

4. Diskussion

4.1. Der Methodische Ansatz

4.1.1. Transgene Tiermodelle

In der vorliegenden Studie wurden Mäuse, die durch ein humanes Troponin T transgen verändert wurden, verwendet. Seitdem die Erstellung transgener Tiere möglich ist, wurde eine Vielzahl dieser Tiermodelle entwickelt. Mit diesen Modellen können verschiedene menschliche Erkrankungen nachgebildet werden, um neue pathophysiologische Erkenntnisse über diese Erkrankung zu gewinnen und vor allem um bewährte Therapiestrategien und neue pharmakologische Interventionsmöglichkeiten zu überprüfen. Dabei werden entweder die Pathophysiologie von bestimmten menschlichen Erkrankungen simuliert oder im Idealfall der Grund für die menschliche Erkrankung nachgebildet.

Beispiele für das Simulieren von Krankheitszuständen sind Modelle der hypertensiven Erkrankung. Durch eine Überexpression, beispielsweise von Faktoren aus dem Renin-Angiotensin-System, wird ein Bluthochdruck *in vivo* nachgeahmt [57]. Diese Modelle lassen aber nur bedingt Aussage über die menschliche Hypertension zu, da nicht bei allen hypertensiven Erkrankungen das Renin-Angiotensin System auslösend ist.

Die in dieser Studie verwendeten Mäuse exprimieren jedoch das humane Troponin-T-Gen, das auch im Menschen die Erkrankung der hypertrophen Kardiomyopathie auslöst. So ist hier also ein Idealbeispiel eines transgenen Tiermodells zur Anwendung gekommen, da der kausale Krankheitsgrund sowohl im Menschen als auch im Mausmodell identisch war: die humane Troponin-T-Mutation I79N oder ein gesundes humanes Wildtyp-Troponin T.

Zur Herstellung der transgen veränderten Tiermodelle eignen sich Mäuse besonders gut, weshalb diese Spezies auch einen Großteil aller vorhandenen Tiermodelle ausmacht. Das liegt vor allem an den geringeren Kosten, die bei der recht aufwendigen Erstellung der transgenen Modelle anfallen. Doch auch Ratten, wie zum Beispiel eine Überexpression der humanen Kallikreingens [58] und einige andere Spezies [59] wurden bisher transgen verändert. Diese genetischen Veränderungen gehen aber auch damit einher, dass man Rückschlüsse aus der murinen Herzkreislaufphysiologie auf

die humane Herzkreislaufphysiologie übertragen muss. Die bei Kleintieren deutlich erhöhte Herzfrequenz mit Werten um 400-600 Schläge pro Minute ist hier nur ein deutliches Beispiel [60], zeigt aber die Unterschiede zwischen humaner und muriner Physiologie deutlich auf. Spezies, die dem humanen Herzkreislaufsystem eher gleichen, wie etwa Schweine- oder Hundetiermodelle, stehen aber eben nicht transgen verändert zur Verfügung, so dass diese Einschränkung leider nicht umgangen werden kann.

