

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Direktor: Prof.Dr. Peter Presek)

**Belastungsinduzierte Zunahme der Herzfrequenz, Kontraktilität und
Plasmareninaktivität bei Probanden mit dem Gly389Arg
Polymorphismus des beta-1 Adrenozeptors**

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin (Dr.med.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Heiko Belger

geboren am: 12. Januar 1973 in Halle

Betreuer: Prof.Dr. Otto-Erich Brodde

Gutachter: 1. Prof. Brodde (Essen)
2. Prof. Werdan
3. Prof. Eschenhagen (Hamburg)

16.12.2003

22.10.2004

urn:nbn:de:gbv:3-000007779

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000007779>]

β_1 -Adrenozeptoren spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation der Inotropie und Chronotropie im menschlichen Herzen, sowie der Ausschüttung von Renin in der Niere. Kürzlich wurde ein Polymorphismus des β_1 -Adrenozeptors entdeckt. An Position 389 der Aminosäurekette des β_1 -Adrenozeptors wurde entweder die Aminosäure Glycin oder Arginin gefunden. Durch in vitro Versuche konnte nachgewiesen werden, dass die Gly389 Mutante wesentlich geringer auf agonisteninduzierte Stimulation reagiert als die Arg389 Mutante. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es herauszufinden, ob dieser Polymorphismus auch in vivo eine Rolle spielt. Zu diesem Zweck untersuchten wir die belastungsinduzierten Änderungen der Herzfrequenz, der Plasmareninaktivität sowie der herzfrequenzkorrigierten Dauer der elektromechanischen Systole (QS_{2c}), als Maß für die Inotropie, die beim Menschen fast ausschließlich durch Stimulation von β_1 -Adrenozeptoren vermittelt werden. Bei jeweils 12 (6 männlichen und 6 weiblichen homozygot für die Gly389 bzw. Arg389 Mutante) Probanden (mittleres Alter 24 ± 1) erfolgte die dynamische Belastung am Ergometer in liegender Position für jeweils 5 Minuten in den Belastungsstufen 25 Watt, 50 Watt, 75 Watt und 100 Watt. Dabei wurden Blutdruck, Herzfrequenz, QS_{2c} , Katecholaminspiegel und die Plasmareninaktivität gemessen. Die Ergometerbelastung führte zu einer Steigerung der Herzfrequenz und der Plasmareninaktivität, sowie einer Verkürzung der QS_{2c} . Bei den gemessenen Parametern fanden sich aber keine signifikanten Unterschiede in der Ansprechbarkeit der beiden Polymorphismen des β_1 -Adrenozeptors auf dynamische Belastung. Überraschend zeigten sich jedoch Unterschiede im Vergleich von männlichen und weiblichen Probanden beider Gruppen. So kam es bei den weiblichen Probanden, unabhängig vom Genotyp, zu einem stärkeren Anstieg der Herzfrequenz sowie einer tendenziell stärkeren Verkürzung der QS_{2c} . Zusammenfassend kann man sagen, dass die in vitro beobachteten Unterschiede, hinsichtlich einer verminderten Ansprechbarkeit der Gly389 Mutante auf Stimulation, in vivo keine funktionelle Bedeutung besitzen.

Belger, Heiko: Belastungsinduzierte Zunahme der Herzfrequenz, Kontraktilität und Plasmareninaktivität bei Probanden mit dem Gly389Arg Polymorphismus des beta-1 Adrenozeptors. Halle, Univ., Med.Fak., Diss., 32 Seiten, 2003

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	2
2. Probanden und Methodik	6
2.1. Allgemeine Bemerkungen zur Studienplanung	6
2.1.1. Probandenauswahl	6
2.1.2. Studienmodell	6
2.1.3. Studienausgangsbedingungen und Studienprotokoll	7
2.1.4. Abbruchkriterien	8
2.2. Untersuchungsparameter und -methoden	8
2.2.1. Systolischer und diastolischer Blutdruck	8
2.2.2. Herzfrequenz	9
2.2.3. Systolische Zeitintervalle	9
2.2.4. Blutproben	10
2.2.5. Datenanalyse	11
3. Ergebnisse	12
3.1. Ergebnisse des Screenings für den β_1 -Adrenozeptor Polymorphismus	12
3.2. Hämodynamische und biochemische Auswirkungen des β_1 -Adrenozeptor Polymorphismus	12
3.3. Geschlechtsspezifische Unterschiede hämodynamischer und biochemischer Parameter bei Ergometrie	13
4. Diskussion	15
5. Zusammenfassung	19
6. Literaturverzeichnis	20
7. Tabellen und Abbildungen	24
Tabelle 1: Ausgangswerte und Maximalwerte bei Belastung mit 100 Watt im Vergleich Gruppe A vs. Gruppe B	24

Tabelle 2: Maximalwerte bei Belastung mit 100 Watt im Vergleich männliche vs. weibliche Probanden	25
Abbildung 1: Änderung der Herzfrequenz unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante	26
Abbildung 2: Änderung der QS_{2c} unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante	26
Abbildung 3: Änderung des systolischen Blutdruckes unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante	27
Abbildung 4: Änderung des diastolischen Blutdruckes unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante	27
Abbildung 5: Abbildung: Änderung des Adrenalinpiegels unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante	28
Abbildung 6: Änderung des Noradrenalinpiegels unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante	28
Abbildung 7: Änderung der Plasmareninaktivität unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante	29
Abbildung 8: Änderung der Herzfrequenz unter Ergometrie bei weiblichen vs. männlichen Probanden der Gly389 Mutante	30
Abbildung 9: Änderung der Herzfrequenz unter Ergometrie bei weiblichen vs. männlichen Probanden der Arg389 Mutante	30
Abbildung 10: Änderung der QS_{2c} unter Ergometrie im Vergleich weibliche zu männlichen Probanden der Gly389 Mutante	31
Abbildung 11: Änderung der QS_{2c} unter Ergometrie im Vergleich weibliche zu männlichen Probanden der Arg389 Mutante	31
8. Thesen	32

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
bp	Blutdruck
dbp	diastolischer Blutdruck
HF	Herzfrequenz
Kg	Kilogramm
LVET	linksventrikuläre Austreibungszeit
mm	Millimeter
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
mm/sek	Millimeter pro Sekunde
ms	Millisekunde
n	Anzahl
p	errechnete Wahrscheinlichkeit für den Fehler erster Art
PEP	Präejektionsperiode
QS ₂	elektromechanische Systolendauer
QS _{2c}	herzfrequenzkorrigierte elektromechanische Systolendauer
sbp	systolic bloodpresure
S.E.M.	standart error of the mean
STI	systolic time interval
RR	Intervall zwischen zwei R- Zacken im EKG
STI	Systolisches Zeitintervall
PEP	Präejektionsperiode
vs.	Versus
z.B.	zum Beispiel

1. Einleitung

Die Adrenozeptoren gehören zur Familie der „seven transmembrane domain receptors“. Ihre Wirkung entfalten sie durch Kopplung an stimulierende oder hemmende G-Proteine. Bis heute wurden neun verschiedene Typen von Adrenozeptoren nachgewiesen, nämlich: α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} , α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} ; und β_1 , β_2 und β_3 (Bylund et al., 1994).

Adrenozeptoren spielen eine Schlüsselrolle für die Vermittlung der Wirkung des vegetativen Nervensystems. Dieses dient der Regulierung und Aufrechterhaltung vieler Körperfunktionen und damit der Aufrechterhaltung der Homöostase unter den wechselnden Anforderungen der Umwelt. Beispiele hierfür sind die Anpassung von Herzfrequenz, Blutdruck und Muskeldurchblutung bei körperlicher Arbeit und die Zunahme von Hautdurchblutung und Schweißsekretion bei erhöhter Körpertemperatur.

Die Neurone des peripheren vegetativen Nervensystems können funktionell und anatomisch in drei Untereinheiten unterteilt werden, nämlich in das sympathische, parasympathische und enterische Nervensystem. Als hauptsächliche Botenstoffe enthalten sie Acetylcholin und Noradrenalin, und werden entsprechend als cholinerg bzw. adrenerg bezeichnet. Die synaptische Übertragung vom ersten zum zweiten Neuron in den vegetativen Ganglien ist im sympathischen und parasympathischen Nervensystem cholinerg. Die parasympathischen postganglinären Axone, die mit den Zielorganen in Kontakt treten, setzen ebenfalls Acetylcholin frei; die meisten sympathischen postganglinären Axone hingegen Noradrenalin. Die Zellen des Nebennierenmarkes geben vor allem Adrenalin in den Blutkreislauf ab, und zusammen werden Noradrenalin und Adrenalin wegen ihrer ähnlichen chemischen Struktur als Katecholamine bezeichnet.

Die Rezeptoren an den Zielorganen des sympathischen Nervensystems sind die schon erwähnten Adrenozeptoren. Unter den α -Rezeptoren vermitteln die α_1 -Adrenozeptoren die durch Adrenalin und Noradrenalin hervorgerufene Kontraktion glatter Muskelzellen der Gefäße, während α_2 -Adrenozeptoren an der Steuerung zentraler Vorgänge beteiligt sind. Die β -Adrenozeptoren bewirken über stimulierende G-Proteine eine Erhöhung der Aktivität der Adenylatcyclase und damit eine Erhöhung der intrazellulären cAMP-

Konzentration (Kaumann und Molenaar, 1997; Brodde, 1991). Dies wiederum führt zu einer Aktivierung von Proteinkinasen, welche verschiedene sarkolemmale Proteine, einschließlich L-Typ Kalziumkanäle, kontraktile Proteine und Phospholamban phosphorylieren. Die Phosphorylierung von spannungsabhängigen Kalziumkanälen erhöht ihre Permeabilität. Das wiederum zieht einen Einstrom von Kalzium in der Diastole nach sich. Die Phosphorylierung von Phospholamban aktiviert die Kalzium-ATPase im sarkoplasmatischen Retikulum was einen vermehrten Abtransport von Kalzium in der Diastole und damit eine erhöhte Bereitstellung von Kalzium in der Systole zur Folge hat. Zusammengenommen hat dies eine stärkere und schnellere Kontraktion der Muskelzelle zur Folge (Kaumann und Molenaar, 1997).

