

**In-vivo- und In-vitro-Untersuchungen
zur myokardialen Kontraktilität
vergleichend an
Weißen-Neuseeland-Kaninchen und
Chinchilla-Bastard-Kaninchen**

Evelin Lück

Aus der
I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München

Direktor: Univ. Prof. Dr. med. A. Schömig

und

dem Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der
Technischen Universität München

Direktor: Univ. Prof. Dr. med. B. Gänsbacher

Arbeitsgruppe Experimentelle Chirurgie

Leiter: Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt

Vorgelegt über

Univ. Prof. Dr. med. vet. M. Stangassinger

Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung
der Ludwig-Maximilians-Universität München

**In-vivo- und In-vitro-Untersuchungen
zur myokardialen Kontraktilität vergleichend
an Weißen-Neuseeland-Kaninchen und Chinchilla-Bastard-Kaninchen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Evelin Lück

aus

Erfweiler-Ehlingen

München 2003

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. R. Stolla
Referent: Univ.-Prof. Dr. M. Stangassinger
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr.h.c.mult. H.-G. Liebich

Tag der Promotion: 18. Juli 2003

Meinen Eltern

Dafür,

*dass sie mich auf den richtigen Weg brachten,
an mich glaubten und mich stets unterstützten
in dem was ich tat.*

Inhaltsverzeichnis	Seiten
1 EINLEITUNG	1
2 SCHRIFTTUM	2
2.1 DAS KANINCHEN ALS VERSUCHSTIER.....	2
2.1.1 <i>Ursprung der Kaninchen</i>	2
2.1.2 <i>Weiße-Neuseeland- und Chinchilla-Kaninchen</i>	2
2.1.2.1 <i>Weiße-Neuseeland-Kaninchen</i>	2
2.1.2.2 <i>Chinchilla-Kaninchen</i>	4
2.1.3 <i>Reproduktionsdaten der Kaninchen</i>	6
2.1.4 <i>Physiologische Daten</i>	7
2.1.5 <i>Organgewichte</i>	7
2.2 DIE NARKOSE BEIM KANINCHEN	9
2.2.1 <i>Zur Problematik der Kaninchennarkose</i>	9
2.2.2 <i>Die Propofol-Narkose</i>	10
2.2.2.1 <i>Wirkung auf das ZNS</i>	11
2.2.2.2 <i>Wirkung auf den Herzkreislauf</i>	11
2.2.2.3 <i>Wirkung auf die Atmung</i>	11
2.3 STRUKTURELLE UND FUNKTIONELLE EIGENSCHAFTEN DER KARDIOMYOZYTEN.....	12
2.3.1 <i>Bau und Größe der Kardiomyozyten</i>	12
2.3.1.1 <i>Anzahl der Zellkerne</i>	13
2.3.1.2 <i>Größe der Kardiomyozyten</i>	13
2.3.2 <i>Der kontraktile Apparat der Kardiomyozyten</i>	17
2.3.2.1 <i>Aufbau des Sarkomer</i>	17
2.3.2.2 <i>Wichtige Proteine des kontraktile Apparates</i>	21
2.3.2.2.1 <i>Myosin</i>	21
2.3.2.2.2 <i>Aktin</i>	22
2.3.2.2.3 <i>Tropomyosin und Troponin</i>	22
2.3.2.3 <i>Molekulare Mechanismen der Kardiomyozyten-Kontraktionsauslösung</i>	23
2.3.2.4 <i>Mechanismus des Kontraktionsprozesses</i>	24
2.3.3 <i>Isoprenalin</i>	26
3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	27
3.1 <i>ZIELSETZUNG</i>	27

Inhaltsverzeichnis

3.2	MATERIAL UND METHODEN.....	27
3.2.1	<i>Versuchstiere und deren Haltung</i>	27
3.2.2	<i>Gruppeneinteilung und Versuchsplan</i>	27
3.2.3	<i>Versuchsdurchführung der In-vivo-Messungen</i>	28
3.2.4	<i>In-vitro-Untersuchungen</i>	30
3.2.4.1	Präparation adulter Kaninchenherzzellen mit der Langendorff-Perfusions- apparatur	30
3.2.4.1.1	Aufbau der Langendorff-Perfusionsapparatur.....	30
3.2.4.1.2	Verwendete Materialien und Chemikalien.....	31
3.2.4.1.3	Isolierung der Kardiomyozyten.....	33
3.2.4.1.4	Messung der Zellkontraktilität	34
3.2.4.2	Zelldetektion	36
3.2.4.3	Versuchsauswertung	38
3.2.4.4	Statistische Auswertung und Dokumentation.....	39
3.3	ERGEBNISSE	40
3.3.1	<i>Echokardiographische Untersuchungen</i>	40
3.3.2	<i>Kontraktilität der Kardiomyozyten</i>	42
3.3.2.1	Diastolische Längenmessung der Kardiomyozyten.....	43
3.3.2.2	Dauer der Kardiomyocytenverkürzung.....	45
3.3.2.3	Maximale Verkürzungsgeschwindigkeiten der Kardiomyozyten unter Isoprenalin-Stimulation.....	46
3.3.2.4	Fractional Shortening von Kardiomyozyten unter Isoprenalin-Stimulation.....	48
4	DISKUSSION	52
4.1	ZUR EIGNUNG DER VERSUCHSDURCHFÜHRUNG.....	52
4.1.1	<i>Echokardiographie</i>	52
4.1.2	<i>Isolierung der Kardiomyozyten</i>	52
4.1.3	<i>Kontraktilitätsmessung an Kardiomyozyten</i>	54
4.2	DISKUSSION DER ERGEBNISSE.....	55
4.2.1	<i>Echokardiographie</i>	55
4.2.2	<i>Bewertung der Einzelzellmessungen</i>	57
4.3	SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK	61
5	ZUSAMMENFASSUNG	62
6	SUMMARY	64

7	LITERATURVERZEICHNIS.....	66
8	TABELLENVERZEICHNIS.....	79
9	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	80
10	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	82
11	DANKSAGUNG.....	84
12	LEBENS LAUF.....	85

1 EINLEITUNG

Kaninchen sind neben Meerschweinchen, Mäusen und Ratten wichtige Versuchstiere. Aufgrund ihrer mittleren Körpergröße und den günstigen Haltungsbedingungen sind sie, verglichen mit größeren Versuchstieren, doch wesentlich unproblematischer und damit auch vielfältiger als Versuchstiere einsetzbar. Sie werden für diagnostische Zwecke, zur Serumgewinnung sowie zur Toxizitäts-, Arzneimittel- und Pyrogenprüfung gezüchtet.

Auch in der Herzchirurgie haben Kaninchen eine wichtige Bedeutung erlangt, da das Kaninchenherz mit dem menschlichen Herz strukturell weitgehend übereinstimmt. Der feingewebliche Bau des Kaninchenherzens entspricht dem anderer Säugetiere. Auch Gefäße, Nerven und Bindegewebe zeigen gleiches Verhalten wie beim Menschen (JUNG 1962).

Es werden Kaninchen verschiedener Rassen und Größen gezüchtet, die sich für unterschiedlichste Verwendungszwecke mehr oder weniger gut eignen.

Es wurde die klinische Beobachtung gemacht, dass Weiße-Neuseeland-Kaninchen stressanfälliger, und daher für Experimente unter Narkosebedingungen weniger gut geeignet sind als Chinchilla-Bastard-Kaninchen (HABERSTROH und HENKE 2003).

Mit Hilfe von Kontraktilitätsuntersuchungen in vivo und in vitro soll im Rahmen dieser experimentellen Studie herausgefunden werden, ob bereits auf zellulärer Ebene des Herzens ein Unterschied in der Leistungsfähigkeit der beiden Rassen zu erkennen ist.

2 SCHRIFTTUM

2.1 Das Kaninchen als Versuchstier

2.1.1 Ursprung der Kaninchen

Die Heimat der Kaninchen ist Spanien, von wo aus sie sich über alle Europäischen Länder verbreiten und dann im Gefolge des Menschen in alle Erdteile gebracht werden (GRUHN 1961). In der Römerzeit werden Kaninchen in sogenannten Leporarien gehalten. In ihnen erfolgt aber noch keine Zuchtwahl. Die Gehegehaltung stellt zunächst nur eine Vermehrung von Wildkaninchen in der Gefangenschaft dar. Die eigentliche „Haustierwerdung“ setzt um das Jahr 1000 n. Chr. ein. Im Mittelalter domestizieren französische Mönche Kaninchen als Fleischlieferant und steuern ihre Vermehrung nach Zähmheit und Anpassung (SCHALL 1998).

Die Rassenbildung der Kaninchen setzt mit der Haustierhaltung im Mittelalter ein, entwickelt sich dann aber im 19. Jahrhundert besonders stark. Im Jahre 1149 kommen die ersten zahmen Kaninchen nach Deutschland noch vor den Wildkaninchen. Laut WEISS et al. (1996) werden Kaninchen erstmals im Jahre 1672 von De Graff zu wissenschaftlichen Zwecken herangezogen. 1880 entstehen die ersten Kaninchenzüchtervereine in Deutschland. Der Rasseneinteilung in der deutschen Kaninchenzucht liegen neben der Haarlänge und der Farbe der Größenwuchs zugrunde (GRUHN 1961). Von den vielen bekannten Kaninchenrassen werden im Labor vor allem die mittelschweren Rassenvertreter, nämlich Weiße-Neuseeland-Kaninchen, Chinchilla-Kaninchen und Russen verwendet. Jahrhundertlang dient das Kaninchen den Wissenschaftlern als klassisches Versuchstier. Heute sind nur noch etwa 2 % der Versuchstiere Kaninchen (VAN ZUTPHEN et al. 1995).

2.1.2 Weiße-Neuseeland- und Chinchilla-Kaninchen

2.1.2.1 Weiße-Neuseeland-Kaninchen

Nach einem Bericht der American Rabbit Breeder Association (1960) stammen die Weißen-Neuseeländer von den Roten-Neuseeländern ab und wurden teilweise mit Belgischen Riesen gekreuzt. Nach dem „Standard of perfection“ der amerikanischen Vereinigung der Weißen-Neuseeländer werden nur noch Tiere anerkannt, welche nicht zu lang, sondern mehr

gedrungen und walzenförmig sind, ohne dabei plump zu wirken. Die Weißen-Neuseeland-Kaninchen sind heute die in Amerika am weitesten verbreitete Fleischkaninchenrasse mit Gewichten zwischen 4,5 und 5 kg. Sie haben einen feinen Knochenbau, feine Haut und die Ohren sind nicht fleischig. Die Kaninchen haben eine breite Hinterpartie und eine volle Brust. Sie sind sehr fruchtbar mit guter Aufzuchtungsleistung. 1958 werden 400 Weiße-Neuseeländer neben Roten-Neuseeländern und Chinchilla-Kaninchen nach England eingeführt (BELL 1961). 1960 kommen vereinzelte Weiße-Neuseeländer aus England und USA nach Deutschland, wobei die amerikanischen Weißen-Neuseeländer den aus England importierten in der Konstitution, aber auch in der vollen, breiten Hinterhand und in ihrer Walzenform überlegen sind (GRUHN 1961). Da es sich um Albinos mit großen Ohren und gut erreichbaren Venen handelt, sind die Haupteinsatzgebiete der Weißen-Neuseeland-Kaninchen der Pyrogentest, die Immunologie, die Teratologie und die Dermatologie (Charles River 1996).



Abbildung 1: Weiße-Neuseeland-Kaninchen

2.1.2.2 Chinchilla-Kaninchen

Von den in Europa entstandenen Rassen werden die Chinchilla-Kaninchen ebenfalls als sehr gute Fleischkaninchen angesehen. Durch die blaugraue Schattierung ihres braunen Haarkleides liefern sie auch ein geschätztes Fell. Der Name Chinchilla stammt von der in den Anden lebenden Chinchillawollmaus. Deren Pelz war sehr begehrt, wegen der Seltenheit aber auch sehr teuer. Chinchilla-Kaninchen werden in zwei Größen gezüchtet: die Groß-Chinchilla-Kaninchen und die Klein-Chinchilla-Kaninchen, die in ihrer Körperform allerdings wenig gemeinsam haben. Das Klein-Chinchilla-Kaninchen gleicht in der Form mehr dem Neuseeland-Kaninchen mit kleinerem Format. Das Groß-Chinchilla-Kaninchen weist eine gleichmäßige Breite des Rumpfes bei einem langgestreckten Körper auf. Die ältere der beiden Rassen ist die der Klein-Chinchilla-Kaninchen. Es handelt sich hier um eine französische Züchtung, an deren Entstehung Blaue Wiener, das Riesenkaninchen und das Wildkaninchen beteiligt sind. 1910 werden sie erstmalig in Paris ausgestellt (DORN 1984).

Bereits 1915 kommen die ersten Klein-Chinchilla-Kaninchen nach England, wo sie in der Fellfarbe verbessert werden und ihnen mehr Körpergröße angezüchtet wird. 1920 kommen die ersten Groß-Chinchilla-Kaninchen, teils über die Niederlande, teils direkt aus England nach Deutschland (GRUHN 1961).

Das Normalgewicht des Groß-Chinchilla beträgt 4,5 kg. Der Körper ist gestreckt, walzenförmig, der Kopf ist kräftig entwickelt und kurz am Körper angesetzt. Die Ohren sind ebenfalls kräftig und passen zum Körper. Die Decke erscheint als ein bläulich abgetöntes, liches Aschgrau, mit einer am Rücken am stärksten ausgeprägten flockigen Schattierung. Die Ohrränder sind schwarz gesäumt. Die Blume der Groß-Chinchilla-Kaninchen ist an der Oberseite schwarz und mit grauweißen Haaren gesprenkelt, die Unterseite sowie die Bauchdeckenfarbe ist weiß. Die Augen der Groß-Chinchilla-Kaninchen sind braun und die Krallen schwarzbraun (DORN 1984).

Im Labor werden mittlerweile hauptsächlich Chinchilla-Bastard-Kaninchen verwendet, die zu den mittelschweren Rassen gehören. Es handelt sich bei den Chinchilla-Bastard-Kaninchen um eine Kreuzung aus Groß-Chinchilla-Kaninchen und Weißen-Neuseeland-Kaninchen. Diese Kaninchen sind sehr robust, widerstandsfähig und frohwüchsig, weil sie gute Futtermittelverwerter sind. Vom Wesen her sind sie ruhig und dadurch leicht zu handhaben. Sie besitzen große Ohren mit sehr guten Venen. Ihre Haupeinsatzgebiete sind heute die Teratologie, die Immunisierung, der Pyrogentest und die experimentelle Chirurgie (Charles River 1996).



Abbildung 2: Groß-Chinchilla-Kaninchen

2.1.3 Reproduktionsdaten der Kaninchen

In Tabelle 1 sind Reproduktionsdaten von gesunden, unbehandelten Kaninchen wiedergegeben. Die Daten stammen aus Versuchsreihen von CHARLES RIVER (1996) und sind als Mittelwerte angegeben.

Tabelle 1: Reproduktionsdaten der Kaninchen (CHARLES RIVER 1996)

Zuchalter	weiblich	3,5 - 4,5 Monate
	männlich	5 - 6 Monate
Zuchtgewicht	weiblich	3,2 – 3,6 kg
	männlich	3,8 – 4,5 kg
Östrus		Polyöstrus
Graviditätsdauer		30 – 32 Tage
Ø Wurfgröße		8 Tiere
Geburtsgewicht		40 – 50 g
Absetzgewicht		0,8 – 1,3 kg
Absetzalter		Ca. 5 Wochen
Sexualzyklus		Kein regelmäßiger Zyklus, Follikel reifen kontinuierlich
Post partum Östrus		1. – 2. Tag nach der Geburt
Induzierte Ovulation		Ca. 10 Std. p. c.
Implantation		7. – 8. Tag p.c.
Zuchtverwendung		Bei permanenter Verwendung max. 2 Jahre
Pseudogravidität		Nach steriler Kopulation 15 Tage

2.1.4 Physiologische Daten

Tabelle 2 gibt einen Überblick über physiologische Werte von gesunden, unbehandelten Kaninchen.

Tabelle 2: Physiologische Daten der Kaninchen (CHARLES RIVER 1996)

Körpertemperatur		38,5–39,5 °C 43,4 °C ist für 50 % der Tiere letal
Pulsfrequenz	erwachsen neugeboren	246–303 /min Ø 220 /min
Atemfrequenz		32–60 /min
Herzminutenvolumen		0,40–1,14 l/min

2.1.5 Organgewichte

In Tabelle 3 werden Körpergewichte und Organgewichte in Abhängigkeit vom Lebensalter der Kaninchen angegeben. Dabei ist in der ersten Spalte das absolute Gewicht in g und in der zweiten Rubrik das jeweilige relative Organgewicht in Bezug auf 100 g Körpergewicht angegeben.

Tabelle 3: Organgewichte männlicher Kaninchen in Abhängigkeit vom Alter
(Modifiziert nach CHARLES RIVER 1996)

	8. Lebenswoche		16. Lebenswoche	
	Absolutes Gewicht	Relatives Gewicht / 100 g KG	Absolutes Gewicht	Relatives Gewicht / 100 g KG
Körpergewicht (g)	1710		3389	
Gehirn (g)	7,68	0,45	8,82	0,25
Herz (g)	4,64	0,27	6,75	0,2
Lunge (g)	8,76	0,52	9,2	0,27
Leber (g)	72,6	4,3	103,6	3,1
Milz (g)	0,93	0,06	12,6	0,04
Niere (g)	14,0	0,8	17,8	0,5
Hoden (mg)	0,47	0,03	4,41	0,13
Nebenniere (mg)	121,2	7,2	199,5	5,9

2.2 Die Narkose beim Kaninchen

2.2.1 Zur Problematik der Kaninchennarkose

Von Natur aus sind Kaninchen ängstliche Tiere, deren Überlebenschancen vor allem in der Flucht liegen. Eine Selbsttraumatisierung mit Frakturen der Gliedmaßen oder der Wirbelsäule ist oft die Folge plötzlicher überraschender Abwehrbewegungen. Aus diesem Grund ist die Sedierung gerade beim Kaninchen eine unumgängliche Maßnahme, um diagnostische und therapeutische Eingriffe vorzunehmen. Weiterhin stellt sie eine gute Möglichkeit der Prämedikation zur Narkose dar. Durch das panische Verhalten der Kaninchen kommt es zur Katecholaminausschüttung, wodurch ihre Empfindlichkeit gegenüber Narkotika gesteigert und dadurch der Anästhesieverlauf unberechenbar wird (SCHALL 1998).

Die intravenöse Prämedikation oder Anästhesie soll daher unbedingt in einer ruhigen Umgebung stattfinden und kann über einen Venenkatheter in der Ohrdrainvene oder in der Vena saphena lateralis erfolgen. Im Hinblick auf die dosisabhängigen Wirkungen von Narkosepräparaten ist eine exakte Körpergewichtsbestimmung vor der Narkose unerlässlich (FEHR 1984).

Das Kaninchen ist ein außerordentlich sensibler und anspruchsvoller Narkosepatient, da das Stadium der chirurgischen Toleranz (Anästhesiestadium III = Chirurgisches Toleranzstadium) und das Stadium der Atemlähmung (Anästhesiestadium IV = Stadium der Überdosierung) besonders eng beieinander liegen. Kaninchen weisen eine starke Reflexaktivität auf, so dass völlige Reflexfreiheit eine zu tiefe Narkose bedeutet (WURSTER 1973, ERHARDT 1984). Aus diesem Grund soll der Cornealreflex erhalten bleiben und das Verschwinden der Rückenmarksreflexe (Zwischenzehenreflex) bei der Kaninchennarkose nicht erzwungen werden (TOBER-MEYER 1977).

Zur Verminderung des Narkoserisikos gilt Nüchternhaltung als Vor- und Nachsorgemaßnahme bei Mensch und Tier. Beim Kaninchen wird aber in der Literatur von einer präanästhetischen Nahrungskarenz wegen seiner hohen Stoffwechselrate abgeraten (ERHARDT 1984, SCHALL 1998). Außerdem sind auch nach 12 bis 24-stündigem Nahrungsentzug weder Darm noch Magen frei von Ingesta (ERHARDT 1984).

Eine 48-stündige Nahrungskarenz führt bei Kaninchen mit einem Körpergewicht bis 2000 g zu metabolischen Veränderungen im Säure-Basenhaushalt des arteriellen Blutes. Kaninchen mit Körpergewichten um 3000 g können die durch den Nahrungsentzug entstandene metabolische Azidose dagegen vollständig kompensieren. Bei Kaninchen mit Körpergewichten um 4000 g treten bei gleicher Dauer des Nahrungsentzugs keine Anzeichen

einer metabolischen Azidose auf. Die Plasma-Glucosekonzentration fällt bei Kaninchen mit Körpergewichten um 2000 und 3000 g zum Teil erheblich ab, während sich bei Kaninchen mit Körpergewichten um 4000 g kaum Veränderungen im Plasma-Glucosespiegel zeigen. Aufgrund dieser Gegebenheiten darf eine präanarkotische Hungerprophylaxe von 12 Stunden Dauer bei Kaninchen mit Gewichten bis zu 3000 g keinesfalls überschritten werden (BONATH et al. 1982).

Um Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt zu vermeiden, sollte in den letzten 24 Stunden vor der Operation auf die Verabreichung mäßiger Mengen kohlenhydratreicher und ballaststoffarmer Nahrung Wert gelegt werden (ERHARDT 1984).

2.2.2 Die Propofol-Narkose

Propofol (Fresenius, Bad Homburg) ist ein wasserunlösliches Phenol, das in einer 1 % igen Öl-in-Wasser-Emulsion vorliegt und i.v. verabreicht werden muss. Es wird 1982 in die Human-Klinik eingeführt. Wegen fehlender Kumulation und fehlendem Hang-Over kann es zur Induktion sowie repetitiv und kontinuierlich eingesetzt werden. Propofol ist ein Hypnotikum mit guten hypnotischen und relaxierenden Eigenschaften, aber ohne analgetische Wirkung. Aufgrund seines raschen Wirkungseintritts und seiner ultrakurzen Wirkdauer eignet es sich beim Kaninchen gut zur Einleitungsanästhesie oder zur vorübergehenden Immobilisierung. Die Wirkdauer von Propofol beträgt nach einmaliger Applikation 10 bis 15 min. Es kann aber jederzeit nachdosiert werden. Für schmerzhaftes Eingriffe muss allerdings eine analgetische Zusatzmedikation z.B. mit Fentanyl (Curamed Pharma, Karlsruhe) erfolgen (PADDLEFORD und ERHARDT 1992).

Die durch die i.v.-Injektion von Propofol auftretenden Venen-Schmerzen können durch eine Erwärmung der Injektionslösung auf 37°C wesentlich verringert werden (FLETCHER et al. 1996).

2.2.2.1 Wirkung auf das ZNS

Propofol induziert dosisabhängig eine Bewusstlosigkeit. Es ist eine schnelle, individuell angepasste Induktion möglich. Die Kombinationen von Anästhesieeinleitung und Anästhesieerhaltung mit Propofol ergeben bei total intravenöser Anästhesie eine im Vergleich zu anderen Anästhetika oder Anästhesietechniken verminderte Inzidenz von postoperativer Übelkeit und Erbrechen (BORGAT und STIRNEMANN 1998).

2.2.2.2 Wirkung auf den Herzkreislauf

Propofol induziert dosisabhängig negative Inotropie, positive Bathmo- und Dromotropie. Zu Beginn der Narkose kommt es zu einem geringen arteriellen Blutdruckabfall ohne eine kompensatorische Erhöhung des Herzschlages (SHORT und BUFALARI 1999).

Die ausgeprägte anfängliche Neigung zu arterieller Hypotension ist durch einen stark verminderten peripheren Gefäß-Widerstand bedingt. Sie kann durch vorsichtige i.v.-Applikation sowie durch die Optimierung des Intravasalvolumens (Infusion z.B. mit Ringer-Lösung, Delta-Pharma GmbH, Pfullingen) reduziert oder sogar vermieden werden. Einer der Vorteile einer Sedation mit Propofol ist die rasche Aufwachphase im Vergleich zu anderen Sedativa. (KOWALSKI und RAYFIELD 1999).

Propofol ist bei Kaninchen eine nützliche und sichere Narkoseart, bei deren Verwendung es zu keiner signifikanten Veränderung von Herzschlag und Blutdruck kommt (SEDGWICK et al. 1992).

2.2.2.3 Wirkung auf die Atmung

Propofol wirkt mäßig bis ausgeprägt atemdepressiv. Es kann zu einem einminütigen initialen Atemstillstand kommen (PADDLEFORD und ERHARDT 1992).

Bei äquipotenter Dosierung ist die tracheo-bronchiale Toleranz durch Relaxion der kranialen Muskulatur der Luftwege bei Propofolgabe besser als bei Barbituraten (EAMES et al. 1996, WU et al. 1996, DRIVER et al. 1997).

2.3 Strukturelle und funktionelle Eigenschaften der Kardiomyozyten

2.3.1 Bau und Größe der Kardiomyozyten

Das Myokard, das in den einzelnen Herzabschnitten unterschiedlich stark entwickelt ist, besteht beim Menschen zu 25 bis 30 % aus Myozyten (CANALE et al.1986).

