

**Aus der Franz-Volhard-Klinik Charité Campus Buch
der Medizinischen Fakultät der Charité - Universitätsmedizin Berlin**

DISSERTATION

**Die Entwicklung des myokardialen Hypertrophiebildes im
Magnetokardiogramm und die Veränderungen unter dem AT₁-Antagonisten
Losartan in einem transgenen Rattenmodell**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité -
Universitätsmedizin Berlin

von

Konstanze Gruner
geb. Schulz
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. R. Dietz
2. Prof. Dr. med. B. Hailer
3. Priv.-Doz. Dr. rer. nat. D. Müller

Datum der Promotion: 22.06.2007

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	IV
1 Einleitung	1
1.1 Die Bedeutung der Herzhypertrophie für die Pathophysiologie myokardialer Erkrankungen	2
1.2 Experimentelle Hypertrophiemodelle	4
1.3 Die Bedeutung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems für die myokardiale Hypertrophie.....	5
1.3.1 Pharmakologische Beeinflussung des RAAS.....	8
1.4 Die Magnetokardiographie.....	9
1.4.1 Entwicklung der Magnetokardiographie und deren Anwendung.....	9
1.4.2 Elektrophysiologische Grundlagen der Magnetokardiographie.....	10
1.4.3 Prinzip der biomagnetischen Messung.....	13
1.4.4 Tierexperimentelle biomagnetische Messungen am Herzen	14
1.5 Ziel der vorliegenden Studie	15
2 Methodik	16
2.1 Versuchstiere.....	16
2.1.1 Sprague-Dawley-Ratten.....	16
2.1.2 Doppeltransgene Ratten.....	16
2.2 Studienprotokoll.....	17
2.3 Diagnostische Untersuchungsmethoden	18
2.3.1 Magnetokardiographie.....	18
2.3.1.1 Technische Voraussetzungen.....	18
2.3.1.2 Durchführung der Magnetokardiographie.....	21
2.3.1.3 Auswertung der Magnetokardiographie.....	21
2.3.2 Echokardiographische Untersuchung.....	27
2.3.3 Nicht-invasive Blutdruckmessung.....	27
2.3.4 Albuminuriebestimmung.....	28
2.3.5 Körper-, Herz- und Nierengewichtsbestimmung.....	28
2.4 Statistische Auswertung	29
3 Ergebnisse	30
3.1 Ergebnisse der Magnetokardiographie.....	30
3.1.1 Magnetokardiographische Veränderungen über den gesamten Zeitverlauf für dTGR, dTGR/Los und SD	30

3.1.1.1	Parameter IHi	30
3.1.1.2	Parameter max-min	33
3.1.1.3	Winkel	37
3.1.2	Das magnetokardiographische Bild der Hypertrophieentwicklung der dTGR im Vergleich zu den SD-Kontrollen	40
3.1.2.1	Vierte Woche.....	40
3.1.2.2	Fünfte Woche	42
3.1.2.3	Siebte Woche.....	44
3.1.3	Der Einfluss der medikamentösen Therapie mit Losartan auf das magnetokardiographische Bild der Hypertrophieentwicklung der dTGR.....	46
3.1.3.1	Vierte Woche.....	46
3.1.3.2	Fünfte Woche	48
3.1.3.3	Siebte Woche.....	50
3.1.4	Die magnetokardiographischen Veränderungen durch den Einfluss des Losartans auf die dTGR- im Vergleich zu den SD-Kontrolltieren	52
3.1.4.1	Vierte Woche.....	52
3.1.4.2	Fünfte Woche	54
3.1.4.3	Siebte Woche.....	56
3.2	Die Auswirkung der Losartantherapie auf das doppeltransgene Rattenmodell	58
3.2.1	Blutdruckmessung	58
3.2.2	Gewichtsbestimmung	59
3.2.3	Echokardiographie.....	60
3.2.4	Albuminurie.....	61
3.2.5	Mortalität	62
4	Diskussion	63
4.1	Die doppeltransgenen Ratten – ein gut charakterisiertes Tiermodell für die myokardiale Hypertrophie.....	63
4.2	Die Magnetokardiographie als nicht-invasives Monitoring der Hypertrophieentwicklung	64
4.3	Die Magnetokardiographie als nicht-invasives Monitoring bei der medikamentösen Intervention mit Losartan	69
4.4	Die Auswirkung des Remodelings und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems auf die Endorganschädigung	73
4.5	Limitation der Studie.....	75

4.6	Perspektive der Studie.....	76
5	Zusammenfassung.....	77
6	Literaturverzeichnis.....	79
7	Anhang.....	91
7.1	Lebenslauf.....	91
7.2	Eidesstattliche Erklärung.....	92
7.3	Danksagung.....	93

