

## 4 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, die Hypertrophieentwicklung des Herzens magnetokardiographisch an der doppeltransgenen Ratte (dTGR) zu detektieren und die Veränderungen unter pharmakologischer Intervention mit Losartan zu beschreiben. Um Rückschlüsse aus der MKG-Registrierung auf morphologische Veränderungen am Herzen schließen zu können, wurde zunächst auf das doppeltransgene Rattenmodell eingegangen.

### 4.1 Die doppeltransgenen Ratten – ein gut charakterisiertes Tiermodell für die myokardiale Hypertrophie

In den 90iger Jahren entwickelte die Arbeitsgruppe um Ganten, Dietz und Luft durch Kreuzen von zwei Rattenstämmen die doppeltransgenen Ratten. Der eine transgene Tierstamm exprimiert humanes Renin, der andere humanes Angiotensinogen. Daraus ergab sich ein Stamm mit einer Überexpression von humanen Renin und Angiotensinogen [Bohlender et al. 1997].

Charakteristisch für diese Tiere war eine Entwicklung von systolischen Blutdruckwerten in der siebten Lebenswoche um 200 mmHg. Die Kontrolltiere (Sprague Dawley Ratten) hatten um 80 mmHg niedrigere Werte ( $107 \pm 2$  mmHg,  $p < 0,001$ ) [Theuer et al. 2002].

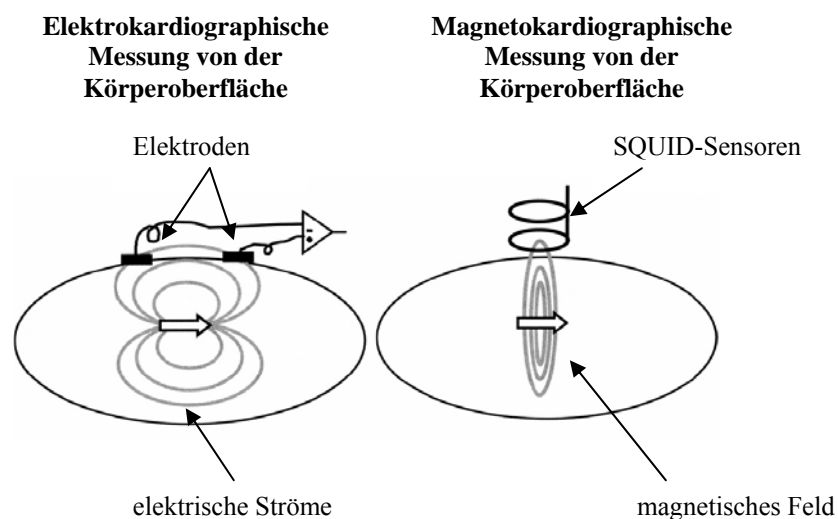
Das Herzgewicht war bei den dTGR im Alter von 7 Wochen stark erhöht und der linke Ventrikel sichtbar hypertrophiert. Der Durchmesser der Herzmuskelzelle zeigte eine 20%ige Vergrößerung gegenüber den Kontrollzellen. Im Alter von 7 Wochen wiesen die Herzen der dTGR histologisch eine geringe interstitielle Fibrose und fokale Nekrosen auf.

In der vorliegenden Arbeit bestätigten sich die Ergebnisse erneut, so dass Angiotensin II u.a. für die Herzhypertrophie und den erhöhten Blutdruck verantwortlich gemacht werden kann. Die Blutdruckwerte nahmen stetig zu, bis sie bei  $206 \pm 27$  mmHg lagen (s. Tab. 11). Die Zunahme der Herzmuskelmasse zeigte sich bei der Gewichtsbestimmung (s. Tab. 12). Diese Werte glichen denen von Theurer et al. [Theuer et al. 2002]. Die Kontrolltiere (SD) lagen mit ihrem Herzgewicht deutlich unter den dTGR-Herzen. Die echokardiographische Untersuchung bestätigte ebenfalls die Herzhypertrophiebildung der dTGR (s. Tab. 13).

## 4.2 Die Magnetokardiographie als nicht-invasives Monitoring der Hypertrophieentwicklung

Mit Hilfe der Magnetokardiographie können elektrophysiologische Veränderungen nicht-invasiv registriert werden. Cohen und Kaufman untersuchten die MKG-Veränderungen unter Ischämiebedingungen am Herzen von Hunden [Cohen und Kaufman 1975]. Einige Jahre später bewiesen Vincent et al. elektrokardiographisch diese gemessenen elektrophysiologischen Vorgänge invasiv auf zellulärer Ebene [Vincent et al. 1977]. Sie registrierten dabei die durch Ischämie entstandenen Verletzungsströme mittels EKG-Elektroden, die invasiv in der Zelle platziert wurden. Anhand dieser Erkenntnis konnte experimentell nachgewiesen werden, dass das MKG in der Lage ist, elektrische zelluläre Vorgänge regelrecht und nicht-invasiv zu detektieren.

