

Medizinische Klinik und Poliklinik I des Klinikums Grosshadern

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Professor Dr. med. Steinbeck

Änderung der linksventrikulären Muskelmasse nach

Herztransplantation beim Menschen:

Beziehung zu neurohumoralen und inflammatorischen Markern.

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der Medizinischen

Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von Alexander Elmar Vierheilig

aus Rendsburg

2008

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. habil Michael Weis
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Ch. Weinhold
Dekan der medizinischen Fakultät: Prof. Dr. med. Dietrich Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung: 14.02.2008

Meinen Eltern

Ines & Manfred Vierheilig

Inhaltsverzeichnis

1) Einleitung S. 7

- 1.1 Hintergrund Herztransplantation
- 1.2 Linksventrikuläre Hypertrophie
- 1.3 Hypothese und Fragestellung

2) Patienten und Methoden S. 14

- 2.1 Patienten
- 2.2 Messmethoden, Messparameter und Materialien
 - 2.2.1 Echokardiographische Untersuchung
 - 2.2.2 Blutentnahmen (venös)
- 2.3 Nachweismethoden im Labor
 - 2.3.1 Messung von Transforming Growth Factor-Beta (TGF-Beta)
 - 2.3.2 Messung von Insulin-like Growth Factor (IGF-I)
 - 2.3.3 Messung von Fibroblast Growth Factor (FGF)
 - 2.3.4 Messung von Angiotensin II

3) Ergebnisse S. 29

- 3.1 Linksventrikuläre Massen (LVM) für die Kollektive I und II im Gesamtvergleich
- 3.2 Linksventrikuläre Massen (LVM) mit und ohne linksventrikuläre Hypertrophie (LVH)
für die Kollektive I + II
- 3.3 Hinterwandmassen im Gesamtvergleich
- 3.4 Hinterwandmassen mit und ohne Hypertrophie für die Kollektive I und II

3.5 Zeitabhängige Veränderung der LV-Masse nach Htx (seriell)

3.6 Mittlerer arterieller Druck versus LVH (Gesamtkollektiv)

3.7 Tacrolimus- + Cyclosporin- Spiegel versus LVH (Gesamtkollektiv)

3.8 Akute Abstoßungen im ersten Jahr nach HTX versus LVH

3.9 LVH und Statindosierung

4) Korrelation der LVH mit Wachstumsfaktoren und vasoaktiven Mediatoren S. 36

4.1 Transforming Growth Factor Beta (TGF-Beta) Gesamtspiegel im Vergleich

4.2 IGF Gesamtspiegel im Vergleich

4.3 Gesamtvergleich FGF mit und ohne Hypertrophie

4.4 Gesamtspiegel Angiotensin II im Vergleich mit und ohne Hypertrophie

4.5 BNP Gesamtvergleich mit und ohne Hypertrophie

4.6 Gesamtvergleich Fibrinogen mit und ohne Hypertrophie

4.7 Gesamtvergleich Monozyten mit und ohne Hypertrophie

5) Diskussion S. 43

5.1 Transforming Growth Factor-Beta (TGF-Beta)

5.2 Insulin-like Growth Factor (IGF-I)

5.3 Fibroblast Growth Factor (FGF)

5.4 Brain Natriuretic Peptide (BNP)

5.5 Angiotensin II

5.6 Inflammatorische Marker (Fibrinogen, Monozyten)

6) Limitationen der Studie	S. 53
7) Zusammenfassung	S. 54
7.1 Hintergrund	
7.2 Methoden	
7.3 Ergebnisse	
7.4 Schlussfolgerung	
8) Graphikenverzeichnis	S. 58
9) Tabellenverzeichnis	S. 58
10) Literaturverzeichnis	S. 59
Anhang: Curriculum vitae	S. 72

1) Einleitung

1.1 Hintergrund Herztransplantation

Nach der ersten Nierentransplantation im Jahr 1954 konnte erstmals 1967 das Herz eines Menschen transplantiert werden. Für die Behandlung der terminalen Herzinsuffizienz hat sich seither die Herztransplantation (Htx) von einem experimentellen Verfahren zu einer fest etablierten Therapie entwickelt. Durch eine Verbesserung der Immunsuppression, der Abstoßungsdiagnostik, der Organkonservierung und auch der Spenderauswahl konnten inzwischen weltweit über 70 000 Herzen transplantiert werden (Marshall I. et al. 2005).

Die aktuellen Überlebensraten transplanterter Patienten liegen im ersten Jahr bei 83 %, die 5-Jahres-Überlebensrate liegt bei 72 % und 50 % der Patienten überleben 9,4 Jahre oder mehr (Hoffmann, Frances M. et al. 2005).

Hauptkomplikationen bleiben Infektionen, akute und chronische Abstoßungsreaktionen sowie Tumorerkrankungen. Das Risiko einer akuten Abstoßung ist in den ersten 3 Monaten nach Operation am größten. Das Spätorganversagen ist vor allem durch die Entwicklung einer chronischen Abstoßungsreaktion in Form der Transplantatvaskulopathie bedingt (Prävalenz 50% nach 5 Jahren). Die Transplantatvaskulopathie wird durch alloimmun-abhängige und alloimmun-unabhängige Faktoren vermittelt und resultiert in einer akzelerierten Koronaratherosklerose (Alvarez et al. 2001, Berkenboom 1995, Weis 1997).

1.2 Linksventrikuläre Hypertrophie vor und nach Herztransplantation

Wird das menschliche Herz häodynamischen Belastungen ausgesetzt, hat es als Kompensationsmöglichkeiten den so genannten Frank-Starling-Mechanismus, neurohormonale Ausschüttungen (um die Kontraktilität zu erhöhen) und die Vergrößerung der Muskelmasse (um der erhöhten Last zu begegnen) zur Verfügung. Da die beiden

erstgenannten Mechanismen als langfristige Antwort limitiert sind, kommt der Zunahme der Muskelmasse eine Schlüsselrolle zu.

Diese Zunahme der Muskelmasse ist zurückzuführen auf eine Hypertrophie der bereits existierenden Myozyten. Da die Myozyten kurz nach der Geburt vollständig differenziert sind, kommt es in der Regel nicht zu einer Hyperplasie (Lorell, Carabello 2000), sondern zu einer Myozytenhypertrophie.

Dem La Place Gesetz folgend, wird erhöhter Druck auf das Myokard durch eine Vergrößerung der Wanddicke kompensiert. Da der systolische Wandstress (afterload) eine bestimmende Komponente der Auswurfleistung der Ventrikel ist, wird im klinischen Alltag versucht, den systolischen Stress zu reduzieren, um so eine normale Auswurfleistung aufrecht zu erhalten.

Man unterscheidet in der Regel zwei Arten von Belastung: Druck und Volumen. Während die Druckbelastung einen Anstieg von *myosin heavy chains* verursacht, geht man bei der Volumenbelastung von einem verringerten Abbau der *myosin heavy chains* aus (Immamura 1994).

Prinzipiell bedeutet Hypertrophie ein Anstieg der Anzahl von Sarkomeren im Myozyten, wobei man unterstellt, dass die mechanische Stimulation in biomechanische Ereignisse übertragen wird. Dies wiederum führt zu einer Gen-Transkription im Nukleus und beeinflusst so das Zellwachstum (Bork 1993).

Um auf eine erhöhte biomechanische Belastung reagieren zu können, geht das Myozytenwachstum einher mit einem Zuwachs des umgebenden Bindegewebes sowie Grundsubstanzen, Gefäss- und Nerveneinsprossung. Das Bindegewebe des Myokards ist größtenteils aus Kollagenfasern Typ 1 (85%) konstituiert, neben den Typen 3 und 5 sowie Elastin, Laminin und Fibronectin. Dieser Kollagenkomplex ist für die ventrikuläre Kontraktion als Antwort auf eine Stimulation der Myozyten und auch für die Erhaltung der diastolischen Wandspannung verantwortlich.

LVH und Herzinsuffizienz

Die LVH ist in den entwickelten Industrieländern eine der wichtigsten Ursachen für die Ausbildung einer Herzinsuffizienz (Levy 1990, Sullivan 1993). In der Regel liegt die Ursache in einer durch Bluthochdruck vermittelten Erhöhung der systolischen myokardialen Wandspannung. Aber auch eine lastunabhängige Steigerung der linksventrikulären Muskelmasse wird beobachtet, die familiär gehäuft auftritt und mit dem Angiotensin-Converting Enzym (ACE) Genotyp in Verbindung gebracht wurde (Muscholl 1996, Schunkert 1994).

Mit Hilfe der Echokardiographie wurden insbesondere bei Hypertonikern verschiedene linksventrikuläre (LV) Geometrien anhand der LV-Masse und der relativen Wanddicke charakterisiert (Ganau 1992). Neueste Studien zeigen, dass eine bei Hypertonikern auftretende LVH mit einer linksventrikulären diastolischen Dysfunktion und auch einer linksatrialen Dilatation einhergeht (Bendahmane et al. 2005).

Grundsätzlich lassen sich vier geometrische Formen des linken Ventrikels unterscheiden: Normale Geometrie (normale LV-Masse und relative Wanddicke), LV-remodeling (normale Masse, erhöhte relative Wanddicke), konzentrische LVH (LV-Masse und relative Wanddicke erhöht) exzentrische LVH (relative Wanddicke normal, LV-Masse erhöht).

Bei arterieller Hypertonie konnten den verschiedenen LV-Geometrien sehr charakteristische Unterschiede hinsichtlich Hämodynamik, ambularem Blutdrucklangzeitprofil, Plasma-Volumen, neurohumoraler Regulation, allgemeiner Atherosklerose und Prognose zugeordnet werden (Ganau 1992, Devereux 1993, Ganau 1991, Muscholl 1998, Roman 1996).

Muscholl et al. zeigten 1996 in einer Studie an einem Geschwisterkollektiv von 234 Probanden mit LV-Hypertrophie, dass die familiäre Prädisposition unabhängig von Alter, Blutdruck und Adipositas das Risiko für das Vorliegen einer linksventrikulären Hypertrophie

signifikant erhöht. In der normotensiven und klinisch gesunden Bevölkerung besitzt die abnormale LV-Geometrie (d.h. erhöhte LV-Muskelmasse und/oder erhöhte LV-Wanddicke bezogen auf die LV-Grösse) immerhin eine Prävalenz von 17 %.

Außerdem finden sich geschlechtsspezifische Unterschiede. Die exzentrische LV-Hypertrophie ist bei Frauen die häufigste abnorme Geometriiform, während sich bei Männern vor allem ein LV-remodeling und eine konzentrische Hypertrophie finden. Darüber hinaus ist die LV-Geometrie unabhängig von Alter, Body Mass Index und Blutdruck ein Prädikator für eine eingeschränkte systolische und diastolische Funktion im Echokardiogramm (Muscholl 1995).

Bei Vorliegen einer „white coat Hypertonie“, d.h. normale Blutdruckwerte unter Alltagsbedingungen, pathologischer Blutdruckanstieg in Streßsituationen (Kontakt mit dem Arzt) verdoppelt sich die Prävalenz der LV-Hypertrophie (erhöhte Muskelmasse) im Echokardiogramm im Vergleich zur normotensiven Bevölkerung, und zwar unabhängig von Alter und Body Mass Index (Muscholl 1997). Ganau teilte 1992 die linksventrikuläre Geometrie echokardiographisch in unterschiedliche Kollektive ein. Neben der Prävalenz der einzelnen Geometriiformen wurden auch ihre hämodynamischen und neurohumoralen Determinanten untersucht. Patienten mit unterschiedlicher LV-Geometrie bei arterieller Hypertonie wiesen deutliche Unterschiede hinsichtlich der Dauer der Hypertonie und hämodynamischer Daten wie arteriellem Blutdruck, peripherem Gefäßwiderstand und Herzzeitvolumen auf (Muscholl 1993). Erwartungsgemäß ergaben sich auch signifikante Unterschiede hinsichtlich Plasma-Renin-Aktivität, Plasma-Aldosteron und ANP. Die gewonnenen Daten weisen darauf hin, dass neben Alter, Blutdruck und BMI auch die Neurohormone des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems die Geometrie des linken Ventrikels beeinflussen (Muscholl 1998).

LVH nach Herztransplantation

Nach Htx lässt sich nahezu regelhaft echokardiographisch, magnetresonanztomographisch und histologisch eine Transplantathypertrophie nachweisen (Borow 1985, Gobits 1997, Imakita 1987, Rowan 1990, v. Scheidt 1991). Die echokardiographisch fassbare Zunahme der linksventrikulären Muskelmasse ist unabhängig von histologisch nachweisbarer Abstoßungsreaktion, intramyokardialem Ödem oder Fibrose und entspricht einer echten Myozytenhypertrophie (Rowan 1990, Armstrong 1998).

Im Gegensatz zur hypertensiven Herzerkrankung, die eine häufige Ursache für das Auftreten einer Herzinsuffizienz darstellt, kommt es bei der Transplantathypertrophie nur sehr selten zu einer hypertrophieinduzierten Pumpfunktionsstörung des linken Ventrikels. Streeter et al. zeigten 2005, dass sowohl die rechtsventrikuläre als auch die linksventrikuläre Auswurffraktion sowie das end-diastolische Volumen bis zu 16 Jahre nach Htx stabil bleiben. Die Ursache könnte mit dem Zeitverlauf der Hypertrophiezunahme nach Transplantation zusammenhängen.

Interessant ist jedoch, dass es sich bei der Transplantathypertrophie um eine überproportionale Zunahme der LV-Muskelmasse handelt, da die systolische Wandspannung im Vergleich zu normotonen Kontrollprobanden reduziert ist (Borow 1985, v.Scheidt 1991, Globits 1997).

Obwohl die meisten Patienten eine Posttransplantationshypertonie entwickeln, liegt die Vermutung nahe, dass die Ursache der Transplantathypertrophie nur zum Teil in erhöhten Lastbedingungen liegt, sondern vielmehr auch andere lastunabhängige Mechanismen wirksam werden.

In diesem Zusammenhang wurde die Posttransplantationshypertonie mit dem Einsatz von Cyclosporin (Sandimmun) zur Immunosuppression in Verbindung gebracht. Unter Cyclosporin kommt es zu einer erhöhten neuronalen sympathischen Aktivität sowie zur

Entwicklung einer renalen Vasokonstriktion, die bereits nach einmaliger Gabe zu einem Abfall der glomerulären Filtrationsrate führt (Scherrer 1990, Kaye 1993, Hansen 1997). Darüber hinaus begünstigt aber auch die kardiale Denervation durch den Verlust der cholinergen Baroreflex-Vasodilatation (v.Scheidt 1992) eine Hypertonie. Die Unterbrechung kardiorenaler Reflexbögen induziert zudem eine salzsensitive arterielle Hypertonie und Flüssigkeitsretention nach Htx (Braith 1996).

Im Langzeitverlauf nach Htx liegt meist eine diastolische Dysfunktion im Rahmen der linksventrikulären Hypertrophie bei normaler *systolischer* Funktion vor.

Die Bedeutung der geschilderten Cyclosporin- und hypertonievermittelten Effekte für die Entwicklung einer Transplantathypertrophie wird dadurch relativiert, dass auch unter einer Immunsuppression mit Azathioprin und Prednison eine Transplantathypertrophie auftritt (Rowan 1990).

