

**Aus der Klinik für Herzchirurgie  
der Universität zu Lübeck  
Direktor: Prof. Dr. med. H. H. Sievers**

---

**Vergleichende funktionelle und morphologische Untersuchungen an  
elektrisch unterschiedlich stimulierten Skelettmuskelventrikeln**

Grundlagen zur chirurgischen Therapie der Herzinsuffizienz

Inauguraldissertation  
Zur Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck  
-Aus der medizinischen Fakultät-

vorgelegt von  
Catrina Hansen  
aus Eckernförde

Lübeck 2008

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Norbert W. Guldner  
2. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Lüder C. Busch

Tag der mündlichen Prüfung: 23.02.2009  
Zum Druck genehmigt: Lübeck, den 23.02.2009

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach  
-Dekan der Medizinischen Fakultät-

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung und Problemstellung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Epidemiologie der Herzinsuffizienz.....	1
1.2 Therapie der chronischen Herzinsuffizienz.....	3
1.2.1 Mechanische Herzunterstützungssysteme.....	6
1.2.2 Muskuläre Herzunterstützung.....	7
1.3 Grundlegende Untersuchungen zur muskulären Herzunterstützung.....	8
1.3.1 Untersuchungen und Grundlagen der Elektrostimulation.....	8
1.3.2 Elektrisch konditionierte Skelettmuskelventrikel.....	9
1.3.3 Dynamisch trainierte Skelettmuskelventrikel am extrathorakalen Modell.....	10
1.3.4 Dynamisch trainierte Skelettmuskelventrikel am intrathorakalen Modell.....	12
1.4 Problemstellung.....	15
<b>2 Material und Methoden</b> .....	<b>17</b>
2.1 Versuchstiere.....	17
2.2 Elastisches Trainingsgerät.....	19
2.3 Stimulatoren und Elektroden.....	21
2.3.1 Myostimulatoren.....	21
2.3.2 Muskelelektroden.....	22
2.4 Operationsverfahren.....	23
2.5 Medikation.....	24
2.6 Stimulationsmuster.....	24
2.6.1 Präoperative Stimulation.....	24
2.6.2 Postoperative Stimulation.....	25
2.7 Kontrollgruppe.....	26
2.8 Messverfahren.....	27
2.8.1 Druckmessung.....	27
2.8.2 Schlagvolumen- und Schlagenergiebestimmung.....	28
2.8.3 Kontraktilitätsparameter.....	29
2.9 Morphometrie.....	30
2.9.1 Probengewinnung.....	30
2.9.2 Mikroskopie.....	30
2.9.3 Muskelfaserquerschnittbestimmung.....	32
2.10 Analyse der schwerkettigen Myosine.....	32

2.11 Statistische Verfahren.....	33
<b>3 Ergebnisse.....</b>	<b>35</b>
3.1 Versuchstiere .....	35
3.2 Elastisches Trainingsgerät.....	37
3.3 Stimulatoren und Elektroden.....	37
3.3.1 Myostimulatoren.....	37
3.3.2 Muskelelektroden.....	37
3.4 Operationsverfahren.....	38
3.5 Fluidodynamik bei On-Demand-Stimulation.....	38
3.5.1 Druckmessung.....	38
3.5.2 Schlagvolumen .....	39
3.5.3 Pumpleistung und Schlagenergie.....	40
3.5.4 Kontraktilitätsparameter.....	43
3.5.5 Compliance-Bestimmung am elastischen Trainingsgerät.....	46
3.6 Morphometrie.....	46
3.6.1 Muskelfaserquerschnittbestimmung.....	46
3.7 Analyse der schwerkettigen Myosine.....	48
<b>4 Diskussion.....</b>	<b>50</b>
4.1 Intermittierend dynamisch trainierte Skelettmuskelventrikel.....	50
4.2 Versuchstiere.....	51
4.3 Elastisches Trainingsgerät .....	52
4.4 Operationsverfahren.....	54
4.5 Stimulationsmuster.....	54
4.5.1 Präoperative Stimulation.....	55
4.5.2 Postoperative Stimulation.....	56
4.6 Medikation.....	58
4.7 Fluidodynamik.....	61
4.8 Morphometrie.....	65
4.9 Schwerkettige Myosine.....	66
4.10 Klinische Einsetzbarkeit intermittierend dynamisch trainierter Skelettmuskelventrikel.....	67
<b>5 Zusammenfassung.....</b>	<b>68</b>
<b>6 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>70</b>

<b>7 Anhang</b> .....	<b>78</b>
7.1 Abkürzungen.....	78
7.2 Fluiddynamische Ergebnisse der Kontrollgruppe (bereits publiziert).....	79
7.3 Danksagung.....	80
7.4 Lebenslauf.....	81



## 1 Einleitung und Problemstellung

### 1.1 Epidemiologie der Herzinsuffizienz

In den westlichen Industrienationen fordert die chronische Herzinsuffizienz jährlich mehr Todesopfer als die Gesamtheit der Krebserkrankungen und ist damit eine der häufigsten Ursachen für einen vorzeitigen Tod.

Von einer Herzinsuffizienz sind allein in Deutschland ungefähr 1,8 Millionen Menschen betroffen, wobei ein jährlicher Zuwachs von etwa 250.000 besteht (75). Im Jahr 2007 konnten in Deutschland 49.995 Todesfälle auf eine Herzinsuffizienz zurückgeführt werden. Das entspricht einem Anteil von 6,04 % aller Verstorbenen (105).

Weltweit sind etwa 22,5 Millionen Menschen mit dieser kardialen Erkrankung belastet; jährlich werden circa 2 Millionen Fälle neu diagnostiziert (74). Es ist eine steigende Tendenz der Neuerkrankungen als Folge zunehmender Überlebensraten bei akutem Myokardinfarkt und einer verlängerten Lebenserwartung zu verzeichnen. Mittlerweile leiden etwa 10 % der über 80-jährigen an einer Herzinsuffizienz (62).

Aufgrund der nachlassenden kardialen Förderleistung ist die Symptomatik der Herzinsuffizienz im Wesentlichen durch Atemnot, Flüssigkeitsretention, Leistungsminderung und einem allgemeinen Krankheitsgefühl gekennzeichnet (55, 62, 75). Die nachlassende Pumpfunktion des Herzens führt zu einer Sauerstoffunterversorgung der Organe. Der Körper verfügt über Kompensationsmechanismen, um die Sauerstoffversorgung des Organismus trotz herabgesetzter Pumpleistung des Herzens aufrecht zu erhalten. So besteht die Möglichkeit, den Blutdruck und das zirkulierende Blutvolumen funktionell und neurohormonell, also über eine Sympathikus- und eine Renin-Angiotensin-Aldosteron-System-Aktivierung, nahezu konstant zu halten (55, 75). Der Organismus kann den Status quo jedoch dadurch nur kurzzeitig kompensieren; letztendlich tritt ein Circulus vitiosus ein, der mit einem stetigen Abfall der myokardialen Leistung einhergeht (siehe Abbildung 1).

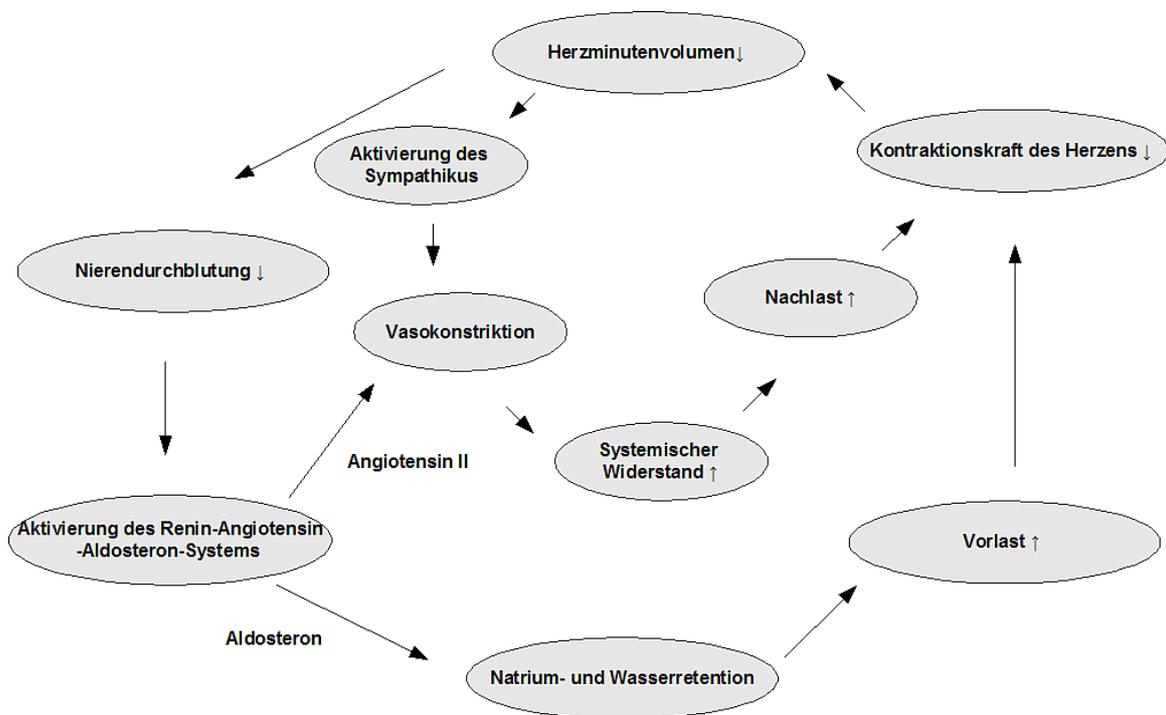


Abbildung 1: Die bei einer beginnenden Herzinsuffizienz einsetzenden endogenen Kompensationsmechanismen verschlechtern bei Zunahme der Insuffizienz die hämodynamische Situation. Es entsteht ein Circulus vitiosus, den es therapeutisch zu durchbrechen gilt. (Abbildung entwickelt nach (55))

Zur Differenzierung der Schwere der Beeinträchtigung wird heute die Klassifikation der New York Heart Association (NYHA) herangezogen (62). Neben funktionellen Parametern bezieht sie vor allem klinische Symptome wie Belastbarkeit und Dyspnoe ein. Es werden die Stadien NYHA I – IV unterschieden:

(NYHA-Stadium: Klinischer Befund/Hämodynamischer Befund)

- Stadium I: Keine Beschwerden bei normaler Belastung, jedoch erhöhte Füllungsdrücke des linken Ventrikels unter Belastung, normales Herzzeitvolumen
- Stadium II: Beschwerden bei starker Belastung, erhöhte Füllungsdrücke bereits in Ruhe, normales Herzzeitvolumen, keine Beschwerden in Ruhe
- Stadium III: Beschwerden bei leichter Belastung, unzureichender Anstieg des Herzzeitvolumens unter Belastung, keine Beschwerden in Ruhe
- Stadium IV: Beschwerden in Ruhe, Verstärkung bei leichter Belastung, erniedrigtes Ruhe-Herzzeitvolumen

Mehrfache Datensammlungen ermöglichen eine Prognosestellung für herzinsuffiziente Patienten der einzelnen Stadien. So wird die 1-Jahres-Überlebensrate bei einer Herzinsuffizienz gemäß Stadium NYHA II mit etwa 85 % angegeben, während im Stadium NYHA IV nur noch 50 % der Patienten ein weiteres Jahr überleben (55).

Von einer terminalen Herzinsuffizienz wird gesprochen, wenn eine medikamentöse Therapie versagt. Dabei ist eine Zuordnung zu NYHA III oder IV mit kardialer Dekompensation und reduzierter Auswurfraction des linken Ventrikels bei gleichzeitig erhöhten Füllungsdrücken zu messen (75).

### **1.2 Therapie der chronischen Herzinsuffizienz**

Ein Fortschreiten der Erkrankung bis hin zur terminalen Form kann heutzutage durch eine medikamentöse Therapie verzögert werden. Hierfür werden insbesondere die in der Tabelle 1 aufgeführten Pharmaka eingesetzt (67):

Tabelle 1: Vorwiegende Wirkweise der wichtigsten Pharmaka zur Therapie der Herzinsuffizienz.

Pharmakon	Wirkweise
<b>ACE-Hemmer</b>	Senkung des peripheren Gefäßwiderstandes sowie der Vor- und Nachlast, Steigerung des HZV, Antagonisierung der neurohumeralen Regulationsmechanismen
<b>β-Blocker</b>	Dämpfung der Sympathikusaktivität
<b>Angiotensin II-Rezeptorantagonisten</b>	Vasodilatation, Senkung der Natrium- und Wasserretention
<b>Diuretika</b>	Senkung der Natrium- und Wasserretention
<b>Phosphodiesterase-Hemmer</b>	Vasodilatation, Steigerung der Kontraktilität
<b>Positiv inotrope (adrenerge) Substanzen</b>	Kontraktilitätssteigerung

In leichteren Fällen der Herzinsuffizienz bewirkt meist schon eine Monotherapie mit einem Pharmakon eine deutliche klinische Besserung bei den Patienten. Oftmals ist die Krankheit jedoch auch mit Kombinationstherapien und maximaler körperlicher Schonung nicht mehr aufzuhalten.

Die nächste Behandlungsstufe stellt dann die chirurgische Intervention dar. Mithilfe der Endstage-Revaskularisierung und Reduktionsplastiken, beispielsweise nach Dor (Aneurysmektomie: eine Aneurysmaexklusion zur Schaffung einer reduzierten Wandspannung), erreicht man vielfach eine Steigerung der linksventrikulären Ejektionsfraktion und Verkleinerung der dilatierten Herzkammer um mehr als 30 % (26, 28, 107). Dadurch entfällt bei einigen Patienten die Transplantationsindikation, die bei einer Ejektionsfraktion kleiner als 20 % gestellt

wird (62). Die Patienten haben durch die genannten chirurgischen Maßnahmen postoperativ eine ähnlich gute Prognose wie transplantierte Herzranke (26).

Führt allerdings keine der oben aufgeführten Behandlungsalternativen zu einer subjektiven und klinischen Verbesserung des Patienten, kann das Überleben meist nur noch durch eine Herztransplantation gewährt werden. So ist bei einer terminalen Herzinsuffizienz die Herztransplantation, die erstmals 1967 durch Christiaan Barnard im Groote-Schnur-Krankenhaus in Kapstadt durchgeführt wurde, immer noch als Goldstandard der definitiven Therapie zu sehen (23, 74).

Durch die Transplantation kann die 5-Jahres-Überlebensrate der schwerkranken Patienten wieder auf etwa 67 % gesteigert werden (23). Die Lebenslimitation begründet sich nach der Organverpflanzung insbesondere auf die begleitend notwendige immunsuppressive Therapie, wodurch es gehäuft zu Infektionen, renaler Dysfunktion, Malignomen und zur Transplantationsvaskulopathie kommen kann (55, 62).

Im Jahr 2007 wurden in Deutschland 394 Herz-Transplantationen durchgeführt (23). Für eine Transplantation stehen jedoch jährlich wesentlich mehr Patienten auf der Warteliste als Spenderherzen vorhanden sind. So konnten 2007 nur nahezu die Hälfte der auf der Transplantationswarteliste von Eurotransplant aufgeführten Patienten ein Spenderherz erhalten (siehe Abbildung 2) (36). Allein aus dieser Patientengruppe, die überhaupt die Kriterien für eine Organtransplantation erfüllt und damit einen Platz auf der Warteliste bekommen hat, verstarben mehr als 20 %, bevor ein Spenderherz gefunden werden konnte (35, 36).

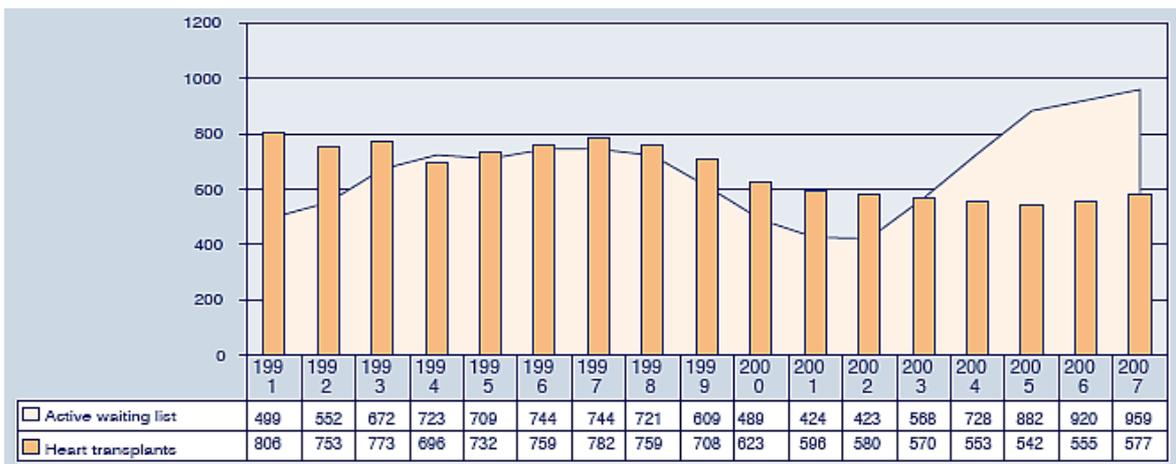


Abbildung 2: Grafische Darstellung der Anzahl der transplantierten Herzen in Europa im Verhältnis zu der Anzahl der Patienten auf der Warteliste. (Abbildung aus Annual Report 2007, Eurotransplant, Leiden (36))

Werden die weltweiten Letalitätsdaten bezüglich der Herzinsuffizienz betrachtet, so sterben jährlich etwa 500 000 Patienten an terminaler Herzinsuffizienz (74); demgegenüber stand 2006 die Transplantation von 3 000 Spenderherzen (110). Aus diesen Zahlen lässt sich ableiten, dass nicht einmal 1 % der an terminaler Herzinsuffizienz leidenden Patienten mit einem Spenderherz versorgt werden können.

### 1.2.1 Mechanische Herzunterstützungssysteme

Bedingt durch den Mangel an Spenderherzen ist die Wartezeit der Transplantationskandidaten oft beträchtlich. Damit die schwerkranken Patienten diese Zeit überleben, werden mechanischen Kreislaufunterstützungssysteme (sogenannte VAD-Systeme: Ventricular Assist Device) eingesetzt.

VAD-Systeme stabilisieren als vollständig implantierbare oder nicht-vollständig implantierbare Systeme den Kreislauf des Herzkranken, indem sie die Pumpleistung eines oder beider Ventrikel übernehmen. Sie beheben nicht die Ursache der Erkrankung, aber sie können für einige Monate das insuffiziente Herz soweit unterstützen, dass eine ausreichende Perfusion des Organismus gewährleistet ist. Sie werden als „bridge-to-transplant“-Systeme oder „bridge-to

recovery“-Systeme eingesetzt (22, 27, 31, 81, 82, 83). Mittlerweile liegen Studien vor, die einen Einsatz von mechanischen Herzunterstützungssystemen als Definitivtherapie mit einer mittleren Überlebensrate von zwei bis vier Jahren anbieten (29, 62, 90).

Die mechanischen Kreislaufunterstützungssysteme bedürfen einer intensiven Überwachung, um eine zuverlässige Kreislauffunktion beim Patienten sicherzustellen. Durch diese engmaschigen Kontrollen können das Blutungs- und Thromboembolierisiko (88) sowie auch Infektionsgefahren reduziert werden (27, 60, 65, 81, 86, 100). Wegen des heute noch zu hohen Kostenaufwandes ist der generelle Einsatz von VAD-Systemen ökonomisch nicht vertretbar (5, 18, 39, 82, 83).

### *1.2.2. Muskuläre Herzunterstützung*

Aufgrund des Mangels an Spenderherzen und da sich die mechanischen Kreislaufunterstützungssysteme nicht generell für einen Langzeitgebrauch eignen sowie auch die beschriebenen Nachteile besitzen, besteht schon seit vielen Jahrzehnten das Bestreben, alternative Therapieverfahren zur Kreislaufstabilisierung zu entwickeln. Als eine viel versprechende Alternativmethode wird die muskuläre Herzunterstützung angesehen (6, 15, 37, 40, 50, 89, 109). Hierfür wird ein körpereigener Muskel, der Musculus latissimus dorsi (LDM-Latissimus dorsi muscle), genutzt. Der Muskel wird für diese Zwecke unter Erhalt seines Gefäß-Nerven-Stiels freipräpariert und mit Stimulationselektroden versehen, die über Impulse aus einem Myostimulator den LDM zur Kontraktion bringen. Der so vorbereitete Muskel kann in vielfältiger Weise als Herzunterstützungssystem zum Einsatz kommen.

### **1.3 Grundlegende Untersuchungen zur muskulären Herzunterstützung**

#### *1.3.1 Untersuchungen und Grundlagen der Elektrostimulation*

Bereits vor 71 Jahren beschäftigte sich Leriche mit der Herzunterstützung durch Skelettmuskulatur. Bei Versuchen an Hunden zeigte sich, dass eine schnelle Ermüdbarkeit bei Skelettmuskulatur die Herzunterstützung limitiert (76).

Diese Einschränkung galt es zu verhindern.

1960 konnte der Physiologe Buller durch Vertauschen von Nerven von schnell und langsam arbeitenden Muskeln die Muskelfunktion im Sinne der vertauschten Nerven ändern. Somit wurde der Ausdauer Muskel in einen schnellen und der schnell kontrahierende in einen Ausdauer Muskel umgewandelt (11, 12).

Salmons und Sreter bewiesen, dass durch modifizierte elektrische Stimulationsmuster eine vergleichbare Muskelumwandlung wie durch den oben genannten Nervenvertausch erzielt werden konnte (33, 94, 96). Wurde diese Elektrostimulation etwa 3 Monate ausgesetzt, konnte die ursprüngliche Muskelqualität wieder hergestellt werden (32).

Weitere Untersuchungen ergaben, dass eine Muskeltransformation zum Ausdauer Muskel mit einer Minderung der Kontraktionskraft um etwa 80 % und einem Verlust der Muskelmasse von bis zu 60 % verbunden war (94, 104). Des Weiteren zeigten sich vielfältige Umbauprozesse. So transformierte sich das sarkoplasmatische Retikulum, die Enzymausstattung und die Zusammensetzung der schweren und leichten Ketten des Myosins. Die schweren Ketten (MHC-Myosin Heavy Chain) des Myosins wandelten sich von 25 zu 75 % Typ I- zu Typ II-MHC in 100 % Typ I-MHC um (32, 33, 85, 95). Außerdem wiesen eine erhöhte Kapillar- und Mitochondriendichte auf einen vermehrten aeroben Stoffwechsel hin (97, 103).

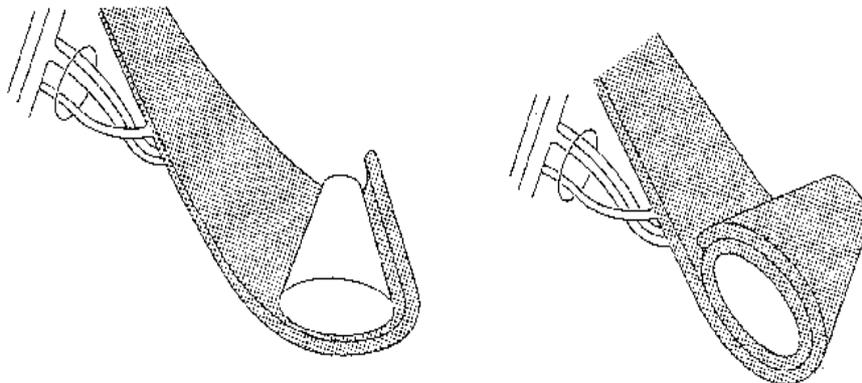
1966 wurde von Termet beim Hund der LDM nach intrathorakal verlagert und wie ein Korsett um das Herz gelegt. Diese so genannte Kardiomyoplastik ermöglichte es, bei einem induzierten Herzstillstand unter elektrischer Stimulation des LDM

systolische Druckwerte von 60 bis 80 mmHg für eine kurze Zeit zu erzeugen (108). Allerdings war aufgrund der Skelettmuskelermüdung keine Langzeitunterstützung möglich (13).

Von großem Nutzen auf diesem Forschungsgebiet stellte sich die Entwicklung eines implantierbaren Muskelschrittmachers von Chiu, Drinkwater und Dewar im Jahre 1980 dar. Durch eine schnelle Folge von Pulsen (bursts) konnten nun kräftige Muskelkontraktionen tetanisch und herzsynchron erzeugt werden (24, 25).

### 1.3.2 Elektrisch konditionierte Skelettmuskelventrikel

Mit Hilfe der bereitgestellten Myostimulatoren wurden nun auch Skelettmuskelventrikel gebaut. Dazu wurde der freipräparierte LDM schraubenförmig zur Formgebung um einen festen Kunststoffkern gewickelt.



*Abbildung 3: Konstruktion des sackförmigen Skelettmuskelventrikels mit hartem Kunststoffkern. In einer zweizeitigen Operation erfolgte nach einem kontinuierlichen Training die anschließende Entfernung des Kunststoffkernes und Integration des Skelettmuskels in den Kreislauf. (Abbildung modifiziert nach Stephenson L; Abbildung aus Guldner NW (50))*

Zunächst platzierte man das System noch extrathorakal und erzeugte über eine entsprechende Stimulation (= elektrische Konditionierung) die Transformation des LDM in einen 100% mit Typ I-Fasern ausgestatteten Ausdauer Muskel. Bei dem

zweiten Eingriff wurde schließlich der Muskel von dem Kunststoffkern abgelöst und als Sackventrikel in den Kreislauf integriert (1, 3, 9, 10, 17, 38, 42, 61, 79).

Es zeigte sich, dass diese Muskelpumpe zwar unermüdbar arbeiten konnte, aber eine erhebliche Leistungs- und Kraftminderung um bis zu 80% aufwies (siehe Abbildung 4 und 5) (98, 99).