4.1.2. Das Konduktanzmessverfahren zur Evaluierung der Herzfunktion

Das Konduktanzmessverfahren zur Evaluierung der kardialen Funktion durch Analyse der Druck-Volumen-Kurven ist bei Menschen seit den 80er Jahren etabliert [37, 61, 62]. Allerdings konnte es sich wegen des hohen technischen Aufwands, den im Gegensatz zu einem konventionellen Druckkatheter erhöhten Kosten und vor allem wegen der schwierigeren Interpretation und Auswertung der Daten nicht in der Routine der Klinik durchsetzen, sondern wurde nur für wenige wissenschaftliche Fragestellungen angewandt. Seit der Entwicklung von Konduktanzkathetern für das Kleintiermodell vor wenigen Jahren [63, 64] steht die Druck-Volumen-Analyse jedoch wieder im Vordergrund des wissenschaftlichen Interesses zur Erfassung von kardialer Herzfunktion. Gerade im Hinblick auf die oben erwähnte steigende Zahl von genetisch veränderten Tieren ist die genaue kardiale Phänotypisierung immer entscheidender geworden. Die Genauigkeit des Konduktanzmessverfahrens ist mit anderen Messtechniken wie der Echokardiographie abgeglichen und bestätigt worden [63]. Besonders aber in Hinsicht auf die Analyse der vor- und nachlast- unabhängigen Parameter wie dem ESPVR und dem EDPVR zeigen sich die Vorteile der Konduktanzuntersuchung erst wirklich. Die Herzfunktion ist wesentlich abhängig von der aktuellen Volumensituation im Kreislauf. Besonders die diastolische Funktion und Parameter wie der LVEDP sind davon betroffen. Leicht können durch Senkung des Kreislaufvolumens der LVEDP gesenkt und daher bestehende kardiale Dysfunktionen übersehen werden. Dieser therapeutisch beim Menschen gewünschte Effekt ermöglicht Fehlinterpretationen im Tiermodell. Diese Fehlinterpretationen lassen sich durch die Analyse von vor- und nachlastunabhängigen Parametern verkleinern. Daher gilt der

EDPVR mit seiner Aussage über die intrinsische Steifigkeit des linken Ventrikels während der diastolischen Dehnung durch die Blutfüllung hier unabhängig von der Volumensituation als robust [65, 66].

So gilt die Druck-Volumen-Messung per Konduktanzmessmethode, die auch in dieser Studie angewandt wurde, heute als Goldstandard der kardialen Funktionsmessung im Kleintier. Leider müssen die Tiere dazu allerdings anästhesiert werden, so dass auf den Einfluss der Narkose auf das Herzkreislaufsystem Rücksicht genommen werden muss. Es gibt jedoch schon neue Ansätze der intraventrikulären Druckmessung am wachen Tier [67], auch wenn diese noch nicht als allgemein etabliert gelten. Daher wurden in dieser Studie die Tiere während der hämodynamischen Messung natürlich anästhesiert. Es wurde Wert darauf gelegt, dass alle Tiere ausreichend sediert waren und so ein eventueller Einfluss von Schmerzreizen auf die kardiale Funktion minimiert werden konnte.

Hat aber Thiopental, das in dieser Studie benutzte Narkotikum, einen direkten Einfluss auf die kardiale Funktion *in vivo*? Ein diskutierter Einfluss auf die Nachlast konnte im Menschen nicht nachgewiesen werden [68], es wurde aber in der Maus gezeigt, dass der kardiale Index gegenüber nicht anästhesierten Tieren signifikant reduziert war [69]. Da aber in dieser Studie die Mäuse mit der humanen Troponin-T-Mutation mit Mäusen mit dem humanen Wildtyp Troponin T verglichen wurden und beide Tiergruppen der gleichen Narkose ausgesetzt waren, sollte der Fehler systematisch sein und somit die Relation der Unterschiede und damit die Ergebnisse nicht verfälschen.

4.1.3. Systolische Funktion unter basalen Bedingungen

Die systolische Funktion der TNT-I79N kann man im Vergleich zu den TNT-WT-Tieren hyperkontraktile und hyperdynamisch nennen. Klare Indikatoren für diese hyperkontraktile LV Funktion unter basalen Bedingungen sind durch den erhöhten dP/dt max, den erhöhten kardialen Index und die erhöhte Ejektionsfraktion gegeben. Teilweise war diese hyperdynamische kardiale Funktion in diesem Mausmodell schon bekannt. Knollmann et al. [70] und Miller et al. [53] konnten per Echokardiographie schon eine erhöhte Ejektionsfraktion und dadurch bedingt einen erhöhten kardialen Index bei diesen Tieren bestimmen. Die erhöhte Kontraktilität steht jedoch im Widerspruch zu den bisherigen Daten über dieses Tiermodell. Hier wurde bisher kein

Unterschied im Vergleich zu den TNT-WT-Tieren gefunden. Allerdings gab es bisher auch noch keinen Ansatz, die Herzfunktion *in vivo* mit einem Katheter zu messen, sondern es wurden nur *ex vivo* Langendorf- Präparationen genutzt, um die kardiale Funktion zu analysieren [71]. Weiter unterscheidet sich der hier *in vivo* gemessene LVP nicht, obwohl die Kontraktilität erhöht ist.