Obwohl die Myozyten damit nur etwa $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{5}$ aller Myokardzellen repräsentieren, nehmen sie mit 70 bis 80 % bei den Säugetieren den größten Volumenanteil des Myokards ein (LEGATO 1979 a). SCHAPER et al. (1985) finden in ihren Untersuchungen heraus, dass das Myozytenvolumen beim Hund mit 63 % höher ist als das von Mensch (59 %), von Ratten und Hamstern (57 %) und von Mäusen (49 %). Kaninchen werden in der Arbeit allerdings nicht untersucht. Jedoch vertreten die Autoren die Meinung, jede Säugetierspezies habe eine eigene, charakteristische quantitative Zusammensetzung des Myokards. Der Zellverband der Kardiomyozyten ist in der Regel strang- oder balkenförmig angeordnet und bildet die Herzmuskelzellstränge, die auch Herzmuskelfasern genannt werden (SMOLLICH und MICHEL 1992). An den Kontaktstellen zu den Nachbarzellen verzahnen sich die einzelnen Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten) meist fingerförmig. Durch die beidseitige Ausbildung von adhärennten Zellverbindungen sind hier Aktinfilamente fest mit dem Plasmalemm (= Membran der Zelloberfläche) verbunden und übertragen die Kontraktion auf die nächste Herzmuskelzelle. Lichtmikroskopisch sind diese Zellverbindungen als dichte querverlaufende Bänder erkennbar. Man bezeichnet sie daher als Glanzstreifen (Disci intercalares) (LIEBICH 1999). Den größten Anteil innerhalb der Kardiomyozyten nehmen die Myofibrillen und die Mitochondrien mit 60 bis 90 % des Myozytenvolumens ein. Der Zellkern macht etwa 1,1 bis 2,8 % und die Matrix ca. 5,2 bis 6,8 % aus. Das sarkoplasmatische (longitudinale) Retikulum (L-System) beinhaltet 0,9 bis 4,9 % und das senkrecht dazu verlaufende schlauchförmige (transversale) System (T-System) 0,8 bis 1,6 % des Volumens (CANALE et al.1986). Das Wachstum des Myokards beruht hauptsächlich auf dem Myozytenwachstum (ANVERSA et al. 1980). Entsprechend der hohen Stoffwechsellistung sind die Kardiomyozyten reich an metabolisch aktiven Organellen. Infolgedessen sind Mitochondrien in großer Anzahl vorhanden und funktionsbedingt vergrößert. Zusätzlich sind als ständige Energiereserve Glykogengranula stark vermehrt vorhanden. Im Vergleich mit den Skelettmuskelfasern ist das transversale T-System der Herzmuskelzelle größer und ausgeprägter, das L-System dagegen geringer entwickelt. Das L-System dient vorwiegend dem intrazellulären Calciumtransport und damit der Regulation der Muskelkontraktion. Das T-System dient der beschleunigten Impulsübertragung

(Depolarisation) durch vermehrten Natriumeinstrom von der äußeren Muskelzellmembran ins Zellinnere (LIEBICH 1999).

2.3.1.1 Anzahl der Zellkerne

Durch elektronenmikroskopische Studien, die durch die Phasenkontrastmikroskopie an histologischen Schnitten unterstützt werden ist heute klar, dass Herzmuskelzellen im Vergleich zu anderen gestreiften Muskelzellen relativ klein sind und dass sie mehr als einen Kern enthalten können (DOW et al. 1981).

Nach LIEBICH (1999) besitzen die Herzmuskelzellen der Haussäugetiere meistens nur einen Kern, der stets zentral liegt. ANVERSA et al. (1978) kommen in ihrer Studie an Ratten zu dem Ergebnis, dass etwa 2 bis 4 % der Kardiomyozyten zweikernig sind. Die Anzahl der Herzmuskelkerne verdoppelt sich im Säuglingsalter durch quere Amitose und bleibt dann annähernd konstant, es sei denn, die Kammern erreichen das beim Menschen sogenannte „kritische Herzgewicht“ von 500 g. Bei solchen hypertrophierten Herzen findet eine Kernvermehrung statt. Bei gesunden Herzen enthalten die Myozyten beider Herzkammern annähernd gleich viele Kerne (LINZBACH 1952).

Neueren Erkenntnissen zufolge besteht die Herzkammer des Menschen zu 80 % aus einkernigen und zu 20 % aus zweikernigen Myozyten, unabhängig von Alter, Geschlecht, Herzhypertrophie oder ischämischer Kardiomyopathie (ANVERSA und NADAL-GINARD 2002).

2.3.1.2 Größe der Kardiomyozyten

Die durchschnittliche Länge und Breite der Kardiomyozyten variiert in Abhängigkeit von Alter, Lokalisation im Herzen, Tierart und Belastung von 100 bis 150 μm (siehe Tabelle 5). Ein Größenvergleich der Kardiomyozyten ist aufgrund unterschiedlicher Messmethodik zwischen den verschiedenen Autoren nur bedingt möglich (MISCHKE 1997). Das Kaliber der Herzmuskelstränge ist z.T. beträchtlichen altersbedingten und von Herzabschnitt zu Herzabschnitt wechselnden Schwankungen unterworfen. Bei langandauernden Mehrbelastungen kommt es zu einer allgemeinen Vergrößerung und Verdickung der Herzmuskelzellen (SMOLLICH und MICHEL 1992) sowie zu einer starken Vermehrung der Herzmuskelfasern und der Herzmuskelkerne (LINZBACH 1952).

BUSTAMENTE et al. (1982) untersuchen menschliche Kardiomyozyten aus Atrium und Ventrikel und kommen zu dem Ergebnis, dass die Zellen im Atrium kleiner sind als im Ventrikel und die Zellen von Kindern generell kleiner sind als die von Erwachsenen.

HOSHINO et al. (1983) können in Untersuchungen an menschlichen Herzen keine signifikanten Unterschiede im Durchmesser der Herzmuskelzellen von Männern im Vergleich zu Frauen finden, aber sie stellen ebenfalls fest, dass die Kardiomyozyten-Durchmesser in den verschiedenen Herzregionen unterschiedlich groß sind und sowohl von innen nach außen als auch von der linken zur rechten Ventrikelseite abnehmen. Außerdem finden sie signifikante Korrelationen zwischen Herzmuskelzellendurchmesser und dem Herzgewicht.

LEGATO (1979 b) kann bei 5 Monate alten Hunden keine Unterschiede der Herzmuskelzell-Durchmesser zwischen rechter und linker Ventrikelwand finden, bestätigt aber in ihren Untersuchungen eine Zunahme des Myozyten-Durchmessers mit zunehmendem Alter (siehe Tabelle 4). STEWART und PAGE (1978) finden in ihrer Studie eine altersabhängige Größenzunahme der Kardiomyozyten bei Kaninchen und Ratten.

KORECKY und RAKUSAN (1978) untersuchen an Ratten die Längenzunahme der Kardiomyozyten mit zunehmendem Alter. Dabei kommen auch sie zu dem Ergebnis, dass die Kardiomyozytenlänge vom ersten bis zum 8. Lebensmonat der Ratten kontinuierlich zunimmt (siehe Tab. 5). BISHOP et al. (1979) finden beim Vergleich unterschiedlicher Rattenrassen weder Größenunterschiede bei Herzmuskelzellen aus der rechten Herzkammer noch finden sie Unterschiede zwischen Epikard- und Endokardzellen der linken Herzkammer. Bei allen Rattenrassen sind die Herzzellen aus der linken Herzkammer jedoch größer als die aus der rechten Herzkammer. CAMPBELL et al. (1987) können an Hamstern, Ratten und Meerschweinchen ebenfalls keine signifikanten Längenunterschiede zwischen Epi-, Endo- und Myokard an Kardiomyozyten aus der linken Herzkammer feststellen. Allerdings finden auch sie unterschiedliche Kardiomyozytenlängen in rechter und linker Herzkammer. Beim Goldhamster und der Ratte sind die Kardiomyozyten aus dem rechten Ventrikel kürzer als die aus dem linken, während beim Meerschweinchen die Kardiomyozyten der rechten Herzkammer länger sind.

Tabelle 4: Mittlere Durchmesser von Kardiomyozyten unterschiedlicher Spezies

Autoren	Spezies	Alter	Entnahmeort	Durchmesser in μm
POWELL und TWIST (1976)	Ratte		gesamtes Herz	10-35
ZAK (1973)	Ratte	neonatal adult	linker Ventrikel linker Ventrikel	5 16
ZAK (1973)	Kaninchen	neonatal adult	linker Ventrikel linker Ventrikel	7 17
ZAK (1973)	Hund	neonatal adult	linker Ventrikel linker Ventrikel	6 15
LEGATO (1979 a)	Hund	24 Stunden 2,5 Monate 5 Monate	linker Ventrikel rechter Ventrikel linker Ventrikel rechter Ventrikel linker Ventrikel rechter Ventrikel	3,7 7,7 3,9 5,7 6 5,3
ZAK (1973)	Mensch	neonatal	linker Ventrikel	6
BUSTAMENTE et al. (1982)	Mensch	Erwachsene Kinder	Atrium Ventrikel Atrium Ventrikel	10,1 22,5 6,8 16,7

Tabelle 5: Mittlere Länge von Kardiomyozyten unterschiedlicher Spezies in μm

Autoren	Spezies	Alter	Entnahmeort	Länge in μm
MUIR (1965)	Ratte	adult	Ventrikel	130-135
POWELL und TWIST (1976)	Ratte		gesamtes Herz	80-150
KORECKY und RAKUSAN (1978)	Ratte	1 Monat alt 8 Monate alt	linker Ventrikel linker Ventrikel	78,1 127,5
SORENSEN et al. (1985)	Ratte	200 g KG	Ventrikel	110-119
CAMPBELL et al. (1987)	Ratte	adult	beide Ventrikel Epikard Myokard Endokard	117 125,4 124,2 122,9
SORENSEN et al. (1985)	Hamster	3 Monate 7 Monate 10 Monate	beide Ventrikel beide Ventrikel beide Ventrikel	119 123 143
CAMPBELL et al. (1987)	Hamster	adult	beide Ventrikel Epikard Myokard Endokard	123,7 134,0 129,5 129,1
SEN et al. (1990)	Hamster	adult	Ventrikel	162
CAMPBELL et al. (1987)	Meerschweinchen	adult	beide Ventrikel Epikard Myokard Endokard	136,3 129,4 131,9 129,9
HARDING et al. (1990)	Kaninchen			117
BUSTAMENTE et al. (1982)	Mensch	Erwachsene Kinder	Atrium Ventrikel Atrium Ventrikel	94,1 125,3 83,4 118

2.3.2 Der kontraktile Apparat der Kardiomyozyten

2.3.2.1 Aufbau des Sarkomer

Der kontraktile Apparat der Kardiomyozyten wird durch die Myofibrillen gebildet (siehe Abb.3). Dabei handelt es sich um zylinderförmige Gebilde mit einem Durchmesser von etwa 1 bis 2 μm und einer Länge, die sich ungeachtet der Zellgrenzen über den gesamten Muskel erstreckt. Jede Myofibrille besteht aus einer Kette winziger kontraktile Einheiten, den sogenannten Sarkomeren, die ihnen ein quergestreiftes Aussehen verleihen (ALBERTS et al. 1995).

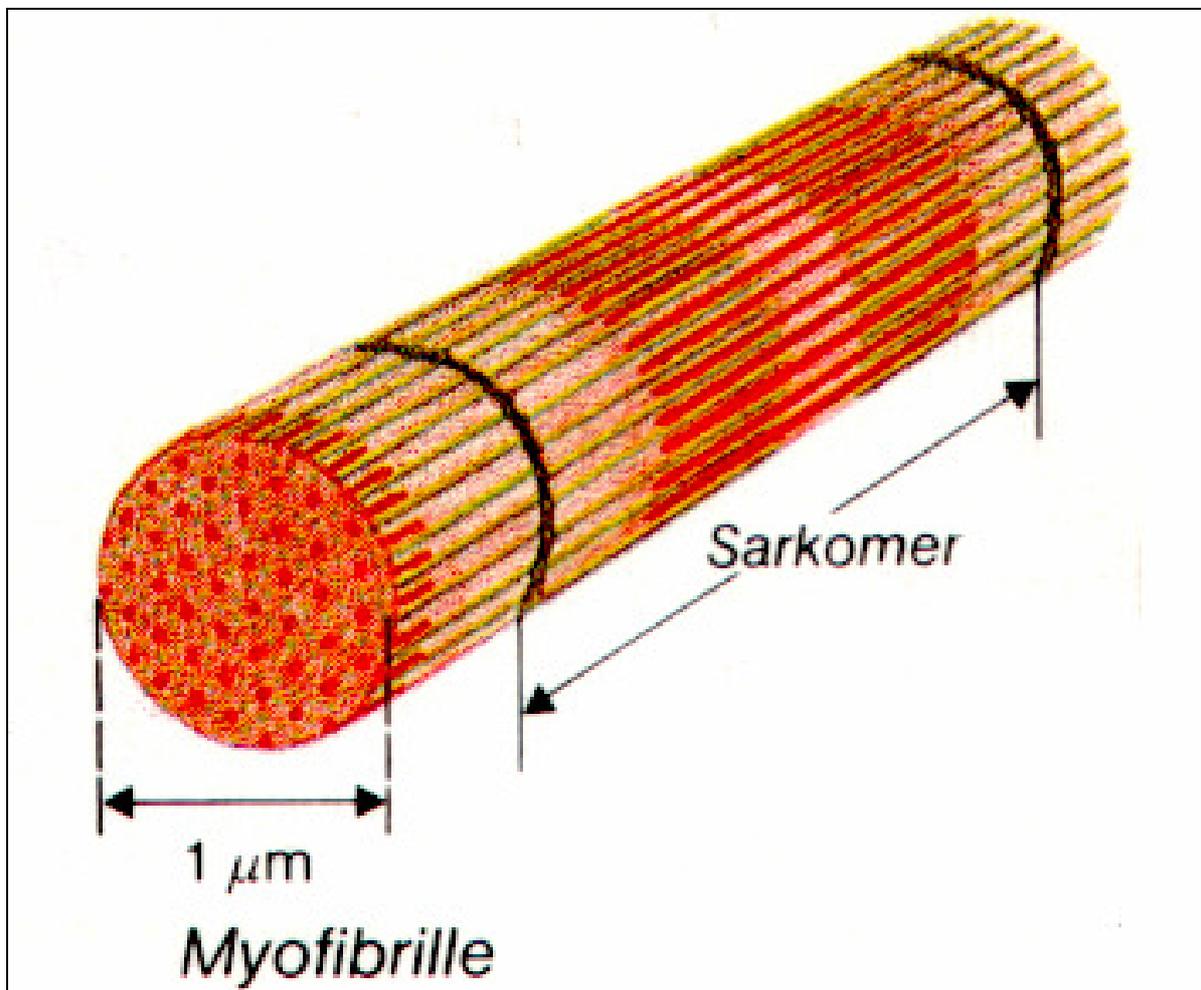


Abbildung 3: Räumliche Darstellung von Myofibrille und Sarkomer

(SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991)

Wie in Abbildung 4 und 5 dargestellt ist mit Hilfe starker Vergrößerung in jedem Sarkomer eine Reihe heller und dunkler Streifen erkennbar. Eine dunkle Linie in der Mitte der hellen Streifen, die sogenannte Zwischenscheibe (Z-Linie), trennt ein Sarkomer vom nächsten (ALBERTS et al. 1995). Im durchfallenden Licht erfolgt eine unterschiedliche Brechung, so dass man isotrope, einfachbrechende (=helle) I-Bande und anisotrope, doppelbrechende (=dunkle) A-Bande unterscheiden kann (LIEBICH 1999).

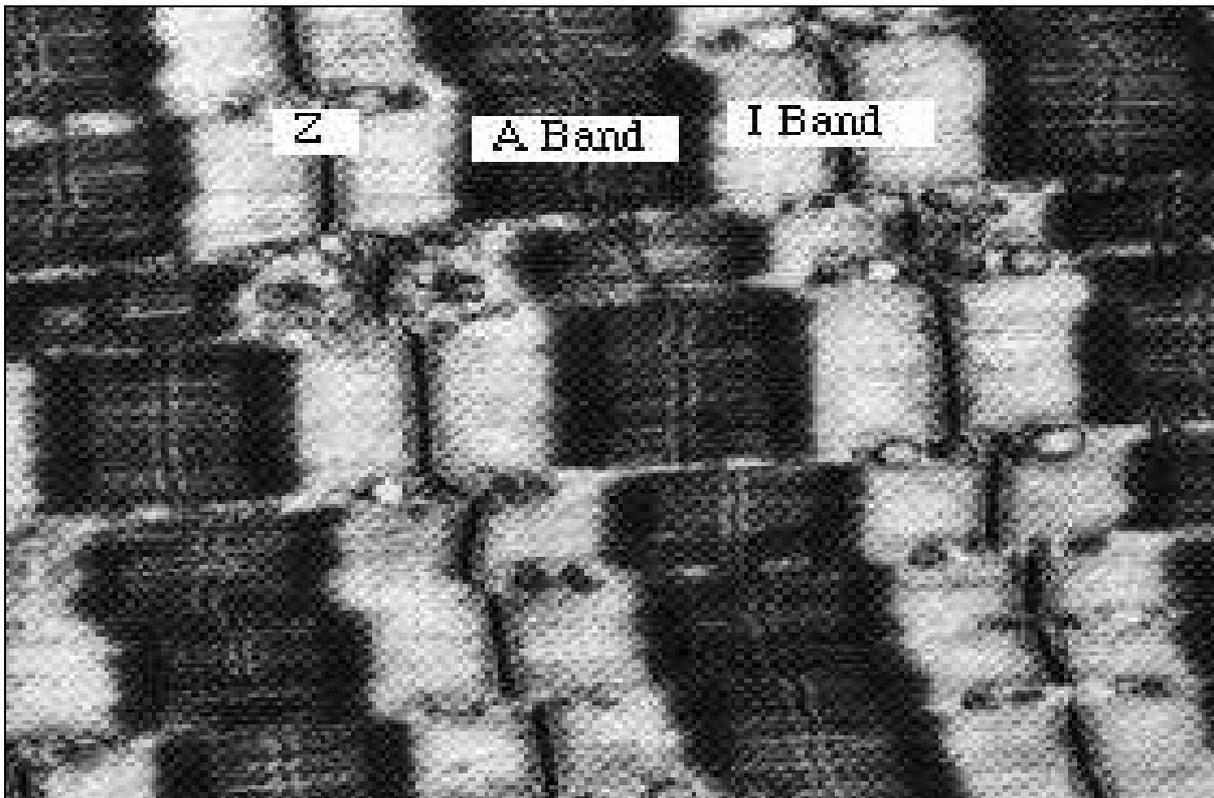


Abbildung 4: Mikroskopische Aufnahme der Sarkomerstruktur

(CROFTS 1996)

Die dünnen Aktinfilamente, die mit sogenannten „Zubehörproteinen“ (= Troponin und Tropomyosin vgl. Seite 22) verbunden sind, sind in der Mitte an der Z-Scheibe befestigt, d.h. jeweils eine Kettenhälfte ragt in zwei benachbarte Sarkomere. In der Nähe der Z-Scheiben besteht das Sarkomer nur aus Aktinfilamenten (I-Band). In der Mitte des Sarkomers überlappen sie sich mit den dicken Myosinfilamenten (A-Band). Die H-Zone ist der Teil des Sarkomers, der nur aus Myosinfilamenten besteht; die Myosinfilamente verdicken sich in der

Mitte (Zentrum des Sarkomers) zu einer M-Linie (SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991).

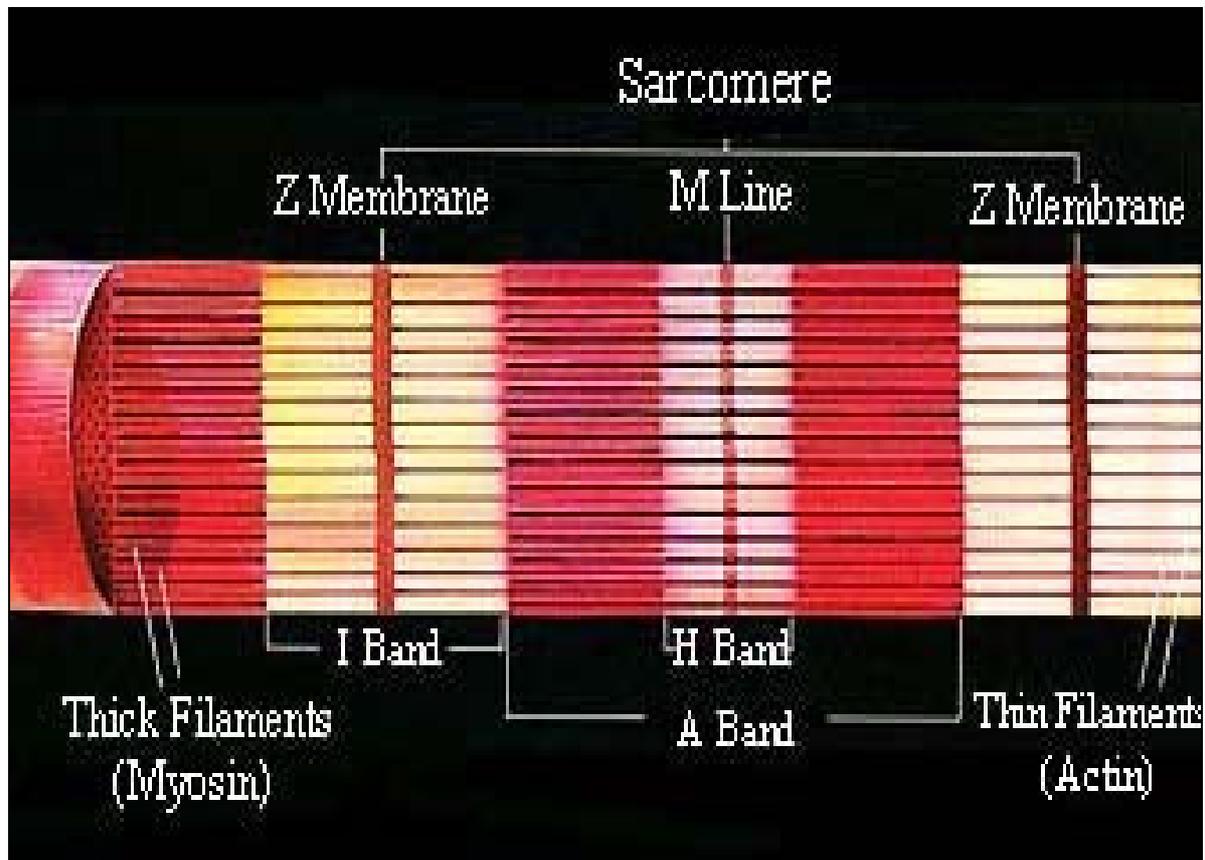


Abbildung 5: Schematischer Aufbau eines Sarkomer (CROFTS 1996)

Eine Verkürzung der Sarkomere entsteht durch das Aneinandervorbeigleiten der Aktin- und Myosinfilamente, ohne dass sich die Länge der Filamente dabei verändert (ALBERTS et al. 1995). Der Begriff des Gleitfaser-Modells (siehe Abb. 6) wird 1954 geprägt und macht diesen Kontraktionsmechanismus verständlich (HUXLEY 1965).

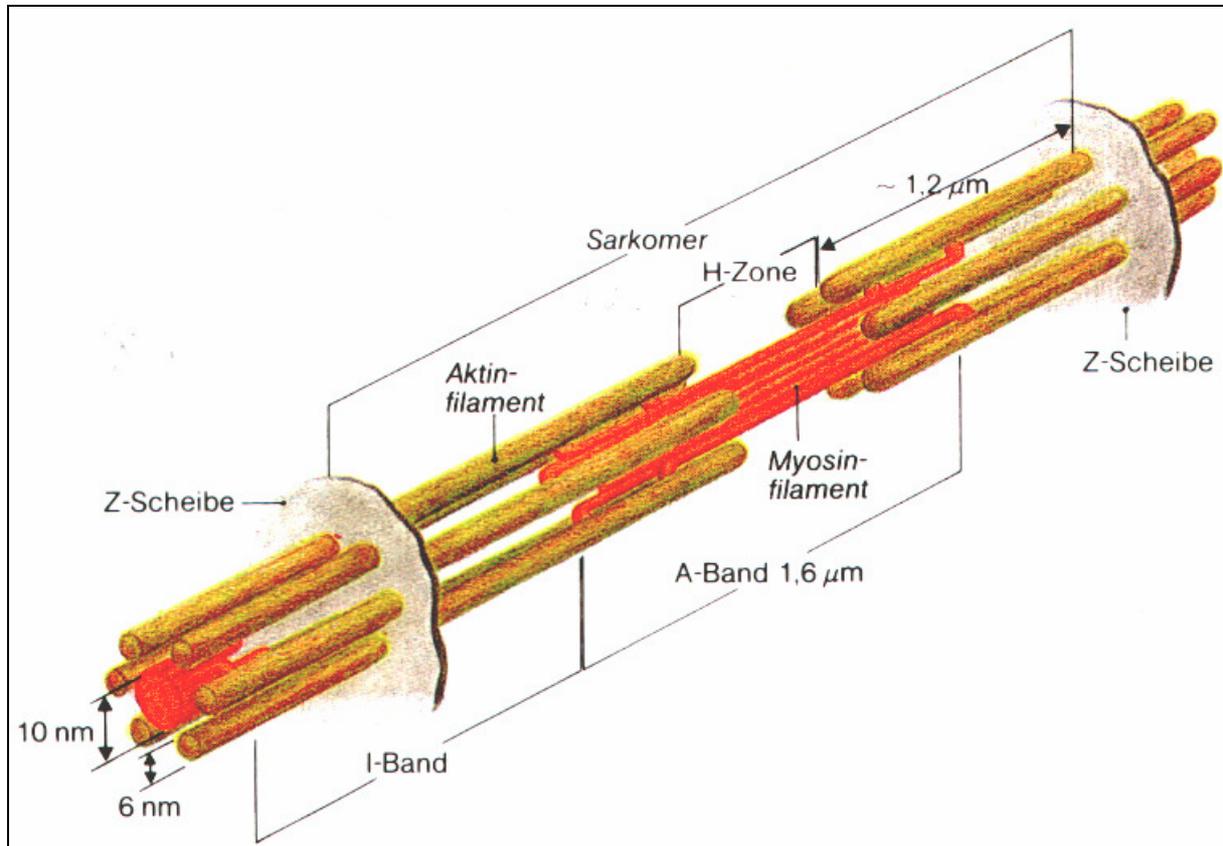


Abbildung 6: Das Gleitfaser-Modell der Muskelkontraktion

(SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991)

2.3.2.2 Wichtige Proteine des kontraktiven Apparates

2.3.2.2.1 Myosin

Wie in Abb.7 erkennbar ist besteht das Myosinmolekül (ein fibrilläres Protein) aus einem zweigeteilten Kopf, der gelenkartig mit dem Hals verbunden ist (Kopf + Hals = schweres Meromyosin) und dem sich ebenfalls gelenkartig anschließenden Schwanzstück (leichtes Meromyosin). Das Kopfstück enthält die ATPase. Ein Myosinfilament besteht aus 150-360 solcher bündelartig zusammengefassten Moleküle, wobei die Köpfe an beiden Enden angeordnet sind (vgl. Abb. 8). Die gelenkartige Beweglichkeit des Kopf-Hals-Stückes ermöglicht eine reversible Bindung des Myosins an das Aktin und das Ineinandergleiten der Aktin und Myosinfilamente. (SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991).

