

Aus der Medizinischen Klinik  
der Universität Würzburg  
Direktor: Professor Dr. med. G. Ertl

**„Hochaufgelöste cine-Magnetresonanz-Bildgebung des Mäuseherzens zur  
Bestimmung rechtsventrikulärer Morphologie und funktioneller Parameter.  
Validierung der Methode und Etablierung an zwei Modellen der  
Herzinsuffizienz.“**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Alex Frydrychowicz  
aus Kelkheim i. Ts.

Würzburg, im Februar 2004

Referent: Prof. Dr. med. S. Neubauer

Koreferent: Prof. Dr. med. D. Hahn

Dekan: Prof. Dr. med. S. Silbernagl

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Juli 2004

Der Promovend ist Arzt.

*Meinen Eltern aus Dank  
und  
Claudia aus Liebe*



## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>BEDEUTUNG DES RECHTEN VENTRIKELS</b>	<b>3</b>
2.1	Versuche zur Funktion des rechten Ventrikels	3
2.2	RV-LV-Interaktionen	5
2.2.1	Serielle Interaktion	6
2.2.2	Geometrie und Bewegung des interventrikulären Septums.	6
2.2.2.1	Links-rechts-Interaktion	6
2.2.2.2	Rechts-links-Interaktion	6
2.3	Der rechte Ventrikel in der Herzinsuffizienz	7
2.3.1	Pathophysiologische Grundgedanken	7
2.3.2	Experimentelle Ansätze zur Rechtsherzinsuffizienz	8
<b>3</b>	<b>MÄUSE IN DER KARDIOVASKULÄREN FORSCHUNG</b>	<b>10</b>
3.1	Physiologische Herausforderung Maus	11
3.2	Fortschritt der kardialen Versuchstechnik an der Maus	12
3.2.1	<i>Ex vivo</i> durchgeführte Techniken	12
3.2.2	<i>In vivo</i> durchgeführte Techniken	12
<b>4</b>	<b>MAGNETRESONANZ-BILDGEBUNG</b>	<b>14</b>
4.1	Geschichte der MR-Bildgebung	14
4.1.1	Entdeckung und Fortentwicklung der MR-Bildgebung	14
4.1.2	Kardiale Bildgebung am Menschen mittels NMR	15
4.1.3	Entwicklung der kardialen MR-Bildgebung an der Maus	16
4.2	Physikalische Grundlagen der MR-Bildgebung	17
4.2.1	Kernspin und Präzession	17
4.2.2	Resonanz	18

4.2.3	Relaxation und Signalentstehung	19
4.2.4	Längs- und Quermagnetisierung	19
4.2.5	Puls-Parameter	20
4.2.6	Kontrastmechanismen	20
4.2.7	Örtliche Auflösung, Sequenzbildung	21
4.2.7.1	Schichtauswahl	21
4.2.7.2	Phasenkodierung	22
4.2.7.3	Frequenzkodierung	22
4.2.8	Fourier-Transformation, Bildentstehung	23
4.2.9	Pulssequenz-Diagramm	24
<b>4.3</b>	<b>Meßmethode (cine-FLASH)</b>	<b>24</b>
4.3.1	FLASH-Gradientenecho	24
4.3.2	cine-Bildgebung	25
<b>4.4</b>	<b>Ausrüstung für MR-Bildgebung</b>	<b>26</b>
4.4.1	Supraleitender Magnet	26
4.4.2	Shimeinheit	26
4.4.3	Gradientensystem	26
4.4.4	Radiofrequenz-Spule	27
4.4.5	Computersystem	27
<b>5</b>	<b>METHODIK</b>	<b>28</b>
<b>5.1</b>	<b>Versuchsaufbau</b>	<b>28</b>
5.1.1	Teil I - Methodvalidierung	28
5.1.2	Teil II – Anwendung bei Herzinsuffizienz: Myokardinfarkt	28
5.1.3	Teil III – Modell der Rechtsherzinsuffizienz: Pulmonales Banding	28
<b>5.2</b>	<b>Versuchsablauf</b>	<b>29</b>
5.2.1	Operationen	29
5.2.1.1	Vorbereitung	29
5.2.1.2	Intubation und Narkose	30
5.2.1.3	Gemeinsame Arbeitsschritte	31

5.2.1.4	Pulmonales Banding	32
5.2.1.5	LAD-Banding	32
5.2.1.6	Operationsende	33
5.2.2	Durchführung der MR-Bildgebung	33
5.2.2.1	Narkose	33
5.2.2.2	Geräteaufbau	34
5.2.2.2.1	NMR-Tomograph, Gradientensystem, Spule und Sequenz	34
5.2.2.2.2	Lagerung der Maus	35
5.2.2.3	EKG-Einheit	36
5.2.2.4	Schnittführung	37
5.2.2.4.1	Transversalschnitt und Planung der 1. Meßebene	37
5.2.2.4.2	Coronalschnitt und Planung der 2. Meßebene	37
5.2.2.4.3	Parasagittalschnitt und Planung der 3. Meßebene	38
5.2.2.4.4	4-Kammerblick und Planung der Folgeschichten	39
5.2.2.5	Bildgebung	39
5.2.2.6	Versuchsende	40
5.2.3	Präparation des rechten Ventrikels	40
<b>5.3</b>	<b>Auswertung</b>	<b>41</b>
5.3.1	Modelle zur Volumenbestimmung	41
<b>5.4</b>	<b>Bildbearbeitung</b>	<b>41</b>
5.4.1	Durchführung der linksventrikulären Auswertung	42
5.4.2	Durchführung der rechtsventrikulären Auswertung	42
5.4.3	Segmentieren der Daten	43
5.4.4	Berechnung abgeleiteter Parameter	49
5.4.4.1	Schlagvolumen	49
5.4.4.2	Ejektionsfraktion	49
5.4.4.3	Auswurfleistung	49
<b>5.5</b>	<b>Statistik</b>	<b>50</b>
5.5.1	Statistische Abnalyse der Daten	50
5.5.1.1	Datenform und grundlegende Verfahren	50
5.5.1.2	Mittelwert (MW)	50

5.5.1.3	Standardabweichung und Varianz	50
5.5.1.4	Standardfehler des Mittelwertes	51
5.5.6	Statistische Methoden	51
5.5.6.1	Korrelationsanalyse und Bestimmtheitsmaß	51
5.5.6.2	Untersuchung der Normalverteilung	52
5.5.6.3	Bland-Altman-Analyse	52
<b>6</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>53</b>
<b>6.1</b>	<b>Teil I - Methodvalidierung</b>	<b>53</b>
6.1.1	Allgemeine Ergebnisse	53
6.1.2	Vergleich links- und rechtsventrikulärer Volumina	53
6.1.2.1	SV und CO	54
6.1.2.2	EDV, ESV und EF	56
6.1.3	Intra- und interobserver Vergleich rechtsventrikulärer Parameter	56
6.1.3.1	Intraobserver Vergleich	56
6.1.3.2	Interobserver Vergleich	57
6.1.4	Myokardmassenvergleich gegen Autopsie	60
6.1.5	Wiederholbarkeit der Messungen (interstudy Vergleich)	61
<b>6.2</b>	<b>Teil II – Modell der Globalinsuffizienz: Myokardinfarkt</b>	<b>62</b>
<b>6.3</b>	<b>Teil III – Modell der Rechtsherzinsuffizienz: Pulmonales Banding</b>	<b>63</b>
<b>7</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>65</b>
<b>7.1</b>	<b>Methode</b>	<b>65</b>
7.1.1	MR-Bildgebung	65
7.1.2	Abgrenzung zu alternativen Verfahren	66
7.1.3	Auswertung	67
7.1.3.1	Berechnungsmodell	67
7.1.3.2	Durchführung der Auswertung	68
7.1.4	Modelle der Herzinsuffizienz	69
7.1.4.1	LAD-Banding	69

7.1.4.2	Pulmonales Banding	69
7.1.4.3	Invasivität der Verfahren	70
<b>7.2</b>	<b>Diskussion der erhobenen Daten und Ergebnisse</b>	<b>71</b>
7.2.1	Allgemeine Betrachtung	71
7.2.2	Methodenvalidierung	71
7.2.2.1	Vergleich links- und rechtsventrikulärer Volumina	71
7.2.2.2	Intraobserver Vergleich	72
7.2.2.3	Interobserver Vergleich	72
7.2.2.4	RV Myocardmasse gegen MR-Feuchtgewicht	72
7.2.2.5	Interstudy Vergleich	73
7.2.3	Modell der globalen Herzinsuffizienz	73
7.2.4	Modell der Rechtsherzinsuffizienz	74
<b>7.3</b>	<b>Limitationen</b>	<b>76</b>
7.3.1	Verfahren und Methode	76
7.3.1.1	MR-Bildgebung	76
7.3.1.2	EKG-Triggerung	77
7.3.2	Modelle	77
<b>7.4</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>78</b>
<b>7.5</b>	<b>Ausblick</b>	<b>78</b>
<b>ANHANG</b>		<b>81</b>
<b>A</b>	<b>Elektronische Literaturrecherche</b>	<b>81</b>
<b>B</b>	<b>Genom der Maus</b>	<b>81</b>
<b>C</b>	<b>Invertierte Gradienten und Pulssequenz-Diagramm</b>	<b>81</b>
<b>D</b>	<b>Aufbau der MR-Bildgebung</b>	<b>83</b>
<b>E</b>	<b>Weitere Modelle zur Volumenberechnung</b>	<b>83</b>
E.1	LV- Modelle	83

E.1.1	Modifizierte Simpson-Regel	83
E.1.2	Zweischicht-Ellipsoid-Modell	85
E.1.3	Einschicht-Ellipsen-Modell	85
E.2	RV-Modelle	85
E.2.1	Prisma-Modell	85
E.2.2	Dreiseitiges Pyramidenstumpf-Modell	86
E.2.3	Denslows elliptisches Schalenmodell <sup>31-33</sup>	86
E.2.3.1	basierend auf 2 Achsen	86
E.2.3.2	basierend auf einer Achse	87
<b>F – Begriffe und Parameter der Messung</b>		<b>87</b>
F.1	Pixel	87
F.2	Voxel	87
F.3	Atemtriggerung	87
F.4	Frames	88
F.5	Parameter der Messung	88
<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>		<b>91</b>
<b>ZUR BEARBEITUNG HERANGEZOGENE BÜCHER</b>		<b>106</b>
<b>ABBILDUNGSNACHWEIS</b>		<b>107</b>
	<b>Abbildungen</b>	<b>107</b>
	<b>Tabellen</b>	<b>108</b>
	<b>Gleichungen</b>	<b>108</b>
<b>ABKÜRZUNGEN</b>		<b>110</b>
<b>DANKSAGUNG</b>		
<b>LEBENS LAUF</b>		

# 1 Einleitung

Tiermodelle haben in den vergangenen Jahren zunehmenden Stellenwert in der medizinischen Grundlagenforschung erlangt. Insbesondere Kleinnagetiere wie Mäuse zeichnen sich durch geringe Haltungskosten, hohe Reproduktionsraten, eine dem Menschen ähnliche Physiologie und ihr weitestgehend bekanntes Genom aus. Davon leitet sich die Möglichkeit ab, Krankheitsmodelle zu konstruieren, an denen pathologische Mechanismen und therapeutische Strategien erforscht werden können. So bieten z.B. Modelle für Kardiomyopathien, Atherosklerose und die auf verschiedene Weise induzierbare Herzinsuffizienz interessante Ansätze im Bereich der kardiovaskulären und genetischen Forschung. In gleichem Maße bedarf es aber auch potenter Untersuchungstechniken, um diese Forschungsergebnisse zu validieren. Bestehende Methoden wie Echokardiographie, Radionuklid-Ventrikulographie und transösophageale Echokardiographie sind zwar am Menschen etabliert, ihre Anwendung an der Maus ist aber wegen ihrer geringen Meßgenauigkeit und technischer Limitationen nur beschränkt möglich.

In Kooperation mit dem Physikalischen Institut wurde an der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 355 der Deutschen Forschungsgesellschaft „Pathophysiologie der Herzinsuffizienz“ die Möglichkeit geschaffen, Physiologie und Morphologie von Nagetierherzen mittels Magnetresonanztomographie (im Folgenden MR-Bildgebung) zu untersuchen. Sie eignet sich als nichtinvasives Verfahren zur Serienuntersuchung der Tiere und bietet durch seine fortgeschrittene Technik exzellente Meßgenauigkeit und Reproduzierbarkeit. In den Jahren 1998-2002 konnten in verschiedenen wissenschaftlichen Veröffentlichungen der Arbeitsgruppe um Dr. F. Wiesmann und Dr. E. Rommel die Anwendungsmöglichkeiten der hochaufgelösten cine-MR-Bildgebung der linken Herzkammer gezeigt werden.

Hintergrund der vorliegenden Arbeit ist das wachsende Interesse der Forschung an der Bedeutung des rechten Ventrikels (RV) im Rahmen der Herzinsuffizienz. Verschiedene Arbeiten weisen darauf hin, daß Veränderungen am rechten Ventrikel vor allem bei ischämisch bedingten Herzerkrankungen und bei Herzklappenfehlern von prognostisch und pathophysiologisch relevanter Aussagekraft sind. Auch die Interpretation der rechtsventrikulären Funktion hat sich in den letzten Jahrzehnten verändert. In den 60er

und 70er Jahren wurde der RV noch als rein passive Einheit verstanden. Dieses Auffassung änderte sich zwischen Anfang der 80er bis Mitte der 90er Jahre zu einer aktiveren Rolle im Herzkreislauf. Die heutige Hypothese, der rechte Ventrikel könne spezifische Funktionen übernehmen und einen eigenständigen Beitrag in Entstehung und Fortschritt einiger Krankheiten leisten, bleibt weiter zu überprüfen.

Als Hindernisse in der weiteren Beurteilung der rechtsventrikulären Funktion gelten dessen komplexere Geometrie, die starke Trabekulierung, das kontrovers beschriebene Kontraktionsverhalten des rechten Ventrikels sowie die Unvorhersehbarkeit seiner Veränderungen unter pathologischen Bedingungen. Insbesondere aus diesen Gründen können am rechten Ventrikel keine geometrischen Modelle zur Anwendung kommen, die bisher die funktionelle Volumetrie der linken Herzkammer bestimmen.