Kann man nun die erhöhte Kontraktilität trotz des unveränderten LVP, der in dieser Studie gefunden wurde, anhand der weiteren hier gewonnenen Daten erklären?

Die Nachlast ist wie erwähnt ein wichtiges Kriterium für die kardiale Funktion. Je höher die Nachlast, desto höher die benötigte kardiale Arbeit um das gleiche Blutvolumen gegen diesen Widerstand zu bewegen. Bei den TNT-I79N-Tieren ist die Vorlast jedoch im Vergleich zu den TNT-WT signifikant gesenkt, so dass die erhöhte Ejektionsfraktion und der erhöhte kardiale Index bei gleich bleibenden LVP entstehen können. So kann die Hyperkontraktilität also noch nicht erklärt werden.

Allerdings findet sich eine weitere Bestätigung der hyperkontraktilen Funktion in anderen *in-vitro*- Studien an Tiermodellen mit Troponin-T-Mutationen. Sweeney et. al [72] konnten an unterschiedlichen Troponin-T-Mutationen im Rattenmodell zeigen, dass durch die Mutationen der Troponin-T-Einheit die Kontraktilität und die Beweglichkeiten in einem *in-vitro*- „Myosingleitassay“ erhöht waren. Bei dieser *in-vitro*-Untersuchung gleiten Aktinketten auf einem Myosinbett und es wird von der Schnelligkeit der Bewegungen auf die Kontraktilität geschlossen. In weiteren Arbeiten konnte der Grund dieser erhöhten Kontraktilität herausgearbeitet werden. Mehrere Gruppen zeigten, dass die Kraftentwicklung des Troponin T wesentlich durch das intrazelluläre Kalzium bedingt ist. Bei den Troponin-T-Mutationen ist die Sensitivität der mutierten Troponin-T-Einheiten auf intrazelluläres Kalzium deutlich erhöht. So entsteht hier auch eine höhere Kraftentwicklung [70, 73, 74].

Diese erhöhte Ca^{2+} -Sensitivität erscheint also wesentlich, um die erhöhte Kontraktilität bei Troponin-T-Mutationen zu erklären, da die Kraftentwicklung durch die ATP-Spaltung direkt an das verfügbare Kalzium gekoppelt ist. Ist die Sensitivität erhöht, steht mehr Kalzium zur Verfügung, um für eine erhöhte Kraftentwicklung nutzbar zu sein. Diese erhöhte Kraftentwicklung scheint *in vivo* durch eine Verringerung der Nachlast teilweise kompensiert zu werden. So besteht zwar noch eine hyperkontraktile Herzfunktion mit erhöhter Kontraktilität, aber der LVP ist durch die Nachlastsenkung im Vergleich zu den

TNT-WT normalisiert. Das Herzkreislaufsystem reguliert sich selber und wirkt ausgleichend.

Durch die Behandlung mit Diltiazem verändert sich – verglichen mit den unbehandelten TNT-I79N – diese hyperdynamische und hyperkontraktile Funktion nicht signifikant. Allerdings vermindert Diltiazem die Kontraktilität tendenziell, wenn auch das Signifikanzniveau von $p \leq 0.05$ verfehlt wird. Auch die Nachlast ist wie bei den TNT-I79N reduziert, so dass Ejektionsfraktion und kardialer Index weiterhin erhöht sind.