Zusätzliche lastunabhängige Mechanismen, welche für die Ausbildung einer Transplantathypertrophie verantwortlich sind, wurden bisher nicht näher charakterisiert. Zunehmende Bedeutung erhalten in jüngster Zeit inflammatorische Prozesse für die Progression einer last-abhängigen aber auch last-unabhängigen Myokardhypertrophie (Kuwahara 2003; Tokuda 2004). Als potentielle Stimuli einer ventrikulären Myozytenhypertrophie gelten weiterhin vasoaktive Mediatoren bzw. Wachstumsfaktoren wie Endothelin-1, Angiotensin-II, Insulin-like growth Factor-I (IGF-I), Transforming Growth Factor Beta (TGF-Beta) und Fibroblast Growth Factor (FGF) (Chim Lang 2004).

Variierende Hypertrophieinduktoren gehen möglicherweise mit unterschiedlicher Ausprägung und Form der LV-Hypertrophie einher und besitzen potentiell unterschiedliche funktionelle und prognostische Bedeutung für das transplantierte Herz.

Die Htx assoziierte Myokardhypertrophie könnte somit ein Modell einer lastunabhängigen Hypertrophieinduktion darstellen und von exemplarischem Wert zur Aufdeckung von hypertrophieinduzierten Mechanismen am Menschen sein.

1.3 Hypothese und Fragestellung

Die Hypothese der vorliegenden Arbeit war, dass nach Htx beim Menschen neben der lastabhängigen (also Hypertonie induzierten) insbesondere auch eine lastunabhängige Myokardhypertrophie auftritt. Als Mechanismen der lastunabhängigen Myokardhypertrophie wurden eine erhöhte Aktivität des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (Angiotensin II) sowie eine verstärkte Aktivität inflammatorischer bzw. vasoaktiver Mediatoren (IGF-1, TGF-Beta, FGF und BNP) vermutet.

Diese Arbeit sollte die Prävalenz, zeitliches Auftreten und Verlauf der linksventrikulären Hypertrophie nach Htx über einen Zeitraum des ersten Jahres und ab Beginn des zweiten Jahres stichprobenartig untersuchen und den Zusammenhang zwischen linksventrikulärer Hypertrophie nach Htx und der Aktivität vasoaktiver bzw. inflammatorischer Mediatoren charakterisieren.

2) Patienten und Methoden

Tabelle 1

	Kollektiv I	Kollektiv II
Anzahl	107	64
Monate nach Htx	1- 12 Monate	13 Monate bis 11 Jahre
Geschlecht Empfänger	m 104 w 3	m 58 w 6
Geschlecht Spender	m 99 w 8	m 44 w 20
Alter Empfänger	60 +/- 20	60 +/- 22
Alter Spender	40 +/- 20	40 +/- 24
Blutdruck (systolisch ; mmHg)	120 +/- 37	120 +/- 47

2.1 Patienten

Untersucht wurden 2 Patientenkollektive (**Patientencharakteristika siehe Tabelle 1**):

Kollektiv I: 107 Patienten innerhalb der ersten 12 Monate nach Herztransplantation.

Kollektiv II: 64 Patienten ab dem ersten Jahr nach Herztransplantation.

Die demographischen Daten der Kollektive zeigten vergleichbare Werte. Alle Patienten wurden mit einem Calcineurin-Inhibitor (69% Tacrolimus, 31% Cyclosporin), Mycophenolat Mofetil und in den ersten 6 postoperativen Monaten zusätzlich mit einem Steroid behandelt.

Alle Patienten erhielten einen HMG-CoA-reduktase Inhibitor (Statin; in der Regel Simvastatin) sowie 65% der Patienten den Calcium-Antagonisten Diltiazem.

Bei allen Patienten wurden zum Untersuchungszeitpunkt eine Herz-Ultraschalluntersuchung sowie eine periphervenöse Blutentnahme (40 ml) durchgeführt. Bei einer Untergruppe

erfolgte aus dem Kollektiv I (n=32) eine serielle Untersuchung mittels Echokardiographie über einen Zeitraum von 24 Monaten.

Zur Analyse der Relevanz von Blutdruck, Medikation (Immunsuppression, Statine) und akuter Abstossungsreaktion für die LVH wurden die 171 Patienten aus den Kollektiven I und II zu einem Gesamtkollektiv (GK) zusammengeschlossen.

Weiterhin erfolgten aus diesen Kollektiven Messungen zur systemischen Aktivität von TGF-Beta, IGF-I, FGF, BNP und Angiotensin II.

Vor der Untersuchung wurden alle Patienten aufgeklärt und gaben ihr Einverständnis. Die Studie wurde von der Ethik-Kommission der LMU-München genehmigt.

2.2 Messmethoden, Messparameter und Materialien

2.2.1 Echokardiographische Untersuchung

Alle Echokardiographien wurden von einem Untersucher (Dr. med. M. Muscholl) durchgeführt und nach „Blindung“ für die klinischen Daten von Herrn Dr. Muscholl und Herrn Vierheilig ausgewertet. Nach den Richtlinien der American Society of Echocardiography wurde ein M-mode sweep vom linken Ventrikel, linken Vorhof und der Aortenwurzel aufgezeichnet. Alle M-mode Aufzeichnungen wurden über einen M-mode Schreiber mit kontinuierlichem Papierausschrieb registriert und off line nach den Richtlinien der American Society of Echocardiography (Cheitlin 2003, Devereux 1984) und Penn Convention manuell vermessen:

Muskelmasse (Penn-Convention): $1.04 ((LVDd + sWDd + pWDd)^3 - (LVDd)^3) - 13,6g$

Die Kollektive I und II wurden dem Messwert entsprechend in ein Subkollektiv mit und ohne linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) unterteilt.

Die Definition einer LVH wurde nach der Framingham Studie definiert als ein Anstieg der linksventrikulären Muskelmasse $> 143 \text{ g/m}^2$ bei männlichen Patienten und $> 105 \text{ g/m}^2$ bei Frauen. Als zweiter Maßstab zur Definition der LVH galt eine Ratio (Masse zu Volumen) von > 0.47 bei Männern und > 0.41 bei Frauen, entsprechend der PENN Convention für Hinterwandmassen (Devereux 1977, 1984).

2.2.2 Blutentnahme (venös)

Nach Abzentrifugation und anschliessender Abpipettierung wurde das Plasma (20 ml) und das Serum (20 ml) in einem -80° Gefrierschrank bis zur Bestimmung gesammelt.

Material: 4 x 10 ml Polypropylen - Röhrchen pro Patient und diverse Pipettenspitzen, Pipetten sowie Nadeln und Adapter zur Blutentnahme.

2.3 Nachweismethoden im Labor

Zur Bestimmung von TGF-Beta, FGF, IGF-I und Angiotensin II wurden Immunassayverfahren (ELISA) verwendet. Daten für BNP, Fibrinogen und Monozyten-Gesamtzahl wurden in der Klinischen Chemie unseres Hauses erhoben. Vor Beginn der Bestimmung durch die immunoenzymometrischen Assays Aliquotierung der bei -80° gelagerten Serum- und Plasmaproben in 1,5 ml Polypropylengefässen à 500 µl.

2.3.1 Messung von Transforming Growth Factor-Beta (TGF-Beta)

Die Bestimmung von TGF-Beta erfolgte mit Quantikine^R Human TGF-β1 Immunoassay (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN 55413, United States of America).

Material:

TGF – β1 Microplate (Part 8902050) – 96 well polystyrene microplate (96 Reihen mit 8 Fächern) beschichtet mit recombinantem human TGF- β sRII.

TGF – β1 Conjugate (Part 890206) – 21 ml polykonale Antikörper gegen TGF – β1

konjugiert mit Peroxidase und Konservierungsmittel.

TGF – β1 Standard (Part 890207) – 3 Gefäße mit recombinantem human TGF – β1 in einer gepufferten Protein-Basis mit Konservierungsmittel, lyophilisiert.

Calibrator Diluent RD51 (Part 895134) – 2 Gefäße (21 ml/pro Gefäß) mit gepufferter Protein-Basis mit Konservierungsstoffen.

Calibrator Diluent RD6M (Part 895106) – 2 Gefäße (21 ml/ pro Gefäß) mit Tier-Serum und Konservierungsmittel.

Wash Buffer Concentrate (Part 895003) – 21 ml mit einer 25-fach konzentrierten Lösung mit gepuffertem Surfactant und Konservierungsmittel.

Color Reagent A (Part 895000) – 12,5 ml mit stabilisiertem Hydrogen Peroxid.

Color Reagent B (Part 895001) – 12,5 ml mit stabilisiertem Chromogen
(Tetramethylbenzidine)

Stop Solution (Part 895032) – 6 ml mit 2 N Sulfatsäure.

Plate Covers (Abdeckfolien) – 4 Klebefolien

Weitere Reagenzien:

1. Glacial Acetic Acid (A.C.S. Grade, 17.4 N)
2. HEPES, free acid (Reagent Grade, M.W. 238.8)
3. Hydrochloric acid (A.C.S. Grade 12 N)
4. Sodium hydroxide (A.C.S. Grade, 10 N)
5. Urea (Reagent Grade, M.W. 60.06)

Weitere Hilfsmittel und Materialien:

6. Spectrophotometer
7. Pipetten und Pipettenspitzen
8. Deionisiertes Wasser
9. Mehrfachpipetten
10. 12 mm * 75 mm Polypropylen Röhrchen

Vorbereitungen und Aktivierung der Reagenzien:

- A) 1N HCL (100 ml) - Zu 91,67 ml deionisiertem Wasser langsames Zugeben von 8,33 ml 12 N HCL. Gut mischen.
- B) 1,2 N NaOH/0,5 M HEPES (100ml) – Zu 75 ml deionisiertem Wasser langsames Zugeben von 12 ml 10 N NaOH. Gut mischen. 11,9 g HEPES dazugeben. Wieder gut mischen. Bis auf 100 ml mit deionisiertem Wasser auffüllen.
- C) 2,5 N Acetic Acid/10 M Urea (250 ml) – Zu 100 ml deionisiertem Wasser Zugabe von 150,2 g Urea. Gut mischen. Langsam 35,9 ml Glacial Acetic Acid zuführen. Gut mischen. Auf 250 ml mit deionisiertem Wasser auffüllen.
- D) 2,7 N Na OH/1 M HEPES (250 ml) – Zu 140 ml deionisiertem Wasser 67,5 ml 10 N Na OH zugeben. Gut mischen. Zugabe von 59,5 g HEPES. Gut mischen. Bis auf 250 ml mit deionisiertem Wasser auffüllen.

Aktivierung des Serums:

1. Mischen von 0,1 ml Serum mit 0,1 ml 2,5 N Acetic Acid/!0 M Urea
2. Mischen durch Vortex.
3. Inkubation für 10 Minuten bei Raumtemperatur.
4. Zur Neutralisierung Zugabe von 0,1 ml 2,7 N NaOH/1M HEPES.

5. Mischen

6. 10-fach Verdünnung mit Calibrator Diluent RD6M

Vorbereitungen:

1. Erstellen des „Wash Buffers“ durch Zugabe von 20 ml Wash Buffer Concentrate zu 480 ml deionisiertem Wasser.

2. Erstellen der „Substrate Solution“- Color Reagents A und B werden in gleichen Volumina, geschützt vor Licht, zusammengegeben. Es entsteht eine Lösung mit 2000pg/ml.

3. Erstellen des TGF – β1 Standard:

Mischen des TGF – β1 Standard mit RD6M Calibrator Diluent.

In 7 Polypropylen Gefäße werden jeweils 500 µl des Calibrator Diluent pipettiert.

- Mischen

- Nun wird eine Verdünnungsreihe erstellt in dem 500 µl aus dem 2000 pg/ml enthaltenden Gefäß in das nächste Gefäß gegeben wird, dieser Vorgang wird wiederholt bis im letzten Röhrchen ein Gehalt von 31,2 pg/ml erreicht wird.

Durchführung des Versuchs:

1. 200 µl der Standardreihe wurden in die vorgesehenen Fächer pipettiert. Ebenfalls 200 µl werden in die verbleibenden Fächer pipettiert.

2. 3- mal Waschen mit 400 µl Wash Buffer.

3. In jedes der 96 Fächer Gabe von 200 µl TGF – β1 Conjugate.

4. Inkubieren über 1,5 Stunden bei Raumtemperatur.

5. 3-mal waschen mit 400 µl Wash Buffer.
6. Zugabe von 200 µl TGF – β1 Substrate Solution in jedes Fach.
7. 20 Minuten lichtgeschützt Inkubieren.
8. Zugabe von 50 µl Stop Solution in jedes Fach.
9. Lesen im Spectrophotometer bei 450 nm.

2.3.2 Messung von Insulin-like Growth Factor-I (IGF – I)

Die Bestimmung von IGF-I erfolgte mit dem Quantikine^R Human IGF-I Immunoassay, Catalogue Number DG 100, R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN 55413, United States of America.

Reagenzien:

IGF-I Microplate (Part 890773) – 96 well polystyrene microplate (12 strips of 8 wells) beschichtet mit monoklonalen Mäuse-Antikörpern gegen IGF-I.

IGF-I Conjugate (Part 890774) – 21 ml mit polyklonalen Antikörpern gegen IGF-I conjugiert mit Peroxidas und Konservierungsmittel.

IGF-I Standard (Part 890775) – 60 ng rekombiniertes human IGF-I in einem Puffer mit Konservierungslösung, lyophilisiert.

Assay Diluent RD1-53 (Part 895318) – 21 ml Puffer mit Konservierungsmittel.

Calibrator Diluent RD5-22 (Part 895317) – 11 ml Puffer mit blauem Färbungsmittel und Konservierungsstoffen.

Pretreatment A (Part 895319) – 21 ml azide Lösung.

Pretreatment B (Part 895320) – Protein-Pufferlösung mit blauem Farbstoff und Konservierungsmittel.

Wash Buffer Concentrat (Part 895003) – 21 ml einer 25-fach konzentrierten Lösung mit gepuffertem Surfactant und Konservierungsmittel.

Color Reagent A (Part 895000) – 12,5 ml stabilisiertes Hydrogen Peroxide.

Color Reagent B (Part 895001) – 12,5 ml stabilisiertes Chromogen
(Tertamethylbenzidin).

Stop Solution (Part 895032) – 6 ml of 2 N Sulfat Säure.

Plate Covers – 4 Klebestreifen.

Weitere Hilfsmittel:

- Spectrophotometer
- Pipetten und Pipettenspitzen
- Deionisiertes Wasser
- Mehrkanalpipette
- 500 ml Zylinder
- Kühlschrank 2 – 8 °
- 12 mm x 75 mm polypropylene Behältnisse

Reagenzien Vorbereitung:

- **Wash Buffer:** Lösen von 20 ml Wash Buffer Concentrate in 480 ml deionisiertem Wasser.

- **Substrate Solution:** Mischen von Color Reagent A und B in gleichen Volumina.

- Schutz vor Licht.

- **Pretreatment B:** Mischen des Gefässinhals mit 10 ml deionisiertem Wasser.

IGF-I Standard: Mischen des Gefässinhals mit 1 ml deionisiertem Wasser. Ergebnis ist eine Lösung von 60 ng/ml.

Anschliessend erfolgte das **Erstellen einer Verdünnungsreihe** des Standards durch Pipettieren von 360 µl.

Calibrator Diluent RD5-22 in ein 1,5 ml Gefäß und 200 µl in die anderen 6 Gefässe.

Nun wurden jeweils 200 µl in das nächste Gefäß pipettiert, um eine Verdünnung zu erzielen. Das erste Gefäß enthält 60 ng/µl, das zweite 6 ng/ml, das dritte 3 ng/ml, das vierte 1,5 ng/ml, das fünfte 0,75 ng/ml, das sechste 0,375 ng/ml, das siebte 0,188 ng/ml und das letzte 0,094 ng/ml.

