

Experimentell induzierte Herzmuskelfasernekrosen nach Praemedikation mit Strophanthin*

U. Raute-Kreinsen, G. Döhnert und C. M. Büsing

Pathologisches Institut Heidelberg (Prof. W. Doerr) und Mannheim (Prof. U. Bleyl)

Eingegangen am 29. Dezember 1975

Experimentally Induced Heart Muscle Fiber Necroses after Premedication with Strophanthin

Summary. Number and degree of angiotensin-induced heart muscle necroses in the rat (75 mg/kg body weight) are diminished by premedication with strophanthin (2×10^{-2} mg/kg body weight). The electron-microscopic findings are also changed: the application of angiotensin only results in vacuolization of mitochondria and a dilatation of the endoplasmatic reticulum while myofibrils are unaltered. Angiotensin in combination with strophanthin has a direct destructive effect on the myofibrils without evident changes of the mitochondria and the tubular system of the heart.

The protective action of Strophanthin on the heart muscle cell is discussed in the sense of an economization of the cellular metabolism under conditions of relative coronary insufficiency, induced by the vasoconstrictive effect of angiotensin.

Key words: Angiotensin — Catecholamine — Strophanthin — Rat heart — Myocardial necroses — Optical microscopy — Electron microscopy.

Zusammenfassung. Bei der Ratte nehmen die durch Angiotensin induzierten Herzmuskelfasernekrosen (75 mg/kg s.c. und i.p.) unter Strophanthin-Praemedikation (2×10^{-2} mg/kg i.p.) an Zahl und Ausmaß ab. Darüberhinaus ändert sich der elektronenmikroskopische Befund: Die alleinige Gabe von Angiotensin bewirkt eine Vakuolisierung der Mitochondrien und eine Dilatation des endoplasmatischen Reticulum ohne Alteration der Myofibrillen. Die kombinierte Gabe von Strophanthin und Angiotensin führt zu einer primären Zerstörung der Myofibrillen, ohne daß Mitochondrien und tubuläres System sichtbar verändert werden.

Der Schutzmechanismus des Strophanthin wird im Sinne einer Ökonomisierung des Zellstoffwechsels bei relativer coronarer Insuffizienz diskutiert, welche durch die starke vasokonstriktorische Wirkung des Angiotensin ausgelöst wird.

Am Rattenherzen lassen sich durch hohe Gaben von 1-Noradrenalin oder Angiotensin Nekrosen erzeugen, die nahezu ausschließlich im Bereich des linken Kammermyokard liegen. In hoher Dosierung verursachen beide Substanzen auch beim Menschen Herzmuskelfasernekrosen (Bühler et al., 1974; Gavras et al., 1975), die für die Katecholamine unter dem Begriff der sog. Epinephrin-Myokarditis bekannt sind (Szakacs and Cannon, 1958; Rona und Kahn, 1967; Doerr, 1971).

In elektronenmikroskopischen Untersuchungen ließ sich bei Gabe von 1-Noradrenalin oder Angiotensin ein unterschiedliches Schädigungsmuster erkennen. Bei den durch 1-Noradrenalin ausgelösten Nekrosen manifestierte sich primär eine Zerstörung der Myofibrillenstruktur bei weitgehend intakten Mitochondrien. Angiotensin dagegen bewirkte eine Dilatation des endoplasmatischen Reticulum

* Auszugsweise vorgetragen auf der 6. Herbsttagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie am 11. 10. 1975 in Wien

Tabelle 1. Versuchsplan mit Angabe von Tiergruppen und Injektionsmengen

Gruppe		NaCl 0,9%	k-Strophanthin	Angiotensin
1	Versuchsbeginn	1 ml i.p.	—	—
	12 h später	1 ml i.p.	—	75 mg/kg i.p. + s.c.
2	Versuchsbeginn	—	2×10^{-2} mg/kg i.p.	—
	12 h später	—	2×10^{-2} mg/kg i.p.	75 mg/kg i.p. + s.c.
3	Versuchsbeginn	—	2×10^{-2} mg/kg i.p.	—
	12 h später	1 ml i.p.	2×10^{-2} mg/kg i.p.	—
4	Versuchsbeginn	1 ml i.p.	—	—
	12 h später	1 ml i.p.	—	—

und eine Vakuolisierung der Mitochondrien, ohne daß die Myofibrillen nennenswert verändert wurden.