Einzig der Ratio aus der Kontraktilität und der Relaxation, $dP/dt \text{ max:min}$, ist unter basalen Bedingungen durch die Behandlung verändert worden. Hier zeigt sich die tendenzielle Veränderung der Kontraktilität $dP/dt \text{ max}$ und der Relaxation $dP/dt \text{ min}$ zusammengenommen als signifikante Veränderung. Dieser Ratio wurde unter anderem von Georgakopoulos [41] eingeführt und beschreibt die Kinetik des Herzens zwischen Systole und Diastole. Normalerweise ist dieser Ratio ausgeglichen, der Wert also circa 1. Bei den TNT-I79N dagegen ist er mit 1.46 deutlich erhöht. Das heißt, die Kontraktilität ist im Verhältnis zur Relaxation stärker. Tardiff et al. gehen davon aus, dass dieser erhöhte Ratio einen Beweis für eine gestörte Interaktion zwischen den kontraktilen Parametern des Sarkomers und den dünnen Filamenten des Sarkomers ist [75]. Noch einmal ist der Grund in der unterschiedlichen Kalziumsensitivität der Troponin-T-Mutationen zu suchen. Die erhöhte Sensitivität führt wie beschrieben zu einer erhöhten Kontraktilität, aber gleichzeitig auch zu einer verlängerten Kalziumbindung, welche zu einer verlangsamten Lösung der Aktin-Myosin-Bindung in der Diastole führt. Durch die Behandlung mit Diltiazem wird dieser Ratio also normalisiert.

So scheint die hyperkontraktile systolische Funktion während der Kontraktion die Diastole indirekt durch eine verlängerte Vernetzung der Myosin-Aktin-Köpfe zu verändern. Diese Veränderung der diastolischen Funktion „auf Kosten“ einer verstärkten systolischen Funktion zeigt sich auch in der folgend beschriebenen diastolischen Funktion unter basalen Bedingungen.

4.1.4. Diastolische Funktion unter basalen Bedingungen

Die diastolische Funktion unterscheidet sich zwischen den TNT-I79N und den TNT-WT nur in dem vor- und nachlastunabhängigen Parameter der enddiastolischen Druck-Volumen-Beziehung EDPVR. Sämtliche konventionelle Parameter der diastolischen Funktion konnten in dieser Studie die diastolische Dysfunktion nicht aufzeigen. Das

heißt also, dass sowohl der LVEDP wie auch Tau und die Relaxation dP/dt_{min} nicht signifikant verändert waren. Hieran ist erkennbar, dass die konventionellen Parameter wie der LVEDP eben durch eine veränderte Nachlast beeinflusst werden und so *in vivo* in diesem Tiermodell nicht sensitiv genug waren.

Der EDPVR gilt als einer der sensitivsten Parameter der diastolischen Funktion [62, 76]. Dabei gibt es unterschiedliche Wege, um diesen Parameter zu berechnen. Es gibt Möglichkeiten, aus einzelnen Herzschlägen ohne direkte Vorlastsenkung die EDPVR zu errechnen, allerdings gilt nur die direkte Erfassung der Relation aneinander folgender Herzschläge während einer Vorlastsenkung als genau und zuverlässig [46]. Daher bietet sich diese Messung besonders im Tiermodell an. Zur Berechnung der enddiastolischen Druck-Volumen-Beziehung gibt es unterschiedliche Wege: Es wird entweder eine lineare oder eine exponentielle Funktion durch die einzelnen enddiastolischen Druck-Volumen-Punkte gelegt. Diese Unterschiede bestehen traditionell vor allem wegen technischer Probleme aus den Zeiten der analogen Messung der Druck- und Volumen-Kurven. Heute ist es aber einfacher, durch mathematische Annäherungen eine genaue exponentielle Funktion durch diese Punkte zu legen und so genauere Analysen zu ermöglichen. In dieser Studie wurden beide Werte, also die lineare und die exponentielle Annäherung, berechnet. In der hier vorliegenden Studie ergaben sich allerdings keine Unterschiede. Beide Werte waren bei den TNT-I79N-Tieren im Vergleich zu den TNT-WT-Tieren erhöht.

Womit ist diese Erhöhung der Steifigkeit begründet?