Das MKG liefert gegenüber dem EKG zusätzliche Informationen. Die EKG-Registrierung beruht in der Aufnahme der elektrischen Signale, die vor allem radial verlaufen [Siltanen 1989]. Der Hauptvektor der ventrikulären Aktivität des normalen Herzens verläuft in dieser Richtung. Bei einem hypertrophierten Herzen nehmen die tangentialen Ströme zu. Diese werden magnetokardiographisch besser erfasst, da das MKG eine größere Sensitivität für tangential zum Thorax verlaufenden Ströme besitzt (s. Abb. 26) [Siltanen 1989]. Daher stellt das MKG eine sinnvolle Methode dar, um Veränderungen in der Herzhypertrophieentwicklung, wie sie bei den dTGR stattfinden, zu detektieren.



**Abb. 26:** Die Aufnahme der elektrischen EKG-Signale (links im Bild) beruht auf dem vor allem radial verlaufenden elektrischen Hauptvektor. Die „normale“ ventrikuläre Aktivität des Herzens verläuft in dieser Richtung. Bei einem hypertrophierten Herzen nehmen die tangentialen Ströme zu. Diese werden besser durch das MKG erfasst (rechts).

Zur Beschreibung des Hypertrophie-modells wurden die in dem Methodikteil beschriebenen magnetokardiographischen Parameter in dieser Arbeit verwendet. Dabei kristallisierten sich in der Untersuchung die Parameter des Inhomogenitätsindex IHi, max-min (Addition der absoluten Magnetfeldstärken des Maximums und des Minimums) und der Winkel als gutes Kriterium zur Differenzierung zwischen den Gruppen heraus. Die übrigen gemessenen Hilfsgrößen finden sich in diesen wieder. Der Winkel ist eine errechnete Größe zwischen der rechts-links Linie des Torsos und der Verbindungslinie der Magnetfeldextrema. Er wurde durch die Koordinaten  $X_{\min/\max}$  und  $Y_{\min/\max}$  bestimmt. Max-min ergab sich aus den Parametern des Magnetfeldstärkenmaximum  $V_{\max}$  und des -minimum  $V_{\min}$ .

Die in der vorliegenden Studie gewählten vier Zeitintervalle sind aus pathophysiologischer Sicht sinnvoll (s. Abb. 16). Der  $QRS_{\text{Gesamt}}$ -Komplex resultiert aus der Depolarisation des Myokards, die  $R_{\text{Spitze}}$  steht für die maximale Erregung der Ventrikel. Die STT-Strecke reflektiert die anschließende Repolarisation, wobei  $T_{\text{Ende}}$  den Zeitpunkt der vollständigen Erregungsrückbildung repräsentiert. Es wurde durch andere Studien gezeigt, dass sich die QRS-Fläche und das T-Wellen-Integral durch die Hypertrophie verändern [Karvonen et al. 2002, Comani et al. 2004].

Ziel dieser Arbeit war es, die elektrischen Signale der myokardialen Hypertrophieentwicklung anhand des doppeltransgenen Rattenmodells mittels MKG zu detektieren. Um die Veränderungen über die Zeit zu erkennen, wurden die dTGR mit den Kontrolltieren (SD) zu unterschiedlichen Zeitpunkten verglichen. Die magnetokardiographische Registrierung beschreibt elektrophysiologische Vorgänge im Herzen, die einen elektrischen Remodelingprozess charakterisieren und parallel zu dem strukturellen Remodeling ablaufen, basierend auf der Hypertrophieentwicklung und deren Auswirkungen.

In der vierten Woche zeigten sich magnetokardiographisch in der Depolarisationsphase in den drei ausgewählten Parametern (IHi, max-min, Winkel) keine signifikanten Unterschiede zwischen der dTGR-Gruppe und den SD-Tiere (s. Tab. 2). Einige gemessene Repolarisationsveränderungen waren zu diesem Zeitpunkt hochsignifikant verschieden. Es zeigten sich große Unterschiede in den Parametern IHi und max-min in STT und für IHi und den Winkel in  $T_{\text{Ende}}$ . Die T-Welle erschien in den MKG-Zeitverlaufskurven der Parametern IHi und max-min später und verschob sich insgesamt nach rechts.

Ursächlich für die Repolarisationsänderungen könnten sich die Frühschäden, die durch die Überexpression von Renin und Angiotensinogen entstehen, zeigen. Angiotensin II bewirkt eine Zunahme der Dispersion der kardialen Repolarisation [Delpón et al. 2005]. In ventrikulären

Rattenmyozyten inhibiert Angiotensin II den transienten  $K^+$ -Auswärtsstrom und bewirkt auf diese Weise eine Zunahme der Aktionspotentialdauer [Caballero et al. 2004]. Dadurch wird die Repolarisationszeit verlängert. Magnetokardiographisch wirkte sich dies auf die Veränderungen des IHi und max-min in STT und  $T_{\text{Ende}}$  aus. Die Wirkung des Angiotensins auf die Depolarisation war zu diesem Zeitpunkt noch nicht erkennbar.

Zum Zeitpunkt der 5 Wochen alten Ratten veränderte sich die QRS-Amplitude der dTGR in den MKG-Zeitverlaufskurven, indem sie in den Parametern des IHi und max-min eine Zunahme der Zweigipfligkeit mit Erhöhung der zweiten Spitze entwickelte (s. Abb. 18, 20). Die Werte für  $QRS_{\text{Gesamt}}$  und  $R_{\text{Spitze}}$  dieser zwei Parameter unterschieden sich hochsignifikant zwischen den SD und dTGR (s. Tab. 3). Der Winkel zeigte einen signifikanten Unterschied in  $QRS_{\text{Gesamt}}$ . Die Repolarisationsänderungen in STT und  $T_{\text{Ende}}$  trennten die beiden Gruppen signifikant. In den MKG-Zeitverlaufskurven der Parameter verschob sich die T-Welle weiter nach rechts.