Die Praemedikation mit Strophanthin führte bei den durch 1-Noradrenalin induzierten Nekrosen zu einer Zunahme des Schweregrades und des Ausmaßes der Nekrosen, ohne daß das Schädigungsmuster sich änderte (Kreinsen und Büsing, 1975).

Die nachfolgenden Untersuchungen sollten klären:

1. ob eine Praemedikation mit Strophanthin auch eine Wirkung auf die durch Angiotensin induzierten Nekrosen hat, ob sich
2. licht- und elektronenmikroskopische Unterschiede in der Morphologie der Nekrosen finden lassen und
3. ob aus der Kombination eines Herzglykosids mit Angiotensin Rückschlüsse auf den noch nicht restlos geklärten Wirkungsmechanismus des Angiotensins am Herzen möglich sind.

Material und Methode

Wir untersuchten 100 weibliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht zwischen 180 und 220 g in 4 Versuchsgruppen (vgl. Tabelle 1), zu je 25 Tieren. Die Ratten erhielten physiologische Kochsalzlösung bzw. Strophanthin i.p. sowie insgesamt 75 mg/kg Angiotensin s.c. und i.p. Die Tiere der Kontrollgruppen erhielten physiologische Kochsalzlösung und Strophanthin bzw. ausschließlich physiologische Kochsalzlösung. 12 h nach der letzten Injektion wurden alle Tiere in leichter Äthernarkose getötet, ihre noch schlagenden Herzen in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Längsschnitte durch Herzkammern und Vorhöfe von etwa 4 μ Stärke wurden Hämatoxylin-Eosin gefärbt und von 2 der Autoren getrennt ohne Kenntnis der Serienzugehörigkeit nach Lokalisation und Ausdehnung der Nekrosen ausgewertet. Notiert wurden die Lokalisation der Nekrosen (linke Herzkammer unterteilt in freie Kammerwand und Papillarmuskeln, Kammerseptum, rechte Herzkammer, Herzkammerbasis und Herzkamberspitze sowie Vorhöfe). Die Ausdehnung der Nekrosen wurde in 3 subjektive Schweregrade (vereinzelte, dichte und konfluierende Nekrosen) differenziert. Abschließend bewertet wurden nur die übereinstimmenden Befunde der beiden Untersucher.

Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wurden je Gruppe 3 Tiere in Chloralhydratnarkose (0,25 g/kg) bei schlagendem Herzen nach der Forssmannschen Methode (Forssmann et al., 1967) mit einem Druck zwischen 75 und 85 mmHg perfusionsfixiert. Die Gewebepräparate stammten vom linken Papillarmuskel und vom linksseitigen Anteil des Kammerseptum. Nach Passage durch Sörensenpuffer, 1% gepufferter Osmiumtetroxydlösung und Dehydratation in Alkohol wurden die Excise in Araldit eingebettet. Nach Anfertigung von Semidünnschnitten erfolgte die Kontrastierung der Ultradünnschnitte in Uranylacetat und Blei-citrat und die elektronenmikroskopische Untersuchung mit dem EM 9 der Firma Zeiss.

Tabelle 2. Zahlenmäßige Aufschlüsselung der Herzmuskelfasernekrosen nach alleiniger Gabe von Angiotensin und nach kombinierter Strophanthin-Angiotensinapplikation

Zahl der Tiere (insgesamt 50)		
Angiotensin	15	zahlreiche Nekrosen
	7	vereinzelte Nekrosen
	3	kaum Nekrosen
Strophanthin + Angiotensin	8	zahlreiche Nekrosen
	8	vereinzelte Nekrosen
	9	wenige Nekrosen