Die enddiastolische Druck-Volumen-Beziehung kann sich aus unterschiedlichen Gründen verändern [46]. Diskutiert werden zum einen Veränderungen in der extrazellulären Matrix, wie zum Beispiel erhöhte kardiale Fibrose [77] und kardiale Hypertrophie [78], zum anderen Veränderungen im Kardiomyozyten [45, 79] selber. Da aber in diesem TNT-I79N Tiermodell schon gezeigt wurde, dass es keine Unterschiede in der kardialen Fibrose gibt und auch keine Anzeichen für kardiale Hypertrophie gefunden wurden [53] sind hier die Unterschiede im Kardiomyozyten direkt zu suchen. Die erhöhte Steifigkeit während der Diastole ist also unabhängig von Hypertrophie und Fibrose und direkt abhängig von der Troponin-T-Mutation. Der Grund scheint – ähnlich wie beim veränderten $dP/dt_{max:min}$ Ratio – in der unterschiedlichen Kalziumsensitivität und unterschiedlich schnellen Ablösung der Aktin-Myosin-Bindungen zu liegen. Diese verlängerte Bindung führt zu einer erhöhten Steifigkeit. So konnte in

dieser Studie also gezeigt werden, dass die Troponin-T-Mutation I79N direkten Einfluss auf die systolische und diastolische Funktion unter basalen Bedingungen hatte. Die Behandlung mit Diltiazem konnte die enddiastolische Druck-Volumen- Beziehung nicht normalisieren, das heißt, der positive Effekt durch die Behandlung von Diltiazem, der ausreichte, um den Ratio dP/dt max:min zu normalisieren, reichte hier nicht aus. Das kann unterschiedliche Gründe haben.

Eventuell könnte man bei einer höheren Dosierung des Diltiazems einen Effekt auf den EDPVR unter basalen Bedingungen erkennen, so dass die Hemmung des Ca²⁺-Einstroms durch den Antagonisten Diltiazem in der gewählten Dosierung nicht stark genug war. Auch wenn hierzu keine genauen Daten vorliegen, so konnte dennoch die Wirksamkeit der in dieser Studie gewählten Dosierung mehrfach an Mäusen gezeigt werden [43]. Auch reichte in dieser Studie die Dosierung aus, um die Mortalität während pharmakologischer Belastung signifikant zu reduzieren. Ein zweiter und wahrscheinlicher Grund könnte sein, dass es nicht allein die Kalziumsensitivität ist, welche die erhöhte Steifigkeit bewirkt. Vielmehr könnte ein Zusammenwirken von mehreren Faktoren zu dieser erhöhten Steifigkeit führen. Hier wäre zum Beispiel ein myocyte disarray denkbar, ebenso wie anatomische Unterschiede im Troponin T der transgenen Tiere, wodurch die Lösung der Aktin-Myosin-Bindung, besonders durch die erhöhte Kalziumsensitivität, erschwert würde [73]. Genaue Daten gibt es dazu in diesem Tiermodell jedoch noch nicht, so dass ein genauer Grund nicht herausgearbeitet werden kann. Weitere Studien werden diese Fragen jedoch angehen. Insgesamt sieht man also unter basalen Bedingungen Veränderungen in der systolischen und diastolischen Funktion der transgenen Tiere.

4.1.5. Systolische Funktion während pharmakologischer Belastung

Durch die pharmakologische Belastung mit Isoproterenol steigt die Herzfrequenz in allen Tiergruppen gleichmäßig auf Werte um 650 Schläge pro Minute an. Es ist also davon auszugehen, dass alle Tiere und damit alle Gruppen gleichmäßig „gestresst“ wurden. Unterschiede in der LV Funktion während der pharmakologischen Belastung hängen also nicht mit einer eventuell unterschiedlichen Belastung zusammen, sondern lassen direkt Ableitungen auf die zu Grunde liegende Troponin-T-Mutation zu. Auch ist in eigenen Vorstudien gezeigt worden, dass die Belastung in dieser Dosierung die

maximale Herzleistung provoziert. Isoproterenol führt zu einem massiven Kalziumeinstrom in die Zellen und es konnte gezeigt werden, dass in isolierten Myozyten mit der TNT-I79N-Mutation im Gegensatz zu den TNT-WT dieser Kalziumeinstrom noch einmal verstärkt war. Dadurch waren die diastolischen intrazellulären Kalziumspiegel bei den Tieren mit der TNT-I79N-Mutation im Vergleich zu den TNT-WT-Tieren deutlich erhöht [80].