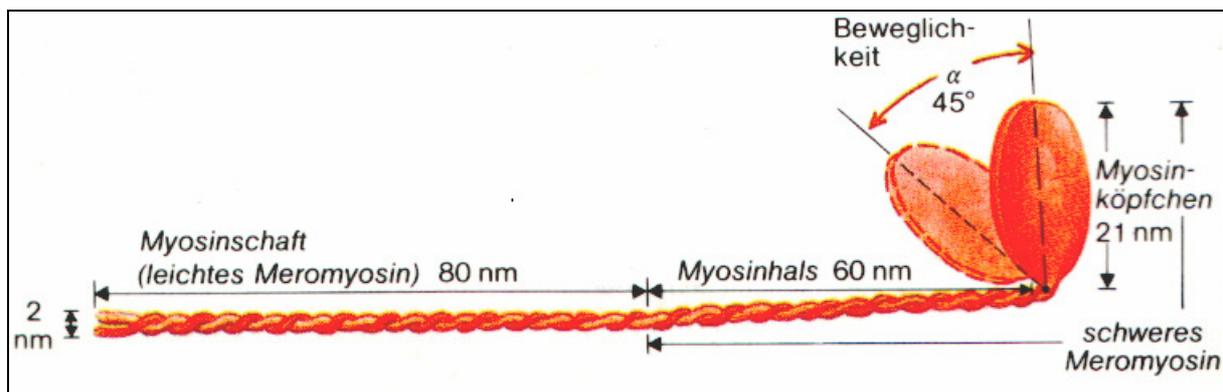


Abbildung 7: Aufbau eines Myosinmoleküls (SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991)

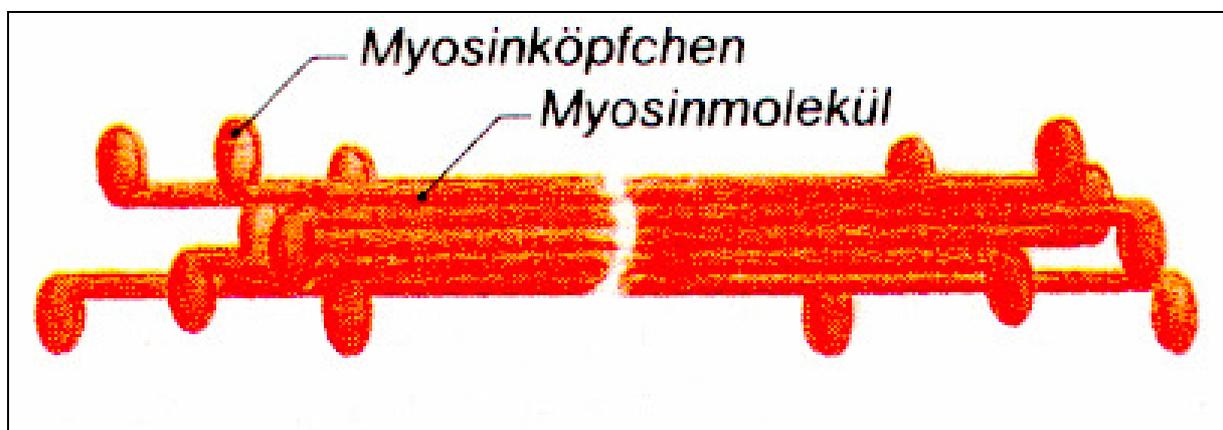


Abbildung 8: Aufbau eines Myosinfilamentes
(SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991)

2.3.2.2.2 Aktin

Aktin ist ein sogenanntes globuläres Proteinmolekül (G-Aktin). Jeweils 400 G-Moleküle bilden eine perlschnurartige Kette, das sogenannte fibrilläre Aktin (F-Aktin) und jeweils wieder 2 ineinanderverdrillte F-Aktinketten bilden ein Aktinfilament (SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991) (vgl. Abb. 9).

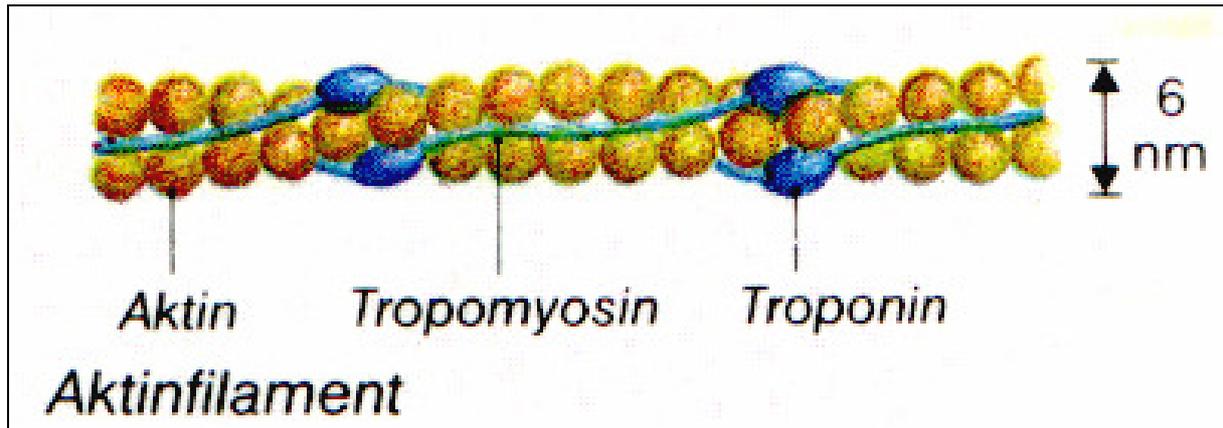


Abbildung 9: Aktinfilament mit den Regulatorproteinen Tropomyosin und Troponin
(SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991)

2.3.2.2.3 Tropomyosin und Troponin

Wie in Abb. 9 erkennbar ist, bestehen die dünnen Filamente größten Teils aus Aktin, enthalten aber zusätzlich noch die beiden Regulatorproteine Tropomyosin und Troponin (KATZ 1977). Das Tropomyosin ist ebenfalls fadenförmig und liegt in den Windungen des Aktinfilaments, wobei etwa alle 40 nm ein Troponinmolekül angeheftet ist (SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991).

Troponin ist ein Komplex aus 3 Polypeptiden mit den Bezeichnungen Troponin T, I und C (für Tropomyosin-bindend, Tropomyosin-inhibitierend und Calcium-bindend). Entsprechend ihrer Bezeichnung haben sie unterschiedliche funktionelle Bedeutung. Der Komplex ist länglich geformt, wobei C + I einen globulären Kopf bilden und T einen langen Schwanz (ALBERTS et al. 1995).

2.3.2.3 Molekulare Mechanismen der Kardiomyozyten-Kontraktionsauslösung

Bei der Auslösung der Muskelkontraktion spielen Calciumionen eine wichtige Rolle. Das sarkoplasmatische Retikulum (SR) reguliert die Ca^{2+} -Konzentration in der Umgebung der kontraktilen Muskelfasern. Im Ruhezustand ist die Ca^{2+} -Konzentration um die Muskelfasern sehr niedrig (10^{-7} M) (STREYER 1994). Ein eintreffendes Aktionspotential steigert die Calciumpermeabilität der Membranen des SR und leitet so die Kontraktion ein. Die Ausbreitung des Aktionspotentials erfolgt dabei über das T-System auch in die Tiefe der gesamten Muskelfaser, woraufhin die longitudinalen Tubuli kurzzeitig für Ca^{2+} durchlässig sind (LIEBICH 1999). Spannungsempfindliche Proteine in der Membran des T-Tubulus werden aktiviert und setzen Calcium aus dem SR frei (Ca^{2+} -Anstieg auf 10^{-5} M). Das Calcium verbindet sich mit dem Troponin und hebt dadurch die blockierende Wirkung des Tropomyosins auf die Myosin-Aktin-Verbindung auf. Die beiden Myosinköpfe binden je 1 ATP und bilden in dieser Form mit ihren Hälsen einen Winkel von 90° . Bei hoher Calciumkonzentration verbinden sich die Myosinköpfe mit dem Aktin, welches die ATPase im Myosinkopf aktiviert. Die ATPase kann daraufhin ATP unter Anwesenheit von Mg^{2+} in $\text{ADP} + \text{P}_i$ spalten. Löst sich aus dem entstandenen Komplex P_i (anorganisches Phosphat), so kippen die Myosinköpfe aus ihrer 90° Stellung in eine 50° Stellung und die Aktin- und Myosinfilamente gleiten aneinander vorbei. Erst die Abgabe von ADP bringt die Myosinköpfe schließlich in ihre Endstellung von 45° . Der übriggebliebene Aktin-Myosinkomplex ist stabil. Erst nach einer erneuten Bindung von ATP kehren die Myosinköpfe wieder in ihre Ausgangsposition zurück (SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991). Das freigewordene Calcium, welches den mechanischen Teil der Muskelkontraktion einleitet, steigt nur vorübergehend an. Es wird sehr schnell wieder durch die Wirkung einer ATP-betriebenen Ca^{2+} -Pumpe, die sich in der Membran des SR befindet, gesenkt (innerhalb von 30 ms hat die Ca^{2+} -Konzentration im Cytosol wieder den Ruhewert erreicht). Die Calciumtransportgeschwindigkeit wird durch das cytosolische Protein Phospholamban gesteuert. Durch eine Phosphorylierung dieses Proteins kommt es zur Aktivierung der Ca^{2+} -ATPase (STREYER 1995). ATPase, die in der SR-Membran in großer Menge vorhanden ist, pumpt Ca^{2+} zurück in das SR. Zum Transport von zwei Ca^{2+} -Ionen ist ein Molekül ATP nötig (ALBERTS et al. 1995).

2.3.2.4 Mechanismus des Kontraktionsprozesses

Die Kontraktion wird durch die Wechselwirkungen zwischen den Myosinköpfchen und den benachbarten Aktin-Filamenten angetrieben (ALBERTS et al. 1995). Im Myosinkopf wird durch die ATPase ATP in ADP und P hydrolysiert. Bei diesem Prozess kommt es zu einer Strukturänderung des Myosins, bei dem die Köpfe gelenkartig abknicken und die Aktinfilamente dabei mit sich ziehen, indem sie sich für kurze Zeit mit dem Aktin verbinden. Die Zugrichtung an den beiden Enden der Myosinfilamente ist hierbei entgegengesetzt gerichtet, so dass der Myosin-Aktin-Überlappungsbereich auf beiden Seiten der Z-Scheibe vergrößert wird. Somit erfolgt die Verkürzung des Sarkomers an beiden Seiten der Myosinbündel, wobei es nicht zu einer Verkürzung der beiden Filamente, sondern zu einer Verringerung des Abstandes zwischen den beiden Z-Streifen kommt (STREYER 1994). Jede einzelne Kippbewegung der Myosinköpfe führt lediglich zu einer Sarkomerverkürzung von ca. einem Prozent der Gesamtlänge des Sarkomers. Damit es zu einer tatsächlichen Muskelkontraktion, einer Verkürzung um ca. dreißig Prozent kommt, ist ein oft wiederholter Ablauf dieser Kippbewegung notwendig (SILBERNAGEL UND DESPOPOULOS 1991). Einige Myosinköpfe erhalten jeweils die erreichte Verkürzung aufrecht, während andere phasenverschobene Myosinköpfe schon zu einer neuen Ruderbewegung und Brückenbildung mit der nächsten Einraststelle des Aktinfilaments ausholen. Weil die Myosinköpfe bei jedem neuen Umklappen in den jeweils nächsten „Zahn“ des Aktinmoleküls einrasten, werden die Aktinfilamente durch dieses Nachfassprinzip wie beim Tauziehen immer weiter in die Mitte des Sarkomers gezogen (siehe Abb. 10). Diese aufeinander folgenden Einzelverkürzungen addieren sich letztendlich zur Gesamtkontraktion des Muskels (ALBERTS et al. 1995).

Unter der Kontraktilität des Herzens versteht man die Fähigkeit sich aufgrund eines Reizes aktiv zu kontrahieren oder wenn die Faserverkürzung verhindert wird, Spannung in der Wand und Druck in der Kammer aufzubauen. Voraussetzung für die Kontraktilität ist die Sensibilität des Organes d.h. die Fähigkeit einen Reiz wahrzunehmen. Weiterhin wird die Kontraktilität definiert als die maximale Geschwindigkeit der Faserverkürzung (HAMLIN 1977).

Die Verkürzungsfraktion (Fractional Shortening FS) ist die prozentuale Durchmesser-Verkürzung des linken Ventrikels. Dieser in Prozent angegebene Wert ergibt sich aus dem Verhältnis von endsystolischem und enddiastolischem Durchmesser des linken Ventrikels und ist ein Maß für die Kontraktilität von Kammerwand und Septum.

$$\text{FS (\%)} = \frac{LV_{\text{enddiast.}} - LV_{\text{endsyst.}}}{LV_{\text{enddiast.}}} \times 100$$

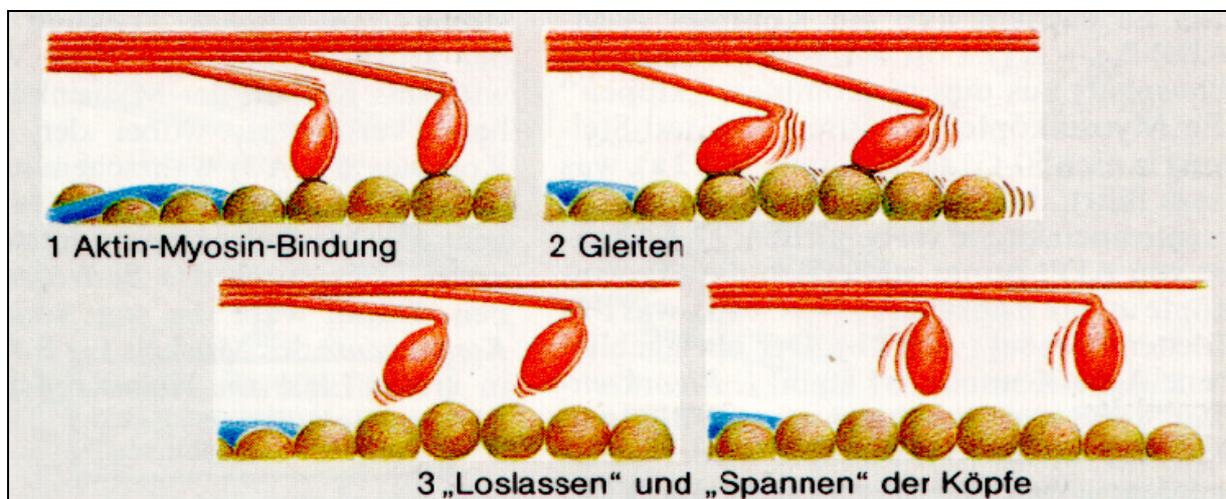


Abbildung 10: Funktionelle Interaktion von Aktin- und Myosinmolekülen als Grundlage des Filamentgleitens
(SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991)

2.3.3 Isoprenalin

Zur Messung der Kontraktilität können Kardiomyozyten mit unterschiedlichen Konzentrationen von Isoprenalin stimuliert werden. Es handelt sich hierbei um ein synthetisch hergestelltes Katecholamin. Im Gegensatz zu den körpereigenen Katecholaminen wie Adrenalin, Noradrenalin oder Dopamin, wirkt Isoprenalin aufgrund seines längeren Substituenten an der Aminogruppe selektiv auf die β -Rezeptoren. Es hat also praktisch keine Wirkung auf die α -Rezeptoren (FREY und LÖSCHER 2002). Isoprenalin verursacht eine periphere Vasodilatation und somit ein Absinken des diastolischen Blutdrucks und des peripheren Widerstandes. Der Blutfluss steigt in Gefäßen, die β -innervierte Kapillargebiete versorgen, an. Gefäße, die α -innervierte Gebiete versorgen, werden kaum beeinflusst. Isoprenalin hat eine ausgeprägte Wirkung auf β_1 -Rezeptoren und erhöht Kontraktionskraft, Herzfrequenz und Herzminutenvolumen. Die Auswirkungen auf das Herz sind von der Höhe der Dosis und von der Art der Dosisverteilung abhängig (PIERRA et al. 1979). β_2 -vermittelte Organwirkungen sind bei Isoprenalin nicht ohne gleichzeitige Herzstimulation zu erreichen, wodurch heute therapeutisch nur noch die β_1 -Wirkung erwünscht ist. Isoprenalin verbessert die AV-Überleitung und kann dadurch partielle oder totale Überleitungsblocks aufheben. Die Wirkungsdauer von Isoprenalin beträgt allerdings nur 1 Stunde und bei wiederholter Anwendung kommt es zur Wirkungsabnahme durch Reduktion der Empfindlichkeit der β -Rezeptoren (sogenannte Downregulation). Bei Überdosierung von Isoprenalin kann es zu tachycarden Herzarrhythmien kommen (FREY und LÖSCHER 2002). In Verbindung mit Herzerkrankungen kann eine erhöhte Stimulierung der β -Rezeptoren durch Katecholamine sogar zu Kammerflimmern führen (HOULE et al. 2001).

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Zielsetzung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es herauszufinden, ob es einen messbaren Unterschied im Kontraktilitätsverhalten des Myokards *in vivo* und *ex vivo* von isolierten Kardiomyozyten zwischen Weißen-Neuseeland-Kaninchen (WN) und Chinchilla-Bastard-Kaninchen (CB) gibt. Die Untersuchungen wurden gemäß § 8 und § 8a des Deutschen Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Oberbayern genehmigt.

3.2 Material und Methoden

3.2.1 Versuchstiere und deren Haltung

Für die vorliegende Studie werden je 12 weibliche, adulte Chinchilla-Bastard-Kaninchen und Weiße-Neuseeland-Kaninchen mit Körpergewichten zwischen 3 und 4 kg verwendet. Die Tiere stammen aus einer kommerziellen Versuchstierzucht. Die Haltung der Kaninchen erfolgt in V2A-Stahl-Einzelkäfigen in einem klimatisierten Raum mit einer Temperatur zwischen 19°C und 21°C, einer relativen Luftfeuchte von 60 bis 70 % und einem zirkadianen Hell-Dunkelzyklus (12-stündiger Wechsel). Die Fütterung der Tiere erfolgt mit Kaninchenalleinfutter (Fa. Ssniff, Soest) aus Futterautomaten und Wasser aus Tränkeautomaten. Beides steht *ad libitum* zur Verfügung.

3.2.2 Gruppeneinteilung und Versuchsplan

Für die vorliegenden *In-vivo*- und *In-vitro*-Untersuchungen sind die Kaninchen in zwei Gruppen eingeteilt. Beide Gruppen bestehen aus jeweils 6 gesunden Tieren der Rasse Weiße-Neuseeland-Kaninchen (WN) und der Rasse Chinchilla-Bastard-Kaninchen (CB). Zunächst erfolgt eine klinische Allgemeinuntersuchung mit Beurteilung des Allgemeinzustandes und Bestimmung des Körpergewichts der Tiere.

An Gruppe 1 findet anschließend eine Funktionsuntersuchung des Herzens durch Echokardiographie statt, während bei Gruppe 2 eine Entnahme der Herzen zur Kardiomyozyten-Isolierung erfolgt.

3.2.3 Versuchsdurchführung der In-vivo-Messungen

Echokardiographie

Die Ultraschallmessung erfolgt mit einem Ultraschallgerät (SONO 1000, Fa. Hewlett Packard, München) und einem Sektorschallkopf vom Typ 7,5 MHz 21275A im D und M Mode. Die Kaninchen erhalten eine Narkose mit Propofol 1% (Fresenius, Bad Homburg) 0,5 mg/kg/min i.v. über eine Dauertropfinfusion (DTI) um Abwehrbewegungen zu vermeiden, und dadurch bestmögliche Messdaten zu erhalten. Die Tiere werden in Brustlage auf einer dafür konstruierten Vorrichtung gelagert, indem der Thorax über einer Aussparung zu liegen kommt. Der Schallkopf wird von lateral parasternal an der rechten Thoraxwand in der Region der 4. bis 5. Rippe so angelegt, dass das Herz im Querschnitt dargestellt wird. Hierbei ist darauf zu achten, dass die Schnittebene zwischen den Papillarmuskeln verläuft (POULSEN NAUTRUP 1998).

Bei der Messung werden die Parameter:

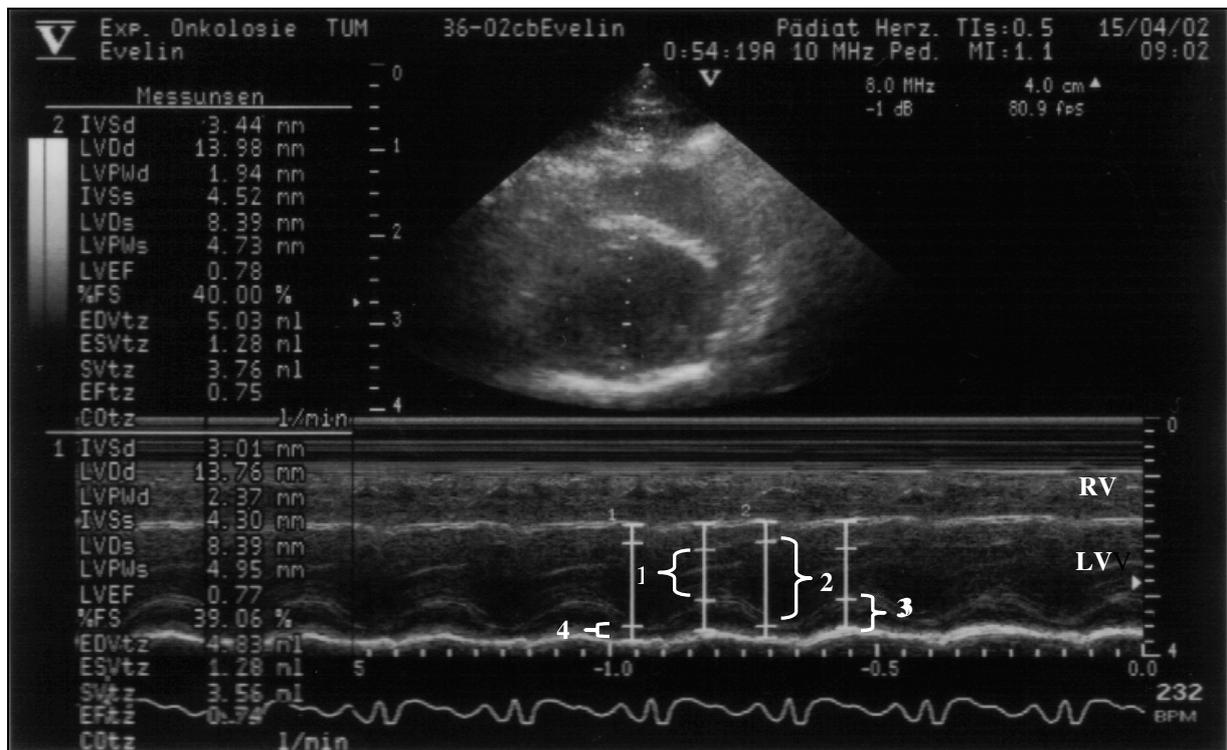
- Herzwandstärke endsystolisch
- Herzwandstärke enddiastolisch
- Endsystolischer Durchmesser des linken Ventrikels ($LV_{\text{endsyst.}}$) und
- Enddiastolischer Durchmesser des linken Ventrikels ($LV_{\text{enddiast.}}$) bestimmt.

Die Formel zur Ermittlung der Verkürzungsfraction FS (= prozentuale systolische Durchmesserverkürzung) lautet:

$$\text{FS (\%)} = \frac{LV_{\text{enddiast.}} - LV_{\text{endsyst.}}}{LV_{\text{enddiast.}}} \times 100$$

Jeder in die Berechnung eingehende Parameter stellt einen Mittelwert aus 10 Messungen dar.

Auf Abbildung 11 ist ein Beispiel eines echokardiographischen Messprotokolls zu sehen. Das Programm des Ultraschallgerätes berechnet (auf der linken Seite des Bildes erkennbar) automatisch verschiedenen Parameter des Herzens.