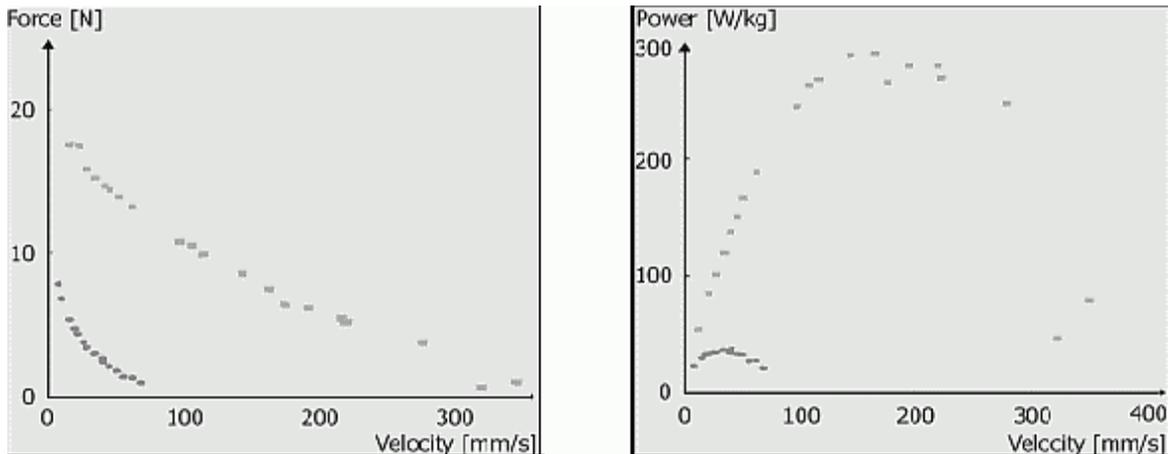


Abbildung 4: Die linke Abbildung stellt das Kraft-Geschwindigkeitsverhalten eines unstimulierten *Musculus tibialis anterior* (helle Symbole) und eines 11-wöchig elektrisch stimulierten Muskels (dunkle Symbole) beim Kaninchen dar.

Abbildung 5: Die rechte Abbildung zeigt das Leistungs-Geschwindigkeitsverhalten eines unstimulierten *Musculus tibialis anterior* (helle Symbole) und eines 11-wöchig elektrisch stimulierten Muskels (dunkle Symbole) beim Kaninchen. (Abbildungen 4 und 5 aus: *Salmons S und Jarvis JC (98)*)

### 1.3.3 Dynamisch trainierte Skelettmuskelventrikel am extrathorakalen Modell

Im Gegensatz zu den bisherigen Untersuchungen an Skelettmuskelventrikeln verfolgte die Arbeitsgruppe um Guldner einen erweiterten Ansatz (43, 44, 53).

Bei Kälbern fand sie heraus, dass eine deutliche Kraftsteigerung bei einem Skelettmuskelventrikel möglich ist, wenn eine elektrische Konditionierung mit einem dynamischen Training kombiniert wird (49, 52). Bei diesem dynamischen Training wurde eine auxotone Kontraktion des *Musculus latissimus dorsi* erreicht, während bei der bisherigen rein elektrischen Konditionierung ausschließlich isometrische Kontraktionen stattfanden (45, 46, 47, 48, 72). Das dynamische

Training erfolgte an einem neu entwickelten elastischen Trainingsgerät, um das der Musculus latissimus dorsi fixiert wurde.

Die Pumpkammer war an die Größe des Musculus latissimus dorsi angepasst. Sie wurde an einen Widerstandsschlauch aus Polyurethan mit einer integrierten elastischen Reservoirblase, die wie die Kammer aus Silikonkautschuk hergestellt worden war, angeschlossen.

Auf diese Weise war ein geschlossener Kreislauf gebildet worden, der durch den Einbau von zwei Herzklappen in die Pumpkammer eine gerichtete Strömung erhielt. Das elastische System war mit physiologischer Kochsalzlösung (NaCl 0,9 %) gefüllt, die der elektrisch stimulierte Muskel gegen den Widerstand des Schlauches pumpen musste (33, 66).

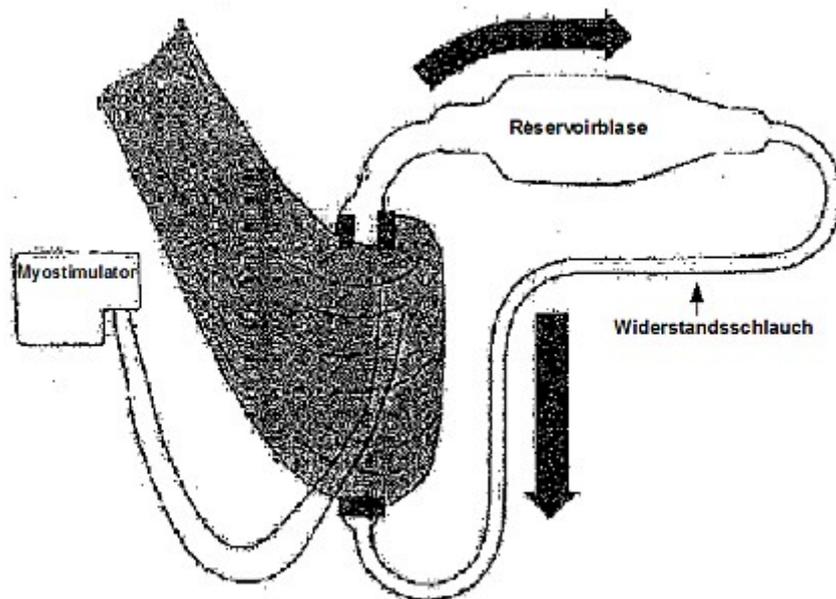


Abbildung 6: Extrathorakales Trainingsmodell als Schemazeichnung mit Einzeichnung der energetisch optimalen Flussrichtung. Der LDM ist extrathorakal um das Trainingsgerät gewickelt worden. (Abbildung modifiziert nach Guldner NW (50))

Dieses Kreislaufsystem wurde schließlich subkutan bei Jersey-Kälbern implantiert. Die Versuchsanordnung mit der Flussrichtung Pumpkammer → Reservoirblase → Widerstandsschlauch (siehe Abbildung 6) erbrachte hierbei eine wesentlich höhere Pumpenergie als die umgekehrte Richtung (Pumpkammer →

Widerstandsschlauch → Reservoirblase) (43, 50). Diese Messergebnisse konnten zeigen, dass ein dynamisches Muskeltraining gegen einen elastischen Widerstand effektiver ist als gegen ein starres System (46, 47, 51).

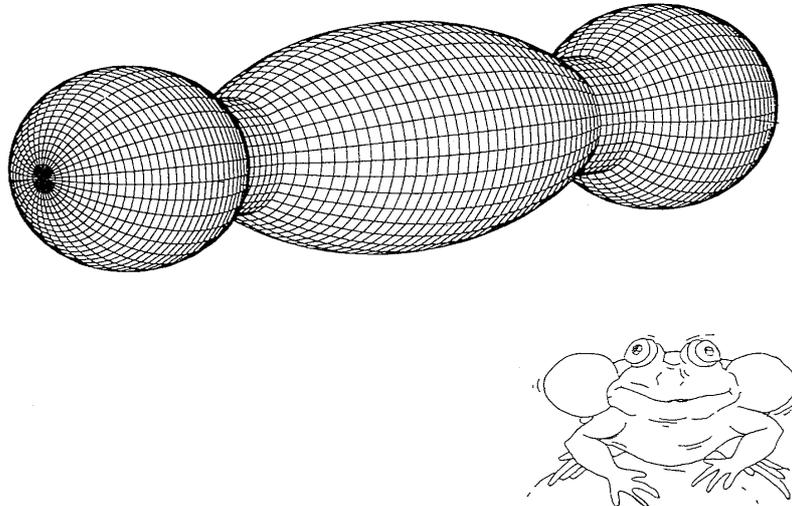
Jedoch ergaben sich bei dieser extrathorakalen Implantation Hautperforationen, die mit erheblichen Eiterbildungen verbunden waren (50). Um diese Komplikation zu vermeiden, wurde ein vergleichbares System zur intrathorakalen Implantation entwickelt.

### *1.3.4 Dynamisch trainierte Skelettmuskelventrikel am intrathorakalen Modell*

Die Anforderungen für das intrathorakale Trainingsgerät beinhalteten, dass es durch seine Größe und Form nicht zur Kompression benachbarter Organe führen durfte und gut fixierbar sein musste. Außerdem sollte das dynamische Training gegen einen der Aorta vergleichbaren elastischen Widerstand durchführbar sein.

Unter Berücksichtigung der oben genannten theoretischen Anforderungen entstand das elastische Trainingsgerät „Frosch“ (44, 50). Das elastische Trainingsgerät bestand aus einer Zentralkammer und zwei elastischen Seitenblasen. Es wurde „Frosch“ genannt, weil es durch seine dehnbaren Seitenblasen an die entsprechenden Schallblasen von Fröschen erinnert (siehe Abbildung 7).

Der „Frosch“ war über einen einlumigen Katheter mit einem subkutan fixierten Vascular Access Port (VAP) verbunden. Über diesen Zugang konnte das Innere des Trainingsgerätes von außen mit isotoner NaCl-Lösung befüllt und entleert werden.



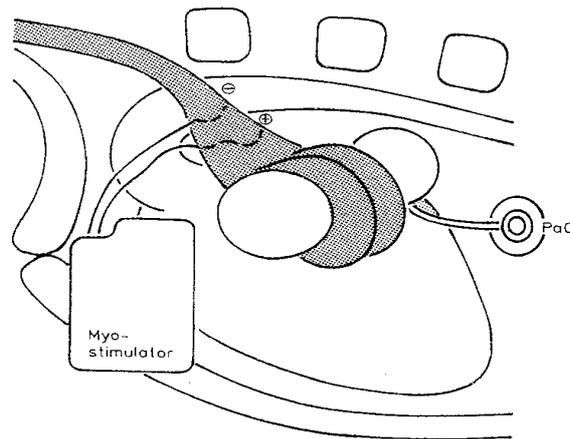
*Abbildung 7: Schemazeichnung des elastischen Trainingsgerätes für Skelettmuskelventrikel. Namensgebend war die optische Ähnlichkeit durch die Seitenblasen zu einem „Frosch“ mit seinen aufgedehnten Schallblasen. (Abbildung aus Guldner NW (50))*

Der *Musculus latissimus dorsi* wurde intraoperativ um die Zentralkammer gewickelt und an diese fixiert. Bei elektrischer Reizung des Muskels konnte eine Kontraktion ausgelöst und die Zentralkammer durch die Muskelverkürzung komprimiert werden. Resultierend aus dem kontraktionsbedingten Druckanstieg im „Frosch“ wurde das Volumen in die elastischen Seitenblasen verschoben. Bei der Muskelrelaxation floss das Schlagvolumen, angetrieben durch die Rückstellkraft der Seitenblasen, wieder zurück in die Zentralkammer und ließ gleichzeitig eine passive Rückdehnung des Muskels zu.

Die mit der Kontraktion und der Kompression einhergehende Volumenverschiebung entsprach einem klinisch relevanten Schlagvolumen. Die Kraft, die der Muskel während der Kontraktion aufbringen musste, änderte sich mit dem Füllungsdruck im Trainingsgerät (45, 49, 72).

Der „Frosch“ lag intrathorakal und war über den Vascular Access Port (VAP) transkutan punktierbar. Somit konnten Druckmessungen erfolgen und unterschiedliche Trainingsdrücke über Volumenveränderungen eingestellt werden

(siehe Abbildung 8). Dieses Trainingsgerät ermöglichte eine Evaluierung der fluiddynamischen Leistungsfähigkeit von Skelettmuskelventrikeln und bot die Grundlage für die Entwicklung optimierter elektrischer Stimulationsmuster und für ein effektives dynamisches Training (50).



*Abbildung 8: Schematische Darstellung der Topographie des intrathorakal platzierten Skelettmuskelventrikels, des subkutan und wirbelsäulennah gelegenen Port-a-Cat (Vascular Access Port) sowie des subkutan und schulternah platzierten Myostimulators. Der Skelettmuskelventrikel wurde in dorsaler Lage zum Herzen und ventral der Aorta an den Rippen fixiert, so dass eine kardiale Kompression vermieden werden konnte. (Abbildung aus Guldner NW (50))*

Außerdem konnte an diesem Modell die Wirksamkeit leistungssteigernder Pharmaka getestet werden. Es stellte sich heraus, dass sich die Muskelkraft durch Gabe des  $\beta_2$ -Rezeptoragonisten Clenbuterol erhöhen ließ. Die kraftverstärkende Wirkung des Pharmakons war bereits im Tierversuch untersucht worden (14, 54, 87, 112).

### 1.4 Problemstellung

Die Herztransplantation ist die einzige definitive Therapie der terminalen Herzinsuffizienz. Wegen des Spendermangels werden alternative, chirurgische Therapieverfahren dringend benötigt. Experimentelle wie auch klinische Erfahrungen haben gezeigt, dass beim Einsatz von muskulären Herzunterstützungssystemen eine 100 %ige Umwandlung in Typ I-Muskelfasern zu einer klinisch nicht tolerierbaren Reduktion der Kontraktionskraft um mehr als 80 % führt (77, 78). Durch eine dabei auftretende Muskelüberlastung tritt durch Sauerstoffmangel des oxydativ arbeitenden Muskels eine progrediente Gewebeerstörung mit Funktionsverlust auf (95, 96, 98, 99).

Bei Untersuchungen von Rigatelli et al. konnte gezeigt werden, dass bei intermittierendem Gebrauch von muskulären Herzunterstützungssystemen sowohl Typ I- als auch Typ II-Fasern erhalten und eine weitgehende Muskelzerstörung vermieden werden kann (92).

Bisher gibt es keine funktionellen und morphologischen Daten derartiger teiltransformierter Skelettmuskelventrikel. Insbesondere wäre die Erzeugung von Pumpvolumina mit klinischer Relevanz von Interesse. Deshalb soll in Großtierversuchen an Ziegen funktionell und morphologisch geklärt werden, ob SMVs langfristig einen teiltransformierten Zustand aufrecht erhalten und ihre Pumpleistung beibehalten können.

Dieses Kollektiv mit teiltransformierten SMVs soll mit einer zweiten, bereits publizierten Gruppe mit 100 % Typ I-Faser-Ventrikeln (50, 51) verglichen werden, bei denen es nach einigen Trainingsmonaten zu klinisch nicht akzeptablen Funktionseinbußen kam.

Beide Gruppen sollten sich in ihren Stimulationsmustern unterscheiden. Während die Skelettmuskelventrikel der Kontrollgruppe permanent durch Burststimulation zum Pumpen angetrieben wurden (50, 51), stimulierten wir die SMVs der Testgruppe, nach einer 14-tägigen Prästimulation in situ, intermittierend unter Einhaltung einer mittleren Stimulationsfrequenz von maximal 0,7 Hz pro Tag. Dabei erwarteten wir für die zu untersuchende Gruppe teiltransformierter

Skelettmuskelventrikel eine länger andauernde Pumpfunktion als bei kontinuierlich elektrisch stimulierten SMVs der Kontrollgruppe. Der Funktionserhalt mit einer Teiltransformation (Erhalt von Typ II- MHC) sollte mit einem weitgehend intaktem Muskelgewebe korrelieren.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere kamen, sowohl in der bereits bekannten und veröffentlichten Kontrollgruppe (50, 51), als auch in meiner Gruppe (Testgruppe), Burenziegenböcke zur Verwendung. Die Ziegenböcke hatten ein Gewicht von  $78,25 \pm 9,72$  kg, das mit dem eines erwachsenen Menschen vergleichbar ist.



*Abbildung 9: Burenziegenböcke auf dem Gelände der Gemeinsamen Tierhaltung der Medizinischen Universität Lübeck. (Abbildung aus Guldner NW (50))*

Ihr Thorax war großräumig und ließ somit die Implantation des elastischen Trainingsgerätes („Frosch“) mit einem Füllungsvolumen von 250 ml zu. Als Fleischziege besaß sie einen kräftigen breiten Rückenmuskel von 300 bis 450 Gramm.

Die für die Versuche eingesetzten Tiere waren mit einem Alter von  $4,3 \pm 2,2$  Jahren erwachsene Tiere. Wachstumstiere wären mit den muskulären

Anforderungen bei einem klinischen Einsatz an erwachsenen Patienten nicht vereinbar gewesen.

Die Ziegen waren in der Gemeinsamen Tierhaltung der Medizinischen Universität zu Lübeck (Leitung: Dr. med. vet. R. Noel) untergebracht. Der Tierversuchsantrag mit der Nummer V 742-722-41.122-6 (138-5/03) war durch das Regierungspräsidium des Landes Schleswig-Holstein genehmigt, und die Ziegen wurden durch den Tierschutzbeauftragten des Landes Schleswig-Holstein (Dr. med. vet. R. Noel) beaufsichtigt.

Damit die artgerechte Unterbringung in einer Herde für Pflegepersonal und Artgenossen ohne Verletzungsrisiko durch Rangkämpfe und unkontrollierbares Verhalten vertretbar war, wurden alle Böcke kastriert. Die beidseitige Orchidektomie wurde einige Wochen vor Versuchsbeginn durchgeführt.

Bei Ziegen entspricht die Topographie und Gliederung des Musculus latissimus dorsi weitgehend derjenigen des Menschen (siehe Abbildung 10). Bei Mensch und Ziege besteht der Muskel aus drei Anteilen, wobei bei Ziegen der oberste und kleinste Anteil fest mit dem Schulterblatt verwachsen ist. Daraus resultierte, dass bei Ziegen nur die unteren beiden, leicht ablösbaren Anteile (Pars obliquus und Pars lateralis) für einen Skelettmuskelventrikel brauchbar waren, während beim Menschen alle drei Muskelabschnitte verwandt werden könnten.

Der Muskel bewirkt beim Menschen und auch bei der Ziege die Adduktion, Retroversion und Senkung der erhobenen Extremität (93). Die Verwendung des LDM für einen Skelettmuskelventrikel führt zu keinem nennenswerten Funktionsverlust im Schultergürtel. Umliegende Muskelgruppen können die für die Bewegung ausgefallene muskuläre Funktion sowohl bei der Ziege als auch beim Menschen vollständig kompensieren.

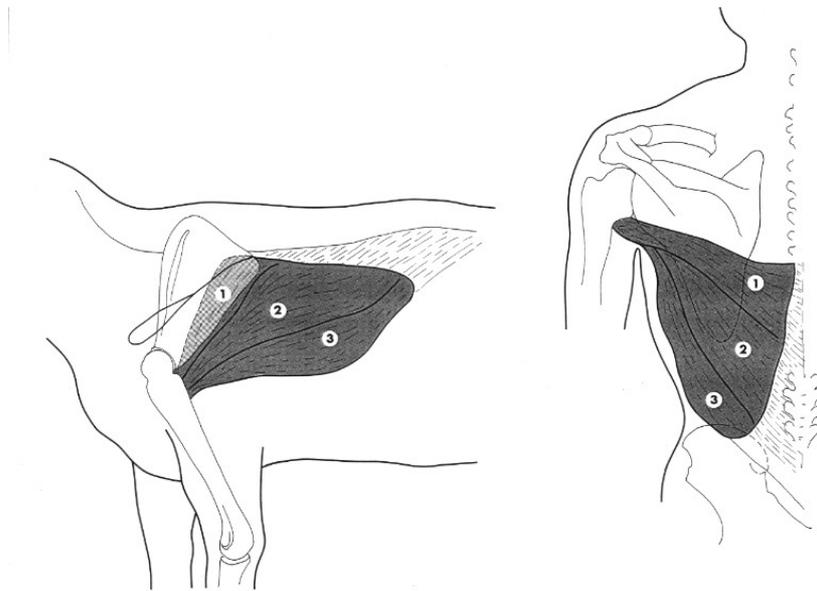


Abbildung 10: Anatomie des Musculus latissimus dorsi bei der Ziege (links im Bild) und beim Menschen (rechts im Bild). (1) Pars transversus (bei der Ziege fest mit der Skapula verwachsen) (2) Pars obliquus (3) Pars lateralis. (Abbildung aus Guldner NW (50))

### 2.2 Elastisches Trainingsgerät

Das Trainingsgerät, genannt „Frosch“, wurde aus Silikonkautschuk (Zusammensetzung 70 % Elastomer Dow Corning MDX 4-4210, 20 % Silicone Fluid Dow Corning 200 Fluid 100CS, 10 % Curing Agent Dow Corning MDX 4-4210) gegossen. Es bestand aus einer Zentralkammer und zwei elastischen Seitenblasen. Um die Ausdehnung der Zentralkammer zu verhindern, war sie mit Nylonnetzen verstärkt (siehe Kapitel 2.8). Auf die äußere Schicht der Zentralkammer war zusätzlich Dacron-Gewebe einer handelsüblichen Gefäßprothese mit Silikonkleber aufgebracht, um ein Verwachsen des LDM mit der Zentralkammer zur Muskelfixierung zu ermöglichen.

Die Größe ergab sich aus den zu erzeugenden Schlagvolumina, dem muskulären Kontraktionsweg, den Abmessungen des Musculus latissimus dorsi und dem Platz, der bei der Ziege intrathorakal für einen SMV zur Verfügung stand.

Die Maße des elastischen Trainingsgerätes („Frosch“) waren:

Gesamtlänge:	200 mm
Zentralkammer:	90 mm
Seitenblasen: je	45 mm
Maximaldurchmesser der Zentralkammer:	54 mm
Maximalvolumen des Gesamtmodells:	250 ml

Die Dehnbarkeit der Froschblasen war so konzipiert, dass sie einer der Aorta entsprechenden Compliance von 1,07 ml/mmHg (111) entsprach. Es gelang, diese Bedingungen im Trainingsgerät unter Laborbedingungen nachzuahmen (72).

In der Wand zwischen Zentralkammer und Seitenblase befand sich einseitig ein einlumiger Katheter, der zum Vascular Access Port (VAP, Access Technologies, Skokie, Illinois/USA) führte. Über diesen Katheter konnte auch die Befüllung des intrathorakalen „Frosches“ stattfinden. Bei der intraoperativen Erstbefüllung verwendeten wir physiologische Kochsalzlösung (NaCl 0,9 %) mit einem Antibiotikazusatz (Gentamicin) zur Infektionsprophylaxe. Über den Katheter konnten Drucke registriert werden, die eine Schlagvolumenbestimmung zuließen. Die Pumpfunktion des Trainingsgerätes wird in der Abbildung 11 dargestellt.

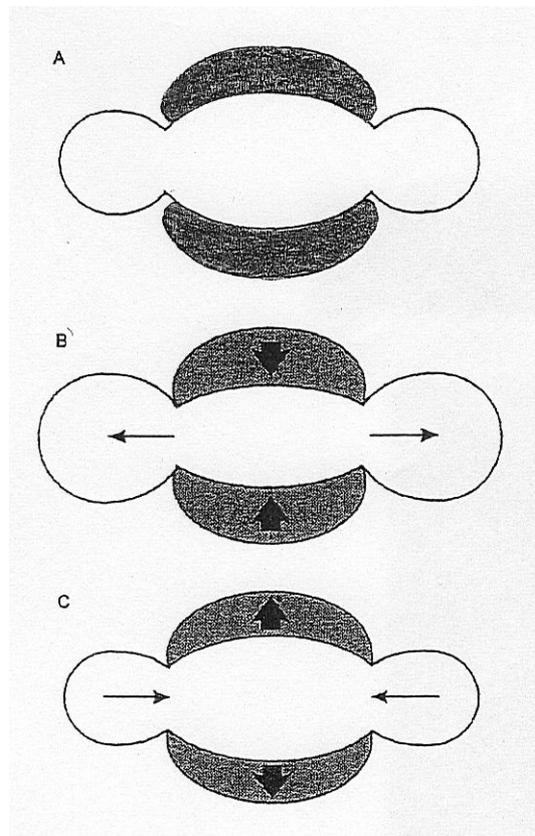


Abbildung 11: Funktionsprinzip des Skelettmuskelventrikels an dem Trainingsgerät „Frosch“: Der Muskel wurde um die Zentralkammer gelegt und fixiert. Nach Muskelstimulation wurde die Zentralkammer komprimiert. Das darin befindliche Volumen gelangte in die Seitenblasen, die sich entsprechend aufdehnten. Die in den gespannten Seitenblasen gespeicherte Energie drückte das Schlagvolumen in die Zentralkammer zurück. Damit nahm der Muskel seine Ausgangslage wieder ein. Die Volumenrückverschiebung erfolgte somit passiv und ohne Muskelbeteiligung. Der SMV konnte sich erneut kontrahieren und wiederum ein Schlagvolumen generieren, so dass ein dynamisches Training stattfinden konnte. (Abbildung modifiziert nach Guldner NW (50))

## 2.3 Stimulatoren und Elektroden

### 2.3.1 Myostimulatoren

Zur Stimulation des SMV wurde in unseren Versuchen ein implantierbarer Myostimulator benötigt.

Für die Prästimulation des LDM wurde der Myostimulator Itrel Modell 7424 (Medtronic, Minneapolis, MN/USA) benutzt.

Für die intermittierende elektrische Stimulation der SMVs genügte dieser Myostimulator nicht unseren Ansprüchen. Hierfür sollte der Myostimulator perkutan programmierbar sein und eine Burst-Stimulation zulassen. Variable Parameter sollten die Ausgangsspannung am Stimulator, die Burst-Frequenz und die Burst- sowie die Impuls-Breite sein. Ein „On- und Off-Modus“ für unterschiedliche Zeitintervalle war ebenfalls erforderlich.

Da die handelsüblichen Myostimulatoren solche Anforderungen nicht leisten konnten, verwendeten wir einen selbst entwickelten, in Kunstharz gegossenen, Schrittmacher. Es wurde somit eine kostengünstigere Alternative zu den herkömmlichen Myostimulatoren geschaffen, die die für den Versuch nötigen Parameter generieren konnte.