Ziel dieser Arbeit ist die Darstellung der Durchführbarkeit rechtsventrikulärer cine-MR-Bildgebung am Mäuseherzen zur Erhebung funktioneller Parameter. Dazu müssen Genauigkeit und Wiederholbarkeit der rechtsventrikulären Messung und Auswertung validiert werden. Das Erreichte wird am pathologischen Beispiel demonstriert und dazu auf ein Modell der Globalherzinsuffizienz und der Rechtsherzinsuffizienz übertragen.

Die Kombination aus rechts- und linksventrikulärer Auswertung kardialer Parameter der Maus an verschiedenen Krankheitsmodellen kann Grundlage zur Erforschung pathophysiologischer Beobachtungen, genetischer Auswirkungen oder therapeutischer Strategien sein. Darüber hinaus ergibt sich die Möglichkeit, die Anwendung neuer magnetresonanztomographischer Sequenzen mit den vorliegenden Ergebnissen zu vergleichen und sich an ihnen zu orientieren. Die so gewonnenen Informationen stellen einen möglichen Brückenschlag von Grundlagenforschung zur Anwendung in der Humanmedizin dar.

## **2 Bedeutung des rechten Ventrikels**

WILLIAM HARVEY beschrieb in „de motu cordis“ (lat. von der Bewegung des Herzens) ein in Grundzügen bis heute bestehendes Konzept des Herzkreislaufsystems. Es basierte auf drei Grundannahmen: Er bezeichnete venöses und arterielles Blut als das gleiche, daß das Blut gleichmäßig durch zwei voneinander getrennte aber in Serie geschaltete Kreisläufe zirkuliere und das Herz in diesem System als mechanische Pumpe arbeite<sup>27</sup>. Mit dieser Feststellung widersprach er dem zu seiner Zeit geltenden Wissen, die Arterien führten Luft und das Blut diffundiere durch das interventrikuläre Septum von der rechten in die linke Kammer.

Bis Mitte des 20. Jahrhundert wird die auch heute dominierende Betonung des linken Ventrikels (LV) und die fast gänzlich unbekannt Rolle des rechten Ventrikels (RV) wenig hinterfragt. Nach geringer Aufmerksamkeit vor über 25 Jahren hat der RV auch in der Zwischenzeit in seiner Beachtung hinter dem LV zurückgestanden<sup>8,22,23</sup>. Die Untersuchung rechtsventrikulärer Funktion und Dysfunktion hat durch die Erkenntnis einer deutlich verschlechterten Prognose bei rechtsventrikulärer Beteiligung an inferioren Infarktgeschehen eine Renaissance erfahren<sup>176</sup>, so daß Untersuchungen des rechten Ventrikels in das kardiologische Interesse gerückt sind.

### **2.1 Versuche zur Funktion des rechten Ventrikels**

In 1943 zeigten STARR und Mitarbeiter an Hunden, daß die Schädigung des rechten Ventrikels durch Kauterisierung der freien rechtsventrikulären Wand zu geringeren Komplikationen führte, als erwartet. Ihr Ergebnis zeigte nichtsignifikante Änderungen des venösen Drucks ohne eine venösen Stauung zu bedingen<sup>148</sup>. In einem ähnlichen Versuch beschrieb BAKOS 1950 nur geringe Änderungen im systolischen und diastolischen pulmonalarteriellen und systemischen Druck nach rechtsventrikulärer Schädigung. Linksventrikuläre Zerstörung hingegen erzeugte massivste Druckänderungen bis zum letalen kardiogenen Schock. Er schlug vor, daß bei starker Zerstörung des rechten Ventrikels mechanische Energie vom schlagenden linken Ventrikel übergeleitet werden könne<sup>5</sup>. KAGAN präziserte diese Vorstellung 1952 durch die Aussage, daß diese Weiterleitung über das interventrikuläre Septum geschehe<sup>81</sup>.

Eine große Zahl von Operationsansätzen bei Trikuspidalatresie und Atresie des rechten Ventrikels<sup>50,89,132</sup> sowie eine Reihe rein experimenteller Ansätze<sup>17,53,60,80,122,123</sup>

versuchten in der Folge, die rechte Kammer vollständig aus der Zirkulation auszuschalten; einerseits, um das Überleben des Patienten zu ermöglichen, andererseits aber auch, um die Bedeutung der rechten Kammer weiter zu hinterfragen. Die frühesten experimentellen Versuche gehen dabei auf RODBARD und WAGNER zurück<sup>125</sup>, die von ROSE und Mitarbeitern weitergeführt wurden<sup>130</sup>. Die bekannteste klinische Anwendung ist die als FONTAN-(KREUTZER-)Operation bekannt gewordene und 1971 erstmals durchgeführte Technik zur Therapie der Trikuspidalatresie<sup>50</sup>. SADE und CASTANEDA faßten diese Versuche 1975 zusammen, indem sie von dem „verzichtbaren rechten Ventrikel“ sprechen. Ihre Behauptung stützte sich dabei auf den Umkehrschluß, daß die Beobachtungen der oben genannten Experimente ohne funktionsfähigen rechten Ventrikel den ausreichenden Beweis für seine Verzichtbarkeit darstellen<sup>134</sup>.

Dem widersprach FUREY in „die essentielle Funktion des rechten Ventrikels“<sup>51</sup>. Er führte Versuche an, die deutliche Veränderungen nach rechtsventrikulärer Infarzierung beschreiben<sup>13,22,94,118,120,121</sup>. Diese hatten den Vorteil, im Gegensatz zu der bisher durchgeführten Versteifung des Myokardgewebes durch Kauterisierung, den rechten Ventrikel als funktionslose aber elastische Kammer beizubehalten. Dadurch erwiesen sich die Experimente als aussagekräftiger hinsichtlich rechtsventrikulärer Insuffizienz gegenüber solchen mit versteifter RV Wand. Durch sein Versuchsmodell erweiterte er die Auseinandersetzung um die Feststellung, daß der rechte Ventrikel nicht ausschließlich als Pumpe für den Lungenkreislauf zu verstehen sei; diese Funktion kann durch die Auswurfleistung der linken Kammer ohne weiteres mitbewältigt werden. Er postulierte, daß der rechte Ventrikel für die Aufrechterhaltung eines konstanten Druckniveaus in den systemischen Venen arbeite. Damit folgte er der Annahme FERLINZ, der 1982 zu der Aussage kam „Der rechte Ventrikel ist keine isolierte, fast redundante Struktur, sondern ein äußerst spezifischer Teil des kardiovaskulären Systems“<sup>46</sup>. Die Definition der „äußerst spezifischen“ Stellung mußte zu diesem Zeitpunkt allerdings noch erbracht werden. Differenziertere Versuche zeigten später, daß der Ausfall der rechtsventrikulären Funktion, vor allem der freien Wand oder des interventrikulären Septums, schwerwiegender ist als zuvor beschrieben und in den meisten Fällen zum Tod des Versuchstieres führt<sup>141</sup>.

Ein Umdenken in der kardiovaskulären Forschung erfolgte durch die Berichte COHNS<sup>22</sup> über das „Syndrom des Rechtsherzinfarktes“ sowie durch BAKER<sup>4</sup> und POLAK<sup>117</sup>. Sie

bezeichneten die Funktion des rechten Ventrikels als besser voraussagekräftig im Hinblick auf Prognose und funktionellen Status der Linksherzinsuffizienz als die linksventrikulären Korrelate. Die Ergebnisse ZEHENDERS<sup>176,177</sup> zu Prognose, Komplikationsrate und therapeutischer Strategie bei Myokardinfarkt unterstrichen diese Ergebnisse und rückten die Evaluation rechtsventrikulärer Parameter in den Fokus aktueller Diskussionen um die Herzinsuffizienz. Die Vereinfachung, rechtsventrikuläre Veränderungen seien einzig Ausdruck gesteigerter pulmonaler Widerstände bei linksventrikulärem Rückwärtsversagen, kann seitdem nicht mehr aufrecht erhalten werden. In ZEHENDERS Patientengruppe mit inferiorem Infarktgeschehen und Beteiligung des rechten Ventrikels zeigte sich eine deutliche Steigerung der Mortalität von 5 auf 31% und der Komplikationsrate von 28 auf 64% gegenüber Patienten ohne Mitbeteiligung des RV. Diese Beobachtung führte zu der Ableitung, die Beurteilung einer rechtsventrikulären Schädigung bei Infarktgeschehen sei prognostisch wichtig und akut über eine ST-Hebung in Ableitung V<sub>4R</sub> des EKGs erfaßbar<sup>3,126</sup>.

ZEHENDERS Ergebnisse wurden durch die Resultate der Meta-Analyse MEHTAS zur Prognose myokardialer Infarzierung bei Beteiligung des rechten Ventrikels bestätigt. Demnach führe eine Beteiligung des rechten Ventrikels zu einer deutlichen Steigerung der Mortalität, Morbidität und ernster Komplikationen. Sämtliche Studien führen zu der Frage, ob der zugrundeliegende Mechanismus eine einfache Verschlechterung der globalen Pumpfunktion durch partiellen Ausfall des rechten Ventrikels darstellt, oder ob es sich um eigenständige pathophysiologische Mechanismen handelt<sup>103</sup>.

Nach Erkennen der Bedeutung des rechten Ventrikels für die Prognose vor allem bei ischämischer Schädigung „stehe man“, so OLDERSHAW in 1992, „nun vor dem Problem fehlender Möglichkeiten zur weiteren, genaueren funktionellen Beurteilung des rechten Ventrikels“<sup>111,112</sup>. Auch er schätzte die rechte Herzkammer und die Analyse ihrer Funktion als zunehmend wichtig ein; insbesondere vor dem Hintergrund der Forschungsergebnisse zu akuten<sup>31,99</sup> oder chronischen<sup>14,55,79</sup> Erkrankungen der Herzkranzgefäße, Erkrankungen der Herzklappen, im septischen Schock sowie bei Aussagen zur Prognose bei linksventrikulärer Schädigung.

## **2.2 RV-LV-Interaktionen**

Über die Diskussion um Bedeutung, Prognose und Statusdiagnostik rechtsventrikulärer Parameter wurde insbesondere das Zusammenspiel der beiden Kammern Gegenstand

intensiver Forschung. Zwei wesentliche Mechanismen werden dabei als gegeben akzeptiert:

### **2.2.1 Serielle Interaktion**

Unter serieller Interaktion versteht man vor allem die bekannte In-Reihe-Schaltung von rechtem und linkem Ventrikel über den Pulmonalkreislauf. Entsprechend ist auch der linke mit dem rechten Ventrikel über den großen Kreislauf und das venöse System in Serie geschaltet.

Da die rechtsventrikuläre Auswurfleistung direkt von der Nachlast abhängig ist, sind gesteigerte linksventrikuläre Füllungs- und pulmonalarterielle Drücke als Ursache für gesteigerte rechtsventrikuläre Wandspannung anzusehen<sup>66,87</sup>. Die bekannte Abhängigkeit der Ventrikelfunktion von Vor- und Nachlast wird in den Versuchen um die Erkenntnis erweitert, daß der linke Ventrikel höhere Füllungsdrücke und –mengen tolerieren kann<sup>107</sup>.

### **2.2.2 Geometrie und Bewegung des interventrikulären Septums.**

Die direkte Interaktion der beiden Ventrikel ist an verschiedener Stelle beschrieben worden<sup>40,45,160</sup>. Es muß zwischen links-rechts- und rechts-links-Interaktion unterschieden werden.

#### **2.2.2.1 Links-rechts-Interaktion**

Nach älteren, bereits angeführten experimentellen Versuchen<sup>51,130</sup> und ebenso in der aktuellen Literatur durch Experimente am Nagerherzen bestätigt<sup>102,105</sup>, vermittelt der LV einen Teil seiner Kontraktion über das interventrikuläre Septum auf den rechten Ventrikel, auch wenn dieser nicht kontrahiert. Quantifiziert man diesen Prozeß, werden am gesunden Probanden 24%, bei pulmonal-arteriellem Hypertonus 34% der LV Arbeit für die Funktion des rechten Ventrikel aufgebracht. Liegt hingegen eine RV Dilatation nach Druck- oder Volumenbelastung vor, wird die Funktion des RV nicht mehr ausreichend unterstützt<sup>73</sup>.

#### **2.2.2.2 Rechts-links-Interaktion**

Auch der umgekehrte Vorgang, die rechts-links-Interaktion, stellte sich als bedeutend dar<sup>144,163</sup>. Aspekte dieses Prozesses können jedoch nur unter passiver Mitbeteiligung des Perikards interpretiert werden. Rechtsventrikuläre Dilatation verursacht über erhöhten

intraperikardialen Druck eine Abnahme des venösen Rückstroms, des Herzzeitvolumens und der linksventrikulären Funktion<sup>65</sup>. Das sich in den linken Ventrikel vorwölbende Septum hindert dabei außerdem die diastolische Relaxation des linken Ventrikels und führt zu einer relativen linksventrikulären Steifigkeit<sup>88,105</sup>.

## **2.3 Der rechte Ventrikel in der Herzinsuffizienz**

### **2.3.1 Pathophysiologische Grundgedanken**

Der rechte Ventrikel kann bei vielen Krankheiten des Myokards betroffen sein, zum Beispiel bei systemischen Erkrankungen, bei viralen oder bakteriellen Entzündungen, kongenitalen Entwicklungsstörungen, durch kardiale Ischämie und bisher wenig diskutiert im Symptomkomplex Herzinsuffizienz.