In allen Gruppen steigen neben der Herzfrequenz auch der LVP und die Kontraktilität gleichmäßig und ohne Unterschiede an. Die erhöhte Kontraktilität unter basalen Bedingungen führt also nicht etwa zu einer erhöhten absolut möglichen Kontraktion. Das Herz der transgenen Tiere schlägt unter basalen Bedingungen stärker, das erreichte Maximum ist aber mit den TNT-WT identisch.

Die systolische Kontraktionskraft unterscheidet sich also in den Tieren 2 Minuten nach Beginn der pharmakologischen Belastung nicht. Anders hingegen sieht es mit dem kardialen Index und der Ejektionsfraktion aus. Beide Werte sind bei den TNT-I79N-Tieren deutlich reduziert und unterscheiden sich signifikant von ihren Wildtyp-Kontrollen. Diese Reduktion ist unter anderem mit einer Rechtsverschiebung der Druck-Volumen-Kurven zu erklären. Das endsystolische Volumen ist signifikant erhöht. Dadurch und auf Grund des nach 2 Minuten nur tendenziell erniedrigten Schlagvolumens sinkt die Ejektionsfraktion um mehr als die Hälfte. Erniedrigte Ejektionsfraktion und Abnahme des kardialen Index sind klare Anzeichen eines kardialen Versagens [81] und führen, wenn sie nicht kompensiert werden können, in ein Kreislaufversagen. Diese Reduktion der systolischen Pumpkraft ist bei den diltiazembehandelten TNT-I79N nicht zu beobachten. Hier ist durch die Diltiazembehandlung sowohl die Ejektionsfraktion also auch der kardiale Index im Vergleich mit den behandelten TNT-WT-Tieren normalisiert. Auch die Rechtsverschiebung mit Erhöhung des endsystolischen Volumens ist nicht zu beobachten. Diese Unterschiede werden in der diastolischen Funktion während der pharmakologischen Belastung noch deutlicher.

4.1.6. Diastolische Funktion während pharmakologischer Belastung

Die diastolische Funktion zeigt jetzt einen Anstieg des LVEDP, also eines konventionellen Parameters der diastolischen Funktion. Der unter basalen Bedingungen

noch normale und unveränderte Wert ist jetzt in den TNT-I79N deutlich erhöht und zeigt so das Herzversagen deutlich an. Dieser Anstieg des LVEDP ist schnell zu beobachten und besonders über eine im Vergleich zu den TNT-WT verkürzte Dauer der Diastole zu erklären. Eine verkürzte Diastole, in welcher der Druck im linken Ventrikel gering ist, kann jedoch katastrophale Auswirkungen auf die mögliche Zeit der Durchblutung des Herzens haben.

Interessanterweise ist Tau nicht verändert, obwohl auch hier dieser Unterschied zu erwarten gewesen wäre, da Tau den frühen Teil der Diastole charakterisieren soll [82]. Eine genaue Erklärung, warum dieser Teil der Diastole relativ ungestört zu sein scheint, kann mit den in dieser Studie vorliegenden Daten nicht gefunden werden. Erst Studien, die sich dem intrazellulären Kalziumhaushalt während Isopterenolstress widmen, könnten hier neue Erklärungen bringen. Denkbar wären einerseits Veränderungen von kalziumbindenden Proteinen wie dem intrazellulär liegenden Calsequestrin, andererseits Proteine, die unmittelbar mit der sarco(endo)plasmatischen Retikulum- Ca^{2+} -Pumpe (SERCA) in Verbindung stehen. Es wurde von Semsarian et al. gezeigt, dass Calsequestrin in Tieren mit hypertrophen Kardiomyopathie durch eine Mutation in der Beta heavy chain [43] herunterreguliert ist. Die gleiche Gruppe konnte auch zeigen, dass die Expression des Ryanoid-Rezeptors, eines weiteren wichtigen Rezeptors zur Kalziumregulierung in der Zelle, erniedrigt war. Dieses könnte während des Isoproterenolstress, von dem ja auch in diesem Tiermodell gezeigt wurde, dass er den Kalziumeinstrom erhöht [80], zu einer Akkumulation des intrazellulären Kalziums in den TNT-I79N führen und so die unter basalen Umständen schon auffällige kardiale Funktion aus dem Gleichgewicht bringen. Mit der Kumulation des Kalziums könnte die Vernetzung der Aktin-Myosineinheiten verlängert werden. Dadurch nimmt die Steifigkeit des linken Ventrikels immer mehr zu und so verkürzt sich bei erhöhter Herzfrequenz die Dauer der Diastole, in welcher der Druck im linken Ventrikel niedrig ist. Aber nur in dieser Zeit kann das Herz durchblutet werden.