### *2.3.2 Muskelelektroden*

Zur Stimulation des Nervus thoracodorsalis wurde eine modifizierte epimysiale Elektrode von 30 cm Länge verwendet (Medtronic SP5591-500-60-NMS, Minneapolis, MN/USA). Unsere Modifikation der Elektrode bestand darin, dass wir auf einer Länge von 30 mm das Ende der Elektrode von ihrer Isolation befreiten und den Spiraldraht auf ein 10 x 50 mm großes Dacronblättchen aufnähten. Dieses Elektroden-„Blättchen“ nähten wir mit 5-0 Prolene-Nähten (Ethicon, Hamburg/Deutschland) quer über die sich aufzweigenden Äste des Nervus thoracodorsalis am Stiel des LDM.

Die zweite Elektrode (Medtronic SP5591-500-60-NMS, Minneapolis, MN/USA) wurde auf der Gegenseite des Muskels subfaszial implantiert und an beiden Enden mit 5-0 Prolene (Ethicon, Hamburg/Deutschland) fixiert.

## 2.4 Operationsverfahren

Zur Einleitung der Anästhesie wurde intramuskulär ein Gemisch aus 25 mg Xylazinhydrochlorid (Rompun®, BayerVital GmbH, Leverkusen/Deutschland) und 115 mg Ketamin (Ursotamin®, Serumwerk Bernburg AG/Deutschland) in den Musculus gluteus maximus injiziert. Danach folgte die oro-tracheale Intubation mit einem herkömmlichen Endotrachealtubus (Größe: 8 Charrière) und eine intraarterielle Blutdrucküberwachung über die Ohrarterie.

Zur Erhaltung der Narkose wurden 10-30 ml/h Propofol 2 % (Disoprivan 2 %, GlaxoWellcome, Bad Oldesloe/Deutschland) intravenös appliziert.

Der Hautschnitt erfolgte linksthorakal entsprechend dem Verlauf der dritten Rippe. Der Musculus latissimus dorsi wurde freipräpariert und an seinen thorakalen Ursprüngen durchtrennt. Das Gefäß-Nerven-Bündel schonten wir sorgsam bei der Präparation. Die Ansatzsehne am Humerus wurde durchtrennt und mit Hilfe einer Dacronprothese so verlängert, dass sie von außen am Thorax, ventral einer oberen Thorakotomie, im zweiten Interkostalraum mit 2-er geflochtenen TiCron-Nähten (Ethicon, Hamburg/Deutschland) fixiert werden konnte.

Anschließend wurden die beiden Elektroden, wie bereits im Kapitel 2.3.2 beschrieben, auf den Muskel genäht. Der Elektrodenabstand entsprach der Dicke des Muskels und lag damit zwischen 1,5 und 3 cm.

Danach wurden die lateralen Ränder des Muskels miteinander so fixiert, dass ein Muskelschlauch entstand. Nun wurde der Muskelschlauch an dem bereits befüllten „Frosch“ in der Art aufgebracht, dass die Seitenränder des LDM jeweils auf zwei Teflonringe, die an den Enden der Zentralkammer aufgeklebt waren, angenäht wurden.

Nach der Teilresektion der zweiten und dritten Rippe links wurde der Skelettmuskelventrikel schließlich in den Thorax versenkt und mit kräftigen Perikostalbändern aus Teflon von innen an vier Punkten an der Thoraxwand befestigt. Anschließend wurden subkutan der Vascular Access Port sowie der Schrittmacher (In-house, Lübeck/Deutschland) in einer Hauttasche platziert und fixiert.

### 2.5 Medikation

Zur Unterstützung des dynamischen Trainings erhielten alle Ziegenböcke den  $\beta_2$ -Rezeptoragonisten Clenbuterol (Boehringer-Ingelheim, Ingelheim/Deutschland). Klinisch wird Clenbuterol zur Therapie der obstruktiven Atemwegserkrankungen eingesetzt. Dabei werden die  $\beta_2$ -Rezeptoren der glatten Bronchialmuskulatur zur Dilatation stimuliert (67). Außerdem wird das Medikament wegen seiner anabolen Wirkung zur Rindermast (54) und im Leistungssport zum Doping eingesetzt (67). Die Leistungssteigerung von Clenbuterol wurde an der Skelettmuskulatur von verschiedenen Arbeitsgruppen bewiesen (50, 51, 80, 87, 112). Da eine gesteigerte Krafterzeugung des Musculus latissimus dorsi erwünscht war, bot sich die medikamentöse Unterstützung der SMVs durch dieses Doping-Mittel an. Die bei  $\beta_2$ -Mimetika bekannte Nebenwirkung der kardiogenen Arrhythmogenität von Clenbuterol, die bei Untersuchungen an der Ratte gezeigt werden konnte (34, 87), war bei unserer Dosierung vernachlässigbar.

Unsere Dosierung orientierte sich an der klinisch bei Erwachsenen eingesetzten täglichen Maximaldosis von 100  $\mu\text{g}$  per os (67) und der Vermutung, dass die vormals eingesetzten 500  $\mu\text{g}$  Clenbuterol dreimal wöchentlich per os zu hoch gewählt waren (50, 51).

Somit wurde unseren Ziegen in den ersten zwei Wochen täglich jeweils eine Kapsel à 150  $\mu\text{g}$  per os appliziert, um eine Aufsättigung mit der Substanz zu erwirken (50, 51). Ab der dritten postoperativen Woche reduzierten wir die Dosis bei den Burenziegenböcken auf eine Kapsel dreimal pro Woche.

### 2.6 Stimulationsmuster

#### 2.6.1 Präoperative Stimulation

Zunächst wurde der LDM prästimuliert. Die Prästimulation ist ein elektrisches Stimulationsverfahren des Muskels in situ. Dadurch werden intraoperativ auftretende Ischämien der lateralen Muskelabschnitte des SMVs vermindert (8).

Dieses ist darauf zurückzuführen, dass durch die elektrische Reizung intramuskuläre Anastomosen zwischen dem Gefäßgebiet, das aus der Arteria thoracodorsalis versorgt wird, und demjenigen, das aus den Interkostalarterien gespeist wird, eröffnet oder neu angelegt werden. Damit erhöht sich der Blutfluss besonders in der Peripherie des Muskels. Außerdem wird durch intermittierend intensive Stimulation eine relative Ischämie ausgelöst, die das Kapillarwachstum fördert (8, 63). Dadurch wird im Muskelgewebe eine gute Versorgung gewährleistet, die Voraussetzung für eine ausreichende Pumpfunktion darstellt (2, 8, 16, 45, 46, 47, 48).

Die Prästimulation erfolgte bei unseren Tieren in der ersten Woche mit einer niederfrequenten Dauerstimulation von 2 Hz. In der zweiten Woche wurde der Schrittmacher umprogrammiert. Die Stimulation fand dann mit 8 bpm (bursts per minute) statt. Dabei wurde eine tetanische Muskeleerregung ausgelöst, indem pro Burst jeweils 6 Pulse bei einer Frequenz von 33 Hz abgegeben wurden. Daraus resultierte eine On-Zeit von etwa 0,2 Sekunden pro Burst.

### *2.6.2 Postoperative Stimulation*

Nach der Prästimulation dienten die Stimulationsmuster einem dynamischen Training von Skelettmuskelventrikeln.

Zur Wahl des Stimulationsmusters für das dynamische Training wurde in Anlehnung an die Erkenntnisse von Lopez-Guajardo et al. eine maximale Stimulationsfrequenz festgelegt. Lopez-Guajardo et al. stellten fest, dass bei Kaninchen die erwünschte Muskelfasertransformation nur erreicht werden konnte, sofern die Summation der applizierten Stimulationsimpulse pro Tag nicht einen Maximalwert von 5 Hz überschreitet (77, 78).

Vergleichende Arbeiten zeigten schließlich, dass die maximale Pulsfrequenz - das heißt eine mittlere Stimulationsfrequenz, die noch nicht zur Schädigung und vollständigen Fasertransformation des Muskels führt - umso niedriger angelegt sein sollte, je größer die Spezies ist (66, 106). Deshalb legten wir den Wert für unsere Versuche bei 0,7 Hz fest. Das entspricht einer Pulsanzahl von 42 Pulsen pro Minute und ließe somit bei 6 Pulsen pro Burst 7 Bursts pro Minute zu.

Der Schrittmacher wurde für diesen Versuch so programmiert, dass sich die Anzahl der Bursts pro Minute wöchentlich vom Ausgangswert 3 bpm auf den Maximalwert von 30 bpm steigerten (siehe Tabelle 2). Entsprechend dem Vorhergesagten mussten somit bei Stimulation mit mehr als 7 bpm Pausen eingelegt werden, damit die mittlere Pulsfrequenz nicht überschritten wurde. Dieses setzten wir durch einen Tag-/Nacht-Rhythmus um, wobei zusätzlich tagsüber alle zehn Minuten eine viertelstündige Stimulationspause einlegt wurde. Somit bestand eine Stimulationsaktivität am Tage von 20%. Auf diese Weise konnte eine klinische On-Demand-Muskelstimulation simuliert werden.

*Tabelle 2: Stimulationsprotokoll der intermittierend dynamisch trainierten Skelettmuskelventrikel der Testgruppe.*

<b>Zeitraum [Woche]</b>	<b>Burst per minute (bpm)</b>	<b>Pulse pro burst [ n ]</b>	<b>Pulsbreite [ <math>\mu</math>s ]</b>	<b>Amplitude [ V ]</b>	<b>Frequenz [ Hz ]</b>
1	3	6	210	2-5	33
2	6	6	210	5	33
3	10	6	210	7-8	33
4	15	6	210	7-8	33
5	20	6	210	7-8	33
6	25	6	210	7-8	33
> 7	30	6	210	7-8	33

### 2.7 Kontrollgruppe

Die Tiere der Kontrollgruppe (n=5) wurden aus bereits publizierten Datensätzen (50, 51) generiert.

Diese Gruppe wies eine 100 %ige Fasertransformation zu Typ I-MHC im Verlauf eines Trainings unter kontinuierlicher Stimulation auf. Die Stimulationsschemata beinhalteten ein kontinuierliches postoperatives Training bei einer Frequenz zwischen 33 und 50 Hz, einer Pulsbreite zwischen 120 und 400  $\mu$ s, einer

Spannung von 5 bis 8 V. Die Anzahl der Pulse pro Stimulus war stetig zunehmend. Zur Stimulation wurde der Schrittmacher Itrel (Medtronic, Minneapolis, USA) eingesetzt. Es erfolgte keine Prästimulation vor dem im Mittel postoperativ  $134 \pm 69$  Tage dauernden Training.

Alle diese bekannten Tiere erhielten trainingsbegleitend den  $\beta_2$ -Agonisten Clenbuterol in selbiger Dosierung wie die Testgruppe (Aufsättigung hier über zwei Wochen mit fünf mal 150  $\mu\text{g}$  per os pro Woche, im Verlauf dann ebenfalls dreimal wöchentlich 150  $\mu\text{g}$  Clenbuterol per os).

Es wurden nur diejenigen Tiere in der Kontrollgruppe berücksichtigt, die unter den gegebenen Bedingungen in den ihnen zugehörigen Gruppen Bestleistungen erbrachten. Damit sollte sichergestellt werden, dass keine Gegenüberstellung mit Trainingsversagern der 100 % Typ I-SMV-Gruppe stattfand. Die Datenerhebung sowie die statistische Auswertung erfolgte für die Skelettmuskelventrikel der bekannten Kontrollgruppe in gleicher Weise wie für unsere Testgruppe.

## **2.8 Messverfahren**

### *2.8.1 Druckmessung*

Die intrakavitäre Druckmessung wurde mittels des einlumigen Katheters, der mit der Zentralkammer des Trainingsgerätes verbunden war, durchgeführt.

Bei den Ziegen punktierten wir einmal wöchentlich perkutan den Vascular Access Port (VAP) mit einer Kanüle, um Zugang zum Katheter und damit zum „Frosch“ zu bekommen. Ein angeschlossenes Druckmesssystem ermöglichte die Bestimmung des jeweiligen Ruhedruckes, des Druckes bei Kontraktion des SMVs und der Druckänderungen bei der Compliancebestimmung des elastischen Trainingsgerätes. Die Werte wurden zeitgleich mit einer Auflösung von 12 bit digitalisiert und zur Auswertung auf dem Computer gespeichert.

Bei jeder Messung war mit Hilfe des Port-Systems eine in-situ-Ruhedehnungskurve erstellbar: Zunächst wurde der Froschinnendruck mit dem umgebenden atmosphärischen Luftdruck auf Null kalibriert, um einen Nullpunkt zu erhalten. Anschließend gab man via Vascular Access Port fraktioniert Volumen in

die Kavität des „Frosches“, welches einen Druckanstieg im System bewirkte. Es wurden jeweils 5 ml isotone Kochsalzlösung zugefügt und man notierte nach jeder Volumengabe den zugehörigen Druckwert im Trainingsgerät. Es wurde soviel Volumen in den „Frosch“ gegeben, bis die Druckwerte die des maximalen Druckes unter Kontraktion überschritten.

Nach Abschluss der Messung wurde dem elastischen Trainingsgerät wieder Volumen entzogen, so dass ein Trainingsdruck im „Frosch“ von 60 mmHg erreicht wurde. Die Relation beigefügtes Volumen zu Druckanstieg wurde als Kennlinie dokumentiert und entsprach den Ruhe-Dehnungskurven der Froschblasen in situ. Die während der Arbeitsphase des Myostimulators auf dem Computer aufgezeichneten Druckkurven bei LDM-Kontraktion waren relevant für die Beurteilung aller fluiddynamischen Parameter. Für jedes der Tiere erfolgte die Auswertung von mindestens zehn Kontraktionskurven pro Versuchstag.

### *2.8.2 Schlagvolumen- und Schlagenergiebestimmung*

Ein dynamisches Skelettmuskelventrikeltraining zeichnet sich dadurch aus, dass während einer Muskelkontraktion Volumen gegen einen elastischen Widerstand gepumpt wird. Dieses Schlagvolumen konnte folgendermaßen bestimmt werden: aus einer Volumenverschiebung  $\Delta V$  im „Frosch“ resultierte ein Druckanstieg  $\Delta P$ . Bezog man nun den Druckanstiegswert  $\Delta P$  auf die zuvor erstellte Ruhedehnungskurve, ließ sich das entsprechende Schlagvolumen  $\Delta V$  ablesen.

Die Berechnung der Schlagvolumina mit der beschriebenen Methode wurde von einer eigens zu diesem Zwecke entwickelten Software durchgeführt (71, 72). Das Computerprogramm errechnete sowohl Schlagvolumen als auch Schlagenergie und die erbrachte Pumpleistung.

Das Integral unter der Ruhe-Dehnungskurve in den Grenzen des Schlagvolumens ergab die Schlagenergie (siehe Abbildung 12). Die Tagesenergie konnte errechnet werden, indem die Schlagenergie mit der Anzahl der Schläge pro Tag multipliziert wurde.

In dieser Arbeit gilt die Schlagenergie als direkter Energie-Vergleich zwischen den beiden Tiergruppen, da die Anzahl der Schläge im Rahmen der Stimulationsmuster differierten und somit die Tagesenergie veränderten.

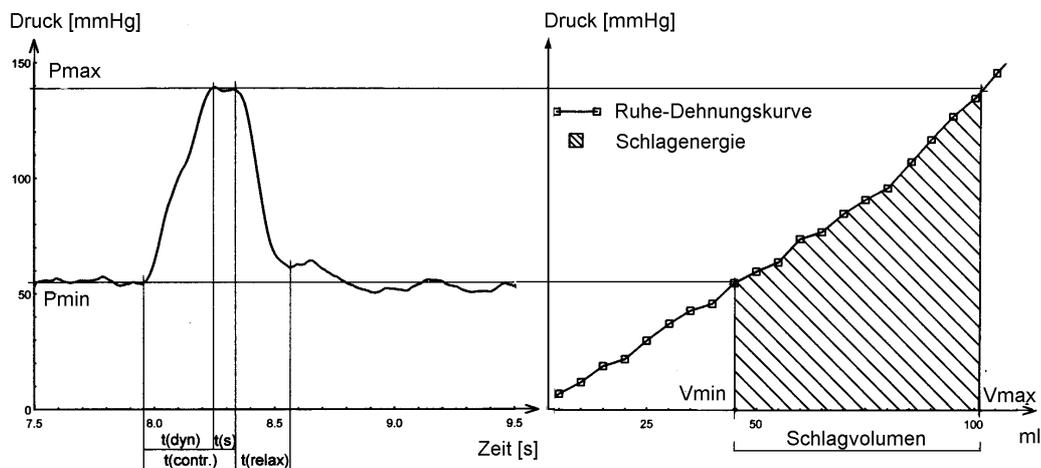


Abbildung 12: Prinzip der Schlagvolumenbestimmung: Beim Bezug des Druckanstieges bei Ventrikelkontraktion (linksseitig) auf die Ruhe-Dehnungskurve der Froschblasen (rechtsseitig) lässt sich das Schlagvolumen ablesen. Die schraffierte Fläche unter der Ruhe-Dehnungskurve stellt die Schlagenergie dar. (Abbildung nach Klapproth et al.(72))

### 2.8.3 Kontraktilitätsparameter

Druckänderungsgeschwindigkeiten während einer Kontraktion wurden vom Ruhedruck bis zur maximalen Druckentwicklung als  $+ dP/dt_{max}$ , beziehungsweise vom Maximaldruck bis zum Erreichen des Ruhedruckes als  $- dP/dt_{max}$  bestimmt. Die Daten wurden aus den intrakavitären Druckkurven generiert. Mit Hilfe der Software easyplot (easyplot for Windows Version 4.0.3, Cherwell Scientific, Spiral Software, UK) konnten die Zeiten und Drucke in den Kontraktionskurven vermessen werden. Für jeden Trainingstag erfolgte die Bildung von Mittelwert und Standardabweichung aus den Werten von fünf Kontraktionskurven.

Ein weiteres Maß für die Schnelligkeit der Muskelkontraktion des SMV sind die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit  $\Delta t_{Anstieg}$  und die Halbwertszeit des Druckabfalles  $\Delta t_{relax \frac{1}{2}}$  bei Relaxation des SMV. Sie wurden anhand des oben genannten Computerprogramms berechnet (71, 72).

## **2.9 Morphometrie**

### *2.9.1 Probengewinnung*

Zur Bestimmung des muskulären Transformationsgrades wurden zu Beginn und nach Abschluss des Versuches Muskelbiopsien entnommen. Intraoperativ erfolgte die Probenentnahme mit einem Volumen von etwa  $0,25 \text{ cm}^3$  aus dem Muskelanteil, der auch den SMV umschließen sollte. Außerdem wurde der gesamte freipräparierte Muskel mittels einer Federwaage (Messbereich bis 500 Gramm) gewogen.

Bei Versuchsende wurde der Skelettmuskelventrikel von der Thoraxwand exzidiert und die Muskelbiopsie aus der mittleren Zirkumferenz an der Einmündung des Muskelstiels des SMVs entnommen.

### *2.9.2 Mikroskopie*

Die Muskelbiopsien wurden histologisch aufgearbeitet. Hierfür erfolgte eine Paraffineinbettung mit nachfolgender Schnitt-Anfertigung und Färbung. Die gewählte Färbemethode war die Doppelfärbung mit Hämalaun-Eosin (HE-Färbung).

Unterstützt durch eine semiautomatische Analyse wurden die Muskelpräparate lichtmikroskopisch ausgewertet, wofür folgende Geräte Verwendung fanden:

- ZEISS Universal Lichtmikroskop mit manuell verschiebbarem Objektisch (Zeiss Universal, Jena/Deutschland)
- Zeichenspiegel (am Mikroskop justiert)
- IDMS (Interaktives Digitizer Messsystem, IMA, Dortmund/Deutschland) mit einem Digitalisiertablett und Cursor (Mouse)
- Personal Computer mit Microsoft Windows Software (Version 3.0)

Über den Zeichenspiegel wurde ein Lichtpunkt, der von einer am Cursor befindlichen Lichtquelle stammte, in das Okular projiziert. Dadurch, dass durch das Okular das auf dem Objektisch gelegene Präparat betrachtet wurde, stellte sich nun der durch Cursorbewegungen verschiebbliche Lichtpunkt in dem auf dem Objektisch befindlichen Präparat dar. Durch Bewegung des Cursors konnten auf diese Weise die einzelnen Muskelfasern unter Sichtkontrolle umfahren werden. Die Koordinaten der Konturen wurden mit Hilfe des Digitalisiertablets an den Computer übertragen. Daraus berechnete dieser frei wählbare Parameter (u.a. Querschnitte, Länge), die auf der Festplatte abgespeichert wurden.

Die Betrachtung der Muskelpräparate erfolgte in einer 63-fachen Vergrößerung, die gerade noch eine Abbildung eines gesamten Muskelfaszikels im Messfeld ermöglichte. Auf diese Weise sollte eine Objektischverschiebung während des Markierungsvorganges vermieden werden. Somit wurden Messungenauigkeiten durch Verschiebung des Messfeldes ausgeschlossen. Trotz der relativ geringen Vergrößerung waren die einzelnen Muskelfasern gut zu differenzieren.

Das Messfeld bestand horizontal aus fünf Zeilen und vertikal aus fünf Reihen; wies folglich 25 Felder auf. Die Auszählung der Felder erfolgte nach einem festgelegten Schema, um ein mehrfaches Umfahren einer Faser zu vermeiden: Innerhalb eines Messfeldes wurden alle Fasern gezählt, die die linke und obere Messfeldgrenze überschritten, und diejenigen ausgeschlossen, die die untere oder rechte Grenzlinie überschritten. So wurde für jedes Messfeld vorgegangen, so dass der Gesamtdatensatz alle Fasern einmalig enthielt.

Das Objekt wurde mäanderförmig durchfahren, das heißt der Objektisch wurde nach jeder Auszählung eines Faszikels drei Faszikel in horizontaler Richtung und zwei Faszikel in vertikaler Richtung verschoben. Auf diese Weise war eine untersucherunabhängige Faszikelauswahl gewährleistet. Pro Tier erfolgte die Auswertung von zehn Faszikeln, wobei die Messung an einer willkürlichen Stelle im Objekt begann.

Die Bestimmung der Vergrößerung erfolgte mit Hilfe eines Objektmikrometers und eines auf dem Digitalisiertablett liegenden Lineals. So konnte die messtechnische Vergrößerung zwischen Präparat und Messtablett berechnet werden. Es lag eine 360-fache optische Vergrößerung vor.

Durch Übertragung der Originaldaten in Microsoft Excel konnten die Datensätze unter Einbeziehung eines Vergrößerungsfaktors von 7,108 modifiziert und zur weiteren Verarbeitung und statistischen Aufarbeitung genutzt werden.

### *2.9.3 Muskelfaserquerschnittbestimmung*

Mit dem Lichtpunkt des Cursors wurden jeweils der Faszikel und alle darin enthaltenen Muskelfasern umfahren. IDMS speicherte dabei die maximalen und minimalen Durchmesser in  $\mu\text{m}$  und die Koordinaten des betreffenden Areal im Messfeld ab.

Beim Laden dieser Datensätze in Excel konnten nun nach Multiplikation mit dem Vergrößerungsfaktor Mittelwert, Standardabweichung, Median und Quartile der minimalen Durchmesser der Fasern eines Faszikels errechnet werden. Pro Tier wurden die Ergebnisse der zehn ausgewerteten Faszikel zusammengestellt.

## **2.10 Analyse der schwerkettigen Myosine**

Für die biochemische Analyse wurde das entnommene Biopsiematerial in flüssigem Stickstoff eingefroren und bei einer Temperatur von  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert.

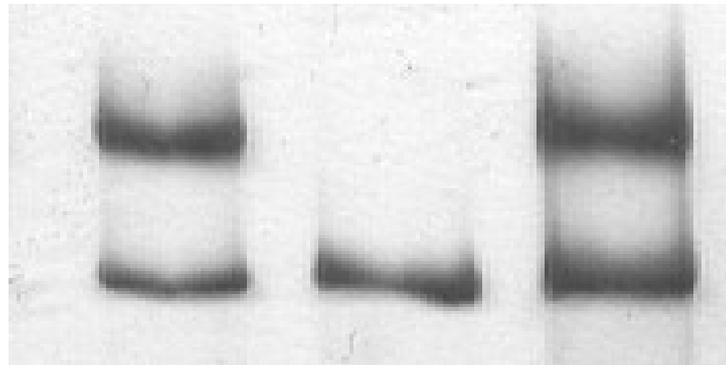
Zur Aufarbeitung erfolgte ein standardisiertes Pulverisierungsverfahren, dem sich die Myosinextraktion nach Hoh et al. anschloss (56, 57, 58, 59).

Die gewonnenen Substrate konnten anschließend auf ein Acrylamid-Gel zur elektrophoretischen Auftrennung gebracht werden. Bei einer elektrischen Spannung von 150 Volt verlief nun in einem Zeitraum von 16 bis 20 Stunden die analytische Probentrennung (69, 73).

Nach Herauslösung des Gels aus der Elektrophoresekammer bedurfte es einer Fixation in 50 % Methanol über 24 Stunden, die Voraussetzung für die nachfolgende Bandenanfärbung mit einer Silberfärbung nach Oakley war (84).

In der Gelelektrophorese zeigen Typ I-MHC und Typ II-MHC deutlich unterschiedliche Laufgeschwindigkeiten, weswegen sich die Banden unterscheiden ließen. Typ I-Fasern enthalten MHC I; Typ II-Fasern entsprechend MHC II. Da die Präparate erfahrungsgemäß nur eine begrenzte Haltbarkeit

aufweisen, wurden die gefärbten Gele mittels eines Scanners digitalisiert und in die Auswertungssoftware Gel-Pro Analyzer (Version 3.0) eingelesen (73).