Da er, wie oben beschrieben, über die Lunge in Serie und über das interventrikuläre Septum funktionell mit dem linken Ventrikel verbunden ist, können hämodynamische Veränderungen des linken an den rechten Ventrikel weitergegeben werden. Zum Beispiel führt ein Rückwärtsversagen des linken Ventrikels wie oben angeführt zu einer Nachlasterhöhung des rechten Ventrikels. Die Nachschaltung des Lungenkreislaufes ist eine Besonderheit des rechten Ventrikels. Auch Erkrankungen der Lunge und isolierte Veränderungen im Lungenkreislauf können sich auf den rechten Ventrikel auswirken. Pulmonaler Hypertonus, der sekundär durch Lungenveränderungen wie bei COPD und Fibrose aber auch durch Hypoxie und Medikamentennebenwirkungen (z.B. Bleomycin) entstehen kann, führt ebenfalls zu einer Nachlaststeigerung des rechten Herzens.

Die resultierende Erhöhung der Wandspannung kann nach LAPLACE durch Wanddickenzunahme (Hypertrophie) oder Erhöhung des Kammerradius (Dilatation) anfänglich kompensiert werden. Sobald das rechte Herz die Mehrbelastung nicht durch Kompensationsmechanismen wie Hypertrophie, Dilatation oder Frequenzsteigerung auffangen kann, versagt es.

Diese pathophysiologischen Abläufe, die für den linken Ventrikel als bekannt gelten und auch am Mausmodell nachvollzogen werden konnten, wurden bisher auf die rechte Kammer übertragen, konnten aber mangels adäquater Technik nur unvollständig beschrieben werden. Zu den Veränderungen gehören neben morphologischen auch Aspekte der neurohumoralen Reaktion, die Änderung der ATP-Konzentration und des –umsatzes sowie der NO-Synthetase-Aktivität und -Konzentration<sup>106</sup>, die Veränderung

der Creatinkinase-Aktivität und der Konzentrationen ihrer Isoenzyme oder die Unterschiede im myokardialen Glucosehaushalt<sup>153</sup>. Ebenso sind die Abläufe der systolischen bzw. diastolischen Herzinsuffizienz, der hypertrophen und dilatativen Reaktion auf Druck- bzw. Volumenbelastungen sowie ihre strukturellen Begebenheiten am RV noch nicht dargestellt worden. Ob der rechte Ventrikel entsprechend dem linken reagiert und welche Auswirkungen dies auf die Weiterentwicklung und Prognose der Herzinsuffizienz hat, ist Gegenstand aktueller Forschungsprojekte.

### **2.3.2 Experimentelle Ansätze zur Rechtsherzinsuffizienz**

Eine Insuffizienz des rechten Ventrikels kann isoliert auftreten oder aber in Kombination mit einer Linksherzinsuffizienz (sog. „Globalinsuffizienz“). Dabei kann die Rechtsherzinsuffizienz eine Folge des Linksherzversagens oder aber eine Begleiterscheinung sein.

Experimentelle Ansätze zur Erzeugung einer isolierten Rechtsherzinsuffizienz bei Tieren beinhalten genetische Manipulationen z.B. der NO-Synthetase (NOS 3)<sup>149</sup>, die Haltung der Tiere in Hypoxie<sup>42</sup>, die Applikation von Bleomycin oder Monocrotalin und pulmonales Banding (operatives Verengen der A. pulmonalis communis), das bisher neben einer therapeutischen Bedeutung am Menschen auch an Tieren wie Ratten und Schweinen<sup>147</sup> erprobt wurde. Zur operativen Induktion einer isolierten Rechtsherzinsuffizienz bei Mäusen existiert eine Veröffentlichung aus dem Jahr 1994, in welcher das pulmonale Banding als Modell genutzt wird<sup>124</sup>. Alle genannten Verfahren erzeugen einen erhöhten pulmonalen Widerstand und so erhöhte pulmonalarterielle Drücke. Ein verminderter NO-Synthespiegel bedeutet durch geringere NO-Konzentration eine schlechtere Dilatationsfähigkeit von Gefäßen. Bei Hypoxie kommt es durch den Euler-Liljestrand-Mechanismus zu einer Vasokonstriktion im Lungengefäßbett. Chemische Stoffe wie Bleomycin und Monocrotalin führen zu einer Lungenfibrose, während der operative Ansatz eine Abflußbehinderung des Blutes im Lungenkreislauf nach sich zieht. Damit belasten die Modelle den rechten Ventrikel, der je nach Schwere der Belastung Kompensationsmechanismen zeigt oder dekompensiert und versagt.

Für die Darstellung einer Globalinsuffizienz existieren ebenfalls verschiedene Tiermodelle. An der Maus wurden genetische Modelle und operative Ansätze wie LAD-Banding (operatives Abbinden des Ramus interventricularis anterior) und Banding der

Aorta beschrieben. Um die Veränderungen am rechten Ventrikel bei globaler Herzinsuffizienz darzustellen, habe ich auf das in unserer Arbeitsgruppe bekannte und etablierte Mausmodell des Myokardinfarktes nach LAD-Ligatur zurückgegriffen<sup>168</sup>.

### 3 Mäuse in der kardiovaskulären Forschung

„Wären Anatomen nur ebenso mit der Sektion niederer Lebewesen vertraut wie mit der des menschlichen Körpers; all diese verwirrenden Schwierigkeiten wären meiner Meinung nach unbegründet. Die Situation ist zunächst ganz klar bei Fischen mit einer einzigen Herzkammer und ohne Lungen. (...) So ist es nicht schwer, solche Beobachtungen auch bei anderen Tieren mit mehreren Herzkammern wie Fröschen, Kröten, Schlangen und Echsen zu machen.“<sup>23</sup>

William Harvey, 1558-1657

Vor mehr als 350 Jahren wies William Harvey in „Exercitatio anatomica de motu cordis et circulatione sanguinis in animalibus“ darauf hin, daß Tiermodelle entscheidende Werkzeuge zur Klärung der Pathophysiologie, Histologie und Morphologie verschiedener Krankheiten darstellen können<sup>20,27</sup>. Heutzutage werden zahlreiche Tiermodelle verschiedener Krankheiten genutzt, um in diesem Sinne Ausprägungen, pathophysiologische Vorgänge und therapeutische Strategien zu erforschen. Insbesondere Mäuse und andere Kleinnagetiere sind durch ihre verhältnismäßig geringen Kosten und hohen Reproduktionsraten häufig genutzte Versuchstiere. Zum Zeitpunkt des Entstehens dieser Arbeit ergibt die Stichwortsuche „Maus“ in der elektronischen Literaturrecherche mehr als 600.000 Einträge aus den verschiedensten Bereichen der Forschung der vergangenen 20 Jahre (siehe Anhang A).

Im Zeitalter der Gentechnologie und der automatisierten Aufschlüsselung des menschlichen Genoms im Human Genom Project sind neue Möglichkeiten und Fragestellungen zu diskutieren. Nicht die einfache Beschreibung genetischer Veränderungen anhand ihres Phänotyps sondern der Rückschluß von der veränderten Ausprägung auf die zugrundeliegende genetische Veränderung ist in das Interesse der Forscher gerückt. Vor dem Hintergrund des mittlerweile weitgehend bekannten Genoms der Maus<sup>19,100</sup> (siehe Anhang B) und differenzierter Manipulationsmethoden liegt die Betonung heute auf der möglichst exakten Charakterisierung phänotypischer Ausprägungen<sup>1,20</sup>.

### 3.1 Physiologische Herausforderung Maus

Mäuse stellen aufgrund ihrer geringen Größe eine Herausforderung an Untersucher und die Untersuchungsmethode dar. Verhalten sich viele morphologische Begebenheiten und physiologische Vorgänge vergleichbar mit menschlichen Äquivalenten (z.B. Herzkreislauf-System, Atmung, neurohumorale Signaltransduktion), sind es insbesondere die absoluten Werte, die im Vergleich zur menschlichen Anatomie deutliche Unterschiede aufweisen<sup>78</sup>. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick:

	<b>Mensch</b>	<b>Maus*</b>
<b>Herzgröße/-gewicht</b>	ca. 10 x 6cm, ca. 270g	ca. 10 x 5mm, 0,15g
<b>Herzfrequenz Ruhe-Streß</b>	ca. 60-200/min	ca. 370-790/min
<b>Septumdicke</b>	ca. 1,0-1,4cm	< 0,1mm
<b>Durchmesser Aorta</b>	ca 4-5cm	< 2mm
<b>Blutvolumen</b>	ca. 5-7l	ca. 4-5ml
<b>LV Schlagvolumen</b>	ca. 70ml	ca. 40-60 µl
<b>Herzminutenvolumen</b>	ca. 4l	ca. 15-20 ml
<b>Totale Lungenkapazität</b>	ca. 6l	ca. 0,9-1,5ml
<b>Atemzugvolumen</b>	ca. 500ml	ca. 0,35-0,45ml
<b>Atemfrequenz</b>	ca. 12/min	ca. 120-170/min

Tabelle 3.1: Vergleich anatomisch-physiologischer Parameter Mensch und Maus, \* je nach Literaturstelle wie angegeben in JAMES et al.<sup>78</sup>

Die notwendige Miniaturisierung bekannter Untersuchungsmethoden stellt angesichts dieser Werte das wesentliche Hindernis und die technische Herausforderung dar. Zur Untersuchung funktioneller kardiologischer Parameter sind invasive Techniken suboptimal, da schon ein Blutverlust von ca. 300µl bei der Maus zu einem hypovolämischen Schock führen kann und das Meßergebnis beeinflusst. Ebenso ist bei der Wahl der Narkose Vorsicht geboten. Für Versuche unter Intubation und Beatmung ist eine Narkosetiefe erforderlich, die meist kardiodepressive Effekte hat. Auch Auskühlung ist aufgrund der relativ hohen Körperoberfläche der Tiere ein Problem, da eine durch Auskühlung bewirkte Bradykardie zu veränderten Pumpeigenschaften führen kann<sup>82,119</sup>.

## **3.2 Fortschritt der kardialen Versuchstechnik an der Maus**

### **3.2.1 *Ex vivo* durchgeführte Techniken**

Ohne apparative Miniaturisierung konnten nur autoptische und histologische Aufarbeitungen der Mäuse und ihrer Organe durchgeführt werden. Physiologische Vorgänge wurden rückschließend oder ohne intaktes Zusammenspiel der Organsysteme beurteilt. Vergleichbar mit der Diagnostik am Menschen sind es aber dynamische, *in vivo* zu messende Parameter, die die klinische Diagnose von Herzerkrankungen erlauben.

Die Erhebung dynamischer Parameter wurde durch die Verkleinerung der Langendorff-Perfusion zur Anwendung am Mäuseherzen möglich<sup>56</sup>. Schnell wurden unterschiedliche, zum Teil genetisch manipulierte Mausgruppen, der Analyse zugeführt, um diskrete Veränderungen der kardialen Kontraktilität zu erheben<sup>52,90,104</sup>. Die Langendorff-Perfusion ist trotz funktioneller Ergebnisse ein *ex vivo*-Verfahren, das die physiologischen Begebenheiten verändert. Es können zum Beispiel kardiohumorale Reaktionen, Interaktionen zwischen Herz, Lunge und intrathorakalen Drücken sowie Einflüsse des vaskulären Systems nicht beurteilt werden.

### **3.2.2 *In vivo* durchgeführte Techniken**

Frühe *in vivo*-Methoden sind die Messung kardialer Parameter am offenen Thorax<sup>76</sup> und nach intraventrikulärem Einbringen einer 25G-Kanüle durch die Thoraxwand<sup>77</sup>. Beide stören die intrathorakalen Druckverhältnisse und resultieren im Ableben der Maus nach Versuchsende. Dadurch wird die Beurteilung in Folge-Studien unmöglich. Auch eine der Herzkatheter-Untersuchung ähnliche Methode mit Zugang über die A. femoralis, die alle Teilergebnisse der bisher durchführbaren Versuche integriert, endet meist mit dem Tod des Versuchstieres<sup>78,95</sup>.

1994 stellte die Arbeitsgruppe um MANNING die zweidimensionale 7,5MHz M-Mode-Echokardiographie an der Maus mit guten Ergebnissen in der Validierung an autoptischen Daten dar<sup>97</sup>. In den folgenden Jahren wurde durch technische Verbesserungen auch eine höhere Meßgenauigkeit erzielt. Grenzen werden dem Verfahren durch die örtliche und zeitliche Auflösung, das kleine Schallfenster, die Kompression des Thorax während der Untersuchung und die z.T. schwierige Abgrenzbarkeit des Myokards gegen umliegendes Gewebe und Blut gesetzt. Es bedarf

eines erfahrenen Untersuchers, der mit hoher Genauigkeit äquatoriale und horizontale Ebene des Ventrikels bestimmt und anhand geometrischer Näherung berechnet. Das Verfahren stellte durch seine hohe Verfügbarkeit und geringe Kosten in den letzten Jahren den Goldstandard zur kardialen Diagnostik an Mäusen dar<sup>161</sup>. Ein Fortschritt für die rechtsventrikuläre Diagnostik ist die ebenfalls aus der Humanmedizin bekannte transösophageale Echokardiographie<sup>136</sup>. Mit dieser Methode konnten unter Verwendung hochfrequenter Schallköpfe (bis 30 MHz) gute Korrelationen zwischen ermittelten Herzmassen und autoptischen Befunden ( $r=0,81$ ) sowie zwischen RV hämodynamischen Parametern und LV gemessen werden ( $r=0,99$ ). Auch hier muß die Maus narkotisiert sowie endoösophageal und -tracheal intubiert werden. Schließlich besteht selbst bei 30MHz die Schwierigkeit, die Grenzen zwischen den untersuchten Geweben eindeutig abzugrenzen.

Als weiteres nichtinvasives Verfahren hat sich in der Diagnostik am Menschen seit den 70er Jahren die MR-Bildgebung etabliert. Obwohl sie am Menschen zu den routinemäßig durchführbaren Prozeduren gehört<sup>12,137-139,150</sup>, ist die kernspintomographische Untersuchung des kardiovaskulären Systems der Maus noch kein Routineverfahren. Sie steht aufgrund ihrer hohen Kosten, des operationalen Aufwandes und der geringen Verfügbarkeit deutlich hinter der Echokardiographie zurück. Auf die Entwicklung dieses Verfahrens in den letzten Jahren wird im Kapitel MR-Bildgebung näher eingegangen.