Versuchsablauf:

1. Füllen aller Depots mit 150 µl Assay Diluent RD1-53
2. Zugeben von 50 µl Standard und Serum in die vorgesehenen Depots. 2 Stunden Inkubation bei 2- 8° und Abdeckung durch Klebefolie.
3. Waschen aller Depots mit 400 µl Wash Buffer. 4-mal.
4. Zugabe von 200 µl kaltem IGF-I Conjugate. Inkubieren für 1 Stunde bei 2 – 8° C. Bedecken mit Klebefolie.
5. Viermal Waschen mit 400 µl Wash Buffer.
6. Zugabe von 200 µl Substrate Solution in jedes Depot. Inkubation für 30 Minuten bei Raumtemperatur und Schutz vor Licht.
7. Zugabe von 50 µl Stop Solution in jedes Depot.
8. Lesen der Platte im Spectrophotometer mit 450 nm.

2.3.3 Messung von Fibroblast Growth Factor (FGF)

Die Bestimmung von FGF erfolgte mit Quantikine^R HS High Sensitivity, (Catalogue Number HSFB75) Hersteller: R&D Systems, Inc. Minneapolis, MN 55413, United States of America

Reagenzien:

FGF basic Microplate (Part 890748) – 96 Fächer Polystyrene Microplate (12 Reihen mit 8 Fächern) beschichtet mit monoklonalem Mäuse-Antikörper gegen FGF basic.

FGF basic Conjugate (Part 890745) – 21 ml monoklonale Mäuse-Antikörper gegen FGF basic, conjugiert zu alkaliner Phosphatase, mit Konservierungsmittel.

FGF basic Standard (Part 890750) – 3 Gefässe (64 pg/Gefäß) mit rekombinantem human FGF basic in einer gepufferten Protein-Basis mit Konservierungsmittel, lyophilisiert.

Assay Diluent HD1-46 (Part 895523) – 11 ml einer gepufferten Protein-Basis mit Konservierungsmittel.

Calibrator Diluent RD5-14 (Part 895300) – 21 ml einer gepufferten Protein-Basis mit Konservierungsmittel.

Calibrator Diluent RD6X (Part 895152) – 21 ml Tierserum mit Konservierungsmittel

Wash Buffer Concentrate (Part 895188) – 100 ml 10-fach konzentrierte Lösung gepufferten Surfactant mit Konservierungsmittel.

Substrate (Part 895077) – Lypholisiertes NADPH mit Stabilisatoren.

Substrate Diluent (Part 895078) – 7 ml einer gepufferten Lösung mit Stabilisatoren.

Amplifier (Part 895075) – Lypholisierte Amplifier Enzyme mit Stabilisatoren.

Amplifier Diluent (Part 895076) – 7ml einer gepufferten Lösung die INT-violet mit Stabilisatoren enthält.

Stop Solution (Part 895032) – 6ml einer 2N Sulfat Säure.

Plate Covers – 8 Klebestreifen.

Andere benötigte Hilfsmittel:

- Spectrophotometer mit einer Absorptionsmöglichkeit von 490 nm
- Pipetten und Pipettenspitzen
- Deionisiertes Wasser
- Mehrkanalpipette

- 1000 ml Zylinder

Vorbereitung der Reagenzien:

Wash Buffer: Bei Raumtemperatur wurden 100 ml konzentrierter Wash Buffer vermischt mit 900 ml deionisiertem Wasser, so dass ein Endvolumen von 1000 ml entstand.

Substrate Solution: Das lyophilisierte Substrat wurde in 6 ml Substrat Diluent 10 Minuten vor der Anwendung gelöst. Anschliessend wurde gut gemischt.

Amplifier Solution: Lösung des lyophilisierten Amplifiers in 6 ml Amplifier Diluent 10 Minuten vor Anwendung. Anschliessend wurde gut gemischt.

FGF Basic Standard: Herstellen des FGF Basic Standard mit 1 ml Calibrator Diluent RD6X. Hieraus entstand ein Vorrat von 64 pg/ml. Unter leichter Bewegung wurde die Flüssigkeit 15 Minuten stehen gelassen. Nun wurde jeweils 500 µl des Calibrator Diluent in 6 Polypropylene- Röhrchen gegeben und so eine Verdünnungsreihe erstellt. 64 pg/ml sind der hohe Standard und das Calibrator Diluent als 0 pg/ml.

Durchführung des Versuchs:

1. Pipettieren von 100 µl Assay Diluent HD1-46 in jedes Depot.
2. Zuführen von 150 µl Standard und der Serumproben in die vorgesehenen Depots.
Bedecken der gesamten Platte mit der Klebefolie und anschliessend Inkubieren bei Raumtemperatur für 3 Stunden.
3. 6-mal Waschen aller Depots mit jeweils 400 µl Wash Buffer
4. Zuführen von 200 µl Conjugate in jedes Depot. Inkubieren für 2 Stunden.

5. 6-mal Waschen aller Depots mit 400 µl Wash Buffer.
6. Hinzugabe von 50 µl Substrate Solution in jedes Fach, danach 45 Minuten Inkubieren.
7. Gabe von 50 µl Amplifiere Solution in jedes Fach.
8. Inkubation für 45 Minuten.
9. 50 µl Stop Solution werden nun in jedes Depot gegeben.
10. Abschliessend Lesen der Platte bei 490 nm im Spectrophotometer.

2.3.4 Bestimmung von Angiotensin II:

Die Bestimmung von Angiotensin II erfolgte mit *Spibio Angiotensin II Enzyme Immunoassay Kit* – A05880 – 96 Wells; Catalogue Number: CM52251.

Hersteller: Spibio, 2, rue du Buisson aux Fraises, Z.I. de la Bonde F-91741 – Massy Cedex France.

Reagenzien und Gegenstände :

- Platte mit 96 Depots, vorbeschichtet mit Maus-Angiotensin II IgG
- 1 Gefäss mit Maus-Anti-Angiotensin II IgG Tracer, lypholisiert
- 2 Gefässe Angiotensin II Standard, lypholisiert
- 1 Gefäss Glutaraldehyde, 25% wässrige Lösung
- 2 Gefässe Boran-Trimethylamine
- 2 Gefässe Quality Control Sample, lypholisiert
- 2 Gefässe Ellman´s Reagent, lypholisiert
- 1 Gefäss EIA Puffer, lypholisiert
- 1 Gefäss konzentrierter Wash Buffer, lypholisiert
- 1 Gefäss tween 20
- Klebefolien

Weiteres Material und Zubehör:

- Phenyl-Kartuschen
- Methanol
- HCL
- Deionisiertes Wasser
- Mikropipetten
- Spectrophotometer
- Polypropylen Behältnisse

Vorbehandlung der Plasmaproben:

- a) Waschen der Kartuschen mit 1 ml Methanol und dann mit 1 ml deionisiertem Wasser.
- b) 2 ml Plasma werden nun durch die Kartusche laufen gelassen.
- c) Anschliessend Spülen mit 1 ml deionisiertem Wasser.
- d) Spülen der Kartusche mit 0,5 ml Methanol und Sammeln in einem Polypropylen Gefäß (1,5 ml).
- e) Vakuum Zentrifugation. Resultat ist durch Evaporation ein Trockenpräparat.
- f) Zuführen von 0,5 ml EIA Puffer, Mischen und dann Zentrifugieren bei 3000g für 10 Minuten bei 4° C.

Reagenzien Vorbereitung:

EIA Buffer: Auffüllen des EIA Gefäßes mit 50 ml deionisiertem Wasser. Danach 5 Minuten ruhen lassen.

Erstellung von Angiotensin II Standard:

Vermischen des Standards mit 1 ml deionisiertem Wasser in einem Polypropylen Gefäß. 5 Minuten ruhen lassen.

Dieses Gefäß hat eine Konzentration von 125 pg/ml. Weitere 7 Gefäße werden aufgestellt und mit 500 µl EIA Buffer gefüllt. Jetzt wurden 500 µl aus dem ersten, 125 pg/ml enthaltenden Gefäß in das zweite Gefäß pipettiert und so weiter, so dass eine Verdünnungsreihe entstand. Die Konzentrationen waren nun wie folgt: 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,25 pg/ml, 15,63 pg/ml, 7,81 pg/ml, 3,91 pg/ml, 1,95 pg/ml und 0,98 pg/ml.

Quality Control:

Auffüllen des Gefäßes mit 1 ml deionisiertem Wasser. 5 Minuten stehen lassen, dann gut mischen.

Anti-Angiotensin II IgG tracer:

Auffüllen des Gefäßes mit 10 ml EIA Buffer. 5 Minuten stehen lassen.

Glutaraldehyde:

Zunächst Erstellen einer Puffer-Lösung mit 5 ml deionisiertem Wasser und 0,125 ml konzentriertem Wash Buffer. Kurz vor der Utilisation Zugabe von 100 µl Glutaraldehyde. Gut mischen.

Boran Trimethylamin:

Kurz vor dem Einsatz mischen mit 5 ml 5N HCL/Methanol (dieses wurde vorher aus 50 ml 2N HCL und 50 ml Methanol erstellt). Gut mischen.

Ellman's Reagenz:

Auffüllen des Ellman's reagent Gefäßes mit 1 ml konzentriertem Wash Buffer und 49 ml deionisiertem Wasser. Gut mischen.

Wash Buffer:

2 ml konzentrierter Wash Buffer vermischen mit 800 ml deionisiertem Wasser. Anschliessend Zugabe von 400 µl tween 20. Langsames Mischen.

Durchführung des Versuchs:

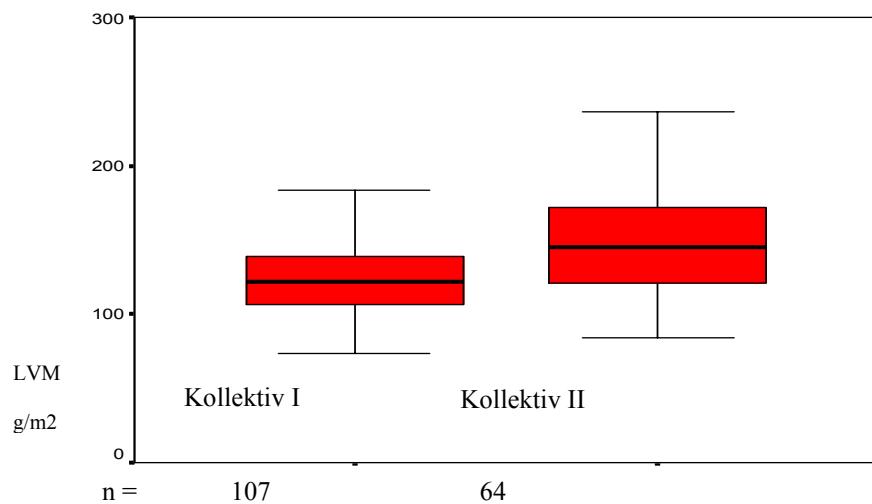
1. Mit 300 µl Wash buffer fünfmaliges Waschen der gesamten Mikroplatte.
2. Zugabe von 100 µl Standard, 100 µl der vorbehandelten EDTA Probe und 100 µl EIA Buffer in die jeweils entsprechenden Depots.
3. 1 Stunde Inkubation bei Raumtemperatur.
4. Zugabe von 50 µl des vorbereiteten Glutaraldehyds.
5. 5 Minuten Inkubation.
6. Zugabe von 50 µl des vorbereiteten Boran-Trimethylamins.
7. Fünfmaliges Waschen der Depots mit 300µl Wash Buffer.
8. Hinzugabe von 100 µl Anti-Angiotensin II IgG Tracer.
9. Inkubieren über Nacht bei 4° Celsius.
10. Fünfmaliges Waschen mit 300 µl Wash Buffer.
11. Füllen der Depots mit 300 µl Wash Buffer.
12. 10 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur.
13. Erneut fünfmaliges Waschen der Depots mit 300 µl Wash Buffer.
14. Zugabe von 200 µl Ellman´s Reagent.
15. Lesen der Mikroplatte im Photospectrometer bei 40

3) Ergebnisse :

3.1 Linksventrikuläre Massen (LVM) für die Kollektive I und II im Gesamtvergleich

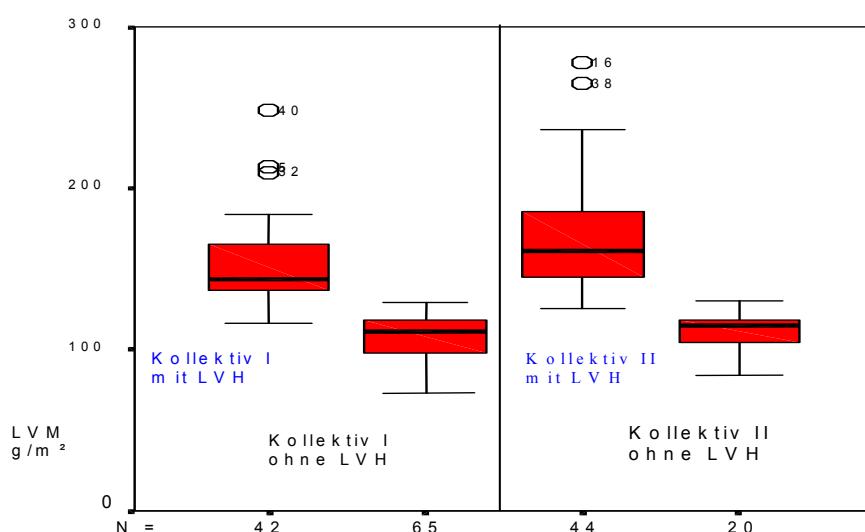
(Kollektiv 1 versus Kollektiv 2; $p < 0,01$):

Graphik 1



3.2 Linksventrikuläre Massen (LVM) mit und ohne linksventrikuläre Hypertrophie

(LVH) für die Kollektive I + II in g/m².



Graphik 2

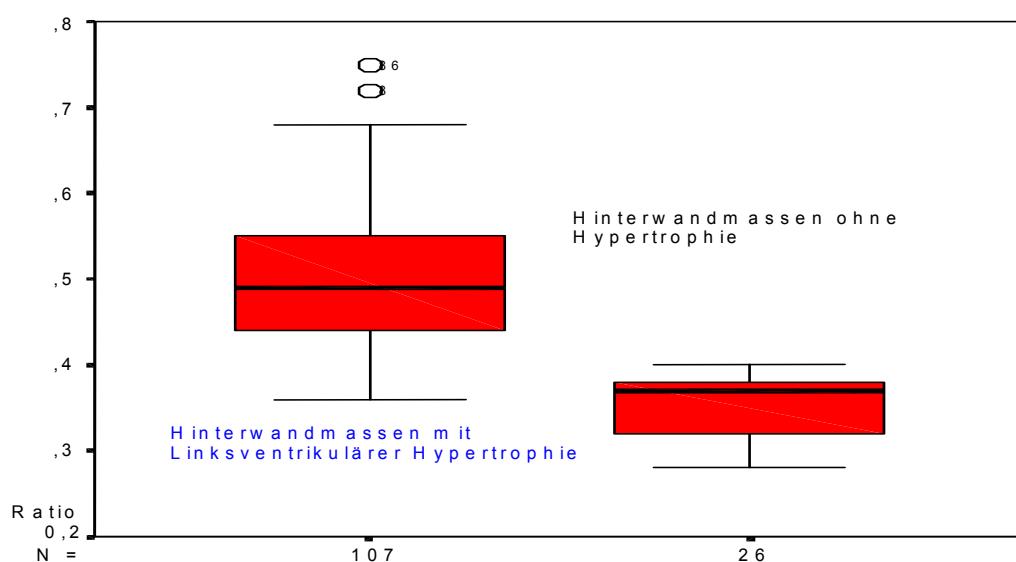
Nach der Framingham Studie ist eine LVH definiert als ein Anstieg der linksventrikulären Muskelmasse > 143 g/m² bei männlichen Patienten und > 105 g/m² bei Frauen (Levy 1990). Entsprechend diesen Kriterien wurden die Gruppen I und II in Kollektive mit und ohne Hypertrophie unterteilt.