*Abbildung 13: Ausschnitt aus einem der gefärbten Gele. Zur Darstellung kommt die Myosin-Schwerkettenverteilung: Myosin-Schwerketten Typ II stellen sich in der oberen Bande, Typ I in der unteren Bande dar. Die linke Probe zeigt einen prospektiven, untrainierten Muskel mit überwiegender Typ II- Schwerketten, in der mittleren Probe färbt sich nur die Typ I-Myosin-Schwerkettenbande. Dieses Bild ist typisch für einen kontinuierlich dynamisch trainierten Muskel der Kontrollgruppe. Rechts im Bild: Bandenverteilung des etwa 50 % Myosin-Schwerkettentyp II-Muskels unserer dynamisch, intermittierend trainierten Testgruppe.*

### **2.11 Statistische Verfahren**

Mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test wurden die Messwerte und die absoluten Fehler auf eine Normalverteilung geprüft. Hierbei ergab sich, dass keine Normalverteilung vorlag, so dass aufgrund der geringen Anzahl an Tieren sowohl in der bereits publizierten Kontroll- als auch in der Testgruppe dieser Arbeit Median und die 1. und 3. Quartile als unteres Viertel, beziehungsweise oberes Viertel des Median bestimmt wurden. Da jedoch eine Veröffentlichung der vorliegenden Arbeit in einer internationalen Zeitschrift vorgesehen ist, wurden die Daten letztendlich in Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

Zur Gegenüberstellung der Test- und Kontrollgruppe wurden die jeweiligen Daten der Versuchstage, die sich um den postoperativen Tag 30, 60, 90 und 120

gruppierten, verwandt. Ein weiterführender Vergleich der Gruppen war aufgrund der geringen verbleibenden Stichprobenmenge nach Tag 120 nicht mehr möglich. Da die Ergebnisse keiner Normalverteilung unterlagen, wurde die Signifikanzuntersuchung bei unterschiedlich großen Gruppen und insgesamt geringer Stichprobengröße mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt, wobei bei sehr großen Datensätzen ( $n > 2000$ ) oder einer im Verhältnis zum Ergebnis hohen Standardabweichung in der Auswertung eine Trendbeschreibung bis  $p < 0,09$  vorgenommen wurde.

Die statistischen Berechnungen erfolgten mit der Auswertungssoftware Win.Stat für Excel, Version 3.0 (Kalmia Co. Inc.).

### **3 Ergebnisse**

Die im folgenden dargestellten Ergebnisse beziehen sich sowohl auf die von mir erhobenen Daten (Testgruppe) als auch auf die zum Vergleich herangezogenen und bereits veröffentlichten Werte (Kontrollgruppe) (50, 51).

#### **3.1 Versuchstiere**

Insgesamt wurde bei acht Burenziegenböcken (Testgruppe) ein autologer Skelettmuskelventrikel gebaut und intrathorakal platziert.

Alle Tiere überlebten die Operation und konnten bereits nach etwa drei Tagen zu ihren Artgenossen zurückkehren. Sie waren während der gesamten Messperiode auf der Weide in einer Herde untergebracht, wo sie sich schmerzfrei und ohne Bewegungseinschränkung aufhalten konnten.

## Ergebnisse

---

*Tabelle 3: Auflistung der Burenziegenböcke der Testgruppe mit intermittierend dynamisch trainierten Skelettmuskelventrikeln.*

<b>Ziegenbock</b>	<b>Postoperativer Beobachtungszeitraum [d]</b>	<b>Verlauf/Komplikationen, die zur Beendigung des Versuches führten</b>
C 1	56	Pneumonie mit Ateminsuffizienz
C 2	72	Pacer-Ausfall und Infektion des Schrittmachersystems
C 3	110	Pacertaschen-Perforation mit -Infektion
(C 4)	59	Wegen Leckage des elastischen Trainingsgerätes nicht in die Auswertung eingeschlossen
C 5	96	Pacertaschen-Perforation
C 6	128	Pacertaschen-Perforation mit -Infektion
C 7	22	Perikardtamponade, teilkollabierte linke Lunge
C 8	194	Pneumonie mit Ateminsuffizienz

### **3.2 Elastisches Trainingsgerät**

Bis auf die Leckage des elastischen Trainingsgerätes bei Ziegenbock C 4 waren die übrigen Trainingsgeräte funktionsfähig. Bei der Entnahme der Trainingsgeräte wurde eine Bindegewebsummantelung von 1-4 mm um die Froschblasen festgestellt.

### **3.3 Stimulatoren und Elektroden**

#### *3.3.1 Myostimulatoren*

Bei den Ziegenböcken C 2, C 3, C 5, C 6 war ein Schrittmacherwechsel der mehrfach genutzten Aggregate nach 61 bis 84 Tagen erforderlich.

Bei C 6 konnte ein Elektrodenbruch für das Aussetzen des Myostimulators verantwortlich gemacht werden.

Aufgrund des mehrfach erforderlichen Versuchsabbruchs wegen einer Schrittmachertaschen-Perforation wurde das Gehäuse des selbst hergestellten Myostimulators modifiziert. Die quaderförmigen Gehäuse wurden durch abgerundete Ummantelungen ersetzt. Erstmals gelangte diese neue Version ab C 7 zur Implantation. Danach traten keine Aggregat-Perforationen mehr auf.

#### *3.3.2 Muskelelektroden*

Abgesehen von dem einmalig aufgetretenen Elektrodenbruch bei C 6 waren die Muskelelektroden intakt.

### 3.4 Operationsverfahren

Das operative Vorgehen war standardisiert. Die Rate postoperativer Hautinfektionen konnte durch den Einsatz von Grüner Seife (15-30 % Seifenanteil) beim präoperativen Reinigen im Vergleich zu früheren Serien eliminiert werden.

### 3.5 Fluiddynamik bei On-Demand-Stimulation

#### 3.5.1 Druckmessung

Einmal wöchentlich wurden die Druckwerte im Trainingsgerät bestimmt. In Kapitel 2.8 wird der Messvorgang näher beschrieben. Aufgezeichnet wurden bei jeder Sitzung fünf Sequenzen von vier Kontraktionen während der Arbeitsphase des Myostimulators (10 Minuten). Die Zeit der Ruhephase (15 Minuten) konnte für die Bestimmung der Druck-/Volumenrelation und damit zur Erstellung einer Ruhe-Dehnungskurve genutzt werden (siehe Kapitel 2.8.1).

Bei den „Compliance“- Messungen der Froschblasen ergaben sich folgende Werte: Bei Ausgangsdruckwerten von 60 mmHg wurden in der Kontrollgruppe zu Versuchsbeginn (Tag 30, n=5) unter Kontraktion Spitzendruckwerte von ( $P_{\max 30}$ )  $168,45 \pm 40,12$  mmHg erreicht. Nach 120 Messtagen (n=3) lagen die Werte bei ( $P_{\max 120}$ )  $203,89 \pm 19,44$  mmHg (siehe Anhang). Es konnte festgestellt werden, dass die Druckwerte bis zum Messtag 120 um 21,04 % anstiegen.

Die Testgruppe zeigte am Tag 30 (n=7) Werte von ( $P_{\max 30}$ )  $177,13 \pm 52,96$  mmHg auf, an Tag 120 ( $P_{\max 120}$ )  $201,83 \pm 4,36$  mmHg (bei n=2). Bei diesen Ziegen war eine geringgradiger ausfallende Drucksteigerung um 13,94 % erkennbar.

Beim Vergleich der beiden Tiergruppen stellte sich heraus, dass an den gegenübergestellten Messtagen kein signifikanter Druckunterschied unterhalb der Gruppen bestand:  $p_{\text{Tag } 30} > 0,68$ ;  $p_{\text{Tag } 60} > 0,86$ ;  $p_{\text{Tag } 90} > 0,88$ ;  $p_{\text{Tag } 120} > 0,56$ .

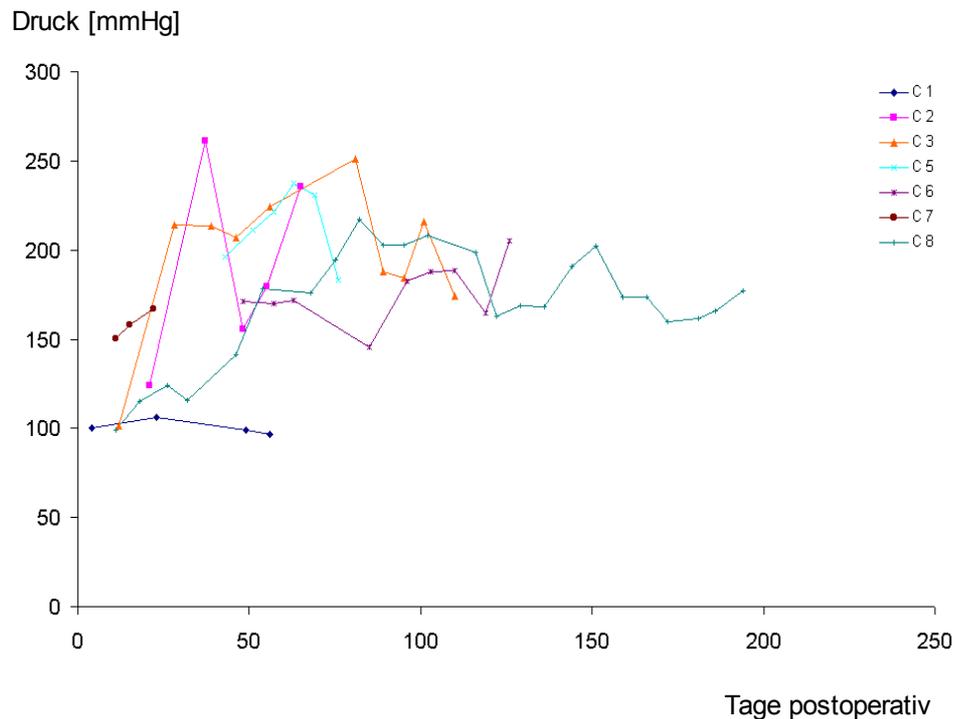


Abbildung 14: Druck im Trainingsverlauf bei intermittierend dynamisch trainierten Skelettmuskelventrikeln bei Burenziegenböcken der Testgruppe.

### 3.5.2 Schlagvolumen

Die Schlagvolumina beliefen sich in der bereits publizierten Kontrollgruppe an Tag 30 (n=5) auf ( $SV_{\max30}$ )  $67,46 \pm 30,86$  ml, an Tag 120 (n=3) auf ( $SV_{\max120}$ )  $28,59 \pm 14,31$  ml (siehe Anhang), welches eine Abnahme um im Mittel 57,62 % bis zum Tag 120 bedeutet.

In der Testgruppe hingegen blieb das Schlagvolumen bei einer geringen Zunahme von 3,93 % zwischen Tag 30 (n=7) und Tag 120 (n=2) nahezu konstant. Allerdings war der Startwert, bedingt durch die abgelaufene Prästimulation, in der Testgruppe bereits niedriger. Das Schlagvolumen der Testgruppe war an Tag 30 ( $SV_{\max30}$ )  $31,77 \pm 8,57$  ml, an Tag 120 ( $SV_{\max120}$ )  $33,02 \pm 16,07$  ml.

Beim statistischen Vergleich der beiden Versuchsgruppen ließ sich an Tag 60 mit  $p_{\text{Tag } 60} < 0,04$  ein signifikanter Unterschied bezüglich der Schlagvolumina nachweisen (Mittelwert  $SV_{\text{Kontrollgruppe}}$   $43,47 \pm 13,37$  ml; Mittelwert  $SV_{\text{Testgruppe}}$   $27,14 \pm 8,16$  ml).

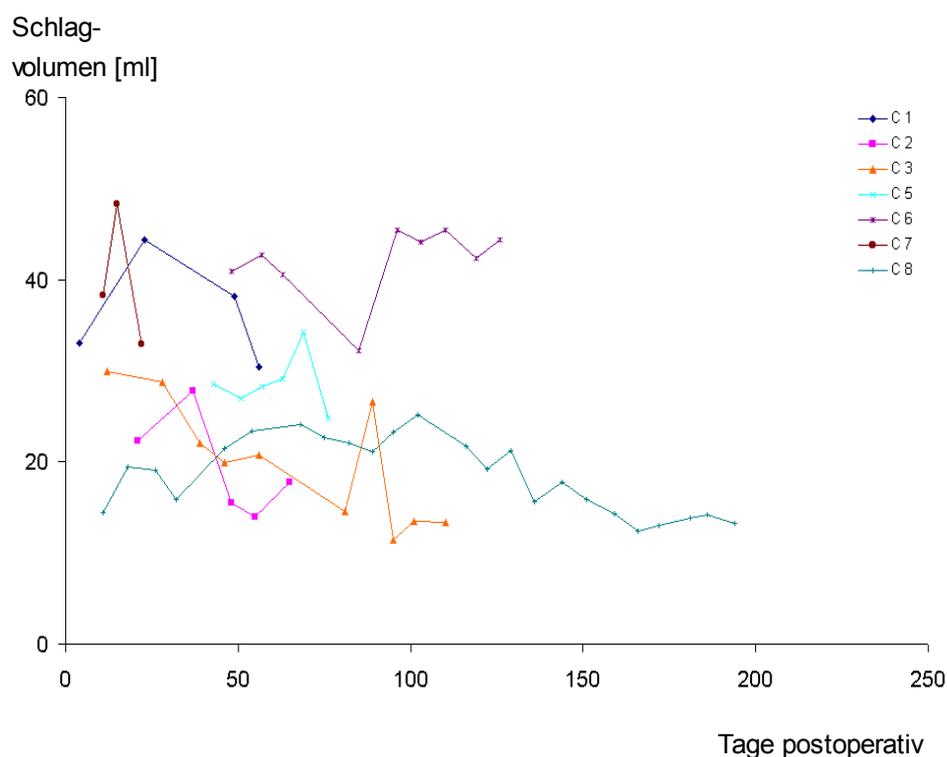


Abbildung 15: Schlagvolumina im Trainingsverlauf bei intermittierend dynamisch trainierten Skelettmuskelventrikeln bei Burenziegenböcken der Testgruppe.

An Tag 30 konnte mit  $p_{\text{Tag } 30} < 0,09$  ein Trend gezeigt werden, da auch dort das Schlagvolumen in der Kontrollgruppe im Mittel höher war (Mittelwert  $SV_{\text{Kontrollgruppe}} 67,46 \pm 30,86$  ml; Mittelwert  $SV_{\text{Testgruppe}} 31,77 \pm 8,57$  ml). An den Tagen 90 und 120 wiesen die beiden Gruppen bei allerdings geringer Gruppengröße (Kontrollgruppe an Tag 90  $n=5$  und Tag 120  $n=3$ ; Testgruppe an Tag 90  $n=3$  und Tag 120  $n=2$ ) keinen signifikanten Schlagvolumenunterschied auf:  $p_{\text{Tag } 90} > 0,88$ ;  $p_{\text{Tag } 120} > 0,56$ .

### 3.5.3 Pumpleistung und Schlagenergie

Die erbrachte Leistung der SMV bei Kontraktion (siehe Abbildung 16) zeigte zu keinem der betrachteten Zeitpunkte eine Signifikanz:  $p_{\text{Tag } 30} > 0,46$ ;  $p_{\text{Tag } 60} > 0,27$ ;  $p_{\text{Tag } 90} > 0,30$ ;  $p_{\text{Tag } 120} > 0,08$ . Jedoch kann an Tag 120 von einem Trend zu einer signifikant höheren Leistung der Skelettmuskelventrikel der Testgruppe ausgegangen werden, da wiederum die Standardabweichungen aufgrund der geringen Tieranzahl (Kontrollgruppe: Tag 120  $n=3$ ; Testgruppe: Tag 120  $n=2$ ) sehr

## Ergebnisse

hoch ausfielen (Mittelwert  $L_{\text{Kontrollgruppe}} 1,71 \pm 0,81$  W; Mittelwert  $L_{\text{Testgruppe}} 4,50 \pm 2,53$  W).

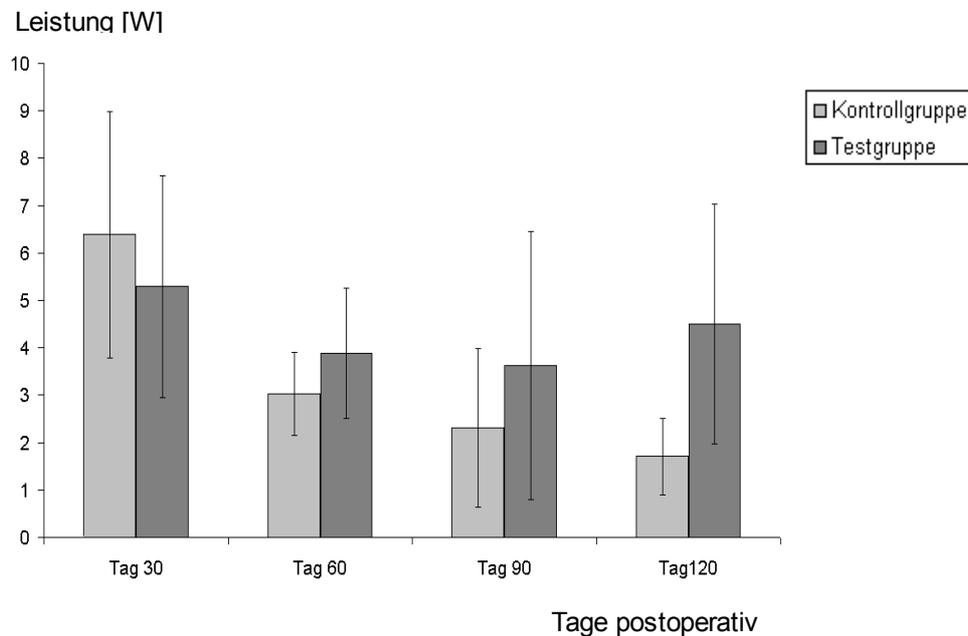


Abbildung 16: Vergleich der erbrachten Leistungen von Skelettmuskelventrikeln der kontinuierlich stimulierten Kontroll- und der intermittierend stimulierten Testgruppe an den Messtagen 30, 60, 90, 120.

Die Schlagenergien der beiden Gruppen unterschieden sich ebenfalls zu keinem der betrachteten Zeiten signifikant. Allerdings konnte bei sehr hohen Standardabweichungen ein Trend zu einer signifikant höheren Schlagenergie bei der Kontrollgruppe an Tag 30 ( $p_{\text{Tag } 30} > 0,06$ ) und Tag 60 ( $p_{\text{Tag } 60} > 0,07$ ) erkannt werden. An Tag 90 ( $p_{\text{Tag } 90} > 0,88$ ) sowie Tag 120 ( $p_{\text{Tag } 120} > 0,56$ ) war der Unterschied zwischen den Schlagenergien nicht signifikant (Kontrollgruppe an Tag 90  $n=5$  und Tag 120  $n=3$ ; Testgruppe an Tag 90  $n=3$  und Tag 120  $n=2$ ).

Die maximale Schlagenergie  $E_{\text{max}}$  erbrachten die SMV der Kontrollgruppe im ersten Drittel der Trainingsperiode (Tag  $45 \pm 8$  bei einer Trainingszeit von  $134 \pm 31$  Tagen); in der Testgruppe wurde das Schlagenergiemaximum erst im zweiten Drittel der Trainingszeit erzeugt (Tag  $57 \pm 16$  bei einer Trainingszeit von  $92 \pm 53$  Tagen) (siehe Abbildungen 17 und 18).

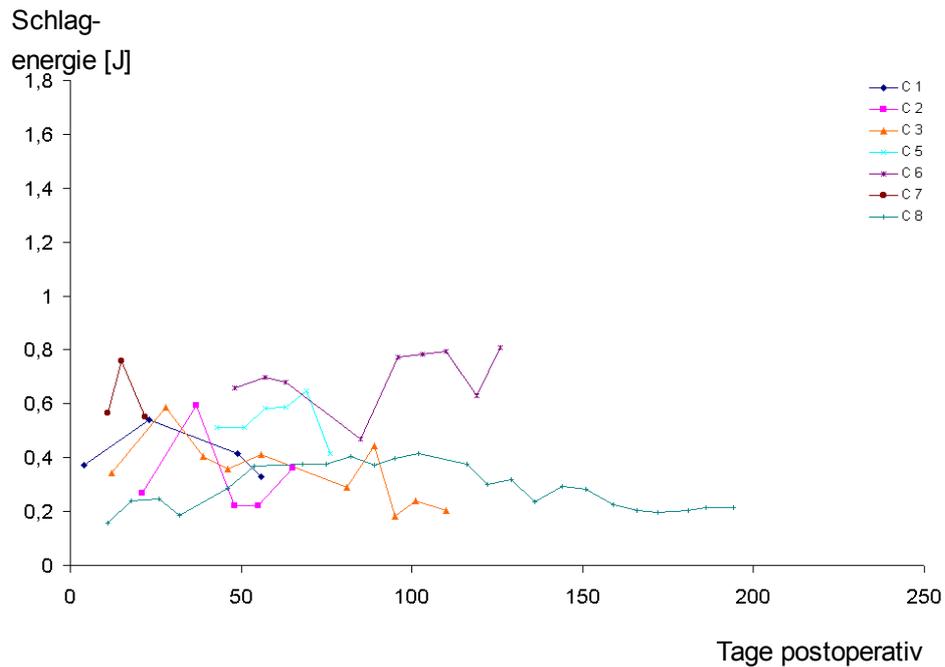


Abbildung 17: Testgruppe: Schlagenergie im Trainingsverlauf bei intermittierend dynamisch trainierten Skelettmuskelveutralen der Testgruppe. Die maximalen Schlagenergien wurden im zweiten Drittel der Trainingszeit erbracht.

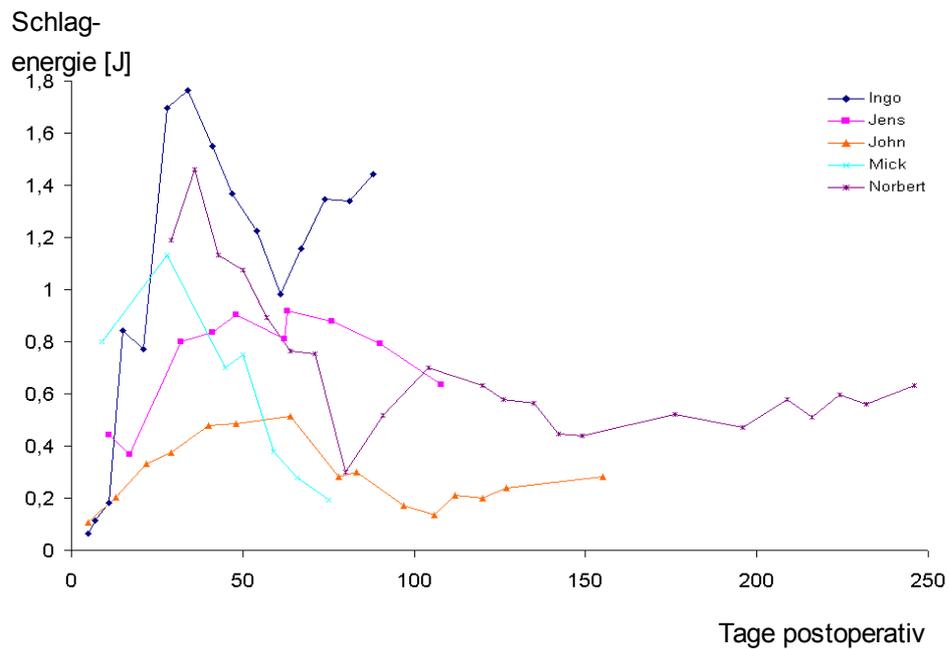


Abbildung 18: Kontrollgruppe: Schlagenergie im Trainingsverlauf bei kontinuierlich dynamisch trainierten Skelettmuskelveutralen der bereits publizierten Kontrollgruppe. Deutlich wird eine initial hohe Schlagenergie mit einer deszendierenden Tendenz im Verlauf.

### 3.5.4 Kontraktilitätsparameter

Zur Beschreibung der Kontraktilität *in vivo* wird unter anderem die Geschwindigkeit der maximalen Druckentwicklung ( $dP/dt_{\text{Kontraktion}}$ ) und des maximalen Druckabbaus ( $dP/dt_{\text{Relaxation}}$ ) verwendet.

Es zeigte sich, dass sich innerhalb der Gruppen die Kontraktions- und Relaxationsdruckänderung in ihrer Geschwindigkeit nicht signifikant voneinander unterschieden ( $p > 0,23$ ).

Im statistischen Vergleich der Gruppen ergab sich, dass sich die mittlere Druckanstiegsgeschwindigkeit an Tag 30 mit  $p_{\text{Tag } 30} > 0,99$  und an Tag 60 mit  $p_{\text{Tag } 60} > 0,14$  in Kontroll- und Testgruppe im gleichen Größenordnungsbereich befand.

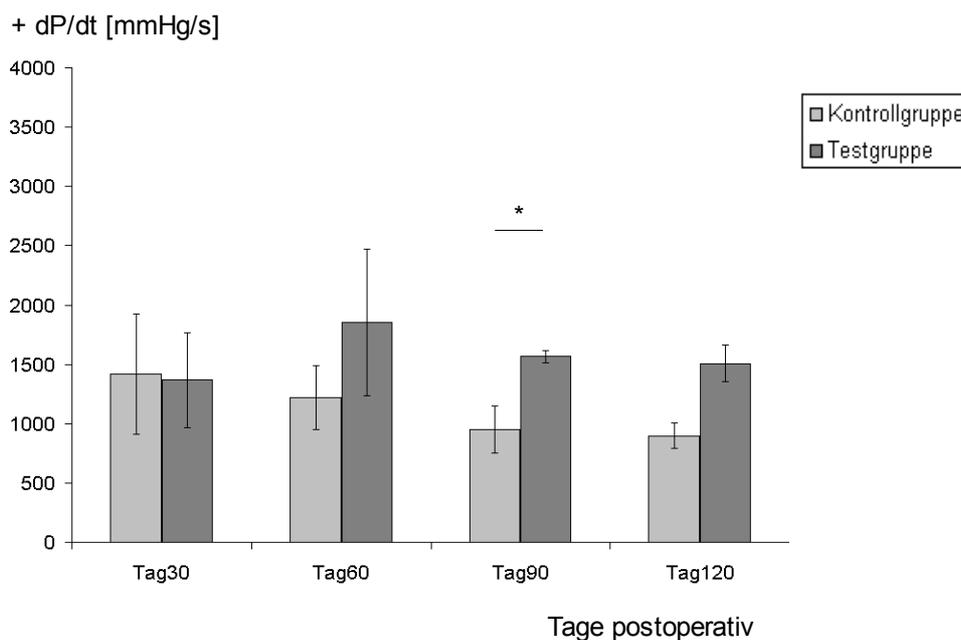


Abbildung 19: Druckanstiegsgeschwindigkeit  $+dP/dt$  bei Kontraktion der Skelettmuskelventrikel der Kontroll- und Testgruppe an den gruppierten Tagen im Vergleich. In beiden Gruppen wurde für die Berechnung der Druckanstiegsgeschwindigkeit jeweils ein Tier, das sich als Ausreißer darstellte, nicht berücksichtigt.