Klinisch von großer Bedeutung ist die Unterscheidung einzelner Untertypen der β -Adrenozeptoren (Lands et al., 1967). Vorrangig über Rezeptoren vom β_1 -Typ bewirkt der Sympathikus am Herzen eine Steigerung der Schlagkraft und Herzfrequenz, vermittelt die Lipolyse in Adipozyten sowie die Sekretion von Renin aus den juxtaglomerulären Zellen der Niere. Die β_2 -Adrenozeptoren sind dagegen im Bronchialgewebe, in peripheren Blutgefäßen und im Uterus präsent, und von wesentlicher Bedeutung bei der Glykogenolyse, der Glukagon und Insulin Sekretion, sowie dem physiologischen Tremor. Heute weiß man nun, dass β -Adrenozeptoren keine homogene Population darstellen, sondern dass hier genetische Unterschiede existieren. Diese sogenannten Polymorphismen gaben in den letzten Jahren Anlass zu vielen Studien hinsichtlich ihrer Bedeutung in vivo als auch in vitro (Büscher et al., 1999).

Als wichtige Regulatoren vieler Organfunktionen stellen die Adrenozeptoren ein attraktives Modell zur Untersuchung möglicher Zusammenhänge zwischen Rezeptorpolymorphismus, Ansprechbarkeit auf Medikamente und Anfälligkeit für bestimmte Krankheiten dar.

Im Jahre 1987 konnte der β_1 -Adrenozeptor erstmals geklont und auf dem Chromosom 10 lokalisiert werden (Frielle et al., 1987). Erst kürzlich wurden 18 Polymorphismen von einzelnen Nucleotiden am β_1 -Adrenozeptor entdeckt, wovon 7 einen Austausch von Aminosäuren in der kodierenden Region zur Folge haben, nämlich: Ser49Gly, Ala59Ser, Gly389Arg, Arg399Cys, His402Arg, Thr404Ala und Pro418Ala (Podlowski et al., 2000). Aus diesen Mutationen resultieren elf verschiedene Genotypen des β_1 -

Adrenozeptors. Der Arg389Gly Polymorphismus befindet sich am intrazellulären Ende in der Nähe der siebenten transmembranären Schlinge des β_1 -Adrenozeptors, welche mit hoher Wahrscheinlichkeit eine G_s -Proteinbindungstelle repräsentiert und damit Auswirkungen auf die Ansprechbarkeit des Rezeptors auf Agonistenstimulation haben könnte. Vor kurzem wurde in einer in vitro Studie, durch Transkription und Expression von durch „side directed mutagenesis“ hergestellten β_1 -Adrenozeptoren mit dem Gly389 bzw. Arg389 Polymorphismus, eine verminderte Ansprechbarkeit der Gly389 Variante auf die durch Isoprenalin induzierte Aktivierung der Adenylatcyclase gegenüber der Arg389 Variante festgestellt (Mason et al., 1999).

Ziel dieser Studie war es herauszufinden, ob diese unterschiedliche Ansprechbarkeit der Gly389 Variante versus der Arg389 Variante auch in vivo bestehen.

Zu diesem Zweck unterzogen wir 24 (je 6 männliche und 6 weibliche Probanden homozygot für die Gly389 bzw. Arg389 Mutante) junge gesunde Probanden einer Belastung am Liegeergometer in den Belastungsstufen 25 Watt, 50 Watt, 75 Watt und 100 Watt für jeweils 5 Minuten. Dynamische Belastung führt über neuronal freigesetztes Noradrenalin zu einer Steigerung der Herzfrequenz und Schlagkraft des Herzens, sowie zu einer Ausschüttung von Renin in der Niere. Vermittelt werden diese Wirkungen des Noradrenalins über eine ausschließliche Stimulierung von β_1 -Adrenozeptoren, und stellt somit ein repräsentatives Modell für die in vivo Charakterisierung der Aktivität der β_1 -Adrenozeptoren dar (Vanhees et al., 1985; Mc Devitt, 1989; Brodde, 1991).

Andere Studien konnten zeigen, dass die Infusion von Noradrenalin, im Sinne einer exogenen Applikation, und die Freisetzung von endogenem Noradrenalin, durch Tyramininfusion, eine Steigerung der Kontraktilität und Herzfrequenz durch eine fast ausschließliche Stimulierung von β_1 -Adrenozeptoren bewirkten (Schäfers et al., 1997). Auch bei Patienten nach Herztransplantation, bei denen bekanntlich aufgrund der Denervierung des Herzens jeglicher parasymphatische Einfluß fehlt, konnte Leenen et al. (1998) zeigen, dass die Steigerung von Inotropie und Chronotropie überwiegend durch die Stimulierung von β_1 -Adrenozeptoren erzielt wurde. Weiterhin wies Hespel et al. (1986) nach, dass Atenolol, nicht aber der selektive β_2 -Antagonist ICI 118551, die

Plasmareninaktivität beim Menschen im Ruhezustand und bei dynamischer Belastung herabsetzen konnte.

Um Unterschiede in der Regulierung der Inotropie, der Herzfrequenz, sowie den Einfluß auf die Reninausschüttung der Niere bei beiden Polymorphismen aufzuzeigen, bestimmten wir jeweils die Herzfrequenz und die herzfrequenzkorrigierte Systolendauer QS_2c (als Maß für die Inotropie (Li & Belz, 1993; Belz, 1995)), den systolischen und diastolischen Blutdruck, die Plasmakatecholaminspiegel sowie die Plasmareninaktivität und verglichen anschließend beide Ergebnisse miteinander.

2. Probanden und Methodik

2.1. Allgemeine Bemerkungen zur Studienplanung

2.1.1. Probandenauswahl

Initial wurde ein Kollektiv von 220 Probanden im Alter von 19 bis 32 Jahren (davon 113 weibliche und 107 männliche Probanden) auf einen Gly389 bzw. Arg389 Polymorphismus des β_1 -Adrenozeptors untersucht.

An der nachfolgend vorgestellten klinischen Studie nahmen 24 gesunde Probanden teil (12 homozygot für den Gly389 Polymorphismus, 6 männliche und 6 weibliche, mittleres Alter 24 ± 1 Jahre, von 22-30 Jahre, mittleres Gewicht 67 ± 3 kg; 12 homozygot für den Arg389 Polymorphismus, 6 männliche und 6 weibliche, mittleres Alter 24 ± 1 Jahre, von 22-30 Jahre, mittleres Gewicht 70 ± 4 kg). Bei allen Testpersonen wurde eine Anamneseerhebung, klinische Untersuchung, Kontrolle von Blutbild und Serumelektrolyte, EKG-Ableitung sowie Blutdruckmessung durchgeführt, um Asthma bronchiale, chronische Lungenerkrankungen, Diabetes mellitus, arteriellen Bluthochdruck und weitere kardiovaskuläre Erkrankungen auszuschließen. Keiner der männlichen Probanden nahm zum Zeitpunkt der Studie Medikamente ein. Jeweils 3 Probandinnen der Gruppe A und B gaben an, Hormonpräparate zur Empfängnisverhütung einzunehmen. Alle Probanden erklärten, nur unregelmäßig sportlich aktiv zu sein. In Vorbereitung der Studie wurden sie über deren Inhalt und Verlauf von einem approbierten Arzt aufgeklärt und erteilten schriftlich ihr Einverständnis. Die Zustimmung der Ethikkommission der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg lag zu Beginn der klinischen Studie vor.

2.1.2. Studienmodell

Das Studienmodell war einfach blind, randomisiert und cross-over. Am Untersuchungstag erfolgte die dynamische Belastung am Fahrradergometer in liegender Position und steigenden Belastungsstufen. Gleichzeitig erfolgte die Ableitung der systolischen Zeitintervalle sowie die Bestimmung hämodynamischer und biochemischer Parameter.

2.1.3. Studienausgangsbedingungen und Studienprotokoll

Die Probanden erschienen am Untersuchungstag um 13 Uhr nüchtern im klimatisierten (22°C) Kreislauflabor des Pharmakologischen Institutes der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Das Rauchen war den Probanden am Untersuchungstag nicht gestattet, ebenso das Erscheinen im Institut mit dem Fahrrad.

In einer linken unteren Armvene wurde eine Verweilkanüle fixiert, durch welche die Blutabnahme erfolgte und im Bedarfsfall schnell kreislaufwirksame Medikamente appliziert werden konnten.

Die Blutdruckmanschette wurde am rechten Arm befestigt, die EKG-Elektroden als Extremitätenableitungen angebracht, das Herzscharlmikrophon am Erbschen Punkt (3. Intercostalraum links) plaziert sowie der Pulswandler jeweils an der Karotisbifurkation submandibulär aufgelegt und die Stelle mit der optimalen Anstiegssteilheit markiert.

Nach einer mindestens 60-minütigen Ruhephase im Liegen wurden die Ausgangswerte für die zu untersuchenden hämodynamischen Werte (Blutdruck, Herzfrequenz, systolische Zeitintervalle) aufgezeichnet und die biochemischen Parameter (Plasmakatecholamine, Plasminreninaktivität, Plasmakalium und Plasmalaktat Spiegel) abgenommen. Anschließend erfolgte die Belastung am Fahrradergometer in steigenden Belastungsstufen von 25, 50, 75, und 100 Watt. Die Dauer eines jeweiligen Belastungsschrittes betrug 5 min. Jeweils in der 2., 3., und 4. Minute wurden der systolische und diastolische Blutdruck manuell nach Riva-Rocci gemessen, sowie die Herzfrequenz notiert. In der 5. Minute einer jeweiligen Belastungsstufe wurden die systolischen Zeitintervalle, ein noninvasives Verfahren zur Bestimmung der Steigerung der Kontraktionskraft des Herzens gemessen (Belz, 1995), sowie 10 ml Blut zur Bestimmung der Plasmaspiegel für Adrenalin, Noradrenalin und Renin entnommen. Die Glukose, Kalium und Laktatbestimmung erfolgte erst wieder am Ende der letzten Belastungsstufe mit 100 Watt (20. Minute).