Die durchschnittliche linksventrikuläre Masse für das Kollektiv I lag bei 125,6 g/m² und für das Kollektiv II bei 152,3 g/m². Somit zeigt sich im Zeitverlauf eine Zunahme der linksventrikulären Masse nach Htx ($p < 0,01$ Kollektiv I versus II). Graphik 2 verdeutlicht, dass 39% der Patienten im ersten Jahr nach Htx eine LVH entwickeln (im Durchschnitt 159 g/m²), während ≥ 2 Jahre nach Htx bereits 69% eine LVH aufweisen (im Durchschnitt 179 g/m²). Die durchschnittliche Masse der Patienten, die keine Hypertrophie nach Htx aufweisen, ist im ersten Jahr nach Htx und im weiteren Verlauf nahezu identisch (115g/m²).

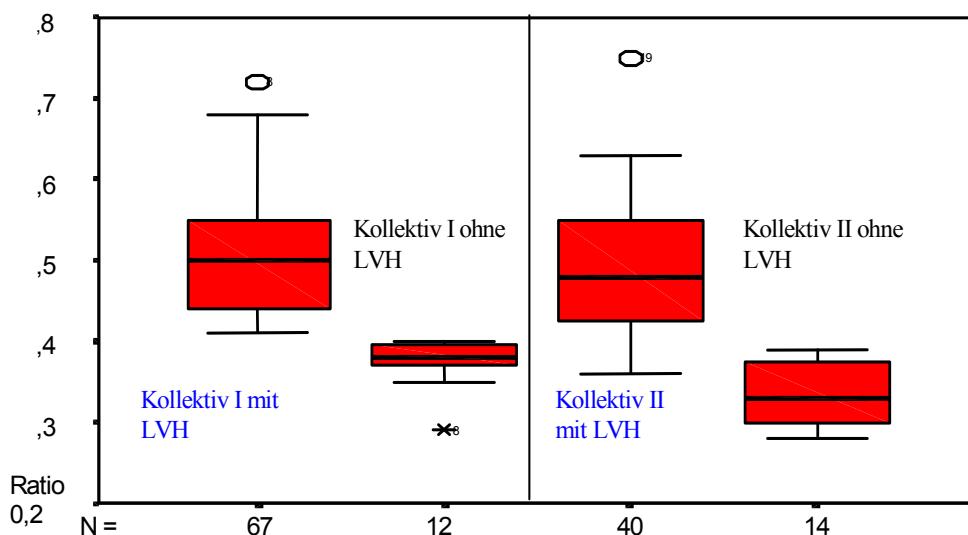
3.3 Hinterwandmassen im Gesamtvergleich

Als Maßstab galten hierbei die Richtlinien der PENN-Konvention (siehe Berechnungen unter Methoden).

Graphik 3



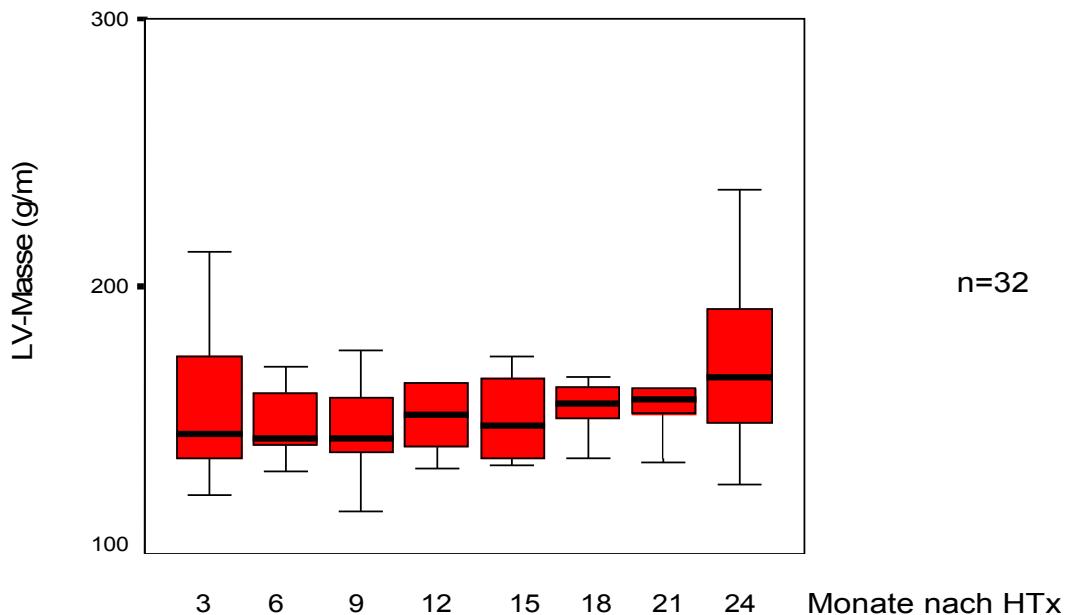
3.4 Hinterwandmassen mit und ohne Hypertrophie für die Kollektive I und II



Graphik 4

In der oben gezeigten Grafik sind die Hinterwandmassen für die Kollektive I und II unserer Studie dargestellt. Es ist sichtbar, dass die Mehrzahl unserer Patienten eine Hypertrophie der Hinterwand entwickelt. Dies gilt sowohl für das erste Jahr post-Htx (Prävalenz 85%; Ratior-Mittelwert 0,52) als auch für das zweite und folgende Jahre (Prävalenz 74%; Ratior-Mittelwert 0,49). Die Ratio der linksventrikulären Hinterwandmassen bei den nicht hypertrophierten Herzen lag im Schnitt bei 0,38 für das erste Jahr post-Htx und bei 0,35 ab dem zweiten Jahr nach Herztransplantation. Es ergab sich kein Hinweis für eine Zunahme der Hinterwandmasse im Zeitvergleich, bei jedoch bereits initial hoher Prävalenz für eine Hinterwandhypertrophie.

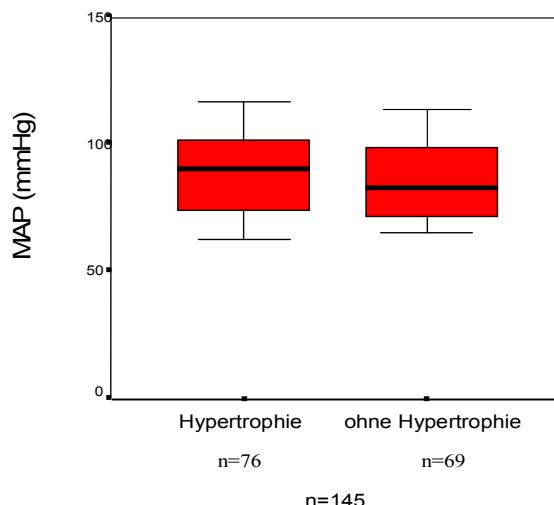
3.5 Zeitabhängige Veränderung der LV-Masse nach Htx (seriell)



Graphik 5

In seriellen Untersuchungen wurden bei 32 konsekutiven Patienten regelmäßige Ultraschalluntersuchungen im 24-Monatsverlauf durchgeführt. Es zeigt sich eine zeitabhängige Zunahme der linksventrikulären Masse nach Herztransplantation, insbesondere ab dem 12 Monat nach Htx (LVM 12, 18, 21 und 24 Monate $p < 0,05$ versus 3,6,9 Monate nach Htx).

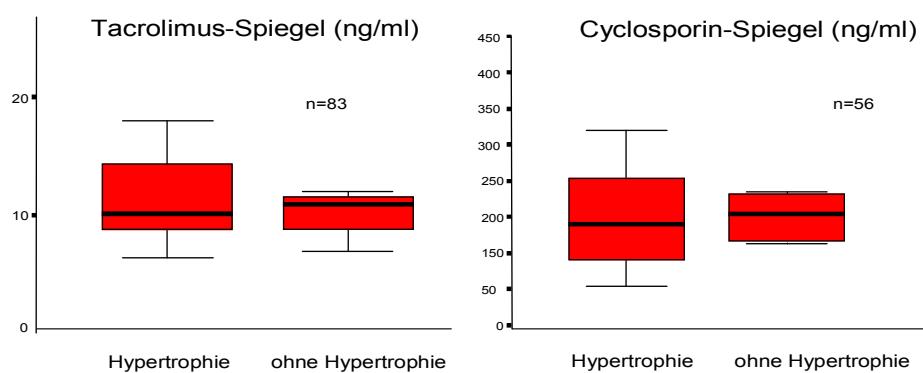
3.6 Mittlerer arterieller Druck und LVH (Gesamtkollektiv)



Graphik 6

Es ergab sich kein signifikanter Unterschied bezüglich des mittleren arteriellen Blutdrucks von Patienten mit und ohne LVH.

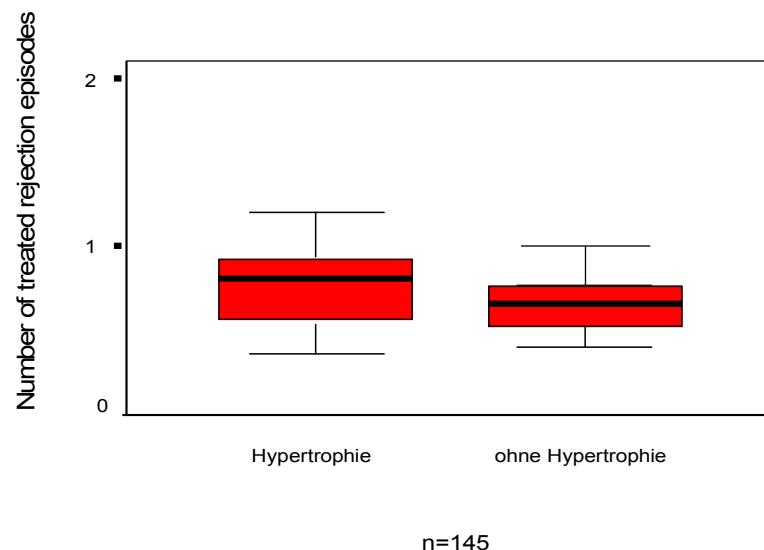
3.7 Tacrolimus- + Cyclosporin- Spiegel und LVH (Gesamtkollektiv)



Graphik 7

Die durchschnittlichen, im peripheren Blut bestimmten, Tacrolimus Konzentrationen lagen bei Patienten mit LVH bei 11 ng/ml und bei Patienten ohne LVH bei 13 ng/ml ($p=ns$). Ebenso waren die Cyclosporin Konzentrationen bei Patienten mit LVH (190 ng/ml) und ohne LVH (210 ng/ml) vergleichbar.

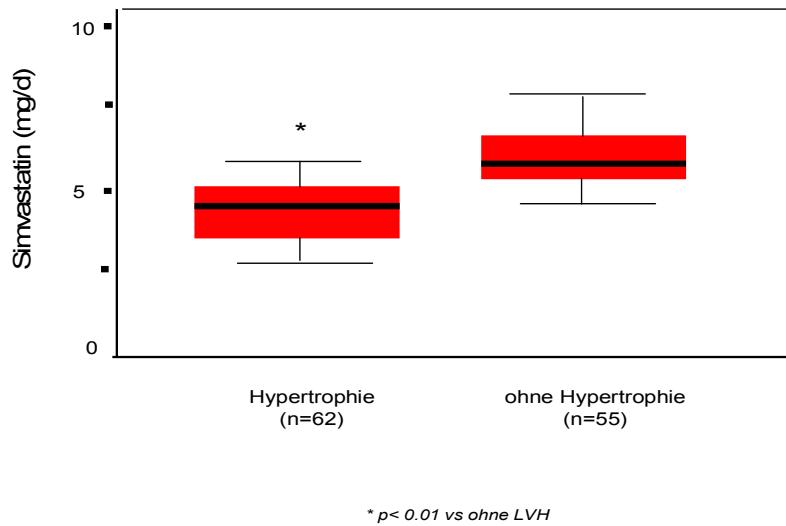
3.8 Akute Abstoßungen im ersten Jahr nach Htx versus LVH



Graphik 8

Es traten bei hypertrophierten Herzen nach Htx im Schnitt 0,8 akute (behandelte) Abstoßungen (\geq ISHLT 1b) auf, während vergleichbar bei nicht-hypertrophierten Herzen 0,6 akute Abstoßungen aufraten ($p=ns$).

3.9 LVH und Statindosierung



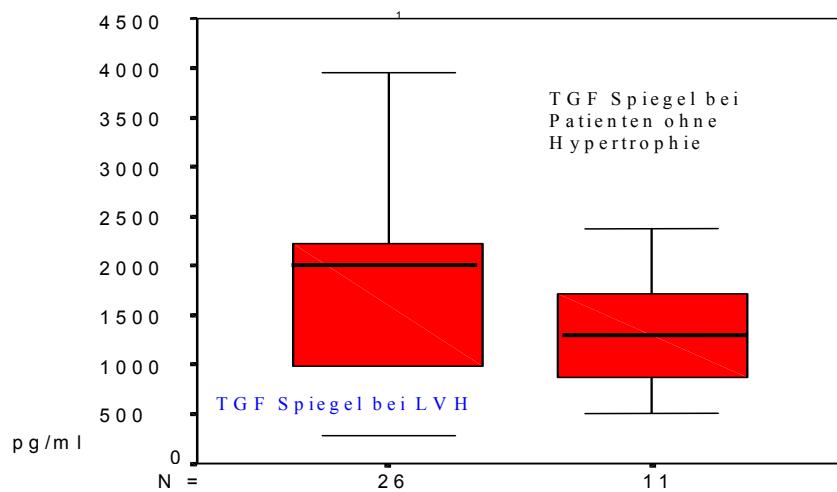
Graphik 9

Nachdem kürzlich erstmals der Einfluß von HMG-CoA-reduktase-Inhibitoren auf die Regression einer LVH gezeigt werden konnte (Senthil V, Circ Res 2005) verglichen wir die applizierten Mengen des standardmäßig eingesetzten Statins Simvastatin. Patienten mit Entwicklung einer LVH hatten im Durchschnitt weniger Statine (Simvastatin 4 ± 2 mg/d) eingenommen als Patienten ohne LVH (7 ± 3 mg/d; $p<0,01$), während die LDL-Werte bei beiden Gruppen vergleichbar waren (147 ± 22 mg/dl mit LVH versus 133 ± 30 ohne LVH; $p=\text{ns}$).

4) Korrelation der LVH mit Wachstumsfaktoren und vasoaktiven Mediatoren

4.1 Transforming Growth Factor Beta (TGF-Beta) Gesamtspiegel im Vergleich

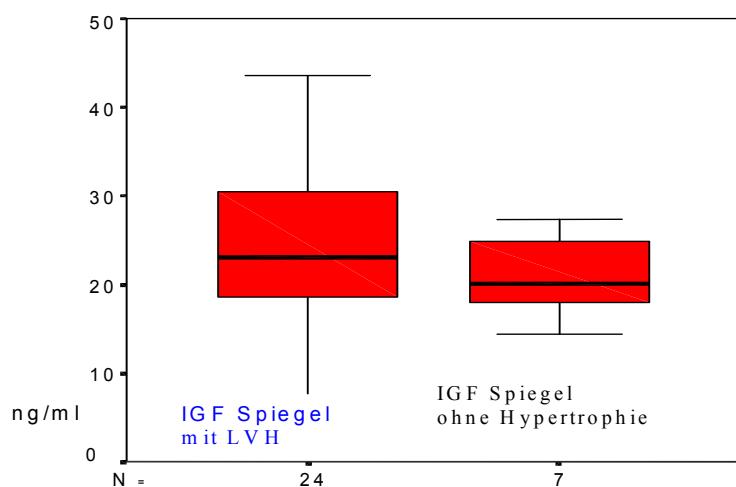
Es zeigt sich, dass insgesamt der Mittelwert für TGF bei allen transplantierten Patienten mit einer vorliegenden linksventrikulären Hypertrophie (LVH) (1707,6 pg/ml) deutlich über dem Mittelwert aller transplantierten Patienten ohne Hypertrophie (1350,1 pg/ml) angesiedelt ist.