## **4 Magnetresonanz-Bildgebung**

Im Folgenden wird ein kurzer geschichtlicher Abriß der MR-Bildgebung vor dem Hintergrund des Themas dieser Arbeit gegeben. Aus diesem Grund werden die Entwicklung der NMR-Spektroskopie (MRS) und die Anwendung von Kontrastmitteln (z.B. Gadolinium-DTPA) nicht detailliert beschrieben. Anschließend werden grundlegende Prinzipien der MR-Bildgebung erläutert. Zusammenhänge der Quantenmechanik werden bewußt stark vereinfacht wiedergegeben. Darüber hinaus wird die zur Anwendung gebrachte Meßmethode, ihre Bildgebungsparameter und die benötigte Ausstattung orientierend dargestellt.

### **4.1 Geschichte der MR-Bildgebung**

#### **4.1.1 Entdeckung und Fortentwicklung der MR-Bildgebung**

Das Prinzip magnetischer Kernresonanz wurde 1946 von PURCELL und BLOCH unabhängig voneinander entdeckt. Sie erhielten für diese Theorie und die davon abgeleitete Kernspinspektroskopie (MRS) 1952 den Nobelpreis für Physik. Erst später ist auch die Bildgebung in Form der MR-Bildgebung eingeführt und weiter in ihrer Anwendungsmöglichkeit und Komplexität entwickelt worden. Nachdem BARNOTHY 1964 feststellte, daß kernspintomographische Untersuchungen weder durch Radiofrequenzpulse noch durch Magnetfelder Schaden am biologischen Untersuchungsgut anrichten, war auch der Weg für die Anwendung an Versuchstieren und Menschen geebnet<sup>6</sup>.

Die Untersuchungen COPES und HAZLEWOODS zur Darstellung verschiedener Zellflüssigkeiten mittels MR-Bildgebung weckten das Interesse der Forscher: Als Basis des Gewebekontrastes dienten unterschiedliche molekulare Zusammensetzungen<sup>24,62</sup>. DAMEDIAN<sup>25,26</sup> zeigte in seinen Arbeiten 1971 die Darstellbarkeit von Tumorgewebe und meldete 1973 erste methodische Prinzipien zum Patent an. Erste Anwendungsmöglichkeiten am Menschen präsentierten LAUTERBUR und Mitarbeiter<sup>15,91,92</sup> sowie MANSFIELD<sup>96,98</sup> in den frühen 70er Jahren. Ihre Leistungen wurden 2003 ebenfalls mit dem Nobelpreis für Medizin gewürdigt. HINSHAW publizierte 1977 und 78 wie auch EDELSTEIN in 1981 erste Schnittbildserien der menschlichen Hand<sup>72</sup> und des gesamten menschlichen Körpers<sup>39,71</sup>.

In den frühen 80er Jahren begann die serienmäßige Darstellung des menschlichen Körpers sowie mit der fortschreitenden Verbesserung von Technik und Wissen die Fokussierung auf einzelne Organe wie z.B. auf das Gehirn<sup>75</sup>, die Leber<sup>146</sup>, Thorax, Lunge und Mediastinum<sup>140</sup>, auf Fragen der Differentialdiagnostik<sup>145</sup> sowie schließlich auf das sich bewegende Herz<sup>63</sup>.

#### **4.1.2 Kardiale Bildgebung am Menschen mittels NMR**

An Bedeutung für die kardiale Diagnostik am Menschen gewann die MR-Bildgebung Mitte der 80er Jahre. Frühe in-vitro Ergebnisse stellten HENEGHAN und LAUTERBUR 1980 vor. Sie zeigten die Durchführbarkeit der kardialen MR-Bildgebung mit einer Pixelgröße von etwa 2 x 2 mm an zwei seziierten humanen Herzen<sup>63</sup>. Eine Serie von Arbeiten am schlagenden menschlichen Herzen veröffentlichte die Arbeitsgruppe um HIGGINS und Mitarbeiter in 1985. Mit Feldstärken von 0,1-0,4T konnten Wanddicken in gesunden wie auch herzkranken Probandengruppen erfolgreich bestimmt werden<sup>67-70</sup>. Im gleichen Jahr beschrieb DINSMORE durch seine Arbeit über kardiale Achsen in der MR-Bildgebung grundlegende Standards<sup>35</sup>.

Die Überlegenheit der MR-Bildgebung gegenüber der bis dahin als Goldstandard geltenden Ventrikulographie zeigten LONGMORE und Mitarbeiter 1985 anhand eines Phantom-Modells<sup>93</sup>. Sie verwiesen auf die Notwendigkeit EKG-getriggelter Untersuchungen für die Erhebung funktioneller Daten. Diese zeitlich an den R-Zacken des EKGs orientierten Abbildungen des Herzens wurden von ORDIDGE<sup>113</sup>, ALFIDI<sup>2</sup> und VAN DIJK<sup>155</sup> verwirklicht. Sie boten erste funktionelle Aussagen mittels kernspintomographischer Herzbildgebung, deren Etablierung am Menschen nachfolgend stattfand.

Die 1987 und 1988 veröffentlichten Arbeiten von SECHTEM und UNDERWOOD waren in diesem Sinne wegbereitend. SECHTEM und Mitarbeiter untersuchten 10 gesunde Freiwillige mittels EKG-getriggelter cine-MR-Bildgebung nach der Simpson-Methode und konnten sowohl RV als auch LV Volumina miteinander vergleichen und als Methode validieren<sup>139</sup>. Die Arbeitsgruppe um UNDERWOOD verglich multi- und single-slice Methoden an Patienten nach Myokardinfarkt mit einem gesunden Probandenkollektiv. Neben der verminderten Ejektionsfraktion (EF) bei den Infarktpatienten (35% gegenüber 62%) konnten sie ebenfalls die Überlegenheit der multislice- gegenüber single-slice-NMR-Methode (Methoden, die viele oder wenige

Schichten zur Berechnung der Volumina heranziehen) im Vergleich zum ventrikulographischen Standard darstellen (Standardfehler von 6,2% gegenüber 9,6% (EDV) und 8,8% gegen 16,1% (ESV))<sup>154</sup>.

Durch das gesteigerte Interesse an der Bedeutung des rechten Ventrikels hinsichtlich Prognose<sup>117</sup> und funktionellem Status<sup>4,176</sup> der Herzinsuffizienz in Folge ischämischer Herzerkrankung oder Erkrankungen der Herzklappen ist die Evaluierung von RV Parametern mit Hilfe der MR-Bildgebung in den Fokus der Diskussion gerückt. Zahlreiche Arbeiten dazu sind in den Jahren 1991-1993 entstanden<sup>11,36,83,150,151</sup>. Insbesondere die Arbeit PATTYNAMAS aus 1995 bewies Genauigkeit und Reproduzierbarkeit rechtsventrikulärer Untersuchungen am Menschen<sup>114</sup>. Die in 1999 veröffentlichten Ergebnisse aus der Arbeitsgruppe ROMINGER führten den Weg der RV MR-Bildgebung am Menschen mit der Untersuchung von 325 herzkranken Patienten weiter<sup>128</sup>.

#### **4.1.3 Entwicklung der kardialen MR-Bildgebung an der Maus**

Bereits in den Anfängen der auf Kernresonanz basierenden Untersuchungen wurden spektroskopische *in-vitro*-<sup>30</sup> und bildgebende *in vivo*-Experimente an Nagerherzen durchgeführt. Die Echokardiographie blieb aber aufgrund ihres geringeren experimentellen und finanziellen Aufwandes die Methode der Wahl.

Kardiale MR-Bildgebung an der Maus wurde noch 1998, obwohl am Menschen schon standardisiertes Verfahren, von JAMES mit den Worten "Because of the formidable design and operating requirements, this will not be a widely used technique for murine studies in the near future." (Aufgrund der außergewöhnlichen Bedingungen und des operationalen Aufwandes wird sie [die Kernpintomographie] in der näheren Zukunft keine besonders verbreitet angewendete Untersuchungsmethode für Mäuse werden.) abgetan<sup>78</sup>. In der Tat beschäftigen sich auch aus diesen Gründen weltweit nur vergleichsweise wenige Gruppen mit der Entwicklung kardialer Bildgebung an der Maus mittels MR-Bildgebung. Doch hat mit dem wachsenden Einfluß und Fortschritt der MR-Bildgebung ein Umdenken stattgefunden. In den Jahren 1998-2002 entstanden vermehrt Arbeiten zu den Themen funktionelle und morphologische Bildgebung sowie Spektroskopie zur Analyse biochemischer Vorgänge.

Nachdem verschiedene Untersuchungen in 1994 die Durchführbarkeit kardialer MR-Bildgebung an Mäusen zeigten<sup>97,131</sup>, war es die Arbeitsgruppe um FRANCIS SIRI, die

1997 erstmals linksventrikuläre Dimensionen und Volumina quantifizierte<sup>143</sup>. Aufgrund technischer Limitationen bedienten sie sich geometrischer Annahmen. Sie konnten anhand der untersuchten Myokardmassen und -dicken die reaktive Hypertrophie des linken Ventrikels nach Stenosierung der Aorta eindeutig zeigen.

Die zwischen 1998 und 2000 publizierten Ergebnisse von J. RUFF und F. WIESMANN stellten Grundlagen der kernspintomographischen Herzbildgebung an Mäusen dar. Sie beinhalten die Etablierung linksventrikulärer Parameter mit Hilfe der Simpsonmethode<sup>133,169</sup> und die Beschreibung linksventrikulärer Volumina an verschiedenen Entwicklungszeitpunkten<sup>171</sup>. Auch spezifisch physiologische Fragestellungen wie das Relaxationsverhalten des Herzmuskels unter Streß und die diastolische Dysfunktion des LV wurden erörtert<sup>41,168</sup>. Aus dieser Arbeitsgruppe stammen auch die MR-Dobutamin-Streß-Studie sowie der in dieser Arbeit erörterte Versuch, die rechtsventrikuläre Funktion darzustellen<sup>165</sup>.

Aktuell sind durch den Fortschritt der Technik in der MR-Bildgebung hochaufgelöste Atherosklerose-Nachweise<sup>43</sup> der Aorta, Phänotypisierungen bei transgenen oder Knockout-Mäusen<sup>164</sup> sowie Perfusionsstudien<sup>158</sup> durchführbar. Auch modernere kernspintomographische Methoden wie myokardiales Tagging<sup>44,115</sup>, velocity mapping und spektroskopische Anwendung<sup>108,110</sup> werden in wachsendem Maße der Anwendung an der Maus angepaßt. Sie unterstreichen neben der ständig wachsenden Zahl der kernspintomographischen Sequenzen das enorme Potential der Methode. Das Thema dieser Arbeit ist eine konsequente Fortsetzung und Ergänzung der bisher publizierten Ergebnisse. Mit der serienmäßigen rechtsventrikulären Kernspintomographie an der Maus können der Fortgang der kardiologischen Forschung am Mausmodell fortgeführt und damit weitere Hinweise auf pathophysiologische Prozesse am Menschen gewonnen werden.

## **4.2 Physikalische Grundlagen der MR-Bildgebung**

### **4.2.1 Kernspin und Präzession**

Ionen sind Atome mit einer Ladung, die auf einem Ungleichgewicht positiv geladener Protonen und elektrisch negativer Elektronen beruht. Der Einfachheit halber dient das Wasserstoff-Ion ( $H^+$ ) mit einem einzigen Proton der weiteren Betrachtung, da es in dieser Arbeit zur Messung verwendet wurde und in sehr großer Zahl im Körper

vorkommt. Es kann prinzipiell eine Vielzahl anderer Atome wie z.B.  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  und  $^{19}\text{F}$  zu Messungen herangezogen werden. Durch die Eigendrehbewegung des Ions entsteht ein kleines Magnetfeld, daß durch einen Vektor, den Nettomagnetisierungsvektor (NMV), dargestellt werden kann.

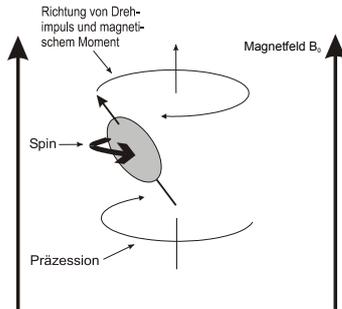


Abb. 4.1: Kernspin und Präzession im Magnetfeld, der Pfeil entspricht dem Nettomagnetisierungsvektor NMV

In der Quantenphysik wird diese Bewegung als „Spin“ bezeichnet. Bringt man solche Atomkerne in ein externes Magnetfeld ein, ändern sie ihr Verhalten ähnlich einem Kreisel im Gravitationsfeld der Erde. Die Kerne drehen mit gegebener Frequenz um ihre eigene und ungeordnet um die Achse des Magnetfelds  $B_0$ : sie präzedieren. Diese Präzession beschreibt einen Kreis, der mit der Präzessionsfrequenz durchlaufen wird. Diese sogenannte „Lamorfrequenz“  $\varphi$  ist nach der

$$\text{Lamorgleichung: } \varphi = \gamma \cdot B_0 \quad \text{Gl. 4.1}$$

proportional zur Stärke des anliegenden Magnetfeldes  $B_0$  und zum gyromagnetischen Faktor  $\gamma$ . Der gyromagnetische Faktor ist eine konstante Eigenschaft des zu untersuchenden Atoms und wird in Einheiten der Kreisfrequenz [Hz] je Einheit der Magnetfeldstärke <sup>28</sup> ausgedrückt. Er beträgt für die von uns zur Untersuchung genutzten  $\text{H}^+$ -Ionen  $\gamma = 42,58 \text{ MHz/Tesla}$ . Bei einer Feldstärke von 7,05 Tesla ergibt sich so eine gerätepezifische Lamorfrequenz von 300,189 MHz. Frequenzen in diesen Bereichen bezeichnet man als Hochfrequenz (HF).

