+Aliskiren  $49,3 \pm 1,6$  ms) (Abb.30).



**Abb. 30: VERP.**

Die Abbildung zeigt die Verlängerung der ventrikulären Refraktärzeit in der unbehandelten dTGR mit 54,5 ms im Vergleich zum SD-Kontrolltier mit 45,4 ms. Bei den behandelten dTGRs war sie mit 49 ms (n3 PUFA-dTGR) bzw. 49,3 ms (dTGR+Aliskiren) reduziert.

Bei der programmierten elektrischen Stimulation zeigten 75 % der unbehandelten dTGR anhaltende und nicht anhaltende ventrikuläre Tachykardien auf (Tabelle 6). Ab vier bis fünf VES spricht man von einer nicht anhaltenden Arrhythmie, von einer anhaltenden erst >15-30. Im Vergleich dazu war die Auslösbarkeit von ventrikulären Tachykardien bei den behandelten dTGR-Tieren reduziert: Nur 17 % der n-3 PUFA-dTGR zeigten während der elektrischen Stimulation ventrikuläre Tachykardien. Bei den SD-Kontrolltieren und den dTGR+Aliskiren ließen sich keine ventrikulären Tachykardien auslösen.

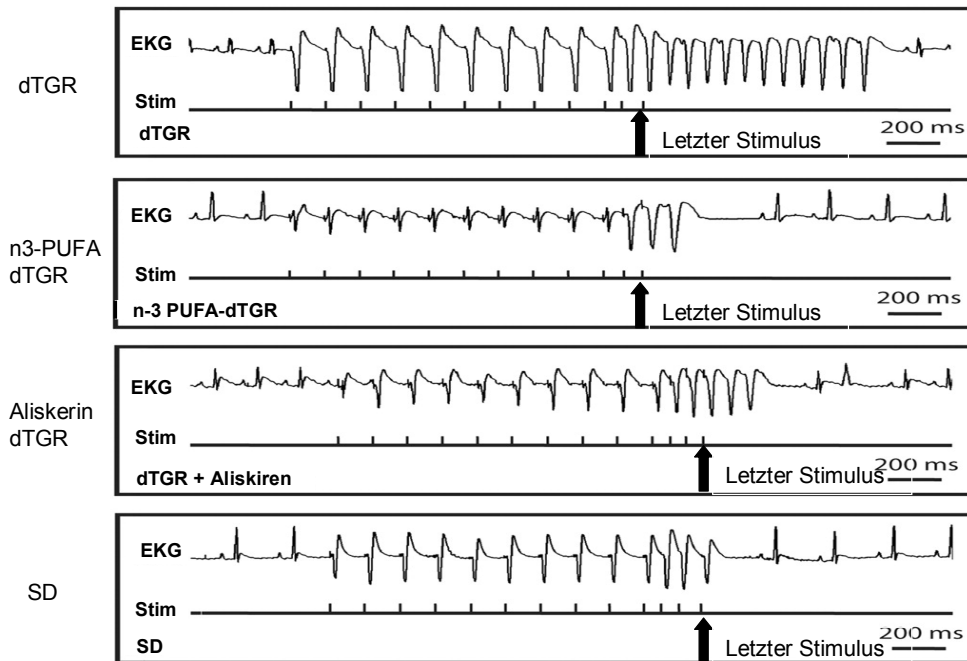
Die unbehandelte dTGR-Gruppe zeigte das gesamte Repertoire an Arrhythmieformen auf. Im Gegensatz dazu war das Ausmaß von auslösbaren Arrhythmien in den behandelten dTGR-Gruppen gering. In der n-3 PUFA bzw. Aliskiren dTGR-Gruppe traten lediglich ventrikuläre Extrasystolen, Couplets, Triplets, Vorhofflattern wie –flimmern auf. Nur zwei der n-3 PUFA behandelten dTGR-Tiere zeigten ventrikuläre Tachyarrhythmien.

**Tab. 6: Art und Anzahl der Arrhythmien.**

Die Tabelle zeigt die Gesamtzahl und Art der Arrhythmien, die während des Stimulationsprotokolls in den einzelnen Versuchstiergruppen registriert wurden. In der unbehandelten dTGR-Gruppe waren ventrikuläre Extrasystolen, Couplets, Triplets und ventrikuläre Tachyarrhythmien, Vorhofflimmern und sinuatriale Blöcke III. Grades bei allen Tieren auslösbar. Auch zeigten alle unbehandelten dTGR-Tiere ventrikuläre Tachykardien und Kammerflimmern und fünf der Tiere sinuatriale Blöcke I. und II. Grades. In den behandelten dTGR-Gruppen wurden am häufigsten ventrikuläre Extrasystolen, Couplets und Vorhofflimmern beobachtet. Jedoch nicht in dem Ausmaß, wie in der dTGR-Gruppe, während Kammerflimmern und sinuatriale Blöcke nicht vertreten waren. Ventrikuläre Tachyarrhythmien traten nur bei zwei der n-3 PUFA behandelten Tiere auf. In der SD-Kontrolltiergruppe waren nur zwei Tiere mit ventrikulären Extrasystolen auslösbar.

n=10

Art und Anzahl der Arrhythmien	dTGR	n-3 PUFA-dTGR	dTGR+Aliskiren	SD
VES	10	5	6	2
Couplets	10	7	7	0
Triplets	10	3	2	0
Vorhofflattern	6	2	3	0
Vorhofflimmern	10	5	4	0
Kammerflimmern	10	0	0	0
ventrikuläre Tachyarrhyth.	10	2	0	0
AV-Block I. Grades	5	0	0	0
AV-Block II. Grades	5	0	0	0
AV-Block III. Grades	10	0	0	0

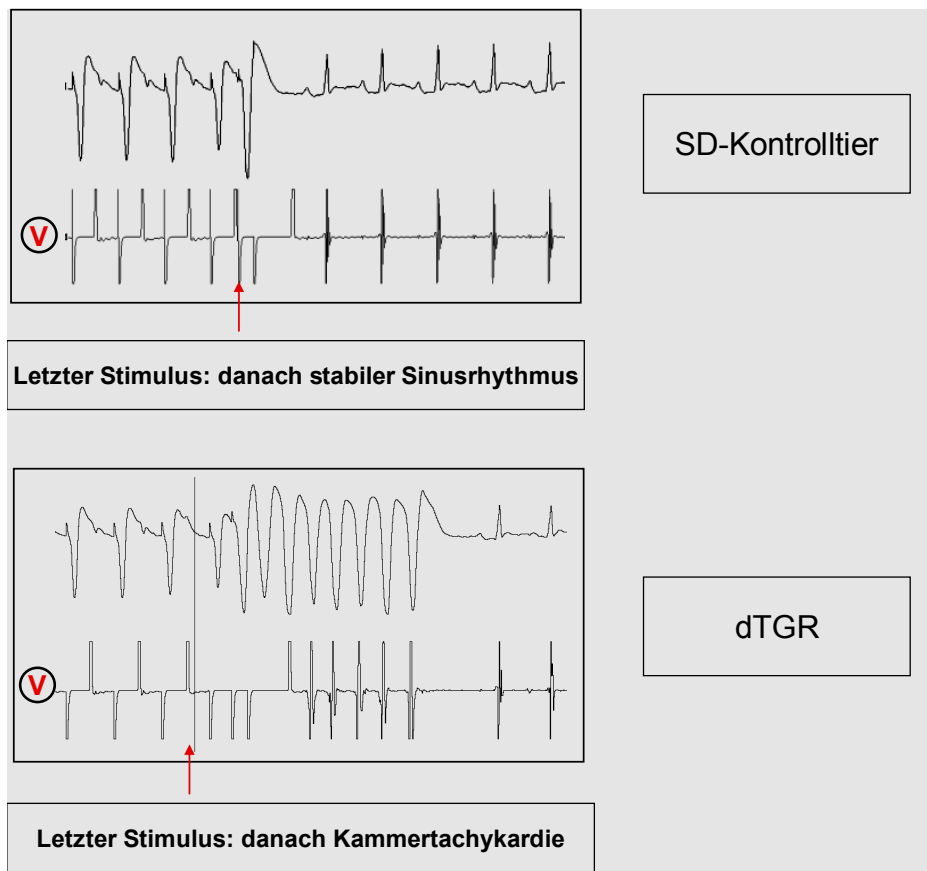
*Ausgewählte Beispiele elektrophysiologischer Veränderungen*

**Abb. 31: Auslösbarkeit in den Versuchstiergruppen.**

Diese Abbildung zeigt die unterschiedliche Auslösbarkeit von Arrhythmien in den einzelnen Versuchstiergruppen. Zu sehen ist ein Ausschnitt aus dem Kammerstimulationsprotokoll bezogen auf die Versuchstiergruppen mit dTGR, n-3 PUFA-dTGR, dTGR + Aliskiren und den SD-Kontrolltieren. Jeder Stimulationspike induziert ein QRS-Komplex. Die obere Abbildung zeigt die Auslösbarkeit von einer nicht anhaltenden ventrikulären Tachykardie mit anschließendem Übergang in den Sinusrhythmus bei der dTGR. Die zweite Abbildung von oben zeigt die Auslösbarkeit von einer ventrikulären Extrasystole mit anschließendem Übergang in den Sinusrhythmus bei der n-3 PUFA-dTGR. Die vorletzte Abbildung zeigt die Induzierbarkeit von zwei ventrikulären Extrasystolen (Couplet) mit anschließendem Übergang in den Sinusrhythmus bei der dTGR+Aliskiren. Die letzte Abbildung zeigt, dass im SD-Kontrolltier keine Arrhythmien auslösbar waren. Beim SD-Kontrolltier folgt nach dem letzten Stimulus ein stabiler Sinusrhythmus.

Abschließend ist zu sagen, dass die Induzierbarkeit von Arrhythmien, wie zu erwarten, in der dTGR am höchsten war. Die behandelten dTGRs, sei es mit n-3 PUFA oder Aliskiren, zeigten im gleichen Maße eine gegenüber der unbehandelten dTGR eine stark reduzierte Induzierbarkeit von Arrhythmien im ventrikulären Stimulationsprotokoll. Eine Induzierbarkeit von Arrhythmien in den SD-Kontrolltieren war nicht vorhanden.

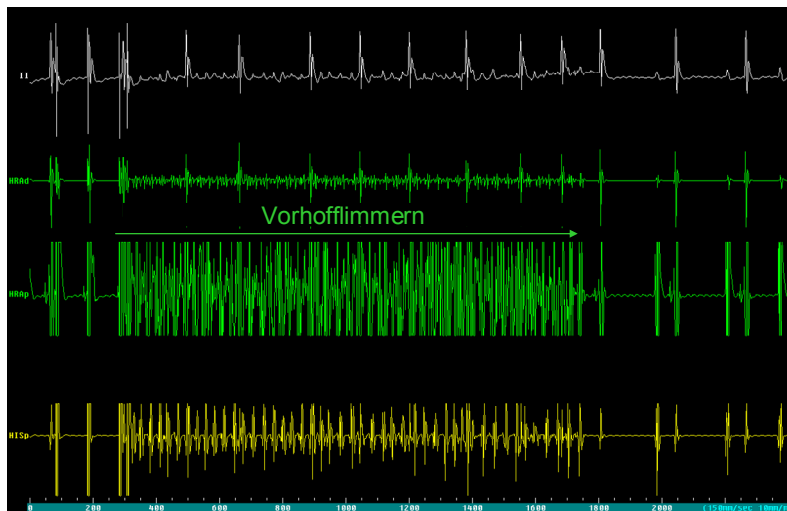
*Ausgewählte Beispiele elektrophysiologischer Veränderungen*



**Abb. 32: Induzierbarkeit bei der unbehandelten dTGR und SD-Kontrolltier.**

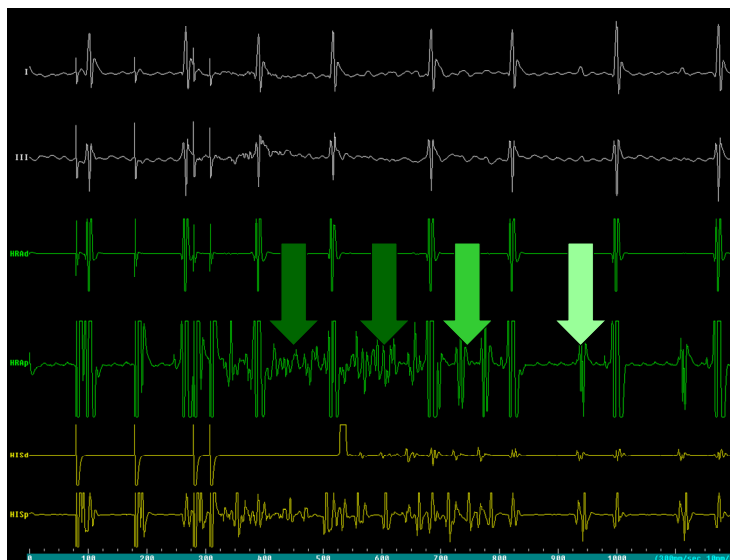
Diese Abbildung verdeutlicht den Unterschied in der Induzierbarkeit zwischen SD-Kontrolltier und der dTGR. Das SD-Kontrolltier war im Gegensatz zum dTGR nicht auslösbar, wohingegen das doppelt transgene Rattenmodell nach dem letzten Stimulus im ventrikulären Stimulationsprotokoll auslösbar war. Es zeigte sich in der Regel nach dem letzten Stimulus eine nicht anhaltende Kammertachykardie, die dann in den Sinusrhythmus überging. Bei dem SD-Kontrolltier zeigte sich nach dem letzten Stimulus ein stabiler Sinusrhythmus.