RV = Rechter Ventrikel, LV = Linker Ventrikel, 1 = Endsystolischer Durchmesser des linken Ventrikels, 2 = Enddiastolischer Durchmesser des linken Ventrikels, 3 = Endsystolische Dicke der linken posterioren Kammerwand, 4 = Enddiastolische Dicke der linken posterioren Kammerwand

Abbildung 11: Beispiel für ein echokardiographisches Messprotokoll

(Querschnitt durch das Herz auf Höhe der Papillarmuskeln)

3.2.4 In-vitro-Untersuchungen

3.2.4.1 Präparation adulter Kaninchenherzzellen mit der Langendorff-Perfusionsapparat

3.2.4.1.1 Aufbau der Langendorff-Perfusionsapparat

Mit Hilfe der Langendorff-Perfusionsapparat werden die Myozyten aus dem Myokard isoliert. Die Apparat (siehe Abb. 12) besteht aus einem Flüssigkeitsreservoir, einem Zwischenstück, einer Blasenfalle, an der die Aortenkanüle befestigt ist und einem Auffangbehälter. Die Glasanteile der Apparat sind doppelwandig und werden über ein zirkulierendes Wasserbad auf 39,5 °C erwärmt. Die Verbindung ist über PVC Schläuche hergestellt. Eine Rollerpumpe transportiert anfangs das Powell-Medium und anschließend die Kollagenase-Lösung zum Herzen. Die Umschaltung vom Medium auf die Kollagenase erfolgt durch einen Drei-Wege-Hahn. Während der Perfusion wird das Powell-Medium und später die Kollagenase über 2 ml Glaspipetten kontinuierlich mit 95 % O₂ und 5 % CO₂ begast.

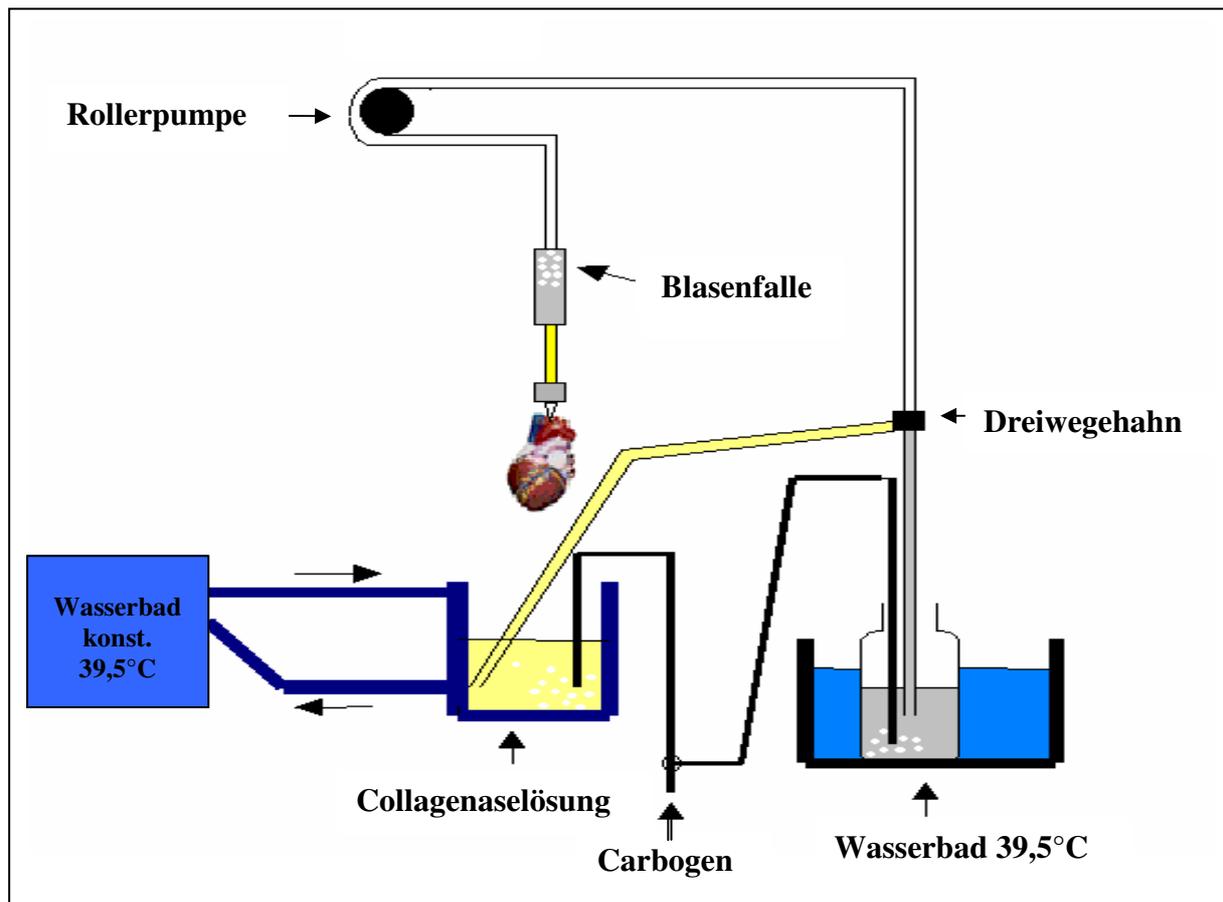


Abbildung 12: Schematische Zeichnung des Versuchsaufbaus zur Kardiomyozytenisolierung

3.2.4.1.2 Verwendete Materialien und Chemikalien

Instrumente zur Isolierung der Kardiomyozyten

2 kleine Scheren, 2 feine Pinzetten, 2 Skalpelle, eine Glaspetrischale, Einmalpipetten, 50 ml Falkon Röhren , ein Stück Nylonmembran (200µm). Alle Instrumente sind steril.

Sterile Lösungen

Powell-Medium für die Kardiomyozytenisolierung

Das für die Kardiomyozytenisolierung benötigte Powell-Medium wurde mit den in Tabelle 6 beschriebenen Substanzen hergestellt.

Tabelle 6: Bestandteile des selbsthergestellten Powell-Mediums

	MG	mM	g/l
NaCl	58,50	110	6,43
KCl	74,56	2,5	0,19
KH ₂ PO ₄	136,1	1,2	0,16
MgSO ₄	246,5	1,2	0,30
NaCO ₃	84,01	25	2,10
Glucose	180,2	11	2,00

Der pH-Wert wird mit NaCl oder HCl auf 7,4 eingestellt.

Die Sterilisation des Mediums erfolgt mittels Ultrafiltration (0,22 µm)

CaCl₂ 100 mM für die Kardiomyozytenisolierung

$M = 147,02 \Rightarrow 1,47 \text{ g}/100 \text{ ml H}_2\text{O bidest.}$

Sterilisation: Filtration 0,22 µm oder autoklavieren

M199-Kulturmedium für die Kardiomyozyten

In Tabelle 7 sind die zur Herstellung des M199 Kulturmedium benötigten Chemikalien aufgeführt.

Tabelle 7: Bestandteile des M199 Mediums

	1000 ml
MEM Vitamine (100X) (GIBCO BRL, 11120-037)	10 ml
MEM nicht essentielle Aminosäuren (100X) (GIBCO BRL, 11140-035)	10 ml
Penicillin 100 U/ml, Streptomycin 100 µg/ml (100X) (SIGMA, PO781)	10 ml
Insulin 10 µg/ml, 0,3 M Lösung in H₂O (SIGMA, I-5500)	5 ml
Gentamycin 50 mg/ml	2 ml

Tyrode-Lösung für die Kardiomyoytenmessung

Tabelle 8 enthält die zur Herstellung von Tyrode-Lösung benötigten Chemikalien und deren Konzentrationen.

Tabelle 8: Bestandteile zur Herstellung von Tyrode Lösung

	MG	Konz. (mM)	g/l
NaCl	58,44	126,00	7,30
KCl	74,56	5,40	0,40
MgCl x 6 H ₂ O	203,30	1,00	0,20
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	147,00	1,80	0,26
NaH ₂ PO ₄	137,90	0,33	0,04
Hepes (238)	238,30	10,00	2,30
Glucose	180,20	10,00	1,80

Mit NaOH den pH-Wert auf 7,4 einstellen

Chemikalien:

Bovines Serum Albumin (BSA) 1 g (SIGMA A-8022), Collagenase Typ II 243 U/mg, Maus Laminin 2 µg/cm² (BD Biosciences), Isoprenalin 12 mg/ml (SIGMA).

3.2.4.1.3 Isolierung der Kardiomyozyten

Die Euthanasie der Kaninchen erfolgt mit Pentobarbital 60 mg/kg i.v. (Narcoren®, Fa. Rhone Merieux GmbH, Laupheim). Nach Entnahme spült man das Herz in eiskalter NaCl-Lösung (0,9 %) und entfernt Fett und Perikard. Anschließend wird das Herz über die Aorta ascendens auf die Kanüle einer Perfusionsapparatur nach LANGENDORFF (1895) gestülpt und mit einem Faden gut fixiert. Die Regulation des Perfusionsdrucks und die Flussgeschwindigkeit des im Wasserbad auf 37 °C erwärmten und mit Carbogen begasten Powell-Mediums (O₂ = 95 %) ermöglicht eine Multifix-Schlauchpumpe (EuGelli). Das anschließende 10-minütige Perfundieren des Herzens mit Powell-Medium (Flussgeschwindigkeit 20 bis 30 ml/min) dient dem Auswaschen des Restblutes. Währenddessen werden 22 mg Collagenase in 50 ml Powell-Medium (37 °C, O₂ 95%) gelöst und 20 µl CaCl₂ 100 mM dazugegeben. Anschließend erfolgt die Perfusion mit der Collagenase-Lösung bei einer Flussgeschwindigkeit von 20 bis 30 ml/min unter palpatorischer Überprüfung des Herzens auf Konsistenzänderung. Zur Kontrolle werden immer wieder einige Tropfen der unten austretenden Flüssigkeit in einer kleinen Petrischale aufgefangen und mikroskopisch auf vorhandene Herzzellen untersucht. Nach ausreichender Andauung des Gewebes (mindestens 10-20 Kardiomyozyten im mikroskopischen Sehfeld erkennbar) wird die Perfusion abgebrochen, das Herz von der Perfusionsanlage abgenommen und in eine sterile Glaspetrischale überführt. Mit steriler Pinzette und Schere befreit man es von Fett- und Bindegewebe und entfernt das Atrium und den rechten Ventrikel. Nach Zerschneiden des linken Ventrikels mit Hilfe zweier steriler Skalpelle in möglichst kleine Stücke und Umfüllen des Gewebes in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen mit Powell-Medium (38 °C, O₂ 95 %) erfolgt eine etwa 3-minütige Begasung mit Carbogen. Die anschließende Filtrierung der Zellsuspension durch eine Nylonmembran (200 µm) führt zur Trennung von gelösten und nicht gelösten Anteilen. Der Überstand des Filtrates wird nach der Sedimentation vorsichtig mit Einmalpipetten abgesaugt und die Pellets werden tropfenweise in 10 ml Powell-Medium mit einer Konzentration von 0,2 mM Ca²⁺ (oxygeniert) resuspendiert. Während einer Sedimentationsphase von ungefähr 10 min löst man 1 g BSA in 25 ml Powell-Medium. Durch Zugabe von 250 µl der 100 mM CaCl₂ -Lösung stellt sich eine Ca-Konzentration von 1 mM ein. Nach erneutem Absaugen des Überstandes werden die Zellen vorsichtig in Powell-Medium mit einer Ca-Konzentration von 0,4 mM resuspendiert, die BSA-Lösung tropfenweise mit der Zellsuspension überschichtet und es erfolgt eine letzte etwa 10-minütige Sedimentation. Danach stehen die in 2 ml Kulturmedium M 199 resuspendierten Zellen für die mikroskopische Qualitätsprüfung zur Verfügung. Anschließend bringt man die Zellen auf

mit Laminin überzogene Kunststoffplättchen in Petrischalen aus. Die Messungen finden erst am nächsten Tag statt, damit eine gute Anhaftung der Zellen auf den Kunststoffplättchen gewährleistet ist.

3.2.4.1.4 Messung der Zellkontraktilität

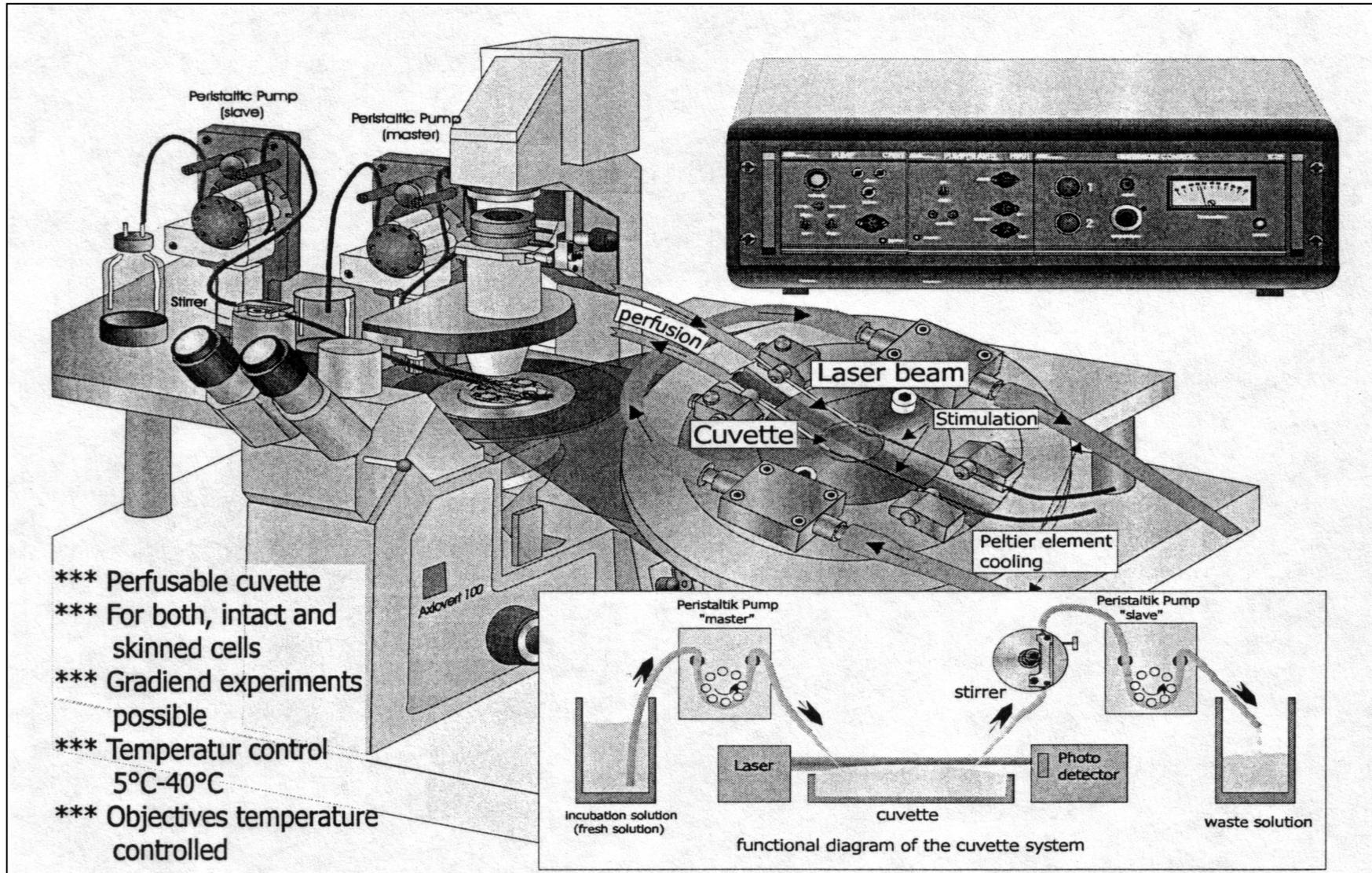
Eine Isoprenalin-Verdünnungsreihe mit sechs Verdünnungsstufen von 10^{-6} M bis 10^{-11} M wird hergestellt und auf Eis kühl gehalten. 50 ml von jeder Verdünnung reichen für die Messungen eines Tages aus. Die Kontraktilität der Kardiomyozyten wird mit Hilfe eines elektro-optischen Kontrollsystems gemessen, das die ermittelten Amplituden und Geschwindigkeiten der Verkürzungen und Entspannungen online digitalisiert (Firma Scientific Instruments, Heidelberg, Software Mucell). Wie in Abb. 12 zu sehen finden die Untersuchungen an den Kardiomyozyten in einer temperaturkontrollierten Küvette ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$) bei einer konstanten Durchflussrate des Mediums ($1,8\text{ mmol/l Ca}^{2+}$ Tyrode) von $0,5\text{ ml/min}$ und bei einem konstanten elektrischen Feld statt (LAUGWITZ et al. 2001). Die Kardiomyozyten werden mit 50 V bei einer Frequenz von 2000 ms und einer Dauer von 5 msec stimuliert. Sobald sie eine stabile Kontraktionsamplitude erreicht haben, beginnt man mit der Versuchsdurchführung. Zunächst speichert man 3 Basalwerte. Danach werden die Zellen mit Isoprenalin (beginnend mit der höchsten Verdünnungsstufe von 10^{-11} M) jeweils 5 min perfundiert und bei jeder Verdünnungsstufe jeweils 3 Messwerte gespeichert. Aus den Messwerten wird dann später der Mittelwert errechnet.

Apparative Messanordnung

Für die Messungen wurden folgende Geräte verwendet:

- Zeiss Mikroskop AXIOVERT 25
- Küvettensystem CUVMIC (Scientific Instruments, Heidelberg)
- Temperaturkontrolleinheit TC 3 (Scientific Instruments, Heidelberg)
- Stimulator STIM2 (Scientific Instruments, Heidelberg)
- Interface INT 4 (Scientific Instruments, Heidelberg)
- Pump Control CPER 1 (Scientific Instruments, Heidelberg)
- Peristaltic Pump PER 1 (Scientific Instruments, Heidelberg)
- Camera ZK 4 (Scientific Instruments, Heidelberg)
- Oszilloskop (Scientific Instruments, Heidelberg)

Abbildung 13: Zeiss Mikroskop AXIOVERT und Küvetzensystem CUVMIC



Küvetten-System CUVMIC

Die Inkubationslösung (Tyrode) gelangt über einen Schlauch mit Hilfe einer Peristaltikpumpe in die Küvette und wird an der anderen Seite mit Hilfe der Pumpe wieder herausgezogen. Über ein Laser-Photodiodensystem wird der Flüssigkeitsstand kontrolliert und konstant gehalten (siehe Abb.12). Die Flussgeschwindigkeit kann manuell reguliert werden. Der Küvettenboden besteht aus einem Deckglas, das leicht auswechselbar ist und somit die Untersuchung von Zellkulturen gut handhabbar macht.

Mikroskop und Kameraeinheit

Das Mikroskop setzt sich aus dem Okular, dem Mikroskoptisch mit der darauf stehenden Küvette, dem darunter liegenden Objektiv und einer Lichtquelle zusammen. Mit Hilfe eines Phasenkontrastobjektives wird ein einzelner, vitaler Kardiomyozyt ausgewählt und eingestellt. Um eine exakte Zelldetektion zu ermöglichen, muss der Kardiomyozyt parallel zur Photodiode der Kamera liegen. Die Zelle kann durch Drehen der Kamera oder durch Verschieben der Küvette zentriert werden. Um die Einstellungen zu erleichtern kann eine Kamera an den Monitor angeschlossen werden, auf dem die ausgewählte Zelle direkt zu sehen ist.

3.2.4.2 Zelldetektion

Durch das Phasenkontrastmikroskop heben sich die Zellgrenzen besonders gut vom Hintergrund ab. Das von der Photodiode gemessene Helligkeitsprofil der Zelle wird durch das Oszilloskop in analoge Signale umgewandelt und als Oszillogramm wiedergegeben. Auf dem Oszilloskopbildschirm sind zwei Marker integriert, die sich über die Kameraeinheit der Anlage horizontal und vertikal bewegen lassen. Diese Marker können Helligkeitsunterschiede erkennen, die für die Zellenden typisch sind. Die Marker werden jeweils links vor die Zellenden positioniert und detektieren die Zellenden rechts daneben. Über einen weiteren Kanal wird diese Information als Zelllänge angegeben. Entdeckt der erste Marker das linke Zellende, so steigt dort die Spannung an und an der Stelle, an der der zweite Marker die rechte Zellgrenze entdeckt, fällt die Spannung wieder ab. Folglich ist die Zelle so lang wie der Abschnitt der erhöhten Spannung zwischen den beiden Markern. Änderungen der Zelllänge, wie sie bei jeder Kontraktion auftreten, werden mit einer Gesamtauflösung von 50 Hz zuverlässig aufgenommen (KAMENZIN 1998).

Abb. 14 zeigt wie sich vitale im Vergleich zu toten Kardiomyozyten im Mikroskopbild darstellen.

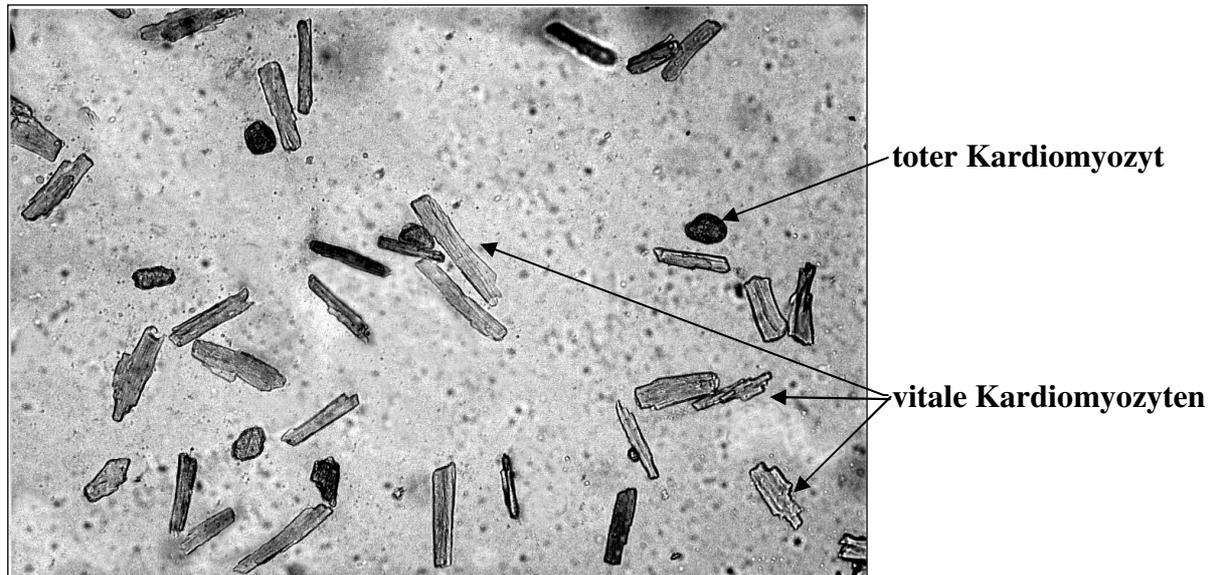


Abbildung 14: Mikroskopische Aufnahme von Kardiomyozyten

3.2.4.3 Versuchsauswertung

Die Messwerte werden nach ihrer digitalen Speicherung mit dem Softwarepaket MUCCELL (Fa. HI, Heidelberg) ausgewertet.

Berechnet werden dabei die folgenden Parameter:

L max. (nm)	maximale Verkürzung
t to peak (ms)	Dauer bis zur maximalen Verkürzung
max. slope down (Ldia/s)	Maximale Kontraktionsgeschwindigkeit
10 % to peak (ms)	Dauer von der 10 % igen Verkürzung bis zur maximal entwickelten Verkürzung
max. slope up (Ldia/s)	maximale Relaxationsgeschwindigkeit
peak to 10 % (ms)	Dauer von der maximalen Verkürzung bis zur 10 % igen Verkürzung
Integral ($\mu\text{m} \cdot \text{ms}$)	Integral der Kontraktionskurve
Diast. Length (nm)	Diastolische Länge
% FS ($L_{\text{max.}}/\text{Diast. Length} \cdot 100$)	relative Verkürzung in %

Die Erfassung dieser Parameter ist an einem Beispiel in Tabelle 9 wiedergegeben.

Tabelle 9: Beispiel eines Messprotokolls für einen Kardiomyozyten

Experiment	Verdünnung	Lmax	t to peak	max slope down	10% to peak	max slope up	peak to 10%	Integrale	Diast. Length	% FS
Kan. 105										
Zellnr.12										
	basal\1	12511	292	-511	236	437	91	4449	171863	7,28
	basal\2	13269	264	-669	218	505	125	4351	171794	7,72
	basal\3	11454	264	-517	214	461	131	3830	171725	6,67
	Iso-11\1	9558	317	-359	256	309	85	3487	171633	5,57
	Iso-11\2	12212	275	-588	230	367	127	6116	179078	6,82
	Iso-11\3	10121	287	-402	234	380	83	3086	178274	5,68
	Iso-10\1	10765	292	-438	235	461	85	3614	163924	6,57
	Iso-10\2	11086	263	-489	208	439	61	3520	172863	6,41
	Iso-10\3	11063	282	-462	227	415	66	3654	172759	6,40
	Iso-9\1	12304	288	-531	230	530	42	3905	172886	7,12
	Iso-9\2	10638	276	-439	218	498	47	3224	172840	6,15
	Iso-9\3	12706	270	-562	219	561	47	3842	172931	7,35
	Iso-8\1	24919	185	-2147	156	2700	9	5529	170944	14,58
	Iso-8\2	24322	180	-2584	151	2403	15	5029	170507	14,26
	Iso-8\3	24011	177	-2315	148	2585	17	5142	170335	14,10
	Iso-7\1	23448	180	-2383	155	2328	29	5358	165349	14,18
	Iso-7\2	23966	191	-2333	164	1880	25	5916	165165	14,51
	Iso-7\3	23322	176	-2342	150	2032	27	4991	164361	14,19
	Iso-6\1	19186	199	-1772	172	1288	35	4851	161546	11,88
	Iso-6\2	10834	175	-1251	173	1129	52	-2062	155618	6,96
	Iso-6\3	11259	169	-1467	168	1466	38	-1618	154584	7,28

3.2.4.4 Statistische Auswertung und Dokumentation

Alle im Text erwähnten Ergebnisse sind als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) angegeben. Verwendet wird das Statistikprogramm (PC-Version) Statistical Package for Social Sciences (SPSS) der Fa. SPSS GmbH München.