Graphik 10

Aufgrund der hohen Standardabweichung ergibt sich jedoch keine Signifikanz. Vergleicht man die TGF-Beta-Spiegel zeitabhängig, zeigt sich dass der TGF-Mittelwert für die innerhalb des ersten Jahres aufgenommenen transplantierten LVH-Patienten (n=18) mit 1896 pg/ml deutlich über dem TGF-Mittelwert für Patienten ohne LVH (n=7; 1238,6 pg/ml; p<0,05) liegt. Ab dem zweiten Jahr nach Herztransplantation sind die TGF-Spiegel bei Patienten mit LVH (1569,5 pg/ml) vergleichbar derer ohne nachweisbare LVH (1413,8 pg/ml).

4.2 IGF Gesamtspiegel im Vergleich:



Graphik 11

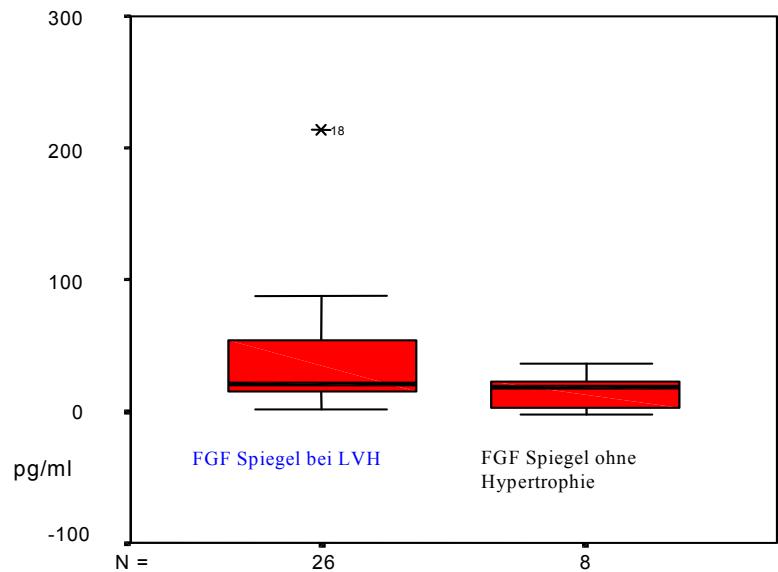
Die Gesamtübersicht zeigt, dass der IGF-Spiegel bei Patienten mit LVH mit 24 ng/ml tendenziell höher ist als der von Patienten ohne Hypertrophie (21 ng/ml; p=ns).

Bei den transplantierten Patienten, die innerhalb des ersten Jahres in die Studie aufgenommen wurden (Kollektiv I), ergab sich für die hypertrophierten Herzen ein Wert von 29 ng/ml und bei den nicht hypertrophierten Herzen ein Mittelwert für IGF von 23 ng/ml ($p < 0,05$).

Demgegenüber haben Patienten mit LVH ab dem zweiten Jahr nach Herztransplantation (Kollektiv II) vergleichbare Werte zu Patienten ohne LVH ab dem zweiten Jahr (19 versus 16 ng/ml; $p = \text{ns}$).

4.3 Gesamtvergleich FGF mit und ohne Hypertrophie:

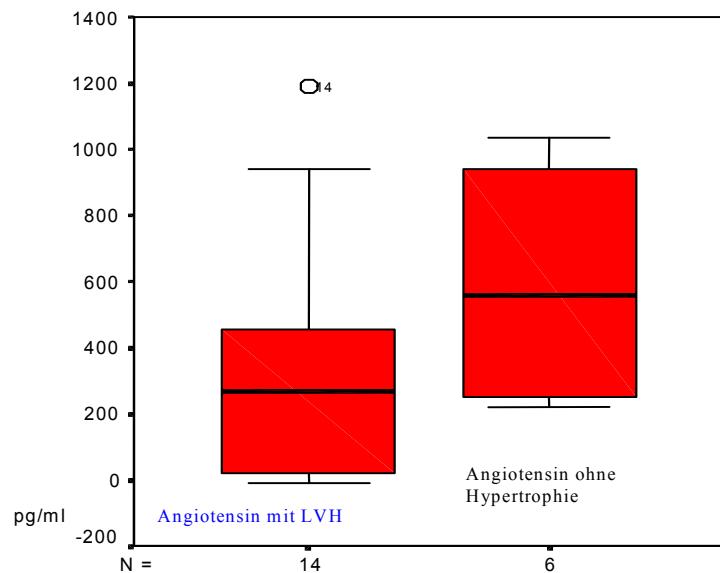
Graphik 12



Im Vergleich der Gesamtmengen des Fibroblast Growth Factor zeigen sich bei Patienten mit LVH tendenziell höhere Werte (39 pg/ml) als bei Patienten ohne LVH (15 pg/ml), allerdings kann bei großer Standardabweichung keine Signifikanz erreicht werden ($p = 0,178$).
Gleiches gilt für Subgruppenanalysen nach einem und mehreren Jahren nach Htx.

4.4 Gesamtspiegel Angiotensin II im Vergleich mit ohne Hypertrophie:

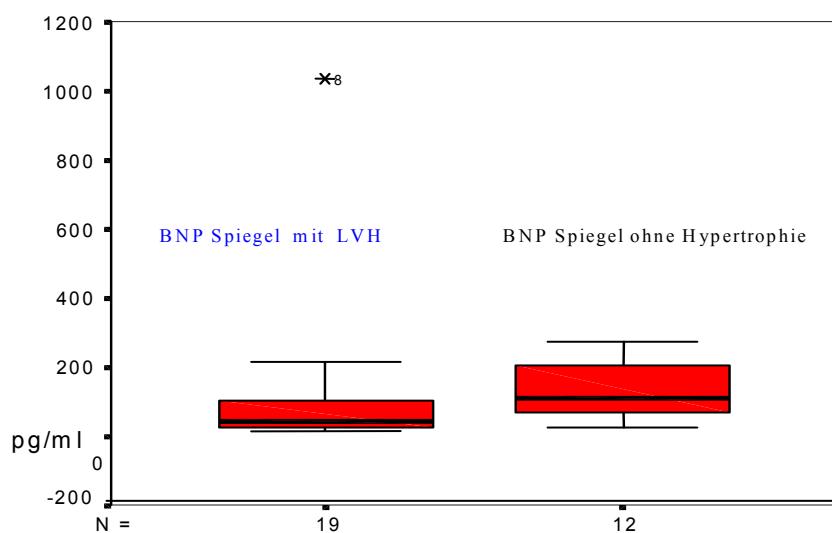
Graphik 13



Bei Vergleich der Angiotensin-II Spiegel unserer Patienten zeigt sich im Gesamtvergleich ein höherer Angiotensin-Wert bei Patienten ohne nachgewiesene Hypertrophie (593 pg/ml) verglichen mit Patienten ohne LVH (343pg/ml). Es ergab sich bei großer Varianz und relativ kleiner Fallzahl keine statistische Signifikanz.

4.5 BNP Gesamtvergleich mit und ohne Hypertrophie:

Graphik 14

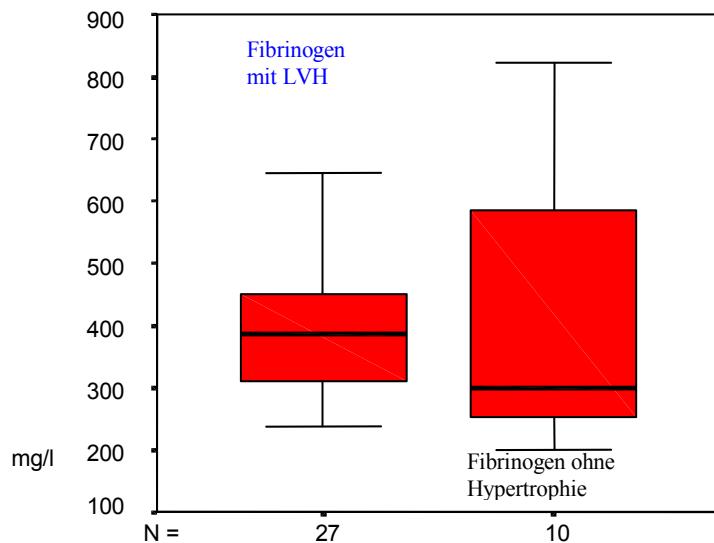


Die BNP-Werte als Ausdruck einer myokardialen Dysfunktion sind bei Patienten mit und ohne LVH vergleichbar (130 pg/ml ohne LVH versus 114 pg/ml mit LVH; p=ns).

Im zweiten Jahr nach Transplantation ist der Wert bei nicht-hypertrophierten Herzen mit 110,12 pg/ml tendenziell über dem der hypertrophierten Herzen (42,03 pg/l; p = ns).

4.6 Gesamtvergleich Fibrinogen mit und ohne Hypertrophie

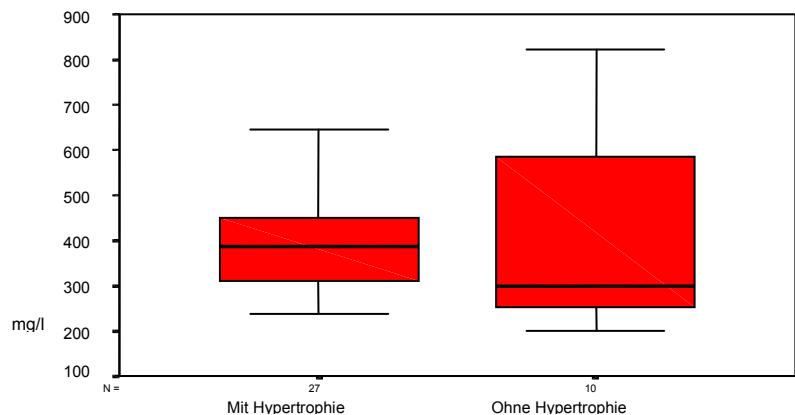
Graphik 15



Bei den gemessenen Fibrinogenwerten, als unspezifischer Inflammationsmarker, zeigt sich im Gesamtvergleich ein vergleichbarer Mittelwert zwischen Patienten mit LVH (428 mg/l) und ohne LVH (412 mg/l). Auch die Subgruppenanalyse aufgeteilt nach Zeitpunkt ergab keine Unterschiede innerhalb der Fibrinogenwerte zwischen Patienten mit und ohne LVH.

4.7 Gesamtvergleich Monozyten mit und ohne Hypertrophie

Graphik 16



Der Gesamtvergleich der Monozytenzahlen, als weiterer unspezifischer Inflammationsmarker, zeigte keinen signifikant unterschiedlichen Wert zwischen Patienten ohne LVH (10 mg/l) und Patienten mit LVH (8 mg/l).

5) Diskussion:

Nach Htx lässt sich nahezu regelhaft echokardiographisch, magnetresonanztomographisch und histologisch eine Transplantathypertrophie nachweisen (Borow 1985, Globits 1997, Ima 1987, Rowan 1990, v. Scheidt 1991).

In unserer Studie zeigte sich, dass mehr als die Hälfte unserer Patienten eine Hypertrophie nach Htx aufweisen. Während die Gesamt-LVM im Zeitverlauf signifikant zunimmt, bleibt die Hinterwanddicke relativ konstant, was auf eine septumbetonte Hypertrophieinduktion schließen lässt. Zum Teil lässt sich dies damit erklären, dass die Hinterwandmasse bereits im ersten Jahr nach Htx bei der Mehrzahl der Patienten deutlich erhöht ist.

Unsere Studie ergab keine Assoziation zwischen LVH und arteriellem Blutdruck, was auf lastunabhängige Mechanismen zur Hypertrophieinduktion schließen lässt. Auch zeigte sich keine Assoziation zu behandelten Abstoßungsepisoden oder der verwendeten Immunsuppression bzw. den erreichten, zirkulierenden Spiegeln der Immunsuppressiva.

Die vorliegende Studie zeigt weiterhin, dass Patienten mit einer Hypertrophie nach Herztransplantation, insbesondere in der Frühphase nach Htx (< 1 Jahr), leicht erhöhte Serumwerte von TGF-β und IGF aufweisen. Im Gegensatz dazu zeigte sich für FGF, Angiotensin II, BNP und die Inflammationsmarker Fibrinogen und Monozytenzahl vergleichbare Werte zwischen Patienten mit nicht-hypertrophierten und hypertrophierten Herzen.

Überraschenderweise zeigte sich eine inverse Korrelation zwischen Statineinnahme und LVH. Patienten, die eine LVH entwickelten, hatten im Vorfeld signifikant niedrigere Dosierungen an Simvastatin eingenommen. Demgegenüber waren die LDL-Werte bei Patienten mit und ohne LVH vergleichbar, was auf pleiotrope, lipidunabhängige Effekte der Statine für die Hypertropheentwicklung schließen lässt. Eine Relation zwischen Statineinnahme und den gemessenen vasoaktiven Parametern ergab sich nicht.

Tatsächlich konnte kürzlich in einem transgenen Tiermodell die Relevanz von Atorvastatin für die Regression einer kardialen Hypertrophie nachgewiesen werden. Die Effekte werden zum Teil auf eine Inhibierung geranylierter Proteine wie Ras sowie auf eine Hemmung der mitogen-aktivierten Proteinkinase (MAPK) zurückgeführt (Senthil V, 2005).

Das transplantierte Herz steht unter dem Einfluss vieler Faktoren, die die links-ventrikuläre Dynamik und die diastolische Funktion beeinflussen. Die echokardiographisch fassbare Zunahme der linksventrikulären Muskelmasse ist unabhängig von histologisch nachweisbaren Abstossungsreaktionen, intramyokardialem Ödem oder Fibrose und entspricht einer echten Myozytenhypertrophie (Armstrong 1998). Man kann davon ausgehen, dass der Kardiomyozytendiameter des transplantierten Herzens mit der Zeit zunimmt, während die myokardiale Fibrose früh ansteigt und sich dann nach ungefähr 2 Monaten auf einem gewissen Niveau stabilisiert (Armstrong AT et al., 1998).

Im Gegensatz zur hypertensiven Herzerkrankung, die eine häufige Ursache für das Auftreten einer Herzinsuffizienz darstellt, kommt es bei der Transplantathypertrophie nur selten zu einer hypertrophieinduzierten Pumpfunktionsstörung des linken Ventrikels. Von Bedeutung für die vorliegende Studie war, dass es sich bei der Transplantathypertrophie um eine überproportionale Zunahme der linksventrikulären Muskelmasse handelt, da die systolische Wandspannung im Vergleich zu normotonen Kontrollprobanden reduziert ist (Globits 1997). Obwohl die meisten Patienten eine Posttransplantationshypertonie entwickeln, lag die Vermutung nahe, dass die Ursache der Transplantationshypertrophie nur zum Teil die erhöhten Lastbedingungen sind und lastunabhängige Mechanismen darüber hinaus wirksam sind.