Der hochsignifikante Unterschied der Depolarisationsparameter kann mit der Größenzunahme der Kardiomyozyten und damit der wachsenden Magnetfeldstärke erklärt werden. Dies hat direkten Einfluss auf IHi und max-min. Es ist vergleichbar mit dem elektrokardiographischen Hypertrophiezeichen des Sokolow-Lyon-Indexes oder des Cornell Produktes. Diese spiegeln die Voltzunahme der ventrikulären Depolarisation bei der myokardialen Hypertrophie wieder.

Veränderungen in den aktiven und passiven Eigenschaften des Myokards wie z.B. der Leitungsgeschwindigkeit, der Gap junction-Verteilung und der Ionenkanalexpression tragen ebenfalls zu der Zunahme der Depolarisationszeit bei. Die Expression der Gap junctions und Ionenkanäle ist während der initialen und kompensierten Phase der Hypertrophie hochreguliert [Teunissen et al. 2004]. Ziel ist es durch die Zunahme der Ionenkanäle, die Erregungszeit trotz verlängerten Weges aufrechtzuerhalten. Ab einem gewissen Punkt ist dies nicht mehr möglich, so dass es länger dauert, bis alle Zellen erregt sind. Es resultiert die im MKG registrierte Depolarisationsverlängerung. Angiotensin II trägt selbst über den  $AT_1$ -Rezeptor durch eine Leitungsgeschwindigkeitsabnahme des  $Na^+$ -Einwärtsstroms zusätzlich zur Depolarisationsverlängerung bei [Delpón et al. 2005].

Verschiedene Studien konnten bereits darauf hindeuten, dass das Renin-Angiotensin-System bei einer Druckbelastung des Herzens aktiviert ist und zur kardialen Hypertrophie beiträgt [Wendell et al. 2000]. Die Angiotensin-Wirkung wurde dabei indirekt durch ACE-Hemmer-Applikation nachgewiesen. Es konnte aufgrund der Blockade dieses Systems eine Regression in der

linksventrikulären Hypertrophie beobachtet werden [Schelling et al. 1991]. Diese fand selbst bei Dosierungen statt, die den Blutdruck nicht beeinflussten.

Angiotensin II selbst wirkt über die Aktivierung des AT<sub>1</sub>-Rezeptors als Wachstumsfaktor. Es stimuliert die Erhöhung der Expression von fetalen Genen (unter anderem c-fos, c-jun, Egr-1, c-myc) [Sadoshima und Izumo 1993]. Sadoshima et al. bewiesen dies, indem sie kultivierten Kardiomyozyten neonataler Ratten Angiotensin II verabreichten. Über dessen Bindung an dem AT<sub>1</sub>-Rezeptor kam es hier zu einer Hypertrophieentwicklung [Sadoshima und Izumo 1993a, Schunkert et al. 1995].

Die Ursache dafür, dass sich ein zweiter Gipfel in der Depolarisation ausbildet, kann in der verzögerten Erregungsausbreitung im linken Ventrikel liegen. Dieser hat im Vergleich zum rechten Ventrikel jetzt an Masse zugenommen. Die Zellmassenzunahme findet vor allem in der lateralen Richtung statt [Olivetti et al. 2000]. Es wird mehr Zeit benötigt, bis die Erregungsfront alle Zellen erreicht und depolarisiert hat, so dass sich die Depolarisation in den MKG-Messungen verbreitert.

Die Veränderung der magnetokardiographischen Repolarisation kann wie oben beschrieben durch Angiotensin II bedingt sein, das eine Zunahme der Dispersion der kardialen Repolarisation bewirkt [Delpón et al. 2005]. Angiotensin II verzögert auch die Leitung als Resultat von Zell-zu-Zell-Entkopplung. Durch eine Verlängerung des ventrikulären Aktionspotentials nimmt die Refraktärperiode zu. Die Gefahr von frühen und späten Nachdepolarisationen steigt. Diese können zu lebensbedrohlichen Arrhythmien führen. Die Ursache für die Aktionspotentialverlängerung wird aktuell noch erforscht. Man geht davon aus, dass sie neben der oben erwähnten K<sup>+</sup>-Kanalinhibition im Falle der Hypertrophie Folge der Hochregulierung des Ca<sup>2+</sup>-Einwärtsstroms ist [Hill 2003]. Es existieren Hinweise, dass die Dichte des L-Typ Ca<sup>2+</sup>-Stroms in einem antiproportionalen Verhältnis zu dem Schweregrad der Hypertrophie oder ventrikulären Dysfunktion steht. Dies bedeutet, dass in einer moderaten Hypertrophie diese Ströme vermehrt auftreten, während sie bei einer schweren Hypertrophie, die vor oder in der Dekompensation steht, vermindert registriert werden [Armoundas et al. 2001].