Der letzten Belastungsstufe folgte eine 15-minütige Beobachtungszeit mit nochmaliger Erfassung sämtlicher vorher genannter hämodynamischer und biochemischer Parameter sowie einer letztmaligen Bestimmung des Glukose-, Kalium- und Laktatwertes.

Der Proband wurde nach Erreichen von Blutdruck- und Herzfrequenzausgangswerten sowie subjektiven Wohlbefinden entlassen. Bei allen Untersuchungen war stets ein approbierter Arzt zugegen und es erfolgte eine ständige elektrokardiographische Kontrolle des Probanden.

2.1.4. Abbruchkriterien

Im Vorfeld waren folgende klinische Abbruchkriterien festgelegt worden:

- Wunsch des Probanden,
- Anstieg des systolischen Blutdruckes um mehr als 80 mmHg,
- Anstieg des diastolischen Blutdruckes um mehr als 40 mmHg,
- Anstieg der Herzfrequenz um mehr als 80 Schläge/Minute,
- Abfall der Herzfrequenz unter 40 Schläge/Minute,
- pathologische Veränderungen im Elektrokardiogramm,
- ventrikuläre Rhythmusstörungen (Neuaufreten von isolierten, ventrikulären, Extrasystolen mit einer Frequenz von mehr als 5 pro Minute und alle höhergradigen ventrikulären Rhythmusstörungen),
- Dyspnoe,
- jede weitere in der Beurteilung des Untersuchers potentiell bedrohliche Störung.

Von den Probanden wurden keinerlei Nebenwirkungen angegeben. In dieser Studie wurde kein Versuch vorzeitig abgebrochen, weder aus persönlichen noch aus klinischen Gründen.

2.2. Untersuchungsparameter und -methoden

2.2.1. Systolischer und diastolischer Blutdruck

Der Blutdruck wurde nach festgelegtem Zeitschema in allen Versuchen unblutig nach Riva-Rocci mit einem Quecksilbermanometer (Erkameter; Richard Kallmayer, Bad

Tölz, Deutschland) gemessen (I. und V. Korotkoff'sches Geräusch). Um die individuellen Fehlerquellen so gering wie möglich zu halten, wurde er während des gesamten Versuches durch ein und denselben Untersucher ermittelt. Der Mittelwert aus jeweils 3 gemessenen Werten diente zur weiteren statistischen Auswertung.

2.2.2. Herzfrequenz

Per Computer (Programm: LabVIEW 4.0) wurden 20 aufeinanderfolgende RR-Zacken im EKG automatisch ausgemessen, welches vom Elektrokardiographen (Bioset 8000, Hörmann Medizintechnik Zwönitz) aufgenommen wurde.

Zur exakten Ermittlung der Herzfrequenz wurden immer 20 RR-Intervalle vermessen. So konnte der Einfluss der physiologischen respiratorischen Arrhythmie, die sich auf das Schlagintervall, jedoch nicht wesentlich auf die systolischen Zeitintervalle auswirkt, minimiert werden (Erbel & Belz, 1977).

2.2.3. Systolische Zeitintervalle

Die Ermittlung der systolischen Zeitintervalle LVET, QS₂ und PEP ist eine anerkannte nicht-invasive Methode zur Charakterisierung der linksventrikulären Kontraktilität (Lewis et al., 1977; Gibson, 1978; Johnson et al., 1981). Durch zeitgleiche Registrierung von Elektrokardiogramm [EKG] (ein Kanal einer Extremitätenableitung nach Goldberger), Phonokardiogramm [PKG] (Mikrofon am 3. Intercostalraum links, parasternal aufgesetzt) und der Karotispulskurve (Ableitung immer am vorher ermittelten und festgelegten Punkt über der rechten Karotisbifurkation) ist es möglich, die zeitlichen Beziehungen zwischen elektrischer und mechanischer Herzaktion darzustellen, eben jene oben erwähnten systolischen Zeitintervalle (Li & Belz, 1993; Venitz und Lucker, 1984; World, 1990). Die Aufzeichnung der STI's erfolgte bei hoher Papiervorlaufgeschwindigkeit (100 mm/sek) mit Hilfe des Bioset 8000 jeweils unmittelbar vor Belastung und am Ende (5. Minute) eines jeweiligen Belastungsschrittes. Die dynamische Belastung erfolgte in liegender Position am Fahrradergometer (Ergo-fit 877, Pirmasens, Germany).

Zur näheren Erläuterung:

- 1.) LVET: Linksventrikuläre Austreibungszeit (left ventricle ejection time) in ms markiert den Beginn des Steilanstieges in der Carotispulskurve bis zur Inzisierung im PKG
- 2.) QS₂: Zeitraum der elektromechanischen Systole (Anspannungs- und Austreibungszeit) in ms, gemessen vom Beginn der Q-Zacke im EKG (entspricht der ventrikulären Depolarisation) bis zur ersten hochfrequenten Schwingung im PKG (entspricht dem Anfang des 2. Herztones, Aortenklappenschlusston)
- 3.) PEP: Präejektionsperiode (pre-ejection-period) entspricht der Anspannungszeit der isovolumetrischen Phase in ms ($PEP = QS_2 - LVET$)
- 4.) RR-Intervall: Zeitintervall zwischen 2 R-Zacken der QRS-Komplexe im EKG
- 5.) Herzfrequenz: $Herzfrequenz = 60000 : RR\text{-Intervall}$

Es wurden stets 10 Herzzyklen aufgezeichnet (Papiergeschwindigkeit 100 mm/sek) und meist der dritte bis siebente Schlag ausgemessen und daraus der Mittelwert von QS₂, LVET und PEP errechnet. Zur Auswertung kamen dabei jeweils 5 Herzaktionen pro Messung. Eine weitere Erhöhung der Zahl der Messwerte erbringt keine wesentliche Steigerung der Messgenauigkeit (Erbel & Belz, 1977).

Mittels einer von Schäfers et al. (1994) ermittelten Korrekturgleichung lässt sich die in hohem Maße herzfrequenzabhängige QS₂ frequenzkorrigieren. Diese herzfrequenzkorrigierte QS₂-Zeit wird nachfolgend als QS_{2c} bezeichnet und stellt den sensitivsten Parameter der systolischen Zeitintervalle dar (Belz, 1995). Sie berechnet sich nach folgender Gleichung: $QS_{2c} = QS_2 + (1,22 \times \text{Herzfrequenz})$.

2.2.4. Blutproben

Unmittelbar vor Versuchsbeginn und jeweils am Ende eines jeden Versuchsschrittes (5. Minute) wurden in speziell vorbereiteten 4,9 ml EDTA-Monovetten (50 µl Gluthationzusatz zu den EDTA-Monovetten für die Katecholaminbestimmung) Blut zur Bestimmung der Plasmakatecholamine und der Plasmareninaktivität entnommen und

sofort eisgekühlt. Die Proben wurden am Versuchsende bei 4°C und 2000 U/min für mindestens 10 Minuten zentrifugiert, anschließend das Plasma abpipettiert und bei –80°C tiefgefroren. Die Bestimmung der Plasmakatecholaminspiegel erfolgte fluorometrisch mit Hilfe der HPLC wie bei Schäfers et al., (1997) beschrieben; die Bestimmung der Plasmareninaktivität mit einem Radioimmunassay (Sorin, Turin, Italy). Zusätzlich erfolgte vor Versuchsbeginn und am Versuchsende die Bestimmung der Plasmakalium- und Laktatwerte mit Hilfe des ABL-System 650 Radiometer, Kopenhagen, Dänemark

2.2.5. Datenanalyse

Die experimentellen Daten im Text und in den Abbildungen sind dargestellt als Mittelwert (\bar{x}) \pm mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM) von n Versuchen. Die Signifikanz von Unterschieden zwischen zwei Gruppen wurde mit dem ungepaarten t-Test bestimmt. Ein p-Wert < 0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen. Alle statistischen Berechnungen wurden mit dem InStat-Programm (GraphPAD Software, San Diego, CA, USA) durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisse des Screenings für den β_1 -Adrenozeptor Polymorphismus

Bei 220 getesteten Probanden im Alter von 19 bis 32 Jahren, davon 113 Weibliche und 107 Männliche, wurde eine Allelfrequenz von 72% (Arg389) : 28% (Gly389) festgestellt. Dies stimmt mit den Angaben aus der Literatur überein (Mason et al., 1999; Tesson et al., 1999; Podlowski et al., 2000), die besagen, dass der Arg389 Polymorphismus die prädominierende Form der β_1 -Adrenozeptoren im menschlichen Organismus ist. Dennoch wurde die Gly389 Mutante in der Literatur ursprünglich als Wildtyp bezeichnet (Frielle et al., 1987).

3.2. Hämodynamische und biochemische Auswirkungen des β_1 -Adrenozeptor Polymorphismus

Die Ausgangswerte für den systolischen Blutdruck, die Herzfrequenz, die QS_{2c} , den Katecholaminspiegel, die Plasmareninaktivität, das Plasmakalium und Plasmalaktates ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen Probanden der Gruppe A (Gly389 Mutante) und der Gruppe B (Arg389 Mutante, siehe Tabelle 1).

Die Belastung am Ergometer führte zu einer belastungsabhängigen Steigerung der Plasmanoradrenalin Spiegel mit einem Maximum am Ende der Belastung (100 Watt) von: 171 ± 44 vs. 147 ± 26 pg/ml bei der Gly389 vs. der Arg389 Mutante. Die Unterschiede zwischen beiden Gruppen waren jedoch nicht signifikant (siehe Tabelle 1 und Abb.6). Die Plasmaadrenalin Spiegel erhöhten sich von anfänglich 28 ± 5 auf 30 ± 11 pg/ml in Gruppe A bzw. von 21 ± 1 auf 47 ± 10 pg/ml in Gruppe B. Auch diese Daten wichen in beiden Gruppen nur unwesentlich voneinander ab und waren nicht signifikant (siehe Tabelle 1 und Abb.5).