#### 4.2.2 Resonanz

Resonanz ist das Phänomen, das nach Anregung von Kernen, hier dem Proton  $\text{H}^+$ , entsteht. Wendet man ein zweites, in Höhe der Lamorfrequenz oszillierendes Magnetfeld an, können die dem Magnetfeld ausgesetzten Kerne Energie am besten

annehmen und ändern ihr Präzessionsverhalten. Die angewendeten Frequenzen befinden sich im Bereich der Radiofrequenz (RF) und werden als RF-Pulse bezeichnet. Wird ein RF-Puls orthogonal zum Ausgangsfeld  $B_0$  angewendet, werden die NMV von einer Rotation um die Längsachse  $B_0$  zu einer Rotation um eine Achse in der transversalen Ebene ausgelenkt. Außerdem richten sich die so angeregten Kerne „in Phase“ aus: sie befinden sich alle an der selben Position auf der Kreisbahn, die ihre Präzession beschreibt. Da sie sich kohärent bewegen, kann ihre Gesamtmagnetisierung in einer Detektionsspule einen Strom erzeugen. Dieses Signal wird während der Messungen registriert.

### 4.2.3 Relaxation und Signalentstehung

Nach Ende eines RF-Pulses beginnen sich die Kerne wieder am Ausgangsmagnetfeld auszurichten. Dieser Prozess wird als Relaxation bezeichnet. Die Zunahme der Magnetisierung in der longitudinalen Achse wird als „recovery“ (Erholung) bezeichnet, die Verringerung in der transversalen Ebene als „decay“ (Abnahme).

Die sich zunächst kohärent bewegenden Kerne erzeugen so in der Spule ein Signal, das als FID („free induction decay“) bezeichnet wird. Der Amplitudenverlust spiegelt die Tatsache wieder, daß bei der Relaxation immer weniger Kerne in Phase präzedieren.

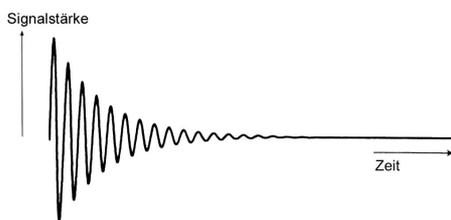


Abb. 4.2: Free induction decay FID

### 4.2.4 Längs- und Quermagnetisierung

Die Relaxationsvorgänge lassen sich anhand charakteristischer Parameter, der Längs- und Quermagnetisierung, beschreiben:

Die  $T_1$ -Relaxation gilt als Maß für die longitudinale Relaxation. Die Kerne geben Energie an die Umgebung, das „Gitter“, ab und erreichen ihre longitudinale Magnetisierung wieder, man spricht auch von der Spin-Gitter-Relaxation.  $T_1$  gibt die Zeit in [ms] an, die bis zur Rückkehr der Kerne eines Gewebes zu 63% der

ursprünglichen longitudinalen Magnetisierung benötigt wird. T1 erreicht je nach Gewebe Zeiten von 200-2000ms.

Die transversale oder T2-Relaxation wird durch den Energieaustausch benachbarter Kerne bestimmt, man spricht von Spin-Spin-Relaxation. T2 ausgedrückt in [ms] kann auch als die Zeit nach dem HF-Puls verstanden werden, die von der Quermagnetisierung benötigt wird, um auf 63% ihres Ausgangswert zurückzufallen. Die Werte für T2 reichen von ca. 50-500ms und sind kleiner oder gleich den T1-Relaxationszeiten.

Als T2\*-Relaxation wird die spontane, auf Magnetfeldinhomogenitäten basierende Relaxation bezeichnet. Sie enthält wenig aussagekräftige Information, ist aber im Gegensatz zu T2 reversibel.

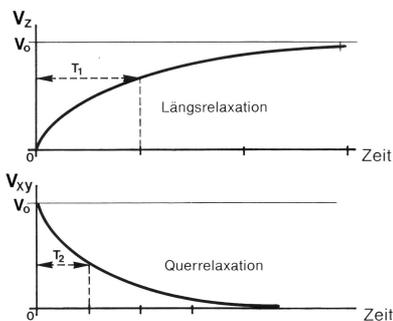


Abb. 4.3: Relaxationszeiten T1 (zu 63% der longitudinalen) und T2 (zu 63% der transversalen Magnetisierung)

#### 4.2.5 Puls-Parameter

Wichtige Pulsparameter sind die Wiederholungszeit TR (repetition time) und die Echozeit TE (echo time), gemessen in Millisekunden. TR entspricht der Zeit zwischen zwei RF-Pulsen. Sie beeinflusst die Stärke der longitudinalen Relaxation bis zur nächsten Anregung der Kerne. Die Zeit von RF-Puls bis zum maximalen Signal in der Spule, dem Echo, wird als Echozeit TE bezeichnet. Sie bestimmt die Menge der transversalen Relaxation.

#### 4.2.6 Kontrastmechanismen

Kontrast wird in der Kernpintomographie prinzipiell durch drei Mechanismen erzeugt. Die Protonendichte (Zahl der Protonen pro Einheit Gewebe) ist theoretisch Teil jeder Messung. Außerdem können die T1- und T2-Zeiten der Gewebe zur Erzeugung von Gewebekontrast angewendet werden. Gewebe mit hoher transversaler Magnetisierung

erzeugt ein hohes Signal und helle Werte in der Bildgebung, solche mit niedrigerer Magnetisierung dunklere Werte.

Um T1-Kontrast zu erzeugen („T1-Wichtung“), muß TR kurz genug sein, um in keinem der Gewebe zu viel longitudinale (T1-) Relaxation zuzulassen und Kontrast zu verlieren. Für eine T2-Wichtung muß TE lang genug sein, damit sich die Unterschiede im transversalen Relaxationsverhalten ausreichend ausprägen können. Außerdem soll T1-Kontrast möglichst wenig Einfluß haben, so daß TR ebenfalls ausreichend lang gewählt wird.

Für die „reine“ Protonendichte-Messung sollen sowohl die T1- als auch die T2-Einflüsse möglichst klein gehalten werden, was folglich durch lange TR und kurze TE erreicht werden kann.

#### **4.2.7 Örtliche Auflösung, Sequenzbildung**

Legt man zusätzlich zu dem gleichförmigen Magnetfeld ein sogenanntes lineares Gradientenfeld an, so steigt die Gesamtfeldstärke entlang der Richtung des Gradienten linear an. Dadurch sind die Larmorfrequenzen entlang des Gradienten ortsabhängig. Ein Gradientenfeld kann in jeder der Ortsrichtungen geschaltet werden. Auf diese Weise kann demnach eine Ortskodierung in allen drei Raumrichtungen erfolgen.

##### **4.2.7.1 Schichtauswahl**

Den in z-Richtung angelegten Gradienten nennt man auch Schichtauswahlgradient (slice-select-gradient), er regt eine vom Anwender bestimmte dünne, z.B. axial ausgerichtete Schicht des Gewebes an. Ein dann mit definierter Bandbreite und mittlerer Frequenz angewendeter 90°-HF-Puls regt schichtselektiv Protonen nur aus der dünnen, ausgewählten Schicht an (Siehe Abb. 4.4 und 4.5a).

Das Zentrum der Schicht und ihre Lokalisation entlang des Gradienten wird abhängig von der Frequenz des Pulses und der Stärke des angelegten Gradienten. Nach der Larmorgleichung wird ein Puls höherer Frequenz bei konstanter Gradientenstärke Protonen anregen, die ihrerseits bei höheren Feldstärken entlang des Gradienten zu finden sind. Alternativ dazu kann bei konstanter Frequenz auch die Gradientenstärke variiert werden um den entsprechenden Effekt zu erzeugen. Die Schichtdicke wird durch die Bandbreite und die Art und Dauer der im HF-Puls verwendeten Frequenzen bestimmt (Siehe Abb. 4.4: z.B. steiler Gradient mit Bandbreite A = Schicht B).

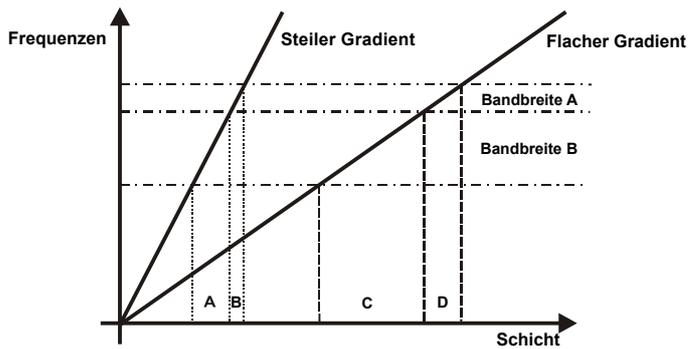


Abb. 4.4: Abhängigkeit der Schichtgröße von Gradientenstärke und Bandbreite

Mit den Gradienten  $G_y$  und  $G_x$  werden nun in jeweils aufeinanderfolgenden Schritten die Bildpunkte in der ausgewählten Schicht bestimmt. Dazu kann man sich die Kodierung in  $G_y$  in Zeilen und  $G_x$  als Spalten einer Tabelle vorstellen. Es resultiert ein der Größe der Matrix entsprechendes Gitter, das vereinfacht als k-Raum bezeichnet wird.

#### 4.2.7.2 Phasenkodierung

Nach Anlegen des z-Gradient  $G_z$  präzedieren die Kerne der angeregten Schicht in Phase. Nun kann ein weiterer Gradient in der nächsten Raumrichtung, hier der y-Achse ( $G_y$ ) angelegt werden. Dabei kommt es durch die unterschiedlichen Frequenzen der Kerne entlang des Gradienten zu einer ortsabhängigen Dephasierung der Protonen in der angeregten Schicht (Siehe Abb. 4.5b). Wird  $G_y$  nun wieder abgeschaltet, behalten die Protonen ihre Phase bei, obwohl sie zu ihren ursprünglichen Frequenzen zurückkehren: ihnen wird eine Phase aufgeprägt, die abhängig vom angelegten  $G_y$  ist. Es entsteht ein Linienprofil, die Kodierung in y-Richtung. Dies muß mit unterschiedlichen, definierten Frequenzen entlang des Gradienten in y-Richtung wiederholt werden, so daß die Auflösung in y-Richtung entsteht. Für alle  $n \times m$  Bildpunkte der Matrix müssen  $n$  Phasenkodierschritte vorgenommen werden. Die Zeit, in der die einzelnen Phasenkodierschritte durchgeführt werden können, wird durch die Repetitionszeit (TR) bestimmt.

#### 4.2.7.3 Frequenzkodierung

Bevor der dritte Gradient  $G_x$  (auch read- oder Lese-Gradient) angelegt wird, befinden sich die Spins bei gleicher Frequenz aber unterschiedlicher Phase in der y-Achse. Wird  $G_x$  nun angewendet, erhalten die Protonen gleicher Phase nach ihrer Lokalisation im Raum unterschiedliche Frequenzen. Eine „Linie“ gleicher Phasen erhält nun

verschieden Frequenzen (Siehe Abb. 4.5c). Diese Frequenzkodierung wird während der Echo-Generierung zum Auslesen des Signals durchgeführt.

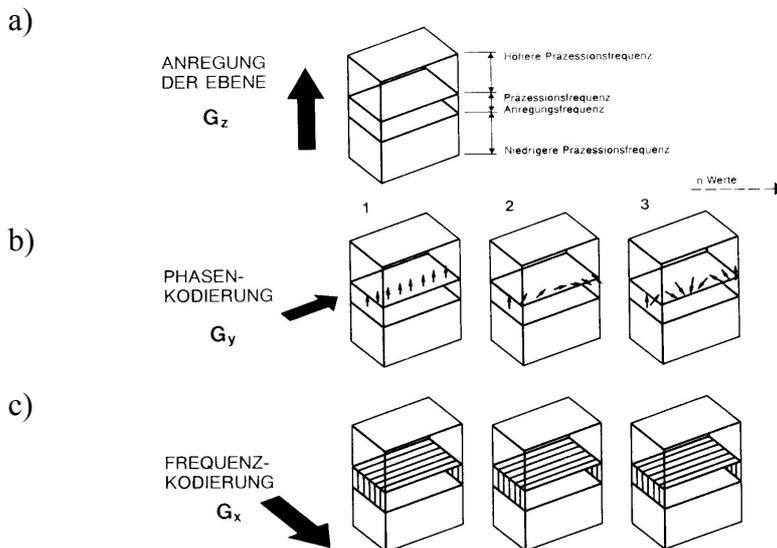


Abb. 4.5a-c: Ortskodierung mittels Gradienten, Erläuterung siehe Text

#### 4.2.8 Fourier-Transformation, Bildentstehung

Nach Beendigung des HF-Pulses entstehen nach oben genanntem Prinzip Signale durch die Einzelvektoren der Magnetfelder in den untersuchten Voxeln (Volumenpunkten): Jedes Mal, wenn ein Phasengradient erzeugt und anschließend der read-Gradient angelegt wird, wird auch ein Echo erzeugt. Diese Echos wurden durch den read-Gradienten ortskodiert und werden digitalisiert in einer 2-dimensionalen Matrix, dem k-Raum, abgelegt. Das in der Empfängerspule induzierte Signal stellt sich als Summenvektor dar. Es beinhaltet verschiedene Frequenzkomponenten, die die Auflösung in x-Richtung kodieren. Jede Frequenzkomponente wiederum birgt in sich viele verschiedene Phasen, die ihrerseits die Informationen für die Auflösung in y-Richtung in sich tragen.

Der Prozeß, diese Informationen mathematisch nutzbar zu machen, ist die Fourier-Transformation (FT). Die FT konvertiert Funktionen der Zeit oder des Ortes in Funktionen der Frequenz und umgekehrt. Dabei wird auch die Intensität jeder Frequenzkomponente im NMR-Signal sichtbar gemacht. Da jede Frequenzkomponente

einer räumlichen Information entspricht, wird räumlicher Bezug wiederhergestellt. Das Bild der nicht-transformierten Rohdaten enthält an jedem Punkt des k-Raums noch die gesamte Datenmenge des Bildes. Die zweidimensionale FT konvertiert die für jede Zeile und Spalte die entsprechenden Intensitäten und ermöglicht die bildliche Darstellung.