Die Posttransplantationshypertonie wurde mit dem Einsatz von Cyclosporin assoziiert, da unter Cyclosporin eine erhöhte neuronale sympathische Aktivität gemessen werden kann und eine renale Vasokonstriktion auftritt, die zum Abfall der glomerulären Filtrationsrate führt

(Hansen 1997). In unserer Studie zeigte sich weder eine Assoziation zwischen der Art der Immunsuppression (Cyclosporin versus Tacrolimus) und LVH noch zwischen den zirkulierenden Konzentrationen der Immunsuppressiva und LVH. Jedoch ist zu berücksichtigen, dass es sich bei Cyclosporin und Tacrolimus um Calcineurn-Inhibitoren handelt mit prinzipiell gleichem Wirkungsprofil.

Schwitter et al. konnten 2005 einen Rückgang der linksventrikulären Hypertrophie nach Herztransplantation (unter Cyclosporin-Immunsuppression) durch Gabe eines Kalzium Antagonisten (Felodipin) erreichen. Darüber hinaus begünstigt auch eine kardiale Denervation durch den Verlust von Reflexbögen die Entwicklung einer arteriellen Hypertonie, was zu einem Verlust der cholinergen Baroreflex-Vasodilatation (v.Scheidt 1992) und zu einer salzsensitiven arteriellen Hypertonie und Flüssigkeitsretention nach Htx führt (Braith 1996).

Da jedoch auch unter Azathioprin und Prednison eine Transplantationshypertrophie auftritt, (Rowan 1990) stellte sich die Frage, welche weiteren lastunabhängigen, eine Hypertrophie induzierenden Faktoren, eine Rolle spielen.

Da in jüngster Zeit zunehmend inflammatorische Prozesse für die Progression einer last-abhängigen aber auch last-unabhängigen Myokardhypertrophie (Kuwahara 2003; Tokuda 2004) diskutiert werden und Ergebnisse über die Relevanz vasoaktiver Peptide und Wachstumsfaktoren für eine LVH publiziert wurden (Chim Lang, 2004), führten wir weitere Analysen über den Zusammenhang o.g. Parameter mit der Entwicklung einer LVH nach Htx durch.

5.1 Transforming Growth Factor – Beta (TGF-Beta)

TGF-Beta war in unserer Studie bei Patienten mit LVH im ersten Jahr nach Htx mit höheren Serumspiegeln nachweisbar als bei Patienten nach Htx ohne Hypertrophie.

TGF-Beta hat wichtige Funktionen in der Regulation der Entwicklung, Zelldifferenzierung, des Gewebeerhalts und der Reparatur in verschiedenen Zellen und Gewebetypen (Messague J., 1990, Brand, T et al. 1995).

TGF-Beta ist in Kardiomyozyten sowie myokardialen Fibroblasten nachweisbar (Thompson et al. 1988, Eghbali M 1989, Takahashi N et al. 1994, Li, R.K. et al. 1997 und Li G et al. 1998) und zeigte erhöhte Serumspiegel, besonders während der Herzentwicklung (Pelton et al. 1991) und bei pathologischen Veränderungen (Brand et al. 1995, Li R.K. Et al. 1997, Li G et al. 1998).

Charakteristika der Hypertrophie wie Kardiomyozytenwachstum, Fibrose und Re-Expression der fetalen Isoform der myofibrillären Protein-Gene spielen eine wichtige Rolle bei der Aktivierung von TGF-Beta und FGF-2 (Takahashi et al. 1994, Eghbali et al. 1991, Kupfahl et al. 2000).

Schultz J El et al. zeigten 2002 die wichtige Mediatorrolle von TGF-Beta in der Hypertrophie unter Stimulation von Angiotensin II. Auch Shihab FS wiesen 1996 die erhöhte Expression von TGF-Beta in fibrotischen Lesionen transplantieter Organe nach.

Aziz T. et al. konnten 2003 nachweisen, dass eine TGF-Beta-Ausschüttung mit einer geschädigten Transplantatfunktion, im Sinne einer diastolischen Dysfunktion, einhergeht. Es ist weiterhin bekannt, dass TGF-Beta eine wichtige Rolle in der Entstehung der Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation spielt (Densem et al. 2004).

He Zy et al. zeigten 2005, dass FGF und TGF eine entscheidende Rolle bei der Entstehung einer Myozytenhypertrophie im nicht-transplantierten Herzen hat. Sie konnten FGF und TGF vermehrt in Myozyten direkt nachweisen.

Unsere Daten unterstreichen die potentielle pathophysiologische Bedeutung von TGF-Beta für eine lastunabhängige Hypertrophieinduktion. Ob die erhöhten Serumspiegel durch eine myokardiale TGF-Beta-Aktivierung induziert werden, sollte zukünftig durch Untersuchungen zur myokardialen Aktivität von TGF-Beta charakterisiert werden.

5.2 Insulin like Growth Factor (IGF-I)

In unserer Studie ergaben sich insgesamt höhere Werte bei Patienten mit Transplantathypertrophie als bei Patienten ohne Hypertrophie post Htx. Insbesondere waren die Serumspiegel im ersten Jahr nach Transplantation bei vorhandener Transplantathypertrophie signifikant höher als bei Patienten ohne Transplantathypertrophie.

IGF-I wird von verschiedenen mesenchymalen Zelltypen exprimiert. In der Regel wird die Ausschüttung durch das growth hormone (GH) reguliert und autokrin/parakrin synthetisiert in peripheren Geweben wie Endothel, Leber und Knochen (Yakar, S 1999). IGF-I ist ein potenter Regulator der vaskulären, glatten Muskelzellproliferation (Bornefeldt 1992, Yamamoto 1994) und wird als ein pathologischer Faktor bei koronarer Herzerkrankung diskutiert (Ruotolo et al. 2000). Walsh zeigte 1996, dass IGF-I die Produktion von NO in Endothelzellen sowie in der glatten Gefäßmuskulatur stimuliert und Jenssen assoziierte 1998 niedrig zirkulierende IGF-I Spiegel mit einem erhöhten Risiko von atherosklerotischen, kardiovaskulären Erkrankungen.

Des Weiteren ist IGF-I möglicherweise bei der Entwicklung einer Endotheldysfunktion und Transplantatvaskulopathie beteiligt und die Inhibierung von IGF-I durch Angiopeptin

vermindert die Entwicklung einer koronaren Intimahyperplasie im mehrjährigen Verlauf nach Herztransplantation am Menschen (v.Scheidt 1995). Bei Patienten mit hypertropher Kardiomyopathie konnte Li 1998 eine gesteigerte Expression von IGF-I und TGF-Beta belegen.

Die wichtige Bedeutung bei der Induktion einer Hypertrophie von Kardiomyozyten (Yamazaki et al. 1995) macht IGF-I auch zu einem potentiellen pathogenetischen Faktor für die Transplantathypertrophie nach Htx.

Widersprüchlich dazu zeigen Seroze et al. in einer aktuellen Studie (2005), dass die Administration von IGF-I bei Hamstern zu einer Reduktion einer bestehenden Dilatation und zu einer Verbesserung der kardialen Funktion führte. Allerdings blieb die links-ventrikuläre Wanddicke gleich.

Unsere Daten unterstreichen die potentielle pathophysiologische Bedeutung von IGF-I für eine lastunabhängige Hypertrophieinduktion. Ob die erhöhten Serumspiegel durch eine myokardiale IGF-I-Aktivierung induziert werden, sollte zukünftig durch Untersuchungen zur myokardialen Aktivität von IGF-I charakterisiert werden.

5.3 Fibroblast Growth Factor (FGF)

FGF ist ein weiterer Aktivator von zellulärer Proliferation bzw. Differenzierung. Im adulten Myokard wird FGF von verschiedenen Zelltypen ausgeschüttet, insbesondere auch von Kardiomyozyten. Detillieux et al. zeigten 2003, dass FGF-2 bei kardialer Hypertrophie und auch als Folge von ischämischen Reperfusionsschäden am Herzen ansteigt.

Erhöhte FGF-I und Rezeptor (FGFR)-Ausschüttungen korrelieren mit der Entstehung einer beschleunigten Arteriosklerose im transplantierten humanen Herzen und man vermutet, dass

eine Inhibierung bzw. eine Reduktion der Serumspiegel von FGF eine Abschwächung der Neointima-Formation bei Herz- und Nierentransplantaten auslösen könnte (Luo et al. 2004).

Kiefer zeigte 2003, dass FGF neben dem Vascular Endothelial Growth Factor eine Induktion von NO auslöst und erniedrigte Stickoxid-Spiegel indirekt, über eine Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), zu einer Vasokonstriktion und damit zu einer geschädigten Angiogenese, v.a. bei hypertrophierten Herzen führen kann.

In unserer Studie zeigten sich bei Patienten mit und ohne LVH vergleichbare FGF-Spiegel, was gegen eine pathophysiologische Bedeutung von FGF für die Entwicklung einer LVH nach Htx spricht.

5.4 Brain Natriuretic Peptide (BNP)

Natriuretische Peptide (NP) agieren als Zellmodulatoren für Wachstum in kardiovaskulären Zellen und haben einen bedeutenden Einfluss auf die Regulation der kardiovaskulären Funktion. NPs werden ubiquitär in kardiovaskulären Zellen exprimiert und besitzen Rezeptoren in Herz-, Hirn- und anderen extrakardialen Zellen, was durch Antworten wie Diurese und Vasodilatation bekannt ist. Chronische häodynamische Belastung oder Volumen-Overload resultieren in einer erhöhten Ausschüttung von NPs wie ANF und BNP in Atrium und Ventrikel. Vor allem das hypertrophierte Herz produziert BNP (de Bold AJ, 2001).

Mehra et al. zeigten 2004, dass eine Kontraktionsabschwächung im transplantierten Herzen mit einem gleichzeitigen Anstieg von BNP assoziiert ist. Dieser Anstieg wird, unabhängig von Blutdruckschwankungen, der ventrikulo-vaskulären Entkoppelung nach Htx zugeschrieben. Ebenfalls 2004 zeigten Ambrosi et al., dass BNP-Spiegel post-Htx <= 800 pg/ml eine relativ gute Überlebenswahrscheinlichkeit für Transplantat-Empfänger vorhersagt.

Schon früh wurde vermutet, dass der Ventrikel des transplantierten Herzens eine bedeutende Quelle von zirkulierendem BNP darstellt und eventuell eine Art kompensative Ausschüttung zur erhöhten Belastung post-Htx sein könnte (Ationu 1993).

BNP-Spiegel sind bei herztransplantierten Patienten mit einem hohen Grad der Abstossung und einer starken Einschränkung der links-ventrikulären Funktion, im Vergleich zur normalen Population, eindeutig erhöht (Hervas I et al., 2003). Jedoch wird auch vermutet, dass die BNP-Spiegel eher mit Determinanten wie weibliches Geschlecht, Alter des Spenders, Zeit nach Htx und verminderter renaler Funktion zusammenhängt (Klingenber R et al. 2005).

In unserer Studie konnten wir nachweisen, dass Patienten ohne Hypertrophie nach Herztransplantation tendenziell höhere BNP-Spiegel aufwiesen als Patienten mit Hypertrophie. Ab dem zweiten Jahr nach Transplantation sanken die BNP-Spiegel insgesamt ab, jedoch wiederum mit tendenziell höheren Plasmaspiegeln von BNP bei den Patienten ohne LVH.

Diese Ergebnisse stehen eher im Widerspruch zu Studien, die BNP als Marker einer Hypertrophie des, allerdings nicht-transplantierten, Herzens sehen (Yamamoto 1996). Möglicherweise bewirkt die komplexe Regulation von BNP nach Herztransplantation, dass BNP als Kompensationsmechanismus ausgeschüttet wird und es so eher zu einer verlangsamten Entwicklung einer Hypertrophie kommt, wie Ationu schon 1993 vermutete.

5.5 Angiotensin II

Angiotensin II gehört zum Renin-Angiotensin-System, also dem endokrinen System und wird als Folge verschiedener physiologischer Stimuli ausgeschüttet. Es entsteht aus Angiotensinogen und Angiotensin I nach Vermittlung durch das Angiotensin-Converting-Enzym.

Angiotensin II übt drei direkte Effekte auf das humane Herz aus: Inotropie, Chronotropie und Hypertrophie. Es gibt mittlerweile viele Hinweise darauf, dass Angiotensin II eine Hypertrophie der kardialen Myozyten stimuliert, unabhängig seiner systemischen hämodynamischen Aktionen. Diese Effekte könnten zum Teil durch Generation von reaktiven Oxydantien vermittelt sein (Nakamura 1998). Die Schlüsselrolle von Angiotensin II bei der Entwicklung einer linksventrikulären Hypertrophie bei Hochdruckpatienten kann durch den Effekt von ACE-Hemmern und die darauf folgende Reduktion der LVH belegt werden (Schmieder et al. 1996).

Kagiyama et al. stellten 2002 fest, dass Angiotensin II über den Epidermal Growth Factor auf die glatte Gefäßmuskulatur und Kardiomyozyten Einfluss nimmt.

Bei der Entwicklung einer kardialen Hypertrophie spielt also Angiotensin II eine zentrale Rolle (Dahlhof, 1995). Yousufuddin M. et al. konnten 2004 nachweisen, dass die Transplantatvaskulopathie mit einer erhöhten Expression von Angiotensin II Rezeptoren assoziiert ist.

Gegen eine Angiotensin vermittelte Induktion der Transplantathypertrophie am Menschen sprechen allerdings die Befunde auf myokardialer Ebene von Hunt (1995) und Regitz-Zagrosek (1996), die zwar eine Hochregulierung des Angiotensin I Rezeptors bei sympathisch denervierten Rattenherzen zeigen, im Gegensatz dazu jedoch eine verminderte mRNA Expression im humanen transplantierten Myokard nachwiesen.

In unserer Studie zeigten sich die Angiotensin II-Blutspiegel im Gesamtvergleich tendenziell höher bei nicht-hypertrophierten Herzen als sie bei hypertrophierten Herzen post Htx sind.

Insbesondere im Zeitverlauf ≥ 2 Jahre nach Transplantation haben Patienten mit LVH tendenziell höhere Angiotensin-II Serumspiegel. Möglicherweise sind durch eine verstärkte myokardiale Aktivierung von Angiotensin II zirkulierende Spiegel vermindert nachweisbar.

Zur genauen Charakterisierung der Bedeutung von Angiotensin II sind somit unter Einschluss höherer Fallzahlen auch Untersuchungen zur Expression von Angiotensin II in Myokardbiopsien notwendig.

5.6 Inflammatorische Marker (Fibrinogen, Monozyten):

Erten Y et al. zeigten 2005, dass proinflammatorische Cytokine, vor allem TNF alpha, assoziiert sind mit einer linksventrikulären Hypertrophie, allerdings bei Hämodialyse-Patienten.

Kuwahara et al. 2003 und Tokuda et al. 2004 zeigten die zunehmende Bedeutung inflammatorischer Prozesse für die Progression einer last-abhängigen aber auch last-unabhängigen Myokardhypertrophie.

Bei Patienten mit einer linksventrikulären Hypertrophie konnten Zoccali et al. 2003 erhöhte Fibrinogenspiegel nachweisen. Des Weiteren scheint eine Hyperfibrinogenämie ein Indikator für vaskuläre Schäden und auch ein Prädiktor für kardiovaskuläre Komplikationen zu sein (Palmieri v, 2003).

In unserer Studie ergab sich kein Hinweis für eine Assoziation der unspezifischen Inflammationsmarker Fibrinogen und Monozytenzahl mit der Induktion einer LVH nach Htx.