Die Belastung am Ergometer bewirkte eine belastungsabhängige Steigerung der Herzfrequenz sowie eine Verkürzung der QS_{2c} . Auch hier zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ($65,9 \pm 6,4$ Schläge pro Minute bei der Gly389 Mutante gegenüber von $62,6 \pm 5,2$ Schlägen pro Minute bei der Arg389 Mutante, sowie einer

Verkürzung der QS_{2c} von $-43,2 \pm 4$ ms bei der Gly389 Mutante gegenüber von $-42,1 \pm 8,5$ ms bei der Arg389 Mutante, siehe Tabelle 1 und Abb.1 und 2).

Bei niedrigen Belastungsstufen von 25 und 50 Watt reagierten die Probanden der Gruppe A mit einem leicht höheren Anstieg der Herzfrequenz verglichen mit den Probanden der Gruppe B. Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

Auch bei der QS_{2c} konnte in den ersten zwei Belastungsschritten eine deutlichere, und bei Belastung mit 50 Watt auch signifikante, Verkürzung bei den Probanden mit der Gly389 Mutante festgestellt werden (-26 ± 4 ms bei der Gly389 gegenüber von -14 ± 4 ms bei der Arg389 Mutante; $p=0,03$). Diese Unterschiede glichen sich jedoch bei höheren Belastungsstufen wieder aus (Abb.2).

Auf der anderen Seite war die belastungsabhängige Steigerung des systolischen Blutdruckes im Wesentlichen in beiden Gruppen gleich (48 ± 2 mm Hg bei der Gly389 Mutante gegenüber von 51 ± 2 mm Hg bei der Arg389 Mutante, siehe Tabelle 1 und Abb.3). Der diastolische Blutdruck änderte sich nach einer diskreten Steigerung während der ersten Belastungsstufe kaum ($9,3 \pm 2,1$ mm Hg in Gruppe A gegenüber von $5,1 \pm 1,2$ mmHg in Gruppe B, siehe Tabelle 1 und Abb.4).

Die Steigerung der Plasmareninaktivität entsprechend der jeweiligen Belastungsstufe war im Vergleich von Gruppe A zu B weitestgehend gleich ($0,29 \pm 0,08$ ng ANG I/ml/h bei der Gly389 Mutante gegenüber $0,25 \pm 0,1$ ng ANG I/ml/h bei der Arg389 Mutante; siehe Tabelle 1 und Abb.7), ebenso wie die relative Änderung des Plasmakaliums ($0,69 \pm 0,26$ in Gruppe A vs. $0,41 \pm 0,11$ mmol/l in Gruppe B) und des Plasmalaktatspiegels ($0,98 \pm 0,18$ in Gruppe A vs. $1,73 \pm 0,52$ mmol/l in Gruppe B); gemessen jeweils am Ende des Versuchs bei einer Belastung von 100 Watt in der 20. Minute.

3.3. Geschlechtsspezifische Unterschiede hämodynamischer und biochemischer Parameter bei Ergometrie

Da beide Gruppen aus jeweils 6 weiblichen und 6 männlichen Probanden bestanden, ergab sich die Möglichkeit, die gewonnenen Daten auf geschlechtsspezifische Unterschiede der untersuchten Parameter zu analysieren. So zeigte sich bei den weiblichen Probanden ein signifikant stärkerer Anstieg der Herzfrequenz. Die

Maximalwerte der Änderung der Herzfrequenz (Mittelwerte \pm SEM bei jeweils 6 Probanden) betragen $85,4 \pm 3,6$ Schläge pro Minute bei den weiblichen Probanden der Gruppe A gegenüber von $46,4 \pm 3,7$ Schlägen pro Minute bei den männlichen Probanden in Gruppe A (Gly389 Mutante, siehe Tabelle 2 und Abb.8) sowie von $76,5 \pm 6,1$ Schlägen pro Minute bei den weiblichen Probanden der Gruppe B gegenüber von $48,6 \pm 2,3$ Schlägen pro Minute bei den männlichen Probanden (Arg389 Mutante, siehe Tabelle 2 und Abb.9).

Eine ähnliche Tendenz ergab sich auch für alle anderen gemessenen Parameter: QS_{2c} (Abb. 10 und 11), Plasmanoradrenalin Spiegel, Plasmareninaktivität, Kalium und Laktat im Vergleich Frauen vs. Männer, unabhängig vom Polymorphismus des β_1 -Adrenozeptors (Tabelle 2). Die gemessenen Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

4. Diskussion

Beim Menschen ist die durch dynamische Belastung hervorgerufene Zunahme der Herzfrequenz und Kontraktilität des Herzens ein klassisches Modell einer β_1 -Adrenozeptor vermittelten kardialen Wirkung (Mc Devitt, 1989). Dies wird hervorgerufen durch neuronal freigesetztes Noradrenalin (Robertson et al., 1979), das beim Menschen in vitro und in vivo nahezu ausschließlich kardiale β_1 -Adrenozeptoren stimuliert (Kaumann et al., 1989; Motomura et al., 1990). Dies äußert sich auch darin, dass die durch Fahrradergometrie hervorgerufene Zunahme der Herzfrequenz und Kontraktilität durch β_1 -Adrenozeptor Antagonisten wie Bisoprolol oder Atenolol, nicht aber durch den β_2 -Adrenozeptor Antagonisten ICI 118,551 blockiert wird (Arnold et al., 1985; Motomura et al., 1990; Pringle et al., 1988). Darüber hinaus haben Leenen et al. (1998) kürzlich bei herztransplantierten Patienten (bei denen das Herz denerviert ist und keinen parasympathischen Reflexen unterliegt) zeigen können, dass die Infusion von Noradrenalin positive ino- und chronotrope Effekte hervorrief, die nahezu vollständig durch einen β_1 -Adrenozeptor Antagonisten antagonisiert werden konnten. Schließlich haben mehrere Gruppen aufzeigen können, dass der β -Adrenozeptor, der die Freisetzung von Renin in der Niere vermittelt, in erster Linie ein β_1 - Adrenozeptor ist (Weber et al., 1983; Vanhees et al., 1985; Brodde et al., 1987).

Diese Befunde weisen nach, dass die in der vorliegenden Arbeit angewendete Bestimmung der durch Fahrradergometrie hervorgerufenen Zunahme der Herzfrequenz, Kontraktilität (Verkürzung der QS_2c) und Plasmoreninaktivität ein adäquates Modell darstellt, um präzise die Funktion der β_1 -Adrenozeptoren in vivo zu untersuchen.

In vitro Untersuchungen an transfizierten CHW1102 Zellen hatten eine größere Rezeptor G_s -Protein-Kopplung, Isoprenalin induzierte $GTP\gamma S$ -Bindung und Aktivierung der Adenylatcyclase für den Arg389, verglichen mit dem Gly389 Polymorphismus des β_1 -Adrenozeptors, ergeben (Mason, 1999).

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob sich auch in vivo beim gesunden Probanden eine stärkere kardiale und extrakardiale Ansprechbarkeit des Arg389 vs. Gly389 Polymorphismus des β_1 - Adrenozeptors nachweisen lässt.

Dazu genotypisierten wir 220 weibliche und männliche Probanden bezüglich des Arg389Gly Polymorphismus des β_1 -Adrenozeptors. Wir fanden eine Allel- Frequenz von 72%(Arg389) : 28%(Gly389); dies in Übereinstimmung mit Publikationen, die ebenfalls nachweisen konnten, dass der Arg389 die dominierende Form des β_1 -Adrenozeptors beim Menschen darstellt (Mason et al., 1999; Maqbool et al., 1999; Tesson et al., 1999; Podlowski et al., 2000). Es sollte darauf hingewiesen werden, dass diese Befunde nicht im Einklang mit der originalen Struktur des β_1 - Adrenozeptors stehen; Frielle et al. (1987) beschrieb den Wild-Typ des β_1 - Adrenozeptors an Position 389 mit einem Glycin.

In der vorliegenden Arbeit fanden wir bei je 12 Probanden homozygot für den Arg389 bzw. Gly389 β_1 -Adrenozeptor keine signifikanten Unterschiede in der durch Fahrradergometrie hervorgerufenen Zunahme der Herzfrequenz, Kontraktilität oder Plasminogenaktivität. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konnten also die in vitro erhobenen Befunde einer wesentlich stärkeren Ansprechbarkeit des Arg389 Polymorphismus im Vergleich zum Gly389 Polymorphismus des β_1 - Adrenozeptors in vivo nicht bestätigen. Dementsprechend scheint dieser β_1 - Adrenozeptor Polymorphismus keinen wichtigen Einfluss auf die in vivo Ansprechbarkeit von β_1 -Adrenozeptoren zu haben, zumindest nicht bei gesunden Probanden. Die Ursache für die in vivo vs. in vitro beobachteten Unterschiede ist nicht geklärt. Es sollte aber darauf hingewiesen werden, dass sich im Allgemeinen die Effekte einer Rezeptorstimulation in vitro deutlich von denen einer Rezeptorstimulation in vivo unterscheiden. Zum einen ist die Anzahl der Rezeptoren in transfizierten Zellen die Mason et al. (1999) zur Untersuchung der Polymorphismen des β_1 - Adrenozeptors benutzt hatte, sehr viel höher ist als die, die sich in vivo von natürlich exprimierten Rezeptoren finden lassen. Darüber hinaus gibt es zahlreiche andere Faktoren, die sich unter in vivo und in vitro Bedingungen signifikant unterscheiden: u.a. das Ionenmilieu und metabolische Bedingungen im extrazellulären Medium. Weiterhin gibt es für in vitro untersuchte Zellen keine Interaktionen mit anderen Zelltypen bzw. neurohumorale Faktoren. Es ist gut denkbar, dass einer oder mehrere dieser, bzw. noch unbekannter Faktoren zu den Unterschieden zwischen den in vivo Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit und den in vitro Untersuchungen von Mason et al. (1999) über den Arg389Gly Polymorphismus des β_1 -Adrenozeptors beitragen.