An Tag 90 war die Druckanstiegsgeschwindigkeit in der Testgruppe signifikant höher ( $p_{\text{Tag } 90} < 0,03$ ), an Tag 120 wurde mit  $p_{\text{Tag } 120} > 0,08$  keine Signifikanz erreicht,

## Ergebnisse

allerdings war ein Trend zu einer höheren Kontraktilität bei der intermittierend stimulierten Testgruppe zu erkennen (Mittelwert  $+dP/dt_{\text{Kontrollgruppe}}$   $898,13 \pm 109,24$  mmHg/s bei  $n=3$ ; Mittelwert  $+dP/dt_{\text{Testgruppe}}$   $1508,9 \pm 156,84$  mmHg/s bei  $n=2$ ).

Bei der Relaxation war die erbrachte mittlere Druckänderungsgeschwindigkeit in der Kontrollgruppe an Tag 30 ( $n=4$  in der Kontrollgruppe und  $n=6$  in der Testgruppe) signifikant höher ( $p_{\text{Tag 30}} < 0,03$ ). An Tag 60, 90 und Tag 120 lag kein signifikanter Kontraktilitätsunterschied vor:  $p_{\text{Tag 60}} > 0,22$ ;  $p_{\text{Tag 90}} > 0,72$ ;  $p_{\text{Tag 120}} > 0,56$ .

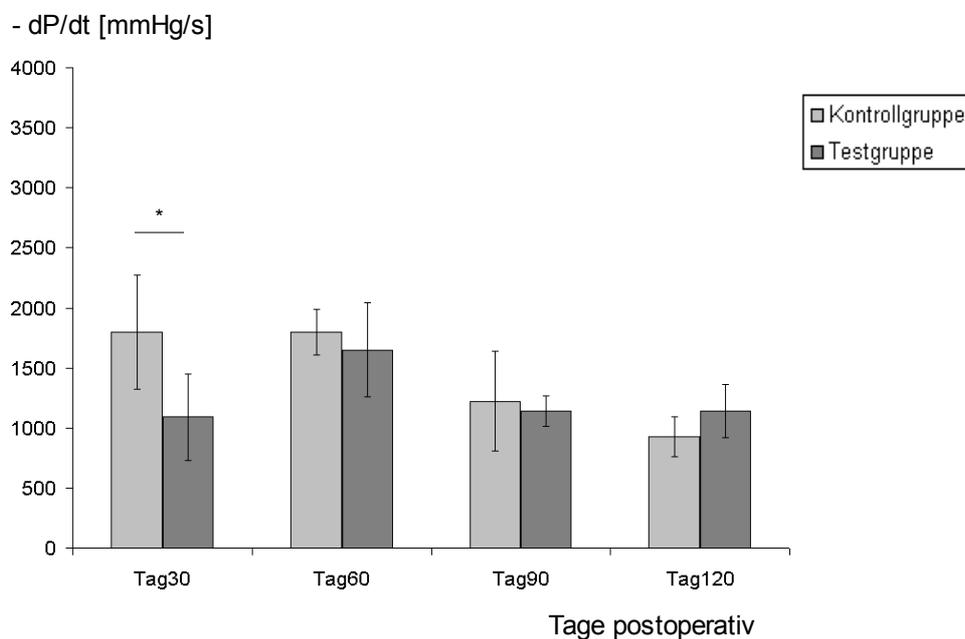


Abbildung 20: Druckänderungsgeschwindigkeit bei Relaxation  $-dP/dt$  der Skelettmuskelventrikel der Kontroll- und Testgruppe an den gruppierten Tagen im Vergleich. In den beiden Gruppen wurde für die Berechnung der Druckänderungsgeschwindigkeit jeweils ein Tier, das sich als Ausreißer darstellte, nicht berücksichtigt.

Somit kann zusammengefasst werden, dass in der Testgruppe ab Tag 90 (Kontrollgruppe an Tag 90  $n=4$  und Tag 120  $n=3$ ; Testgruppe an Tag 90  $n=3$  und Tag 120  $n=2$ ) eine signifikant beziehungsweise gemäß einem Trend höhere Druckanstiegsgeschwindigkeit in Kontraktion vorlag, während sich die Druckänderungsgeschwindigkeit in Relaxation ab Tag 60 nicht signifikant von der der Kontrollgruppe unterschied.

Ein weiteres Maß für die Betrachtung der Kontraktilität stellt die Anstiegszeit bis zum maximalen Druckaufbau bei Kontraktion  $\Delta t_{\text{Anstieg}}$  dar. Die Kontrollgruppe zeigte sich zu jedem verglichenen Zeitpunkt signifikant langsamer. Einzig an Tag 120 wurde das Signifikanzniveau mit  $p_{\text{Tag 120}} > 0,08$  überschritten. Allerdings deuteten die Mittelwerte der  $\Delta t_{\text{Anstieg}}$  bei geringer Anzahl an Tieren (Kontrollgruppe an Tag 120  $n=3$ ; Testgruppe an Tag 120  $n=2$ ) auf einen Trend zu einem weiterhin signifikant schnelleren Druckanstieg in der Testgruppe hin (Mittelwert der Kontrollgruppe an Tag 120:  $\Delta t_{\text{Anstieg}} 284,85 \pm 16,95$  ms; Mittelwert der Testgruppe an Tag 120:  $\Delta t_{\text{Anstieg}} 134,48 \pm 5,69$  ms) (siehe Abbildung 21).

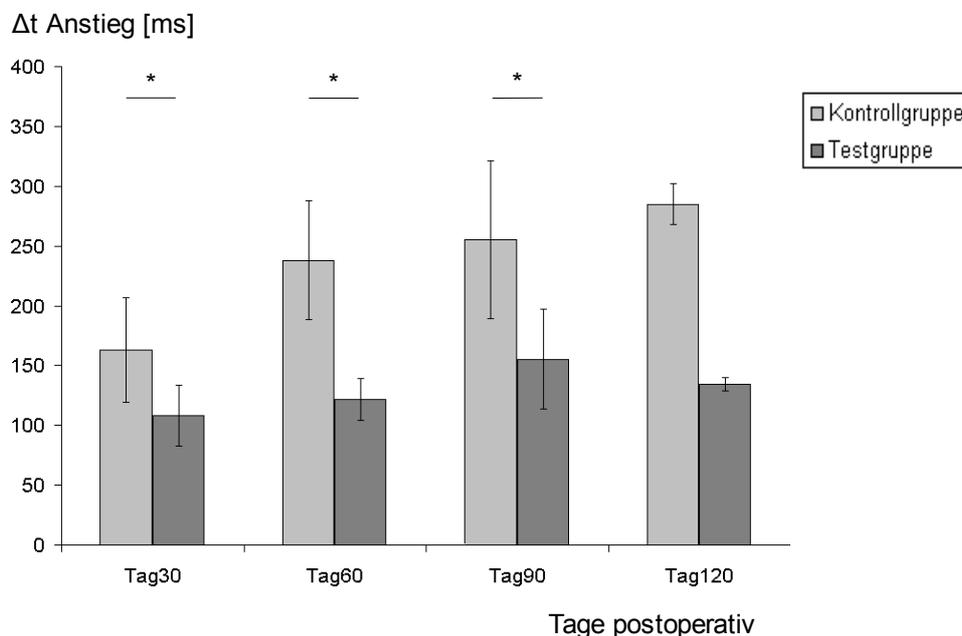


Abbildung 21: Anstiegszeit in Millisekunden bis zum maximalen Druckaufbau bei Kontraktion im Skelettmuskelventrikel der Kontroll- und Testgruppe an den gruppierten Tagen im Vergleich.

Die Halbwertszeit des Druckabfalles bei Relaxation wurde nicht im statistischen Vergleich ausgewertet, da nicht für alle Tiere der bereits publizierten Kontrollgruppe die entsprechenden Daten vorlagen. In der Testgruppe zeigte sich im Trainingsverlauf eine Zunahme der  $\Delta t_{\text{relax } \frac{1}{2}}$ : von Tag 30 fand ein progressiver Anstieg von  $\Delta t_{\text{relax } \frac{1}{2}} (\text{Tag 30}) 47,44 \pm 17,53$  ms auf  $\Delta t_{\text{relax } \frac{1}{2}} (\text{Tag 120}) 79,84 \pm 23,56$  ms bis Tag 120 statt.

### 3.5.5 Compliance-Bestimmung am elastischen Trainingsgerät

Die Dehnbarkeit der Seitenblasen des Trainingsgerätes war im Vergleich der Kontrollgruppe mit der Testgruppe zu keinem Zeitpunkt signifikant unterschiedlich ( $p \geq 0,2$ ).

Anfängliche Compliance-Werte lagen in der Kontrollgruppe bei  $0,59 \pm 0,34$  ml/mmHg ( $n=5$ ) und fielen auf  $0,29 \pm 0,21$  ml/mmHg bis Tag 120 ( $n=3$ ).

Das bedeutete eine Abnahme der Compliance von 50,85 % in diesem Zeitraum.

Bereits an Tag 30 wies die bereits prästimulierte Testgruppe im Mittel eine Compliance von 0,4 ml/mmHg auf ( $n=7$ ), wobei die Standardabweichung von  $\pm 0,31$  ml/mmHg zu beachten ist. Bis Tag 120 nahm die Dehnbarkeit um 33,33 % auf  $0,27 \pm 0,18$  ml/mmHg ( $n=3$ ) ab.

Die angestrebte physiologische Blutgefäß-Compliance von  $\sim 1,07$  ml/mmHg, die der „Frosch“ unter Laborbedingungen aufwies, wurde dabei folglich in situ nicht erreicht.

## 3.6 Morphometrie

### 3.6.1 Muskelfaserquerschnittbestimmung

Intraoperativ hatten die LDM ein Gewicht von  $300 \pm 50$  Gramm. Bei Versuchsende zeigte sich das Muskelgewebe makroskopisch gut erhalten.

Die am Versuchsende entnommenen Muskelproben wurden separat aufgearbeitet und morphologisch untersucht. Es wurden völlig untrainierte, also prospektive Proben, die trainierte Muskulatur der Kontrollgruppe und die prästimulierten sowie trainierten Proben der Testgruppe miteinander verglichen.

Die Muskelquerschnitte der angefertigten histologischen Präparate unserer Testgruppentiere stellten sich jeweils im Gegensatz zu Präparaten der Kontrollgruppe auch nach dem Training noch als gut erhaltenes Muskelgewebe dar. Außerdem erschien das Endomysium um die trainierten Faszikel der

## Ergebnisse

---

Kontrollgruppe wesentlich ausgeprägter. Der Anteil ließ sich wegen einer zu geringen Messgenauigkeit für diesen Parameter nicht quantifizieren.

Die prospektiven Biopsien enthielten Faszikel, deren Fasern gemittelt im minimalen Durchschnitt  $d_{\min}$   $40,17 \pm 14,65 \mu\text{m}$  maßen.

Nach der zweiwöchigen Prästimulation der LDM der Testgruppe stellten sich die Größenverhältnisse mit einem  $d_{\min}$  von  $44,25 \pm 15,78 \mu\text{m}$  dar.

In der Kontrollgruppe, bei der in den zwei präoperativen Wochen keine Prästimulation durchgeführt wurde, waren Faserdurchschnitte am Versuchsende von  $d_{\min}$   $29,07 \pm 14,31 \mu\text{m}$  zu verzeichnen (durchschnittliche Trainingsdauer von  $134 \pm 69$  Tagen).

Die Testgruppe wies schließlich nach durchschnittlich  $92 \pm 53$  Tagen Training eine Faserquerschnittsreduktion auf  $d_{\min}$   $29,67 \pm 12,26 \mu\text{m}$  auf.

Wie in Abbildung 22 gezeigt, waren die Veränderungen der mittleren Durchmesser bei den verglichenen Gruppen hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

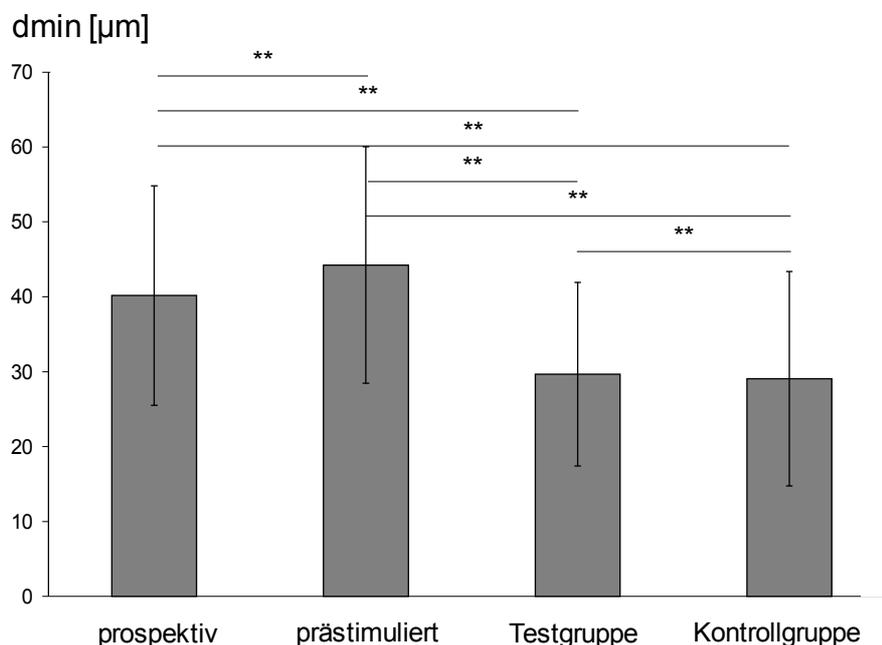


Abbildung 22: Mittlere Durchmesser der Muskelfasern im nativen Musculus latissimus dorsi (vor Implantation eines Schrittmachers), im prästimulierten Muskel (Probenmaterial aus dem prästimulierten Musculus latissimus dorsi der Testgruppe), in den Skelettmuskelventrikeln der Testgruppe (On-Demand-Stimulation) und der Kontrollgruppe (kontinuierliche Stimulation). Die Faserdurchmesser unterschieden sich jeweils hochsignifikant voneinander (\*\*  $p < 0,001$ ).

### 3.7 Analyse der schwerkettigen Myosine

Die Analyse der MHCs erfolgte wiederum für das entsprechend in Kapitel 2.9 und 2.10 beschriebene aufgearbeitete prospektive, prästimulierte, On-Demand-trainierte (Testgruppe) und kontinuierlich-trainierte (Kontrollgruppe) Biopsiematerial.

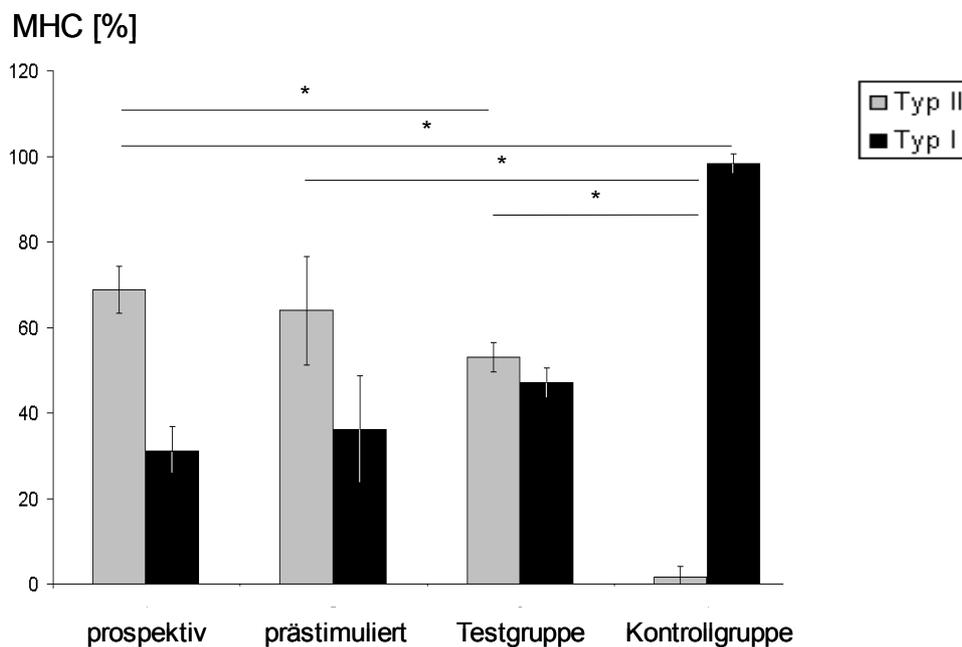


Abbildung 23: Myosin-Schwerketten-Zusammensetzung in % im nativen *Musculus latissimus dorsi* (vor Implantation eines Schrittmachers), im prästimulierten Muskel (Probenmaterial aus dem prästimulierten *Musculus latissimus dorsi* der Testgruppe), in den Skelettmuskelventrikeln der Testgruppe (On-Demand-Stimulation) und der Kontrollgruppe (kontinuierliche Stimulation; vollständige Transformation). Dieses Diagramm stellt die ausreißerbereinigte Fasertypisierung der Testgruppe dar.

Prospektive Muskelproben hatten demnach einen gemittelten Typ II-Myosinanteil von  $68,82 \pm 5,55$  %, einen Typ I-Gehalt von  $31,07 \pm 5,71$  %. Nach Prästimulation änderte sich dieses Verhältnis nicht signifikant ( $p > 0,56$ ). Prästimulierte Muskeln zeigten einen durchschnittlichen Typ II-Myosin-Anteil von  $63,93 \pm 12,68$  % und einen MHC I-Anteil von  $36,07 \pm 12,68$  %.

Alle weiteren MHC-Verteilungsmuster waren jedoch statistisch signifikant verschieden ( $p < 0,05$ ). So verblieb bei den kontinuierlich dynamisch trainierten Muskelproben der Kontrollgruppe ein MHC II-Anteil von  $1,7 \pm 2,33$  % und vom Myosin-Typ I ergaben sich entsprechend  $98,3 \pm 2,33$  %.

In der Testgruppe konnte ein Typ II-MHC-Anteil von  $39,75 \pm 24,70$  % erhalten werden, das Typ I-Myosin belief sich auf  $60,25 \pm 24,70$  %.

Ausreißerbereinigt konnte jedoch bei  $n=5$  Tieren der Testgruppe ein MHC II-Anteil von  $53,00 \pm 3,42$  % erzielt werden (Typ I-MHC  $47,00 \pm 3,42$  %). Die erstgenannten Ergebnisse mit dem geringeren Typ II-MHC ergaben sich daraus, dass bei zwei Tieren (C 5 und C 8) eine Typ I-MHC-Umwandlung von 100 % nachgewiesen wurde.

Tier C 6, bei dem ein optimaler Trainingsverlauf zu verzeichnen war, wies selbst nach 126 Trainingstagen noch zu 53,2 % Typ II-MHC auf (MHC Typ I: 46,8 %).

Bei Eliminierung der Ausreißer konnte zwischen den prästimulierten und den dynamisch On-Demand-trainierten Muskelproben keine statistisch relevante MHC-Verteilungsveränderung nachgewiesen werden ( $p > 0,06$ ).

## 4 Diskussion

### 4.1 Intermittierend dynamisch trainierte Skelettmuskelventrikel

Ein klinischer Einsatz von Skelettmuskulatur für eine Kardiomyoplastik oder als intrathorakale Skelettmuskelventrikel zur Unterstützung eines insuffizienten Herzens konnte sich bisher aus verschiedenen Gründen klinisch nicht etablieren. Zum einen trat eine weitgehende Zerstörung der trainingsbedingt entstehenden sauerstoffabhängigen Skelettmuskulatur aus Typ I-Fasern bei einem 24-stündigen täglichen Einsatz auf, zum anderen war die Kraftentwicklung bei einem völlig in Typ I-Fasern transformierten Skelettmuskelventrikel zu gering.

Deshalb sollte in dieser Arbeit ein Stimulationsschema getestet werden, von dem wir ein muskel- und krafterhaltendes Training erwarteten. Neu dabei war die On-Demand-Stimulation in Kombination mit einer 14-tägigen Prästimulation. Die On-Demand-Stimulation konnte einen Fasererhalt von 50 zu 50 % Typ I- zu Typ II-MHC-Fasern erzeugen. Dabei blieben die Kontraktionskraft und das Muskelgewebe weitgehend erhalten. Die Prästimulation sollte die Durchblutungsverhältnisse im Muskel durch Eröffnung von Kollateralen und eine Erhöhung der Kapillardichte bewirken.

Letztendlich sollen auf diese Weise optimierte Skelettmuskelventrikel als Bestandteil Biomechanischer Herzen (siehe Abbildung 24) das Myokard terminal insuffizienter Herzen unterstützen.

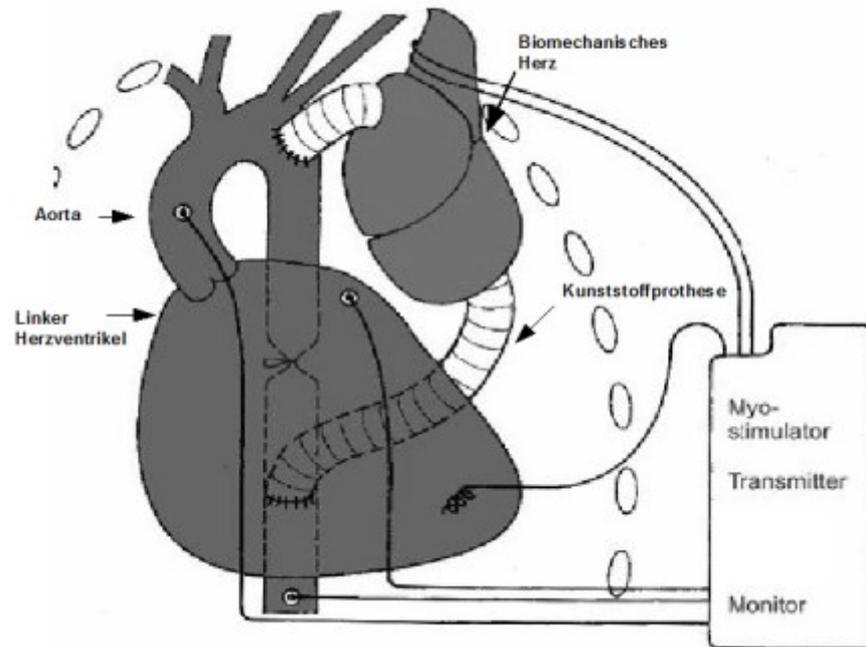


Abbildung 24: Schematische Darstellung und mögliche Position des klinisch einsetzbaren Skelettmuskelventrikels als Bestandteil eines Biomechanischen Herzes. (Abbildung modifiziert nach Guldner NW (50))

## 4.2 Versuchstiere

Wir verwendeten männliche Burenziegen im Alter von  $4,3 \pm 2,2$  Jahren mit einem Gewicht von  $78,25 \pm 9,72$  kg. Die Burenziegenböcke mussten kastriert werden, damit sie sich nicht gegenseitig und auch nicht das Pflegepersonal aufgrund ihrer Aggressivität verletzen konnten.

Männliche Burenziegen wurden eingesetzt, weil die Muskelmasse des LDM mit 300 bis 400 Gramm deutlich höher ist als die der LDMs von Ziegenweibchen mit 150 bis 250 Gramm. Das LDM-Gewicht von Böcken kommt somit dem Gewicht des Musculus latissimus dorsi erwachsener Patienten von 500 bis 600 Gramm deutlich näher. Sie eigneten sich außerdem wegen ihres breiten Thorax, in dem Skelettmuskelventrikel mit dem elastischen Trainingsgerät gut unterzubringen

waren (40, 50). Der anatomische Aufbau des LDM mit den drei Segmenten ähnelt ebenfalls demjenigen des Menschen (siehe Abbildung 10).

Ianuzzo et al. wiesen nach, dass sich die Skelettmuskulatur von Ziegen, im Gegensatz zu der von Hunden und Schweinen, bezüglich der morphologischen und biochemischen Eigenschaften mit der menschlichen Skelettmuskulatur vergleichen lässt. Mensch wie Ziege haben mit 25 zu 75 % ein vergleichbares Verhältnis von Typ I- zu Typ II-MHC-Fasern. Weitere Ähnlichkeiten beziehen sich insbesondere auf die Faserquerschnittsfläche, den Mitochondriengehalt, die myofibrilläre ATP-ase Aktivität und auf den Gehalt von Hitzeschock-Proteinen (64).

Ebenso war der angenehme Umgang mit den Burenziegen, die sich problemlos für die Messdatenerhebung von der Herde separieren ließen und sich bei der Datenerfassung ruhig verhielten, von Vorteil.

Wir wählten ausgewachsene Versuchstiere, weil die zu entwickelnden Therapieverfahren an erwachsenen Patienten eingesetzt werden sollen. Wachstumstiere hätten möglicherweise eine bessere Muskelentwicklung unter Elektrostimulation hervorbringen können, die bei erwachsenen Tieren nicht mehr reproduzierbar gewesen wäre, wie es bereits bei Ratten als Versuchstiere evaluiert werden konnte (19, 20).

### **4.3 Elastisches Trainingsgerät**

Das Trainingsgerät „Frosch“ musste mit seinen Ausmaßen bei Burenziegenböcken intrathorakal platzierbar und biokompatibel sein. Es hatte sich bereits in früheren Untersuchungen bezüglich der Größe bewährt (44, 46, 47, 48). Für die selbst hergestellten „Frösche“ verwendeten wir zum Befüllen der ausgefrästen Form das klinisch bei Brust- und Penisprothesen bewährte Silikon der Firma Dow Corning.