Befunde

Bei Tieren, die ausschließlich Angiotensin und bei Tieren, die Strophanthin und Angiotensin erhalten hatten fanden wir Herzmuskelfasernekrosen mit lymphomonozytärer und vereinzelt auch granulozytärer Abräumreaktion (Abb. 1). Weder in der Morphologie noch in der Topographie der Nekrosen fanden sich Unterschiede. Bei beiden Gruppen lag der Schwerpunkt der Nekrosen im Bereich der Innenschichten der linken Herzkammerwand. Besonders betroffen waren die Papillarmuskelgruppen, geringer Kammerseptum und Herzspitze. Die rechte Herzkammer zeigte nur gelegentlich Nekrosen, die Vorhöfe waren kaum beteiligt. Unterschiede im Befall von Herzkammerbasis und Herzkammerspitze ließen sich nicht feststellen (Abb. 2). Die Kontrollgruppen 3 und 4 (reine Kochsalzinjektionen bzw. Strophanthin- und Kochsalzinjektionen) zeigten keine Nekrosen.

Nach Praemedikation mit Strophanthin nahm die Zahl der angiotensininduzierten Nekrosen ab (Tabelle 2).

Elektronenmikroskopisch fand sich nach hoher Angiotensinapplikation eine herdförmig akzentuierte Dilatation des endoplasmatischen Reticulum. Die Myofibrillen waren intakt, die metamere Gliederung unverändert (Abb. 3a). Mit zunehmendem Schweregrad wurde das Schädigungsmuster deutlicher. Zunächst zeigte sich nur eine herdförmige und geringe Vakuolisierung der Mitochondrien, schließlich sah man eine vollständige Cristolyse (Abb. 3b). Vielfach imponierten auch sog. Myelinfiguren. Die Myofibrillen dagegen waren auch jetzt insgesamt nur wenig verändert.

Unter *Praemedikation mit Strophanthin* nahmen nicht nur Zahl und Ausmaß der Nekrosen ab, sondern es wandelten sich auch die pathomorphologischen Befunde. Es fand sich jetzt eine herdförmige Verfettung, wobei die Fettvakuolen vor allem in der Nachbarschaft der Mitochondrien, häufig aber auch in der Nähe der Z-Streifen lagen. Die Myofibrillen waren verquollen. Das endoplasmatische Reticulum war *nicht* dilatiert (Abb. 4a). Bei ausgedehnterer Schädigung waren schließlich homogenisierte und rupturierte Myofibrillen, gelegentlich auch sog. Kontraktionsbänder der Fibrillen zu sehen. Dazwischen aber lagen, in ihrer Struktur erhaltene Mitochondrien ohne nennenswerte Vakuolisierung (Abb. 4b).