Da β_1 -Adrenozeptoren eine wichtige physiologische Rolle für die Regulation der Kontraktilität und Herzfrequenz beim Menschen spielen (Übersicht siehe Brodde, 1991; Brodde und Michel, 1999), besteht auch die Möglichkeit, dass dieser Polymorphismus eine Rolle bei kardiovaskulären Erkrankungen spielen könnte. Auch die Tatsache, dass die vorliegenden Ergebnisse keinen Einfluss dieses Polymorphismus auf die durch β_1 -Adrenozeptor Stimulation hervorgerufene Zunahme der Kontraktilität und Herzfrequenz erkennen ließ, schließt die Möglichkeit der Beteiligung dieses Polymorphismus an kardiovaskulären Erkrankungen nicht aus. Drei Studien über einen Zusammenhang des Gly389Arg β_1 -Adrenozeptor Polymorphismus mit der idiopathischen dilatativen Kardiomyopathie sind bisher publiziert worden (Tesson et al., 1999; Podlowski et al., 2000; Iwai et al., 2002). In allen drei Studien fand sich allerdings keine Assoziation zwischen Kardiomyopathie und dem Gly389Arg β_1 -Adrenozeptor Polymorphismus.

Interessanterweise fanden wir in der vorliegenden Studie, welche an männlichen und weiblichen Probanden durchgeführt wurde, unabhängig vom β_1 -Adrenozeptor Polymorphismus geschlechtsspezifische Unterschiede in den durch Fahrradergometrie hervorgerufenen kardiovaskulären Effekten. Obwohl die Zahl der untersuchten Probanden nicht groß war, ließen die vorliegenden Befunde jedoch den Schluss zu, dass das Geschlecht der Probanden direkt oder indirekt einen Einfluss auf die durch Fahrradergometrie hervorgerufene Zunahme der Herzfrequenz und Kontraktilität hatte: die Effekte waren bei den weiblichen Probanden signifikant stärker ausgeprägt als bei den männlichen. Diese Tendenz bestand auch für alle anderen gemessenen Parameter dieser Studie. Die Ursache für diese Unterschiede ist nicht bekannt. Wir hatten in der vorliegenden Arbeit Probanden, die regelmäßig Ausdauertraining betrieben, ausgeschlossen. Trotzdem wäre denkbar, dass die insgesamt bessere Fitness der männlichen Probanden dazu geführt hat, dass der Anstieg der Herzfrequenz und Kontraktilität geringer ausfiel als bei den weiblichen Probanden. Die Tatsache, dass in dieser Arbeit die durch Fahrradergometrie hervorgerufenen Anstiege des Plasmalaktatpiegels bei den weiblichen Probanden größer als bei den männlichen war (siehe Tabelle 2), unterstützt diese These.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass sich die in vitro gefundene unterschiedliche Ansprechbarkeit des Gly389Arg Polymorphismus des β_1 -

Adrenozeptors auf Agonistenstimulation in vivo bei gesunden Probanden nicht bestätigen ließ. So war die durch Fahrradergometrie über β_1 -Adrenozeptor Stimulation hervorgerufene Steigerung der Herzfrequenz, Kontraktilität des Herzens und Plasmareninaktivität bei Probanden homozygot für den Gly389 β_1 -Adrenozeptor und homozygot für den Arg389 β_1 -Adrenozeptor nahezu identisch; genotypabhängige Unterschiede konnten also nicht gefunden werden. Diese Befunde zeigen, dass zur Charakterisierung der funktionellen Bedeutung von Rezeptor-Polymorphismen nicht nur in vitro, sondern auch in vivo Untersuchungen durchgeführt werden sollten.

5. Zusammenfassung

β_1 -Adrenozeptoren spielen eine überaus wichtige Rolle in der Regulierung der Schlagkraft und der Frequenz des Herzens.

Kürzlich wurde ein Polymorphismus des β_1 -Adrenozeptors entdeckt: an Stelle 389 der Aminosäurekette fanden sich entweder Glycin bzw. Arginin; wobei die Gly389 Mutante eine verminderte Ansprechbarkeit auf agonisteninduzierte Stimulation *in vitro* zeigte.

Um herauszufinden, ob der Gly389 Polymorphismus auch *in vivo* eine verminderte Ansprechbarkeit zeigt, untersuchten wir bei gesunden Probanden die Auswirkungen einer Belastung am Ergometer auf die Herzfrequenz und die herzfrequenzkorrigierte Dauer der elektromechanischen Systole (kurz QS_{2c}; als Maß für die Inotropie) welche beim Menschen durch β_1 -Adrenozeptor Stimulation vermittelt wird.

Vierundzwanzig junge gesunde Probanden (12 männliche und 12 weibliche) homozygot für den Gly389 bzw. Arg389 Polymorphismus, wurden in liegender Position am Fahrradergometer belastet (25, 50, 75 und 100 W für jeweils 5 Minuten), und die Herzfrequenz und die QS_{2c} bestimmt. Zusätzlich gemessen wurde die Plasmareninaktivität (PRA), welche ebenfalls durch β_1 -Adrenozeptoren vermittelt wird.

Die Ergometerbelastung erzeugte belastungsabhängige Anstiege der Herzfrequenz und Plasmareninaktivität sowie eine Verkürzung der QS_{2c}; allerdings waren diese drei über den β_1 -Adrenozeptor vermittelten Wirkungen bei den Probanden mit dem Gly389 bzw. Arg389 Polymorphismus nicht signifikant verschieden.

Die Analysen innerhalb einer jeden Gruppe des β_1 -Adrenozeptorpolymorphismus ergaben jedoch, dass die belastungsabhängige Steigerung der Herzfrequenz und die Verkürzung der QS_{2c} größer bei den weiblichen als bei den männlichen Probanden waren.

Zusammenfassend können wir sagen, dass die von uns erhobenen Daten die Beobachtung einer verminderten Ansprechbarkeit der Gly389 Mutante des β_1 -Adrenozeptors auf agonisteninduzierte Stimulation *in vitro* keine Auswirkungen *in vivo* zeigt.

6. Literaturverzeichnis

1. Arnold JM, O'Connor PC, Riddell JG, Harron DW, Shanks RG, McDevitt DG: Effects of the beta 2-adrenoceptor antagonist ICI 118,551 on exercise tachycardia and isoprenaline-induced beta-adrenoceptor responses in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 19 (1985) 619-30.
2. Belz GG. Systolic time intervals: a method to assess cardiovascular drug effects in human. *Eur. J. Clin. Invest.* 25 Suppl 1 (1995) 35-41.
3. Brodde O-E, Daul AE, Wang XL, Michel MC, Galal O: Dynamic exercise-induced increase in lymphocyte beta-2-adrenoceptors: abnormality in hypertension and its correction by antihypertensives. *Clin. Pharmacol. Ther.* 41 (1987) 371-9.
4. Brodde O-E, Michel MC: Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart. *Pharm. Rev.* 51 (1999) 651-89.
5. Brodde O-E: Beta 1- und beta 2- adrenoceptors in the human heart: properties, function, and alterations in chronic heart failure. *Pharmacol. Rev.* 43 (1991) 203-42.
6. Büscher R, Herrmann V, Insel PA: Human adrenoceptor polymorphism: evolving recognition of clinical importance. *Trends Pharmacol. Sci.* 20 (1999) 94-9.
7. Bylund DB, Eikenberg DC, Hieble PJ, Langer SZ, Lefkowitz RJ, Minnemann KP, Molinoff PB, Ruffolo RR, Trendelenburg U: International Union of Pharmacology: nomenclature of adrenoceptors. *Pharmacol. Rev.* 46 (1994) 121-136.
8. Erbel R, Belz GG: Untersuchung zur Meßmethode der systolischen Zeitintervalle. *Z. Kardiol.* 66 (1977) 433-435.
9. Frielle T, Collins S, Daniel KW, Carom MG, Lefkowitz RJ, Kobilka BK: Cloning of the cDNA for the human beta 1-adrenergic receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 (1987) 7920-4.
10. Gibson DG: Use of the systolic time intervals in clinical pharmacology. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 6 (1978) 97-102.

11. Hespel P, Lijnen P, Vanhees L, Fagard R, Amery A: Beta-adrenoceptors and the regulation of blood pressure and plasma renin during exercise. *J. Appl. Physiol.* 60 (1986) 108-13.
12. Iwai C, Akita H, Shiga N, Takai E, Miyamoto Y, Shimuzu M, Kawai H, Takarada A, Kajiya T, Yohohoma M: Suppressive Effects of the Gly389Arg allele of the β 1-adrenergic receptor gene on the occurrence of ventricular tachycardia in dilated cardiomyopathy. *Circ. J.* 66 (2002) 723-728.
13. Johnson BF, Meeran MK, Frank A, Taylor SH: Systolic time intervals in measurement of inotropic response to drugs. *Br. Heart. J.* 46 (1981) 513-21.
14. Kaumann AJ, Hall JA, Murray KJ, Wells FC, Brown MJ: A comparison of the effects of adrenaline and noradrenaline on human heart: the role of beta1- and beta2-adrenoceptors in the stimulation of adenylate cyclase and contractile force. *Eur. Heart. J.* 10 Suppl B (1989) 29-37.
15. Kaumann AJ and Molenaar P: Modulation of human cardiac function through 4 β -adrenoceptor populations. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 355 (1997) 667-681.
16. Lands AM, Arnold A, Mc Auliff JP, Luduena FP, Brown TG: Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature* 214 (1967) 597-598.
17. Leenen FH, Davies RA, Fourney A: Catecholamines and heart function in heart transplant patients: effects of beta- versus nonselective beta-blockade. *Clin. Pharmacol. Ther.* 64 (1998) 522-35.
18. Lewis RP, Rittogers SE, Froester WF, Boudoulas H: A critical review of the systolic time intervalls. *Circulation* 56 (1977) 146-58.
19. Li Q, Belz GG: Systolic time intervalls in clinical pharmacology. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 44 (1993) 415-21.
20. Maqbool A, Hall AS, Ball SG, Balmforth AJ: Common polymorphism of beta1-adrenoceptor: Identification and rapid scening assay. *Lancet* 353 (1999) 897.