Das Trainingsgerät eignete sich aufgrund seiner Form und der Möglichkeit der internen Flüssigkeitsverschiebung gegen einen elastischen Widerstand zur Simulation einer Muskelkontraktion gegen einen elastischen Widerstand, der demjenigen eines in einer humanen Aorta integrierten SMVs entspräche. Somit

sollten Windkessel Eigenschaften der Aorta nachgeahmt werden (Compliance von 1,07 ml/mmHg). Im Gegensatz zu den Seitenblasen durfte die Zentralkammer zur Gewährung der Messgenauigkeit des Schlagvolumens (siehe Kapitel 2.2) nicht dehnbar sein.

Über einen punktierbaren subkutan platzierten Vascular Access Port, der über einen Katheter mit dem Innenlumen des „Frosches“ verbunden war, konnten Drucke abgeleitet werden. Sie dienten zum einen der Erstellung der Ruhe-Dehnungskurven der Froschblasen, zum anderen der Registrierung der Druckerhöhungen, die durch eine Muskelkontraktion ausgelöst wurden.

Bei einem der Trainingsgeräte (Tier C 4) kam es bereits am ersten postoperativen Messtag zur Leckage des Trainingsgerätes. Diese war am ehesten auf einen Material- oder Produktionsfehler zurückzuführen.

Nach mehrwöchigem Einsatz der elastischen Trainingsgeräte mit immer währendem Aufdehnen der Seitenblasen und Zurückführen des Schlagvolumens in die Zentralkammer kam es zu einer bindegewebigen Kapselbildung um die Seitenblasen des Trainingsgerätes. Diese Bindegewebsummantelung war vorrangig für die Abnahme der Compliance der Seitenblasen verantwortlich. Es ist davon auszugehen, dass die fluiddynamischen, aber auch morphologischen Resultate weitaus besser wären, wenn der Muskel gegen einen konstanten physiologischen Widerstand arbeiten könnte. Schon nach einem Monat lag die Compliance unserer Testgruppe im Mittel bei nur  $0,40 \pm 0,12$  ml/mmHg; in der Kontrollgruppe waren die Ergebnisse mit  $0,59 \pm 0,15$  ml/mmHg ähnlich niedrig (siehe Kapitel 3.5.5.) Die angestrebte physiologische Compliance in der Aorta eines Erwachsenen von 1,07 ml/mmHg (50, 111), die der „Frosch“ auch unter Laborbedingungen aufwies, konnte somit nicht aufrecht erhalten werden.

Die biologische Membranbildung bei Kontakt von Kunststoff (hier Silikonkautschuk) mit organischem Gewebe ist aus dem klinischen Alltag bekannt. Es entstehen beispielsweise auch bindegewebige Kapseln um implantierte Herzschrittmacher und Brustprothesen. Zur Vermeidung von Membranbildungen wären möglicherweise Cortison-Applikationen auf die Seitenblasen-Oberfläche,

wie es bei Schrittmacherelektroden bereits klinisch praktiziert wird, von Vorteil (91).

Trotz der Limitierung der Elastizität des Trainingsgerätes hat dieses Gerät bereits bei früheren Untersuchungen (46, 47, 48, 49, 50, 51) zur Optimierung der Stimulationsmuster beigetragen. Ebenfalls konnte an diesem Trainingsgerät der positiv inotrope Einfluss von Clenbuterol auf Skelettmuskelventrikel belegt werden (50, 51).

### **4.4 Operationsverfahren**

Das standardisierte operative Verfahren wurde entsprechend früherer „Frosch“-Implantationen beibehalten (48, 49, 50). Zur Vermeidung von Infektionen einer kontaminierten Haut verwendeten wir nach dem Scheren des Operationsfeldes zur präoperativen Reinigung der Haut der Ziegenböcke die handelsübliche, so genannte „Grüne Seife“ (15-30 % Seifenanteil). Sowohl die Verwendung einer künstlichen Ansatzsehne aus Dacrongewebe, wie auch die Wahl und Platzierung der Elektroden, bewährten sich auch bei diesen Versuchen und sollten weiterhin beibehalten werden. Selbst bei der doppelten Thorakotomie und der Vermeidung von Thoraxdrainagen konnten wir keine postoperativen Pneumothoraces beobachten. Somit sehen wir uns bestätigt, auch weitere „Frosch“-Implantationen ohne Einlage von Thoraxdrainagen, die eine ständige, 24-stündige Überwachung erforderlich machen, durchzuführen.

### **4.5 Stimulationsmuster**

Eine kontinuierliche elektrische Stimulation ist geeignet, um einen Muskel 100 %ig in Typ I-MHC-Fasern zu transformieren und ihn damit unermüdbar zu machen. Unser Ziel war es, die Fasertransformation auf einen 50 %igen MHC I-Anteil zu beschränken. Dafür war ein schonendes Muskeltraining nötig, das den Muskel langsam bis zur maximalen Leistungsfähigkeit auftrainiert. Diesem dynamischen

Training stellten wir bei der Testgruppe eine elektrische Prästimulation in situ voran. Somit unterschieden sich die Testgruppe von der Kontrollgruppe lediglich durch ihre Stimulationsmuster. Die Kontrollgruppe wies eine konstante Burst-Stimulation über 24 Stunden auf und hatte keine Prästimulation. Bei der Testgruppe hingegen wurde bereits präoperativ 14 Tage lang eine elektrische in situ-Stimulation zur Verbesserung der Muskeldurchblutung vorgenommen. Dieser schloss sich dann eine intermittierende Burst-Stimulation von zwölf Stunden am Tage und einer Ruhephase von zwölf Stunden in der Nacht an. Während der Tages-Stimulation wechselten sich zehnmünütige On- und fünfzehnminütige Off-Phasen ab.

### *4.5.1 Präoperative Stimulation*

Die niederfrequente präoperative Muskelstimulation bei der Testgruppe minimierte das Auftreten von durchblutungsbedingten Muskelnekrosen durch eine verbesserte Durchblutung (siehe Kapitel 2.6) und sollte außerdem den Muskel bei vermehrter Beanspruchung mit ausreichend Sauerstoff versorgen können.

Durch die Prästimulation galt es, Gefäßkollateralen zwischen den Versorgungsgebieten der Arteria thoracodorsalis und demjenigen der Interkostalarterien zu eröffnen, um eine Durchblutung der thoraxnahen, distalen Muskelbereiche zu gewährleisten (2, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 70). Während der Prästimulation wandten wir in der ersten Woche eine kontinuierliche Stimulation von 2 Hz über 24 Stunden an. Wir wissen aus ähnlichen Untersuchungen (4, 8, 63), dass vor allem eine Hyperkapillarisation bei einem bereits makroskopisch erkennbaren Muskelmassenverlust eintritt. Um diesen Verlust an Muskelmasse zu vermeiden, haben wir in der zweiten Woche eine Burst-Stimulation durchgeführt, die im Durchschnitt einer 2 Hz-Stimulation über 24 Stunden entsprach. Durch die Burst-bedingten Muskelkontraktionen gelang es weitgehend, einen Abbau von Muskelmasse zu verhindern.

Die Prästimulation löste bei unserer Testgruppe eine Muskelfaserhypertrophie aus, die durch eine signifikante Zunahme des minimalen Faserdurchmessers gekennzeichnet war (von  $d_{\min} 40,17 \pm 14,65 \mu\text{m}$  (prospektiv) auf  $d_{\min} 44,25 \pm 15,78 \mu\text{m}$  (prästimuliert),  $p < 0,001$ ).

Bedingt durch die Prästimulation gab es bei den pumpenden Skelettmuskelventrikeln der Testgruppe schon in den ersten zwei postoperativen Monaten hinsichtlich der Höhe des Schlagvolumens und der Schlagenergie aufgrund der partiellen Muskelfasertransformation Einbußen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Es wird nachweislich jedoch durch Prästimulation ein konstant leistungsfähiger Muskel über mehrere Monate erreicht (16). So ging bei der Kontrollgruppe aus allen fluiddynamischen Parametern sowie hinsichtlich der Kontraktionsgeschwindigkeit eine starke Abnahme bis Tag 120 hervor, während die LDMs der Testgruppe ausreichend vortrainiert und trainiert waren, um ihre anfängliche Leistungsstärke beizubehalten. Dieses ist für die klinische Anwendung ein deutlicher Fortschritt, da man auf eine zuverlässige und kontinuierliche Leistungsbereitstellung angewiesen ist.

### *4.5.2 Postoperative Stimulation*

Nach dem Bau eines Skelettmuskelventrikels um den „Frosch“ wurde der Myostimulator Itrel (Prästimulation) durch den selbst entwickelten und selbst hergestellten Lübecker Myostimulator ersetzt. Dieser Schrittmacherwechsel war erforderlich, da der Myostimulator Itrel nur Stimulationsmuster zur Prästimulation generieren konnte. Für eine intermittierende Stimulation mit einem Tag-/Nacht-Rhythmus diente der in unserem Labor gebaute Myostimulator.

Der Myostimulator Itrel ließ sich zur Prästimulation in Lokalanästhesie implantieren. Die im Vergleich zum Itrel nahezu doppelt so großen, selbst gebauten Lübecker Myostimulatoren wurden während des Baus der SMVs in einer erweiterten Schrittmachertasche untergebracht. Wegen einer vorzeitig erschöpften Batterie war zwischen dem 61. und 84. Tag ein Generatorwechsel erforderlich.

Das für den Lübecker Myostimulator gewählte postoperative Stimulationsmuster erwies sich als geeignet, um einen Skelettmuskel mit geringer Massen- und Kraffteinbuße zu betreiben. Dabei konnten etwa 50 % Typ II-MHC-Fasern über 4 Monate erhalten werden.

Das neu applizierte Stimulationsmuster basierte auf der Erkenntnis, dass eine intermittierende Burststimulation, die eine festgelegte mittlere

Stimulationsfrequenz nicht überschreitet, eine reduzierte Fasertransformation ermöglichen kann (30, 52, 77, 78, 92). Es galt, diese Frequenz für einen 50 %igen Typ II-MHC-Fasernerhalt bei Großtieren experimentell zu bestimmen. Grundsätzlich ist bekannt, dass bei größeren Versuchstieren eine geringere mittlere Frequenz an Stimulationsimpulsen erforderlich ist (66, 78, 106). Entsprechend der Ergebnisse aus der Literatur (77, 78) wählten wir eine mittlere Stimulationsfrequenz von 0,7 Hz.

Während des dynamischen Trainings wurde die Anzahl der Bursts pro Minute wöchentlich um maximal 5 bpm bis auf 30 bpm gesteigert, um dem Muskel eine Adaptationszeit an die vermehrte Beanspruchung zu gewähren. Trotz Zunahme der Pulse und damit Intensivierung des elektrischen Trainings, wurde bei unserer Testgruppe die mittlere Pulsfrequenz pro Tag durch Einhaltung von Stimulationspausen nicht überschritten.

Lopez-Guajardo et al. konnten bei Kaninchen zeigen, dass bei einer Stimulationsfrequenz von 10 Hz mit verschiedenen langen Stimulationsmustern, wie in Abbildung 25 ersichtlich, unterschiedliche Faserkompositionen vorliegen. Bis zu einer zwölfstündigen Tagesaktivität konnten bis zu 75 % Typ II-MHC-Fasern erhalten werden (77, 78). Dieses Stimulationsregime entspricht einer mittleren Frequenz von maximal 5 Pulsen.

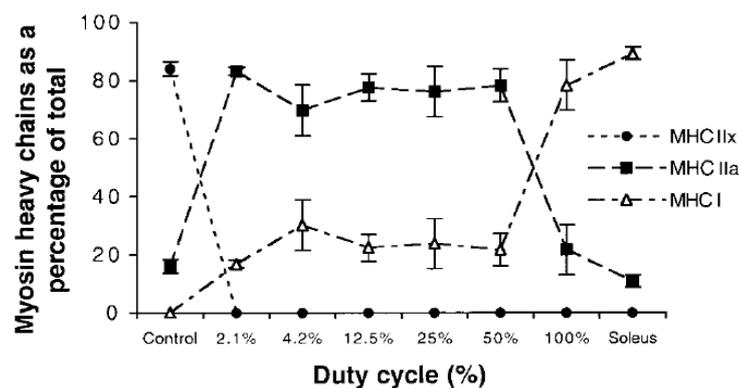


Abbildung 25: Myosin-Schwerketten-Verteilung im Musculus tibialis anterior des Kaninchens bei unterschiedlich langen Stimulationszyklen. Die Muskeln wurden über 6 Wochen bei 10 Hz stimuliert: kontinuierlich (entsprechend einem Stimulationszyklus von 100 %), bei 30 Minuten Arbeitsphase alle 24 Stunden, 12 Stunden, 4 Stunden, 2 Stunden und nach jeder Stunde (entsprechend einem Stimulationszyklus von 2,1 %, 4,2 %, 12,5 %, 25 %, 50 %). Als Referenz dienten der unstimulierte Musculus tibialis anterior und der Musculus soleus. (Diagramm modifiziert nach Lopez-Guajardo et al. (78))

Bezugnehmend auf diese Daten wird ersichtlich, dass wir durch unsere On-Demand-Stimulation mit einer Gesamttagesaktivität von 20 % (entsprechend einem duty cycle von 20 %) bei einer mittleren Stimulationsfrequenz von 0,7 Hz pro Tag einen Erhalt von 53 % der ursprünglichen 69 % Typ II-MHC-Fasern erzielen konnten. Bei unseren Untersuchungen ließen sich in ähnlicher Weise wie bei Lopez-Guajardo et al. 77 % der ohne Stimulation vorhandenen MHC II-Fasern erhalten. Damit zeigt sich, dass die von uns gewählte mittlere Burstfrequenz für Großtiere im gewünschten Frequenzbereich gewählt wurde.

Es ist anzunehmen, dass eine reduzierte mittlere Stimulationsfrequenz unter 0,7 Hz pro Tag bei größeren Säugetieren eine noch geringere Transformation ermöglichen würde.

Bei einem unserer Versuchstiere (C 6), bei dem es mehrfach zu Stimulationsproblemen durch Schrittmacherdefekte kam, waren herausragende fluiddynamische Leistungen zu verzeichnen. Das interpretieren wir als eine erhöhte Pumpleistung bei verminderter Fasertransformation. Ab der achten Trainingswoche wurden nämlich maximale Schlagminutenvolumina von 1,5 Litern bei einer Spitzenenergie von bis zu 34 kJ/d erreicht. Zum Vergleich: Der linke Herzventrikel des Menschen erbringt circa 75 kJ/d mit einem Schlagminutenvolumen in Ruhe von etwa 5 Litern (50, 101). Trotz der intermittierend vermutlich reduzierten Fasertransformation belief sich der MHC II-Gehalt der Muskelfasern von C 6 nach 120 Tagen auf 53,2 % und stellte damit für unsere Tiergruppe ein angestrebtes Resultat dar (siehe Kapitel 3.7).

### **4.6 Medikation**

Der  $\beta_2$ -Rezeptoragonist Clenbuterol wird wegen seiner über  $\beta_2$ -Rezeptoren vermittelten dilatativen Wirkung an glatter Muskulatur in der Therapie obstruktiver Atemwegserkrankungen eingesetzt. Außerdem wird das Pharmakon wegen der zusätzlichen proteinanabolen und lipidkatabolen Eigenschaften in der Kälbermast sowie zu Doping-Zwecken im Leistungssport verwendet.

Der kraft- und leistungsfördernde Einfluss auf die SMV-Funktion durch die unterstützende Gabe des Sympathomimetikums Clenbuterol ist langjährig bekannt

(14, 80, 87, 112). So wurde bei Skelettmuskelventrikeln eine deutliche Steigerung der Druckmaxima, der Schlagvolumina und der Schlagenergien beobachtet. Diese medikamentöse Unterstützung der SMVs ließ erstmalig ein Pumptraining gegen einen dem im arteriellen Kreislaufsystem vorherrschenden vergleichbaren Widerstand von 60 mmHg zu. Damit wurde der Bau von Skelettmuskelventrikeln mit sofortigem Pumpvermögen in einer einzeitigen Operation ermöglicht (50, 51). Für unsere Testgruppe wählten wir ein erprobtes Dosisschema (51), das sowohl bei der Testgruppe als auch bei der bereits publizierten Kontrollgruppe eingesetzt wurde. Guldner et al. erwirkten in ihren Untersuchungen damit weitaus leistungsstärkere SMVs als bei nicht-Clenbuterol-unterstützten SMVs (51).

In unserer Testgruppe wurde unter Clenbuterolmedikation eine Faserhypertrophie nach Prästimulation nachgewiesen. Nach mehrwöchigem Pumpen und entsprechender Fasertransformation konnte bei Typ I-MHC-Skelettmuskelventrikeln eine ausgeprägte und bei gemischtfaserigen Typ I-/Typ II-MHC-Skelettmuskelventrikeln eine moderate, jedoch signifikante Muskelfaseratrophie evaluiert werden. Es fand nicht nur eine Reduktion gegenüber den durch Prästimulation hypertrophen Muskelfasern, sondern auch gegenüber prospektiven, untrainierten Muskeln statt. Im Vergleich zu einer bereits veröffentlichten Gruppe ohne Clenbuterolapplikation (50) war die Muskelfaseratrophie jedoch gering (siehe Abbildung 26).

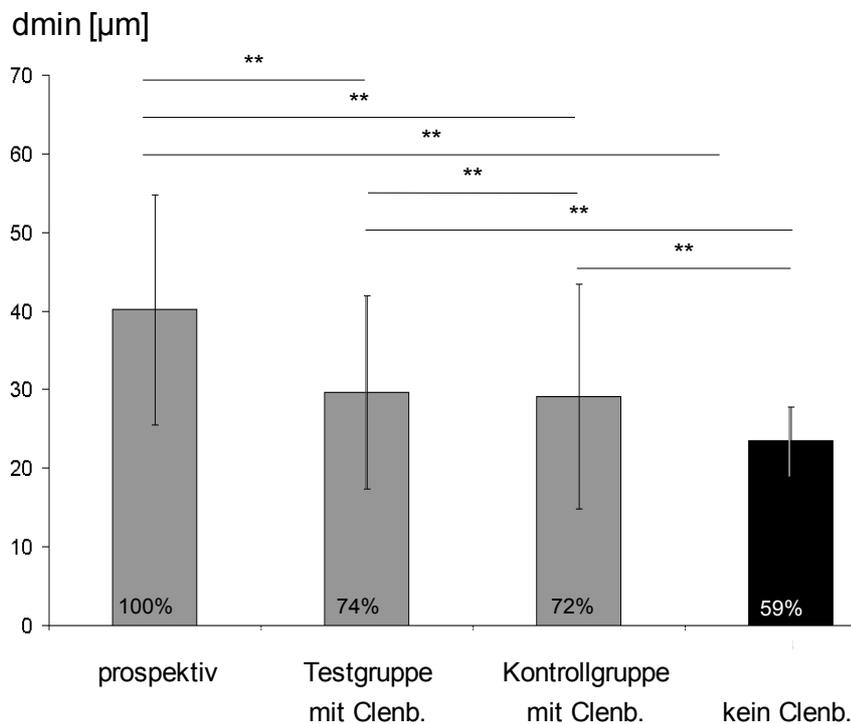


Abbildung 26: Minimale Muskelfaserdurchmesser in  $\mu\text{m}$  als Maß der Faseratrophie von prospektiven, dynamisch mit Clenbuterol (Test- und Kontrollgruppe) und dynamisch ohne Clenbuterol (Daten bereits publiziert in (51)) trainierten LDM. Der durchschnittliche Faserdurchmesser der prospektiven, untrainierten Muskeln soll als 100 % angenommen werden, an dem die Faserdurchschnittsreduktion der anderen Gruppen gemessen wurde. Die Faserdurchmesser unterschieden sich jeweils hochsignifikant voneinander (\*\*  $p < 0,001$ ).

Clenbuterol ist somit in der Lage, bei 100 % MHC I-Faser-Skelettmuskelventrikeln eine signifikante Vermehrung der Muskelmasse zu bewirken (siehe Abbildung 26, bei der der schwarze Balken für minimale Faserdurchmesser ohne Clenbuterol und der links davon befindliche graue Balken für minimale Faserdurchmesser mit Clenbuterol repräsentativ sind).

Möglicherweise könnte eine Erhöhung der Clenbuterol-Dosis zu einer weiteren Leistungssteigerung mit Reduktion der Muskelfaseratrophie der On-Demand-trainierten SMVs beitragen. Bei Hunden konnten Sharif et al. mit einer wesentlich höheren Dosierung von  $8 \mu\text{g}/\text{kg}$  zweimal täglich nach sechs Wochen noch eine Faserhypertrophie mit initialer Verbesserung der Pumpleistung erreichen. Es

entstanden keine destruktiven Veränderungen durch eine eventuelle Überdosierung (102).

### **4.7 Fluiddynamik**

Die Berechnung der Schlagvolumina und anderer Pumpcharakteristika erfolgte nach dem 30., 60., 90. und 120. Tag.

Die funktionellen Daten erfassten wir im genannten Beobachtungszeitraum (siehe Kapitel 3.1) an gesunden Tieren. Dabei ist der Beobachtungszeitraum nicht mit dem Versuchszeitraum gleichzusetzen.

Der Beginn der Erhebung funktioneller Daten richtete sich nach der Rückbildung der zum Teil postoperativ auftretenden subkutanen Serome. Erst nach deren Organisation ließ sich der Vascular Access Port sicher tasten und die Infektionsgefahr bei transkutaner Punktierung minimieren. Beim Auftreten erster Krankheitszeichen wurden die Messdaten von der Auswertung ausgeschlossen und das Tier eingeschläfert.

Es ist uns bekannt, dass sich bei Infektionen die biochemischen Muskelparameter sowie die Funktionalität des LDM nicht innerhalb weniger Tage verändern (50). Damit fanden dennoch Daten von Messtagen zeitnah der Versuchsterminierung Einschluss in die Auswertung. Auf diese Weise konnte eine maximale Versuchsdauer erreicht werden, die bei den kosten- und materialaufwendigen Großtierversuchen stets ausgenutzt werden sollte.

Bezüglich ihres Pumpvermögens zeigten die Skelettmuskelventrikel der Testgruppe ein konstantes, gleichbleibend hohes Schlagvolumen von etwa 30 ml über den gesamten Untersuchungszeitraum. In der Kontrollgruppe hingegen war das Schlagvolumen anfänglich mit Werten von  $67,46 \pm 30,86$  ml an Tag 30 hoch und fiel bis zum 120. Tag auf Werte von  $28,59 \pm 14,31$  ml ab. Nach vier Monaten war somit das Schlagvolumen bei beiden Gruppen vergleichbar. Während das Schlagvolumen bei der Testgruppe bis zum 120. Tag um 3,93 % anstieg, sank es in der Kontrollgruppe um 57,62 % im Vergleich zum Ausgangswert. Damit lagen zwei völlig verschiedene Entwicklungen im Schlagvolumenverlauf vor. Aus der

Histologie und der Myosin-Schwerkettenanalyse der Kontrollgruppe wissen wir, dass nach vier Monaten und darüber hinaus eine zunehmende Muskelzerstörung der oxydativ arbeitenden Typ I-MHC-Fasern auftrat. In der Testgruppe jedoch, deren Schlagvolumen über die gesamte Beobachtungsperiode relativ konstant um etwa 30 ml blieb, sahen wir histologisch einen Erhalt der Muskelfasern bei einer Myosin-Schwerketten-Zusammensetzung von etwa 50 zu 50 % MHC I zu MHC II. Trotz der wenigen Versuchstiere und der nicht immer langen Beobachtungszeit vermuten wir und stellen die Hypothese auf, dass bei weiteren Untersuchungen zur Optimierung von Blutpumpen ein Stimulationsschema angestrebt werden sollte, wie es dem der Testgruppe entspricht, und das in relativ konstanten Schlagvolumina resultierte.

Bezüglich der Schlagenergie ergab sich, dass in unserer Testgruppe das Energiemaximum  $E_{\max}$  im zweiten Drittel der Trainingszeit (nach Tag  $57 \pm 16$  Tagen bei einer Trainingszeit von  $92 \pm 53$  Tagen) erbracht wurde. In der Kontrollgruppe wurde die maximale Schlagenergie  $E_{\max}$  bereits im ersten Drittel der Versuchszeit (nach  $45 \pm 8$  Tagen bei einer Trainingszeit von  $134 \pm 31$  Tagen) gemessen. Damit zeigt sich, dass die SMVs der Testgruppe durch die langsame Zunahme der Stimulationsintensität pro Minute so auftrainiert wurden, dass sie im Trainingsverlauf ihr Leistungsmaximum erreichen konnten. In der Kontrollgruppe lieferten dagegen die Muskeln mit ihren vorwiegend Typ II-MHC-Fasern am Anfang hohe Schlagenergien. In der Testgruppe fand während der Prästimulation bereits eine partielle Fasertransformation statt, weswegen zu Beginn niedrigere Schlagenergien als in der Kontrollgruppe aufgebracht werden konnten.

Bei beiden Gruppen lag die erbrachte Schlagenergie im Größenordnungsbereich der Schlagenergie des menschlichen Herzens von 0,6 bis 0,8 J (42). In der Testgruppe wurden an Tag 30 durchschnittlich  $0,53 \pm 0,13$  J pro Schlag an Energie aufgebracht, an Tag 90 waren es  $0,47 \pm 0,28$  J. Diese Werte waren niedriger als die der bekannten und publizierten Kontrollgruppe (Tag 30:  $1,04 \pm 0,49$  J), jedoch fielen die Schlagenergien bei dieser progredient ab auf  $0,72 \pm 0,26$  J an Tag 60 und  $0,62 \pm 0,53$  J an Tag 90. Aufgrund der geringen Stichprobengröße an Tag 120 mit  $n=3$  in der Kontrollgruppe und  $n=2$  in der

Testgruppe war die Aussagekraft der erzielten Schlagenergien dort im Gruppenvergleich gering, aber die obigen Werte verdeutlichen den konstanten Energieertrag der Testgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Die Pumpleistung der SMVs der Testgruppe stellte sich an Tag 120, wenn auch bei niedriger Fallzahl und einer hohen Standardabweichung, mit  $4,50 \pm 2,53$  W um 163 % höher als in der Kontrollgruppe ( $1,71 \pm 0,81$  W) dar. Dieser Befund erklärt sich zum einen durch den Erhalt von etwa 50 % des Typ II-MHC und zum anderen durch den weitgehenden Muskelfasererhalt bei dem neuen Stimulationsregime. Damit wird auch hierdurch die Hypothese unterstützt, zukünftige Skelettmuskelventrikel nach dem neuen Stimulationsmuster zur Kontraktion zu bringen.