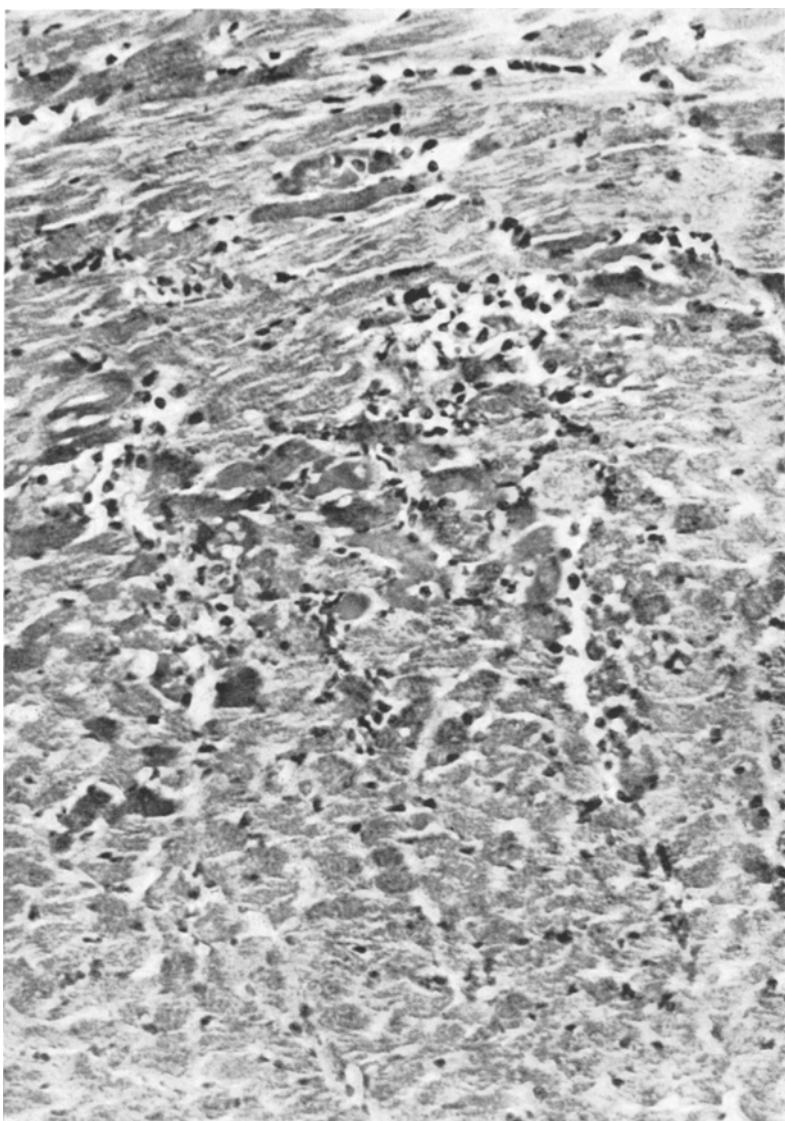


Abb. 1. Durch Angiotensin ausgelöste Herzmuskelfasernekrosen unter Strophanthin-Praemedikation mit lympho-monozytärer Abräumreaktion. Vergrößerung 1: 190, Färbung: HE

Diskussion

Die Praemedikation mit Strophanthin scheint bei angiotensin-induzierten Nekrosen eine Art Schutzmechanismus darzustellen und Zahl sowie Ausmaß der Nekrosen zu vermindern. Die Praemedikation mit Strophanthin bewirkt darüberhinaus aber eine *Änderung des elektronenmikroskopischen Schädigungsmusters*.

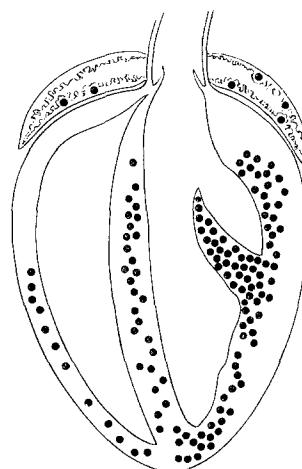


Abb. 2. Verteilung der Herzmuskelfasernekrosen nach Strophanthin-Angiotensingabe bezogen auf Herzkammern und Herzvorhöfe

Während die alleinige Gabe von Angiotensin ihre Wirkung am endoplasmatischen Reticulum und an den Mitochondrien entfaltet, führt die *kombinierte* Applikation von Strophanthin und Angiotensin zu Veränderungen wie wir sie elektronenmikroskopisch bei den durch Noradrenalin induzierten Herzmuskelfasernekrosen gefunden haben. Hauptangriffspunkt waren offenbar die Myofibrillen.

Die Wirkung des Angiotensin am Herzmuskel ist nicht restlos geklärt. Zwei Mechanismen werden diskutiert. Nach Fülgraff (1969) liegt die beherrschende Wirkung des Angiotensin in einer allgemeinen Vasokonstriktion. Angiotensin mindert im Gegensatz zu Noradrenalin trotz Blutdruckanstiegs die Coronardurchblutung. Andererseits wird eine indirekte Wirkung des Angiotensin über eine Noradrenalinfreisetzung mit meßbar erhöhten Catecholaminplasmaspiegeln diskutiert (Peach and Ford, 1968; Schümann, 1970). Auch Gefäßveränderungen mit Endothelverquellungen und Fibrinablagerungen sind nachweisbar (Goldby und Beilin, 1972).

Vasokonstriktion mit erhöhtem arteriellen Druck, Gefäßwandveränderungen und verminderte Coronardurchblutung führen somit offenbar zu einer relativen coronariellen Insuffizienz und bei sehr hoher Dosierung zu hypoxischen Herzmuskelfasernekrosen. Dies könnte zu unseren elektronenmikroskopischen Befunden mit primärer Zerstörung der Mitochondrien passen, die bisher als im wesentlichen hypoxisch bedingt diskutiert werden (Büchner und Onishi, 1968).