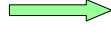
*Ausgewählte Beispiele elektrophysiologischer Veränderungen*



**Abb. 33: Induzierbarkeit von nicht anhaltenden Vorhofflimmern in der unbehandelten dTGR.**

Diese Abbildung zeigt die Induzierbarkeit von nicht anhaltenden Vorhofflimmern bei der unbehandelten dTGR. Nach dem letzten Stimulus im ventrikulären Stimulationsprotokoll folgt kein stabiler Sinusrhythmus, sondern zunächst Vorhofflimmern, welches nach einer spontanen Konversion nach Beginn in ms in den Sinusrhythmus übergeht. Die schnellen fokalen Vorhofaktionen stellen sich als Flimmerwellen dar.



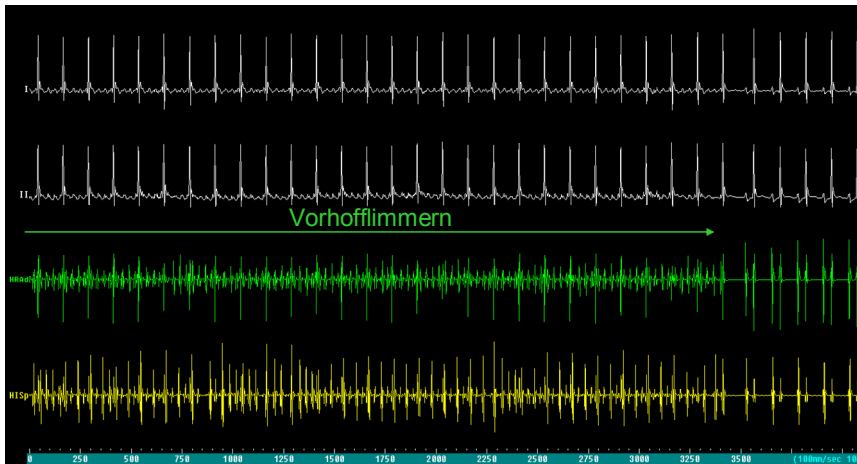
 Vorhofflimmern  
 Vorhofflattern  
 Sinusrhythmus mit nur einer P-Welle

**Abb. 34: Vorhofflimmern organisiert sich zu Vorhofflattern in der unbehandelten dTGR.**

Die Abbildung zeigt, dass sich das im dTGR-Modell ausgelöste Vorhofflimmern zu einem Vorhofflattern organisiert, bevor es in den Sinusrhythmus übergeht.

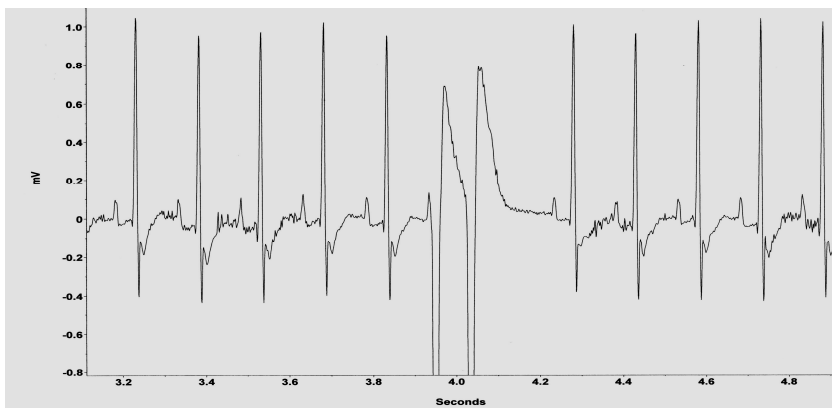


### Ausgewählte Beispiele elektrophysiologischer Veränderungen



**Abb. 35: Anhaltendes Vorhofflimmern in der unbehandelten dTGR.**

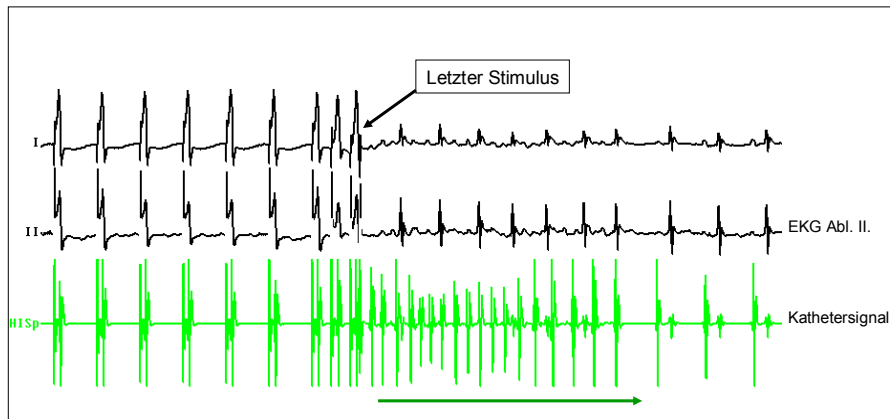
Diese Abbildung zeigt nach einer atrialen Überstimulation anhaltendes Vorhofflimmern in der unbehandelten dTGR. Zum Ende organisiert sich das Vorhofflimmern zum Vorhofflattern, um dann in den Sinusrhythmus überzugehen.



**Abb. 36: Ventrikuläre Extrasystolen – Couplet.**

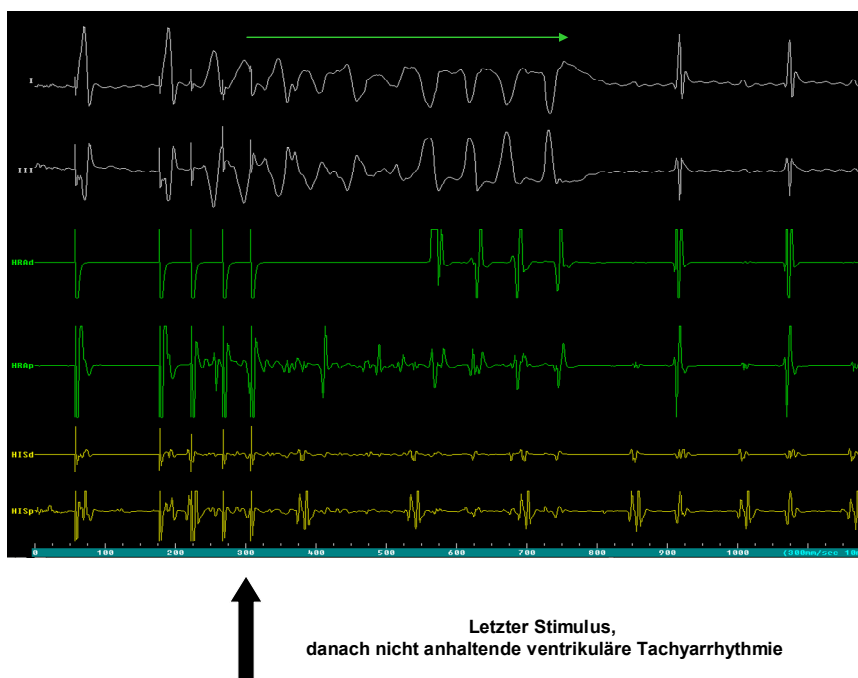
Diese Abbildung zeigt paarweise auftretende Extrasystolen unter einer erhöhten Herzfrequenz (zu sehen an den kurzen RR-Intervallen) aufgrund einer programmierten elektrischen Stimulation unter Catecholaminstress. Hierbei handelt es sich um ein monomorphes ventrikuläres Couplet. Mehrere Extrasystolen aus einem Erregungszentrum (monotop) erscheinen im EKG gleichartig (monomorph).

*Ausgewählte Beispiele elektrophysiologischer Veränderungen*



**Abb. 37: Ausgelöstes nichtanhaltendes Vorhofflimmern im unbehandelten dTGR-Modell.**

Diese Abbildung zeigt ein durch die Kammerstimulation ausgelöstes nichtanhaltendes Vorhofflimmern, welches sich zu Vorhofflattern mit folgenden Sinusrhythmus organisiert.



**Abb. 38: Nicht anhaltende ventrikuläre Tachyarrhythmie.**

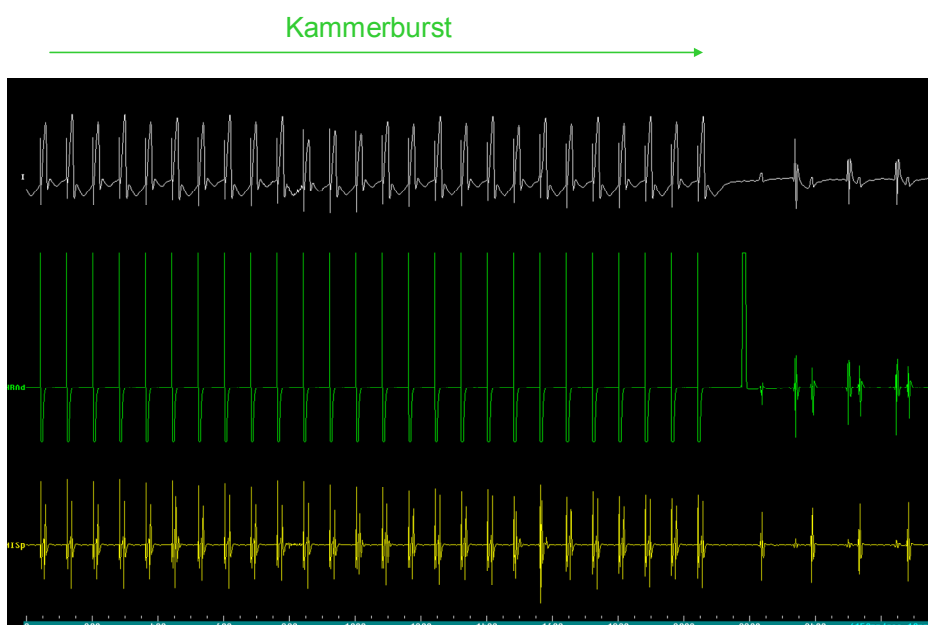
Diese Abbildung zeigt eine nach dem letzten Stimulus folgende nicht anhaltende ventrikuläre Tachyarrhythmie. Ab 4 VES hintereinander spricht man von ventrikulärer Tachykardie. Umso schneller die Frequenz ist, desto gefährlicher sind VES. Gleiches gilt für das Auftreten von Couplets oder Triplets. Aufgrund ihres unterschiedlichen Aussehens handelt sich hierbei um polymorphe VES, da sie verschiedenen Ursprungs sind. Diese ventrikuläre Tachyarrhythmie geht nach einer spontanen Konversion nach Beginn in den Sinusrhythmus übergeht.

*Ausgewählte Beispiele elektrophysiologischer Veränderungen*



**Abb. 39: Anhaltende ventrikuläre Tachyarrhythmie im unbehandelten dTGR-Modell.**

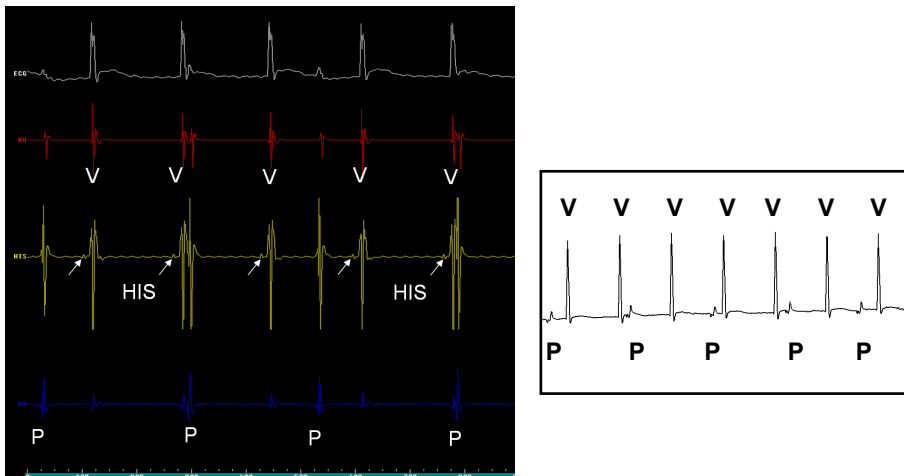
Diese Abbildung zeigt eine anhaltende ventrikuläre Tachyarrhythmie von monomorphem Charakter. Ausgelöst im Kammerstimulationsprotokoll nach einem zweiten ventrikulären Extrastimulus im unbehandelten dTGR-Modell.



**Abb. 40: Sinusrhythmus nach einem Overdrive-Pacing (Burst) bei einem SD-Kontrolltier.**

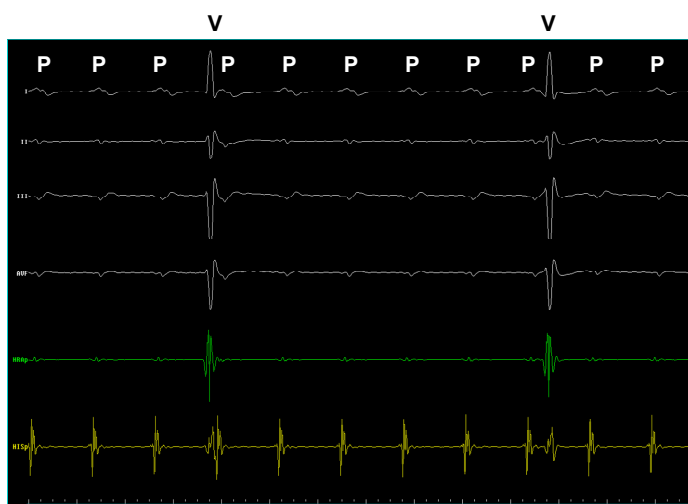
Die Abbildung zeigt einen stabilen Sinusrhythmus nach einem Overdrive-Pacing (Burst) in der Kammer bei einem SD-Kontrolltier. Das SD-Kontrolltier ist also bei diesem festfrequenten Kammerburst nicht auslösbar gewesen.