Da ein etwa 50 %iger Erhalt der schnellen MHC Typ II-Fasern erreicht werden konnte, ist in der Testgruppe gegenüber der Kontrollgruppe eine Zunahme der Kontraktilität zu erwarten (78, 79). Die Anstiegszeit bis zum maximalen Druckaufbau bei Kontraktion  $\Delta t_{\text{Anstieg}}$  war bei den Skelettmuskeln unserer Testgruppe ab Tag 30 signifikant kürzer als in der Kontrollgruppe. Im Trainingsverlauf nahm  $\Delta t_{\text{Anstieg}}$  in der Testgruppe um 24,34 % zu; in der Kontrollgruppe um 74,53 %. Eine Zunahme der  $\Delta t_{\text{Anstieg}}$  ist bei der stimulationsbedingten Fasertransformation verständlich, da schnelle Muskelfasern durch langsame Typ I-MHC-Fasern ersetzt wurden.

Die Druckänderungsgeschwindigkeit  $+dP/dt$  war erst ab Tag 90 in der Testgruppe signifikant schneller als in der Kontrollgruppe, so dass von einer Minderung der Druckänderungsgeschwindigkeit durch die partielle, wenn auch nicht signifikante, Fasertransformation in der Prästimulation auszugehen ist. Ab Tag 60 zeigte sich bereits eine deutliche Steigerung der Geschwindigkeit des maximalen Druckaufbaus  $+dP/dt$  auf Werte größer 1500 mmHg/s in der Testgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (siehe Abbildung 19).

Unsere fluidodynamischen Ergebnisse korrelieren mit denjenigen der Arbeitsgruppe Lopez-Guajardo et al. Sie konnten nachweisen, dass bei intermittierender Stimulation die Kontraktionsgeschwindigkeit und die langfristige Krafterzeugung in

teiltransformierten Muskeln höher ist als in vorrangig MHC Typ I-Muskeln (siehe Abbildung 27).

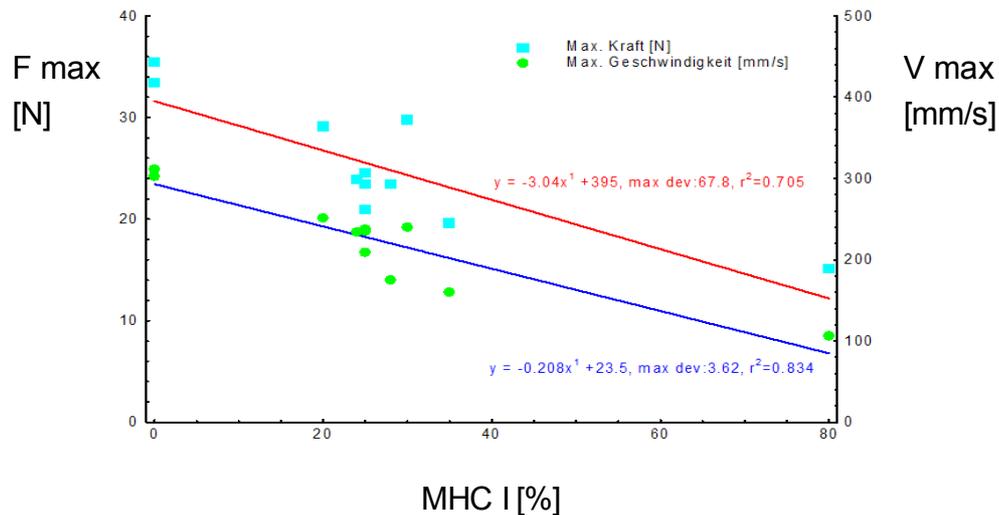


Abbildung 27: Maximale Kraft und maximale Kontraktionsgeschwindigkeit in Korrelation zur Myosin-Schwerketten-Zusammensetzung unter unterschiedlichen Stimulationszyklen beim Kaninchen. (Daten entnommen aus Lopez-Guajardo et al. (77, 78)).

In ihren Versuchen stellten sich aber signifikante Unterschiede in Bezug auf die Relaxationsgeschwindigkeitsparameter bei einem Myosin-Schwerketten-Typ II-Anteil von 70 bis 80 % heraus (77, 78). Bei unserer Testgruppe hingegen unterschied sich die Änderung des maximalen Druckabbaus  $-dP/dt$  bei Relaxation nicht signifikant von der in der kontinuierlich stimulierten 100 % MHC Typ I-Gruppe. Die MHC Typ II-Faseranteile hatten somit bei unseren Tieren keinen Einfluss auf die Relaxationsgeschwindigkeit, welches sich auch an langen Relaxationshalbwertszeiten zeigte. Dieses Ergebnis bedarf aufgrund niedriger Fallzahlen und großer Streuung weiterer Untersuchungen.

Klinisch sind möglicherweise unsere fluiddynamischen Ergebnisse von gesunden Ziegen nur begrenzt mit denen von Patienten vergleichbar. De Angelis et al. konnten zum Beispiel nachweisen, dass Skelettmuskeln bei Ratten nach Diabetesinduktion signifikant geringere Leistungen erbrachten (21). Durch die Applikation von Clenbuterol sollten jedoch Funktionseinschränkungen einer

leistungsgeminderten Muskulatur von herzinsuffizienten Patienten zumindest teilweise kompensierbar sein.

### **4.8 Morphometrie**

Die histologische Aufarbeitung sollte Aufschluss über den Erhalt von Muskelgewebe und über die Muskelfaserdurchmesser geben. Der Erhalt von Muskelgewebe konnte anhand von Übersichtspräparaten abgeschätzt werden. Es wurden minimale Faserdurchmesser ausgewertet, um eine Ergebnisverfälschung durch im Präparat schräg angeschnittene und damit größer erscheinende Fasern zu vermeiden.

Durch die zweiwöchige Prästimulation konnte eine signifikante Zunahme der minimalen Muskelfaserdurchmesser und damit eine Faserhypertrophie in der Testgruppe erreicht werden - scheinbar eine günstige Voraussetzung für kräftige Muskelkontraktionen - ,die zudem durch die postoperative Gabe von Clenbuterol verstärkt werden sollte. Wir aktivierten die Skelettmuskelventrikel bereits intraoperativ, um einer postoperativen Muskelatrophie vorzubeugen. Denn Goldspink et al. stellten fest, dass es postoperativ zur Atrophie und auch zum Kraftverlust kommt, wenn der Muskel eine postoperative Ruhephase durchläuft (41). Eine sofortige Stimulation nach „Frosch“-Implantation verhindert zudem das Risiko einer Muskelschwellung, die im ruhenden Muskel durch eine venöse Abflussstörung bedingt werden kann.

Unsere Testgruppe wies zum Versuchsende einen um 7  $\mu\text{m}$  signifikant größeren Faserdurchmesser auf als die nicht prästimulierte, kontinuierlich dynamisch trainierte Kontrollgruppe. Dennoch ließ sich in der konstant leistungsfähigeren Testgruppe keine Faserhypertrophie oder ein Erhalt der ursprünglichen Fasergröße feststellen.

Die Begrenzung der Trainingszeit auf  $92 \pm 53$  Tage wurde bei unserem Tierkollektiv jedoch nicht muskulär, sondern durch Versagen des elastischen Trainingsgerätes und durch Infektionen am Port-a-Cat, der Schrittmachertasche und solche, die sich von subkutan nach intrathorakal ausgebreitet hatten, limitiert.

#### **4.9 Schwerkettige Myosine**

Ein partieller Erhalt der vorwiegend glykolytisch arbeitenden, schnell kontrahierenden MHC Typ II-Fasern war angestrebt, da sie kräftiger sind, einen niedrigen Sauerstoffverbrauch aufweisen und somit nicht durch Gewebshypoxie zerstört werden können. Eine kontinuierliche Stimulation hingegen bewirkt eine vollständige Transformation zu MHC Typ I-Fasern, die einen rein sauerstoffabhängigen Stoffwechsel nutzen und langsamer, aber unermüdlich arbeiten. Diese Muskelfasern werden bei starker Beanspruchung durch die resultierenden, anhaltenden Muskelhypoxien geschädigt und sogar nekrotisch.

Eine vollständige Fasertransformation zu Typ I-MHC-Fasern konnte durch das neue Stimulationsregime bei der Testgruppe verhindert werden. Dabei war eine 50 zu 50 % MHC I- zu MHC II-Zusammensetzung angestrebt worden. Dieses Ziel konnten wir mit einem Verhältnis von MHC I- zu MHC II von 47 zu 53 % erreichen.

Bei der Analyse der Schwerketten des Myosins konnte gezeigt werden, dass bei den Tieren C 1-3, C 6 und C 7 eine Teiltransformation zu Typ I stattgefunden hatte. Bei kurzer Trainingszeit von 22 Tagen (C 7) war der MHC II-Anteil von 56 % vergleichbar mit dem MHC II-Anteil von einer wesentlich längeren Trainingszeit bei C 6 von 126 Tagen mit 53,2 %. Dieser vergleichbar ähnliche Transformationsgrad deutet darauf hin, dass das gewählte Stimulationsmuster in der Lage war, eine entsprechend hohe Transformation über mehrere Monate aufrecht zu erhalten. Die MHC-Transformation fand folglich in den ersten drei Trainingswochen statt und veränderte sich bei Betrachtung der MHC-Daten aller Ziegen der Testgruppe nicht wesentlich im Verlauf.

Es ist bemerkenswert, dass sich bei zwei Tieren (C 5 und C 8) bei identischem Stimulationsmustern eine 100 %ige Fasertransformation zu Typ I-MHC vollzogen hatte. Dieser Befund weist darauf hin, dass die Großtiere deutlich verschieden, also individuell, auf dasselbe Stimulationsmuster reagiert hatten. Diese individuelle

Reaktion könnte bedeuten, dass möglicherweise auch klinisch individuell angepasste Stimulationsmuster zu applizieren sind.

Grundsätzlich kann aufgrund des Erhalts der Typ II-Fasern in unserer Testgruppe gefolgert werden, dass das gewählte Stimulationsschema in der Lage war, die Faserzusammensetzung über einen Zeitraum von  $92 \pm 53$  Tagen (bei C 6 über vier Monate) annähernd konstant zu halten. Bisher gelang es lediglich über Versuchszeiten von sechs Wochen, Skelettmuskelventrikel mit einem Fasermischtyp zu erhalten (106).

Damit zeigt sich auch in dieser Arbeit, dass Skelettmuskelventrikel mit ihrer Pumpleistung zum klinischen Einsatz als autologe Herzunterstützung (50, 89) geeignet sein können.

### **4.10 Klinische Einsetzbarkeit intermittierend dynamisch trainierter Skelettmuskelventrikel**

Das intermittierende Stimulationsregime mit Prästimulation bewährte sich für ein muskelschonendes und effektives Skelettmuskelventrikel-Training. Eine Minimierung der Stimulationsreize pro Tag und eine Erhöhung der Clenbuteroldosis lassen eine weitere Leistungssteigerung erwarten. Intermittierendes Pumpen jedoch, mit Stillstand der Ventrikelwand und Thrombenanlagerung, bedingt ein erhöhtes Thromboembolierisiko. Deshalb ist für intermittierend arbeitende Blutpumpen die Entwicklung einer athrombogenen Blutkontaktfläche von höchster Priorität. Wir sehen in einer sich selbst endothelialisierenden Blutkontaktfläche eine mögliche Lösung dieses Problems. Zur Zeit erproben wir titanisierte ePTFE (Goretex®)-Pumpkammern. Erste Ergebnisse zeigen, dass auf diesen Blutkontaktflächen im Inneren der Pumpventrikel eine geschlossene Endothelschicht wächst. Ein Erhalt der Pumpmuskulatur, der wahrscheinlich durch ein individuell appliziertes Stimulationsregime bei einem entsprechenden Pumpmonitoring zu erreichen ist, und die oben beschriebene athrombogene Blutkontaktfläche, lassen die klinische Realisierbarkeit autologer Blutpumpen möglich erscheinen.

## 5 Zusammenfassung

Der Mangel an Spenderorganen bei der Herztransplantation erfordert für die Therapie der terminalen Herzinsuffizienz alternative, chirurgische Therapieverfahren. Der Einsatz von muskulären Herzunterstützungssystemen stellt eine zukunftsweisende Therapieoption dar. Wegen des Funktionsverlustes bisheriger Skelettmuskelventrikel aus 100 %igen Typ I-Myosin-Schwerketten-Fasern wurden in der vorliegenden Untersuchung gemischtfasrige (Typ-I und Typ-II) Skelettmuskelventrikel gebaut. Sie wurden funktionell und morphologisch im Großtierexperiment evaluiert und mit Typ I-Faser-Ventrikeln aus früheren, bereits publizierten Versuchsreihen verglichen.

Bei acht männlichen Burenziegen im Alter von  $4,3 \pm 2,2$  Jahren mit einem Gewicht von  $78,25 \pm 9,72$  kg wurden aus dem Musculus latissimus dorsi intrathorakal Skelettmuskelventrikel um ein elastisches Trainingsgerät gebaut. Alle Ziegen bekamen postoperativ den  $\beta$ -2-Rezeptoragonisten Clenbuterol in einer Dosierung von dreimal wöchentlich  $150 \mu\text{g}$  per os. Die Skelettmuskelventrikel wurden zunächst 14 Tage prästimuliert (eine Woche kontinuierlich mit 2 Hz; die zweite Woche mit 8 bursts pro Minute bei 33 Hz) und anschließend intermittierend über einen implantierten Myostimulator mit einer mittleren Stimulationsfrequenz von 0,7 Hz pro Tag über  $92 \pm 53$  Tage zur Kontraktion gebracht. Die Drucke wie auch die Compliancewerte des elastischen Trainingsgerätes wurden wöchentlich erfasst und daraus die Schlagvolumina berechnet. Nach Versuchsende wurden Muskelproben zu histologischen und biochemischen (MHC-Typisierung) Analysen entnommen.

Die fluiddynamischen Werte wie maximaler Druck ( $P_{\text{max}}$ ), maximales Schlagvolumen ( $SV_{\text{max}}$ ) und Schlagenergie ( $E_{\text{max}}$ ) wurden in Zeitintervallen von 30 Tagen über 120 Tage mit der Kontrollgruppe (Daten in Klammern) verglichen: Druck nach 30 Tagen:  $P_{\text{max}30} 177,13 \pm 52,96$  mmHg ( $P_{\text{max}30} 168,45 \pm 40,12$  mmHg); nach 120 Tagen  $P_{\text{max}120} 201,83 \pm 4,36$  mmHg ( $P_{\text{max}120} 203,89 \pm 19,44$  mmHg); Schlagvolumina an Tag 30:  $SV_{\text{max}30} 31,77 \pm 8,57$  ml ( $SV_{\text{max}30} 67,46 \pm 30,86$  ml), an Tag 120  $SV_{\text{max}120} 33,02 \pm 16,07$  ml ( $SV_{\text{max}120} 28,59 \pm 14,31$  ml); Schlagenergie nach

30 Tagen:  $E_{\max 30} 0,53 \pm 0,13 \text{ J}$  ( $E_{\max 30} 1,04 \pm 0,49 \text{ J}$ ); nach 120 Tagen  $E_{\max 120} 0,59 \pm 0,31 \text{ J}$  ( $E_{\max 120} 0,49 \pm 0,25 \text{ J}$ ).

Es konnte gezeigt werden, dass in der teiltransformierten Testgruppe nach 120 Tagen die Pumpleistung in Watt um 163 % höher war als in der Kontrollgruppe. Ebenfalls stieg die Kontraktilität + dP/dt am 90.Tag um 64,36 % signifikant ( $p \leq 0,03$ ) an. Die Typ I-Myosin-Schwerketten waren in teiltransformierten Skelettmuskelventrikeln mit 47 % niedriger als in der Kontrollgruppe mit 98 % ( $p < 0,006$ ). Die Muskelfaserdurchmesser erwiesen sich in der Testgruppe um  $0,7 \mu\text{m}$  größer als in der Kontrollgruppe ( $p < 0,001$ ).

Die unterschiedlich stimulierten Skelettmuskelventrikel beider Gruppen (intermittierend vs. kontinuierlich) mit 47 % zu 98 % schwerkettigen Typ I-Myosin zeigten deutliche Leistungsunterschiede. Wegen der geringen Anzahl an Tieren und der großen Streuung der Messdaten konnte dieser Leistungsunterschied lediglich als positiver Trend ( $p < 0,09$ ) zugunsten der intermittierenden, so genannten On-Demand-stimulierten Gruppe, aufgezeigt werden. Diese Ergebnisse sprechen somit dafür, dass bei zukünftigen Untersuchungen muskuläre Blutpumpen nur intermittierend pumpend zur Unterstützung des insuffizienten Herzens eingesetzt werden sollten.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Acker MA, Hammond RL, Mannion JD, Salmons S, Stephenson LW. An autologous biologic pump motor. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986; 92: 733-746
2. Acker M, Anderson WA, Hammond RL, DiMeo F jr, McCullum J, Staum M, Velchik M, Brown WE, Gale D, Salmons S, Stephenson LW. Oxygen consumption of chronically stimulated skeletal muscle. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 94: 702-709
3. Acker MA, Hammond RL, Mannion JD, Salmons S, Stephenson LW. Skeletal muscle as the potential power source for a cardiovascular pump: assessment in vivo. *Science* 1987; 236: 324-327
4. Ali AT, Chiang BY, Santamore WP, Dowling RD, Slater AD. Preconditioning of the latissimus dorsi muscle in cardiomyoplasty: vascular delay or chronic electrical stimulation. *Eur J Cardiothorac Surg* 1998; 14 (3): 304-310
5. Arabia FA, Smith RG, Jaffe C, Wild JC, Rose DS, Nelson RJ, McClellan DM, Acuna GA, Edling NG, Harrington NK, Rabago G, Tsen AC, Arzouman DA, Sethi GK, Copeland JG. Cost analysis of the Novacor left ventricular assist system as an outpatient bridge to heart transplantation. *ASAIO J* 1996; 42 (5): 546-549
6. Araki K, Nakatani T, Toda K, Taenaka Y, Tatsumi E, Masuzawa T, Baba Y, Yagura A, Wakisaka Y, Eya K. Power of the fatigue resistant in situ latissimus dorsi muscle. *ASAIO J* 1995; 41 (3): M768-771
7. Askew GN, Cox VM, Altringham JD, Goldspink DF. Mechanical properties of the latissimus dorsi muscle after cyclic training. *J Appl Physiol* 2002; 93: 649-659.
8. Barron DJ, Etherington PJ, Winlove CP, Jarvis JC, Salmons S, Pepper JR. Combination of preconditioning and delayed flap elevation: evidence for improved perfusion and oxygenation of the latissimus dorsi muscle for cardiomyoplasty. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 852-861
9. Bridges CR jr, Hammond RL, Dimeo F, Anderson WA, Stephenson LW. Functional right-heart replacement with skeletal muscle ventricles. *Circulation* 1989; 80: 183-191
10. Bridges CR jr, Hammond RL, Anderson DR. Skeletal muscle powered counterpulsation. In: Carpentier A, Chachques JC, Grandjean P (eds). *Cardiomyoplasty*. Futura Publishing, Mount Kisco/New York 1991: 227-249
11. Buller A, Eccles JC, Eccles RM. Interactions between motoneurons and muscles in respect of the characteristic speeds of their responses. *J Physiol (Lond)* 1960; 150: 417-439
12. Buller AJ, Eccles JC, Eccles RM. Differentiation of fast and slow muscles in the cat hind limb. *J Physiol* 1960; 150: 399-416

13. Carpentier A, Chachques JC, Acar C, Relland J, Mihaileanu S, Bensasson D, Kieffer DP, Guibourt P, Tournay D, Roussin I, Grandjean PA. Dynamic cardiomyoplasty at seven years. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106: 42-54
14. Carter WJ, Dang AQ, Faas FH, Lynch ME. Effects of Clenbuterol on skeletal muscle mass, body composition, and recovery from surgical stress in senescent rats. *Metabolism* 1991; 40 (8): 855-860
15. Chachques JC, Grandjean PA, Schwartz K et al. Effect of latissimus dorsi dynamic cardiomyoplasty on ventricular function. *Circulation* 1988; 78: III 203-216 (Suppl III)
16. Chachques JC, Chekroun P, Dardan P, Fischer EC, Carpentier A. Latissimus dorsi muscle strengthening and training before cardiomyoplasty. *BAM* 1997; 7 (1): 9-13
17. Chiu RC-J, Walsh GL, Dewar ML, De Simon J-H, Khalafalla AS, Ianuzzo D. Implantable extra-aortic balloon assist powered by transformed fatigue-resistant skeletal muscle. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 94: 694-701
18. Cloy MJ, Myers TJ, Stutts LA, Macris MP, Frazier OH. Hospital charges for conventional therapy versus left ventricular assist system therapy in heart transplant patients. *ASAIO* 1995; J 41 (3): 535-539
19. Cutlip R, Baker B, Geronilla K, Mercer R, Kashon M, Miller G, Murlasits Z, Alway S. Chronic exposure to stretch-shortening contractions results in skeletal muscle adaptation in young rats and maladaptation in old rats. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2006; 31 (5): 573-587
20. Cutlip R, Baker B, Geronilla K, Kashon M, Wu J. The influence of velocity of stretch-shortening contractions on muscle performance during chronic exposure: age effects. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007; 32 (3): 443-453
21. De Angelis K, Senna S, Irigoyen MC, Cestari IA. Diabetes-induced alterations in latissimus dorsi muscle properties impair effectiveness of dynamic cardiomyoplasty in rats. *Artif Organs* 2004; 28 (4): 326-331
22. Deng MC, Weyand M, Hammel D, Schmid C, Kerber S, Schmidt C, Breihardt G, Scheld HH. Selection and outcome of ventricular assist device patients: the Muenster experience. *J Heart Lung Transplant* 1998; 17(8): 817-825
23. Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO), 2008. [<http://www.dso.de>], (Tag des Zugriffs: 20.08.2008)
24. Dewar ML, Drinkwater DC, Wittnich C, Chiu RC-J. Synchronously stimulated skeletal muscle graft for myocardial repair. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1984; 87: 325-331
25. Dewar M, Walsh G, Abraham R, DeSimon J, Foot E, Stewart J, Fraser R, Chiu RC-J. Left ventricular full-thickness cardiomyoplasty with pericardial neoendocardium: experimental development of a surgical procedure. *Ann Thorac Surg* 1987; 44: 618-624
26. Doenst T, Schlensak C, Beyersdorf F. Ventrikelrekonstruktion bei ischämischer Kardiomyopathie. *Dtsch Arztebl* 2004; 9: A570-576

27. Dohmen PM, Laube H, De Jonge K, Baumann G, Konertz W. Mechanical circulatory support for one thousand days or more with the Novacor N100 left ventricular assist device. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 117(5): 1029-1030
28. Dor V, Saab M, Coste P, Kornaszewska M, Montiglio F. Left ventricular aneurysm: a new surgical approach. *Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 37 (1): 11-19
29. Drakos SG, Charitos EI, Nanas SN, Nanas JN. Ventricular-assist devices for the treatment of chronic heart failure. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2007; 5(3): 571-584
30. Duan C, Trumble DR, Scalise D, Magrover JA. Intermittent stimulation enhances function of conditioned muscle. *Am J Physiol* 1999; 45: R1534-1540
31. Egrie, Glenn MD, Hill J, Donald MD. Advances in mechanical bridge to heart transplantation. *Current Opinion in Organ Transplantation* 2000 June; 5(2): 126-133
32. Eisenberg BR, Salmons S. The reorganization of subcellular structure in muscle undergoing fast-to-slow type transformation. A stereological study. *Cell Tissue Res* 1981; 220: 449-471
33. Eisenberg BR, Brown JMC, Salmons S. Restoration of fast muscle characteristics following cessation of chronic stimulation. *Cell Tissue Res* 1984; 238: 221-230
34. Engelhardt G. Pharmakokinetik und Metabolitenmuster von Clenbuterol bei der Ratte. *Arzneimittelforschung* 1976; 26: 1435-1441
35. Eurotransplant International Foundation. Statistics for the heart transplantations 2006. [<http://www.eurotransplant.org>], (Tag des Zugriffs: 16.09.2008)
36. Eurotransplant International Foundation, 2008. Annual Report 2007. [<http://www.eurotransplant.nl>], (Tag des Zugriffs: 16.09.2008)
37. Gealow KK, Solien EE, Bianco RW, Chiu RC, Shumway SJ. Conformational adaptation of muscle: implications in cardiomyoplasty and skeletal muscle ventricles. *Ann Thorac Surg* 1993; 56: 520-526
38. Geddes LA, Wessale JL, Badylak SF, Janas W, Tacker WA, Voorhees WD. The use of an electrically activated valve to control preload and provide maximal muscle blood flow with a skeletal-muscle ventricle. *PACE* 1990; 13: 783-795
39. Geljins AC, Richards AF, Williams DL, Oz MC, Oliviera J, Moskowitz AJ. Evolving costs of long-term left ventricular assist device implantation. *Ann Thorac Surg*. 1997; 64 (5): 1312-1319
40. Girsch W, Lanmüller H, Rab M, Kamholz LP, Windberger U, Schima H, Avanesian R, Greher M, Ulrich M, Beck H, Haslik W, Seitelberger R. The Vienna SMV-project- First results from chronic experiments in goats. In: Guldner NW, Klapproth P, Jarvis CJ (eds). *Cardiac Bioassist* 2002. Shaker Verlag, Aachen 2003; 27: 327-332
41. Goldspink DF, Cox VM, Smith SK, Eaves LA, Osbaldeston NJ, Lee DM, Mantle D. Muscle growth in response to mechanical stimuli. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1995; 268 (2): 288-297