#### **4.2.9 Pulssequenz-Diagramm**

Ähnlich einer Partitur wird dem Computer ein Schema vorgegeben, das die Abfolge der Gradienten und die Einstrahlung der HF-Pulse zur Bildgebung anzeigt. Das Diagramm des bei unseren Messungen zur Anwendung gekommene Gradientenecho und die Notwendigkeit invertierter Gradienten bei der FLASH-Bildgebung wird in Anhang C wiedergegeben.

### **4.3 Meßmethode (cine-FLASH)**

#### **4.3.1 FLASH-Gradientenecho**

Die rückkehrende Quermagnetisierung als Folge eines HF-Pulses induziert in der Spule ein Signal, daß anschließend der Fourier-Transformation unterzogen wird. Für den Folgepuls ist es wichtig, daß der Grundzustand, die vollständige Längsmagnetisierung, wieder hergestellt ist. Vor Ausführen der nächsten Repetition muß etwa  $5 \times T_1$  abgewartet werden. Diese lange Wartezeit führt zu langen Datenakquisitionszeiten bei geringer zeitlicher Auflösung.

In der Betrachtung des Herzschlages stellt sich das Problem der hohen Schlaggeschwindigkeit des Mäuseherzens. Ist ein RR-Intervall beim Menschen bei einer Herzfrequenz von 60 Schlägen/min mit 1000ms relativ überschaubar, Systole und Diastole mit Werten von etwa 350 ms respektive 650 ms gut abgrenzbar, so muß dies bei der Maus um den Faktor 10 verringert werden: Die Anzahl der Einzelbilder muß ein einen RR-Abstand von ca. 100ms eingebracht werden. Systole und Diastole sind bei diesen hohen Frequenzen etwa gleich lang. Es resultieren sehr kleine Zeiträume, um die zeitlichen Folgebilder, frames, in ausreichender Zahl auszuführen.

HAASE et al. führten 1986 ein als FLASH (Fast Low-Angle SHot) bezeichnetes Verfahren ein, welches nur einen Bruchteil der Quermagnetisierung nutzt<sup>57</sup>. Da bei dieser Sequenz die Längsmagnetisierung nur um wenige Prozent vermindert wird, kann

nach Abschluß eines Phasenkodierschrittes die nächste Repetition ohne längere Wartezeit begonnen werden. Diese Methode bildet durch die hohe Repetitions geschwindigkeit eine wesentliche Voraussetzung zeitaufgelöster MR-Bildgebung am Herzen. Bei einer Herzfrequenz von ca. 600 Schlägen/Minute an bis zu 20 Zeitpunkten innerhalb eines RR-Intervalls zu messen, bedeutet, innerhalb eines Zehntels einer Sekunde 20 Aufnahmen durchzuführen. Diese können durch anschließendes Zusammensetzen der Bildfolge wie ein Film („cine“) wiedergegeben werden.

### 4.3.2 cine-Bildgebung

Das Wort cine wurde aus dem Französischen *cinematographique* (fr. für filmhaft, als Film dargestellt) entliehen. Es beschreibt die zeitlich Abfolge von Einzelbildern, die zusammengesetzt in ausreichender Geschwindigkeit eine filmähnliche Szene ergeben.

In dem unten aufgeführten Beispiel (Abb. 4.6) wird ein Herzschlag R-Zacken-getriggert zeitlich mit z.B. 11 Bildern (frames) erfaßt. Bei einer MR-Bildgebung mit 256x256 Matrix wird beginnend mit einer R-Zacke ein Folge von 11 frames aufgenommen. Bei jedem Durchlauf wird für jeden frame eine weitere k-Raum-Zeile abgetastet, das entspricht 256 RR-Intervallen für alle Phasenkodierschritte. Nutzt man 2 Echos, um eine k-Raum-Zeile zu lesen und 4 Mittelungen, um das SNR zu verbessern, benötigt man 2048 RR-Intervalle, um in einer Schicht eine cine-Sequenz zu erstellen. Daraus ergibt sich eine Meßdauer von 3-6 Minuten bei physiologischer Herzfrequenz der Maus, um in einer Schicht zeitlich aufgelöste MR-Bildgebung durchzuführen.

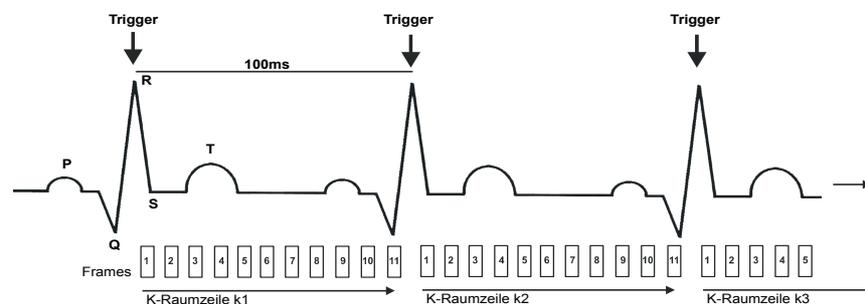


Abb. 4.6: RR-Triggerung mit frames 1-11 und k-Raum-Zeilen: frame 1 entspricht etwa dem enddiastolischen, frame 5 dem endsystolischen Bild der cine-Sequenz. Nach jedem Trigger wird eine weitere k-Raumzeile jedes frames abgetastet.

## **4.4 Ausrüstung für MR-Bildgebung**

Die Abbildung in Anhang D gibt einen Überblick über die Anordnung der zur MR-Bildgebung benötigten Komponenten. Einzelne wichtige Bestandteile werden im Folgenden kommentiert.

### **4.4.1 Supraleitender Magnet**

1820 zeigte OERSTED, daß elektrischer Strom, durch eine Serie von Kreiswindungen geleitet, ein magnetisches Feld erzeugt, das dem eines Stabmagneten gleicht. Im Zentrum aller Kernspintomographen muß ein starkes und konstantes Magnetfeld erzeugt werden. In unserem Aufbau handelte es sich um einen horizontal aufgestellten, supraleitenden Magneten mit der Feldstärke 7,05 Tesla. Flüssiges Helium (LHe) zur Kühlung siedet bei 4°K, -269°C, und kühlt das System unter die für die Supraleitung notwendige Sprungtemperatur  $T_c$ . Aus Kostengründen wird das Helium durch flüssigen Stickstoff LN<sub>2</sub>, der bei 79°K, -194°C, siedet, vorgekühlt. Stetige Kühlung und deren Kontrolle war ebenso Bedingung für erfolgreiche Versuche wie auch für ökonomisches Arbeiten.

### **4.4.2 Shimeinheit**

Nach Einbringen der Maus in das System entstehen signifikante Inhomogenitäten im Magnetfeld. Zu deren Korrektur wird die sog. Shimeinheit verwendet. Shimspulen erzeugen definierte Feldgradienten entlang der Raumrichtungen. Liegt nach Einbringen einer Maus eine Inhomogenität vor, kann diese durch Anwenden der entsprechenden Shim-Feldgradienten korrigiert werden. Obwohl es für diesen Vorgang automatische Programme gibt, wurde der Shim zur Erhöhung der Genauigkeit für jede Messung manuell durchgeführt.

### **4.4.3 Gradientensystem**

Das Gradientensystem wird genutzt, in dem bisher konstanten Magnetfeld die Veränderungen entlang des kartesischen Systems in x-, y- und z-Richtung herbeizuführen und dient der Ortskodierung. Per definitionem verläuft das permanente Magnetfeld in z-Richtung, die x-Achse orientiert sich von links nach rechts, die y-Achse von posterior nach anterior. An einer in Rückenlage eingebrachte Maus

entsprechen die z-Achse der kraniokaudalen Ausrichtung, die x-Achse dem frontalen Verlauf sowie die posterior-anterior-Einstellung der y-Achse.

Die Funktion des Gradientensystems erfordert eine eigene, starke Stromversorgung und die Möglichkeit, die Gradienten innerhalb kürzester Zeit hundert- bis tausendfach umzuschalten. Dieses Gradientensystem wird im Inneren des Magnetfelds angebracht; es ist die Quelle des bekannten, laut klopfenden Geräusches bei der MR-Bildgebung.

#### **4.4.4 Radiofrequenz-Spule**

Das Senden der in einer Transmitter-Einheit geformten 90°-HF-Pulse und der Empfang der emittierten Informationen in Form des FID-Signals erfolgt durch eine Radiofrequenz-Spule, auch als RF-(engl. für radiofrequency) oder HF-(dt. für Hochfrequenz) transceiver (Transmitter and receiver, Sender und Empfänger) bezeichnet. Prinzipiell existieren verschiedene Typen von Spulen. Für die Messungen dieser Arbeit kam ein spezieller HF-Resonator zur Anwendung: eine in Quadratur betriebene, 8-beinige sogenannte birdcage-Spule. Diese Spulen erzeugen Felder zur Anregung der Pulse, die eine größere Homogenität bei der Anregung und gesteigerte Sensitivität beim Empfang besitzen<sup>61</sup>. Die hohe Sensitivität wird durch ein Anpassungsnetzwerk erreicht, das eine Transformation der eigentlichen Spulenimpedanz auf 50Ω bewirkt. Deshalb wurde nach Einbringen der Maus die Spule manuell „getuned“ und „gematched“: Durch optimale Abstimmung auf 50Ω wird keine Leistung beim Übergang von Spule auf angeschlossene Koaxialkabel reflektiert und das SNR nicht beeinträchtigt.

#### **4.4.5 Computersystem**

Zur Ansteuerung von Gradientensystem und Spule sowie der Datenver- und nachbearbeitung bedarf es eines leistungsfähigen Computersystems. Es beinhaltet Sequenzen und Makros der Messungen sowie Filter- und Verstärkersysteme. Ebenso ermöglicht es die Transformierung der Daten in Bildform und die Speicherung. Mit moderner Technologie können Daten auf CD-ROM oder DVD gespeichert und exportiert werden.

## **5 Methodik**

### **5.1 Versuchsaufbau**

#### **5.1.1 Teil I - Methodenvalidierung**

In Teil I werden zunächst die rechtsventrikulären Messungen validiert.

- a) Anhand einer simultanen Messung werden rechts- und linksventrikuläre Parameter eines Auswerters verglichen (LV 1 und RV 1). Anhand der Parameter SV und CO wird die RV Auswertung gegen die bereits etablierten LV Daten validiert.
- b) Ein zweiter Auswerter erhebt in drei Auswertungsrunden (RV 2a, 2b, 2c) von jeder Maus rechtsventrikuläre Parameter und kann diese untereinander (intraobserver Variabilität) und mit den in Ia erhobenen Ergebnissen vergleichen (interobserver Vergleich). Außerdem wird hier die untersucherunabhängige Wiederholbarkeit der Methode unterstrichen.
- c) Im Anschluß daran wird eine weitere Gruppe Mäuse zunächst mittels MR-Bildgebung untersucht und nach Versuchsende getötet, um nach Präparation des rechten Ventrikels die ermittelten Myokardmassen vergleichen zu können.
- d) Außerdem werden 3 Mäuse an 2 konsekutiven Tagen wiederholt mit MR-Bildgebung untersucht, um neben der Wiederholbarkeit der Auswertung auch die der Messung für den rechten Ventrikel zu demonstrieren (interstudy Variabilität).

#### **5.1.2 Teil II – Anwendung bei Herzinsuffizienz: Myokardinfarkt**

Im zweiten Teil erfolgt die Anwendung an einem pathologisch relevanten Beispiel, dem Nachweis rechtsventrikulärer Veränderungen bei globaler Herzinsuffizienz. Dazu werden links- und rechtsventrikuläre Parameter an 5 durch LAD-Ligatur myokardial infarzierten Tieren erhoben. Die Operationsweise und der Nachweise der Infarktgröße wurde bereits in Publikationen unserer Arbeitsgruppe beschrieben<sup>168</sup>.

#### **5.1.3 Teil III – Modell der Rechtsherzinsuffizienz: Pulmonales Banding**

Um ein Modell für rechtsventrikuläre Schädigung abzubilden, werden 3 Mäuse durch Stenosierung der A. pulmonalis „pulmonal gebandet“. Dazu wird der operative Ansatz

von ROCKMAN und Mitarbeitern modifiziert und eine „moderate“ Stenosierung mit einer 26G-Kanüle gewählt<sup>124</sup>. Ca. 4 Wochen nach der Operation werden die Mäuse mit der in Teilversuch I validierten Technik untersucht und beurteilt.

## 5.2 Versuchsablauf

### 5.2.1 Operationen

#### 5.2.1.1 Vorbereitung

Zur Einleitung der Inhalationsnarkose wird eine kleine Plastikbox mit dem 4,0 Vol% Isofluran führenden System verbunden. Die Narkosegas-Mischung erfolgt über einen Isoflurane Vapor 19.3 (Drägerwerke AG, Lübeck, Deutschland) bei 1,5l Sauerstoff/Minute.

Des weiteren wird die Nadel einer 25G-Omnifix<sup>®</sup>-Spritze (1ml 25G x ½, Fa. Braun Melsungen AG, Deutschland) auf ca. 1,4cm Länge gekürzt, und auf der Hälfte um etwa 45° geknickt.



Abb. 5.1: Gebogene 25G-Kanüle

Zur Durchführung sind außerdem jeweils fünf nicht resorbierbare 5/0- oder 6/0-Prolene<sup>®</sup> blau-Fäden (75cm, RB-1, Fa. Ethicon, Nordersted, Deutschland), 2 gebogene Pinzetten, eine Miniaturschere sowie ein kleiner Wundspreizer aus der Handchirurgie nötig.

Zur Beatmung bedarf es eines geeigneten Rodent-Ventilators (Fa. Hugo Sachs Elektronik KG, March, Deutschland) und einer 20G-Venflon<sup>®</sup>-Kanüle (Fa. Braun Melsungen AG, Deutschland), die als Endotrachealtubus verwendet wird. Dazu muß die scharfe Nadelspitze entfernt und das Kanülenende stumpf geschliffen werden. Zum

exakten Arbeiten sind eine Stereolupe (Fa. Vision Engineering, Ennering, Deutschland) und eine Kaltlichtquelle geeignete Hilfsmittel.