6) Limitationen der Studie:

Für die vorliegende Arbeit wurden weit mehr Blutproben entnommen als letztendlich zur Auswertung kamen. Leider ging etwa fast die Hälfte der über 2-3 Jahre gesammelten wertvollen Proben durch einen technischen Defekt im Kühlsystem verloren. Somit konnten wir keine exakteren, den kontinuierlichen Anstieg vasoaktiver Mediatoren vor allem im ersten Jahr nach Transplantation zeigenden Daten in die Studie einbeziehen. Die Signifikanz der jeweiligen Ergebnisse könnte also verringert sein.

Zukünftige Studien sollten neben der Erhöhung der Fallzahl auch Untersuchungen zur Expression von Wachstumsfaktoren in Myokardbiopsien enthalten.

7) Zusammenfassung:

7.1 Hintergrund

Die linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) ist in den westlichen Industriestaaten eine der wichtigsten Ursachen für die Ausbildung einer Herzinsuffizienz. In der Regel liegt pathophysiologisch eine durch den Bluthochdruck vermittelte Erhöhung der systolischen myokardialen Wandspannung zugrunde. Aber auch eine lastunabhängige Steigerung der linksventrikulären Muskelmasse wird beobachtet, welche familiär gehäuft auftritt und mit dem Angiotensinsystem in Verbindung gebracht wurde.

Bei fast allen Patienten tritt nach der Herztransplantation (Htx) eine LVH auf. Die Posttransplantationshypertonie als häufige Ursache der LVH wurde mit dem Einsatz der Immunsuppressiva Cyclosporin/Tacrolimus in Verbindung gebracht. Da ebenfalls unter Immunsuppression mit Azathioprin (und ohne Hypertonie) eine LVH auftritt, wird die Bedeutung der Cyclosporin- und Hypertonie vermittelten Effekte für die Entwicklung einer Transplantathypertrophie relativiert. Die echokardiographisch fassbare Zunahme der linksventrikulären Muskelmasse ist unabhängig von histologisch nachweisbarer Abstoßungsreaktion, intramyokardialem Ödem oder Fibrose und entspricht einer echten Myozytenhypertrophie. Zunehmende Bedeutung erhalten in jüngster Zeit inflammatorische Prozesse für die Progression einer last-abhängigen aber auch last-unabhängigen Myokardhypertrophie. Obwohl die meisten Patienten eine Posttransplantationshypertonie entwickeln, lag die Vermutung nahe, dass die Ursache der Transplantathypertrophie nur zum Teil in erhöhten Lastbedingungen liegt. Vielmehr werden auch andere lastunabhängige Mechanismen nach Htx wirksam, welche möglicherweise über Zytokine und Wachstumsfaktoren, für die Ausbildung einer Transplantathypertrophie verantwortlich sind. Die Hypothese der vorliegenden Arbeit war, dass nach Htx beim Menschen neben der lastabhängigen (also Hypertonie induzierten) insbesondere auch eine lastunabhängige Myokardhypertrophie auftritt. Als Mechanismen der lastunabhängigen Myokardhypertrophie

wurden eine erhöhte Aktivität des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (Angiotensin II) sowie eine verstärkte Aktivität inflammatorischer bzw. vasoaktiver Mediatoren (IGF-1, TGF-Beta, FGF und BNP) vermutet.

Diese Arbeit sollte Prävalenz, zeitliches Auftreten und Verlauf der LVH nach Htx über einen Zeitraum des ersten Jahres und ab Beginn des zweiten Jahres stichprobenartig untersuchen. Weiterhin sollte der Zusammenhang zwischen LVH nach Htx und der Aktivität vasoaktiver bzw. inflammatorischer Mediatoren charakterisiert werden.

7.2 Methoden

Untersucht wurden 2 Patientenkollektive: *Kollektiv I* mit 107 Patienten innerhalb der ersten 12 Monate nach Herztransplantation und *Kollektiv II* mit 64 Patienten ab dem ersten Jahr nach Herztransplantation.

Bei allen Patienten wurden zum Untersuchungszeitpunkt eine Herz-Ultraschalluntersuchung (Bestimmung der linksventrikulären Gesamtmasse und Hinterwandmasse) sowie eine periphervenöse Blutentnahme durchgeführt. Bei einer Untergruppe aus dem Kollektiv I (n=32) erfolgten serielle Untersuchungen mittels Echokardiographie über einen Zeitraum von 24 Monaten. Entsprechend internationaler Leitlinien erfolgte mittels der Echokardiographie-Parameter eine Einteilung in Patienten mit und ohne LVH.

Zur Analyse der Relevanz von Blutdruck, Medikation (Immunsuppression, Statine) und akuter Abstossungsreaktion für die LVH wurden die 171 Patienten aus den Kollektiven I und II zu einem Gesamtkollektiv (GK) zusammengeschlossen.

Aus dem peripheren Blut wurden die Konzentrationen für TGF-Beta, FGF-1, IGF-1, Angiotensin II, BNP, Fibrinogen sowie die Monozytenzahl bestimmt und mit der LVH korreliert.

7.3) Ergebnisse

In unserer Studie zeigte sich, dass mehr als die Hälfte der Patienten eine Hypertrophie nach Htx aufweisen. Während die gesamte linksventrikuläre Masse im Zeitverlauf signifikant zunahm, blieb die Hinterwanddicke relativ konstant, was auf eine septumbetonte Hypertrophieinduktion im längeren Verlauf schließen lässt. Zum Teil ließ sich dies damit erklären, dass die Hinterwandmasse bereits im ersten Jahr nach Htx bei der Mehrzahl der Patienten deutlich erhöht ist.

Unsere Studie ergab keine Assoziation zwischen LVH und arteriellem Blutdruck, was auf lastunabhängige Mechanismen zur Hypertrophieinduktion deutet. Auch zeigte sich keine Assoziation zu behandelten Abstoßungsepisoden oder der verwendeten Immunsuppression bzw. den erreichten, zirkulierenden Spiegeln der Immunsuppressiva.

Die vorliegende Studie zeigte weiterhin, dass Patienten mit einer Hypertrophie nach Herztransplantation insbesondere in der Frühphase nach Htx (< 1 Jahr) leicht erhöhte Serumwerte von TGF-Beta und IGF aufweisen. Im Gegensatz dazu zeigte sich für FGF, Angiotensin II, BNP und die unspezifischen Inflammationsmarker Fibrinogen und Monozytenzahl vergleichbare Werte zwischen Patienten mit nicht-hypertrophierten und hypertrophierten Herzen.

Überraschenderweise zeigte sich eine inverse Korrelation zwischen Statineinnahme und LVH. Patienten die eine LVH entwickelten, hatten im Vorfeld signifikant niedrigere Dosierungen an Simvastatin eingenommen. Demgegenüber waren die LDL-Werte bei Patienten mit und ohne LVH vergleichbar, was auf pleiotrope, lipidunabhängige Effekte der Statine für die Hypertrophieentwicklung schließen lässt. Die bestimmten vasoaktiven Parameter zeigten sich nicht mit der Statineinnahme assoziiert.

7.4) Schlussfolgerung

Nach Herztransplantation findet sich bereits im ersten Jahr bei der Mehrzahl der Patienten eine LVH, welche im Zeitverlauf septumbetont weiter zunimmt. Serumspiegel für TGF-Beta und IGF-I waren mit der LVH nach Htx assoziiert. Bei Statineinnahme kam es zu einer inversen Assoziation. Zukünftige Studien sollten neben der Erhöhung der Fallzahl auch Untersuchungen zur Expression von Wachstumsfaktoren in Myokardbiopsien berücksichtigen um weitere Aufschlüsse bezüglich einer lastunabhängigen Hypertrophieinduktion nach Htx zu erhalten.

8) Graphikenverzeichnis

Graphik 1: Linksventrikuläre Massen (LVM) für die Kollektive I und II im Gesamtvergleich.

Graphik 2: Linksventrikuläre Massen (LVM) mit und ohne linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) für die Kollektive I + II.

Graphik 3: Hinterwandmassen im Gesamtvergleich.

Graphik 4: Hinterwandmassen mit und ohne Hypertrophie für die Kollektive I und II.

Graphik 5: Zeitabhängige Veränderung der LV-Masse nach HTX (seriell).

Graphik 6: Mittlerer arterieller Druck und LVH (Gesamtkollektiv).

Graphik 7: Tacrolimus- + Cyclosporin- Spiegel für das Gesamtkollektiv.

Graphik 8: Akute Abstoßungen im ersten Jahr nach Htx versus LVH.

Graphik 9: LVH und Statindosierung.

Graphik 10: Transforming Growth Factor Beta (TGF-Beta) Gesamtspiegel im Vergleich

Graphik 11: IGF Gesamtspiegel im Vergleich

Graphik 12: Gesamtvergleich FGF mit und ohne Hypertrophie

Graphik 13: Gesamtspiegel Angiotensin II im Vergleich mit und ohne Hypertrophie

Graphik 14: BNP Gesamtvergleich mit und ohne Hypertrophie

Graphik 15: Gesamtvergleich Fibrinogen mit und ohne Hypertrophie

Graphik 16: Gesamtvergleich Monozyten mit und ohne Hypertrophie

9) Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Patienten und Methoden

10) Literaturverzeichnis

Altun B, Yilmaz R, Kahraman S et al. Impact of cytokine gene polymorphism on cardiovascular risk in renal transplant recipients. *Transplantation International*, 2005 Jun;18(6):681-9.

Alvarez CM, Fernandez D et al. Intragraft cytokine expression in heart transplants with mild no histological rejection. *Clin Transplant* 2001, 15(4):228-35.

Ambrosi P, Oddoze C et al. Usefulness of N-terminal-pro-brain natriuretic peptide levels in predicting survival in heart transplant recipients. *Am J Cardiol* 2004, 94(12):1285-7.

Armstrong A, Binkley P, Baker P, Myerowitz P, Leier C. Quantitative Investigation of cardiomyocyte hypertrophy and myocardial fibrosis over 6 years after cardiac transplantation. *JACC* 1998; 32: 704-10.

Ationu A, Burch M et al. Cardiac transplantation affects ventricular expression of brain natriuretic peptide. *Cardiovasc Res* 1993, 27(2):188-91.

Aziz TM, Burgess MI, Haselton PS, Yonan NA, Hutchinson IV. Transforming growth factor beta and diastolic left ventricular dysfunction after heart transplantation: echocardiographic and histologic evidence. *J Heart Lung Transplant*. 2003 Jun;22(6):663-73.

Behr TM, Willette RN et al. Eprosartan improves cardiac performance, reduces cardiac hypertrophy and mortality and downregulates myocardial monocyte chemoattractant protein-1 and inflammation in hypertensive heart disease. *J Hypertens* 2004; 22(3):583-92.

Bendahmane S, Zaimi S, Moustaghfir A, Tazi MA, Hda A, Hamani A. Factors correlated with left ventricular mass in hypertensive patients] Ann Cardiol Angeiol (Paris). 2005 Sep;54(5):263-8. French.

Berkenboom G, Giot Ch, Unger P et al. Plasma endothelin and early coronary endothelin dysfunction in recipients of a cardiac transplant. *Am Heart J* 1995;129: 1178-84.

Bork P. The modular architecture of a new family of growth regulators related to connective tissue growth factor. *FEBS Lett.* 1993 Jul 26;327(2):125-30.

Bornfeldt KE, Skottner A, Arnqvist HJ. In-vivo regulation of messenger RNA encoding insulin-like growth factor-I (IGF-I) and its receptor by diabetes, insulin and IGF-I in rat muscle. *J Endocrinol.* 1992 Nov;135(2):203-11.

Borow KT, Neumann A, Arensman FW, Yacoub MH. Left ventricular contractility and contractile reserve in humans after cardiac transplantation. *Circulation* 1985;71:866-72.

Brand T, Schneider MD. Inactive type II and type I receptors for TGF beta are dominant inhibitors of TGF- Beta dependent transcription. *J Biol Chem.* 1995 Apr 7;270(14):8274-84.

Braith RW, Mills RM, Wilcox ChS, Davis GL, Wood CE. Breakdown of blood pressure and body hemostasis in heart transplant recipients. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:375-83.

Braith RW, Mills RM, Wilcox ChS, et al. Fluid hemostasis after heart transplantation: The role of cardiac denervation. *J Heart Lung Transplant* 1996;15:872-80.

Cheitlin MD, Armstrong WF, Aurigemma GP, Beller GA, Biermann FZ et al. ACC/AHA/ASE Committee to update the 1997 guidelines on the clinical application of echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:954-70.

Chim Lang 2004. Complications of hypertension; S489-500; in *Cardiology*, 2E, 2004 Elsevier Ltd, edited by Crawford, DiMarco and Paulus.

Cunningham DC, Dunn MJ, Yacoub MH, Rose ML. Local production of cytokines in the human cardiac allograft. *Transplantation* 1994;57: 1333-37.

Dahlof B. Effect of angiotensin II blockade on cardiac hypertrophy and remodelling: a review. *J Hum Hypertension* 1995 9(suppl) 5:S37-44.

De Bold AJ, Ma KK et al. The physiological and pathophysiological modulation of the endocrine function of the heart. *Can J Physiol Pharmacol*. 2001 79(8):705-14.

Densem CG, Hutchinson IV, Yonan N, Brooks NH. Donor and recipient-transforming growth factor-beta 1 polymorphism and cardiac transplant-related coronary artery disease. *Transpl Immunol*. 2004 Nov;13(3):211-7.

Detillieux KA, Sheikh F et al. Biological activities of fibroblast growth factor-2 in the adult myocardium. *Cardiovasc Res*. 2003; 57(1):8-19.

Devereux RB, James GD, Pickering TG. What is “normal” blood pressure? Comparison of ambulatory blood pressure level and variability in patients with normal or abnormal left ventricular geometry. *Am J Hypertens* 1993;6Suppl:211S-215S.

Devereux RB, Lutas EM, Casale PN et al. Standardization of M-mode echocardiographic left ventricular anatomic measurements. *J Am Coll Cardiol*. 1984 Dec;4(6):1222-30

Devereux RB, Reichek N. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic Validation of the method. *Circulation* 1977 Apr;55(4):613-8.

Eghbali M, Tomek R, Sukhatme VP, Woods C, Bhambi B. Differential effects of transforming growth factor-beta 1 and phorbol myristate acetate on cardiac fibroblasts. Regulation of fibrillar collagen mRNAs and expression of early transcription factors. *Circ Res*. 1991 Aug;69(2):483-90.

Eltzschig HK et al. Echocardiographic evidence of right ventricular remodeling after transplantation. *Ann Thorac Surg*. 2002, 74(2):584-6.

Erten Z, Tulmac M et al. An association between inflammatory state and left ventricular hypertrophy in hemodialysis patients. *Renal Failure* 2005;27(5):581-9.

Ganau A, Devereux RB, Roman M, de Simone G, Pickering TG, Saba PS, Vargiu P, Simongini I, Laragh JH. Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1992;19: 1550-8.

Ganau A, Arru A, Saba PS et al. Stroke volume and left heart anatomy in relation to plasma volume in essential hypertension. *J Hypertens* 1991;9Suppl6:S150-S151.

Globits S, De Marco T, Schwitter J et al. Assessment of early left ventricular remodeling in orthotopic heart transplant recipients with cine magnetic resonance imaging: potential mechanisms. *Transplant* 1997; 16:504-10.

Hansen JM, Fogh-Andersen N, Christensen NJ, Stranggaard S. Cyclosporine-induced hypertension and decline in renal function in healthy volunteers. *J Hypertension* 1997; 15:319-36.

He ZY, Meng QY. Intracardiac basic fibroblast growth factor and transforming growth factor-beta 1 mRNA and their proteins expression level in patients with pressure or volume-overload right or left ventricular hypertrophy. *Acta Cardiol*. 2005 Feb;60(1):21-5.