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-Converting Enzyme
ARB	Angiotensinrezeptorblocker
AT ₁ -Rezeptor	Angiotensin ₁ -Rezeptor
AT ₂ -Rezeptor	Angiotensin ₂ -Rezeptor
ATPase	Adenosintriphosphatase
DEPC	Deethyl-Pyrovat-Carbonat
dTGR	doppeltransgene Ratten mit einer Überexpression von humanen Renin und Angiotensinogen
dTGR/Los	doppeltransgene Ratten mit einer Überexpression von humanen Renin und Angiotensinogen unter Losartanbehandlung
EKG	Elektrokardiogramm
ESC	European Society of Cardiology
HOPE	Heart Outcomes Prevention Evaluation
IHi	Inhomogenitätsindex
IVS	Interventrikularseptum
LIFE	Losartan Intervention For Endpoint reduction
LV	linker Ventrikel
LV EF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LV%FS	linksventrikuläre prozentuale systolische Verkürzungsfraktion
LVEDD	enddiastolischer linksventrikulärer Durchmesser
LVESD	endsystolischer linksventrikulärer Durchmesser
LVHW	linksventrikuläre Hinterwand
max-min	Addition der Beträge von den Magnetfeldstärken V _{min} und V _{max}
MKG	Magnetokardiographie
M-Mode	Ultraschalldiagnostikverfahren mit Motion-Modulation
QRS _{Gesamt}	Zeitintervall von 0 bis 20 ms
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
R _{Spitze}	Zeitintervall von 8 bis 12 ms
SD	Sprague-Dawley-Ratten
SHR	Spontan Hypertensive Ratten
SQUID	Supraleitende-Quanten-Interferenz-Detektoren

STT	Zeitintervall von 20 bis 25 ms
T _{Ende}	Zeitintervall von 60 bis 70 ms
V _{min/max}	Magnetfeldstärkenminimum/–maximum
WHO	Weltgesundheitsorganisation (World Health Organisation)
X _{min/max}	Minimum bzw. Maximum der X-Koordinate des Magnetfeldes
Y _{min/max}	Minimum bzw. Maximum der Y-Koordinate des Magnetfeldes

5 Zusammenfassung

Im Prozess der Herzinsuffizienzentwicklung und der Entstehung von malignen Herzrhythmusstörungen spielt die myokardiale Hypertrophie eine zentrale Rolle. Durch eine frühzeitige Diagnosestellung kann der Hypertrophie auf medikamentösem Wege meist entgegengewirkt und so die Endorganschäden reduziert werden. Dadurch kann die Lebensqualität und die Prognose des Patienten entschieden verbessert werden.

Ziel dieser Arbeit war es, Aussagen über das elektrische Remodeling der myokardialen hypertoniebedingten Hypertrophieentwicklung an einem doppeltransgenen Rattenmodell (Überexpression von humanen Renin und Angiotensinogen) mit Hilfe der Magnetokardiographie (MKG) zu treffen. Das elektrische Remodeling beschreibt Veränderungen auf der Basis von Ionenkanälen, die die elektrischen Ströme beeinflussen. Bei einem hypertrophierten Herzen nehmen die tangential verlaufenden Ströme zu. Das MKG ist hierfür sehr sensitiv und ist daher sehr gut geeignet, um hypertrophiebedingte Veränderungen zu erkennen. Des Weiteren ist die Magnetokardiographie eine nicht-invasive, kostengünstige und zeitsparende Methode.

In dieser Studie wurden neben einer Kontrollgruppe von Sprague-Dawley-Ratten (SD) MKG-Messungen an doppeltransgenen Ratten (dTGR) durchgeführt. Weiterhin wurde die Wirkung des AT_1 -Antagonisten Losartan an den dTGR getestet.

Es konnte zunächst gezeigt werden, dass die dTGR aufgrund der Überexpression von humanen Renin und Angiotensinogen eine arterielle Hypertonie, eine myokardiale Hypertrophie und Nierenschäden entwickelten. Diese pathologischen Prozesse wurden mittels Blutdruckmessung, der Albuminuriebestimmung und der Echokardiographie nachgewiesen.

Über den Zeitraum zwischen der 4. und 7. Lebenswoche zeigten die dTGR im Vergleich zu den SD in den MKG-Messungen signifikante Unterschiede. Diese wurden insbesondere über die magnetokardiographischen Parameter des Inhomogenitätsindex (IHi), der Addition der absoluten Werte des Maximums und Minimums der Magnetfeldstärken (max-min) und des Winkels, welcher durch die Positionen der Extrempunkte und durch die Rechts-Links Linie des Torsos bestimmt wird, detektiert. Die verwandten Zeitintervalle (QRS_{Gesamt} : 0-20 ms, R_{Spitze} : 8-12 ms, STT: 20-25 ms, T_{Ende} : 60-70 ms) wurden zur Unterscheidung von De- und Repolarisationsvorgängen ausgewählt.