*Ausgewählte Beispiele elektrophysiologischer Veränderungen*



**Abb. 41: AV-Block III.Grades im unbehandelten dTGR-Modell.**

Diese Abbildung zeigt die Induktion eines AV-Block III.Grades im unbehandelten dTGR-Modell. Die Erregungsleitung zwischen Vorhof und Kammer ist vollständig ausgefallen. Es resultiert eine vollständige Dissoziation zwischen P-Wellen und QRS-Komplexen. In diesem Fall zeigt sich ein junctionaler Ersatzrhythmus, d.h. von der AV-Klappenebene ausgehend, charakterisiert durch das His-Signal und die schmalen Kammerkomplexe. Zu sehen ist der asynchrone Rhythmus zwischen Kammer und Vorhof an den unterschiedlichen P- und Q-Intervallen. Der Vorhof als auch die Kammer haben ihren eigenen regelmäßigen Rhythmus. Auch ist die Asynchronie daran zu erkennen, dass nicht jedem QRS-Komplex eine P-Welle voran geht.



**Abb. 42: Fortgeschrittener AV-Block III.Grades im unbehandelten dTGR-Modell.**

Diese Abbildung zeigt einen fortgeschrittenen AV-Block III. Grades nach dessen Induktion im Kammerstimulationsprotokoll bei einer unbehandelten dTGR. Im EKG sind P und QRS-Komplex ohne Zusammenhang. Das EKG zeigt nur noch wenige QRS-Komplexe. Die Kammer steht kurz vor der Asystolie.

## 5 Diskussion

Störungen der Erregungsbildung und der Erregungsleitung spielen unabhängig von einer zugrundeliegenden Herzerkrankung eine große Rolle in der klinischen Kardiologie. Einzelne ventrikuläre Extrasystolen kommen zwar auch bei Herzgesunden vor (Inzidenz 50-100 %), mehr als 10 Extrasystolen/Std. und gekoppelte Extrasystolen (Couplets) sind jedoch nur in 10-20 % der Fälle bei einem gesunden Probandenkollektiv zu finden.

In der Humanmedizin hat sich Ende der 70er/Anfang der 80er Jahre mit der Einführung der programmierten Vorhof- und Ventrikelstimulation der Schwerpunkt der kardiologischen Elektrophysiologie in Richtung Diagnostik tachykarder Rhythmusstörungen verlagert, da diese zu über 75 % Ursache für den plötzlichen Herztod sind. Typischerweise geht ein primär entstandenes oder sekundär generiertes Kammerflimmern in eine Asystolie über und führt so zum Tod des Patienten.

Die Pathogenese tachykarder Arrhythmien ist – zumindest bei koronarer Herzerkrankung - weitestgehend aufgeklärt. Die Veränderungen der Herzkranzgefäße führen zur plötzlichen oder chronischen Unterversorgung (Ischämie) der versorgten Myokardareale und der ischämische Herzmuskel weist deutliche Veränderungen in seinen elektrophysiologischen Eigenschaften gegenüber den normal versorgten Herzabschnitten auf. Veränderungen in der Funktion von Ionenkanälen bewirken eine Verkürzung der Aktionspotentialdauer der Herzmuskelzellen. Die resultierende Verkürzung der Refraktärzeit ermöglicht die schnellere Wiedererregbarkeit des Gewebes. Die Leitungsgeschwindigkeit sinkt im ischämischen Bereich gleichzeitig ab, was durch eine Abnahme der elektrischen Kopplung über gap junctions bedingt ist. Dies fördert die Entstehung von Reentry-Arrhythmien (Hill et al., 2003; Nattel et al., 2004). Ein Ischämie-bedingter Anstieg der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration kann über Spontandepolarisationen zu ventrikulären Arrhythmien führen. Die dadurch resultierende erhöhte Inhomogenität der elektrischen Eigenschaften (elektrisches Remodeling) im Herzmuskel ist die Ursache für die Entstehung lebensbedrohlicher Herzrhythmusstörungen (Ai et al., 2005; Tomaselli und Zipes, 2004). Fibrosierung, Entzündung und elektrische Umbauprozesse spielen eine sehr wichtige Rolle in der Entstehung von kardialen Arrhythmien (Verheule et al., 2004; Tomaselli und Zipes, 2004).

Tachyarrhythmien machen den größeren Teil der rhythmogenen Todesursachen aus, ihnen kommt daher auch in der Elektrophysiologie eine herausragende Bedeutung zu. Reentry-Tachykardien sind die häufigste Ursache aus dieser Gruppe. Das Erkennen des Reentry-Mechanismus als Hauptursache von Tachyarrhythmien und deren problemlose Diagnostik

und Therapie durch eine invasive elektrophysiologische Testung hat zu einer weiten Verbreitung der elektrophysiologischen Untersuchung (EPU) beigetragen. Angeborene Reentry-Tachykardien beziehen häufig eine akzessorische Leitungsbahn in den Kreis mit ein, in der Regel handelt es sich hierbei jedoch um supraventrikuläre Tachykardien mit geringer Mortalität. Erworbene Kreiserregungen hingegen spielen sich häufig auf ventrikulärer Ebene ab und entstehen durch den Erwerb elektrisch inaktiven Gewebes (Fibrose, Narbe, etc.) im Rahmen einer Herzerkrankung (Herzinfarkt, Kardiomyopathie, Myokarditis). Reentry-Tachykardien lassen sich per EPU gut provozieren und stellen daher ein ideales Substrat für eine elektrophysiologische Testung dar. Die EPU kann darum in der Evaluation elektrophysiologischer Eigenschaften des Herzens und zahlreicher Herzrhythmusstörungen sowohl bradykarder als auch tachykarder sehr hilfreich sein.

### **5.1 Versuchsteil 1**

Das zentrale Ergebnis in diesem Versuchsteil ist die gelungene Übertragung der humanen EPU auf die Versuchstiere Maus und Ratte. Diese Tierarten stehen als Repräsentanten für die tierexperimentelle Forschung und werden in vorklinischen Studien häufig als Beweisführer eingesetzt.

Zur Durchführung einer invasiven elektrophysiologischen Untersuchung ist ein entsprechendes Equipment erforderlich. Für die EPU im Tiermodell benötigt man ein externes programmierbares Stimulationsgerät mit einer EKG-Registriereinheit und einen Monitor zur simultanen Darstellung von mindestens 6 EKG-Ableitungen. Eine Mehrkanal-EKG-Registrierung ist für mindestens 4 intrakardiale EKG-Ableitungen bei gleichzeitiger Aufzeichnung von mindestens 3 Oberflächen-EKG-Ableitungen erforderlich. Mit Hilfe von Impulsen kann der externe Stimulator Herzrhythmusstörungen auslösen, die in einem Oberflächen-EKG bzw. in einem intrakardialen EKG aufgezeichnet werden.

Für eine möglichst störfreie Ableitung und Aufzeichnung sollte der Ort für die Registriereinheit so gewählt werden, dass sich möglichst wenige andere Stromträger in der näheren Umgebung befinden, da deren elektrische Felder sich störend auf die Qualität der Aufzeichnung auswirken. Im vorliegenden Versuchsaufbau fanden die Untersuchungen in einem abgelegenen, wenig frequentierten Labor im Bereich der Elektrophysiologie statt.

Das EKG ist eine nicht invasive Methode, Herzrhythmusstörungen (HRSt) zu diagnostizieren. Dies gelingt jedoch oft nicht, da ein Großteil der HRSt nur intermittierend auftritt und man sie zum Zeitpunkt der EKG-Aufzeichnung nicht erfassen kann. Kann die nicht invasive Diagnostik keine Klärung bringen, ist eine EPU indiziert. Sie ist eine invasive Methode zur

Klassifizierung von HRSt und kann somit eine gesicherte Diagnose und eine entsprechend effektive Therapie gewährleisten. Über einen transvenös eingeführten Elektrokatheter kann beispielsweise eine Tachykardie gezielt ausgelöst und analysiert werden. Dabei sind Ursprungsort und Ausbreitungsweg der Rhythmusstörung bzw. der Reiz- und Erregungsleitungsstörung sowie deren therapeutische Beeinflussbarkeit über Medikamente oder Katheterablation von Interesse (Schneider, 2005). Elektrokatheter zur Stimulation und gleichzeitigen intrakardialen Ableitung werden in der Humanmedizin zumeist über die Vena femoralis, seltener über die V. jugularis, V. subclavia oder V. basilica platziert. Für die Standarddiagnostik erfolgt die Positionierung des Elektrokatheters im rechten oberen Vorhof und darüber hinaus eventuell zusätzlich im Bereich des Koronarsinus. In der hier etablierten und an die Versuchstiere Maus und Ratte adaptierten EPU erfolgten die Zugänge über die rechte V. jugularis und rechte A. carotis. Die Katheter wurden im rechten Vorhof und in der rechten (Maus) bzw. linken Kammer (Ratte) positioniert.

Üblicherweise wird bei der EPU ein Stimulationsprotokoll angewendet, bei dem nicht die Frequenzen, sondern die Zykluslängen, d.h. die Intervalle zwischen zwei Aktionen angegeben werden. Aus dem elektrophysiologischen Befund kann dann entnommen werden, an welcher Stelle des Stimulationsprotokolls eine Arrhythmie aufgetreten ist bzw. bei welchem Stimulationsschritt z.B. Tachykardien induziert wurden. Die Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Arrhythmien ist wichtig für die Aussagekraft und gehört zur vorgeschriebenen Beweisführung im Protokoll.

Da es in der arrhythmogenen Forschung immer noch einen sehr hohen Bedarf an Aufklärung von Pathomechanismen gibt und die EPU wichtige Grundlage für eine adäquate Therapiefindung ist, stellt die Etablierung dieser Untersuchung im Versuchstierbereich einen großen Fortschritt dar (Wellens, Brugada und Stevenson, 1986; Hummel et al., 1994).

In diesem Zusammenhang spielen insbesondere die kleinen Labornager Maus und Ratte eine zentrale Rolle, da sie die Tierversuchsliste zahlenmäßig mit großem Abstand anführen. Darüber hinaus können bei der Maus – und inzwischen auch bei der Ratte – gezielt körpereigene Gene ausgeschaltet werden (knockout) oder bestimmte Gene eingeführt/überexprimiert werden (transgene Tiere). Knockout-Tiere und transgene Tiere werden produziert, um Kenntnisse über die Funktionsweise einzelner Gene zu bekommen oder um gezielt Krankheitsmodelle zu erzeugen. Um die Frage zu klären „Was macht krank und was erhält gesund?“ werden in Laborstudien potentiell proarrhythmisch oder antiarrhythmisch wirkende Substanzen in derartig genveränderten Organismen angewandt. Damit können

gezielt Pathomechanismen in der Entstehung von Herzrhythmusstörungen, aber auch von anderen Erkrankungen am Herz-Kreislaufsystem, erforscht bzw. entdeckt werden. Die EPU ist ideal zur Detektion auftretender bzw. nach Therapie und/oder Genmanipulation nicht mehr auftretender Arrhythmien und somit enorm wertvoll für die Ursachenforschung.

Die Prüfung von Medikamenten auf ihre Wirkung und Nebenwirkung erfolgt nach der Zell- und Gewebekultur ebenfalls am Tiermodell. Der potentielle neue Wirkstoff wird dann am geeigneten Versuchstier mit einer künstlich erzeugten Herzkreislaferkrankung getestet. Es gilt die Wirksamkeit der Substanz in verschiedenen Dosierungen und deren Verstoffwechslung im Organismus zu überprüfen. Mittels EPU kann auch die direkte Wirkung einer Substanz auf das Herz bzw. ihre anti- oder proarrhythmische Potenz geprüft werden, indem sie über das Kathetersystem injiziert wird.

Wider Erwarten wurden bei der Etablierung der EPU in Maus und Ratte kaum Komplikationen beobachtet. Zu befürchten waren in erster Linie Blutungen, Thrombosen oder Embolien. Bei der humanen EPU treten auch noch Phlebitiden und Infektionen der punktierten Region auf, was beim Tier jedoch nur in Überlebensstudien beobachtet hätte werden können. Perforationen von Gefäßen oder Herzmuskelgewebe mit Perikardtamponade oder die Verletzung des Plexus brachialis kommen bei der humanen EPU selten vor (bei 0 - 0,5 %) (Gonska, 1999; Schmieder, 2003). Insgesamt werden die Komplikationsraten bei der humanen EPU mit unter 2 % angegeben (Gonska, 1999; Fogoros, 1999).

In einem derart kleinen Tiermodell können Komplikationen jedoch schon zu Beginn der EPU bei der Präparation der Gefäße auftreten. Auch die Positionierung des Katheters im Gefäß ist aufgrund der filigranen und fragilen anatomischen Beschaffenheit von erhöhter Schwierigkeit. Es kann zur Perforation, zu Blutungen und zu Gefäßrissen an der Punktionsstelle kommen. Die Beschaffenheit und die Position des Herzen im Brustkorb und seine hohe Frequenz erschweren den Zugang und die korrekte Positionierung des Katheters. Um Perforationen der Herzwand und Blutungen am Herzen zu verhindern, sind eine ruhige und geduldige Hand, Zeit und Erfahrung von großer Bedeutung. Für eine richtige Positionierung des Katheters im Herzen (und nicht versehentlich außerhalb), muss eine ständige Überwachung der Kathetersignale stattfinden, nicht nur während der Positionierung sondern auch während der gesamten Stimulation, da sich der Katheter häufig aufgrund der hohen Herzfrequenz verschiebt, trotz Fixation. Eine korrekte Platzierung des Katheters ist jedoch Voraussetzung für eine optimale Stimulation.