Nach Prüfung auf Normalverteilung werden die Mittelwerte mit dem t-Test verglichen.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wird als statistisch signifikant akzeptiert.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Echokardiographische Untersuchungen

An den Kaninchen der Gruppe 1 wird eine Ultraschallmessung durchgeführt. Hierbei werden die Parameter linker Ventrikeldurchmesser systolisch, linker Ventrikeldurchmesser enddiastolisch, Verkürzungsfraction (Fractional Shortening FS) sowie die Herzwandstärke endsystolisch und enddiastolisch erfasst. Die vollständigen Ergebnisse dieser Messungen und die Überprüfung der Mittelwerte auf signifikante Unterschiede sind in Tabelle 10 zusammengefasst. Einzelne Aspekte sind zusätzlich in den Abb. 15 und 16 graphisch wiedergegeben.

Tabelle 10: Sonographische Parameter der Gruppen Weiße-Neuseeland-Kaninchen (n=6) und Chinchilla-Bastard-Kaninchen (n=6)

Parameter	Gruppe	$\bar{x} \pm SD$	Signifikanz (p)
LV _{syst} (cm)	WN	0,94 ± 0,11	ns
	CB	0,79 ± 0,11	
LV _{enddiast} (cm)	WN	1,45 ± 0,12	ns
	CB	1,32 ± 0,13	
FS (%)	WN	35,49 ± 3,78	p < 0,05
	CB	40,19 ± 3,19	
Herzwandstärke (mm) endsystolisch	WN	4,18 ± 0,32	ns
	CB	4,57 ± 0,16	
Herzwandstärke (mm) enddiastolisch	WN	2,25 ± 0,19	ns
	CB	2,44 ± 0,12	

LV_{syst} (cm) = Durchmesser des linken Ventrikels während der Systole in cm, LV_{enddiast} (cm) = Durchmesser des linken Ventrikels am Ende der Diastole in cm, FS = Verkürzungsfraction (Fractional Shortening) in %, cm = Zentimeter, WN = Weiße-Neuseeland-Kaninchen, CB = Chinchilla-Bastard-Kaninchen, n = Anzahl der Kaninchen, \bar{x} = Mittelwert, SD = Standardabweichung, ns = nicht signifikant

Bei der Ultraschalluntersuchung ergeben sich folgende Mittelwerte und Standardabweichungen: Für den Durchmesser des linken Ventrikels ergibt sich endsystolisch bei den Weißen-Neuseeland-Kaninchen ein Wert von $0,94 \pm 0,11$ cm und bei den Chinchilla-Bastard-Kaninchen ein Wert von $0,79 \pm 0,11$ cm. Der Durchmesser des linken Ventrikels am Ende der Diastole beträgt bei den Weißen-Neuseeland-Kaninchen $1,45 \pm 0,12$ cm und bei den Chinchilla-Bastard-Kaninchen $1,32 \pm 0,13$ cm (vgl. Abb. 15). Die prozentuale Durchmesserverkürzung (Fractional Shortening), des linken Ventrikels ergibt für die Weißen-Neuseeland-Kaninchen einen Wert von $35,49 \pm 3,78$ % und für die Chinchilla-Bastard-Kaninchen einen Wert von $40,19 \pm 3,19$ %. Ein signifikanter Unterschied kann somit nur bei diesem Parameter gefunden werden (siehe Abb. 16). Bei der Messung der Herzwandstärken ergeben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der endsystolischen und enddiastolischen Messung. Endsystolisch beträgt die Herzwandstärke bei den Weißen-Neuseeland-Kaninchen $4,18 \pm 0,32$ mm und bei den Chinchilla-Bastard-Kaninchen $4,57 \pm 0,16$ mm. Enddiastolisch wird ein Wert von $2,25 \pm 0,19$ mm bei den Weißen-Neuseeland-Kaninchen und $2,44 \pm 0,12$ mm bei den Chinchilla-Bastard-Kaninchen gemessen.

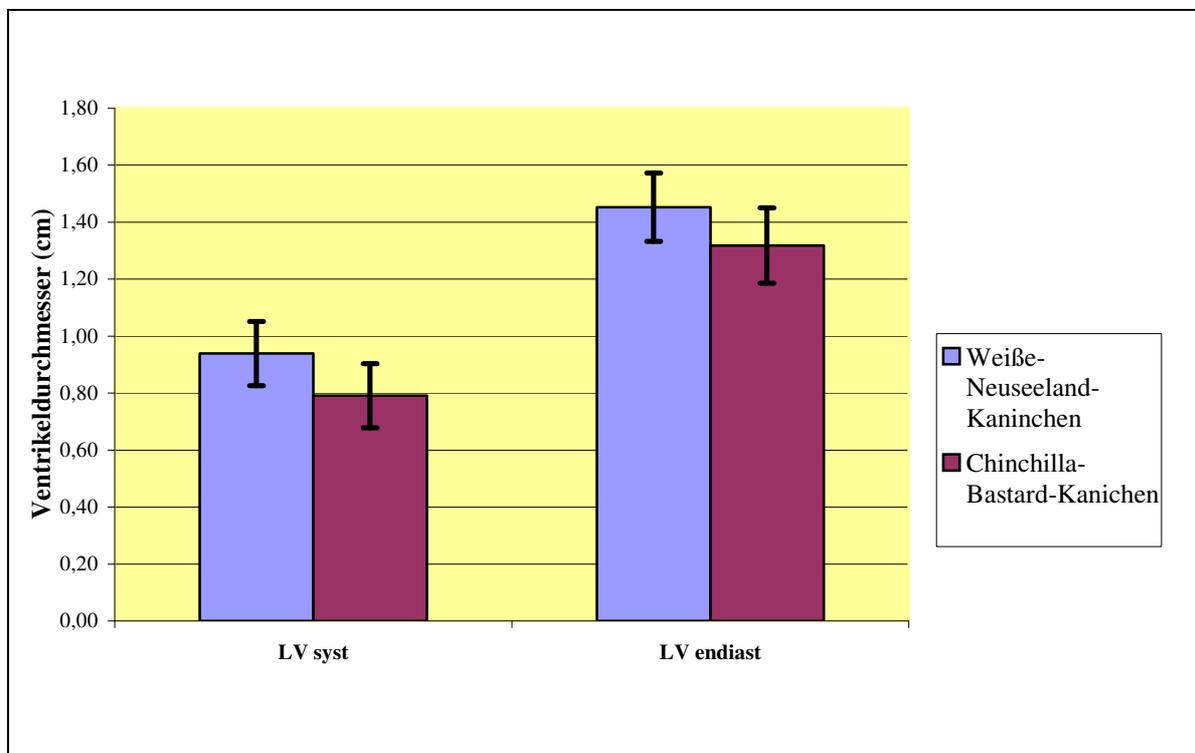
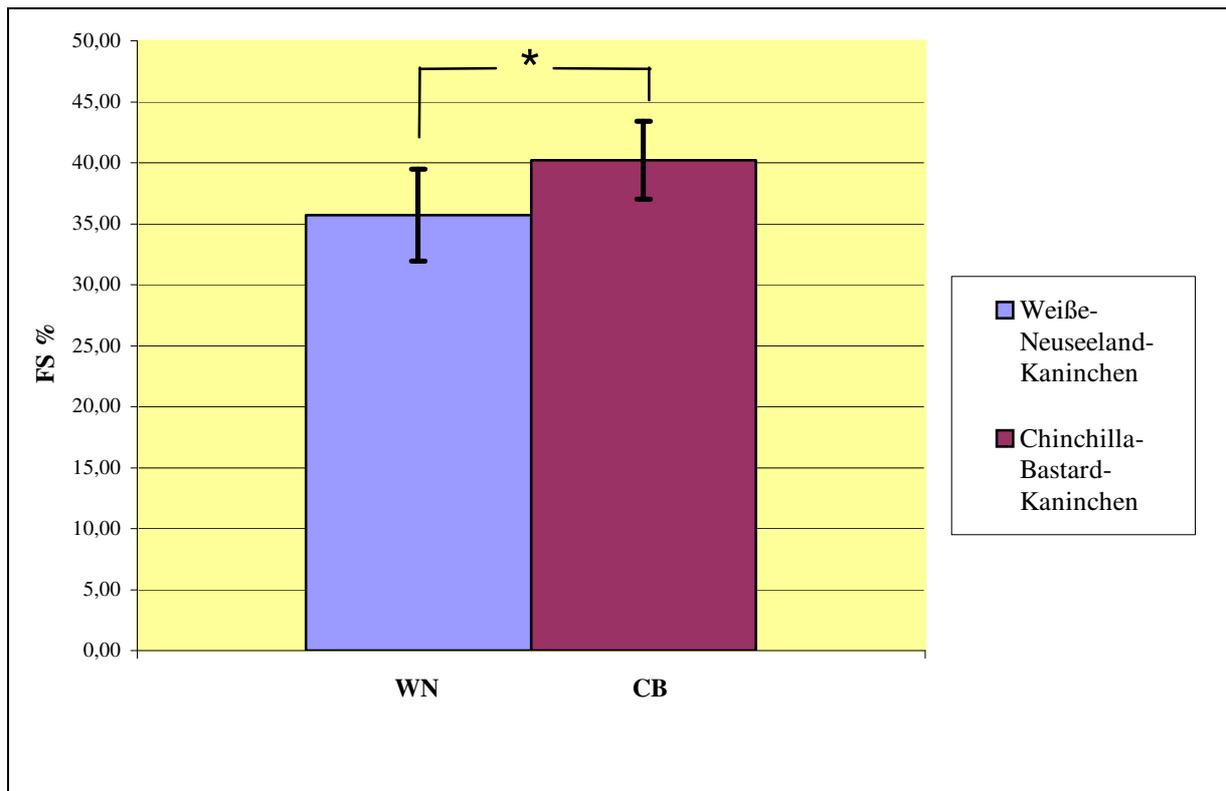


Abbildung 15: Durchmesser (cm) des LV_{syst} und des LV_{enddiast} vergleichend bei Weißen-Neuseeland- und Chinchilla-Bastard-Kaninchen.



* = positive Signifikanz ($p < 0,05$)

Abbildung 16: Fractional Shortening (%) der Weißen-Neuseeland- und Chinchilla-Bastard-Kaninchen

3.3.2 Kontraktilität der Kardiomyozyten

Bei der Ausbringung der gewonnenen Kardiomyozyten in das Kulturmedium werden die Zellen soweit verdünnt, dass sie einzeln zu liegen kommen und morphologisch gut zu beurteilen sind. Die durchschnittlich erreichte Zellausbeute beträgt etwa 70 %. Diese Prozentangabe beschreibt das Verhältnis von intakten Zellen in Bezug auf die im Mikroskop sichtbare Gesamtheit der Zellen. Die Vitalität der für die Messungen ausgewählten Kardiomyozyten wird mikroskopisch beurteilt. Die Kardiomyozyten haben eine deutliche Querstreifung, weisen keine abgerundeten Zellenden auf, besitzen eine intakte Zellmembran und zeigen bei Stimulation eine deutliche Kontraktion in der Längsachse mit einer ungefähr konstanten Zelllänge. Insgesamt werden 41 Kardiomyozyten von Chinchilla-Bastard-Kaninchen und 45 Kardiomyocyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen gemessen.

3.3.2.1 Diastolische Längenmessung der Kardiomyozyten

Die Längen der Kardiomyozyten werden bei der Basalmessung erfasst. Daraus ergibt sich für die Weiße-Neuseeland-Kaninchen ein Mittelwert von $140,19 \pm 21,96 \mu\text{m}$ und für die Chinchilla-Bastard-Kaninchen ein Mittelwert von $147,92 \pm 15,97 \mu\text{m}$. Es besteht somit kein signifikanter Längenunterschied zwischen den Kardiomyozytenlängen beider Kaninchenrassen (siehe Tab. 11 und Abb. 17).

Tabelle 11: Diastolischen Zelllänge von Einzelkardiomyozyten (Basalwerte) bei WN und CB (jeweils n=6)

	Weiße-Neuseeland-Kaninchen	Chinchilla-Bastard-Kaninchen
	Mittelwerte der Zelllängen in μm	Mittelwerte der Zelllänge in μm
n	45	41
	116,47	122,76
	119,40	141,85
	130,45	143,69
	144,70	153,87
	159,45	155,00
	170,68	170,32
Mittelwert gesamt	140,19	147,92
SD	21,96	15,97
p	ns	

**SD = Standardabweichung, μm = Mikrometer, p = Signifikanz, ns = nicht signifikant,
n = Anzahl der gemessenen Einzelkardiomyozyten**

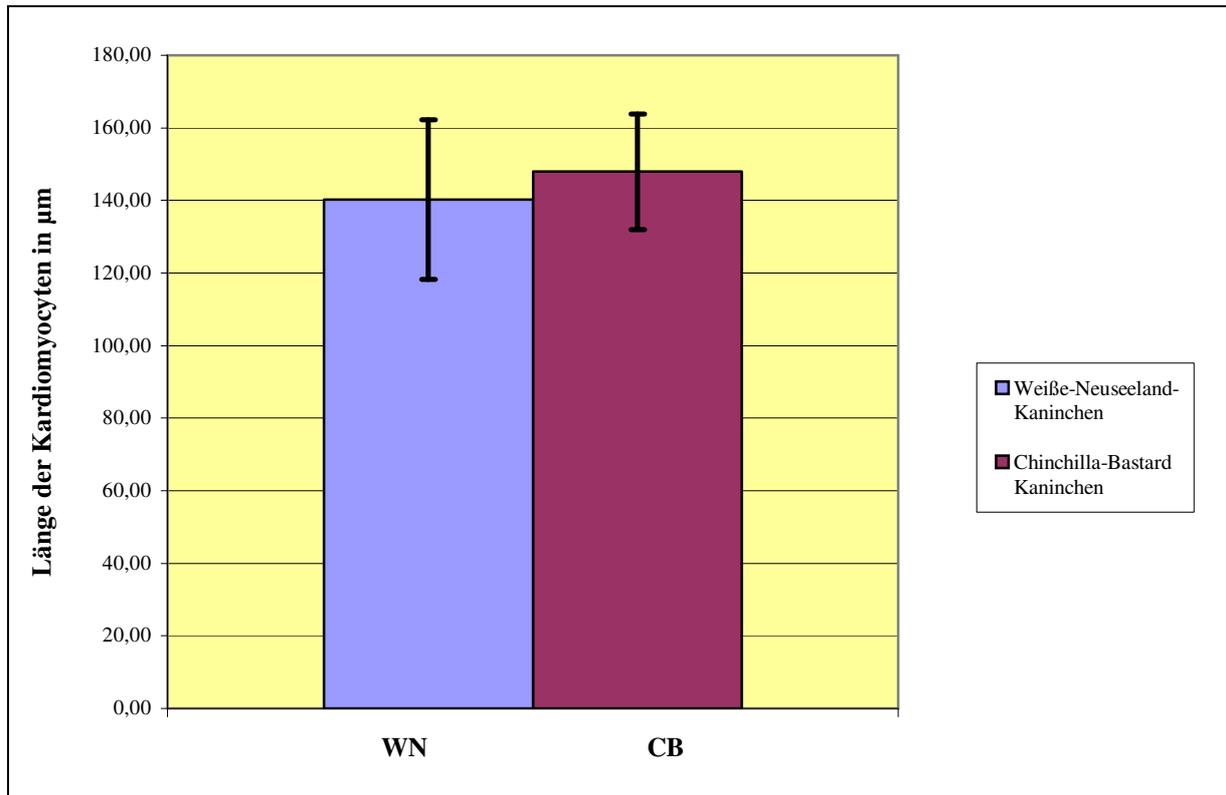


Abbildung 17: Mittlere diastolische Kardiomyozytenlänge von Weißen-Neuseeland-Kaninchen und Chinchilla-Bastard-Kaninchen

3.3.2.2 Dauer der Kardiomyocytenverkürzung

Die Messung der Verkürzungsdauer bis zur Maximalverkürzung erfolgt bei der Registrierung und Aufzeichnung der Basalwerte.

Die Kardiomyozyten der Weißen-Neuseeland-Kaninchen benötigen im Schnitt eine Zeit von $255,80 \pm 54,26$ ms, um eine Verkürzung ihrer Zelllänge von 10 % Verkürzung auf ein Maximum zu erreichen, während die Kardiomyozyten der Chinchilla-Bastard-Kaninchen für diese maximale Verkürzung im Durchschnitt nur $208,73 \pm 12,62$ ms benötigen (siehe Tab. 12 und Abb.18). Damit verkürzen sich die Kardiomyozyten der Chinchilla-Bastard-Kaninchen zwar schneller als die der Weißen-Neuseeland-Kaninchen, der zahlenmäßige Unterschied zwischen den beiden Kaninchenrassen ist jedoch nicht signifikant.

Tabelle 12: Durchschnittsdauer (ms) der Zellverkürzung von 10 % bis zum Maximum (Basalwerte) bei WN und CB-Kardiomyozyten (jeweils n=6)

	Weiße-Neuseeland Kaninchen	Chinchilla-Bastard Kaninchen
	Dauer in ms	Dauer in ms
n	45	41
	193,52	196,63
	225,50	200,62
	243,68	204,88
	244,65	206,63
	275,38	211,24
	352,07	232,37
Mittelwert gesamt	255,80	208,73
SD	54,26	12,62
p	ns	

SD = Standardabweichung, ms = Millisekunden, p = Signifikanz, ns = nicht signifikant, n = Anzahl der gemessenen Einzelkardiomyozyten

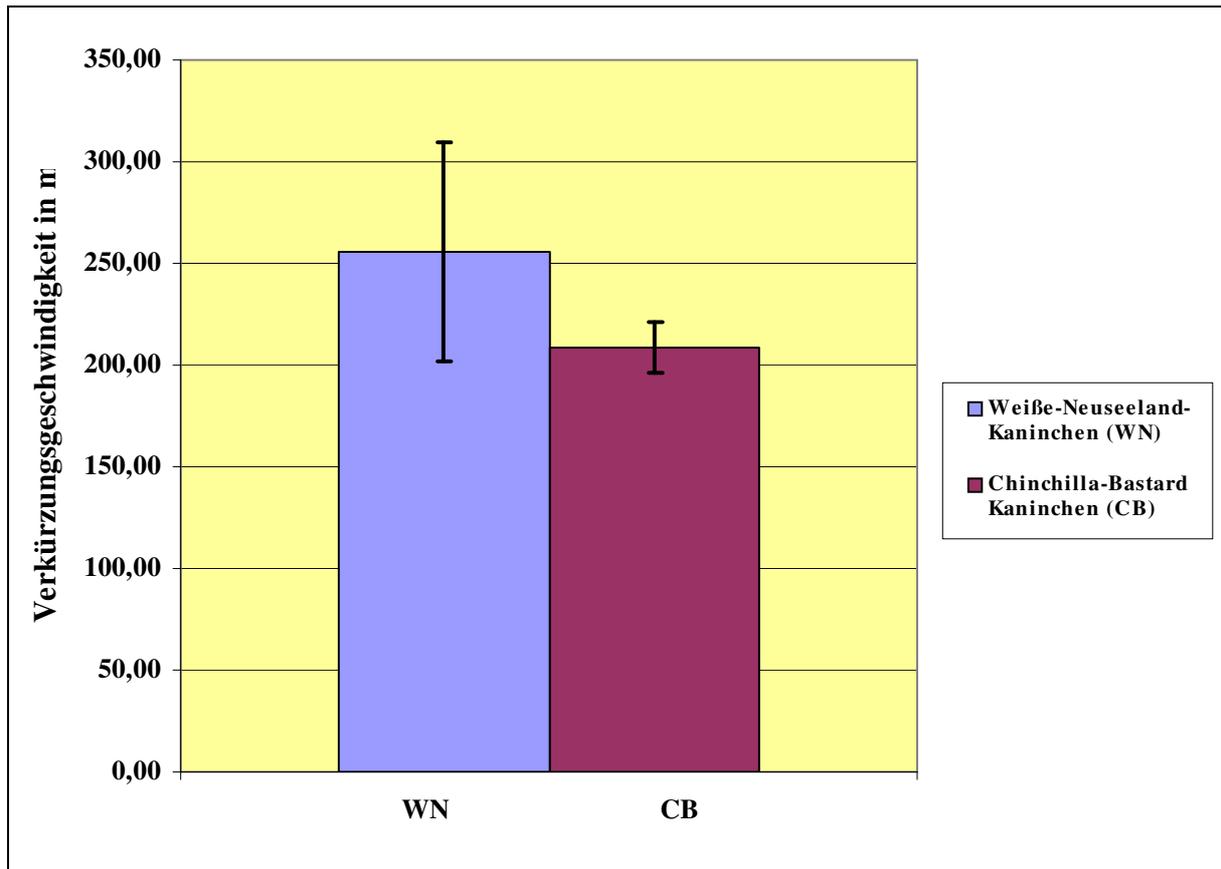


Abbildung 18: Durchschnittsdauer (ms) der Zellverkürzung von 10 % bis zum Maximum (Basalwerte) bei WN und CB-Kardiomyozyten (jeweils n=6)

3.3.2.3 Maximale Verkürzungsgeschwindigkeiten der Kardiomyozyten unter Isoprenalin-Stimulation

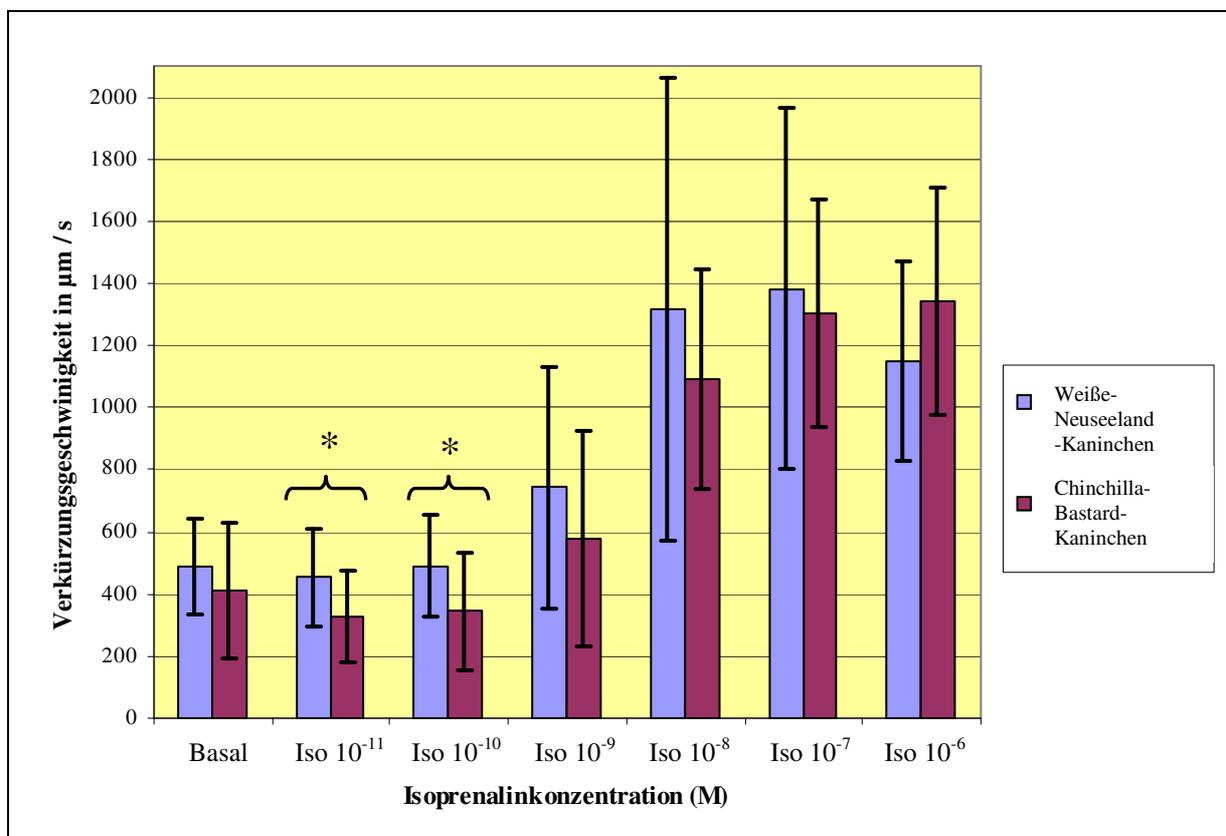
Wie in Tab. 13 und in Abb. 19 erkennbar, nimmt die Kontraktionsgeschwindigkeit in beiden Gruppen ab einer Konzentration des Isoprenalin von 10^{-9} M deutlich zu. Bei den Weißen-Neuseeland-Kaninchen steigt der Wert von $742,62 \pm 390,70 \mu\text{m/s}$ auf $1381,53 \pm 580,46 \mu\text{m/s}$ an, fällt aber dann bei der letzten Isoprenalin-Konzentration wieder ab, während der Wert bei den Chinchilla-Bastard-Kaninchen kontinuierlich bis zur letzten Konzentration von $577,51 \pm 349,13 \mu\text{m/s}$ auf $1341,39 \pm 356,01 \mu\text{m/s}$ ansteigt.

Insgesamt ist die Verkürzungsgeschwindigkeit der Weißen-Neuseeland-Kaninchen höher als die der Chinchilla-Bastard-Kaninchen. Ein signifikanter Unterschied liegt nur bei den Isoprenalin-Konzentrationen 10^{-11} M und 10^{-10} M vor.