Einen weiteren Beitrag zur vermehrten Akkumulation von Ca<sup>2+</sup> in der moderat hypertrophierten Zelle liefert der Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>-Austauscher. Seine Funktion besteht in dem Transport von drei Na<sup>+</sup>-Ionen in die Zelle mit einer gleichzeitigen Ausschleusung von einem Ca<sup>2+</sup>-Ion aus der Zelle. Bei der kompensierten myokardialen Hypertrophie ist die Funktion des Transporters vermindert [Mitarai et al. 2000], während bei der Herzinsuffizienz in vielen Studien eine Zunahme seiner

Aktivität beschrieben wurde [Flesch et al. 1996]. Dieser Funktionsminderung in der moderat hypertrophierten Zelle resultiert in einer intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationssteigerung mit Speicherung im sarkoplasmatischen Retikulum. Dadurch wird die systolische Pumpleistung der Zelle gesteigert. Es wird die Hypothese diskutiert, dass die darauf folgende  $\text{Ca}^{2+}$ -Überladung der Zelle zur Progredienz der Entwicklung einer Herzinsuffizienz führt [Hill 2003]. Zunächst trägt die zunehmende intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration zur positiven Inotropie bei. Langfristig verändert sich das Aktionspotential.

In der 7. Woche zeigte sich in  $\text{QRS}_{\text{Gesamt}}$  eine hochsignifikante Trennung der dTGR von SD in den Parametern max-min und dem Winkel (s. Tab. 4). Im Winkel war der  $R_{\text{Spitze}}$ -Wert ebenfalls signifikant verschieden. IHi zeigte keine signifikanten Unterschiede. In der Repolarisationszeit blieb die Rechtsverlagerung des zweiten Anstiegs der MKG-Zeitverlaufskurven erhalten und die Amplitude nahm wie vorher an Höhe ab (s. Abb. 18, 20). Signifikante Unterschiede zwischen dTGR und SD zeigten sich in STT bei max-min und im Winkel, in  $T_{\text{Ende}}$  beim IHi und in max-min.

Diese hochsignifikanten Unterschiede der beiden Gruppen in der Depolarisationszeit können auf der Zunahme der Magnetfeldstärke im Zusammenhang mit der Angiotensin vermittelten Zellhypertrophie der Kardiomyozyten basieren (s. 5. Woche).

In geringem Maße kann eine leichte Fibroseentstehung zur Veränderung der elektrophysiologischen Eigenschaften beitragen. Im Kapitel 4.1 wurde erwähnt, dass die dTGR histologisch eine geringe interstitielle Fibrose und fokale Nekrosen im Alter von 7 Wochen aufweisen. Angiotensin II vermittelt diese vermehrte Produktion von Typ I und III Kollagen während des myokardialen strukturellen Remodelings [Gonzalez et al. 2004]. Es wird angenommen, dass Aldosteron bei der Induzierung von kardialer Fibrose ebenfalls eine bedeutende Rolle einnimmt, deren genauerer Mechanismus noch Gegenstand aktueller Forschungen ist. Die Annäherung der IHi-Werte in der Depolarisation zwischen beiden Gruppen in der 7. Woche könnte auf eine weitgehend homogene massive Fibrosierung des Myokards der dTGR schließen lassen. Die in der vierten Woche hohen IHi-Werte beruhen auf lokalen eng begrenzten hohen Magnetfelddifferenzen im Rahmen der beginnenden Fibrosebildung. In der Folgezeit transformieren sich die großen Magnetfeldextrema, zu mehreren vom Wert her kleineren Extremata, da mehr und mehr Myokard fibrotisch umgebaut wird. Der Gradient zwischen Extrema und Nachbarpunkten fällt ab und führt zu einer scheinbar geringeren Inhomogenität. Eine Normalisierung wird vorgetäuscht.

Weitere Beispiele für die Wirkung von Angiotensin II über den AT<sub>1</sub>-Rezeptor auf das Herz-Kreislaufsystem sind die Vasokonstriktion, Induktion des Fibroblastenwachstums und deren Proliferation sowie Modulation der Matrix-Metallo-Proteinase Aktivität [Villarreal et al. 1993, Katwa et al. 1995, Kato et al. 1991]. Es bewirkt zusätzlich eine Sympathikusaktivierung und Aldosteron- und Vasopressinfreisetzung.

Neben diesen systemischen Auswirkungen des zirkulierenden Angiotensin II übt dieses Hormon, das ebenfalls im Gewebe produziert wird, über lokalem Wege Effekte aus [Dzau et al. 2001, Dzau 2001a]. Lokales Angiotensin II hat einen direkten Einfluss auf die endotheliale Funktion. Erhöhte Angiotensin II-Konzentration im Endothel ruft oxidativen Stress mit der Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies [Griendling et al. 1994] hervor. Dieser Mechanismus führt am Ende zu einer endothelialen Dysfunktion. Die endotheliale Dysfunktion ist wiederum der Pathomechanismus für entstehende Inflammation über Zytokine, für die Vasokonstriktion über Endothelin und Katecholamine, und für das stattfindende Remodeling über Wachstumsfaktoren [Schmieder 2005].

Durch die myokardiale Hypertrophie bedingten Veränderungen der Erregungsleitung wandelte sich in der vorliegenden Studie auch der Winkel des Magnetfeldes (s. Abb. 22, Tab. 2-10). Man kann dieses Phänomen vergleichen mit der elektrokardiographischen Lagetypänderung bei myokardialer Hypertrophie. Durch Verschiebung des Magnetfeldmaximum und -minimum verlagert sich sukzessiv der Winkel. Im späteren Stadium könnte eine Herzdilatation mit zur Winkeländerung beitragen.