Angiotensin setzt aber auch Noradrenalin frei. Dies führt zunächst über einen erhöhten transmembranären Calciumeinstrom in die Zelle zur Aktivierung der Myofibrillen-ATP-ase und zur gesteigerten Kontraktionskraft des Herzens (Bajusz, 1964; Raab, 1969; Fleckenstein, 1972), bevor in Zusammenhang mit der ATP-Resynthese ein erhöhter Sauerstoffbedarf auftritt. Bei hohem Catecholaminspiegel kommt es unter Verarmung der Zelle an ATP und Kreatinphosphat zur Nekrose der Herzmuskelfaser.

In voraufgegangenen Untersuchungen hatten wir bei hohen Catecholamingenaben primär eine Zerstörung der Myofibrillen und eine Verfettung aber zunächst keine Mitochondrienveränderungen gefunden (Bühler et al., 1974). Diesem pathomorphologischen Bild der sog. Epinephrinmyokarditis entsprechen unsere Befunde bei hochdosierter Applikation von Angiotensin unter Strophanthin-Praemedikation.

Herzglykoside wirken, ebenso wie Catecholamine über eine Erhöhung des intracellulären Calciumgehaltes positiv inotrop — nach Repke (1964) und Greff (1971) über eine Hemmung der Zellmembran-ATP-ase, nach Klaus und Krebs (1974) über eine erleichterte intracelluläre Entbindung und Rückbindung von Calcium von und an Phospholipide.

Angesichts des geringeren Ausmaßes der Nekrosen sowie der unterschiedlichen morphologischen Befunde könnte man daran denken, daß Strophanthin den schädigenden Effekt des Angiotensin verzögert. Dies könnte bedeuten, daß ein zwar zeitlich verschobener, im Prinzip aber pathophysiologisch gleichartiger Mechanismus vorliegt. Diese Überlegungen entsprächen den Vorstellungen von Hatt und Moravec (1971/72), die nach einer Literatursichtung zu der Auffassung gelangten, daß keine der beschriebenen Veränderungen (Mitochondrienvakuolisierung und Mitochondriencristolyse, Myofibrillenödem und Kontraktionsbänder, Verfettung und Dilatation des endoplasmatischen Reticulum) für eine bestimmte Noxe charakteristisch ist oder einen spezifischen Schädigungstyp darstellt. Sie fanden bei zahlreichen akuten Hypoxie-Versuchen am Myokard alle oben genannten Veränderungen an Cytoplasma, Metaplasma und Zellorganellen beschrieben.