---

Vorbelastete Tiere mit pathologischen Veränderungen am Herz-Kreislaufsystem (wie beispielsweise im Versuchsteil 2), sind erschwert zu katheterisieren, da sie sehr empfindlich auf Eingriffe reagieren. Es kann zu Komplikationen wie Atemstillstand oder Herz-Kreislauf-Versagen kommen. Eine vollständige Durchführung des Untersuchungsprotokolls kann dadurch erschwert bzw. unmöglich gemacht werden.

In der Humanmedizin wird die EPU normalerweise an wachen Patienten und nur mit einer örtlichen Betäubung an der Punktionsstelle durchgeführt. Der notwendige Einsatz von Anästhetika im Tiermodell kann allerdings die normale Herzaktivität, besonders die Herzfrequenz, beeinflussen.

Die Wahl des Anästhetikums an sich kann schon Einfluss auf die zu gewinnenden Ergebnisse nehmen (Chaves et al., 2003). Die Anästhesie mit einer Ketamin-Xylazin-Kombination wirkt beispielsweise kardiodepressiv, die Herzfrequenz sinkt deutlich (Roth et al., 2002). Daher wurde in der vorliegenden Arbeit das Inhalationsnarkotikum Isofluran verwendet. Mit Isofluran wird ein rasches An- und Abfluten durch eine niedrige Blutlöslichkeit gewährleistet (Larsen, 1999a; Conzen und Hobbhahn, 1996). Weitere Vorteile einer Isoflurannarkose sind die relativ stressarme Narkoseeinleitung und die geringe Stoffwechselbelastung aufgrund der niedrigen Metabolisierungsrate.

Da Isofluran den peripheren Gefäßwiderstand herabsetzt, kommt es stets zu einem dosisabhängigen Blutdruckabfall (Eger, 1981, Heavner, 1994, Brunson, 1997), der jedoch während eines chirurgischen Eingriffs wieder auf den Ausgangswert steigt (Homi, et al. 1972). Dieser Blutdruckabfall ist auf eine reduzierte Ansprechbarkeit der Gefäßmuskulatur auf sympathische Impulse zurückzuführen (Stevens et al., 1971).

Während es initial zu einem Anstieg der Herzfrequenz kommt, sinkt diese in tieferen Narkosestadien unter den Ausgangswert ab (Steffey und Howland, 1977; Hobbhahn et al., 1985). Als Erklärung nennen ERHARDT et al. (1994) eine vagale Reizung durch das Narkosegas. Der Herzrhythmus wird allerdings nicht beeinflusst, da Isofluran im Gegensatz zu Halothan das Herz weder für exogene Katecholamine noch für andere Vasopressoren sensibilisiert (Eger, 1981; Fee und Thompson, 1997). Isofluran wirkt zwar auf das Myokard negativ inotrop, allerdings ist die myokardiale Depression im Vergleich zu Halothan relativ gering (Eger, 1981; Brunson, 1997; Vivien et al., 1997), und das Herzzeitvolumen sinkt trotz des verringerten Schlagvolumens nicht (Stevens et al., 1971, Larsen, 1999b). Als Begründung nennen STEVENS et al. (1971) eine Kompensation durch eine erhöhte Herzfrequenz. Diese – schon im Ruhezustand sehr viel höhere Frequenz im Vergleich zum Menschen – hat jedoch

keinen Einfluss auf die Durchführung der EPU und beeinflusst sie auch nicht in der Qualität der Ergebnisse bzw. deren Auswertung. Alle elektrophysiologischen Parameter konnten sicher ermittelt und verglichen werden.

Aus den EPU Ergebnissen im Tiermodell lassen sich jedoch nur ungefähre Rückschlüsse auf die Effekte eines Medikaments beim Menschen ziehen. Mit der EPU kann nur eine Wahrscheinlichkeitsaussage zur Effizienz einer medikamentösen Therapie gemacht werden, jedoch gibt sie keine therapeutische Sicherheit. Antiarrhythmika wurden lange Zeit als Suppressoren eines iritablen myokardialen Bezirkes missverstanden. Erst seit Anfang der neunziger Jahre (nach den berühmten CAST-I- und -II-Studien sowie der SWORD-Studie) versteht man die Wirkung der Antiarrhythmika nicht als Suppressoren sondern als Einflussgrößen auf die Form und Dauer des kardialen Aktionspotentials. Auf diese Art und Weise beeinflussen sie (positiv wie negativ) die Leitungsgeschwindigkeit und Refraktärzeit des Myokards. Dabei gilt es zu bedenken, dass sowohl antiarrhythmische als auch proarrhythmische Wirkungen auf dem gleichen Mechanismus beruhen.

Die Prüfung von Medikamenten bezüglich ihrer pharmazeutischen Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit kann durch die EPU getestet und belegt werden. Das trifft auch für bereits zugelassene Wirkstoffe zu, deren Anwendungsgebiet erweitert werden soll. Ihre Wirksamkeit in der neuen Indikation kann ebenfalls mit der EPU überprüft und bewiesen werden. Auch kann die EPU eine Anwendung in so genannten Therapieoptimierungsstudien finden, in denen schon wirksame Medikamente in einer neuen Kombination getestet werden.

Im Versuchsteil 2 erfolgte die Testung und der Nachweis der kardioprotektiven Wirkung von Omega-3-Fettsäuren ( $\Omega$ 3-PUFA) mit Hilfe der EPU. Durch sie konnte belegt werden, dass die mehrfach ungesättigten Fettsäuren Eicosapentaen- und Docosahexaensäure einen antiarrhythmischen Effekt auf das hypertrophe Rattenherz besitzen.

Die Wirksamkeit, Toxizität und die sich daraus ergebenden Nebenwirkungen beim Tier sind noch relativ gut auf den Menschen übertragbar. Wie sich ein Stoff aber im menschlichen Körper verhalten wird, ist aus Tierversuchen nur eingeschränkt abzuschätzen. Verteilung, Verstoffwechslung und Ausscheidung eines Wirkstoffes unterscheiden sich schon innerhalb einer Tierart erheblich, erst recht zwischen Tier und Mensch. Trotzdem erfolgt vorerst die Testung im Tiermodell, um die Wirkung einer potentiellen Substanz im menschlichen Organismus zu simulieren.

Zur Therapie von Herzrhythmusstörungen stehen grundsätzlich antiarrhythmisch wirksame Medikamente, die "elektrische Therapie" (antibradykarder Herzschrittmacher zur Behandlung

langsamer und implantierbarer Defibrillator zur Behandlung lebensbedrohlicher tachykarder Herzrhythmusstörungen), Katheterablationsverfahren mit Hochfrequenzenergie sowie - bei ausgewählten Patienten - die Rhythmuschirurgie zur Verfügung. Da die medikamentöse Langzeittherapie von Herzrhythmusstörungen nicht selten mit Nebenwirkungen (einschließlich der proarrhythmischen Wirkung) und Unverträglichkeiten behaftet ist, tritt heute die ablativ Therapie mit Hochfrequenzstrom immer mehr in den Vordergrund (Grimm, W. et al., 1999). Diese erfolgt im Rahmen einer elektrophysiologischen Untersuchung, wobei insbesondere bei Vorhof-, AV-Knoten-Reentry-Tachykardien sowie beim WPW-Syndrom mit hoher Erfolgsquote eine "endgültige Heilung" mittels Katheterablation erzielt werden kann.

Allerdings bleibt die Akuttherapie einer neu aufgetretenen symptomatischen Tachykardie weiterhin die Domäne der medikamentösen antiarrhythmischen Therapie, wodurch in aller Regel der Tachykardiemechanismus unterbrochen werden kann.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die humane EPU in leicht modifizierter Form auf Maus und Ratte übertragbar ist. Es wurde der Nachweis erbracht, dass eine sichere Anwendung der humanen EPU, quantitativ als auch qualitativ, am Versuchstier Maus und Ratte möglich ist. Somit kann das Reizbildungs- und Reizleitungssystem nun auch unter Einfluss bzw. fehlendem Einfluss bestimmter Zellen, Gene oder Substanzen untersucht werden und dabei der Klärung pathophysiologischer Entstehungsmechanismen klinischer Herzrhythmusstörungen, anhaltender Kammertachykardien und verschiedener Herzkreislaufkrankungen am Herzinfarktmodell dienen sowie bei der Aufklärung von Wirkmechanismen neuer Antiarrhythmika und Überprüfung von deren Wirksamkeit hilfreich sein (Fischer et al., 2008; Kvakan, 2009; Lisewski, Shi et al., 2008).

## **5.2 Versuchsteil 2**

Ziel dieses Versuchsteils war die Anwendung im Versuchsteil 1 etablierten intrakardialen EPU am hypertrophen doppelt transgenen Rattenherz (dTGR) mit dem Zweck, die Arrhythmieanfälligkeit unbehandelter dTGR sicher darzustellen und eventuelle positive Effekte und kardioprotektive Einflüsse von Omega-3-Fettsäuren ( $\Omega$ 3-PUFA) und Aliskiren zu zeigen. Mit Hilfe der EPU konnte in vivo gezeigt werden, dass  $\Omega$ 3-PUFA und Aliskiren die Induzierbarkeit von Herzrhythmusstörungen deutlich senken.

Die hypertensive kardiale Hypertrophie stellt im Gegensatz zur physiologischen kardialen Hypertrophie einen wichtigen Risikofaktor für die Entstehung von ventrikulären Arrhythmien und Herzinsuffizienz dar (Diamond und Phillips, 2005; Drazner et al., 2004; Ghali et al., 1991). Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) wiederum nimmt in der Pathogenese dieser hypertensiven Hypertrophie eine Schlüsselrolle ein, denn durch seine Beteiligung an der Steigerung des peripheren Gefäßwiderstands kommt ihm beim kardialen „Remodeling“ eine wichtige pathogenetische Bedeutung zu (Alderman et al., 1991; Alderman et al., 1997; Brunner et al., 1972). Neben klinischen Daten gibt es auch tierexperimentelle Hinweise auf die Bedeutung des RAAS als Determinante des kardiovaskulären Risikos.

Ein ideales Tiermodell würde die menschliche Erkrankung nachahmen, Untersuchungen in einem stabilem Zustand der Erkrankung erlauben, genau vorhersagbare und messbare Symptome erzeugen, sowie ethische, technische und ökonomische Belange berücksichtigen (Elsner und Riegger, 1991; Doggrell und Brown, 1998). Ein Tiermodell, das alle diese Anforderungen in sich vereint, existiert jedoch bei der komplexen Entstehung von Herz-Kreislaufkrankungen naturgemäß nicht. Allerdings konnten einzelne wichtige pathophysiologische Veränderungen, die im Rahmen von Herz-Kreislauf-Erkrankungen beim Menschen auftreten, wie arterieller Bluthochdruck, Herzhypertrophie und chronische Herzinsuffizienz, erfolgreich in tierexperimentellen Modellen nachgeahmt werden. Transgene Ratten sind als Modelle in der kardiovaskulären Grundlagenforschung mittlerweile gut etabliert, insbesondere zur Untersuchung komplexer Regulationssysteme in-vivo, wobei regulative Systeme und gegenregulative Mechanismen betrachtet werden können. Die Renin-Angiotensinogen doppeltransgene Ratte ist charakterisiert durch die Entwicklung einer fulminanten Hypertonie mit Blutdruckwerten von bis zu 300 mmHg und entwickelt früh einen kardialen Endorganschaden, verbunden mit Hypertrophie, Entzündung und Fibrosierung (Hill, 2003; John et al., 2004). dTGR-Tiere zeigen eine ausgeprägte kardiovaskuläre Hypertrophie mit Zeichen von Remodeling und entwickeln sowohl funktionelle als auch biochemische Zeichen einer Herzinsuffizienz mit anschließend hoher Mortalität ab der 7. Lebenswoche (Mervaala et al., 2000; Bohlender et al., 1997). Dieser in der Fachliteratur als myokardiales Remodeling bezeichneter Prozess ist die Folge einer erhöhten mechanischen Belastung, wodurch es durch den Einfluss von zirkulierenden und myokardialen Neurohormonen zu Veränderungen in der myokardialen Architektur kommt. Das Remodeling zieht hauptsächlich zwei Konsequenzen auf zellulärer Ebene nach sich: Zum einen werden Hypertrophie, Dysfunktion, und Zelltod der Kardiomyozyten beobachtet und zum anderen wird eine verstärkte Einlagerung und Veränderung der kardialen extrazellulären Matrix

(ECM) festgestellt. Die letztere wird auch als myokardiale Fibrose bezeichnet. Das pathologische Myokardremodeling schließt die Zunahme der Myokardmasse ein, verbunden mit Hypertrophie der Einzelmyozyten und Änderungen in Qualität und Quantität der zellulären Matrix sowie eine Apoptoseinduktion. Im Zuge einer schwachen Auswurfsleistung kommt es schrittweise zu einer Zunahme der Herzfrequenz, zur gesteigerten Kontraktilität, Vorlaststeigerung und Zunahme der Zahl kontraktile Elemente (Herder, 1994; Klabunde, 2004; Nattel et al., 2004).