Diese Ergebnisse zeigen, dass sich der mit der myokardialen Hypertrophieentwicklung assoziierte elektrische Remodelingprozess magnetokardiographisch mit den verwandten Parametern IHi, max-min und dem Winkel nachweisen und monitoren lässt. Dabei sind die Repolarisationsänderungen der früheste Hinweis auf das Einsetzen des elektrischen Remodeling. Im weiteren Verlauf können Depolarisationsveränderungen nachgewiesen werden.

#### **4.3 Die Magnetokardiographie als nicht-invasives Monitoring bei der medikamentösen Intervention mit Losartan**

Von dem Hintergrund der Wirkung von Angiotensin II ergibt sich der therapeutische Ansatz in der Verwendung von Angiotensin II-Antagonisten. Wichtig bei der Verwendung von

Angiotensinrezeptorblocker (ARB) ist, dass die Bildung von Angiotensin II nicht ausschließlich über die Wirkung des ACEs entsteht. Der alternative Weg über Chymasen findet im menschlichen Herzen statt. Deshalb können die Effekte von Angiotensin II durch die Blockade des AT<sub>1</sub>-Rezeptors effektiver gehemmt werden als bei alleiniger Anwendung von ACE-Hemmern.

Wird medikamentös der AT<sub>1</sub>-Rezeptor blockiert, steigt die Plasmakonzentration von Angiotensin II an, da der durch den AT<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelte negative Feedbackmechanismus auf die Reninfreisetzung ebenfalls inhibiert wird. Dies bewirkt eine vermehrte Angiotensinbildung. Angiotensin kann jetzt nur an dem AT<sub>2</sub>-Rezeptor binden. Die Funktion des AT<sub>2</sub>-Rezeptors ist aktuell noch nicht genau definiert. Studien haben darauf hingewiesen, dass er die Wachstumsfaktor-induzierte Proliferation hemmt und die Inflammation herabsetzt [Munzenmaier und Greene 1996, Nakajima et al. 1995]. Des Weiteren supprimiert er die Myozytenhypertrophie und vermindert das Wachstum von kardialen Fibroblasten [Van Kesteren et al. 1997]. Zusätzlich verstärkt er die Stimulation der Zelldifferenzierung und trägt mit zur Vasodilatation bei.

Daher stellt sich die Frage, wie sich die pharmakologische Intervention mit Losartan, dem AT<sub>1</sub>-Antagonisten, auf das magnetokardiographische Hypertrophiebild der doppeltransgenen Ratte auswirkt.

Im Alter von 4 Wochen unterschieden sich die Werte für die mit Losartan behandelten und unbehandelten Tiere kaum (s. Tab. 5). Dies war im Voraus anzunehmen, da die Therapie erst nach der ersten magnetokardiographischen Messung begann.

In der 5. Woche reduzierte sich sehr deutlich die Amplitude der MKG-Zeitverlaufskurven der dTGR/Los im Vergleich zu den dTGR während der Depolarisationsphase für die drei Parameter (s. Abb. 18, 20, 22). Die bei den unbehandelten doppeltransgenen Ratten registrierte Zweigipfligkeit ging in dieser Zeit zurück. Im QRS<sub>Gesamt</sub> zeigten sich signifikante Unterschiede in IHi, max-min und im Winkel (s. Tab. 6). Der Parameter max-min trennte dTGR und dTGR/Los zum Zeitpunkt R<sub>Spitze</sub> hochsignifikant.

Der Repolarisationsverlauf der dTGR/Los näherte sich in den MKG-Zeitverlaufskurven der Kontrollgruppe (SD) an. Die Repolarisationskurve begann früher als bei den dTGR und zeigte eine größere Amplitude. Die Werte für IHi, max-min und den Winkel unterschieden sich für dTGR und dTGR/Los in STT signifikant, während in T<sub>Ende</sub> max-min beide Gruppen trennte.



Im Alter von 7 Wochen bei der letzten magnetokardiographischen Registrierung zeigten sich hochsignifikante Unterschiede vor allem in der Repolarisationsphase (STT und  $T_{\text{Ende}}$ ) (s. Tab. 7). Die Repolarisationskurve im MKG-Zeitverlauf glich sich der SD-Kurve nahezu an. Auch die Werte der Parameter zeigten keine signifikante Trennung zwischen dTGR/Los und SD.

In den Depolarisationszeitintervallen waren die Parameterwerte für IHi, max-min und den Winkel zwischen dTGR und dTGR/Los nicht signifikant verschieden. Bei der graphischen Darstellung der MKG-Zeitverlaufskurven zeigte sich aber ein deutlich differentes Verlaufsmuster zwischen den beiden Gruppen. Die dTGR-Tiere wiesen eine Zweigipfligkeit mit Erhöhung und Verspätung des zweiten Gipfels auf, als Hinweis auf eine verlängerte Erregungsleitung in der Depolarisationsphase. Dieser Unterschied geht durch die Intergralbildung unter den Kurven verloren.

Die Veränderungen im Magnetokardiogramm kann mit der über den  $AT_2$ -Rezeptor vermittelten Wirkung erklärt werden. Auf zellulärer Ebene wird die Zellproliferation gehemmt und die Myozytenhypertrophie supprimiert, was sich auf die elektrische Ebene auswirkt und im MKG registriert wird.