Tabelle 13: Verkürzungsgeschwindigkeiten in $\mu\text{m/s}$ von Kardiomyozyten unter Isoprenalin-Stimulation

Isoprenalin-Konzentration	Weiß-Neuseeland-Kaninchen	Chinchilla-Bastard-Kaninchen	Signifikanz
	Verkürzungsgeschwindigkeit in $\mu\text{m/s}$ \pm SD	Verkürzungsgeschwindigkeit in $\mu\text{m/s}$ \pm SD	p
Basal	489,86 \pm 155,38	413,35 \pm 218,90	ns
Iso 10^{-11} M	453,94 \pm 157,05	327,46 \pm 149,59	p < 0,05
Iso 10^{-10} M	489,88 \pm 163,36	346,05 \pm 188,80	p < 0,05
Iso 10^{-9} M	742,62 \pm 390,70	577,51 \pm 349,13	ns
Iso 10^{-8} M	1314,99 \pm 743,39	1091,96 \pm 354,55	ns
Iso 10^{-7} M	1381,53 \pm 580,46	1304,33 \pm 367,71	ns
Iso 10^{-6} M	1148,44 \pm 321,77	1341,39 \pm 356,01	ns

SD = Standardabweichung, μm = Mikrometer, p = Signifikanz, ns = nicht signifikant



* = positive Signifikanz (p < 0,05)

Abbildung 19: Verkürzungsgeschwindigkeiten der Kardiomyozyten unter steigender Isoprenalin-Stimulation

3.3.2.4 Fractional Shortening von Kardiomyozyten unter Isoprenalin-Stimulation

In den Einzelzellmessungen wird die Wirkung von Isoprenalin auf das Kontraktionsverhalten der Kardiomyozyten untersucht. Hierbei wird die Isoprenalin-Konzentration schrittweise von 10^{-11} M auf 10^{-6} M erhöht. Anschließend an die Messungen werden die Mittelwerte der einzelnen Parameter berechnet und eine Verlaufskurve der Verkürzungsfractionen für jedes Versuchskaninchen erstellt. Die Ergebnisse sind in Abb. 20 und Abb. 21 wiedergegeben.

Aus Abbildung 20 geht hervor, dass die Kardiomyozyten des Chinchilla-Bastard-Kaninchens 6 mit einem niedrigeren Basalwert beginnen als die übrigen Kaninchen. Im Vergleich zu den übrigen Kaninchen weisen die Kardiomyozyten des Chinchilla Kaninchens 3 eine prozentual höhere Verkürzungsfraction bei einer Stimulation von Isoprenalin 10^{-7} M und 10^{-6} M auf. Die übrigen Kaninchen zeigen einen annähernd ähnlichen Verlauf.

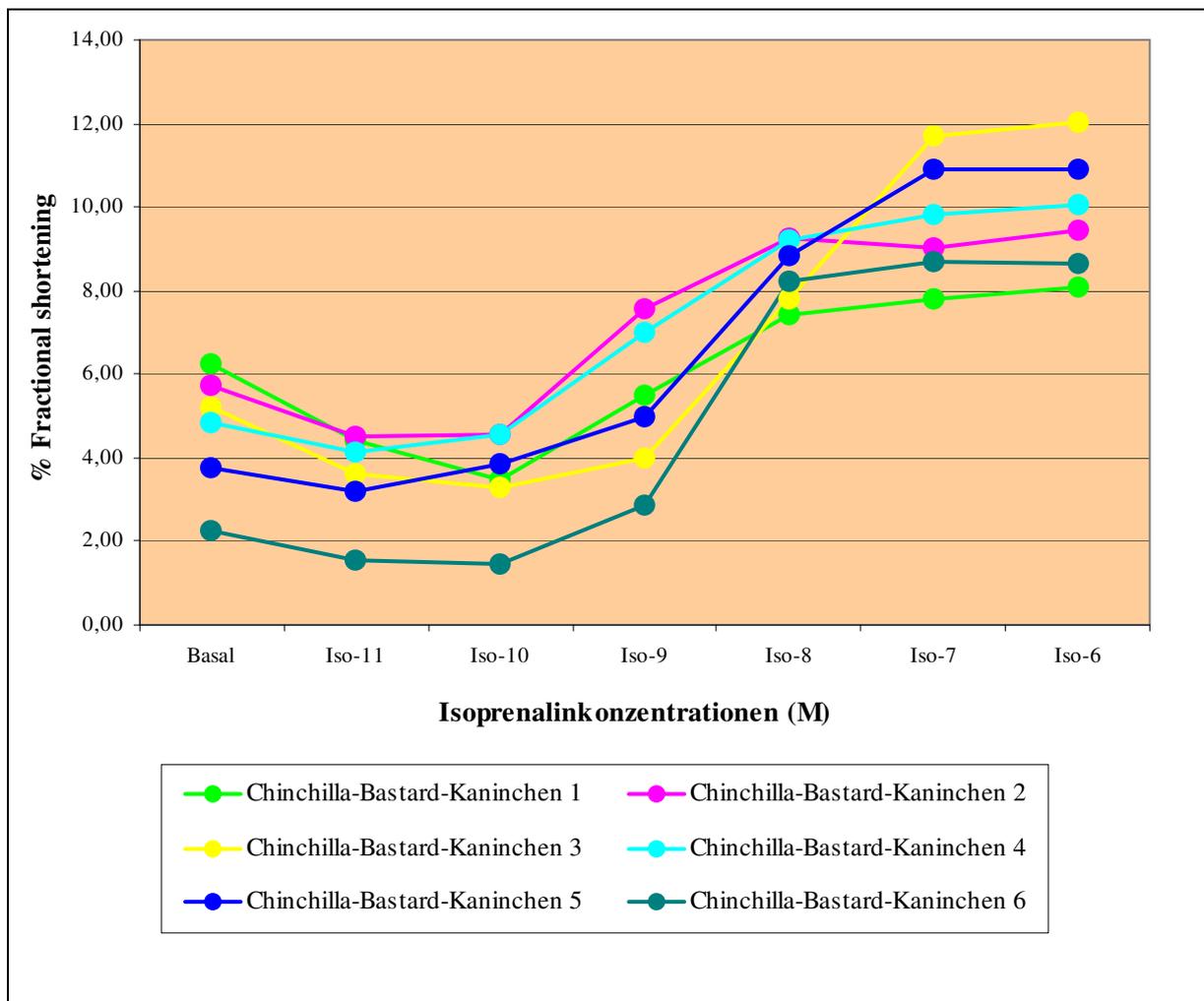


Abbildung 20: Fractional Shortening (%) der Kardiomyozyten von Chinchilla-Bastard-Kaninchen unter Isoprenalin-Stimulation

In Abbildung 21 sind die Isoprenalin-Stimulationskurven von Kardiomyozyten der sechs Weißen-Neuseeland-Kaninchen dargestellt. Das WN-Kaninchen 2 zeigt die höchste Verkürzungsfraction bei einer Isoprenalin-Stimulation mit 10^{-8} M. Das WN-Kaninchen 4 steigt bis zur letzten Isoprenalin-Konzentration von 10^{-6} M kontinuierlich an, während die Verkürzungsfraction bei den übrigen Kaninchen ab Isoprenalin 10^{-8} M abfällt.

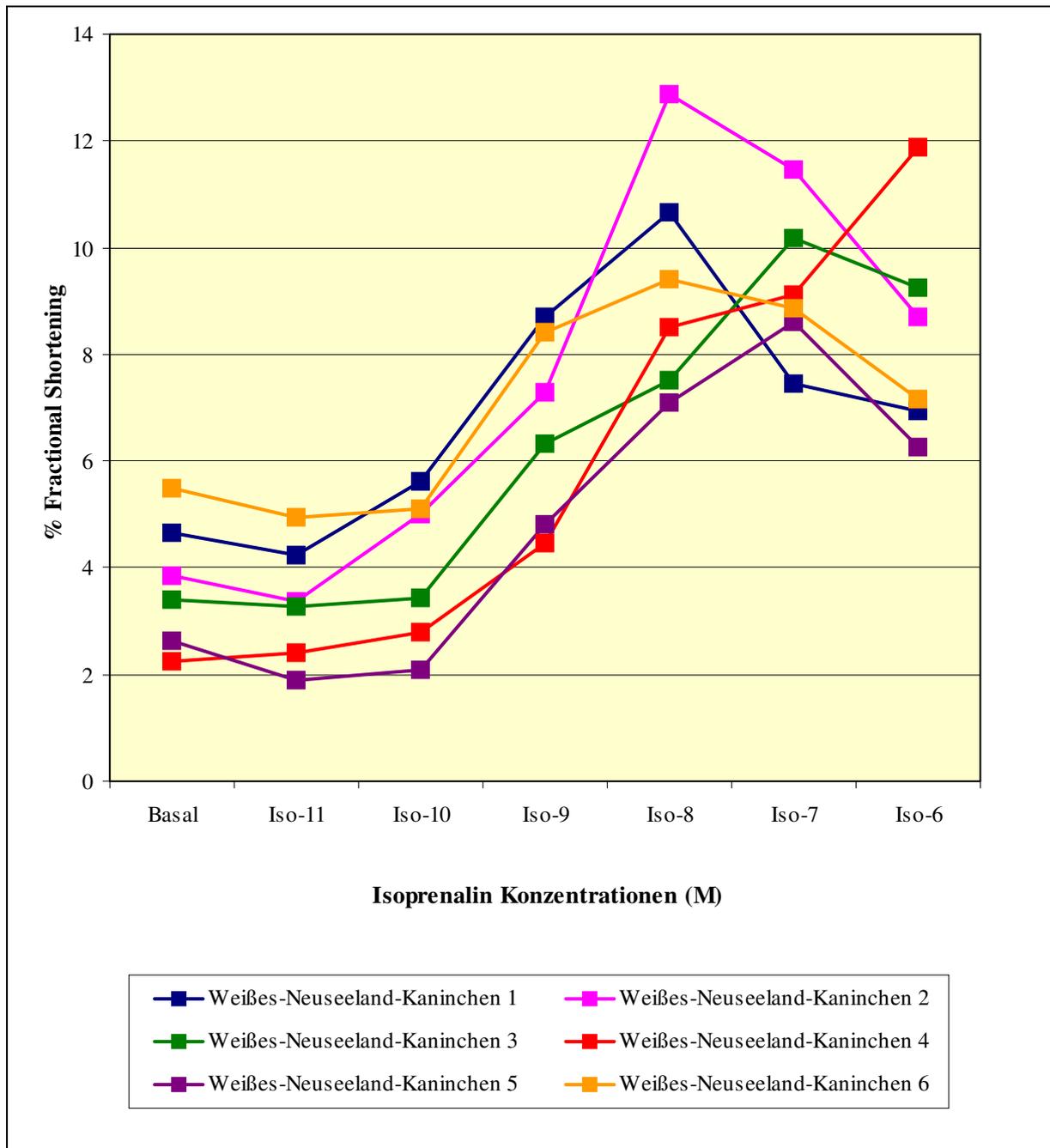
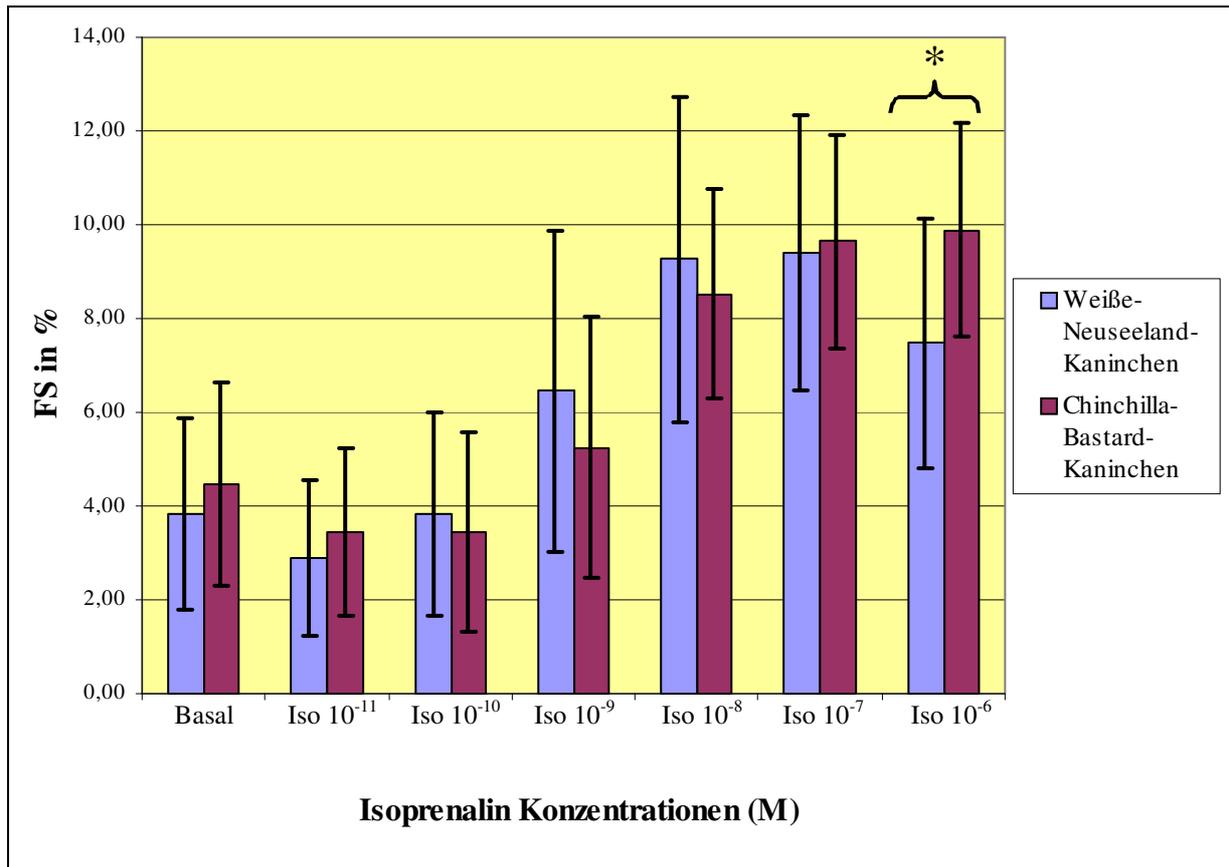


Abbildung 21: Fractional Shortening (%) der Kardiomyozyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen unter Isoprenalin-Stimulation

Tabelle 14 und Abbildung 22 zeigen den Konzentrations-Wirkungseffekt von Isoprenalin auf die Kardiomyozyten. Man kann eine deutliche Zunahme der Verkürzungsfraction ab einer Konzentration von 10^{-9} M erkennen. Die Verkürzungsfraction steigt bei den Weißen-Neuseeland-Kaninchen von $6,45 \pm 3,41$ % auf einen Wert von $9,40 \pm 2,92$ % an und fällt dann bei einer Isoprenalin-Konzentration von 10^{-6} M wieder auf einen Wert von $7,47 \pm 2,67$ % ab. Bei den Chinchilla-Bastard-Kaninchen dagegen erfolgt ab einer Isoprenalin-Konzentration von 10^{-9} M ein kontinuierlicher Anstieg von $5,25 \pm 3,08$ % auf $9,89 \pm 2,29$ % bis zu einer Stimulierung durch 10^{-6} M Isoprenalin.

Tabelle 14: Fractional Shortening (FS) der Kardiomyozyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen und Chinchilla-Bastard-Kaninchen unter Isoprenalin-Stimulation

Isoprenalin-Konzentration	Weiß-Neuseeland-Kaninchen Verkürzungsfraction in %	Chinchilla-Bastard-Kaninchen Verkürzungsfraction in %	Signifikanz (p)
Basal	$3,82 \pm 2,04$	$4,46 \pm 2,10$	ns
Iso 10^{-11}	$2,90 \pm 1,65$	$3,44 \pm 1,46$	ns
Iso 10^{-10}	$3,83 \pm 2,16$	$3,45 \pm 1,98$	ns
Iso 10^{-9}	$6,45 \pm 3,41$	$5,25 \pm 3,08$	ns
Iso 10^{-8}	$9,27 \pm 3,47$	$8,53 \pm 3,07$	ns
Iso 10^{-7}	$9,40 \pm 2,92$	$9,64 \pm 2,97$	ns
Iso 10^{-6}	$7,47 \pm 2,67$	$9,89 \pm 2,79$	p<0,05



* = positive Signifikanz ($p < 0,05$)

Abbildung 22: Fractional Shortening (FS) der Kardiomyozyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen und Chinchilla-Bastard-Kaninchen unter Isoprenalin-Stimulation

4 DISKUSSION

4.1 Zur Eignung der Versuchsdurchführung

4.1.1 Echokardiographie

Um echokardiographische Bilder und Daten möglichst guter Qualität zu erhalten wird der Schallkopf nach Aufsuchen des Herzspitzenstoßes wie in der Literatur empfohlen (BOON 1998) parasternal und senkrecht zum Brustkorb positioniert. Die Qualität der echokardiographischen Bilder wird dabei optisch beurteilt, indem alle anatomischen Grenzlinien des Kaninchenherzens einwandfrei abgrenzbar sein müssen (vgl. Abb. 11). Das Kaninchen kann sich dabei in Rückenlage (DE MENESES et al.1989) oder, wie es in der vorliegenden Arbeit gemacht wird, in Brustlage befinden. Durch die Schwerkraft kommt es zur Annäherung des Herzens an die Thoraxwand, wodurch störende Interferenzen durch Lungengewebe verringert werden. Die Untersuchung der Kaninchen erfolgt dabei mit von ventral herangeführtem Schallkopf (BOON 1998). BREITHARDT (2001) führt eine verbesserte Bildqualität in Narkose gegenüber dem Wachzustand in erster Linie auf die oben erwähnte günstigere Lagerung zurück. Zusätzlich werden die Kaninchen wegen ihres sehr dichten Fells mit einem feinen Scherkopf gründlich geschoren, damit die Bildqualität durch Haare bzw. Luftpolster möglichst wenig beeinflusst wird.

4.1.2 Isolierung der Kardiomyozyten

Mit der hier vorgestellten Zell-Isolierungsmethode wird eine Ausbeute von 70 % intakter, sich kontrahierender Kardiomyozyten erreicht. Aufgrund oft fehlender Angaben und anderer Auswahlkriterien der Myozyten sind Vergleiche mit anderen Isolierungsmethoden nur schwer möglich.

POWELL und TWIST gelingt es 1976 intakte, calciumtolerante Herzmuskelzellen von adulten Ratten mit einer Zellausbeute von 70 % enzymatisch zu isolieren. 5 Jahre später isolieren POWELL et al.(1981) zum ersten Mal Kardiomyozyten vom Menschen. BUSTAMENTE et al. (1982) folgen ihnen mit der Isolation menschlicher Kardiomyozyten aus Gewebestücken von Atrium und Ventrikel, allerdings nur mit einer Ausbeute von 5 bis 50 % intakter, kontraktiler Zellen. In den folgenden Jahren wird die enzymatische Isolationsmethode unter dem Einsatz verschiedenster Enzyme von unterschiedlichen

Arbeitsgruppen immer mehr verbessert (KAMENZIN 1998). BUSTAMENTE et al. (1982) benutzen z.B. Collagenase und unspezifische Proteasen zur Isolierung der Kardiomyozyten, während ISENBERGER und KLOCKNER (1982) mit Collagenase und Hyaluronidase experimentieren.

Im Vergleich zu anderen Versuchsmodellen wie z.B. Muskelstreifen-, Muskelfaser- oder Ganzherz-Präparaten hat der isolierte Kardiomyozyt erhebliche Vorteile. Es besteht eine größere Verfügbarkeit des Ausgangsmaterials und es gibt keine störenden Einflüsse durch andere Kardiomyozyten im Gewebeverband. Elektrische oder mechanische Störungen, die durch andere Zellen wie z.B. Endothelien- oder Fibroblastenzellen ausgelöst werden, spielen bei Einzelkardiomyozyten keine Rolle. HARDING et al. (1996) können an isotonisch kontrahierenden Kardiomyozyten zeigen, dass die statistische Streubreite der Kontraktilitätsparameter geringer ist als an Muskelstreifenpräparaten. Ein weiterer großer Vorteil der hier gewählten Methode ist die Möglichkeit, aufgrund der kurzen Diffusionsstrecke, Milieuänderungen innerhalb der Perfusionsapparatur sehr schnell herbei zu führen. Eine exakte Bestimmung des extrazellulären Milieus ist dabei ebenfalls möglich (FUCHS 1998).

Die hier verwendete Isolationsmethode mit der Langendorff-Apparatur und Collagenase liefert in der Zellausbeute mit 70 % lebender, sich kontrahierender Einzelkardiomyozyten sehr gute Ergebnisse. Allerdings muss hinzugefügt werden, dass es doch eine gewisse Übung erfordert, im richtigen Moment die Verdauung mit Collagenase abubrechen und die Herzen von der Apparatur zu nehmen.

Wird der Verdauungsvorgang zu früh abgebrochen, ist die extrazelluläre Matrix nicht ausreichend verdaut und die Einzelzellausbeute ist gering. Auch beim anschließenden mechanischen Zerschneiden des angedauten Gewebes sind die im Gewebeverband festgehaltenen Zellen nicht mehr in Lösung zu bringen. Bei zu langem Verdauen dagegen werden viele Zellen zerstört, wodurch die Zellausbeute enorm schrumpft und die Zellqualität ebenfalls nicht optimal ist. Leider ist die Zeitspanne zwischen den oben beschriebenen Ereignissen bei dieser Isolierungsmethode mit nur wenigen Minuten sehr kurz. Dadurch ist eine gewisse Routine und Erfahrung Grundvoraussetzung, um eine hohe Zellausbeute und qualitativ hochwertige Kardiomyozyten zu erreichen. In der Literatur werden ähnliche Erfahrungen geschildert (WOLSKA und SOLARO 1996). Die zu ermittelten Kontraktilitätsdaten sind ganz entscheidend von der Zellqualität abhängig, wodurch standardisierte Isolationsverfahren und Messzeitpunkte notwendig sind.

4.1.3 Kontraktilitätsmessung an Kardiomyozyten

Die hier ermittelten Messergebnisse sind in ihrer Aussagekraft ein wenig eingeschränkt, da der Einzelkardiomyozyt weder Vordehnung erfährt noch gegen einen Widerstand arbeiten muss. Dies sind Anforderungen, die aber in vivo an ihn gestellt werden (FUCHS 1998). In dem vorliegenden Projekt ist dieser Gesichtspunkt nicht Gegenstand der Untersuchungen, könnte aber bei zukünftigen Arbeiten durchaus ins Gewicht fallen. So stellen FINK et al. (2000) und NAVÉ et al. (2002) in ihren Arbeiten die Methode eines dreidimensionalen Herzgewebemodells vor, die dem in vivo ablaufenden Kontraktionsprozess schon entscheidend näher kommt. Das Modell wurde von ESCHENHAGEN et al. (1997) entwickelt und von ESCHENHAGEN (2001) patentiert. In Silicon beschichteten, dehnbaren Kunststoffringen werden neonatale Ratten-Kardiomyozyten kultiviert. Innerhalb von 8 Tagen entwickeln sich Gewebeverbände, in denen die Kardiomyozyten spontane und koordinierte Kontraktilität zeigen. Die Ringe werden anschließend in einen sogenannten Trainer eingebaut, der sie ähnlich der tatsächlichen Herzphysiologie über mehrere Tage dehnt. Dieses Modell stellt eine Brücke zwischen Zellkultur und Tierexperiment dar. Allerdings ist dieses neu entwickelte Modell noch erheblich kostspieliger, zeit- und personalaufwendiger als die hier gewählte Methode.

Die prozentuale Angabe der Zellausbeute der eigenen Studie ist nicht allein aussagekräftig hinsichtlich der Qualität der Kardiomyozyten, da damit die Vitalität der Zellen nicht beurteilt werden kann. Bei Messungen an isolierten Kardiomyozyten kann nicht eindeutig geklärt werden, ob nur die besten und gesündesten Myozyten isoliert und gemessen werden. In der vorliegenden Arbeit werden nur Kardiomyozyten für die Messungen ausgewählt, die in der Längsachse kontrahieren. Zellen, die auch quer kontrahieren werden von den Messungen ausgeschlossen, da sie den Vitalitätsanforderungen (vgl. 3.3.2) nicht entsprechen (HARDING et al. 1990).

Für die Qualität der Kardiomyozyten gibt es keine eindeutigen Definitionskriterien. So führen RUSS et al. (1996) sogar Messungen an hyperkontrahierenden (Kardiomyozyten folgen keiner regelmäßigen Kontraktion) Zellen durch, was in der vorliegenden Arbeit ein weiteres Ausschlusskriterium bei der Auswahl der zu messenden Kardiomyozyten ist. Die Messungen an den Zellen werden in der eigenen Studie am Tag nach der Isolierung durchgeführt. Dadurch wird sowohl eine besserer Haftung auf den Kunststoffplättchen als auch eine gute Adaption der Zellen an das Kultur-Medium erreicht. Dabei ist zu beobachten, dass die Qualität der Zellen im Laufe des Tages zwar abnimmt, aber durchaus noch ausreichend für

die Messungen ist. Weitere 24 Stunden später ist die Zellqualität jedoch meist ungenügend. Dadurch ist es keinesfalls möglich weitere Zellen am nächsten Tag zu messen, da die Ergebnisse erheblich verfälscht würden.

HARRAY und FARLEY (1960) beobachten in ihren Studien an Ratten-Kardiomyozyten noch nach 3 Tagen lebende kontraktile Zellen. RAJS et al. (1978) kommen in ihrer Arbeit zu dem Ergebnis, dass Ratten-Kardiomyozyten bei Raumtemperatur 24 Stunden in Krebs-Henseleit-Puffer überleben. Bei 4°C finden sie sogar nach 5 Tagen noch lebende Kardiomyozyten in Krebs-Henseleit-Puffer (+ 5 % Ficoll®). Auf die Qualität der Zellen wird in den oben genannten Arbeiten allerdings nicht eingegangen.