Die hohe Mortalität ist auf die Entwicklung ventrikulärer Tachyarrhythmien und den dadurch induzierten plötzlichen Herztod zurückzuführen (Fischer et al., 2008). Unter elektrischem Remodeling versteht man strukturelle Umbauprozesse am Herzen, die atriale oder ventrikuläre Herzrhythmusstörungen zur Folge haben können (Nattel et al., 2004).

Omega-3-Fettsäuren wie Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure senken Blutfette und Blutdruck und haben somit einen positiven Effekt auf das Herz-Kreislaufsystem. Eine gesundheitsfördernde Wirkung ist durch wissenschaftliche Arbeiten belegt worden und daher ist an einer positiven Wirkung von Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure kaum mehr zu zweifeln (C von Schacky, 2007). Inwieweit die Nahrungszusammensetzung, insbesondere der Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, Einfluss auf die kardiovaskuläre Mortalität hat, wird seit den frühen 50er Jahren untersucht. Erste Beobachtungen des positiven Effektes gehen auf epidemiologische Studien von Kromann und Green (Kromann und Green, 1980) zurück. Ergebnisse der Blutspiegeluntersuchungen von Omega-3-Fettsäuren an Probanden der Physicians Health Study (PHS) (Greenberg und Sporn, 1996) zeigten eine inverse Korrelation zwischen Omega-3-Fettsäure-Spiegel und Inzidenz des plötzlichen Herztods (Albert, 2002). Es folgten weitere Studien zur Differenzierung der Wirkmechanismen im Hinblick auf antiatherogene und antiarrhythmogene Effekte. Einen wichtigen Beitrag in der Untersuchung von Herzrhythmusstörungen hinsichtlich der Einnahme von mehrfach oder einfach ungesättigten Fettsäuren leisteten auch eine Reihe von anderen Studien an Tiermodellen (McLennan, 1993; Billman und Kang, 1999; Kang, 1996) und am Menschen (Sellmayer, 1995; Schrempf et al., 2003).

Um zu überprüfen, ob die Behandlung mit  $\Omega$ 3-PUFA auf die kardiale Hypertrophie eine kardioprotektive Bedeutung bezüglich der Auslösbarkeit von Arrhythmien hat, wurde die EPU unter den im Versuchteil 1 beschriebenen Bedingungen am unbehandelten und mit  $\Omega$ 3-PUFA oder Aliskiren behandelten dTGR-Tiermodell durchgeführt bzw. zum Vergleich an

gleichaltrigen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Die Untersuchung lieferte einerseits den Beweis für die kardioprotektive Wirkung von  $\Omega$ 3-PUFA und ihr Potential zur Behandlung von Arrhythmien am dTGR-Tiermodell (Fischer et al., 2008) und gleichzeitig wurde die Möglichkeit einer sicheren und sauberen Anwendung der EPU am Tiermodell Ratte demonstriert und als beweisführende Methode in der kardiovaskulären Forschung eingeführt.

Für jedes Versuchstier wurde ein arrhythmisches Profil erstellt, indem Anzahl der aufgetretenen oder induzierbaren Arrhythmien sowie Art und Stärke protokolliert wurden. Das Ausmaß des Endorganschadens wurde darüber hinaus auch noch durch die Parameter systolischer Blutdruck, kardiale Hypertrophie, Fibrose, Entzündung und Linksherzfunktion charakterisiert, war aber nicht Gegenstand dieser Arbeit, weshalb Methoden und Ergebnisse nicht ausgeführt sind. Fokus der vorliegenden Arbeit und des Versuchsteils 2 war die Untersuchung des kardialen Endorganschadens im Hinblick auf das elektrische Remodeling.

Unbehandelte doppelt transgene Ratten für Renin und Angiotensinogen entwickelten eine schwere Hypertonie mit konsekutiver Herzhypertrophie, Myokardfibrose und kleine Myokardinfarkte sowie ventrikuläre Tachyarrhythmien. Der daraus resultierende plötzliche Herztod führte zu einer Sterblichkeit von 31 % ab der 7. Lebenswoche (5/16) (Struthers und MacDonald, 2004), wohingegen die Sterblichkeit bei den Tieren mit Omega-3 Diät oder mit Aliskiren bei Null lag. Daraus konnte zum Einen geschlussfolgert werden, dass  $\Omega$ 3-PUFA eine ebenso positive Wirkung auf die kardial bedingte Mortalität haben, wie der direkte Renin-Hemmer, wenngleich bekannt ist, dass auch dieser eine Herzhypertrophie im dTGR-Modell nicht vollständig zu verhindern vermag (Pilz et al., 2005).

Zum Anderen konnte aus der Tatsache, dass alle drei dTGR-Gruppen (also unbehandelte Tiere und behandelte) eine kardiale Hypertrophie ausgebildet hatten, diese jedoch nur im ersteren Fall mit einer hohen Sterblichkeit verbunden war, auch geschlussfolgert werden, dass die kardiale Hypertrophie – zumindest nicht alleine - Ursache des plötzlichen Herztods sein kann und Unterschiede im Herzrhythmus, der Reizbildung oder –leitung ebenfalls beteiligt sein müssen.

Im EKG zeigte sich bei den unbehandelten dTGRs ein verlängerter QRS- und QTc-Interval und eine verbreiterte T-Welle. Diese elektrokardiographischen Veränderungen waren weder bei der  $\Omega$ 3-PUFA noch bei der dTGR+Aliskiren-Gruppe zu beobachten. Dieses Ergebnis lieferte den fehlenden Beweis, dass elektrische Umbauprozesse am Herzen ursächlich am plötzlichen Herztod beteiligt waren.

Die im Finalversuch durchgeführte elektrophysiologische Untersuchung (EPU) zeigte eine stark reduzierte Auslösbarkeit von Arrhythmien (nur bei 17 %) in beiden behandelten Gruppen gegenüber einer bei 75 % liegenden Auslösbarkeit in der unbehandelten dTGR Gruppe. In der Kontrollgruppe lag die Auslösbarkeit von Arrhythmien erwartungsgemäß bei 0 %. Mit der EPU wurde jedoch nicht nur eine unterschiedliche Arrhythmie-Auslösbarkeit nachgewiesen, sondern auch deren Unterschiedlichkeit in Form und Anzahl. Mit Hilfe der EPU konnte dargestellt werden, dass in der unbehandelten dTGR-Gruppe eine hohe Anzahl von malignen Arrhythmien wie ventrikuläre Tachykardien und Kammerflimmern auslösbar waren, wohingegen weder bei  $\Omega$ 3-PUFA noch bei der dTGR+Aliskiren-Gruppe maligne Arrhythmien induziert werden konnten. Außerdem war die Anzahl der auslösbaren Arrhythmien im Vergleich mit den unbehandelten dTGRs deutlich reduziert. Mittels programmierter elektrischer Stimulation konnte gezeigt werden, dass unbehandelte dTGR insbesondere für ventrikuläre Arrhythmien anfällig waren.

Die gemessene effektive Refraktärzeit der Kammer war mit  $54,5 \pm 1,9$  ms (in unbehandelten dTGR) gegenüber  $45,4 \pm 2$  ms (in SD-Kontrolltieren) stark verlängert. Und in den mit  $\Omega$ 3-PUFA bzw. Aliskiren behandelten Gruppen wiederum mit  $49 \pm 1,5$  bzw.  $49,3 \pm 1,6$  ms wieder stark verbessert. Eine Verlängerung der ventrikulären Refraktärzeit ist, sowie auch eine übermäßige Verkürzung der ventrikulären Refraktärzeit, für die gesteigerte Auslösbarkeit von kardialen Arrhythmien am strukturell veränderten Herzen verantwortlich (Extramiana und Antzelevitch, 2004.; Kashani und Barold, 2005). Der in der EPU festgestellte Anstieg der effektiven Refraktärzeit weist somit zusätzlich auf ein gesteigertes Arrhythmierisiko hin.

### **5.3 Schlussfolgerung**

Mit der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die humane EPU auf den Labortierbereich übertragbar ist und als Methode zur Evaluation elektrophysiologischer Eigenschaften des Herzens sowie brady- und tachykarder Herzrhythmusstörungen einsetzbar ist. Somit kann die EPU nun auch in der Herz-Kreislaufforschung mit kleinen Versuchstieren angewendet werden und daher hilfreich sein bei der Aufdeckung von Pathomechanismen am Herzen und bei der Wahl der adäquaten Therapie durch Untersuchung und Nachweis von anti- bzw. proarrhythmischen Effekten.

## **6 Zusammenfassung.**

### **Die Etablierung der humanen Elektrophysiologischen Untersuchung (EPU) an Ratte und Maus mit dem Nachweis einer sicheren Anwendung am dTGR-Modell.**

Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen die Haupttodesursache in den hoch entwickelten Industrienationen dar. Etwa 44 % aller Todesfälle in Deutschland sind auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen zurückzuführen. Wesentliche Ursache für die nach wie vor hohe Sterblichkeit ist der plötzliche Herztod, bedingt durch Herzrhythmusstörungen.

Die elektrophysiologische Untersuchung (EPU) kann in der Evaluation zahlreicher Herzrhythmusstörungen hilfreich sein. So können komplexe Herzrhythmusstörungen lokalisiert und ihr Entstehungsort oder der Verlauf der Erregung spezifisch analysiert werden. Auch die Form, Anzahl und Auslösbarkeit von Arrhythmien durch die programmierte elektrische Stimulation oder durch medikamentöse Provokation (z.B. durch Katecholamine) bildet eine wichtige Grundlage in der Erforschung von Herzkreislaufkrankungen. Die EPU dient ebenfalls der Risikoabschätzung maligner Arrhythmien bei Patienten mit angeborenen Herzfehlern. Dabei besteht das Prinzip jeder EPU aus zwei grundlegenden Techniken: 1. Signalaufnahme aus und 2. elektrische Stimulation in lokalisierten Arealen des Herzens. Es werden die jeweiligen Stationen der Stromleitung am Herzen, beispielsweise Sinusknoten, AV-Knoten und verschiedene Stellen in der Herzkammer getestet. Beim Auftreten der jeweiligen Herzrhythmusstörung werden Art und Mechanismus der Störung erfasst. Außerdem wird untersucht, wie sich die Herzrhythmusstörung unterbinden lässt.

Ziel der Etablierung der humanen EPU im Versuchstierbereich (Versuchsteil 1) war die Erforschung bestimmter Pathomechanismen durch Messung physiologischer Parameter des Reizbildungs- und Reizleitungssystems, um die EPU auch in der Herz-Kreislaufforschung mit kleinen Versuchstieren anwenden zu können, wo sie nicht nur zur Erforschung und Aufdeckung von Pathomechanismen am Herzen eingesetzt werden kann, sondern auch bei der Wahl der adäquaten Therapie durch Untersuchung und Nachweis von anti- bzw. proarrhythmischen Effekten hilfreich sein kann. Es konnte gezeigt werden, dass die humane EPU in leicht modifizierter Form auf Maus und Ratte übertragbar und eine sichere Anwendung möglich ist. Somit kann das Reizbildungs- und Reizleitungssystem nun auch unter Einfluss bzw. fehlendem Einfluss bestimmter Zellen, Gene oder Substanzen untersucht werden und dabei der Klärung pathophysiologischer Entstehungsmechanismen klinischer Herzrhythmusstörungen dienen sowie bei der Aufklärung von Wirkmechanismen neuer Antiarrhythmika und Überprüfung von deren Wirksamkeit hilfreich sein.



Ziel des zweiten Versuchsteil war die Anwendung der im Versuchsteil 1 etablierten intrakardialen EPU am hypertrophen, für Renin und Angiotensinogen doppelt transgenen Rattenherz (dTGR) mit dem Zweck, die Arrhythmieanfälligkeit eines hypertrophen Myokards sicher darzustellen und eventuelle positive Effekte des Renin-Inhibitors Aliskiren bzw. kardioprotektive Einflüsse der Omega-3-Fettsäuren ( $\Omega$ 3-polyunsaturated fatty acids;  $\Omega$ 3-PUFA) Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure zu zeigen. Mit Hilfe der EPU konnte in vivo gezeigt werden, dass  $\Omega$ 3-PUFA und Aliskiren die Induzierbarkeit von Herzrhythmusstörungen deutlich senken. In verschiedenen Versuchstiergruppen (Wildtyp Sparague Dawley als Kontrolle, unbehandelte dTGR, dTGR mit Aliskiren und dTGR mit  $\Omega$ 3-PUFA) wurden von jedem Tier die elektrophysiologischen Daten erhoben und die Induzierbarkeit von Arrhythmien getestet. Unbehandelte dTGRs entwickelten aufgrund einer Überexpression von Renin und Angiotensinogen in den ersten Lebenswochen eine Herzhypertrophie. Im Oberflächen-EKG zeigte sich bei diesen Tieren ein verlängerter QRS- und QTpeak-Intervall und eine verbreiterte T-Welle. Diese elektrokardiographischen Veränderungen waren weder bei der dTGR Gruppe mit  $\Omega$ 3-PUFA noch bei der dTGR Gruppe mit Aliskiren zu beobachten.

Die als Finalversuch durchgeführte EPU zeigte eine bei 17 % liegende und somit stark reduzierte Auslösbarkeit von Arrhythmien in beiden behandelten dTGR-Gruppen, gegenüber einer bei 75 % liegenden Auslösbarkeit in der unbehandelten dTGR-Gruppe. In der Kontrollgruppe lag die Auslösbarkeit von Arrhythmien bei 0 %. Auch unterschieden sich die Gruppen in Art und Anzahl der auszulösenden Arrhythmien. Die unbehandelte dTGR-Gruppe zeigte eine erhöhte Induzierbarkeit von malignen Arrhythmien wie ventrikuläre Tachykardien und Kammerflimmern, während in den mit  $\Omega$ 3-PUFA oder Aliskiren behandelten dTGR-Gruppen nur benigne Arrhythmien wie Vorhofflimmern und vereinzelt ventrikuläre Extrasystolen auslösbar waren. Es konnte somit mit Hilfe der humanen EPU der kardioprotektive Effekt von  $\Omega$ 3-PUFA hinsichtlich der Induzierbarkeit von Herzrhythmusstörungen aufgezeigt werden.