Weniger Durchblutung des Herzens führt zu kardialer Ischämie und einem Versagen der systolischen und diastolischen Funktion. Das verstärkt die Ischämie weiter und führt so zur kardialen Dekompensation. Durch die Erhöhung der Herzfrequenz unter pharmakologischer Belastung wird dieser Mechanismus also angeworfen und verstärkt sich selbstständig. Das erklärt auch, warum Menschen mit hypertropher Kardiomyopathie besonders oft während körperlicher Belastung am plötzlichen Herztod

versterben [28, 83, 84]. Wir konnten während dieser Studie keine Hinweise für primäre und tödliche Arrhythmien feststellen, sondern sahen vielmehr einen raschen Anstieg des LVEDP mit folgendem langsamen Versagen der Herzfunktion mit fallendem LVP und sinkender Herzfrequenz. Dies führte nach Minuten der Bradykardie schließlich zum kompletten Herzversagen. In einigen Mäusen konnten während dieser Phase auch Rhythmusveränderungen in Form von kurzen ventrikulären Tachykardien beobachtet werden, allerdings entstanden diese erst während des Herzversagens und scheinen damit abhängig von der Ischämie zu sein. Diese nicht anhaltenden ventrikulären Tachykardien konnten auch in einem *ex-vivo*-Modell der TNT-I79N gezeigt werden [80]. Also zeigt diese Studie, dass die kardiale Dekompensation nicht primär arrhythmogen bedingt ist, sondern ein kardiales Pumpversagen im Vordergrund steht.

Dieses kardiale Versagen konnte durch die Behandlung mit Diltiazem aufgehalten werden. In der TNT-I79N-Diltiazem-Gruppe waren durch die Behandlung sowohl der LVEDP als auch die Ejektionsfraktion und der kardiale Index normalisiert. Die Rechtsverschiebung der Druck-Volumen-Kurven konnte dadurch verhindert werden. Doch wie lässt sich dieser Benefit des Ca²⁺-Kanal-Antagonisten Diltiazem erklären?

Es ist bekannt, dass Diltiazem die „long-lasting“ Kalziumkanäle am Herzen blockiert, also den Kalziumeinstrom in die Zelle vermindert [85]. Unter Isoproterenol ist der Einstrom erhöht, doch auch hier könnte Diltiazem diesen verringern.

In dieser Studie ist der Kalziumeinstrom während der pharmakologischen Belastung durch Isoproterenol nicht direkt gemessen worden. Man kann aber spekulieren, dass Diltiazem diesen Einstrom verringern konnte und so der Kalziumhaushalt stabilisiert wurde. Verringerung des Kalziumgehalts im Myozyten während der Isoproterenoleinwirkung konnte in anderen Studien bisher nur durch den Ca²⁺-Kanal-Antagonisten Verapamil gezeigt werden [86]. In weiteren Studien muss diese Hypothese allerdings konkret überprüft werden.

4.1.7. Mortalität

Im Gegensatz zur TNT-WT-Gruppe starben nach der pharmakologischen Belastung alle TNT-I79N-Tiere. Dieser dramatische Unterschied zeigt die Gefahr der Troponin-T-Mutation I79N auf und spiegelt gleichzeitig das bekannte Bild bei Menschen mit dieser Mutation wider. Auch hier ist die Inzidenz des plötzlichen Herztodes stark erhöht. In

dieser Studie scheint die pharmakologische Belastung dabei immer der Auslöser dafür zu sein. Die erhöhte Mortalität durch Isoproterenol konnte schon vorher anhand dieses Tiermodells gezeigt werden [80], allerdings waren die Gründe bisher unklar. Wir konnten demonstrieren, dass der plötzliche Herztod durch ein kardiales Pumpversagen ausgelöst wird und Arrhythmien nur Folge und eben nicht Ursache dieses Herztodes sind. Durch Diltiazem konnte dieses kardiale Pumpversagen verhindert werden und folgerichtig auch der plötzliche Herztod signifikant reduziert werden.