Insgesamt gesehen liefert die in der eigenen Arbeit verwendete Messmethode sehr gute und reproduzierbare Ergebnisse zur Beurteilung der Kontraktilität der Einzelkardiomyozyten. Die ermittelten Parameter wie Verkürzungsfraktion, Verkürzungsgeschwindigkeit und Verkürzungsdauer ermöglichen eine gute Beurteilung der Kontraktilität der isolierten Kardiomyozyten und bestätigen die Qualität der isolierten Einzelkardiomyozyten.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Echokardiographie

Eine kritische Bewertung der in Tabelle 10 und in Abbildung 15 und 16 dargestellten sonographischen Ergebnisse ist schwierig, denn über echokardiographische Untersuchungen am Kaninchen liegen nur wenige Veröffentlichungen vor. Hinzu kommt, dass ein Vergleich der Werte aus der hier vorliegenden Studie mit denen aus der Literatur nur eingeschränkt möglich ist, da die meisten Studien an Weißen-Neuseeland-Kaninchen durchgeführt werden und somit keine Daten von Chinchilla-Bastard-Kaninchen gefunden wurden.

BREITHARDT (2001) führt echokardiographische Untersuchungen an wachen und narkotisierten Weißen-Neuseeland-Kaninchen durch. Dabei werden die Tiere von lateral untersucht und nicht wie in der vorliegenden Arbeit von ventral. Die dabei erzielten Ergebnisse unterscheiden sich kaum von den eigenen. So misst BREITHARDT (2001) an mit Ketamin-Xylazin narkotisierten Kaninchen einen Wert von $1,07 \pm 0,09$ cm für den systolischen Ventrikeldurchmesser und einen Wert von $1,48 \pm 0,08$ cm für den diastolischen. In der eigenen Studie werden Werte von $0,94 \pm 0,11$ cm für den systolischen und $1,45 \pm 0,12$ cm für den diastolischen Ventrikeldurchmesser ermittelt.

PYE et al. (1996) kommen beim Weißen-Neuseeland-Kaninchen mit gleicher Messmethode wie in der vorliegenden Arbeit auf einen Wert von 1,41 cm für den diastolischen Ventrikeldurchmesser.

Die Ergebnisse der Herzwandstärke bei BREITHARDT (2001) mit 4,7 mm endsystolisch und 2,7 mm enddiastolisch sind den in der vorliegenden Studie gefundenen Werten von 4,2 mm endsystolisch und 2,3 mm enddiastolisch ähnlich. Lediglich bei der Verkürzungsfraction (Fractional Shortening FS) liegt sie mit $28,5 \pm 3,8 \%$ bei Kaninchen in Narkose unter dem hier ermittelten Wert von $35,49 \pm 3,78 \%$. Bei wachen Kaninchen dagegen berichtet BREITHARDT von einer Verkürzungsfraction von $34,5 \pm 4,9 \%$. Hier ist zu berücksichtigen, dass die Narkose der Kaninchen in der zitierten Arbeit mit einer Ketamin-Xylazin-Kombination erfolgt, während in der vorliegenden Arbeit Propofol verwendet wird. Propofol und Ketamin haben unterschiedlich starke Auswirkungen auf das Herz-Kreislaufsystem wodurch die Unterschiede möglicherweise erklärbar sind (ERHARDT 1984, PADDLEFORD und ERHARDT 1992).

KATTINGER et al. (1999) untersuchen 13 gesunde Kaninchen unterschiedlichen Alters, unterschiedlicher Rasse und unterschiedlichen Geschlechtes im Wachzustand. Ihre Ergebnisse der Herzwandstärken und der Ventrikeldurchmesser unterscheiden sich kaum von den hier an Weißen-Neuseeland- und Chinchilla-Bastard-Kaninchen ermittelten Werten. Bei der Verkürzungsfraction ermitteln sie einen Wert von $41,2 \pm 6,2 \%$, der mit dem bei uns ermittelten Wert der Chinchilla-Bastard-Kaninchen von $40,19 \pm 3,19 \%$ gut übereinstimmt. Die in der Literatur gefundenen unterschiedlichen Werte der Verkürzungsfractionen zeigen, dass die Methode auch untersucher-abhängig ist (STEFADOUROS und CANEDO 1977), (SIMPSON und COOK 2002).

Weiterhin könnte bei einem Vergleich der vorliegenden Daten mit solchen aus der Literatur auch das Gewicht der untersuchten Kaninchen eine Rolle spielen. Die Gewichte der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Kaninchen betragen zwischen 3 und 4 kg bei beiden Rassen. BREITHARDT (2001) verwendet Weiße-Neuseeland Kaninchen mit Gewichten zwischen 2,45 und 3,35 kg. Das Körpergewicht, der von KATTINGER et al. (1999) untersuchten Kaninchen, liegt zwischen 1,3 und 3,5 kg bei Alterstufen von 8 Monaten bis 6 Jahren. Die von ihnen ermittelte hohe Standardabweichung von $6,2 \%$ bei der Verkürzungsfraction ($41,2 \pm 6,2 \%$) könnte in den extrem unterschiedlichen Gewichten und Altersunterschieden begründet sein.

Ebenso liegt die Vermutung nahe, dass die Ergebnisse doch stark durch das Narkoseprotokoll und die Messmethode beeinflussbar sind (BLAKE und KORNER 1981, 1982, NAKAYAMA und MURRAY 1999, AKINE et al. 2001, KANAYA et al 2003).

Zu den direkten hämodynamischen Auswirkungen der Injektionsnarkose beim Kaninchen liegen bisher noch keine vergleichenden Daten vor. Nach BREITHARDT (2001) kommt es zu einer signifikanten Verschlechterung der hämodynamischen Funktionsparameter (z.B. Fractional Shortening und Ejektionsfraktion) in der Narkose als Ausdruck negativ inotroper Wirkung der verwendeten Narkotika.

Der Einfluss der Narkose auf hämodynamische Parameter wird in der vorliegenden Studie nicht im Detail untersucht, deshalb müssten weitere Arbeiten dazu folgen.

4.2.2 Bewertung der Einzelzellmessungen

Diastolische Länge

Bei der Längenmessung der Kardiomyozyten ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen Weißen-Neuseeland-Kaninchen und Chinchilla-Bastard-Kaninchen.

Die Kardiomyozyten der Chinchilla-Bastard-Kaninchen sind mit $147,92 \mu\text{m} \pm 15,97$ nur tendenziell länger als die der Weißen-Neuseeland-Kaninchen mit $140,19 \mu\text{m} \pm 21,96$. Da das Fractional Shortening eine prozentuale Verkürzung bezogen auf die Gesamtlänge der Einzelzellen ausdrückt, wird dieser geringe Unterschied der Zelllängen unbedeutend.

Verkürzungsfraction, Verkürzungsgeschwindigkeit und Verkürzungsdauer

Individuen reagieren sehr unterschiedlich auf Stress, was von einigen Untersuchungen an Ratten bekannt ist. Manche reagieren mit Flucht oder Kampf andere mit Passivität, eingeschränkter Bewegung und Immobilisierung. Belastende Stressoren aktivieren das sympatho-adrenomedulläre System, so dass es zur Ausschüttung von Adrenalin und Noradrenalin in den peripheren Blutkreislauf kommt. Dadurch erhöht sich Herzfrequenz und der Blutdruck steigt mit dem peripheren Widerstand an. Es kommt gleichzeitig zu einer Mobilisierung der Energievorräte in der Leber. Die Steigerung der myokardialen

Kontraktilität wird dabei überwiegend über die Ausschüttung von Stresshormonen wie Noradrenalin vermittelt (LAWRENCE 1994).

In der vorliegenden Studie werden Kardiomyozyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen und Chinchilla-Bastard-Kaninchen dementsprechend mit Isoprenalin in aufsteigender Konzentration stimuliert, um das Kontraktionsverhalten unter β -Rezeptor-Agonisten-Stimulation zu untersuchen. Erwartungsgemäß kann der positiv inotrope und positiv lusitrope Effekt des β -Adrenozeptoragonisten Isoprenalin an den eigenen Kaninchen-Kardiomyozyten nachgewiesen werden und bestätigt dadurch den Erhalt der Funktionalität der untersuchten Zellen. Im Vergleich der beiden Kaninchenrassen ergibt sich ein Unterschied im Kontraktionsverhalten: Kardiomyozyten der Chinchilla-Bastard-Kaninchen reagieren ab einer Konzentration von 10^{-9} M bis zur Endkonzentration von 10^{-6} M Isoprenalin mit einer deutlichen Zunahme der Verkürzungsfraction (Gesamtverkürzung 5,43 %). Bei den Konzentrationen 10^{-7} M und 10^{-6} M ist diese Zunahme allerdings deutlich schwächer.

Die Verkürzungsfraction (Gesamtverkürzung 5,58 %) der Kardiomyozyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen steigt ab 10^{-9} ebenfalls deutlich an, fällt jedoch ab einer Konzentration von Isoprenalin 10^{-7} M stark ab. Ein signifikanter Unterschied in der Verkürzungsfraction ergibt sich nur bei der letzten Isoprenalin-Konzentration von 10^{-6} M zugunsten der Chinchilla-Bastard-Kaninchen. Hier besteht ein übereinstimmendes Ergebnis zu der in vivo gemessenen Verkürzungsfraction, das heißt, sowohl auf Einzelzellebene als auch im Gesamtorgan zeigt die Kontraktilität der Chinchilla-Bastard-Kaninchen einen breiteren Bereich der Ansprechbarkeit. Dieses Ergebnis kann auf eine bessere Stressresistenz der Chinchilla-Bastard-Kaninchen hindeuten. Zur besseren Veranschaulichung ist das Ergebnis der FS in Abbildung 23 noch einmal in anderer Form dargestellt (vgl. Abb.21).

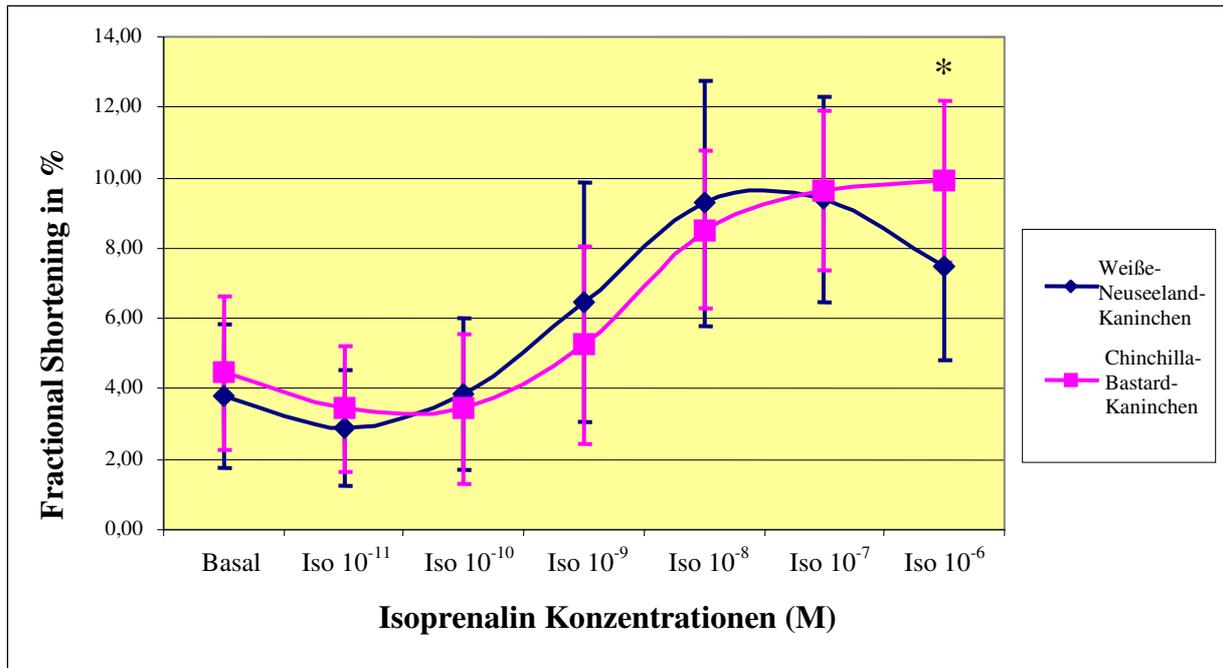


Abbildung 23: Fractional Shortening der Kardiomyozyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen und Chinchilla-Bastard-Kaninchen unter Isoprenalin-Stimulation.

Die Kontraktionsgeschwindigkeit ist durchgehend in der Gruppe der Weißen-Neuseeland-Kaninchen tendenziell höher als bei der Gruppe der Chinchilla-Bastard-Kaninchen. Signifikant sind diese Gruppenunterschiede nur bei der Isoprenalin-Konzentrationsstufe von 10^{-11} und 10^{-10} M. Bei Betrachtung der beiden Rassen stellt man jedoch fest, dass sich die Kontraktionsgeschwindigkeit der Kardiomyozyten von Chinchilla-Bastard-Kaninchen bei der Isoprenalin-Konzentration von 10^{-7} M verdreifacht, während dieselbe Zunahme bei den Zellen der Weißen-Neuseeland-Kaninchen bereits zur Isoprenalin-Konzentrationsstufe 10^{-8} M erreicht wird, dann nur noch langsam ansteigt und bei der letzten Konzentration bereits wieder abfällt (siehe Tab.13 u. Abb. 19).

Basal verkürzen sich die Kardiomyozyten der Chinchilla-Kaninchen in 208,73 ms maximal, während die der Weißen-Neuseeland-Kaninchen 255,80 ms benötigen. Hierbei ist die geringere Standardabweichung der Chinchilla-Bastard-Kaninchen auffällig, was für eine geringere Sensibilität und damit eine bessere Stressresistenz der CB-Kaninchen spricht.

Die in der eigenen Studie gefundenen Unterschiede in der Verkürzungsfraktion und in der Kontraktionsgeschwindigkeit könnten auf eine unterschiedliche Desensibilisierung oder auf ein anderes Down-Regulationsverhalten der β_1 -Rezeptoren in den beiden Rassen zurückzuführen sein, da eine längeranhaltende Sympathikusstimulation auf zellulärer Ebene zu Veränderungen der β -adrenergen Signaltransduktionskette führt. Es kommt zu einer

Downregulation der β -Rezeptoren, die selektiv die β_1 - Rezeptoren betrifft, während die β_2 -Rezeptoren unverändert bleiben (BRISTOW et al.1991). Zusätzlich kommt es zu einem Anstieg des die Adenylat-Cyclase inhibierenden G-Proteins (BÖHM et al.1994). Diese im Sinne einer Desensibilisierung wirkenden Veränderungen gehen mit einer verminderten positiv inotropen Wirkung der Katecholamine einher (BRISTOW et al.1991), (HOWARD et al.2002).

HARDING et al. (1990) untersuchen die Reaktion von menschlichen Kardiomyozyten und Kaninchen-Kardiomyozyten auf Isoprenalin- und Calcium-Stimulation.

Menschliche Kardiomyozyten zeigen im Kontraktionsverhalten keinen Unterschied zwischen Isoprenalin und Calcium-Stimulation, während Kaninchenzellen Unterschiede aufweisen. Möglicherweise kann der Ca^{2+} -Anstieg in den Zellen verschiedener Kaninchenrassen ebenfalls mit unterschiedlicher Dynamik erfolgen, was erklären könnte, warum die Kardiomyozyten der Chinchilla-Bastard-Kaninchen auf Isoprenalin-Stimulation in der vorliegenden Studie im Durchschnitt mit $135,36 \mu\text{m/s}$ langsamer reagieren als die der Weißen-Neuseeland-Kaninchen.

Die Aktivität der Sarkoplasmatischen-Retikulum- Ca^{2+} -ATPase (SERCA) wird durch das Protein Phospholamban gesteuert. Höhere Pumpaktivität der SERCA führt zu einer schnelleren Kontraktion. Somit ist der SERCA-Protein-Level ein kritischer Parameter der intrazellulären Calcium-Homöostase und Kontraktilität im Säugetierherzen (PERIASAMY und HUKU 2001). Es müssten daher auch weitergehende Untersuchungen der Kardiomyozyten auf Proteinebene für beide Rassen erfolgen, um mögliche dahingehende Unterschiede aufzuklären.

4.3 Schlussfolgerung und Ausblick

In der Humanmedizin existieren zu echokardiographischen Untersuchungen Standardwerte, die unter Berücksichtigung vieler Einflussfaktoren erstellt wurden. Aufgrund der tierartlichen und rassespezifischen Vielfalt ist in der Tiermedizin die Erhebung von geeigneten Referenzwerten erheblich schwieriger.

Bereits von anderen Arbeitsgruppen erhobene Referenzwerte aus echokardiographischen Untersuchungen an Kaninchen kamen meist nicht durch standardisierte Bedingungen bei den Untersuchungen zustande und sind somit kaum auf diese Studie übertragbar. Künftige Untersuchungen sollten deshalb unbedingt unter standardisierten Bedingungen (z.B. Angabe von Körpergewichten, Alter, Rasse, Geschlecht, Narkoseart usw.) stattfinden, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten und um einen umfassenderen Vergleich der erzielten Werte zu ermöglichen.

Die in der vorliegenden Studie verwendete Methodik liefert sehr gute Ergebnisse zur Beurteilung der Kontraktilitätsparameter am Herzen sowohl *in vivo* als auch *in vitro*. Dies wird durch Qualität (Kontraktilität) und Quantität der isolierten Kardiomyozyten und die Ergebnisse der echokardiographischen Untersuchungen bekräftigt.

Die eigene Studie konnte die klinische Beobachtung, Weiße-Neuseeland-Kaninchen seien stressanfälliger als Chinchilla-Bastard-Kaninchen (HABERSTROH und HENKE 2003) durch Kontraktilitätsuntersuchungen *in vivo* und *in vitro* teilweise erhärten. Vermutlich reagieren Kardiomyocyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen anfangs sensibler auf Isoprenalin, sind dann aber bei höheren Isoprenalin-Konzentrationen schneller erschöpft als Kardiomyocyten von Chinchilla-Bastard-Kaninchen. Möglicherweise könnten die Unterschiede im Kontraktionsverhalten durch Messungen an einer noch größeren Anzahl von Kardiomyozyten noch besser dargestellt werden. Die Ergebnisse geben jedoch gute Hinweise auf die Praktikabilität der Messungen und Messmethoden zur Beurteilung der kardialen Kontraktilität.

Zukünftig müssten Untersuchungen auf biochemischer und molekularer Ebene folgen, um die Unterschiede im kontraktilem Apparat und die damit verbundenen Signaltransduktion weitergehend zu erklären. Das Narkoseverhalten beider Kaninchenrassen sollte in weiteren Arbeiten ebenfalls untersucht werden, um dahingehende Unterschiede aufzudecken.

Nach den Ergebnissen dieser Studie sind Chinchilla-Bastard-Kaninchen für Experimente unter Narkosebedingungen eher zu empfehlen als Weiße-Neuseeland-Kaninchen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Laborkaninchen werden vielfach in der tierexperimentellen Forschung eingesetzt. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einer vergleichenden Untersuchung der Herzfunktionen von Weißen-Neuseeland-Kaninchen (WN) und Chinchilla-Bastard-Kaninchen (CB) *in vivo* und *in vitro*. Die klinische Beobachtung der höheren Stressanfälligkeit von Weißen-Neuseeland-Kaninchen im Vergleich zu Chinchilla-Bastard-Kaninchen soll in dieser Studie anhand kardialer Kontraktilitätsparameter untersucht werden.

An jeweils sechs mit Propofol narkotisierten Tieren erfolgt eine Ultraschalluntersuchung des Herzens zur Bestimmung der morphometrischen Parameter und kontraktile Funktion. Dabei werden die Herzwandstärke endsystolisch und enddiastolisch und die Durchmesser des linken Ventrikels in der Endsystole und Enddiastole gemessen und anschließend die Verkürzungsfraction (Fractional Shortening FS) berechnet.

Mit Hilfe einer modifizierten Langendorff-Perfusions-Apparatur werden an jeweils weiteren sechs Tieren jeder Rasse enzymatisch Einzelkardiomyozyten aus den entnommenen Herzen isoliert. Eine Analyse der Einzelzellkontraktilität wird in einer superperfundierten Messküvette unter kontrollierten Bedingungen sowie unter β -Rezeptor-Agonisten-Stimulation mit Isoprenalin-Konzentrationen von 10^{-11} – 10^{-6} M durchgeführt.

Die echokardiographischen Untersuchungen ergeben keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Herzwandstärken und Ventrikeldurchmesser. Die Verkürzungsfraction (FS) liegt jedoch mit $40,19 \pm 3,19$ % bei den CB im Vergleich zu den WN mit $35,49 \pm 3,78$ % signifikant höher.

Auf Ebene der Einzelkardiomyozyten ergeben sich Unterschiede in der Dauer der basalen Verkürzung. Hier zeigen WN mit 255,80 ms gegenüber CB mit 208,73 ms eine längere Verkürzungsdauer. Kardiomyozyten der WN-Kaninchen reagieren bei sehr niedrigen Isoprenalin-Konzentrationen von 10^{-11} bis 10^{-10} M mit einer signifikant höheren Verkürzungsgeschwindigkeit. Signifikante Unterschiede in der FS der Einzelzellen ergeben sich bei der maximalen Isoprenalin-Konzentration von 10^{-6} M. Hier beträgt die FS 7,47 % für die Kardiomyozyten der WN und 9,89 % für die Kardiomyozyten der CB.

Auf Einzelzellebene reagieren WN sensibler auf ansteigende Isoprenalin-Konzentrationen bis zu einer Schwelle von 10^{-8} M. Darüber hinaus erfährt die Kontraktilität einen deutlichen Abfall. Auf Organebene zeigen jedoch CB basal eine höhere Kontraktilität.

Die ermittelten rassenspezifischen Ergebnisse könnten auf Unterschiede in Sensibilität, Regulation und Anzahl der β -Rezeptoren sowie unterschiedlichem Narkoseverhalten beruhen. Durch weiterführende Untersuchungen auf biochemischer und molekularer Ebene könnten diese Unterschiede weiter aufgeklärt werden.

6 SUMMARY

In vivo and in vitro investigations comparing the myocardial contractility of New Zealand White Rabbits and Chinchilla Bastard Rabbits.

Laboratory rabbits are frequently used in animal experimental research. The aim of the present study is to compare the heart functions of New Zealand White Rabbits (WN) to the one of Chinchilla Bastard Rabbits (CB) in vivo and in vitro. The higher stress susceptibility of New Zealand White Rabbits noticed in clinical observations is to be examined based on parameters of cardiac contractility.

To determine the morphometric parameters and the contractile function of the heart, six animals at a time anaesthetized with Propofol are examined by means of echocardiography. As a result the thickness of the heart wall and the diameter of the left ventricle are determined, and the fractional shortening is calculated. All parameters are measured at the end of systole and diastole. In the next step single cardiomyocytes of six additional animals from each race are enzymatically isolated from the removed hearts with a modified Langendorff-Perfusion-Apparatus. The contractility of the single cells is analysed under controlled conditions as well as under β -agonist stimulation with Isoprenalin concentrations of 10^{-11} to 10^{-6} M.

In terms of the strength of the heart wall or the left ventricle's diameter, the ultrasound investigations don't yield any significant differences. However Chinchilla Bastard Rabbits show a significantly higher fractional shortening ($40,19 \pm 3,19$ %) than New Zealand White Rabbits ($35,49 \pm 3,78$ %).

Regarding the single cardiomyocytes a distinct difference in the duration of basal shortening can be noticed. WN clearly show a longer shortening period (255,80 ms) than CB (208,73 ms). Cardiomyocytes of WN respond to very low Isoprenalin concentrations from 10^{-11} to 10^{-10} M with a significantly higher shortening speed. Broad differences in the fractional shortening of the single cells arise during the experiments with the highest concentration of Isoprenalin (10^{-6} M). The fractional shortening of cardiomyocytes from WN amount to 7,47 %, whereas the cardiomyocytes from CB reach 9,89 %. On the single cell level WN react more sensitively to the stimulation with increasing Isoprenalin until a

threshold of 10^{-8} M. Beyond that level the contractility decreases visible. However on the organ level the CB have basal a higher contractility.

The breed specific results found in this research study could be caused by differences in sensitivity, regulation and the number of β -receptors as well as by differences in anaesthetic behaviour. Further investigations on a biochemical and molecular level should be carried out to answer these questions.

7 LITERATURVERZEICHNIS

AKINE A., SUZUKA H., HAYASHIDA.Y., KATO Y. (2001)

Effects of ketamine and propofol on autonomic cardiovascular function in chronically instrumented rats.

Auton Neurosci 87, 201-208

ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON J.D. (1995)

Molecular biology of the cell.

In: JAENICKE L. (Hrsg.): Molekularbiologie der Zelle, 3. Auflage, VCH

Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1000-1016

AMERICAN RABBIT BREEDER ASSOCIATION 20. Edition 1960

A practical beginning to successful rabbit raising.

Published by A.R.B.A

AMERICAN RABBIT BREEDER ASSOCIATION 1955

Standard of perfection.

Published by A.R.B.A

ANVERSA P., LOUD A.L., GIACOMELLI F., WIENER J. (1978)

Absolute morphometric study of myocardial hypertrophy in experimental hypertension.

I. Determination of Myocyte Size.

II. Ultrastructure of Myocytes and Interstitium.

Lab Invest 38, 586-596; 597-609

ANVERSA P., OLIVETTI G., LOUD A.V (1980)

Morphometric study of early postnatal development in the left and right ventricular myocardium of the rat.

I. Hypertrophy, hyperplasia, and binucleation of myocytes.

Circ Res 46, 495-502

ANVERSA P., NADAL-GINARD B. (2002)

Myocyte renewal and ventricular remodelling.

Nature 415, 240-243

BELL P. (1961)

There´s gold in them Thar Hutches.

Farmer a. Stock- Breeder, 90-91

BISHOP S.P., OPARIL S., REYNOLDS R.H., DRUMMOND J.L. (1979)

Regional myocyte size in normotensive and spontaneously hypertensive rats.

Hypertension 1, 378-383

BLAKE D.W., KORNER P.I. (1981)

Role of baroreceptor reflexes in the hemodynamic and heart rate responses to althesin, ketamine and athiopentone anesthesia.