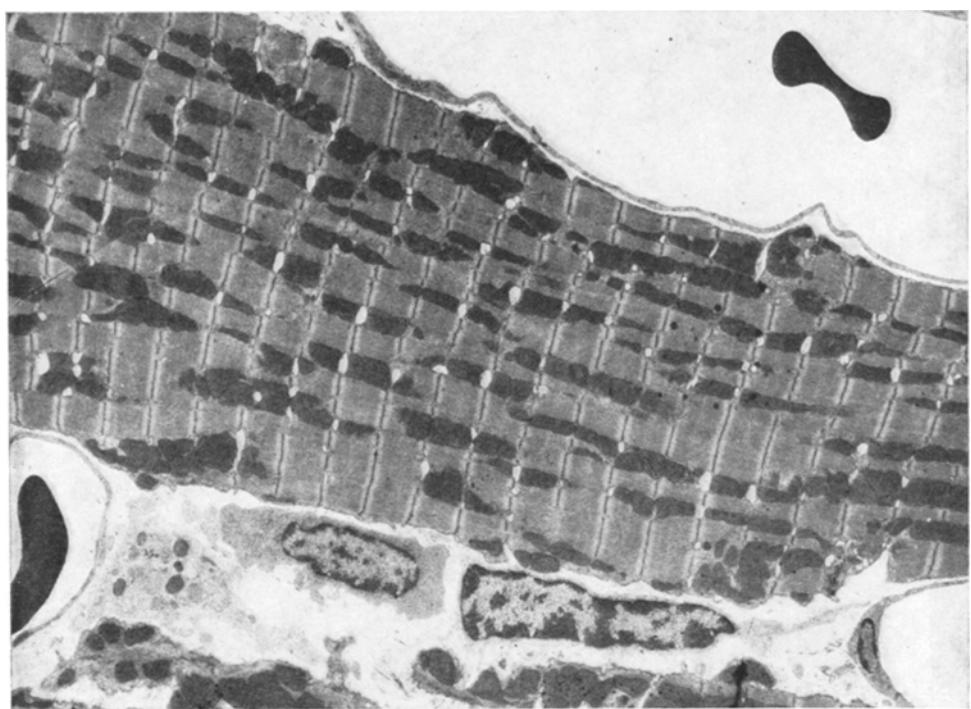
Gegen eine solche Interpretation sprechen jedoch die uns aus früheren Arbeiten vorliegenden Ergebnisse (Bersch und Bühler, 1972; Bersch et al., 1973; Bühler et al., 1974; Kreinsen und Büsing, 1975). Bei den durch Angiotensin ausgelösten Herzmuskelschäden hatten wir sowohl bei unterschiedlich hoher Dosierung als auch bei zeitlicher Abstufung primär eine Alteration der Mitochondrien bei weitgehend intakten Myofibrillen gefunden. Der Schwerpunkt der Veränderungen bei hohen Gaben von 1-Noradrenalin dagegen lag an den Myofibrillen, die Mitochondrien waren zunächst nicht verändert.

Aufgrund dieser Befunde scheinen uns die pathomorphologischen Unterschiede eher Ausdruck eines grundsätzlich anderen pathophysiologischen Angriffspunktes der beiden Substanzen zu sein.

So wäre es denkbar, daß Strophanthin die angiotensin-induzierte — über eine ausgeprägte Vasokonstriktion bedingte — hypoxische Herzmuskelfasernekrose verhindert. Zum Tragen käme dann nur noch die diskutierte Wirkung des Angiotensin über eine Noradrenalinfreisetzung.

Auch unter dieser pathophysiologischen Prämisse würden sich unsere morphologischen Befunde zwanglos erklären.

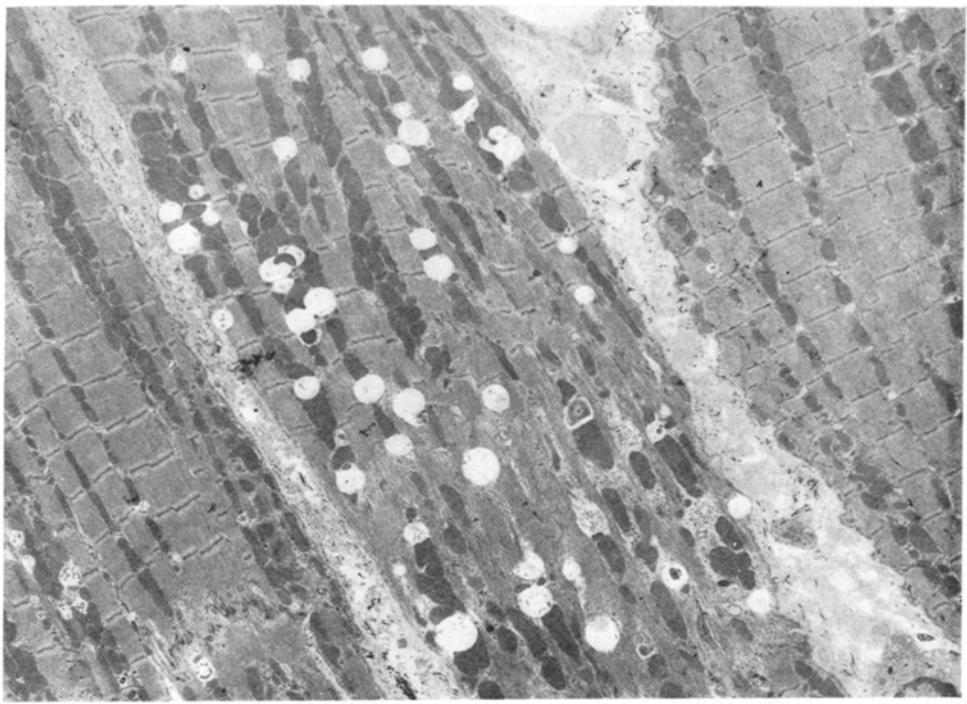
Abb. 3a und b. Angiotensinjektion. (a) Herzmuskelfaser mit geringer herdförmiger Dilatation des endoplasmatischen Reticulum (Vergr. 1700fach, Nachvergr. 2,75mal). (b) Herzmuskelfaser mit ausgeprägter Schädigung, Cristolyse und hochgradige Vakuolisierung der Mitochondrien bei regelrechter metamerer Gliederung der Myofibrillen (Vergr. 3400fach, Nachvergr. 2,75mal)