21. Mason DA, Moore JD, Green SA, Liggett SB: A gain-of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human β_1 -adrenergic receptor. *J. Biol. Chem.* 274 (1999) 12670-4.
22. McDevitt DG: In vivo studies on the function of cardiac β -adrenoceptors in man. *Eur. Heart. J.* 10 Suppl B (1989) 22-8.
23. Motomura S, Reinhard-Zerkowski H, Daul A, Brodde O-E: On the physiologic role of beta-2 adrenoceptors in human: in vitro and in vivo studies. *Am. Heart. J.* 119 (1990) 608-19.
24. Podlowski S, Wenzel K, Luther HP, Muller J, Bramlage P, Baumann G, Felix SB, Speer A, Hetzer R, Kopke K, Hoehe MR, Wallukat G: Beta1-adrenoceptor gene variations: a role in idiopathic dilated cardiomyopathy? *J. Mol. Med.* 78 (2000) 87-93.
25. Pringle TH, Riddell JG, Shanks RG: Characterisation of the beta-adrenoceptors which mediate the isoprenaline-induced changes in finger tremor and cardiovascular function in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 35 (1988) 507-14.
26. Robertson D, Johnson GA, Robertson RM, Nies AS, Shand DG, Oates JA: Comparative assessment of stimuli that release neuronal and adrenomedullary catecholamines in man. *Circulation* 59 (1979) 637-43.
27. Schäfers RF, Adler S, Daul A, Zeitler G, Vogelsang M, Zerkowski HR, Brodde O-E: Positive inotropic effects of the beta 2-adrenoceptor agonist terbutaline in the human heart: effects of long term beta1-adrenoceptor antagonist treatment. *J. Am. Coll. Cardiol.* 23 (1994) 1224-33.
28. Schäfers RF, Poller U, Ponicke K, Geissler M, Daul AE, Michel MC, Brodde O-E: Influence of adrenoceptor and muscarinic receptor blockade on the cardiovascular effects of exogenous noradrenaline and of endogenous noradrenaline released by infused tyramine. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 355 (1997) 239-49.
29. Tesson F, Charron T, Peuchmaurd M, Nicaud V, Cambien F, Tiret L, Poirier O, Desnos M, Jullieres Y, Amouyel P, Roizes G, Dorent R, Schwartz K, Komajda M:

- Characterization of a unique genetic variant in the beta1 -adrenoceptor gene and evaluation of its role in ideopathic dilated cardiomyopathy. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 31 (1999) 1025 –32.
30. Vanhees L, Fagard R, Hespel P, Lijnen P, Amery A: Renin release: beta1- or beta2-receptor mediated? *N. Engl. J. Med.* 312 (1985) 123-4.
31. Venitz J, Lucker PW: Impedance cardiography- a reliable method for measuring cardiac function noninvasively. *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* (1984) 339-46.
32. Weber F, Bodde O-E, Anlauf M, Bock KD: Subclassification of human beta-adrenergic receptors mediating renin release. *Clin. Exp. Hypertension A.* 5 (1983) 225-38.
33. World MJ: Estimation of cardiac output by bioimpedance cardiography. *J. R. Army Med. Corps.* 136 (1990) 92-9.
34. Xie HG, Dishey V, Sofowora G, Kim RB, Landau R, Smiley RM, Zhou HH, Wood AJ, Harris P, Stein CM: Arg389Gly beta1-adrenoceptor polymorphism varies in frequency among different ethnic groups but does not alter response in vivo. *Pharmacogenetics* 11 (2001) 191-7.

7. Tabellen und Abbildungen

	Gly389 (Gruppe A)		Arg389 (Gruppe B)	
	Ausgangswerte	Maximalwerte	Ausgangswerte	Maximalwerte
Herzfrequenz (bpm)	63.2±2.5	66±6	63.7±2.3	63±5
Systolischer Blutdruck (mmHg)	118.3±2.4	47.8±2.2	118.6±3.2	51.2±2.4
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	78±3.1	9.3±2.1	81±2.4	5.1±1.2
QS ₂ c (ms)	492.8±4.4	-43.2±4.0	488.4±4.6	-42.1±8.5
Plasma Noradrenalin (pg/ml)	246±34 ^{a)}	171±44 ^{a)}	261±34	147±26
Plasma Adrenalin (pg/ml)	28±5 ^{a)}	30±11 ^{a)}	21±1	47±10
Plasma Renin Aktivität (ng ANG I formed/ml/h)	0.8±0.12 ^{c)}	0.29±0.08 ^{c)}	0.73±0.08 ^{b)}	0.25±0.1 ^{b)}
Plasma Kalium (mmol/L)	4.29±0.16 ^{a)}	0.69±0.26 ^{a)}	4.33±0.11 ^{b)}	0.41±0.11 ^{b)}
Plasma Lactat (mmol/L)	0.95±0.10 ^{a)}	0.98±0.18 ^{a)}	1.14±0.11 ^{b)}	1.73±0.52 ^{b)}

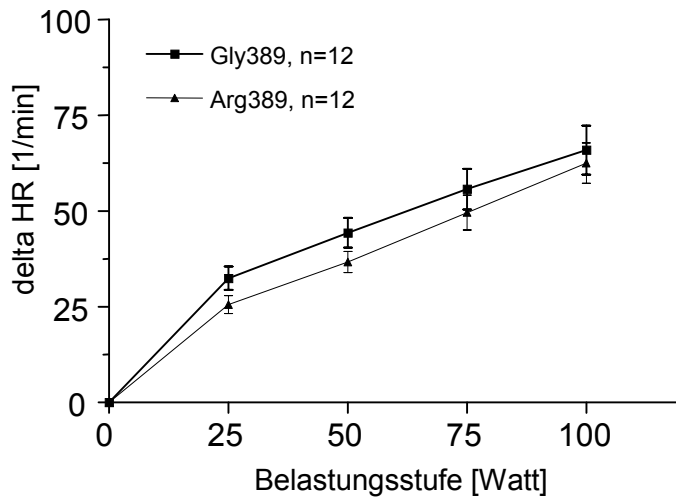
Tabelle 1: Ausgangswerte und Maximalwerte bei Belastung mit 100 Watt im Vergleich Gruppe A vs. Gruppe B

Daten sind Mittelwerte ± S.E.M. von 12 Probanden homozygot für den Gly389 Polymorphismus und 12 Probanden homozygot für den Arg389 Polymorphismus; Ausgangswerte sind Absolutwerte, Maximalwerte sind Relativwerte bei 100 Watt Belastung ^{a)}n=10, ^{b)}n=9, ^{c)}n=8

	Gly389 (Gruppe A)		Arg389 (Gruppe B)	
	männliche	weibliche	männliche	weibliche
Herzfrequenz (bpm)	46.4±3.7	85.4±3.6	48.6±2.3	76.5±6.1
Systolischer Blutdruck (mmHg)	47.2±3.1	48.4±3.3	51.7±4.1	50.7±2.9
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	86.9±4.4	83.2±3.4	92.8±4.7	85.8±3.6
QS ₂ c (ms)	-39.7±7.2	-46.6±3.9	-40.6±17.3	-43.6±4
Plasma Noradrenalin (pg/ml)	153±33	190±84 ^{a)}	94±30	205±22
Plasma Adrenalin (pg/ml)	25.7±10.7	35±22.4 ^{b)}	36.8±15.1	58.7±14.8
Plasma Renin Aktivität (ng ANG I formed/ml/h)	0.18±0.10 ^{b)}	0.33±0.08 ^{b)}	0.12±0.07 ^{b)}	0.32±0.13 ^{a)}
Plasma Kalium (mmol/L)	0.42±0.18	1.10±0.50 ^{b)}	0.24±0.12 ^{a)}	0.63±0.17 ^{b)}
Plasma Lactat (mmol/L)	0.73±0.12	1.35±0.35 ^{b)}	1.08±0.61 ^{a)}	2.55±0.80 ^{b)}

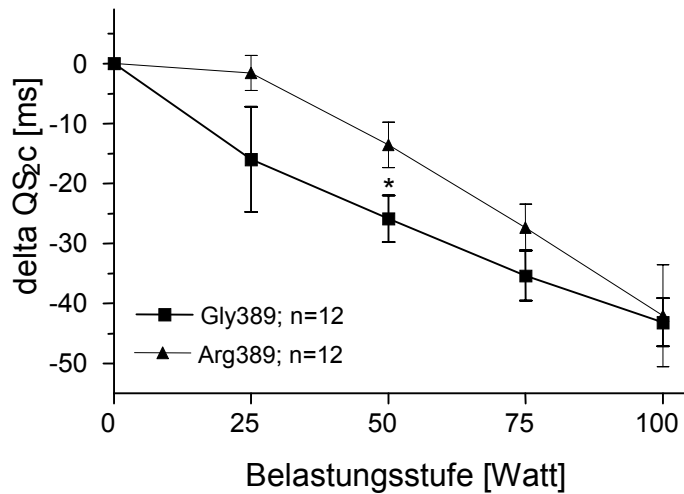
Tabelle 2: Maximalwerte bei Belastung mit 100 Watt im Vergleich männliche vs. weibliche Probanden

Daten sind Mittelwerte ± S.E.M. von 12 Probanden homozygot für den Gly389 Polymorphismus und 12 Probanden homozygot für den Arg389 Polymorphismus ^{a)}n=5, ^{b)}n=4