Hervas I, Almenar L et al. Radioimmunometric assay of B-type natriuretic peptide (BNP) in heart transplantations: correlation between BNP determinations and biopsy grading of rejection. *Nucl Med Commun* 2003; 24(8):925-31.

Hoffmann FM. Outcomes and complications after heart transplantation: a review. *J Cardiovasc Nurs*. 2005 Sep-Oct;20(5 Suppl):S31-42.

Hunt RA, Ciuffo GN, Saavedra JM, Tucker DC. Sympathetic innervation modulates the expression of angiotensin II receptors in embryonic rat heart grafted in oculo. J Mol Cell Cardiolo 1995;27:2445-52.

Imakita M, Tazelaar HD, Rowan RA et al. Myocyte hypertrophy in the transplanted heart- a morphometric analysis. Transplantation 1987; 43:839-42.

Imamura T, Oka S, Tanahashi T, Okita Y. Cell cycle-dependent nuclear localization of exogenously added fibroblast growth factor-1 in BALB/c 3T3 and human vascular endothelial cells. Exp Cell Res. 1994 Dec;215(2):363-72.

Iso T, Arai M et al. Humerol factor produced by pressure overload enhance cardiac hypertrophy and natriuretic peptide expression. Am J Physiol 1997; 273(1pt2)H113-8.

Juien J, Farge D et al. Cyclosporine induced stimulation of the renin-angiotensin system after liver and heart transplantation. Transplantation 1993; 56:885-91.

Kagiyama S, Eguchi S, Frank GD, Inagami T, Zhang YC, Phillips MI. Angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and hypertension are attenuated by epidermal growth factor receptor antisense.

Circulation. 2002 Aug 20;106(8):909-12.

Kaye D, Thompson J et al. Cyclosporine therapy after cardiac transplantation causes hypertension and renal vasoconstrictionwithout sympathetic activation. Circulation 1993; 88:1101-9.

Klingenberger R, Koch A et al. Determinants of B-type natriuretic peptide plasma levels in the chronic phase after heart transplantation. *Transl Int* 2005; 18(2):169-76.

Kupfahl C, Pink D, Friedrich K, Zurbrugg HR, Neuss M, Warnecke C, Fielitz J, Graf K, Fleck E, Regitz-Zagrosek V. Angiotensin II directly increases transforming growth factor beta1 and osteopontin and indirectly affects collagen mRNA expression in the human heart. *Cardiovasc Res*. 2000 Jun;46(3):463-75.

Kuwahara F., Kai H., et al. Hypertensive myocardial fibrosis and diastolic dysfunction: Another model of inflammation? *Hypertension*. 2004 Apr;43(4):739-45. Epub 2004 Feb 16.

Levy D, Garrison et al. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N England J Med* 1990; 322:1561-662004; 117(3):401-7.

Li G, Li RK et al. Elevated IGF-1 and TGF-beta 1 and their receptors in patients with idiopathic hypertrophic obstructive cardiomyopathy. A possible mechanism. *Circulation*. 1998. 98(19suppl):II 144-9.

Li R-K; Li G et al. Overexpression of transforming growth factor β 1 and insulin-like growth factor-1 in patients with idiopathic hypertrophy cardiomyopathy. *Circulation* 1997;96:874-881.

Lorell BH, Carabello BA. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis. *Circulation*. 2000 Jul 25;102(4):470-9. Review.

Marschall I Hertz, Paul J. Mohacsi, David O.Taylor. The registry of the international society for heart and lung transplantation: introduction to the 2005 annual reports. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. Volume 24, Issue 8, August 2005, Pages 939 – 944.

Mehra MR, Milani RV et al. Ventricular-vascular uncoupling increases expression of B-Type natriuretic peptide in heart transplantation. *Transplant Proc*. 2004; 36(10):3149-51.

Messague J. Transforming growth factor-alpha. A model for membrane-anchored growth factors. *J Biol Chem*. 1990 Dec 15;265(35):21393-6.

Muscholl M, Schunkert et al. Neurohumeral activity and left ventricular geometry in patients with essential hypertension. *Am Heart J* 1998;135:58-66.

Muscholl M, Muders et al. Relation of neurohumeral activation, left-ventricular hypertrophy and hemodynamics an arterial hypertension. *Circulation* 1993;88:I-499.

Muscholl M, Hense HW, Bröckel U et al. Geometric patterns of left ventricular hypertrophy in the normotensive poplation. *Circulation* 1995;92(suppl):I-709.

Muscholl M, Kuch B, Hense HW et al. Familiar predisposition to left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1996;94(suppl)I-388.

Muscholl M, Schunkert H, et al. Neurohumeral activity and left ventricular geometry in patients with essential arterial hypertension. *Am Heart J* 1998; 135:58-66.

Muscholl M, Hense HW, Bröckel et al. Alterations of left ventricular geometry and function in subjects with white coat hypertension. *J Am Coll Cardiology* 1997;29 Suppl A:48A.

Nakamura K, Fushimi K, Kouchi H, Mihara K, Miyazaki M, Ohe T, Namba M. Inhibitory effects of antioxidants on neonatal rat cardiac myocyte hypertrophy induced by tumor necrosis factor-alpha and angiotensin II. *Circulation*. 1998 Aug 25;98(8):794-9.

Palmieri V, Celentano A, Roman MJ, de Simone G, Best L, Lewis MR, Robbins DC, Fabsitz RR, Howard BV, Devereux RB; Strong Heart Study. Relation of fibrinogen to cardiovascular events is independent of preclinical cardiovascular disease: the Strong Heart Study. *Am Heart J*. 2003 Mar;145(3):467-74.

Pellieux C, Foletti A et al. Dilated cardiomyopathy and impaired cardiac hypertrophic response to angiotensin II in mice lacking FGF-2. *J Clin Invest*. 2001; 108(12):1843-51.

Pelton RW, Saxena B, Jones M, Moses HL, Gold LI. Immunohistochemical localization of TGF beta 1, TGF beta 2, and TGF beta 3 in the mouse embryo: expression patterns suggest multiple roles during embryonic development. *J Cell Biol*. 1991 Nov;115(4):1091-105.

Ruotolo G, Bavenholm P, Brismar K, Efendic S, Ericsson CG, de Faire U, Nilsson J, Hamsten A. Serum insulin-like growth factor-I level is independently associated with coronary artery disease progression in young male survivors of myocardial infarction: beneficial effects of bezafibrate treatment. *J Am Coll Cardiol*. 2000 Mar 1;35(3):647-54.

Roman MJ, Pickering TG et al. Relation of arterial structure and function to left ventricular geometric patterns in hypertensive adults. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:751-56.

Rowan RA, Billingham ME. Pathologic changes in the long term transplanted heart: A morphometric study of myocardial hypertrophy, vascularity and fibrosis. *Hum Pathol*. 1990;21:767-72.

Scherrer U, Vissing SF, Morgan et al. Cyclosporin-induced sympathetic activation and hypertension after heart transplantation. *N Engl Journal Med* 1994;330:1634-8.

Schmieder RE, Langenfeld MR, Friedrich A, Schobel HP, Gatzka CD, Weihprecht H. Angiotensin II related to sodium excretion modulates left ventricular structure in human essential hypertension. *Circulation*. 1996 Sep 15;94(6):1304-9.

Schultz, Jo El J. et al. TGF- β 1 mediates the hypertrophic cardiomyocyte growth induced by angiotensin II. *J Clin Invest*. 2002. 109:787-797.

Schunkert H, Hense HW et al. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and LV hypertrophy. *N Engl J Med* 1994;330:1634-8.

Senthil V, Chen SN, Tsybouleva N, Halder T, Nagueh SF, Willerson JT, Roberts R, Marian AJ. Prevention of cardiac hypertrophy by atorvastatin in a transgenic rabbit model of human hypertrophic cardiomyopathy.

Circ Res. 2005 Aug 5;97(3):285-92. Epub 2005 Jul 14.

Serose A, Prudhon B et al. Administration of IGF-1 improves both structure and function of delta-sarcoglycan deficient muscle in the hamster. *Basic Res Cardiol*. 2005, 100(2):161-170.

Shihab FS, Tanner AM, Shao Y, Weffer MI. Expression of TGF-beta 1 and matrix proteins is elevated in rats with chronic rejection. *Kidney Int.* 1996 Dec;50(6):1904-13.

Streeter RP, Nichols K, Bergmann SR. Stability of right and left ventricular ejection fractions and volumes after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2005 Jul;24(7):815-8.

Sullivan JM, van der Zwaag R et al. Left ventricular hypertrophy; effect on survival. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:508-13.

Takahashi N, Calderone A, Izzo NJ et al. Hypertrophic stimuli induce TGF- β 1 expression in rat ventricular myocytes. *J Clin Invest* 1994;4:1470-76.

Tarek A, Rasheed A et al. TGF beta and myocardial dysfunction following heart transplantation. *Eur J Cardio-thorac surg* 2001, 20; 177-186.

Thompson KL, Assoian R, Rosner MR.. Transforming growth factor-beta increases transcription of the genes encoding the epidermal growth factor receptor and fibronectin in normal rat kidney fibroblasts. *J Biol Chem.* 1988 Dec 25;263(36):19519-24.

Tokuda K, Kai H, Kuwahara F, Yasukawa H, Tahara N, Kudo H, Takemiya K, Koga M, Yamamoto T, Imaizumi T. Pressure-independent effects of angiotensin II on hypertensive myocardial fibrosis. *Hypertension.* 2004 Feb;43(2):499-503. Epub 2003 Dec 29.

V.Scheidt W, Neudert J et al. Contractility of the transplanted, denervated human heart. *Am heart J* 1991;121:1480-88.

V.Scheidt W, Böhm et al. Cholinergic baroreflex vasodilatation:Defect in heart transplant recipients due to denervation of the ventricular baroreceptor. Am J Cardiol 1992;69:247-52.

Von Scheidt W, Reichart B, Erdmann E. Myocardial function, arterial hypertension and coronary angiopathy after heart transplantation

Med Klin (Munich). 1995 Feb 15;90(2):90-5.

Walsh JT, Andrews R, Johnson P, Phillips L, Cowley AJ, Kinnear WJ. Inspiratory muscle endurance in patients with chronic heart failure. Heart. 1996 Oct;76(4):332-6.

Weis M, Wildhirt SM, Schulze C, Pehlivanli S et al. Modulation of coronary vasomotor tone by cytokines in cardiac transplant recipients. Transplantation. 1999 Nov 15;68(9):1263-7.

Weis M, v Scheidt W. Cardiac allograft vasculopathy. A review. Circulation;1997;9:2069-77.

Wildhirt SM, Weis M, Schulze C et al. Myocardial nitric oxide synthase gene-expression and endothelial function in chronic rejection after cardiac transplantation. Transplant Proc. 1999 Feb-Mar;31(1-2):96-8.

Yamamoto T, Kimura T, Ota K, Shoji M, Inoue M, Ohta M, Sato K, Funyu T, Abe K. Effects of a nitric oxide synthase inhibitor on vasopressin and atrial natriuretic hormone release, thermogenesis and cardiovascular functions in response to interleukin-1 beta in rats. Tohoku J Exp Med. 1994 Sep;174(1):59-69.

Yamamoto T, Burnett JC, Jougasaki M et al. Superiority of brain natriuretic peptide as a hormonal marker of ventricular systolic and diastolic dysfunction and ventricular hypertrophy. *Hypertension*, 1996 Dec;28(6):988-94.

Yamazaki T, Komuro I, Yazaki Y. Molecular Mechanism of cardiac cellular hypertrophy by mechanical stress. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:133-140.

Yousufuddin M, Haji S et al. Cardiac angiotensin II receptors as predictors of transplant coronary artery disease following heart transplantation. *Eur Heart J* 2004 25(5):377-85.

Zaroff JG, Babcock WD, Shibuski SC. The impact of left ventricular dysfunction on cardiac donor transplant rates. *J Heart Lung Transplant*. 2003, 22(3):334-7.

Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Cutrupi S, Parlongo S, Malatino LS, Bonanno G, Rapisarda F, Fatuzzo P, Seminara G, Nicocia G, Buemi M. Fibrinogen, inflammation and concentric left ventricular hypertrophy in chronic renal failure. *Eur J Clin Invest*. 2003 Jul;33(7):561-6.

ALEXANDER VIERHEILIG

ZIVILSTATUS

- Ledig
- Nationalität : Deutsch
- Datum und Geburtsort : 15.05.1975 in Rendsburg

ADRESSE

42, Rue Rumine
1005 Lausanne/Schweiz

Tél. 0041/78 722 77 26
vierheilig@bluewin.ch

AKTUELLE ANSTELLUNG

Vom 01.04.2007 bis 31.03.2008
Hôpitaux Universitaire de **Genève**
Médecin interne **Neurochirurgie**
Professeur de Tribolet

VORHERIGE ANSTELLUNGEN

Vom 01.10.2006 bis 31.03.2007
Hôpital du Chablais à **Monthey**
Médecin interne/Smur **Innere Medizin**
Dr. Mosimann

Vom 01.04.2006 bis 30.09.2006
Hôpitaux Universitaires de **Genève**
Médecin interne **HNO**
Professeur Guyot

Vom 01.11.2005 bis 30.09.2006
Hôpital Intercantonal de la Broye
à **Payerne**.
Médecin interne **Chirurgie/Smur**

Vom 01.10. 2004 bis 30.09. 2005
Hôpitaux Universitaires de **Genève**
Médecin interne **Chirurgie**

Vom 24.05. 2004 bis 30.09. 2004
Hôpitaux Universitaires de **Genève**
Médecin interne **Psychiatrie**.

Vom 01.11.2003 bis 15.03.2004
Praktisches Jahr
Hôpital Cantonal de **Genève**
HNO

Vom 01.10.2003 bis 30.11.2003
Praktisches Jahr
Universidad Autonoma de **Barcelona**/ Hospital de San Pau
Viszeralchirurgie
Professeur Rius Cornado

Vom 01.08.2003 bis 30.09.2003
Praktisches Jahr
Hôpital Cantonal de **Genève**
Poliklinik **Orthopедie und Traumatologie**
Professeur Fritschy

Vom 01.06.2003 bis 30.07.2003
Praktisches Jahr
Ludwig-Maximilians-Universität München/ **Klinikum Grosshadern**
Hämatologie-Onkologie
Professor Haferlach

Famulus in verschiedenen Abteilungen (Kardiologie, Nephrologie, Orthopädie, HNO, Chirurgie) zwischen dem 5. und 9. Semester.
Ludwig-Maximilians-Universität München/ **Klinikum Grosshadern**

Vom 01.07.1995 bis 01.08.1996
Rettungshelfer Malteser-Hilfs-Dienst (MHD) in **Würzburg**

AUSBILDUNG

2005 Ausbildung **Smur (Notarzt)** an der Universitätsklinik Lausanne (CHUV)

1997 – 2004 **Studium der Medizin.**
Ludwig-Maximilians-Universität München
- Approbation

1996-1997 Studium « Langues étrangères appliquées » in Poitiers/Frankreich und Sprachaufenthalt in Almunecar/Spanien

1989–1995
Gymnasium Graf-Friedrich Schule. **Diepholz**/Niedersachsen
- Abitur

Gymnasium **Bad Aibling**/Bayern (1986-1989)

SPRACHEN

Deutsch : Muttersprache.

Französisch und Englisch : Fliessend. **Spanisch** : Sehr gut.

Italienisch : fortgeschritten. **Arabisch** : fortgeschritten.

HOBBIES

Joggen, Fitness, Ski, Tauchen

Lausanne, le 16.07.2007