42. Greer KA, Lu H, Spanta AD, Hammond RL, Stephenson LW. Skeletal muscle ventricles, left ventricular apex-to-aorta configuration-1 to 11 weeks in circulation. *Circulation* 1997; 95: 497-502
43. Guldner NW, Tilmans MHJ, DeHaan H, Ruck K, Bressers H, Messmer BJ. Development and training of skeletal muscle ventricles with low preload. *J Card Surg* 6.1 Supp 1991: 175-183
44. Guldner NW, Tilmans MHJ, Klapproth P, Eichstädt H, Ruck K, Bresser H, Fornhoff H, Bardos P, Messmer BJ. Un ventricule intrathoracique en muscle squelettique: resultats préliminaires. *J Cardiol* 1991; 3(6): 253-257
45. Guldner NW, Tilmans MHJ, Klapproth P, Eichstaedt HC, Umbrain V, Messmer BJ, Bardos P. Dynamic training of skeletal muscle ventricles-a method to create high performance for muscle powered cardiac assist. 4th Vienna International Workshop on Functional Electrostimulation, Baden/Vienna 1992, Sept 24-27; 202-205
46. Guldner NW, Eichstaedt HC, Klapproth P, Tilmans MHJ, Thuaudet S, Umbrain V, Ruck K, Wyffels E, Bruyland M, Sigmund M, Messmer BJ, Bardos P. Dynamic training of skeletal muscle ventricles. A method to increase muscular power for cardiac assistance. *Circulation* 1994; 89(3): 1032-1040
47. Guldner NW, Klapproth P, Fischer T, Krischer H, Klempien I, Keller R, Sievers HH. Dynamic training of skeletal muscle ventricles for cardiac assist-A chronic study in calves and adult goats. Concerted Action Heart, Skeletal Muscle Assist Working Group, Proceedings, Sirmione/Italy 1994, 2-3 July; 31-33
48. Guldner NW, Klapproth P, Fischer T, Rumpel E, Büchner I, Keller R, Klempien R, Krischer H, Thuaudet S, Noel R, Kuppe H, Sievers HH. Functionally adapted stimulation patterns for a dynamic training of skeletal muscle ventricles in adult goats. *BAM* 1997; 7(1): 67-72
49. Guldner NW, Klapproth P, Fischer T, Rumpel E, Eggers M, Keller R, Klempien I, Keding B, Wünsche W, Vollmer G, Joubert-Hübner E, Thuaudet S, Noel R, Kuppe H, Sievers HH. Energy adapted dynamic training of skeletal muscle ventricles in adult goats to develop efficient autologous blood pumps. *Thorac CardVasc Surg* 1997, submitted
50. Guldner NW. Entwicklung eines im Kreislauf trainierbaren Biomechanischen Herzens. Med Habil. Schr. Lübeck, 1997
51. Guldner NW, Klapproth P, Grossherr M, Stephan M, Rumpel E, Noel R, Sievers HH. Clenbuterol-supported dynamic training of skeletal muscle ventricles against systemic load: a key for powerful circulatory assist? *Circulation* 2000; 101 (18): 2213-2219
52. Gustafson KJ, Sweeny JD, Gibney J, Brandon TA. Functional conditioning of skeletal muscle ventricles. Proc. Of the 17<sup>th</sup> Annual Internat. Conf of the IEEE-EMBS, Montreal 1995: 103-104
53. Hammond RL, Bridges CR jr, DiMeo F, Stephenson LW. Performance of skeletal muscle ventricles: effects of ventricular chamber size. *J Heart Transplant* 1990; 9(3): 252-257

54. Hanrahan JP. Beta-Agonists and their effects on animal growth and carcass quality. Elsevier Appl. Science, London 1987; 13-28
55. Herold G. Herzinsuffizienz. In: Gerd Herold (Hrsg). Innere Medizin 2008, Köln 2008: 186-203
56. Hoh JFY, McGrath PA, White RI. Electrophoretic Analysis of Multiple Forms of Myosin in Fast-Twitch and Slow-Twitch Muscles of the Chick. Biochem J 1976; 157: 87-95
57. Hoh JFY, Yeoh GPS, Thomas MAW, Higginbottom L. Structural differences in the heavy chains of rat ventricular myosin isozymes. FEBBs Lett 1979; 97: 330-334
58. Hoh JFY, Yeoh GPS. Rabbit skeletal myosin isoenzymes from fetal, fast-twitch and slow-twitch muscles. Nature 1979; 280: 321-322
59. Hoh JFY, Kwan BTS, Dunlop C, Kim BH. Effects of nerve cross-union and cordomy on myosin isoenzymes in fast-twitch and slow-twitch muscles of the rat. In: Pette D (eds). Plasticity of muscle. Walter de Gruyter, Berlin 1980: 339-352
60. Holman WL, Murrah CP, Ferguson ER, Bourge RC, McGiffin DC, Kirklin JK. Infections during extended circulatory support. University of Alabama at Birmingham experience 1989 to 1994. Ann Thorac Surg 1996; 61(1): 366-371
61. Hooper TL, Niinami H, Hammond RL, Lu H, Ruggiero R, Pochettino A, Stephenson LW. Skeletal muscle ventricles as left atrial-aortic pumps: short-term studies. Ann Thorac Surg 1992; 54: 316-322
62. Hoppe UC, Böhm M, Dietz R, Hanrath P, Kroemer HK, Osterspey A, Schmaltz AA, Erdmann E. Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz. Z Kardiologie 2005; 94: 488-509
63. Hudlicka O. What makes blood vessels grow? J Physiol 1991; 444: 1-24
64. Iannuzzo CD, Iannuzzo SE, Chalfoun N, Feild M, Locke M, Fernandez J, Chiu R C-J. Cardiomyoplasty: comparison of latissimus dorsi muscle of three large mammals with that of human. J Card Surg 1996; 11: 30-36
65. Jarvik R, Westaby S, Katsumata T, Pigott D, Evans RD. LVAD power delivery: a percutaneous approach to avoid infection. Ann Thorac Surg 1998; 65(2): 470-473
66. Jarvis JC, Kwende MMN, Shortland A, El Oakley RM, Gilroy SJ, Black RA, Salmons S. Relation between muscle contraction speed and hydraulic performance in skeletal muscle ventricles. Circulation 1997; 96: 2368-2375
67. Karow T, Lang-Roth R. Herzinsuffizienz. In: Karow T (Hrsg). Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie 2008, Thomas Karow, Köln 2008, 16.Auflage: 280-292
68. Kebaetse MB, Binder-Macleod SA. Strategies that improve human skeletal muscle performance during repetitive, non-isometric contractions. Pflug Arch Eur J Phy 2004; 448 (5): 525-532
69. Keller R. Fasertypisierung dynamisch trainierter Skelettmuskelventrikel mit verschiedener Pumpleistung. Med. Diss. Lübeck, 1999

70. Klabunde RE, Anderson WA, Locke M, Ianuzzo SE, Ianuzzo CD. Regional blood flows in the goat latissimus dorsi muscle before and after chronic stimulation. *J Appl Physiol* 1996; 81 (6): 2365-2372
71. Klapproth P, Tilmans MHJ, Guldner NW, Eichstaedt HC, Ruck K, Bressers H, Bardos P, Messmer BJ. Fundamentals and development of a computerprogrammed evaluation method for performance data assessment of SMVs in training. *Int J Artif Organs* 1991; 14: 568
72. Klapproth P, Guldner NW, Sievers HH. Stroke volume validation and energy evaluation for the dynamic training of skeletal muscle ventricles. *Int J Artif Organs* 1997; 20: 313-321
73. Klempien I. Analyse schwerer Myosinketten dynamisch trainierter Skelettmuskelventrikel mit unterschiedlicher Pumpleistung. *Med. Diss. Lübeck*, 2001
74. Klotz S, Loehner A, Drees G, Scheld HH. Chirurgische Therapie der Herzinsuffizienz. *Herz* 2006; 31(5): 445-454
75. Kurowski V. Herzinsuffizienz. In: Renz-Polster H, Krautzig S (Hrsg): *Basislehrbuch Innere Medizin*. Urban und Fischer, München/Jena 2008, 4.Auflage: 87-97
76. Leriche R, Fontaine R. Essai expérimental de traitement de certains infarctus du myocarde et de l'anévrisme du coeur par une greffe de muscle strié. *Bull Soc Nat Chir* 1933; 59: 229-232
77. Lopez-Guajardo A, Sutherland H, Jarvis JC, Salmons S. Dynamics of stimulation-induced muscle adaptation: insights from varying the duty cycle. *J Musc Res Cell Motil* 2000; 21(8): 725-735
78. Lopez-Guajardo A, Sutherland H, Jarvis JC, Salmons S. Induction of a fatigue-resistant phenotype in rabbit fast muscle by small daily amounts of stimulation. *J Appl Physiol* 2001; 90: 1909-1918
79. Lu H, Fietsam R jr, Hammond RL, Nakajima H, Mocek FW, Thomas GA, Ruggiero R, Colson M, Stephenson LW. Skeletal muscle ventricles: left ventricular apex to aorta configuration. *Ann Thorac Surg* 1993; 55: 78-85
80. Maltin CA, Hay SM, Delday MI, Smith FG, Lobley GE, Reeds PJ. Clenbuterol, a beta agonist, induces growth in innervated and denervated rat soleus muscle via apparently different mechanisms. *Biosci Rep* 1987; 7(6): 525-532
81. McBride LR, Naunheim KS, Fiore AC, Moroney DA, Swartz MT. Clinical experience with 111 Thoratec ventricular assist devices. *Ann Thorac Surg* 1999; 67(5): 1233-1238
82. Mehta SM, Aufiero TX, Pae WE jr, Miller CA, Pierce WS. Combined registry for the clinical use of mechanical ventricular assist pumps and the total artificial heart in conjunction with the heart transplantation: sixth official report 1994. *J Heart Lung Transplant* 1994; 14(3): 585-593
83. Mehta SM, Aufiero TX, Pae WE jr, Miller CA, Pierce WS. Mechanical ventricular assistance: an economical and effective means of treating end-stage heart disease. *Ann Thorac Surg* 1995; 60: 284-290

84. Oakley BR, Kirsch DR, Morris NR. A simplified ultrasensitive silver stain for detecting proteins in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem* 1980; 105: 361
85. Pae EK, Hyatt JPK, Wu J, Chien P. Short-term electrical stimulation alters tongue muscle fibre type composition. *Arch Oral Biol* 2007; 52(6): 544-551
86. Pennington DG. Extended support with permanent systems. Percutaneous versus totally implantable. *Ann Thorac Surg* 1996; 61(1): 403-406
87. Petrou M, Wynne DG, Boheler KR, Yacoub MH. Clenbuterol induces hypertrophy of the latissimus dorsi muscle and heart in the rat with molecular and phenotypic changes. *Circulation* 1995; 92(2): 483-489
88. Pietsch L-E, Harig F. Gerinnungssystem. In: Feidt P, Vetter HO, Weyand M (Hrsg). *Synopsis der biologischen und mechanischen Kreislaufunterstützung*. Steinkoff Verlag, Darmstadt 2003: 179-190
89. Pochettino A, Spanta AD, Hammond RL, Anderson DR, Bridges CR, Samet P, Niinami H, Hohenhaus E, Salmons S, Stephenson LW. Skeletal muscle ventricles for total heart replacement. 110<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Surgical Association, Washington/DC April 1990
90. Potapov EV, Jurmann MJ, Drews T, Pasic M, Loebe M, Weng Y, Hetzer R. Patients supported for over 4 years with left ventricular assist devices. *Eur J Heart Fail* 2006; 8(7): 756-759
91. Radovsky AS, Van Vleet JF, Stokes KB, Tacker WA jr. Paired comparisons of steroid-eluting and non-steroid endocardial pacemaker leads in dogs: electrical performance and morphologic alterations. *Pacing Clin Electro* 1988; 11 (7): 1085-1094
92. Rigatelli G, Carraro U, Barbiero M, Zanchetta M, Dimopoulos K, Cobelli F, Riccardi R, Rigatelli G. Activity-rest stimulation protocol improves cardiac assistance in dynamic cardiomyoplasty. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002; 21: 478-482
93. Rohen JW, Lütjen-Drecoll E (Hrsg). *Funktionelle Anatomie des Menschen*. Schattauer Verlag, Stuttgart 2006, 11. Auflage: 285-286
94. Salmons S, Vrbova G. Changes in the speed of mammalian fast muscle following longterm stimulation. *J Physiol (Lond)* 1967; 192(2): 39p-40p
95. Salmons S, Vrbova G. The influence of activity on some contractile characteristics of mammalian fast and slow muscles. *J Physiol* 1969; 201: 535-549
96. Salmons S, Sreter FA. Significance of impulse activity in the transformation of skeletal muscle type. *Nature* 1976; 263: 30-34
97. Salmons S, Gale DR, Sreter FA. Ultrastructural aspects of the transformation of muscle fibre type by long term stimulation: changes in Z discs and mitochondria. *J Anat* 1978; 127: 17-31
98. Salmons S, Jarvis JC. The working capacity of skeletal muscle transformed for use in a cardiac assist role. In: Chiu RCJ, Bourgeois I (eds). *Transformed Muscle for cardiac Assist and Repair*. Futura Publishing Mount Kisco/New York 1990: 89-104

99. Salmons S, Jarvis JC. Cardiac assistance from skeletal muscle: a critical appraisal of the various approaches. *Br Heart J* 1992; 68: 333-338
100. Schmidt C. Infektionen. In: Feidt P, Vetter HO, Weyand M (Hrsg). *Synopsis der biologischen und mechanischen Kreislaufunterstützung*. Steinkoff Verlag, Darmstadt 2003: 191-197
101. Schrader J, Kelm M. Das Herz: Regulation der Pumpleistung des Herzens. In: Klinker R, Pape HC, Silbernagl S (Hrsg). *Physiologie*. Thieme Verlag, Stuttgart 2005, 5.Auflage: 155
102. Sharif Z, Hammond RL, McDonald P, Vander Heide R, Stephenson LW. The functional and histological effects of clenbuterol on the canine skeletal muscle ventricle. *J Surg Res* 2005; 123 (1): 89-95
103. Simoneau J-A, Kaufmann M, Härtner K-T, Pette D. Relations between chronic stimulation-induced changes in contractile properties and the Ca<sup>2+</sup>-sequestering system of rat and rabbit fast-twitch muscles. *Pflug Arch Eur J Phy* 1989; 414: 629-633
104. Sreter FA, Gergely J, Salmons S, Roanul F. Synthesis by fast muscle in response to long-term stimulation. *Nat New Biol* 1973; 241: 17-19
105. Statistisches Bundesamt Deutschland 2008. *Todesursachen in Deutschland (2007)*. [<http://www.destatis.de>], (Tag des Zugriffs: 16.09.2008)
106. Sutherland H, Salmons S, Ramnarine IR, Capoccia M, Walsh AA, Jarvis JC. Adaptive conditioning of skeletal muscle in a large animal model (*Sus domesticus*). *J Anat* 2006; 209 (2): 165-177
107. Suzuki T, Kikuchi Y, Sakurada T, Hirano T, Kitada M, Kusajima K, Obata H, Kazui T. Endoventricular circular patch plasty (dor operation) for postinfarction left ventricular aneurysm and ischemic cardiomyopathy. *Kyobu Geka* 2001; 54 (7): 539-543
108. Termet H, Charlencon JL, Estour E. Transplantation sur le myocarde d'un muscle strie excite par pace-maker. *Ann Chir Thorac Cardio* 1966; 5: 260-263, 270
109. Thomas GA, Hammond RL, Greer K, Lu H, Jarvis JC, Shortland AP, Pullan DM, Salmons S, Stephenson LW. Functional assessment of skeletal muscle ventricles after pumping for up to four years in circulation. *Ann Thorac Surg*. 2000; 70 (4): 1281-1290
110. Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, Boucek MM, Keck BM, Hertz MI. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twentythird official adult lung and heart-lung transplantation report 2006. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25(8): 880-892
111. Westerhof N, Elzinga G, Sipkema P. An artificial arterial system for pumping hearts. *J Appl Physiol*. 1971; 31(5): 776-781
112. Zeman RJ, Ludeman R, Easton TG, Etlinger JD. Slow to fast alterations in skeletal muscle fibers caused by Clenbuterol, a  $\beta$ -2-receptor agonist. *Am J Physiol* 1988; 254: E732

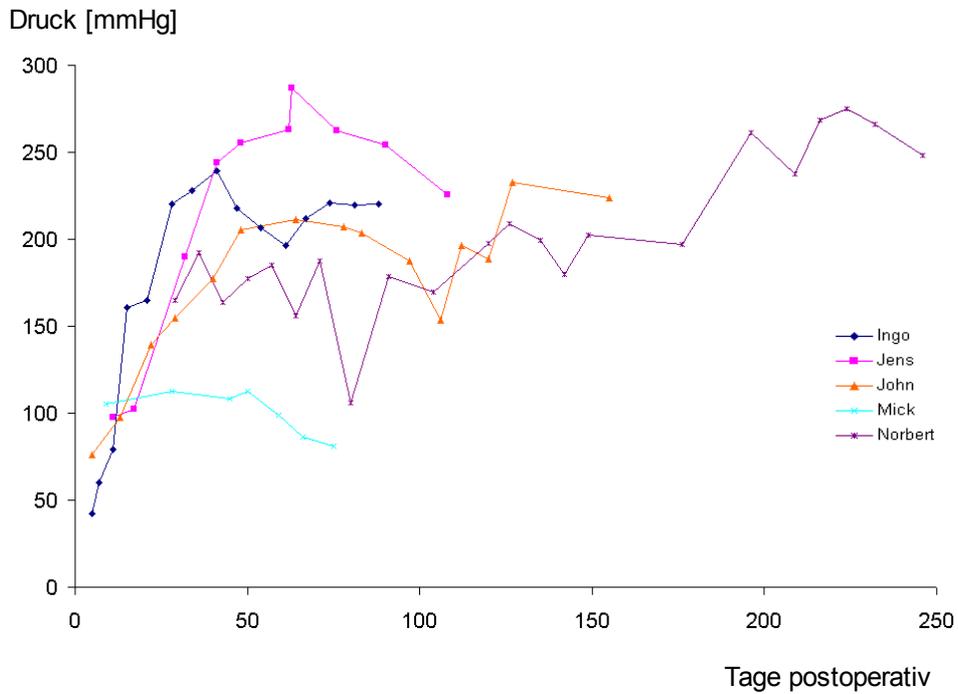
## 7 Anhang

### 7.1 Abkürzungen

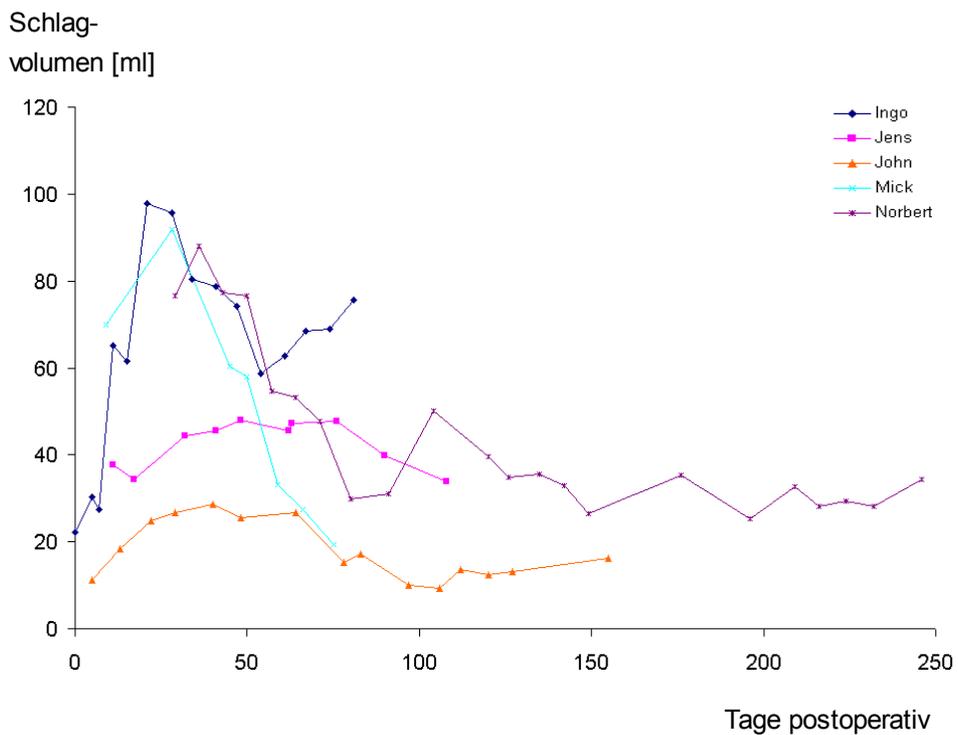
bpm	bursts per minute; Bursts pro Minute
dmin	Minimaler Durchmesser des Muskelfaseranschnittes
+/- dP/dt	Geschwindigkeit des maximalen Druckaufbaus beziehungsweise Geschwindigkeit des maximalen Druckabbaus
E	(Schlag-)Energie (J)
Hz	Hertz (1/sec)
HZV	Herzzeitvolumen (l/min)
IDMS	Interaktives Digitalisierendes Messsystem
L	Leistung (W)
LDM	Latissimus dorsi muscle
MHC	Myosin heavy chain; Schwerketten des Myosins
NYHA	New York Heart Association; Klassifizierung zur Einteilung der Schweregrade der Herzinsuffizienz
P	Druck (mmHg)
SMV	Skelettmuskelventrikel
SV	Schlagvolumen (ml)
$\Delta t_{\text{Anstieg}}$	Anstiegszeit bis zum maximalen Druckaufbau bei Kontraktion (ms)
$\Delta t_{\text{relax } \frac{1}{2}}$	Halbwertszeit des Druckabfalles bei Relaxation (ms)
VAD	Ventricular Assist Device
VAP	Vascular Access Port

7.2 Fluidynamische Ergebnisse der Kontrollgruppe (bereits publiziert)

Druck



Schlagvolumen



### 7.3 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die durch ihre Hilfe zu der Realisierung dieser Arbeit beigetragen haben.

Insbesondere möchte ich der Klinik für Herzchirurgie unter Leitung von Herrn Prof. Dr. med. H.H. Sievers sowie Herrn Prof. Dr. med. N.W. Guldner für das Überlassen des Themas danken. Prof. Dr. med. N.W. Guldner sei gedankt für die vorbildliche Betreuung während der Entstehung dieser Arbeit. Seine Anregungen und auch Kritik waren mir stets Ansporn und Inspiration bei dem Erstellen dieser Arbeit.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Dr.-Ing. P. Klapproth, der mir geduldig bei Messwerterfassung, der Auswertung der Daten und der Überarbeitung meiner Arbeit zur Seite stand.

Herrn Dr. med. M. Großherr sei gedankt für die Durchführung der Intubationsnarkosen.

Ich danke den Mitarbeitern der Gemeinsamen Tierhaltung der Universität Lübeck unter der Leitung von Herrn Dr. med. vet. R. Noel für die gewissenhafte Betreuung der Ziegen.

Mein Dank gilt Frau Britta Keding für die motivierenden Gespräche und die Hilfe bei der histochemischen Aufarbeitung der Muskelbiopsien sowie Frau Elisabeth Theißing für die unermüdliche Präparateanfertigung und deren Färbung.

Zu danken habe ich auch Herrn Dr. med. R. Eggers aus dem Institut für Anatomie für die Einweisung in die morphometrische Auswertung und die weitere Betreuung.

Ebenfalls danke ich Frau Dipl.-Stat. G. Dahmen aus dem Institut für Medizinische Biometrie und Statistik für die statistische Beratung.

Außerdem möchte ich mich bei meinen Mitdoktoranden David Thalmann und Kathinka Minnich für die konstruktive Zusammenarbeit und die zuverlässige Hilfe bei der Datenerfassung bedanken.

Selbstverständlich gilt mein Dank auch meinen Eltern; ohne sie wären weder mein Studium noch diese Arbeit möglich gewesen. Besonders danke ich Ihnen für ihren uneingeschränkten Beistand während der letzten Jahre.

## 7.4 Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name: Catrina Hansen  
Geburtstag: 16.08.1981  
Geburtsort: Eckernförde



### Berufliche Tätigkeit:

1. Oktober 2008 Assistenzärztin an der Klinik für Chirurgie an der Universität  
Lausanne (Centre Hospitalier Universitaire Vaudois)/Schweiz

### Schulische Ausbildung:

2001 Schulabschluss mit der Allgemeinen Hochschulreife  
1992-2001 Besuch des Städtischen Gymnasiums Bad Segeberg  
1988-1992 Besuch der Grundschule, Heinrich-Rantzau-Schule  
Bad Segeberg

### Universitäre Ausbildung:

27.Mai 2008 Abschluss des Medizinstudiums mit dem 2. Staatsexamen  
12/2003 Beginn der experimentellen Doktorarbeit in der Klinik für  
Herzchirurgie des Uniklinikums Lübeck  
2003 1. Staatsexamen der Humanmedizin  
Oktober 2001 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität zu  
Lübeck

Praktisches Jahr:

06-07/2007	Internistische Notaufnahme des Universitätsklinikums Lübeck
04-06/2007	Internistische Notaufnahme des Universitätsklinikums Zobda-Quitman, Fort-de-France/Martinique
12/2006-03/2007	Allgemeinchirurgie und Unfallchirurgie, Hôpital de Martigny/Schweiz
08-12/2006	Radiologie, Universitätsklinikum Lübeck

Famulaturen:

2006	Handchirurgische Praxis (Prof. Dr. med. R. Stober), Hirslandenklinikum Aarau/Schweiz
2005	Pädiatrie und Neonatologie (Dr. med. A. Abutaleb), King Khalid National Guard Hospital, Jeddah/Saudi-Arabien
2005	Plastische Chirurgie (Prof. Dr. med. M. Frey), Allgemeines Krankenhaus Wien/Österreich
2004	Innere Medizin (Prof. Dr. med. T. Hütteroth), Sana Klinikum Lübeck
2004	Plastische Chirurgie (Prof. Dr. med. P. Mailänder), Universitätsklinikum Lübeck