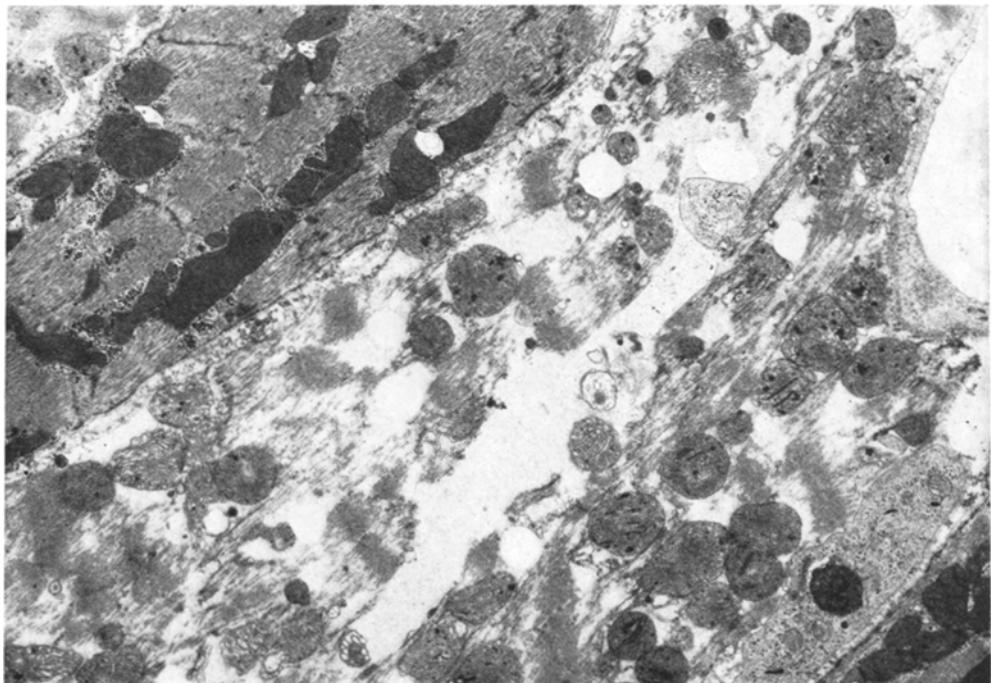
a



b



a



b

Abb. 4a und b. Kombinierte Strophanthin- und Angiotensininjektion. (a) Herzmuskelfaser mit herdförmiger Verfettung. Fettvakuolen häufig in der Nachbarschaft von Mitochondrien und Z-Streifen. In Bildmitte beginnender Strukturverlust der Myofibrillen. (Vergr. 1700fach, Nachvergr. 2,75mal). (b) Höhergradige Zerstörung einer Muskelfaser mit Ödem, Auflösung und Ruptur der Myofibrillen. Dazwischen noch deutlich konturierte Mitochondrien mit erhaltenen Cristae mitochondriales. (Vergr. 3400fach, Nachvergr. 2,75mal)