### 5.2.1.2 Intubation und Narkose

Zunächst wird die Maus mit 4 Vol% Isofluran (Forene<sup>®</sup>, Abbott GmbH, Wiesbaden, Deutschland, 1,5 Liter/min Sauerstoff-Fluß) über ca. 5 Minuten in einer kleinen Plastikbox narkotisiert.

Nach Fixation mit einigen Streifen Leukosilk<sup>®</sup> wird sie mit Hilfe einer umfunktionierten Venflon<sup>®</sup>-Kanüle intubiert. Der Unterkiefer der auf dem Rücken liegenden Maus wird zu diesem Zweck mit einer geschlossenen Pinzette oder Mosquito-Klemme angehoben. Beleuchtet man nun den Halsbereich der Maus mit einer Kaltlichtlampe, genügt das durchscheinende Licht zur Einstellung der Trachea entsprechend einer laryngoskopischen Einstellung. Nun kann das Venflon<sup>®</sup>-System vorsichtig in die Trachea eingeführt werden, ohne mit der Nadel Verletzungen zu erzeugen. Nach Entfernung der Nadel verbleibt nur die Plastikkanüle in der Trachea. An den Luer-Lock des Venflons kann der Beatmungsschlauch des Rodent-Ventilators angeschlossen werden.



Abb. 5.2: Intubation der Maus mit Venflon

Die kontrollierte Beatmung erfolgt dann mit 1,5 Vol% Isofluran durch den Rodent-Ventilator bei positivem Atemwegsdruck und einem Atemzugvolumen von 1,0-1,5ml bei ca. 60-80 Atemzügen/min. Anschließend wird der Venflon gut fixiert und der Thorax mit Neokodan<sup>®</sup> desinfiziert.

### 5.2.1.3 Gemeinsame Arbeitsschritte

Im linken oberen Thoraxdrittel wird ein ca. 8mm langer Schnitt parallel zum Sternum in der der menschlichen Anatomie entsprechenden Medioklavikularlinie durchgeführt. Die entstandenen Hautlappen werden mittels zweier durch den Wundrand gestochenen 5/0 Prolene®-Fäden nach rechts- bzw. links-lateral fixiert.



Abb. 5.3: Linksthorakaler Hautschnitt und Anschlingen der Hautlappen

Dadurch ist die Durchtrennung der Mm. pectorales möglich. Es folgt eine ca. 10mm lange Thorakotomie vom Sternum nach lateral im 3. oder 4. ICR. Mit einem Rippenspreizer kann der Zugang zum Herzbeutel erleichtert werden. Vorsichtig wird der Abgang von Aorta und A. pulmonalis aufgesucht (pulmonales Banding) oder der Herzbeutel eröffnet (myokardiale Infarzierung).



Abb. 5.4: Thorakotomie und Einbringen des Wundspreizers

#### 5.2.1.4 Pulmonales Banding

A. pulmonalis und Aorta müssen voneinander gelöst werden, da sie bindegewebig verbunden sind. Die Schwierigkeit besteht darin, trotz Nutzung der Stereolupe keines der beiden Gefäße oder die dahinter verlaufende Trachea zu lädieren. Im Anschluß kann die A. pulmonalis mit einer gebogenen Pinzette hinterfaßt werden, und mit einem Faden vor Aufteilung in die Seitenäste umschlungen werden.

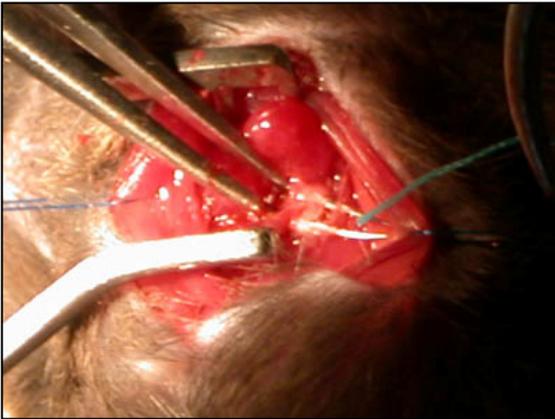


Abb. 5.5: Unterfassen und Anschlingen der A. pulmonalis communis

Vor der endgültigen Verknötung wird die vorgebogene Kanüle in die gebildete Schlaufe gelegt. Anschließend wird der Knoten zugezogen, gesichert, und die Kanüle sofort wieder entfernt. Auf diese Weise wird die A. pulmonalis auf ca. 25G reproduzierbar stenosiert.

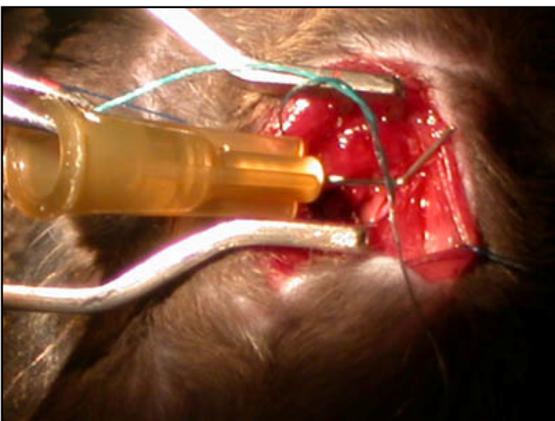


Abb. 5.6: Einbringen der gebogenen Kanüle in die Schlaufe vor Verknötung

#### 5.2.1.5 LAD-Banding

Nach erfolgter Thorakotomie wird das Perikard vorsichtig schlitzförmig eröffnet: Linker Vorhof und die Herzkranzgefäße sind deutlich zu erkennen. Nach Aufsuchen der

A. coronaria sinistra kann der Ramus interventricularis anterior (LAD=left anterior descending artery) ausgemacht werden. Direkt nach Abgang aus dem linken Herzkranzgefäß wird die LAD mit einem Faden samt atraumatischer Nadel unterfaßt und umschlungen. Eine durch das Abbinden entstandene Infarzierung kann sofort durch Abblassen des von der Ischämie betroffenen Areals ausgemacht werden.

#### **5.2.1.6 Operationsende**

Zur Beendigung der Operationen wird der Knoten von unnötig überstehendem Nahtmaterial befreit. Über der thorakotomierten Stelle werden mit einem oder zwei Stichen die Mm. pectorales aneinander adaptiert und mit zwei weiteren Stichen die Haut verschlossen. Die Narkoseausleitung erfolgt schrittweise über mehrere Minuten bis die Maus von der Beatmung getrennt werden kann und spontan weiteratmet. Jede Maus wird nach überlebter Operation für ca. eine Stunde zur Erholung in einen eigenen Käfig verbracht.

Den Mäusen wird nach der Operation eine Zeitspanne von ca. 4 Wochen bis zur Untersuchung mittels MR-Bildgebung gewährt.

### **5.2.2 Durchführung der MR-Bildgebung**

#### **5.2.2.1 Narkose**

Zu Versuchsbeginn wird jede Maus ca. 5 Minuten bei 4,0 Vol% Isofluran (Forene<sup>®</sup>, Abbott GmbH, Wiesbaden, Deutschland) und 1,5 Litern/min Sauerstoff-Fluß in der Narkosebox (ca. 25x15x15cm) narkotisiert. Die Narkosegas-Mischung erfolgt über einen Isoflurane Vapor 19.3 (Drägerwerke AG, Lübeck, Deutschland). Sobald sich eine tiefe Schnappatmung und Fehlen von gezielten Schmerzreizen einstellt, wird die Narkose schrittweise über ca. 10 Minuten auf 1,5 Vol% Isofluran zur Erhaltung reduziert. Die Applikation der Narkose erfolgt dann mittels eines aus einer gekürzten 5ml-Spritze gefertigten Nasenkonus.

### 5.2.2.2 Geräteaufbau

Zur Verdeutlichung siehe Abbildung 5.7. Erklärungen im Text.

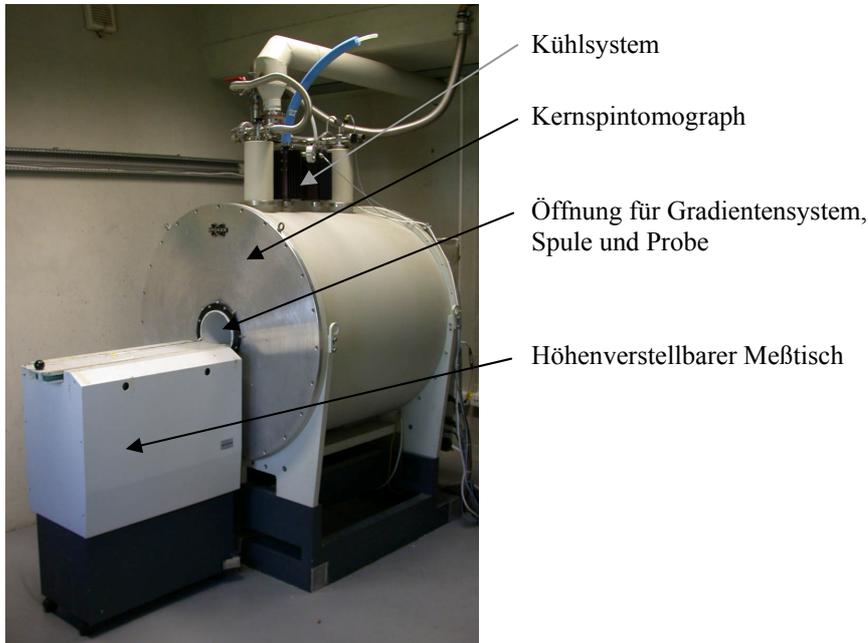


Abb. 5.7: Kernspintomograph BRUKER Biospec 70/20

#### 5.2.2.2.1 NMR-Tomograph, Gradientensystem, Spule und Sequenz

Die Messungen wurden an einem 7,05 Tesla (entspricht 300MHz für  $H^+$ -Bildgebung) Kernspintomographen BIOSPEC 70/20 der Firma BRUKER, Karlsruhe, durchgeführt. Das Magnetensystem des Tomographen wurde mit Helium (LHe) zur Supraleitung gekühlt, welches wiederum durch eine Kühlung durch flüssigen Stickstoff ( $LN_2$ ) vorgekühlt wurde. Der Kernspintomograph wurde mit einem Mikroskopie-Gradientensystem G060 der Firma BRUKER mit einer Öffnung von 60mm Durchmesser ausgestattet.

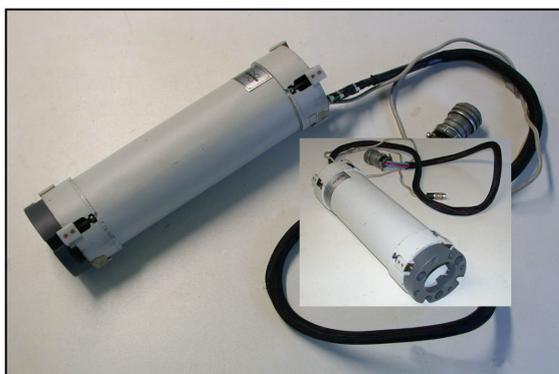


Abb. 5.8: Mikroskopie-Gradientensystem BRUKER G060

Das Gradientensystem bietet mit einer maximalen Gradientenstärke von 870 mT/m und einer Anstiegszeit von 280 $\mu$ s (bei 100%igem Umschalten der Gradienten) die entsprechenden Qualitäten für die hohen Ansprüche, die sich aus der geringen Größe des zu untersuchenden Objektes, der Herzfrequenz zwischen ca. 300 und 740 Schläge/min und der geforderten Qualität der Bilder ableiten.

Zur Anregung und zum Empfang der Daten wurde eine im Eigenbau des Instituts entstandene kurze birdcage-Spule mit einem Innendurchmesser von 35mm genutzt, die in Quadratur betrieben wurde. Das kurze Design der Spule ermöglichte eine hohe Füllungsichte und Sensitivität im Isozentrum der Spule.

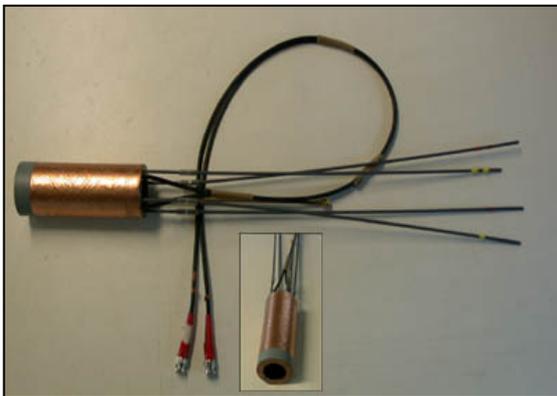


Abb. 5.9: Transmitter-Spule im Eigenbau des Physik. Instituts der Universität Würzburg

Zur Planung und Bildgebung wurde die im Institut entwickelte, auf dem Prinzip des Gradientenechos basierende flat-low-anlge-shot-(FLASH-)Sequenz<sup>57</sup> modifiziert und verwendet. Bildgebungsparameter sind dem jeweiligen Bild zugefügt.

#### **5.2.2.2.2 Lagerung der Maus**

Die Maus wurde in Rückenlage auf eine halbrunde, dem Spuleninnendurchmesser angepaßte Plastikschale gelegt. Am Kopfende wurde der Nasenkonus für die Applikation der Narkose befestigt. Ein Wärmekissen in der Plastikschale, gefertigt aus einem Infusionssystem, das konstant mit angewärmtem Wasser durchspült wurde, bewahrte die Maus während der Messung vor dem Auskühlen. Die Konstruktion wurde auf einem höhenverstellbaren Meßtisch angebracht. Dieser war mit einem Mechanismus ausgestattet, der ermöglichte, die Konstruktion genau in der im Scanner befindlichen Spule zu positionieren.