Zu Beginn (4. Woche) zeigten sich hochsignifikante Repolarisationsveränderungen, insbesondere im IHi und im max-min im Intervall STT und im IHi und Winkel bei T_{Ende} . Ein Grund hierfür liegt in der Wirkung von Angiotensin II. Es verursacht eine Zunahme der

Dispersion der kardialen Repolarisation und inhibiert in ventrikulären Rattenmyozyten den transienten K^+ -Auswärtsstrom. Dies bewirkt eine Zunahme der Aktionspotentialdauer und eine Verlängerung der Repolarisationszeit, die sich in den Intervallen STT und T_{Ende} widerspiegelt.

In folgenden MKG-Messungen (5.-7. Woche) wurde in der Depolarisationsphase (QRS_{Gesamt} und R_{Spitze}) eine hochsignifikante Veränderung im IHi und im max-min-Wert festgestellt, ebenfalls war der Winkel in QRS_{Gesamt} signifikant verändert. Der pathophysiologische Hintergrund liegt in der Größenzunahme der Kardiomyozyten, die die Intensität der Magnetfeldstärke erhöht. Angiotensin II wirkt dabei als Wachstumsfaktor. Ebenfalls beeinflusst Angiotensin II die Elektrophysiologie über Veränderungen der aktiven und passiven Eigenschaften des Myokards wie z.B. der Leitungsgeschwindigkeit, der Gap junction-Verteilung und der Ionenkanalexpression. Es resultiert eine, in den genannten Parametern detektierte Zunahme der Depolarisationszeit.

Durch die Applikation des AT_1 -Antagonisten Losartan konnte eine fast vollständige Unterbindung der Hypertrophieentwicklung der dTGR erzielt werden, die damit annähernd wildtypische (SD) Werte in den einzelnen Parametern aufwies. Die Wirkung von Losartan zeigte sich auch im direkten Vergleich zwischen dTGR und dTGR/Los, die sich in der Repolarisationsphase (STT und T_{Ende}) in den Parametern IHi, max-min und Winkel signifikant voneinander unterschieden. Die Therapie mit Losartan kann somit das elektrische Remodeling im Rahmen der Hypertrophieentwicklung vermindern bzw. verhindern. AT_1 -Antagonisten modifizierten K^+ -Kanäle und wirken so direkt auf das elektrische Remodeling ein. Des Weiteren fördern sie die über den AT_2 -Rezeptor vermittelte Angiotensin II-Wirkung der Hemmung der Wachstumsfaktor-induzierten Proliferation, der Supprimierung der Myozytenhypertrophie und der Verminderung des Wachstums von kardialen Fibroblasten.

Anhand dieser Arbeit konnte erstmalig ein magnetokardiographisches Hypertrophiemodell an der doppeltransgenen Ratte aufgestellt werden. Mit Hilfe dieses Modells ist es möglich, direkte pharmakologische Einflüsse auf das elektrische Remodeling, z.B. mit einem AT_1 -Antagonisten (Losartan), zu untersuchen.

7 Anhang

7.1 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

7.2 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Konstanze Gruner, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Die Entwicklung des myokardialen Hypertrophiebildes der Ratte im Magnetokardiogramm und die Veränderungen unter dem AT₁-Antagonisten Losartan“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, Juli 2006

Konstanze Gruner

7.3 Danksagung

Mein großer Dank gilt allen Mitarbeitern der Franz-Volhard-Klinik der Charité Campus Berlin-Buch und des Max-Delbrück-Centrums in Berlin, die es mir ermöglicht haben, diese Arbeit zu schreiben.

Ganz besonders danke ich Herrn Prof. Dr. Rainer Dietz für die Überlassung des Themas und für seine Unterstützung.

Herrn OA Dr. Alexander Schirdewan möchte ich für seine freundliche Betreuung, seine Denkanstöße und Ideen bei der Arbeit danken.

Ebenfalls möchte ich ein herzliches Dankeschön Andre Gapelyuk und Dr. Robert Fischer sagen, die mir mit ihrer Unterstützung bei der Durchführung der magnetokardiographischen Aufnahmen und der Auswertung der entsprechenden Parameter halfen und mich in allen Fragen hilfreich beraten haben.

Mein Dank gilt auch PD Dr. Niels Wessel für die Zusammenarbeit bei der statistischen Auswertung sowie für die anregenden Fragen. Ebenso danke ich Astrid Schiche, Jutta Meisel, Georg Hilfenhaus, Bianca Sawitzki und Amanda Storm für die freundliche Unterstützung.

Abschließend danke ich von ganzem Herzen meiner Familie und meinem Mann. Sie haben mich die ganze Zeit liebevoll unterstützt, ermutigt. Meinem Mann möchte ich besonders für seine vielen Aufmunterungen und seine Liebe danken.