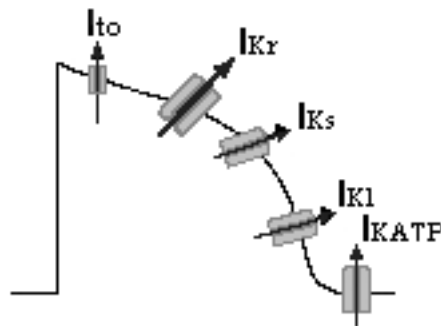
Dostal et al. zeigten, dass durch die Applikation von ARBs die Angiotensin II vermittelte Hypertrophieentwicklung von Rattenherzen, die selbst bei normalen Blutdruckwerten entstand, verhindert wird [Dostal und Baker 1992]. Auch in Experimenten an isolierten Kardiomyozyten, in Endothelzellkulturen und an Fibroblasten konnte der proliferative Effekt von Angiotensin II durch Losartan gehemmt werden [Kessler-Icekson et al. 1992, Matsubara et al. 1992].

Die magnetokardiographischen Unterschiede in der Repolarisationsphase begründen sich auf die im vorherigen Kapitel 4.2 beschriebenen elektrophysiologischen Wirkungen des Angiotensin II. Der Rezeptorblocker wirkt der durch Angiotensin II vermittelten Dispersionszunahme der kardialen Repolarisation entgegen.

Zusätzlich kann die durch den ARB bewirkte Kollagenreduzierung zu dieser Beobachtung beitragen. Yonezawa et al. zeigten, dass im Vergleich zwischen ACE-Hemmern und  $AT_1$ -Rezeptorantagonisten beim gleichen Tiermodell ähnliche hämodynamische Effekte und eine Reduktion der linksventrikulären Hypertrophie erreicht wurden [Yonezawa et al. 1996]. Der Kollagengehalt des linken Ventrikels reduzierte sich aber stärker durch den  $AT_1$ -Antagonisten als durch den ACE-Hemmer.

Delpón et al. referierten in ihrem Artikel über die Repolarisationswirkung der ARBs auf zellulärer Ebene [Delpón et al. 2005]. Es konnte kein einheitlicher Effekt der verschiedenen

Medikamente beobachtet werden, aber jeder ARB modifizierte hauptsächlich die spannungsabhängigen  $K^+$ -Kanäle. Hierunter fallen der transiente Auswärtsstrom ( $I_{to1}$ ) und die ultraschnelle ( $I_{Kur}$ ), die schnelle ( $I_{Kr}$ ) und die langsame ( $I_{Ks}$ ) Komponente des Delayed Rectifier Stromes. In der Abb. 27 sind einige für die Repolarisation der gesunden Myokardzelle verantwortlichen  $K^+$ -Ströme dargestellt. Obwohl diese Versuche kritisch zu betrachten sind, da sie in unphysiologischem Milieu ohne Angiotensin II - Exposition durchgeführt wurden, konnte gezeigt werden, dass ARBs das elektrische und strukturelle Remodeling inhibieren. Dies kann die magnetokardiographisch registrierte Repolarisationsänderung unter  $AT_1$ -Rezeptorblocker-Therapie erklären.



**Abb. 27:** Das normale ventrikuläre Aktionspotential mit Darstellung der verantwortlichen Kaliumkanäle bei der Repolarisation (nach Delpón 2005).

Der Vergleich der SD-Ratten mit der Losartan behandelten Gruppe sollte zeigen, wie potent der ARB wirkt, und ob er eine Normalisierung des magnetokardiographischen Hypertrophiebildes herbeiführen kann. Zu Beginn der Messung glichen die dTGR/Los den dTGR im magnetokardiographischen Phänotyp, da die Medikamentenapplikation zu diesem Zeitpunkt erst gestartet wurde. Im Behandlungszeitverlauf glich sich dieser Phänotyp dem der SD an. Die anfänglich hochsignifikanten Unterschiede zwischen den SD und dTGR/Los bildeten sich zurück. (s. oben). Sie zeigten sich nur noch in der Depolarisationsphase in der 5. Woche in den Parametern  $I_{Hi}$  und  $\max\text{-min}$  bei  $QRS_{\text{Gesamt}}$  und  $R_{\text{Spitze}}$  und in der 7. Woche im  $I_{Hi}$  bei  $QRS_{\text{Gesamt}}$  signifikant verschieden (s. Tab. 9, 10).

Diese Befunde weisen nach, dass unter der Therapie mit Losartan der elektrische Remodelingprozess gestoppt und zumindest teilweise umgekehrt wird, auch wenn dies nicht zu einer kompletten Normalisierung des magnetischen Phänotyps führt. Dies ist auch als indirekter Hinweis auf eine positive Beeinflussung des strukturellen Remodeling zu interpretieren. Die

doppeltransgenen Ratten starteten in den ersten vier Wochen ihres Lebens bereits ein progredientes strukturelles Remodeling mit Hypertrophiebildung, bevor sie medikamentös behandelt wurden. Eine völlige Normalisierung des Phänotyps unter der relativ spät einsetzenden Behandlung ist daher nicht zu erwarten. Der Einfluss unterschiedlicher Dosisgaben von Losartan und deren Einfluss auf den magnetischen Phänotyp des Remodelingprozesses wurde in dieser Arbeit nicht geprüft. Fortbestehende Unterschiede zwischen SD und dTGR/Los können pathophysiologisch eine weitere mögliche Erklärung finden: die Aldosteronfreisetzung wird durch die ARBs nicht inhibiert. Aldosteron kann seine Wirkung frei entfalten und stimulierend auf das strukturelle und elektrische Remodeling wirken (Tan et al. 2004, Fiebeler und Luft 2005, Lahera 2006).