Literatur

- Bajusz, E.: Elektrolytverschiebungsmechanismus im Herzmuskel und seine Bedeutung für Pathogenese und Prophylaxe nekrotisierender Cardiopathien. *Arzneimittel-Forsch.* **14**, 1115—1128 (1964)
- Bersch, W., Bühler, F.: Pathologische Anatomie der sog. Epinephrin-Myokarditis beim Menschen. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **56**, 502—509 (1972)
- Bersch, W., Bühler, F., Kreinsen, U.: Ein pathomorphologischer Beitrag zur Kenntnis der sogen. Epinephrin-Myokarditis. *Virchows Arch. Abt. A* **366**, 45—55 (1973)
- Büchner, F., Onishi, S.: Der Herzmuskel bei akuter Koronarinsuffizienz im elektronenmikroskopischen Bild. München-Berlin-Wien: Urban und Schwarzenberg 1968
- Bühler, F., Bersch, W., Kreinsen, U.: Zur Pathomorphologie der sogen. Epinephrin-Myokarditis nach Gabe von Hypertensin. *Virchows Arch. Abt. A* **363**, 249—258 (1974)
- Doerr, W.: Morphologie der Myokarditis. *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.* **77**, 301—303 (1971)
- Fleckenstein, A.: Physiologie und Pharmakologie der transmembranären Natrium-, Kalium- und Calcium-Bewegungen. *Arzneimittel-Forsch.* **22**, 2019—2028 (1972)
- Forssmann, W. G., Siegrist, G., Orci, L., Girardier, L., Pictet, P., Rouiller, Ch.: Fixation par perfusion pour la microscopie électronique. Essai de généralisation. *J. Microsc.* **6**, 279 (1967)
- Fülgraff, G.: Angiotensin. *Med. Welt* **20**, 1001—1006 (1969)
- Gavras, H., Kremer, D., Brown, J. J., Gray, B., Lever, A. F., Mac Adam, R. F., Medina, A., Morton, J. J., Robertson, J. I. S.: Angiotensin-and norepinephrine-induced myocardial lesions: experimental and clinical studies in rabbits and man. *Amer. Heart J.* **89**, 321—332 (1975)
- Goldby, F. S., Beilin, L. J.: How an acute rise in arterial pressure damages arterioles. *Cardiovasc. Res.* **6**, 569—584 (1972)
- Greff, K.: Pharmakologische Grundlagen der Digitalistherapie. *Med. Welt* **24**, 613—618 (1973)
- Hatt, P. Y., Moravec, J.: Acute hypoxia of the myocardium. Ultrastructural changes. *Cardiology* **56**, 73—84 (1971/72)
- Klaus, W., Krebs, R.: Kinetische Analyse der Calcium-Kompartimente im Meerschweinchenherzen unter Kontrollbedingungen und Strophanthineinwirkung. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak.* **283**, 277—292 (1974)
- Kreinsen, U., Büsing, C. M.: Experimentelle Herzmuskelnekrosen bei der Ratte nach Gabe von l-Noradrenalin und Strophanthin. *Virchows Arch. A* **367**, 47—57 (1975)
- Peach, M. J., Ford, G. D.: The actions of angiotensin II on canine myocardial and plasma catecholamines. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **162**, 92—100 (1968)
- Raab, W.: Myocardial electrolyte derangement: crucial feature of pluricausal, so-called coronary heart disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **47**, Art. 17, 627—686 (1969)
- Repke, K.: Über den biochemischen Wirkungsmodus des Digitalis. *Klin. Wschr.* **42**, 157—165 (1964)
- Rona, G., Kahn, D. S.: The healing of cardiac necrosis as reflected by experimental studies. In: E. Bajusz and G. Jasmin, *Methods and achievements in experimental pathology*. Vol. 3, p. 200. Basel-New York: S. Karger 1967

- Schümann, H. J.: Effect of angiotensin on noradrenaline release of the isolated rabbit heart. Bayer-Symposium, Vol. II, pp. 202—209 (1970). Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1970
- Szakacs, J. W., Cannon, A.: 1-Norepinephrine myocarditis. Amer. J. clin. Path. **30**, 425—434 (1958)

Dr. Ute Raute-Kreinsen
Pathologisches Institut der
Städt. Krankenanstalten Mannheim
Fakultät für klinische Medizin Mannheim
der Universität Heidelberg
Theodor-Kutzer-Ufer
D-6800 Mannheim 1
Bundesrepublik Deutschland