J Auton Nerv Syst 3, 55-70

BLAKE D.W., KORNER P.I. (1982)

Effect of ketamine and althesin anesthesia on baroreceptor-heart rate reflex and hemodynamics of intact pontine rabbits.

J Auton Nerv Syst 5, 145-154

BÖHM M., ESCHENHAGEN T.,GIERSCHIK P., LARISCHK., LENSCHKE H., MENDE U., SCHMITZ W., SCHNABEL P., SCHOLZ H., STEINFATH M., ERDMANN E. (1994)

Radioimmunochemical quantification of Gi- alpha in right and left ventricles from patients with ischemic and dilated cardiomyopathy and predominant left ventricular failure.

J Mol Cell Cardiol 26, 133-149

BONATH K., NOLTE I., SCHNIEWIND A., SANDMANN H., FAILING K. (1982)

Nüchternhaltung als Narkose-Vorbereitung und -Nachsorge- Einfluß des Hungerzustandes auf den Säure-Basenhaushalt und die Glucosekonzentration des Blutes von Kaninchen unterschiedlicher Körpergewichte.

Berl Münch Tierärztl Wschr 95, 126-130

BOON J.A. (1998)

The echocardiographic examination.

In: Boon J.A. (Hrsg), Manual of veterinary echocardiography, Williams & Williams, Baltimore, 35-151

BORGEAT A., STIRNEMANN H.R. (1998)

Antiemetische Wirkung von Propofol.

Anaesthesist 47, 918-924

BREITHARDT A.K. (2001)

Echokardiographische Untersuchung gesunder Weißer-Neuseeländer-Kaninchen im wachen und narkotisierten Zustand.

Vet Med Diss, München

BRISTOW M.R., ANDERSON F.L., PORT J.D., SKERL L., HERSHBERGER R.E., LARRABEE P., O'CONNELL J.B., RENLUND D.G., VOLKMANN K., MURRAY J. (1991)
Differences in β -adrenergic neuroeffector mechanisms in ischemic versus idiopathic dilated cardiomyopathy.

Circulation 84, 1024-1039

BUSTAMENTE J.O., WATANABE T., MURPHY D.A., McDONALD T.F. (1982)

Isolation of single atrial and ventricular cells from the human heart.

Can Med Assoc J 126, 791-793

CAMPBELL E.C., GERDES A.M., SMITH T.D. (1987)

Comparison of regional differences in cardiac myocyte dimensions in rats, hamsters and guinea pigs.

Anat Rec 219, 53-59

CANALE E.D., CAMPELL G.R., SMOLLICH J.J., CAMPELL J.H. (1986)

Cardiac muscle

In: Oksche A., Vollrath L. (Hrsg.): Handbook of microscopic anatomy II/7, Springer Verlag, Berlin

CHARLES RIVER WIGA GMBH (1996)

Labortierzüchter, Sandhofer Weg 7, 97633 Sulzfeld

Informationsbroschüre zu den Laborkaninchen

CROFTS A. (1996)

University of Illinois at Urbana-Champaign

www.life.uiuc.edu/crofts/bioph.354/lect16&17.html

DE MENESES T., MESA M.D., GONZALEZ V. (1989)

Echocardiographic assessment of cardiac function in the rabbit: a preliminary study.

Ann Rech Vet 20, 175-185

DORN F.K. (1984)

In: Dorn F.K. (Hrsg.): Rassekaninchenzucht, 6. Auflage, Neumann Verlag, Leipzig, 93-108

DOW J.W., HARDING N.G.L., POWELL T. (1981)

Isolated cardiac myocytes. Preparation of adult myocytes and their homology with the intact tissue.

Cardiovasc Res 15, 483-514

DRIVER I., WILSON C., WILTSHIRE S., MILLS P., HOWARD-GRIFFIN R. (1997)

Co-induction and laryngeal mask insertion. A comparison of Thiopentone versus Propofol.

Anaesthesia 52, 698-700

EAMES W.O., ROOKE G.A., WU R.S.C., BISHOP M.J. (1996)

Comparison of the effects of Etomidate, Propofol and Thiopental on respiratory resistance after tracheal intubation.

Anesthesiology 84, 1307-1311

ERHARDT W. (1984)

Anästhesieverfahren beim Kaninchen.

Tierärztl Prax 12, 391-402

ESCHENHAGEN T. (2001)

Three-dimensional matrix body and device and method for measuring contractions of a cell tissue.

International Patent Publikation Number WO 01/55297

ESCHENHAGEN T., FINK C., REMMERS U., SCHOLZ H.U.A. (1997)

Three-dimensional reconstitution of embryonic cardiomyocytes in a collagen matrix: a new heart muscle model system.

FASEB J 11, 683-694

FEHR M. (1984)

Narkose bei Heimtieren.

Kleintierpraxis 29, 313-318

FINK C., ERGÜN S., KRALISCH D., REMMERS U., WEIL J., ESCHENHAGEN T. (2000)

Chronic stretch of engineered heart tissue induces hypertrophy and functional improvement.

FASEB J 14, 669-679

FLETCHER G.C., GILLESPIE J.A., DAVIDSON J.A. (1996)

The effect of temperature upon pain during injection of propofol.

Anaesthesia 51, 498-499

FREY H.H., LÖSCHER W. (2002)

In:Frey H.H, Löscher W.(Hrsg.): Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, 2. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart

FUCHS H.A. (1998)

Myokardiale Kontraktilität und intrazelluläres Calcium am isolierten Cardiomyozyten:

Untersuchung zur Frequenzabhängigkeit des Verkürzungsverhaltens nach Entwicklung eines Verfahrens zur Myocytenisolierung und Konstruktion einer Messapparatur.

Med Diss, Heidelberg

GRUHN R. (1961)

Kaninchenrassen verschiedener Nutzen.

In: Hammond J., Johansson I., Haring F. (Hrsg.): Handbuch der Tierzucht, 3. Band
Rassenkunde, Paul Parey Verlag, Hamburg, 426-443

HABERSTROH J., HENKE J. (2003)

Anästhesie beim Kaninchen.

In: Erhardt W., Henke J., Haberstroh J. (Hrsg.): Anästhesie und Analgesie beim Klein- und
Heimtier, Schattauer Verlag, Stuttgart, (im Druck)

HAMLIN RL. (1977)

Myocardial contractility.

Adv Vet Sci Comp Med 21, 19-38

HARDING S.E., JONES S.M., O'GARA P., VESCOVO G., POOLE-WILSON P.A. (1990)

Reduced β -agonist sensitivity in single atrial cells from failing human hearts.

Am J Physiol 259, H1009-H1014

HARDING S., BROWN L.A., MONTE DEL F., DAWIES C.H., O'GARA P., VESVOVO
G., WYNNW D., POOLE-WILSON P.A. (1996)

Acceleration of concentration by β -adrenoceptor stimulation is greater in ventricular
myocytes from failing than non-failing human hearts.

Basic Res Cardiol, Suppl. 2, 53-56

HARRAY I., FARLEY B. (1960)

In vitro studies of single isolated beating heart cells.

Science 131, 1674-1675

HOSHINO T., FUJIWARA H., KAWAI C., HAMASHIMA Y. (1983)

Myocardial fiber diameter and regional distribution in the ventricular wall of normal adult
hearts, hypertensive hearts and hearts with hypertrophic cardiomyopathy.

Circulation 67, 1109-1116

HOULE M.S., ALTSCHULD R.A., BILLMANN G.E. (2001)

Enhanced in vivo and in vitro contractile responses to β_2 -adrenergic receptor stimulation in dogs susceptible to lethal arrhythmias.

J Appl Physiol 91, 1627-1637

HOWARD A., ROCKMAN W.J., LEFKOWITZ R.J. (2002)

Seven-transmembrane-spanning receptors and heart function.

Nature 415, 206-212

HUXLEY H.E. (1965)

The mechanism of muscular contraction.

Sci Am 213, 18-27

ISENBERG G., KLOCKNER U. (1982)

Calcium tolerant ventricular myocytes prepared by preincubation in a "KB Medium".

Pflügers Archiv 395, 6-18

JUNG S. (1962)

Kaninchen

In: Jung S. (Hrsg.): Grundlagen für die Zucht und Haltung der wichtigsten Versuchstiere,

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 27-122

KAMENZIN S. (1998)

Kontraktilität des isolierten menschlichen Kardiomyozyten. Einfluss von Calcium,

Isoproterenol, Stimulationsfrequenz, Stimulationspause und Thapsigargin.

Med Diss, Freiburg i. Br.

KANAYA N., HIRATA N., KUROSAWA S., NAKAYAMA M., NAMIKI A. (2003)

Differential effects of propofol and sevoflurane on heart rate variability.

Anesthesiology 98, 34-40

KATTINGER P., EWRINGMANN A., WEYLAND J., SKRODZKI M. (1999)

Kardiologische Untersuchungen beim Kaninchen.

Kleintierpraxis 44, 761-772

KATZ A.M. (1977)

Structure and function of cardiac muscle.

In: Katz A.M: Physiology of the heart, Raven Press, New York, 1-13

KORECKY B., RAKUSAN K. (1978)

Normal and hypertrophic growth of the rat heart: changes in cell dimensions and number.

Am J Physiol 234, H123-H128

KOWALSKI S.D., RAYFIELD C.A. (1999)

A post hoc descriptive study of patients receiving propofol.

Am J Crit Care 8, 507-513

LANGENDORFF O. (1895)

Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen.

Pflügers Archiv 61, 291 - 332

LAUGWITZ K-L., WEIG H-J., MORETTI A., HOFFMANN E., UEBLACKER P., PRAGST I., ROSPORT K., SCHOMIG A., UNGERER M. (2001)

Gene transfer of heterologous G protein-coupled receptors to cardiomyocytes: differential effects on contractility.

Circ Res 13; 88, 688-95

LAWRENCE A.B. (1994)

Biologische Grundlagen des Umgangs mit Tieren.

In: Anderson A.S. und Edney A.T.B. (Hrsg.): Handling bei Nutz- und Heimtieren, Gustav Fischer Verlag, Jena, 15-29

LEGATO M.J. (1979 a)

Cellular mechanisms of normal growth in the mammalian heart.

I. Qualitative and quantitative features of ventricular architecture in the dog from birth to five month of age.

Circ Res 44, 250-262

LEGATO M.J. (1979 b)

Cellular mechanisms of normal growth in the mammalian heart.

II. Quantitative and qualitative comparison between the right and left ventricular myocyte in the dog from birth to five months of age.

Circ Res 44, 263-279

LIEBICH H.G. (1999)

Herzmuskelgewebe.

In:Liebich H.G. (Hrsg.): Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. 3.Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart, 94-95

LINZBACH A.J. (1952)

Die Anzahl der Herzmuskelkerne in normalen, überlasteten, atrophischen und mit Corhormon behandelten Herzkammern.

Z Kreislaufforschg 41, 641-658

MISCHKE A. (1997)

Makroskopisch- und mikroskopisch- anatomische Untersuchungen an Herz, Nieren und Nebennieren von normalgeschlachteten Bullen und Färsen der Rasse Holstein Friesian.

Vet Med Diss, Berlin

MUIR A.R. (1965)

Further observations on the cellular structure of cardiac muscle.

J Anat 99, 27-46

NAKAYAMA M., MURRAY P.A. (1999)

Ketamine preserves and propofol potentiates hypoxic pulmonary vasoconstriction compared with the conscious state in chronically instrumented dogs.

Anesthesiology 91, 760-771

NAVÉ B.T., BECKER M., ROENICKE V., HENKEL T. (2002)

Validation of targets and drug candidates in an engineered three dimensional cardiac tissue model.

Drug Discov Today 7, 419-425 Review

PADDLEFORD R.R., ERHARDT W. (1992)

Allgemeinanästhesie.

In: Paddleford R.R, Erhardt W. (Hrsg.): Anästhesie bei Kleintieren, Schattauer Verlag, Stuttgart, 50-52

PERIASAMY M., HUKÉ S. (2001)

SERCA pump level is a critical determinant of Ca^{2+} homeostasis and cardiac contractility.
J Mol Cell Cardiol 33: 1053-1063

PIERRA O., MEYER R., VOß K., WENZELIDES K. (1979)

Vergleichende quantitativ-morphologische Untersuchungen des Myocards der Ratte nach wiederholten Gaben von Isoprenalin.
Zentralbl Allg Pathol 123, 590-593

POULSEN NAUTRUP C., TOBIAS R. (1998)

Herz.

In: Poulsen Nautrup C., Tobias R.(Hrsg.): Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze.
Schlütersche, Hannover, 127-164

POWELL T., TWIST V.W. (1976)

A rapid technique for the isolation and purification of adult cardiac muscle cells having respiratory control and a tolerance to calcium.
Biochem Biophys Res Commun 72, 327-333

POWELL T., STURRIDGE M., SUVARNA S.K., TERRAR D.A., TWIST V.W. (1981)

Intact individual heart cells isolated from human ventricular tissue.
Br Med J 283, 1013-1015

PYE M., BLACK M.P., COBBE S.M. (1996)

Comparison of in vivo and in vitro haemodynamic function in experimental heart failure: use of echocardiography.
Cardiovasc Res 31: 873-881

RAJS J., SUNDBERG M., SUNDBAY G., DANELL N., TORNLING G., BIBERFELD P.,
JAKOBSSON S.W. (1978)

A rapid method for the isolation of variable cardiac myocytes from adult rats.

Exp Cell Res 115, 183-189

RUSS U., BALSER B., SCHOLZ U.A., LANG H.J., WEICHERT A., SCHÖLKENS B.A.,
GÖGELEIN H. (1996)

Effects of the Na⁺ / H⁺- exchange inhibitor Hoe 642 on intracellular pH, calcium and sodium
in isolated rat ventricular myocytes.

Pflügers Archiv 433, 26-34

SCHALL H. (1998)

Kaninchen.

In: Gabrisch K., Zwart P. (Hrsg.): Krankheiten der Heimtiere, 4. Auflage, Schlütersche,
Hannover, 1-46

SCHAPER J., MEISER E., STÄMMLER G. (1985)

Ultrastructural morphometric analysis of myocardium from dogs, rats, hamsters, mice and
from human hearts.

Circ Res 56, 377-391

SEDGWICK C.J., ERHARDT W., KORBEL R., LENDL C. (1992)

Anästhesie bei Reptilien, Vögeln, Primaten, Kaninchen und Nagern.

In: Paddleford R.R, Erhardt W. (Hrsg.): Anästhesie bei Kleintieren, Schattauer Verlag,
Stuttgart, 361-384

SEN L., O'NEILL M., MARSH J.D., SMITH T.W. (1990)

Myocyte structure, function, and calcium kinetics in the cardiomyopathic hamster heart.

Am J Physiol 259, H1533-1543

SHORT C.E., BULFALARI A. (1999)

Propofol anaesthesia.

Vet Clin North Am Small Anim Pract 29, 747-778 (Review)

SILBERNAGEL S., DESPOPOULOS A. (1991)

Nerv und Muskel.

In: Silbernagel S., Despopoulos A. (Hrsg.): Taschenatlas der Physiologie, 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 22-49

SIMPSON J.M., COOK A. (2002)

Repeatability of echocardiographic measurement in the human fetus.

Ultrasound Obstet Gynecol 20, 332-339

SMOLLICH A., MICHEL G. (1992)

In: Smollich A., Michel G. (Hrsg.): Mikroskopische Anatomie der Haustiere. 2. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 16-23

SORENSEN A., TEPPER D., SONNENBLICK E., ROBINSON T., CAPASSO J. (1985)

Size and shape of enzymatically isolated ventricular myocytes from rats and cardiomyopathic hamsters.

Cardiovasc Res 19, 793-799

STERFADOUROS M.A., CANEDO M.I. (1977)

Reproducibility of echocardiographic estimates of left ventricular dimensions.

Br H J 39, 390-398

STEWART J.M., PAGE E. (1978)

Improved stereological techniques for studying myocardial cell growth: Application to external sarcolemma, T-system, and intercalated disks of rabbit and rat hearts.

J Ultrastruct Res 65, 119-134

STREYER L. (1994)

Membrantransport.

In: Streyer L.: Biochemie, 4.Auflage, Spectrum Akad. Verlag GmbH, Heidelberg, 985-1010

TOBER-MEYER B. (1977)

Vorschläge zur Narkose bei Kaninchen, Meerschweinchen und kleinen Nagern.

Kleintierpraxis 22, 335-346

VAN ZUTPHEN L.F.M., BAUMANS V., BEYNEN A.C. (1995)

In: Van Zutphen L.F.M., Baumans V., Beynen A.C. (Hrsg.): Grundlagen der Versuchstierkunde, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

WEISS J., MAESS J., NEBENDAHL K., ROSSBACH W. (1996)

Kaninchen.

In: Weiss J., Maess J., Nebendahl K., Rossbach W. (Hrsg.): Haus und Versuchstierpflege, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 76-80

WOLSKA B.M., SOLARO R.J. (1996)

Method for isolation of adult mouse cardiac myocytes for studies of contraction and microfluorimetry.

Am J Physiol 271, H1250-H1255

WU R.S.C., WU K.C., SUM D.C.W., BISHOP M.J. (1996)

Comparative effects of Thiopentone and Propofol on respiratory resistance after tracheal intubation.

Br J Anaesth 77, 735-738

WURSTER H. (1973)

Zur Anästhesie beim Kanichen.

Berl Münch Tierärztl Wschr 86, 354-355

ZAK R. (1973)

Cell proliferation during cardiac growth.

Am J Cardiol 31, 211-219

8 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	Reproduktionsdaten der Kaninchen.....	6
Tabelle 2:	Physiologische Daten der Kaninchen	7
Tabelle 3:	Organgewichte männlicher Kaninchen in Abhängigkeit vom Alter	8
Tabelle 4:	Mittlere Durchmesser von Kardiomyozyten unterschiedlicher Spezies.....	15
Tabelle 5:	Mittlere Länge von Kardiomyozyten unterschiedlicher Spezies in μm	16
Tabelle 6:	Bestandteile des selbsthergestellten Powell-Mediums	31
Tabelle 7:	Bestandteile des M199 Mediums	32
Tabelle 8:	Bestandteile zur Herstellung von Tyrode Lösung	32
Tabelle 9:	Beispiel eines Messprotokolls für einen Kardiomyozyten	39
Tabelle 10:	Sonographische Parameter der Gruppen Weiße-Neuseeland-Kaninchen und Chinchilla-Bastard-Kaninchen	40
Tabelle 11:	Diastolischen Zelllänge von Einzelkardiomyozyten bei WN und CB	43
Tabelle 12:	Durchschnittsdauer (ms) der Zellverkürzung von 10 % bis zum Maximum (Basalwerte) bei WN und CB-Kardiomyozyten	45
Tabelle 13:	Verkürzungsgeschwindigkeiten in $\mu\text{m/s}$ von Kardiomyozyten unter Isoprenalin-Stimulation	47
Tabelle 14:	Fractional Shortening (FS) der Kardiomyozyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen und Chinchilla-Bastard-Kaninchen unter Isoprenalin-Stimulation	50

9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:	Weiß-Neuseeland-Kaninchen	3
Abbildung 2:	Groß-Chinchilla-Kaninchen.....	5
Abbildung 3:	Räumliche Darstellung von Myofibrille und Sarkomer.....	17
Abbildung 4:	Mikroskopische Aufnahme der Sarkomerstruktur.....	18
Abbildung 5:	Schematischer Aufbau eines Sarkomer	19
Abbildung 6:	Das Gleitfaser-Modell der Muskelkontraktion	20
Abbildung 7:	Aufbau eines Myosinmoleküls	21
Abbildung 8:	Aufbau eines Myosinfilamentes	21
Abbildung 9:	Aktinfilament mit den Regulatorproteinen Tropomyosin und Troponin.....	22
Abbildung 10:	Funktionelle Interaktion von Aktin- und Myosinmolekülen als Grundlage des Filamentgleitens.....	25
Abbildung 11:	Beispiel für ein echokardiographisches Messprotokoll	29
Abbildung 12:	Schematische Zeichnung des Versuchaufbaus zur Kardiomyozytenisolierung.....	30
Abbildung 13:	Zeiss Mikroskop AXIOVERT und Küvettensystem CUVMIC	35
Abbildung 14:	Mikroskopische Aufnahme von Kardiomyozyten	37
Abbildung 15:	Durchmesser (cm) des $LV_{\text{sys.}}$ und des $LV_{\text{enddiast.}}$ vergleichend bei Weißen-Neuseeland- und Chinchilla-Bastard-Kaninchen.	41
Abbildung 16:	Fractional Shortening (%) der Weißen-Neuseeland- und Chinchilla-Bastard-Kaninchen.....	42
Abbildung 17:	Mittlere diastolische Kardiomyozytenlänge von Weißen-Neuseeland- Kaninchen und Chinchilla-Bastard-Kaninchen	44
Abbildung 18:	Durchschnittsdauer (ms) der Zellverkürzung von 10 % bis zum Maximum bei WN und CB-Kardiomyozyten.....	46

Abbildung 19:	Verkürzungsgeschwindigkeiten der Kardiomyozyten unter steigender Isoprenalin-Stimulation.....	47
Abbildung 20:	Fractional Shortening (%) der Kardiomyozyten von Chinchilla-Bastard-Kaninchen unter Isoprenalin-Stimulation	48
Abbildung 21:	Fractional Shortening (%) der Kardiomyozyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen unter Isoprenalin-Stimulation	49
Abbildung 22:	Fractional Shortening (FS) der Kardiomyozyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen und Chinchilla-Bastard Kaninchen unter Isoprenalin-Stimulation.....	51
Abbildung 23	Fractional Shortening der Kardiomyozyten von Weißen-Neuseeland-Kaninchen und Chinchilla-Bastard-Kaninchen unter Isoprenalin-Stimulation.....	59

10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

\bar{x}	Mittelwert
∅	Durchmesser
*	multipliziert
°C	Grad Celsius
µm	Mikrometer
bidest.	bidestilliert
A.	Arteria
ca.	circa
CB	Chinchilla-Bastard-Kaninchen
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlendioxid
d.h.	das heißt
diast.	diastolisch
DTI	Dauertropfinfusion
enddiast.	enddiastolisch
endiastol.	Enddiastolisch
et al.	et alii
Fa.	Firma
FS	Verkürzungsfraction (Fractional Shortening)
g	Gramm
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	Stunde
HF	Herzfrequenz
Hrsg.	Herausgeber
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
l	Liter
LV	linker Ventrikel
LV _{enddia.}	Durchmesser linker Ventrikel enddiastolisch
LV _{syst.}	Durchmesser linker Ventrikel systolisch

M	Mol
MG	Molgewicht
min	Minute
mM	Millimol
ms	Millisekunde
NaCl	Natriumchlorid
WN	Weiß-Neuseeland-Kaninchen
pH	pondus hydrogenii (negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration)
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SERCA	sarkoplasmatische Retikulum Ca^{2+} ATPase
s.	siehe
SR	Sarkoplasmatisches Retikulum
systol.	systolisch
t	Zeit
V./Vv.	Vena/Venae
V_{\max}	maximale Geschwindigkeit

11 DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich all denen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, recht herzlich danken.

Herrn Univ. Prof. Dr. vet. med. M. Stangassinger für die Übernahme meiner Arbeit an die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München und für die konstruktiven Vorschläge bei der Durchsicht des Manuskriptes.

Herrn Univ. Prof. Dr. med. B. Gänsbacher, Direktor des Institutes für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der Technischen Universität München, für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt für die Überlassung des interessanten Themas und für seine stets freundliche und engagierte Unterstützung bei der Durchführung, Korrektur und Fertigstellung der Arbeit.

Frau Dr. med. vet. J. Henke für ihre Geduld bei der Durchsicht und der Korrektur der Arbeit.

Ganz besonders Herrn Dr. H.J. Weig, der mir stets tatkräftig und aufmunternd bei diesem Projekt zur Seite stand.

Frau Ph. D. pharmacol. toxicol. A. Moretti für ihre Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Messungen und Auswertungen im Labor.

Frau Raymonde Busch vom Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie des Klinikum rechts der Isar der TU München für ihre Mithilfe bei der statistischen Auswertung.

Allen Mitarbeitern des Institutes für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung, insbesondere Christiane Faltermeier, Christine Baumgärtner, Gabi Wexel und Martina Knödler.

Den Mitarbeitern der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik, Abteilung Kardiologisches Labor, insbesondere Karola Griffel, Angelika Gillitzer, Thomas Ott und Diana Grewe.

Ganz herzlich meiner Familie und meiner Freundin, deren Verständnis und Unterstützung diese Arbeit erst möglich gemacht haben.

12 LEBENSLAUF

Name: Evelin Lück

Geburtsdatum: 18.06.1969

Geburtsort: Saarbrücken

Schulbildung: 1976–1979 Grundschule Erfweiler–Ehlingen
1979–1988 Von der Leyen-Gymnasium Blieskastel
07. 06. 1988 Abitur

Fachschule: 1989–1992 Naturwissenschaftliches Technikum
in Landau. Ausbildung zur staatlich
geprüften Biologisch–Technischen
Assistentin (BTA)

Arbeit: 1.04.1992-15.10.1994 unbefristetes Arbeitsverhältnis als BTA an
der Universität des Saarlandes, Abteilung
„Medizinische Biochemie“ in Homburg,
Leiter: Prof. Dr. M. Montenarh

Studium: 1994–2000 Studium der Veterinärmedizin an der
Tiermedizinischen Fakultät der
Ludwig–Maximilians–Universität München
31.10. 2000 Approbation als Tierärztin

Seit Januar 2001: Doktorandin am Institut für Experimentelle
Onkologie und Therapieforchung der
Technischen Universität München,
Klinikum Rechts der Isar; Arbeitsgruppe
„Experimentelle Onkologie“; Leiter:
Prof. Dr. vet. med. Dr. med. habil. W. Erhardt