Insgesamt konnte eine magnetokardiographische Veränderung unter Losartantherapie gezeigt werden. Die ARB-Wirkung auf die elektrische Ebene konnte mittels MKG direkt und die Wirkung auf die strukturelle Ebene indirekt nachgewiesen werden. Auf dem Hintergrund von Studien mit ARBs, die eine Verbesserung der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität zeigen, können die magnetokardiographischen Änderungen in der Repolarisation einen Hinweis auf die Wirkung der AT<sub>1</sub>-Antagonisten sein und damit auf eine Prognoseverbesserung hindeuten.

#### **4.4 Die Auswirkung des Remodelings und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems auf die Endorganschädigung**

In der Niere kommt es aufgrund der Angiotensin II-Wirkung zu einer Reduktion der glomerulären Filtrationsrate, zu einer vermehrten Na<sup>+</sup>-Retention und über eine Erhöhung der glomerulären Permeabilität für Makromoleküle zu einer Proteinurie [Dietz et al. 1976, Navar und Nishiyama 2001, Navar et al. 2002]. Die Albuminurie dient dabei als Marker für Glomerulaschäden. Daher kann sie gleichzeitig den nützlichen Langzeiteffekt der antihypertensiven Therapie widerspiegeln, der sich in einer Abnahme der Proteinurie zeigt. Im Endstadium der Nierenschädigung kann sich eine Glomerulosklerose entwickeln. Eine vorbestehende Hypertonie oder arteriosklerotische Veränderungen beschleunigen diesen Prozess.

Theuer et al. wiesen in der Niere von dTGR atrophisierte Tubuli mit Gefäßwanddickenzunahme und vermehrtem Interstitium mit Infiltrationen nach [Theuer et al. 2002]. Nach sieben Wochen (zum Endpunkt der Studie) lag eine Nephrosklerose vor. Die

Albuminurie der dTGR stieg kontinuierlich insbesondere von der 5. bis zur 7. Woche an. Die Kontrolltiere (SD) wiesen im Vergleich keine Proteinurie auf ( $p < 0,001$ ).

Man nimmt an, dass die Angiotensin II bedingte glomerulo-kapilläre Hypertonie die Wandspannung der Kapillaren erhöht und damit zu einer Ablösung der Podozyten führt. Dies ist die Ursache für die Freisetzung von entzündlichen Mediatoren, die lokale und einwandernde Zellen zur Bildung von extrazellulärer Matrix anregt. Es resultiert eine Glomerulosklerose. Auch Änderungen in der Ladungseigenschaft der glomerulären Basalmembran sind unter Angiotensin II beschrieben worden [Carson et al. 2001].

Die in der vorliegenden Arbeit angewandte Losartantherapie zeigte nach einer Woche hoch signifikante Unterschiede zu den unbehandelten dTGR (s. Tab. 6). Diese nahmen bis zum Versuchsende zu. Nach der ersten Behandlungswoche reduzierte Losartan die Albuminurie um das 60fache zu den dTGR, nach zwei Wochen um das 70fache und nach drei Wochen um das 140fache. An diesen Ergebnissen zeigte sich die starke Potenz des Angiotensins auf die Endorganschäden an der Niere, und es wurde die nephroprotektive Wirkung des AT<sub>1</sub>-Antagonisten ersichtlich.

In der Losartangruppe nahm die Albuminurie in der ersten Behandlungswoche von 50,67 ( $\pm 13$ )  $\mu\text{g}/24\text{h}$  auf 122,28 ( $\pm 45$ )  $\mu\text{g}/24\text{h}$  zu und blieb bis zur siebten Woche bei diesem Wert. Eine Erklärung könnte die noch nicht optimale Dosierung des Losartans sein, so dass das Angiotensin II immer noch an den Rezeptoren binden kann und seine Wirkung entfalten kann. Möglich wäre auch, dass andere Mediatoren wie z.B. Aldosteron, mit verantwortlich für die Albuminurie sind. Diese würden nicht durch die ARBs blockiert werden.

Die Wirkung von AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten auf die Proteinurie verschiedener Tiermodelle sind bereits mehrfach reproduziert worden. Durch die Applikation von Valsartan (AT<sub>1</sub>-Antagonist) wurde in hypertensiven Ratten mit Diabetes mellitus die Albuminpermeabilität der Niere reduziert, während der Kalziumantagonist Lacidipin keinen Effekt zeigte, obwohl die Blutdruckreduktion vergleichbar war [Hulthen et al. 1996]. Durch eine Losartantherapie wurde bei SHR die glomeruläre Funktion günstig beeinflusst [Timmermans et al. 1993].