Mit der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die humane EPU auf den Labortierbereich übertragbar ist und als Methode zur Evaluation elektrophysiologischer Eigenschaften des Herzens sowie brady- und tachykarder Herzrhythmusstörungen einsetzbar ist.

## 7 Summary

### **The establishment of the human electrophysiological study to the mouse and rat with proof of concept study in the dTGR model.**

Cardiovascular disease is the most common cause of death in the high developed industrial states. About 44 % of all cases of death in Germany can be put down to cardiovascular disease. Crucial cause for the still high mortality is sudden death caused by cardiac arrhythmia.

The electrophysiological study can be useful in evaluating many cardiac arrhythmias. Complex cardiac arrhythmias can be localised and their origin and the progression of excitation can be analysed specifically. The type, number and inducibility of arrhythmias due to the programmed electrical stimulation or due to medical provocation (e.g. because of catecholamine) forms an important basis in the research of cardiac arrhythmias, too. The electrophysiological study also serves the risk evaluation of malignant arrhythmias of patients with congenital heart disease. The principle of every electrophysiological study is based on two fundamental techniques: 1. excitation admission from and 2. electrical stimulation in localised areas of the heart. The respective stages of conduction of the heart (e.g. sinus node, atrioventricular node and the various areas in the ventricle) are tested. At manifestation of a particular cardiac arrhythmia type and mechanism of the arrhythmia are collected. Additionally it is examined, how the cardiac arrhythmia can be stopped.

Aim of establishing the human electrophysiological study in the laboratory animal sector (part 1 of the experiment) has been the research of certain pathomechanisms by measuring physiological parameters of the conduction system of the heart to also apply the electrophysiological study in cardiac research with small laboratory animals where it can not only be used to investigate and discover pathomechanisms at the heart but can also be useful for choosing the adequate treatment after examining and detecting anti- or pro-arrhythmic effects. It has been shown that the human electrophysiological study in a mildly modified version can be applied to mouse and rat and a reliable application is possible. Therefore the conduction system of the heart can now also be examined under the influence or under the missing influence of certain cells, genes or substances, which can serve the clarification of pathophysiological mechanisms in the development of clinical cardiac arrhythmias as well as be useful in clarifying the mode of action of new anti-arrhythmia agents and in examining their effectiveness.

The aim of the second part of the experiment was the application of the intracardial electrophysiological study, as established in part 1 of the experiment, to the hypertrophic, for renin and angiotensin double transgenic heart of the rat (dTGR) with the purpose to describe the proneness of a hypertrophic myocardium to arrhythmia for certain and to show possible positive effects of the renin inhibitor aliskiren or cardioprotective influences of the omega-3 fatty acids ( $\Omega$ 3-polyunsaturated fatty acids;  $\Omega$ 3-PUFA) eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. With the help of the electrophysiological study it could be shown *in vivo* that  $\Omega$ 3-PUFA and aliskiren reduce the inducibility of cardiac arrhythmia significantly. In different groups of laboratory animals (wild type Sprague Dawley as control group, untreated dTGR, dTGR with aliskiren and dTGR with  $\Omega$ 3-PUFA) the electrophysiological data was collected and the inducibility of arrhythmias was tested for every animal. Untreated dTGRs develop a cardiac hypertrophy during their first weeks of life because of an overexpression of renin and angiotensin. Surface ECG of those animals showed a prolonged QRS- and QTpeak-interval and a widened T wave. These electrocardiographic changes were neither seen in the dTGR group with  $\Omega$ 3-PUFA nor in the dTGR group with aliskiren.

The electrophysiological study showed a greatly reduced inducibility of arrhythmias of 17 % in both treated dTGR groups compared to an inducibility of 75 % in the untreated dTGR group. In the control group the inducibility of arrhythmias was 0 %. The groups also showed differences in type and number of inducible arrhythmias. The untreated dTGR group showed an increased inducibility of malignant arrhythmias such as tachycardia and ventricular fibrillation, whereas in the dTGR groups treated with  $\Omega$ 3-PUFA or aliskiren only benign arrhythmias such as atrial fibrillation and occasionally ventricular extrasystoles could be induced. Thus, with the help of the human electrophysiological study the cardioprotective effect of  $\Omega$ 3-PUFA regarding the inducibility of cardiac arrhythmias could be demonstrated.

It could be shown that the human electrophysiological study can be applied to the laboratory animal sector and is applicable as method to evaluate electrophysiological characteristics of the heart as well as brady- and tachycardic arrhythmias.

## 8 Zitierte Literatur

AI, X., CURRAN, J.W., SHANNON, T.R., BERS, D.M. und POGWIZD, S.M. (2005):  
Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase modulates cardiac ryanodine receptor  
phosphorylation and sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> leak in heart failure.  
Circ Res 97: 1314–1322

ALBERT, C.M. (2002):  
Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death.  
N Engl J Med 46: 1113–8

ALDERMAN, M.H., MADHAVAN, S., OOI, W.L., COHEN, H., SEALEY, J.E. und  
LARAGH, J.H. (1991):  
Association of renin-sodium profile with the risk of myocardial infarction in patients with  
hypertension.  
N Engl J Med 324: 1098–104

ALDERMAN, M.J., OOI, W.L., COHEN, H., MADHAVAN, S., SEALEY, J.E. und  
LARAGH, J.H. (1997):  
Plasma renin activity, a risk factor for myocardial infarction in hypertensive patients.  
Am J Hypertens 10: 1–8

ALLESSIE, M., AUSMA, J. und SCHOTTEN, U. (2002):  
Electrical, contractile and structural remodeling during atrial fibrillation.  
Cardiovasc Res 54: 230-246

BACHE, R.J., DAI, X.Z., ALYONO, D., VROBEL, T.R. und HOMANS, D.C. (1987):  
Myocardial blood flow during exercise in dogs with left ventricular hypertrophy produced by  
aortic banding and perinephritic.  
Hypertension. Circ 76: 835-42

BENEDICT, C.R., SHELTON, B., JOHNSTONE, D.E., FRANCIS, G., GREENBERG, B.,  
KONSTAM, M., PROBSTFIELD, J.L. und YUSUF, S. (1996):  
Prognostic significance of plasma norepinephrine in patients with asymptomatic left  
ventricular dysfunction.  
Circulation 94: 690-7

BENNINGHOFF, A. (1994):  
Anatomie Band 1 - Makroskopische Anatomie, Embryologie und Histologie des Menschen.  
Vol. 15 München: Urban & Schwarzenberg 985

BILLMAN, G.E. und KANG, J.X. (1999):  
Leaf A. Prevention of sudden cardiac death by dietary pure omega-3 polyunsaturated fatty  
acids in dogs.  
Circulation 99: 2452–7

BOHLENDER, J., FUKAMIZU, A., LIPPOLDT, A., NOMURA, T., DIETZ, R., MENARD, J., MURAKAMI, K., LUFT, F.C. und GANTEN, D. (1997):  
High human renin hypertension in transgenic rats.  
Hypertension 29: 428-434

BRAUNWALD, E. (2006):  
Heart Disease. A Text-Book of cardiovascular Medicine.  
7<sup>th</sup> edn. Philadelphia: WB Saunders

BRAUNWALD, E. und BRISTOW, M.R. (2000):  
Congestive Heart Failure: Fifty years of progress.  
Circulation 102: IV-14-IV-23

BRUNNER, H.R., LARAGH, J.H., BAER, L. NEWTON, M.A., GOODWIN, F.T.,  
KRAKOFF, L.R., BARD, R.H. und BÜHLER, F.R. (1972):  
Essential hypertension: renin and aldosterone, heart attack and stroke.  
N Engl J Med 286: 441–9

BRUNSON, D.B. (1997):  
Pharmacology of inhalation anesthetics.  
In: Kohn D.F., Wixson S.K., White, W.J., Benson G.J. (eds.): Anesthesia and analgesia in  
laboratory animals.  
Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto, 29-40

BUNDESMINISTERIUM für BILDUNG und FORSCHUNG (BMBF, 2004)  
Herz in Gefahr? Ursachen, Prävention, Therapie – Ergebnisse der Herzkreislaufforschung  
Bonn/Berlin  
URL: <http://www.bmbf.de/pub/Herzkreislauf.pdf> [eingesehen am 31.3.2010]

CARABELLO, B. A. (2003):  
Ten frequently asked questions about cardiac hypertrophy.  
Cardiology in Review 11: 249-251

CHAVES, A.A., DECH, S.J., NAKAYAMA, T., HAMLIN, R.L., BAUER, J.A. und  
CARNES, C.A. (2003):  
Age and anesthetic effects on murine electrocardiography.  
Life Sciences 72: 2401-2412

CLASSEN, M., DIEHL, V., KOCHSIEK, K., BERDEL, W.E., BÖHM, M. und  
SCHMIEGEL, W. (2004):  
Innere Medizin .  
5. Auflage, Urban & Fischer Verlag München Jena, ISBN 3-437-42830-6

COHN, J.N. (1995):  
Structural basis for heart failure.  
Circulation 91: 2504-7

CONZEN, P. und HOBBAHN, J. (1996):

Einführung: Sevofluran Kompendium.

Wiss. Verl.-Abt., Abbott GmbH, Wiesbaden, 1: 1-8

C von SCHACKY (2007):

Omega-3's and cardiovascular disease: an update for 2007.

Curr Op Nutr Metab Care 10: 129-35

DEL MONTE, F., BUTLER, K., BOECKER, W., GWATHMEY, J.K. und HAJJAR, R.J. (2002):

Novel technique of aortic banding followed by gene transfer during hypertrophy and heart failure.

Physiol Genomics 9: 49-56

DEUTSCHES HERZZENTRUM MÜNCHEN (2009):

Elektrophysiologie/EPU.

Klinik für Herz- und Kreislauferkrankungen

DIAMOND, J.A. und PHILLIPS, R.A. (2005):

Hypertensive heart disease.

Hypertens Res 28: 191-202

DOGGRELL, S. und BROWN, L. (1998):

Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure.

Cardiovasc Res 39: 89-105

DRAZNER, M.H., RAME, J.E., MARINO, E.K., GOTTDIENER, J.S., KITZMAN, D.W., GARDIN, J.M., MANOLIO, T.A., DRIES, D.L. und SISCOVICK, D.S. (2004):

Increased left ventricular mass is a risk factor for the development of a depressed left ventricular ejection fraction within five years: the Cardiovascular Health Study.

J Am Coll Cardiol 43: 2207-2215

EGER, E.I. (1981):

Isoflurane: A review.

Anesthesiol 55: 559-76

EGGLING, T., OSTERHUES, H.H. und KOCHS, M. (1992):

Langzeit-EKG-Kompendium.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, N. Y.

ELSNER, D. und RIEGGER, A. (1991):

Animal models of heart failure.

Curr Opin Cardiol 6: 334-340

ERHARDT, W., HENKE, J. und BRILL, T. (1996):

Anästhesie beim Versuchstier (Säuger).

In: H.P. Scheuber (Hrsg.): Handbuch über Möglichkeiten und Methoden zur Verbesserung, Verminderung und Vermeidung von Tierversuchen.

Thomas Denner Verlag München, 1-56

- ESTNER, H.L., NDREPEPA, G., DONG, J., DEISENHOFER, I., SCHREIECK, J., SCHNEIDER, M., PLEWAN, A., KARCH, M., WEYERBROCK, S., WADE, D., ZRENNER, B. und SCHMITT, C. (2005):  
Acute and long-term results of slow pathway ablation in patients with atrioventricular nodal reentrant tachycardia – an analysis of the predictive factors for arrhythmia recurrence.  
*Pacing Clin Elektrophysiol* 28: 102-110
- EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY (ESC) (2001):  
Task Force on Sudden cardiac Death of the European Society of Cardiology.  
*Eur Heart J* 22: 1374–450
- EXTRAMIANA, F. und ANTZELEVITCH, C. (2004):  
Amplified transmural dispersion of repolarization as the basis for arrhythmogenesis in a canine ventricular-wedge model of short-QT syndrome.  
*Circulation* 110: 3661-6
- FEE, J.P.H. und THOMPSON, G.H. (1997):  
Comparative tolerability profiles of the inhaled anaesthetics.  
*Drug Safety* 16: 157-70
- FISCHER, R., DECHEND, R., QADRI, F., MARKOVIC, M., FELDT, S., HERSE, F., PARK, J.K., GAPELYUK, A., SCHWARZ, I., ZACHARZOWSKY, U.B., PLEHM, R., SAFAK, E., HEUSER, A., LUFT, F.C., SCHUNK, W.H., und MÜLLER, D.N. (2008):  
Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and direct renin inhibition improve electrical remodeling in a model of high human renin hypertension.  
*Hypertension* 51: 540-6
- FITSCHA, P., TISO, B. und MEISNER, W. (1981):  
Die Bedeutung der Langzeit-EKG-Überwachung zur Erfassung von Arrhythmien.  
*Wien. Klein. Wochenschr.* 93: 39-45
- FOGOROS, R.N. (1999):  
Elektrophysiologie Testing.  
3. Auflage. Blackwell Science, England, ISBN 0-632-04325-3
- FORSSMANN-FALCK, R. (1997):  
Werner Forssmann: a pioneer of cardiology.  
*Am J Cardiol* 79: 651-60
- FREY, H.H., LÖSCHER, W. (2002):  
Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin.  
2. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, ISBN 3-7773-1797-7
- GANTEN, D., WAGNER, J., ZEH, K., BADER, M., MICHEL, J.B., PAUL, M., ZIMMERMAN, F., RUF, P., HILGENFELDT, U. und GANTEN, U. (1992):  
Species specificity of renin kinetics in transgenic rats harboring the human renin and angiotensinogen genes.  
*Proc Natl Acad Sci USA* 89: 7806–7810

GANTEN, D., LINDPAINTNER, K., GANTEN, U., PETERS, J., ZIMMERMAN, F.,  
BADER, M., MULLINS, J. (1991):

Transgenic rats: new animal models in hypertension research.