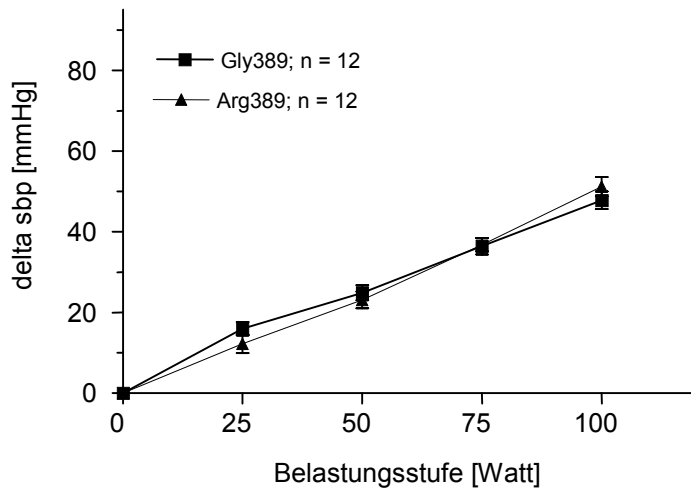
Ordinate: Zunahme der Herzfrequenz [delta HR] in Schläge pro Minute [1/min]
 Abszisse: Belastungsstufe am Ergometer in Watt

Abbildung 1: Änderung der Herzfrequenz unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante



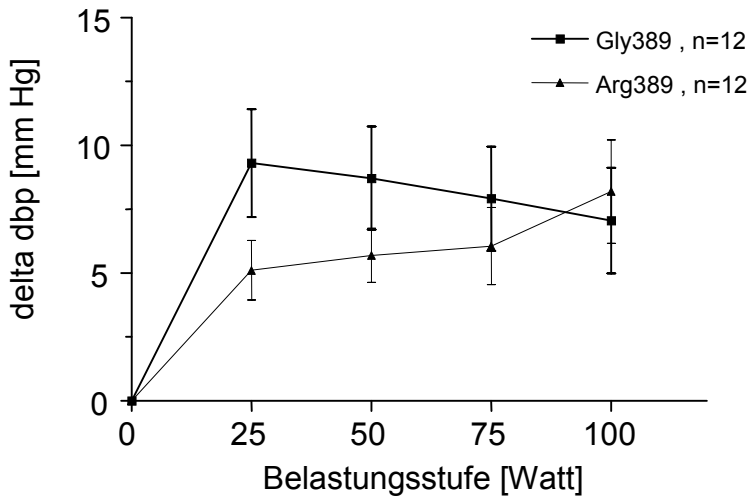
Ordinate: Verkürzung der QS_{2c} [delta QS_{2c}] in ms
 Abszisse: Belastungsstufe am Ergometer in Watt
 Analyse: *p = 0,0333

Abbildung 2: Änderung der QS_{2c} unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante



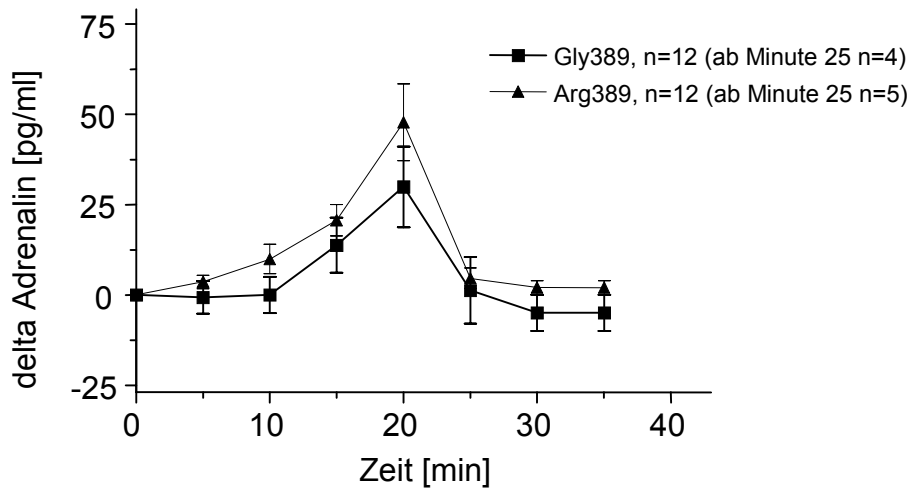
Ordinate: Zunahme des systolischen Blutdruckes[delta sbp] in Millimeter Quecksilbersäule [mm Hg]
 Abszisse: Belastungsstufe am Ergometer in Watt

Abbildung 3: Änderung des systolischen Blutdruckes unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante



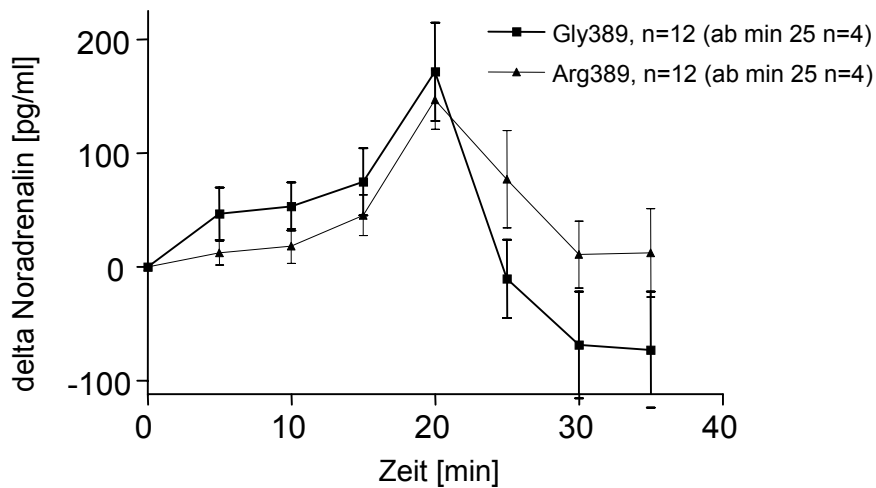
Ordinate: Zunahme des diastolischen Blutdruckes [dbp] in Millimeter Quecksilbersäule [mm Hg]
 Abszisse: Belastungsstufe am Ergometer in Watt

Abbildung 4: Änderung des diastolischen Blutdruckes unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante



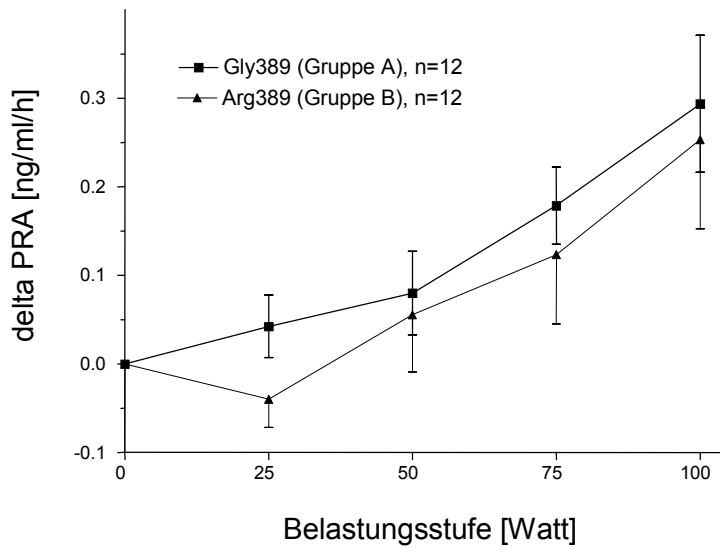
Ordinate: Zunahme des Adrenalinspiegels [delta Adrenalin]
in Picogramm pro Milliliter [pg/ml]
Abszisse: Zeitangabe in Minuten [min]

Abbildung 5: Abbildung: Änderung des Adrenalinspiegels unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante



Ordinate: Zunahme des Noradrenalinspiegels
in Picogramm pro Milliliter [pg/ml]
Abszisse: Zeitangabe in Minuten [min]

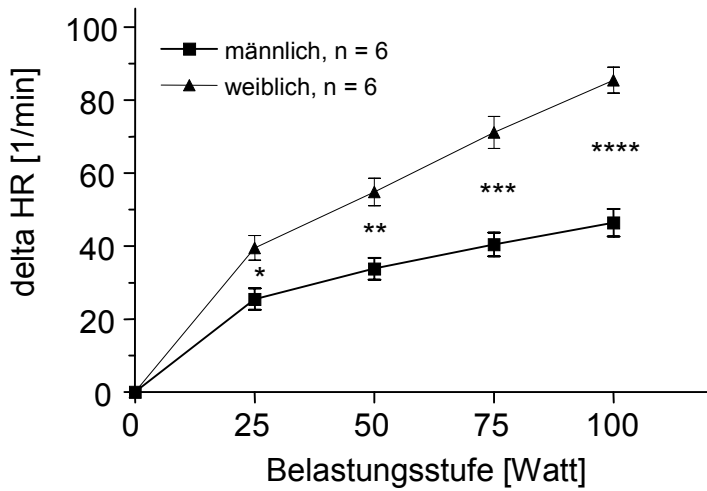
Abbildung 6: Änderung des Noradrenalinspiegels unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante



Abszisse: Zunahme der Plasmareninaktivität
[PRA] in Nanogramm Angiotensin I pro
Milliliter pro Stunde[ng/ml/h]

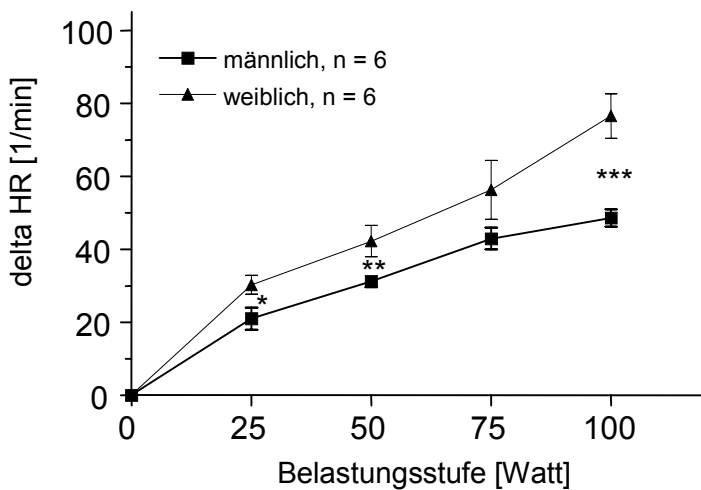
Ordinate: Belastungsstufe am Ergometer in Watt