Die doppeltransgenen Ratten hatten in der Studie von Mueller et al. eine Mortalität aufgrund kardiovaskulärer Komplikationen von 40% in der 7. Woche [Mueller et al. 2002]. Dieser Mortalitätstrend konnte auch in der vorliegenden Arbeit gesehen werden. Ursächlich können in erster Linie auftretende maligne Herzrhythmusstörungen sein. Bekannt ist, dass die myokardiale Hypertrophie ein Risikofaktor für z.B. QT-Verlängerungen und den plötzlichen Herztod darstellt

[Kang 2006]. Die entstehende diastolische Herzinsuffizienz ist in diesem Zusammenhang sekundär. Weitere Untersuchungen müssen dies belegen.

#### 4.5 Limitation der Studie

Anhand dieser Arbeit gelang es erstmals systematisch magnetokardiographische Parameter zu finden, die eine frühzeitige nicht-invasive und schnelle Hypertrophiediagnostik bei der Ratte ermöglichen konnten.

Bedingt durch die magnetokardiographische Messmethode selbst, ließen sich nur elektrophysiologische Rückschlüsse über das elektrische Remodeling in der Hypertrophieentwicklung treffen. Durch fehlende gleichzeitige histologische Untersuchungen zu allen Zeitpunkten konnten keine direkten Aussagen über die morphologischen Veränderungen getroffen werden.

Alle verwendeten Parameter erwiesen sich für die Beschreibung des Hypertrophie-modells in der De- und Repolarisation als sehr gut geeignet. Allerdings ist die Winkelbestimmung in dieser Arbeit in der Depolarisationsphase nur bedingt verwertbar. Bei Drehung des Winkels über 360 Grad hinaus wird die Gradzahl durch das Computerprogramm wieder auf Null gesetzt. Durch diesen technischen Sprung unterliegt die Mittlungskurve starken Schwankungen. Für die Repolarisation ist der Winkel eine gute Ergänzung zu den übrigen Parametern, da hier der Winkelsprung nicht auftrat. Um den Winkel in der Depolarisationsphase ebenfalls nutzen zu können, wäre eine andere Berechnungsweise nötig.

Die benutzten Parameter müssen als nächstes auf ein größeres Tierkollektiv angewandt werden. Dabei ist es sinnvoll, weitere pharmakologische Substanzen im Hinblick auf die Hypertrophieentwicklung und -regression zu erforschen.

Die Registrierung der myokardialen Hypertrophie mittels EKG wurde in dieser Studie nicht verwandt. Für die Diagnostik ist ein 12-Kanal EKG nötig, um daraus Hypertrophiezeichen z.B. den Sokolow-Lyon-Index zu berechnen. Durch die EKG-Messung kann es allerdings zu einer Einschränkung der Magnetokardiogrammregistrierung kommen. Die üblicherweise genutzten invasiven dreier Ableitungen des EKGs nach Einthoven zur störungsfreieren Registrierung, sind durch die Verwendung von Metallnadeln und der damit verbundenen Störung des Magnetfeldes nicht möglich.

Es ist nicht bekannt, wie sich der Einfluss anderer Faktoren der kardialen Hypertrophieentwicklung auf die magnetokardiographische Registrierung auswirkt. Daher wäre zu bedenken, ob nicht auch Versuche angebracht wären, in denen eine Hypertrophie aufgrund anderer Genese entsteht, z.B. durch Aorten-banding.

Zur Registrierung genauerer magnetokardiographischer Daten wäre eine 32- oder mehr Kanalanlage, deren Sensoren das Magnetfeld gleichmäßig aufnehmen, der hier benutzten 7-Kanalanlage vorzuziehen. Des Weiteren sollten für Untersuchungen an Kleintieren Sensoren mit kleinerem Durchmesser verwendet werden. Da in dieser Arbeit ein für Menschen ausgelegtes Magnetokardiographiesystem benutzt wurde, musste die Sensorkonfiguration so angepasst werden, dass das kleinere Magnetfeld der Ratte trotzdem ausreichend erfasst wurde. Daher müsste in folgenden Studien eine Sensorkonfiguration mit kleinerem Durchmesser verwendet werden.

Offen bleibt, welches Ausmaß die für die MKG-Registrierung durchgeführte Narkose auf die erhobenen Daten hat. Es gibt keine ausreichenden Untersuchungen, wie sich der Narkosestress auf die Messung auswirkt. Dies müsste in weiteren Studien geprüft werden.

#### **4.6 Perspektive der Studie**

Diese Arbeit wurde im Rahmen der „Task Force Magnetokardiographie“ durchgeführt. Die Task Force wurde gegründet, um die Anwendung der Magnetokardiographie in der experimentellen und klinischen Kardiologie zu evaluieren.

Diese Studie ist als eine Basis für die spätere klinische Anwendung zur Primärdiagnostik der myokardialen Hypertrophie zu sehen. Im nächsten Schritt sollen die Veränderungen durch therapeutische pharmakologische Interventionen durch das MKG erfasst werden.

Das Ziel des magnetokardiographischen Einsatzes liegt in der Verwendung als Screeningverfahren für myokardiale Erkrankungen, insbesondere zur Früherkennung der Hypertrophieentwicklung, da die Untersuchungen kostengünstig, risikofrei und nicht-invasiv durchzuführen sind. Damit könnte ein sinnvoller Beitrag zum Therapiemonitoring geleistet werden, mit dem Ziel durch optimale Therapie die Endorganschädigung für jeden einzelnen Patienten zu verhindern oder deren Eintreten wesentlich zu verzögern.