Hypertension 17: 843-855.

GARDIN, J.M., SIRI, F.M., KITSIS, R.N., EDWARDS, J.G. u. LEINWAND, L.A.

(1995):

Echocardiographic assessment of left ventricular mass and systolic function in mice.

Circ Res 76: 907-914

GHALI J.K., KADAKIA, S., COOPER, R.S. und LIAO, Y.L. (1991):

Impact of left ventricular hypertrophy on ventricular arrhythmias in the absence of coronary artery disease.

J Am Coll Cardiol 17: 1277-1282.

GISSI-P-INVESTIGATORS (1999):

Dietary supplementation with n-3-polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial.

Lancet 354: 447-55

GOETTE, A., ARNDT, M., RÖCKEN, C., SPIESS, A., STAACK, T., GELLER, J.C., HUTH, C., ANSORGE, S., KLEIN, H.U. und LENDECKEL, U. (2000a):

Regulation of angiotensin II receptor subtypes during atrial fibrillation in humans.

Circulation 101: 2678-2681

GOETTE, A., STAACK, T., RÖCKEN, C., ARNDT, M., GELLER, J.C., HUTH, C., ANSORGE, S., KLEIN, H.U. und LENDECKEL, U. (2000b):

Increased expression of extracellular-signal regulated kinase and angiotensin-converting enzyme in human atria during atrial fibrillation.

J Am Coll Cardiol 35: 1669-1677

COHN, J.N. (1995):

Structural basis for heart failure: ventricular remodeling and its pharmacological inhibition.

Circulation 91: 2504-2507

GONSKA, B.D. (1999):

Interventionelle Therapie von Herzrhythmusstörungen.

Georg Thieme Verlag 267, Stuttgart, ISBN 3-1311-5041-6

GREENBERG, E.R. und SPORN, M.B. (1996):

For the Physicians Health Study. Antioxidant vitamins, cancer and cardiovascular disease.

N Engl J Med 334: 1189-90.

GRIMM, D., ELSNER, D., SCHUNKERT, H., PFEIFER, M., GRIESE, D.,

BRUCKSCHLEGEL, G., MUDERS, F., RIEGGER, G.A. und KROMER, E.P. (1998):

Development of heart failure following isoproterenol administration in the rat:

role of the renin- angiotensin system.

Cardiovasc Res 37: 91-100



- GRIMM, W., HOFFMANN, J., MENZ, V. und MAISCH, B. (1999):  
Transient QT prolongation with torsades de pointes tachycardia after ablation of permanent junctional reciprocating tachycardia.  
J cardiovasc Elektrophysiol 10: 1631-5
- HAISSAGUERRE, M., JAIS, P., SHAH, D.C., TAKAHASHI, A., HOCINI, M., QUINIOU, G., GARRIGUE, S., LE MOUROUX, A., LE METAYER, P. und CLEMENTY, J. (1998):  
Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins.  
N Engl J Med 339: 659-666
- STEVENSON, W.G. (2005):  
Catheter ablation of monomorphic ventricular tachycardia.  
Curr Opin Cardiol 20: 42-47
- HEAVNER, J.E. (1994):  
Physiologic effects of anesthetics and analgesics: Research animal anesthesia, analgesia and surgery.  
In: Smith A.C., Swindle M.M. (eds.): Research animal anesthesia, analgesia and surgery.  
Scientists center for animal welfare Maryland 41-583
- HERDER (1994):  
Lexikon der Biologie.  
Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akademischer Verlag
- HILL, JA. (2003):  
Electrical remodeling in cardiac hypertrophy.  
Trends Cardiovasc Med 13: 316–322
- HOBBAHN, J., CONZEN, P., GOETZ, A., GRANETZNY, T., HABAZETTL, H., BRENDEL, W. und PETER, K. (1985):  
Blood flow in organs during isoflurane anesthesia.  
In: Lawin P., Van Aken H., Puchstein C. (eds.): Isoflurane.  
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 145-53
- HOMBACH, V. (2001):  
Interventionelle Kardiologie, Angiologie und Kardiovaskularchirurgie.  
Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, ISBN 3-7945-1931-0
- HOMI, J., KONCHIGERI, H.N., ECKENHOFF, J.E., LINDE, H.W. (1972):  
A new anesthetic agent-Forane: Preliminary observations in man.  
Anesth. Analg 51: 439-47
- HORACEK, TH. (2003):  
Der EKG-Trainer.  
4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, ISBN 3-13-596805-7

- HOULE, M.S., ALTSCHULD, R.A. und BILLMANN, G.E. (2001):  
Enhanced in vivo and in vitro contractile responses to  $\beta_2$ -adrenergic receptor stimulation in dogs susceptible to lethal arrhythmias.  
J Appl Physiol 91: 1627-1637
- HU, P., ZHANG, D., SWENSON, L., CHAKRABARTI, G., ABEL, E.D. und LITWIN, S.E. (2003):  
Minimally invasive aortic banding in mice: effects of altered cardiomyocyte insulin signaling during pressure overload.  
Am J Physiol heart Circ Physiol 285: H1261-H1269
- HUMMEL, J.D., STRICKBERGER, S.A., DAOUD, E., NIEBAUER, M., MAN, K.C., WILLIAMSON, A.D. und MORADY, F. (1994):  
Results and efficiency of programmed ventricular stimulation with four extrastimuli compared with one, two and three extrastimuli.  
Circulation 90: 2827 – 2832
- JOHN, B.T., TAMARAPPOO, B.K., TITUS, J.L., EDWARDS, W.D., SHEN, W.K. und CHUGH, S.S. (2004):  
Global remodeling of the ventricular interstitium in idiopathic myocardial fibrosis and sudden cardiac death.  
Heart Rhythm 1: 141-9
- KAHAN, T. und BERGFELDT, L. (2005):  
Left ventricular hypertrophy in hypertension: its arrhythmogenic potential.  
Heart 91: 250-256
- KANG, J.X. (1996):  
Leaf A. Antiarrhythmic effects of polyunsaturated fatty acids.  
Circulation 94: 1774–80.
- KASHANI, A. und BAROLD, S.S. (2005):  
Significance of QRS complex duration in patients with heart failure.  
J Am Coll Cardiol 46: 2183-92
- KEENE, B.W. (1987):  
Cardiovascular Drugs.  
Cardiology (JD Bonagura, ed) Churchill Livingstone  
New York Edinburgh London Melbourne pp 21-57
- KLABUNDE, R.E. (2004):  
Cardiovascular Physiology Concepts.  
Published by Lippincott Williams & Wilkins, ISBN: 0-7817-5030-X
- KLINGE, R. (1997):  
Das Elektrokardiogramm.  
7. Auflage. Thieme, Köln, ISBN 3-1355-4007-3 S 161 ff

- KLINKE, R. (2005):  
Lehrbuch der Physiologie.  
In: Silbernagl, S. (Hrsg.) et. al.  
4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, ISBN 3137960045
- KORTE, T., FUCHS, M., GUENER, Z., v BONIN, J., de SOUSA, M., NIEHAUS, M.,  
TEBBENJOHANNNS, J. und DREXLER, H. (2002):  
In-Vivo electrophysiological study in mice with chronic anterior myocardial infarction.  
J Interv Card Electrophysiol 6: 121-32
- KRAKAU, I. und LAPP, H. (2005):  
Diagnostische und interventionelle Kathetertechniken.  
In: Krakau, I., Lapp, H. (Hrsg.): Das Herzkatheterbuch  
2. Auflage, Georg Thieme Verlag KG, ISBN 3-13-112412-1
- KRAMER, K., VAN ACKER, S.A.B., VOSS, H.P., GRIMBERGEN, J.A.,  
VAN DER VIJGH, W.J.F. und BAST, A. (1993):  
Use of telemetry to record electrocardiogram and heart rate in freely moving mice.  
J Pharmacol Toxicol Methods 4: 209-215
- KROMANN, N. und GREEN, A. (1980):  
Epidemiologic studies in the Upernavik district Greenland: incidence of some chronic  
diseases 1950–1974.  
Acta Med Scand 208: 401–6
- KVAKAN, H., KLEINWIETFELD, M., QADRI, F., PARK, J.K., FISCHER, R.,  
SCHWARZ, I., RAHN, H.P., PLEHM, R., WELLNER, M., ELITOK, S., GRATZE, P.,  
DECHEND, R., LUFT, F.C. und MÜLLER, D.N. (2009):  
Regulatory T cells ameliorate angiotensin II-induced cardiac damage.  
Circulation 119: 2904-12
- LARSEN, R. (1999a):  
Anästhesie: Säure-Basen-Haushalt.  
6. Auflage, Urban & Schwarzenberg Verlag, München, Wien, Baltimore, 261-74
- LARSEN, R. (1999b):  
Inhalationsanästhesie.  
In: Larsen R. (Hrsg.): Anästhesie  
6. Auflage, Urban & Schwarzenberg Verlag, München, Wien, Baltimore, 20-60
- LISEWSKI, U., SHI, Y., WRACKMEYER, U., FISCHER, R., CHEN, C., SCHIRDEWAN,  
A., JÜTTNER, R., RATHJEN, F., POLLER, W., RADKE, M.H. und GOTTHARDT, M.  
(2008):  
The tight junction protein CAR regulates cardiac conduction and cell-cell communication.  
J Exp Med 29 205: 2369-79
- LOMBARD, E. A. (1952):  
Electrocardiograms of small mammals  
Am J Physiol 171: 189-193

MANNING, W. J., WEI, J.Y., KATZ, S.E., LITWIN, S.E. und DOUGLAS, P.S. (1994):  
In vivo assessment of LV mass in mice using high-frequency cardiac ultrasound:  
necropsy validation.

Am J Physiol 266: H1672-H1675

MARCHIOLI, R. on behalf of the Gissi-Prevenzione Investigators (2001):  
Treatment with n-3-polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction. Results of Gissi-  
Prevenzione Trial.

Eur Heart J 3 (Suppl D): D83–D96

MARCHIOLI, R., BARZI, F., BOMBA, E., CHIEFFO, C., DI GREGORIO, D., DI  
MASICO, R., FRANZOSI, M.G., GERACI, E., LEVANTESI, G., MAGGIONI, A.P.,  
MANTINI, L., MARFISI, R.M., MASTROGIUSEPPE, G., MININNI, N., NICOLOSI, G.L.,  
SANTINI, M., SCHWEIGER, C., TAVAZZI, L., TOGNONI, G., TUCCI, C. und  
VALAGUSSA, F. (2002):

Early protection against sudden death by n-3-polyunsaturated fatty acids after myocardial  
infarction: timecourse analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della  
Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione.

GISSI-P Circulation 105: 1897–903

MAZZOLAI, L., NUSSBERGER, J., AUBERT, J.F., BRUNNER, D.B., GABBIANI, G.,  
BRUNNER, H.R. und PEDRAZZINI, T. (1998):

Blood pressure independent cardiac hypertrophy induced by locally activated renin-  
angiotensin system.

Hypertension 31: 1324-1330

McEWAN, P.E., GRAY, G.A., SHERRY, L., WEB, D.J. und KENYON, C.J. (1998):  
Differential effects of angiotensin II on cardiac cell proliferation and intramyocardial  
perivascular fibrosis in vivo.

Circulation 98: 2765-2773

McLENANN, P.L. (1993):

Relative effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on  
cardiac arrhythmias in rats.

Am J Clin Nutr 57: 207–12

MERVAALA, E., MULLER, D.N., SCHMIDT, F., PARK, J.K., GROSS, V., BADER, M.,  
BREU, V., GANTEN, D., HALLER, H. und LUFT, F.C. (2000):

Blood pressure-independent effects in rats with human renin and angiotensinogen genes.

Hypertension 35: 587-94

MEYER, J.A. (1990):

Werner Forssmann and catheterization of the heart, 1929.

Ann Thorac Surg 49: 497-9

NATTEL, S., LI, D. und YUE, L. (2000):

Basic mechanisms of atrial fibrillation – very new insights into old ideas.