4.2. Bedeutung dieser Studie

Die hypertrophe Kardiomyopathie resultiert aus unterschiedlichen Mutationen am kontraktilem Apparat des Herzens. Einige dieser Mutationen gehen mit einer deutlich erhöhten Inzidenz des plötzlichen Herztodes einher: die Troponin-T-Mutationen. Daher nehmen diese eine besondere Stellung ein. Wie man diese Mutationen behandelt ist durch fehlende klinische Studien unklar. Hier könnten Studien, die transgen veränderte Tiermodelle nutzen, Abhilfe schaffen sowie pharmakologische Interventionen testen und eine eventuelle Verbesserung in Bezug auf das katastrophalste Ereignis, den plötzlichen Herztod, feststellen. Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass durch Diltiazem die Inzidenz des plötzlichen Herztodes signifikant reduziert werden konnte. Diese Aussage ließe sich ohne Tiermodelle nur nach Studien an großen Patientenkollektiven treffen. Daher könnte die Aussage dieser Studie auch auf die pharmakologische Therapie von Patienten mit hypertropher Kardiomyopathie Einfluss haben.

Zusätzlich erweitert diese Studie das Wissen um die Pathophysiologie der kardialen Funktion bei der Troponin-T-Mutation. Nur durch diese *in-vivo*-Studie konnte geklärt werden, dass die diastolische Dysfunktion unter basalen Bedingungen ein Hinweis auf das kardiale Herzversagen während der pharmakologischen Belastung ist. Dieses kardiale Herzversagen führt schließlich zum plötzlichen Herztod. Arrhythmien stehen dagegen im Hintergrund und treten nur als Folge auf.

Weiterhin ist durch die Benutzung des Konduktanzkatheters gezeigt worden, dass eine genaue Evaluierung der kardialen Funktion am besten durch die Analyse der Druck-Volumen-Kurven und vor allem der Druck-Volumen-Kurven-Relationen möglich ist.

Besonders die Darstellung der diastolischen Funktion ist durch den Einsatz von Druck-Volumen-Kathetern verbessert worden.

4.3. Einschränkungen dieser Studie

Eine Einschränkung dieser Studie ist ihre Spezifikation auf die Troponin-T-Mutation I79N. Nur diese Mutation stand im Mittelpunkt der Studie. Es ist nicht geklärt, ob sich die hier gewonnenen Informationen auf die Klasse der Troponin-T-Mutationen oder sogar auf andere Mutationen der hypertrophen Kardiomyopathien übertragen lassen.

Zudem können Patienten mit einer Troponin-T-Mutation zurzeit in der Klinik nur schwer identifiziert werden, da Genanalysen in der Klinik zurzeit nicht routinemäßig etabliert sind.

Der Einsatz von Tiermodellen ist zwar wie beschrieben fast die einzige Möglichkeit um die einzelnen Mutationen pathophysiologisch aufzuklären, aber natürlich ist das Herzkreislaufsystem bei der transgenen Maus nicht direkt auf die Situation des Patienten zu übertragen. Nicht nur die völlig veränderte Herzfrequenz, sondern auch die Narkose könnte erhebliche Abweichungen erzeugen und damit das Übertragen der Ergebnisse auf Patienten deutlich erschweren.

Der Erfolg der Medikation von Diltiazem konnte in dieser Studie nur beschrieben, aber noch nicht aufgeklärt werden. Hier müssen weitere Studien die genauen Veränderungen des Kalziumhaushaltes der Kardiomyozyten untersuchen. Es wurde auch noch kein Vergleich zwischen unterschiedlichen Medikamenten, wie zum Beispiel Beta-Blocker oder Amiodaron, untersucht. Hier könnte sich herausstellen, dass andere Medikamente die Herzfunktion und die Inzidenz des plötzlichen Herztodes noch wirksamer bekämpfen können.