Abbildung 7: Änderung der Plasmareninaktivität unter Ergometrie der Gly389 vs. der Arg389 Mutante



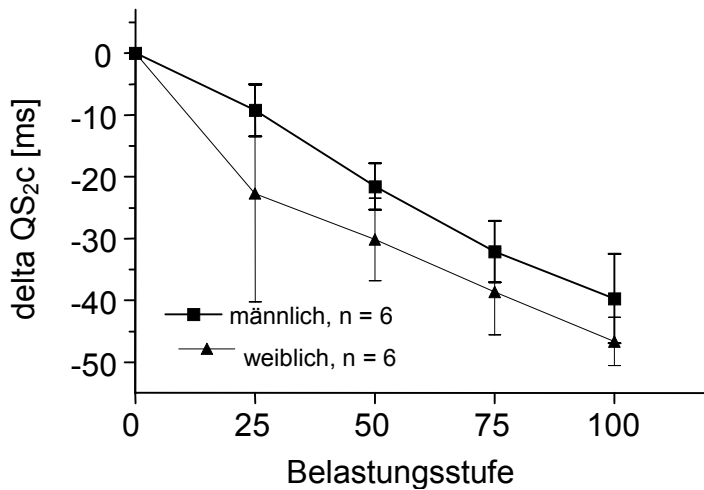
Ordinate: Zunahme der Herzfrequenz [delta HR] in Schläge pro Minute [1/min]
 Abszisse: Belastungsstufe am Ergometer in Watt
 Analyse: *p = 0,0104; **p = 0,0014; ***p = 0,0002; ****p < 0,0001

Abbildung 8: Änderung der Herzfrequenz unter Ergometrie bei weiblichen vs. männlichen Probanden der Gly389 Mutante



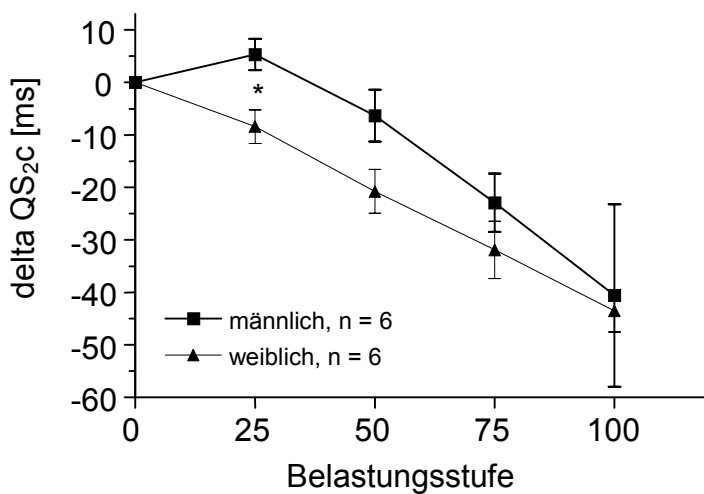
Ordinate: Zunahme der Herzfrequenz [delta HR] in Schläge pro Minute [1/min]
 Abszisse: Belastungsstufe am Ergometer in Watt
 Analyse: *p = 0,0416; **p = 0,0365; ***p = 0,0017

Abbildung 9: Änderung der Herzfrequenz unter Ergometrie bei weiblichen vs. männlichen Probanden der Arg389 Mutante



Ordinate: Verkürzung der QS_{2c} in Millisekunden [ms]
 Abszisse: Belastungsstufe am Ergometer in Watt

Abbildung 10: Änderung der QS_{2c} unter Ergometrie im Vergleich weibliche zu männlichen Probanden der Gly389 Mutante



Ordinate: Verkürzung der QS_{2c} in Millisekunden [ms]
 Abszisse: Belastungsstufe am Ergometer in Watt
 Analyse: *p = 0,0106

Abbildung 11: Änderung der QS_{2c} unter Ergometrie im Vergleich weibliche zu männlichen Probanden der Arg389 Mutante

8. Thesen

1. Ergometerbelastung erzeugt bei jungen gesunden Probanden über eine Stimulierung von β_1 -Adrenozeptoren eine belastungsabhängige Steigerung der Herzfrequenz und Plasmareninausschüttung, sowie eine Verkürzung der QS_{2c} .
2. Die Glycin389 Mutante des β_1 -Adrenozeptors zeigt in vivo keine verminderte Ansprechbarkeit auf agonisteninduzierte Stimulation in Hinsicht auf eine Steigerung der Herzfrequenz und Plasmareninausschüttung, sowie einer Verkürzung der QS_{2c} .
3. Analysen innerhalb der einzelnen Gruppen des β_1 -Adrenozeptorpolymorphismus zeigen deutliche Unterschiede bei den männlichen und weiblichen Probanden: nämlich einen signifikant stärkeren Anstieg von Herzfrequenz und Plasmareninausschüttung, sowie einer Verkürzung der QS_{2c} bei den weiblichen Probanden.

Anhang

I Lebenslauf

II Selbstständigkeitserklärung

III Publikationshinweis

IV Erklärung über frühere Promotionsversuche

V Danksagung

Anhang I

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name	Heiko Belger
Anschrift	Geschwister-Scholl-Straße 7 99085 Erfurt
Geburtsdatum	12.01.1973
Geburtsort	Halle/ Saale
Familienstand	ledig

Schulbildung/ Ausbildung

9/79-9/89	Polytechnische Oberschule in Könnern
9/89-8/91	Gymnasium Carolinum in Bernburg, Abitur
8/91-7/92	Wehrdienst
ab 10/92	Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
04/ 1996	I. Staatsexamen
04/ 1998	II. Staatsexamen
05/ 1999	III. Staatsexamen

Promotion

Seit 01.00 Promotion zum Thema: „Belastungsinduzierte Zunahme der Herzfrequenz, Kontraktilität und Plasmareninaktivität bei Probanden mit dem Gly389Arg Polymorphismus des β_1 -Adrenozeptors“ unter Prof. O-E. Brodde am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg; voraussichtliche Verteidigung im Frühjahr 2004

Famulatur

02/1995 Famulatur in Halle, Klinik für Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin des Universitätsklinikums Kröllwitz der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

07/1995 Famulatur in Halle, Institut für Medizinische Mikrobiologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Forschungsthema: „Analyse multiresistenter Enterococcusstämme an Routineproben der Universitätskliniken Halle-Wittenberg“

07-09/96 Famulatur in Nakuru/Kenia, Provincial General Hospital, in den Gebieten der Orthopädie, Geburtshilfe sowie der chirurgischen Notfallambulanz

Praktika

02- 03/97 Tropenmedizinische Fortbildung am Tropenmedizinischen Institut der Universität Leipzig

SS 97 Teilnahme am Kursus für Manuelle Untersuchungstechniken der Sektion Physikalische und Rehabilitative Medizin der MLU Halle

Praktisches Jahr

04/98-08/98 erstes Tertial des Praktischen Jahres: Innere Medizin am Schweizerischen Tropeninstitut in Basel

08/98-10/98 zweites Tertial: Kinder- und Jugendpsychiatrie am St. Barbara-Krankenhaus in Halle

11/98-03/99 drittes Tertial des Praktischen Jahres: Allgemeine Chirurgie am Städtischen Krankenhaus Martha-Maria in Halle-Dölau

Ärztliche Tätigkeit

01/00-07/00 Arzt im Praktikum im Amulanten Operationszentrum für Kinderchirurgie
Dr. Ullmann in Halle

08/00-02/01 Junior House Officer (AiP) im District General Hospital Sunderland,
Lehrkrankenhaus der University of Newcastle, im Bereich Innere Medizin

02/01-08/01 Junior House Officer im Lehrkrankenhaus der University of Aberdeen,
Aberdeen Royal Infirmary, im Bereich Urologie und Allgemein Chirurgie

12/01-11/02 Assistenzarzt an der Klinik für Kinderchirurgie am Klinikum Chemnitz,
Sachsen

seit 12/02 Assistenzarzt an der Klinik für Kinderchirurgie am Klinikum Erfurt,
Thüringen

Publikation „in vivo studies do not support a major functional role for the Gly389Arg
 β_1 -adrenoceptor polymorphism in humans“ (veröffentlicht in: Pharmacogenetics 3
(2001) 199-205)

Anhang II

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter der Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Ich versichere, dass ich für die inhaltliche Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten (Promotionsberater oder anderer Personen) in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwertige Leistungen für Arbeiten erhalten, die in Zusammenhang mit dem Inhalt der vorliegenden Dissertation stehen.

Erfurt, 10.12.03

Heiko Belger

Anhang III

Publikationshinweis

Die Ergebnisse der vorliegende Arbeit sind Teil folgender Publikation:

Büscher R, Belger H, Eilmes K-J, Tellkamp R, Radke J, Dhein S, Hoyer P-F, Michel M-C, Insel P-A, Brodde O-E. In-vivo studies do not support a major functional role for the Gly389Arg β_1 -adrenoceptor polymorphism in humans. *Pharmacogenetics* 11 (2001) 199-205

Anhang IV

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsstelle vorgelegt. Außerdem liegen von mir keine weiteren Anträge auf Eröffnung eines Promotionsverfahrens vor.

Erfurt, 10.12.03

Heiko Belger

Anhang V

Danksagung

Zu größtem Dank bin ich in erster Linie Prof. Brodde verpflichtet, der mir erst ermöglichte, die klinischen Studien am Institut durchzuführen und mit kritischen Bemerkungen diese Arbeit unschätzbar ergänzte.

Weiterhin danke ich Ralph Tellkamp für die sehr gute Zusammenarbeit am Institut.

Mein uneingeschränkter Dank gilt natürlich auch Grit Marzisch und Hagen Schmolke für ihre unermüdliche Hilfe.