Ann Rev Physiol 62: 51-77

- NATTEL, S. (2002):  
New ideas about atrial fibrillation 50 years on.  
Nature 415: 219-226
- NATTEL, S. (2004):  
Defining "culprit mechanisms" in arrhythmogenic cardiac remodeling.  
Circ Res 94: 1403–1405
- OKIN, P.M., DEVEREUX, R.B., HARRIS, K.E., JERN, S., KJELDSEN, S.E., LINDHOLM, L.H. und DAHLÖF, B. (2007):  
In-treatment resolution or absence of electrocardiographic left ventricular hypertrophy is associated with decreased incidence of new-onset diabetes mellitus in hypertensive patients: the Losartan Intervention for Endpoint Reduction in Hypertension (LIFE) Study.  
Hypertension 50: 984-90
- PAUL, M., STOCK, P., LANGHEINRICH, M., LIEFELDT, L., SCHONFELDER, G. und BOHM, M. (1995):  
Role of the cardiac renin-angiotensin system in human heart failure.  
Adv Exp Med Biol 377: 279–383
- PIERRA O., MEYER R., VOß K. und WENZELIDES K. (1979):  
Vergleichende quantitativ-morphologische Untersuchungen des Myocards der Ratte nach wiederholten Gaben von Isoprenalin.  
Zentralbl Allg Pathol 123: 590-593
- PILZ, B., SHAGDARSUREN, E., WELLNER, M., FIEBELER, A., DECHEND, R., GRATZE, P., MEINERS, S., FELDMAN, D.L., WEBB, R.L., GARRELD, I.M., JAN DANSER, A.H., LUFT, F.C. und MÜLLER, D.N. (2005):  
Aliskiren, a human renin inhibitor, ameliorates cardiac and renal damage in doubletransgenic rats.  
Hypertension 46: 569-76
- PLUMB, D.C. (1999):  
Veterinary Drug Handbook.  
PharmaVet Publishing White Bear Lake (USA); 853 pp
- PSCHYREMBEL, W. (2002):  
Pschyrembel Klinisches Wörterbuch.  
d. Gruyter, Editor Berlin, New York p. 690
- RICHARDS, A. G., SIMONSON, E. und VISSCHER, M.B. (1953):  
Electrocardiogram and phonogram of adult and newborn mice in normal conditions and under the effect of cooling, hypoxia and potassium.  
Am J Physiol 174: 293-298
- ROTH, D.M., SWANEY, J.S., DALTON, N.D., GIPLAN, E.A. und ROSS, J. (2002):  
Impact of anesthesia on cardiac function during echocardiography in mice.  
Am J Physiol 282: H2134-H2140

ROTHERMUND, L. und PAUL, M. (1998):

Hypertension and the rennin - angiotensin system – evidence from genetic and transgenic studies.

Basic Res Cardiol 93 Suppl 2: 1–6

ROYER, A., DEMOLOMBE, S., EL HARCHI, A., LE QUANG, K., PIRON, J., TOUMANIANTZ, G., MAZURAS, D., BELLOCQ, C., LANDE, G., TERRENOIRE, C., MOTOIKE, H.K., CHHHEVALLIER, J.C., LOUSSOUARN, G., CLANCY, C.E., ESCANDE, D., CHARPENTIER, F. (2005):

Expression of human ERG K<sup>+</sup> channels in the mouse heart exerts anti-arrhythmic activity. Cardiovasc Res. 65: 128-37

SCHMIEDER, S., NDREPEPA, G., DONG, J., ZRENNER, B., SCHREIECK, J., SCHNEIDER, M.A., KARCH, M.R. und SCHMITT, C. (2003):

Acute and long-term results of radiofrequency ablation of common atrial flutter and the influence of the right atrial isthmus ablation on the occurrence of atrial fibrillation.

Eur Heart J 24: 956-62

SCHNEIDER, Ch. (2005):

Das EPU-Labor, Einführung in invasive elektrophysiologische Untersuchung.

1. Auflage, Steinkopff Verlag Darmstadt, ISBN 3-7985-1482-8

SCHREMPF, T., LOIMMERT, GROSS, H., TJEISEN, K. und SELLMAYER, A. (2003):

Akuteffekte intravenös applizierter Omega-3-Fettsäuren auf die Auslösbarkeit ventrikulärer Tachycardien bei ICD-Patienten; Herzschrittmachertherapie und Elektrophysiologie.

Band 14: 45–6

SCHRIER, R.W. und ABRAHAM, W.T. (1999):

Hormones and hemodynamics in heart failure.

N Engl J Med 341: 577-85

SELLMAYER, A., WITZGALL, H., LORENZ, R.L. und WEBER, P.C. (1995):

Effects of dietary fish oil on ventricular premature complexes.

Am J Card 76: 974–7

SILBER, E.N. und Katz, L.N. (1975):

Heart Disease.

New York, Macmillan

STEFFEY, E.P. und HOWLAND, D. (1977):

Isoflurane potency in the dog and cats.

Am J Vet Res 38: 1833-6

STEVENS, W.C., CROMWELL, T.H., HALSEY, M.J., EGER, E.I., SHAKESPEARE, T.F. und BAHLMAN, S.H. (1971):

The cardiovascular effects of a new inhalational anesthetic, Forane, in human volunteers at constant arterial carbon dioxide tension.

Anesthesiol 35: 8-16

- STRUTHERS, A.D. und MacDONALD, T.M. (2004):  
Review of aldosterone- and angiotensin II-induced target organ damage and prevention.  
*Cardiovasc Res* 61: 663-70
- TANAKE, N., DALTON, N., MAO, L., ROCKMANN, H.A., PETERSON, K.L.,  
GOTTSHALL, K.R., HUNTER, J.J., CHIEN, K.R. und ROSS, J. (1996):  
Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse  
*Circulation* 94: 1109-1117
- TASK FORCE REPORT (2003):  
Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation.  
*Eur Heart J* 24: 28–66
- TEO, K.K., MITCHELL, L.B., POGUE, J., BOSCH, J., DAGENAIS, G. und YUSUF, S.  
(2004):  
Effect of ramipril in reducing sudden deaths and nonfatal cardiac arrests in high-risk  
individuals without heart failure or left ventricular dysfunction.  
*Circulation* 110: 1413-1417
- TILLEY, L.P. (1997):  
EKG bei Hund und Katze.  
Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover (D), 483°pp
- TOMASELLI, G.F. und ZIPES, D.P. (2004):  
What causes sudden death in heart failure?  
*Circ Res* 95: 754–763
- TWEEDIE, D., HENDERSON, C.G. und KANE, K.A. (1995):  
Assessment of subrenal banding of the abdominal aorta as a method of inducing cardiac  
hypertrophy in the guinea pig.  
*Cardioscience* 6: 115-9
- UNGEMACH, F.R., LÖSCHER, W. und KROKER, R. (1999):  
Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren: Herzwirksame Pharmaka.  
Berlin Parey Buchverlag S. 124-140
- URATA, H., HEALY, B., STEWART, R.W., BUMPUS, F.M. und HUSAIN, A. (1990):  
AngII-forming pathways in normal and failing human hearts.  
*Circ Res* 66: 883-890
- VERHEULE, S., SATO, T., EVERETT, T., ENGLE, S.K., OTTEN, D., RUBART von der  
LOHE, M., NAKAJIAMA, H.O., NAKAJIAMA, H., FIELD, L.J. und OLGIN, J.E. (2004):  
Increased vulnerability to atrial fibrillation in transgenic mice with selective atrial fibrosis  
caused by overexpression of TGF-beta1.  
*Circ Res* 94: 1458–1465

VIVIEN, B., HANOZ, J.L., GUEUGNIAUD, P.Y., LECARPENTIER, Y., CORIAT, P., RIOU, B. (1997):  
Myocardial effects of halothane and isoflurane in hamsters with hypertrophic cardiomyopathy.  
Anesthesiol 87: 1406-16.

WEHRENS, X., KIRCHHOFF, S. und DOEVENDANS P.A. (2000):  
Mouse electrocardiography: An interval of thirty years.  
Cardiovasc Res 45: 231-237

WELLENS, H.J.J., BRUGADA, P. und STEVENSON, W.G. (1986):  
Programmed electrical stimulation: management of ventricular arrhythmias in coronary heart disease.  
Progr Cardiovasc Dis 29: 165 – 180



## 9 Verwendete Abbildungen

Abb. 1:	Isoprenalin-EKG im Vergleich zum normalen EKG. ....	34
Abb. 2:	Narkose. ....	35
Abb. 3:	Versuchsaufbau (von rechts nach links). ....	35
Abb. 4:	Der EPU-Katheter. ....	35
Abb. 5:	Katheterlage im Herzen mit elektrophysiologischer Ableitung. ....	39
Abb. 6:	Das doppelt Transgene Rattenmodell und seine Angiotensin II-bedingten kardialen Veränderungen. ....	45
Abb. 7:	Das EKG. ....	48
Abb. 8:	EKG-Auswertung. ....	50
Abb. 9:	EP-Tracer-Software. ....	51
Abb. 10:	Vorhof- und Kammersignal. ....	52
Abb. 11:	Katheter-Positionierung in Ratte und Maus. ....	53
Abb. 12:	Katheter-Positionierung im Vorhof. ....	54
Abb. 13:	Katheter-Positionierung in der Kammer. ....	54
Abb. 14:	Sinusknotenerholungszeit SNRT. ....	55
Abb. 15:	Wenckebach Punkt. ....	56
Abb. 16:	2:1-Überleitung. ....	57
Abb. 17:	AVNERP (effektive Refraktärzeit des AV-Knotens). ....	58
Abb. 18:	AVNERP. ....	58
Abb. 19:	AERP (atriale effektive Refraktärzeit). ....	59
Abb. 20:	Burst-Pacing. ....	59
Abb. 21:	VERP (ventrikuläre effektive Refraktärzeit). ....	60
Abb. 22:	VERP. ....	60
Abb. 23:	Kammerstimulation. ....	61
Abb. 24:	Mortalitätsrate. ....	68
Abb. 25:	Herzgewichte. ....	69
Abb. 26:	Blutdruck. ....	70
Abb. 27:	QRS-Intervall. ....	71
Abb. 28:	QRS-Intervall. ....	72
Abb. 29:	VES. ....	73
Abb. 30:	VERP. ....	73
Abb. 31:	Auslösbarkeit in den Versuchstiergruppen. ....	76

Abb. 32:	Induzierbarkeit bei der unbehandelten dTGR und SD-Kontrolltier.....	77
Abb. 33:	Induzierbarkeit von nicht anhaltenden Vorhofflimmern in der unbehandelten dTGR.....	78
Abb. 34:	Vorhofflimmern organisiert sich zu Vorhofflattern in der unbehandelten dTGR.....	78
Abb. 35:	Anhaltendes Vorhofflimmern in der unbehandelten dTGR.....	79
Abb. 36:	Ventrikuläre Extrasystolen – Couplet. ....	79
Abb. 37:	Ausgelöstes nichtanhaltendes Vorhofflimmern im unbehandelten dTGR-Modell.....	80
Abb. 38:	Nicht anhaltende ventrikuläre Tachyarrhythmie.....	80
Abb. 39:	Anhaltende ventrikuläre Tachyarrhythmie im unbehandelten dTGR-Modell. ....	81
Abb. 40:	Sinusrhythmus nach einem Overdrive-Pacing (Burst) bei einem SD-Kontrolltier.....	81
Abb. 41:	AV-Block III.Grades im unbehandelten dTGR-Modell. ....	82
Abb. 42:	Fortgeschrittener AV-Block III.Grades im unbehandelten dTGR-Modell. ....	82

## 10 Publikationsverzeichnis

Fischer, R., Dechend, R., Qadri, F., Markovic, M., Feldt, S., Herse, F., Park, J.K., Gapelyuk, A., Schwarz, I., Zacharzowsky, U.B., Plehm, R., Safak, E., Heuser, A., Luft, F.C., Schunk, W.H., und Müller, D.N. (2008):

Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and direct renin inhibition improve electrical remodeling in a model of high human renin hypertension. *Hypertension* 51:540-6

Doktorandensymposium 2008 der FU-Berlin am Fachbereich Veterinärmedizin mit dem Thema meiner Dissertation „Die Etablierung der humanen Elektrophysiologischen Untersuchung (EPU) an Ratte und Maus mit dem Nachweis einer sicheren Anwendung am dTGR-Modell“ in Form eines Vortrages.

Kvakan, H., Kleinewietfeld, M., Qadri, F., Park, J.K., Fischer, R., Schwarz, I., Rahn, H.P., Plehm, R., Wellner, M., Elitok, S., Grätze, P., Dechend, R., Luft, F.C. und Müller, D.N. (2009):

Regulatory T cells ameliorate angiotensin II-induced cardiac damage. *Circulation* 119:2904-12

## 11 Danksagung

Mein herzlichster Dank gilt:

Prof. Martens für das Interesse an meiner Arbeit und die Übernahme der Betreuung am Fachbereich für Veterinärmedizin.

PD Dr. Dechend für die Bereitstellung meines Themas und die Ermöglichung der Durchführung als Dissertationsarbeit,

Robert Fischer für seine stets freundliche und tatkräftige Betreuung, Hilfe und Rat bei allen Problemen im praktischen und theoretischen Teil; für seine offene und menschliche Art, und einer stets angenehmen Arbeitsatmosphäre,

Carolin Deiner für die engagierte und freundliche Betreuung der Arbeit, für ihre stetige Unterstützung und wertvollen Ratschläge,

Charité- Universitätsmedizin Berlin für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit,

Meinen Eltern und Schwestern für ihre Unterstützung und Anerkennung meiner Arbeit, für ihre Liebe und den Glauben an mich,

Meinen Freunden für ihre Freundschaft und Abwechslung,

Astrid Schiche, Jutta Meisel, Martin Taube und anderen Mitarbeitern des Max Delbrück Centrums für ihr stets freundliches Entgegenkommen und kollegiale Zusammenarbeit,

Maria Biedermann für ihre tatkräftige Unterstützung,

Maria I. Georgie für ihre Freundschaft und die gemeinsamen lustigen Stunden,

Allen Mitarbeitern des Institutes für Veterinärphysiologie für die sehr angenehme und freundliche Arbeitsatmosphäre.

PD Dr. Thomas Göbel für die Vermittlung der Arbeit und damit die Ermöglichung.

## **12 Selbständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 31.03.2010

Ines Schwarz