Der Maus wurde nach Umlagern auf das Wärmebett Augesalbe auf die Augen aufgetragen (Bepanthen® Nasen- und Augensalbe, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) um diese während der Messung vor dem Austrocknen zu bewahren. Anschließend wurde Elektrodencreme (Fa. marquette Hellige medical systems, Freiburg, Deutschland) auf die Vorderpfoten oder alternativ auf eine Vorder- und eine Hinterpfote aufgetragen. Daran wurden aus selbstklebender Kupferfolie (Firma 3M, 1,2cm Breite) für jeden Einzelversuch angefertigte Elektroden angebracht, die über das EKG-Kabel mit der im Institut entwickelten EKG-Einheit verbunden wurden.



Abb. 5.10: Narkotisierte Maus auf dem Wärmebett mit EKG-Kabel und Nasenkonus

Vor dem Einbringen der Maus in den Scanner wurde sie aus Sicherheitsgründen mit 3-5 Streifen Leukoplast® (Beiersdorf, Hamburg, Deutschland) an der Wärmeschiene fixiert, so daß ein unbeabsichtigtes Herausfallen oder ein Lösen der EKG-Elektroden verhindert werden konnte.

### 5.2.2.3 EKG-Einheit

Die im Eigenbau<sup>129</sup> des Instituts entstandene EKG-Einheit ermöglicht neben der Ableitung des EKG-Signals

- eine Triggerung auf die R-Zacken,
- eine Atemtriggerung, die durch die größere EKG-Amplitude des Signals die Atmung von der R-Zacken-Triggerung ausgrenzt sowie
- eine mehrfache Filterung des durch die Einstrahlung der Gradienten und des Magnetfeldes beeinträchtigten EKG-Signals.

Die Einstellung des EKGs wurde mit Hilfe eines Verstärkers und verschiedener Hoch- und Tiefpaßfilter vorgenommen. Kriterien dafür stellen gut gegen P- oder T-Wellen abgrenzbare QRS-Komplexe sowie die ausreichende Amplitude dar. Im Anschluß folgt

die Triggerung auf die R-Zacken. Ein zu „tiefes“ Triggern in kleineren Volt-Werten wurde vermieden, um ein zusätzliches Triggern auf T-Wellen mit großer Amplitude zu umgehen. Bei ausgeprägter Schnappatmung wurde eine Atemtriggerung durchgeführt, die die Zeit der starken Körperbewegung von den Messzeitpunkten ausnimmt. Diese Möglichkeit ergibt sich durch die starke und im EKG ableitbare Potentialänderung bei großer Körperbewegung und Thoraxdehnung. Beide Mechanismen, R-Zacken- und Atemtriggerung tragen zur Verminderung von Artefakten und zur Erhöhung des SNR bei.

#### 5.2.2.4 Schnittführung

##### 5.2.2.4.1 Transversalschnitt und Planung der 1. Meßebe

Um die korrekten Achsen und Bildfolgen von linkem und rechtem Ventrikel zu finden mußte eine Folge von orientierenden Schnitten angefertigt werden. Zu Beginn wurde durch mehrfaches orientierendes Verschieben der Maus die optimale Lagerung der Maus in der Spule eingestellt (Abb. 5.11a). Dann wurde im resultierenden Transversalschnitt des Thorax in Höhe der Herzmitte die Ebene für den Coronalschnitt eingestellt (Abb. 5.11b) und abgebildet (Abb. 5.12a).

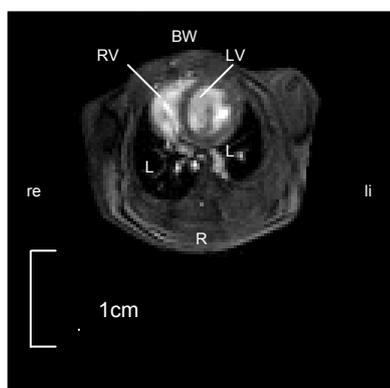


Abb. 5.11a: Transversalschnitt

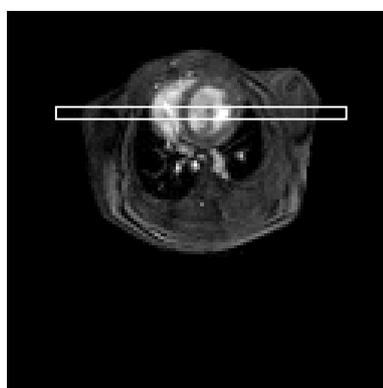


Abb. 5.11b: Planung 1. Meßebe: coronal

Legende: RV=Rechter Ventrikel, BW=Brustwand, LV=Linker Ventrikel, L=Lunge, R=Rücken, li=linke Bildseite, re=rechte Bildseite

Parameter: FOV 3,5cm<sup>2</sup>, Matrix 128x128, Schichtdicke 1,0mm, Auflösung 270µm<sup>2</sup>, TE 1,5ms, TR 4ms

##### 5.2.2.4.2 Coronalschnitt und Planung der 2. Meßebe

Der angefertigte Coronalschnitt (Abb. 5.12a) bildet die vertikale Langachse (VLA) mit linkem und Teilen des rechten Ventrikels ab. Darauf wurde eine parasagittale, in die Längsachse des linken Ventrikels gekippte Schnittebene (Abb. 5.12b) eingestellt und

durchgeführt. Sie verläuft in Verbindung der Herzspitze und des linksventrikulären Ausflußtraktes (LVOT).

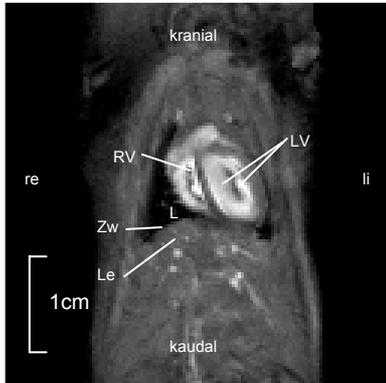


Abb 5.12a: Vertikale Langachse



Abb. 5.12b: Planung 2. Meßebeene: parasagittal

Legende: RV=Rechter Ventrikel, LV=Linker Ventrikel, L=Lunge, Le=Leber, Zw=Zwerchfell, li=linke Bildseite, re=rechte Bildseite

Parameter: FOV 3,5cm<sup>2</sup>, Matrix 128x128, Schichtdicke 1,0mm, Auflösung 270µm<sup>2</sup>, TE 1,5ms, TR 4ms

#### 5.2.2.4.3 Parasagittalschnitt und Planung der 3. Meßebeene

Im resultierenden Parasagittalschnitt (Abb. 5.13a) sind der linke Ventrikel, die abgehende Aorta, die Pulmonalarterie und die Brustwand zu erkennen. Die Ausrichtung der 3. Meßebeene erfolgte als obliquer Parasagittalschnitt entlang der Achse zwischen Aorta ascendens und der Herzspitze (Abb. 5.13b) und resultiert in einen 4-Kammerblick (Abb. 5.14a).

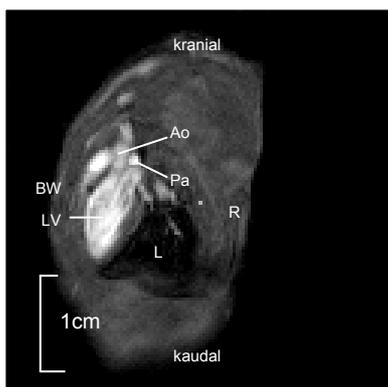


Abb. 5.13a: Horizontale Langachse

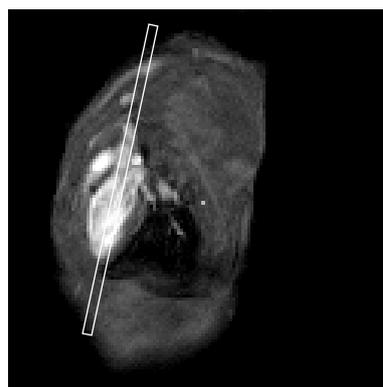


Abb. 5.13b: Planung 3. Meßebeene: oblique

Legende: RV=Rechter Ventrikel, LV=Linker Ventrikel, L=Lunge, Ao=Aorta, Pa=Pulmonalarterie, BW=Brustwand, R=Rücken

Parameter: FOV 3,5cm<sup>2</sup>, Matrix 128x128, Schichtdicke 1,0mm, Auflösung 270µm<sup>2</sup>, TE 1,5ms, TR 4ms

#### 5.2.2.4.4 4-Kammerblick und Planung der Folgeschichten

Anhand des 4-Kammerblickes (Abb. 5.14a) wurde die Ausrichtung der Schichten zur Volumenberechnung geplant: Zunächst wurde die Größe des Herzens in Herzspitzen-Herzbasis-Richtung bestimmt. Die Oberfläche der Benutzerstruktur des BIOSPEC 70/20 ermöglicht dazu das Ausmessen der Herzlänge mit der Genauigkeit eines 1/100 Millimeters. Das Herz wurde virtuell in aufeinanderfolgende Schichten von je 1,0mm unterteilt. Diese wurden orthogonal zum interventrikulären Septum ausgerichtet (Abb. 5.14b). Auf diese Weise konnten gleichzeitig linker und rechter Ventrikel samt Myokard abgebildet und partielle Volumeneffekte möglichst gering gehalten werden. Anschließend wurde die Mittelschicht definiert. Je nach Herzgröße ergab sich eine ungerade oder gerade Anzahl von Schichten. Bei ungerader Schichtzahl konnte die Mittelschicht direkt bestimmt und dem Computer definiert werden. Bei geradzahligen Schichten wurde jeweils die der Herzbasis nähere Schicht als die mittlere bestimmt. Von dieser Einstellung wurde eine Aufnahme durchgeführt. Diese diente als Startschicht für die folgende, Makro-gesteuerte Serien-Akquisition aller Schichten für die cine-Darstellung des Ventrikelvolumens.

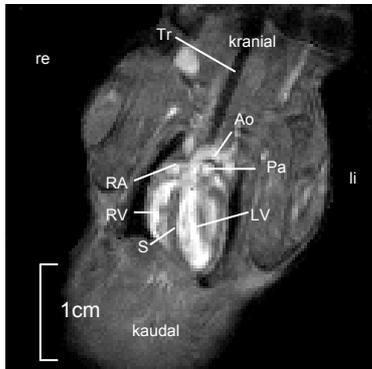


Abb. 5.14a: 4-Kammerblick

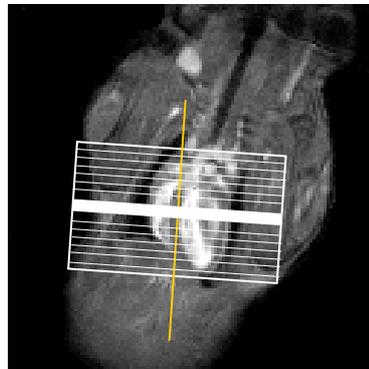


Abb. 5.14b: Planung der Schnittebenen

Legende: RV=Rechter Ventrikel, LV=Linker Ventrikel, L=Lunge, Tr=Trachea, Ao=Aorta, Pa=Pulmonalarterie, S=Septum interventriculare, li=linke Bildseite, re=rechte Bildseite

Parameter: FOV 3,5cm<sup>2</sup>, Matrix 128x128, Schichtdicke 1,0mm, Auflösung 270µm<sup>2</sup>, TE 1,5ms, TR 4ms

#### 5.2.2.5 Bildgebung

Anschließend an die Schnittplanung konnte ein sogenanntes „Makro“ gestartet werden, welches ausgehend von der zuvor gemessenen Mittelschicht, die in 5.14b geplanten Schichten mit den voreingestellten Bildgebungsparametern unter EKG- und/oder Atemtriggerung durchführte. Für die höhere Bildqualität, also verbesserte Signal-to-

noise-ratio (SNR), wurden die Parameter FOV=3.0cm<sup>2</sup>, Matrix=256x256, in-plane-resolution=117µm<sup>2</sup>, TE 1,5ms, TR 4ms und Schichtdicke 1,0mm gewählt. Nach Abschluß der Messung wurden die 10-13 Schichten rekonstruiert, d.h. für die nachfolgende Datensicherung und Auswertung nachberechnet; ein Vorgang der von der angeschlossenen Computerkonsole aus gesteuert wurde.

#### **5.2.2.6 Versuchsende**

Nach erfolgreicher Versuchsdurchführung und Rekonstruktion der Bilddaten wurde die Narkose schrittweise beendet. Die Mäuse wurden auf dem Wärmebett belassen und zusätzlich mit einer Rotlicht-Lampe gewärmt. In der Zwischenzeit konnten die Leukoplast<sup>®</sup>-Streifen und die EKG-Elektroden vorsichtig entfernt werden. Jede Maus wurde nach dem Aufwachen für 1-2 Stunden in einen separaten, ebenfalls mit Rotlicht gewärmten Käfig gesetzt, um so eine möglichst ungestörte Regeneration zu ermöglichen.

#### **5.2.3 Präparation des rechten Ventrikels**

An einer Gruppe Mäuse (Versuchsteil Ic) mußte der rechte Ventrikel nach der MR-Bildgebung präpariert werden, um das rechtsventrikuläre Naßgewicht bestimmen zu können.

Dazu wurde nach Versuchsende die Maus mit 5 Vol% Isofluran für einige Minuten tief narkotisiert. In den meisten Fällen führte dieser Vorgang zu einem Atemstillstand. Die Mäuse wurden schließlich durch eine atlanto-occipitale Luxation getötet.

In Höhe des Proc. xiphoideus wurde die Bauchdecke in einem Transversalschnitt unterhalb des Rippenbogens durchtrennt. Unter Sicht wurde das Diaphragma vom Rippenbogen gelöst. Anschließend wurde der Thorax linkssternal gespalten, aufgedehnt und schließlich in der Axillarlinie beidseits abgesetzt.

Unterhalb des Thymus wurde der Herzbeutel freipräpariert und eröffnet. Die Aorta wurde kanüliert und das Herz retrograd zuerst mit ca. 1ml Heparin (5000 IE), dann mit mehreren ml NaCl gespült. Nach Durchtrennen von Vv. cavae, A. pulmonalis und Aorta konnte das Herz entnommen werden. Unter einer Stereolupe wurde der rechte Ventrikel von rechtem Vorhof, linkem Ventrikel und Septum abpräpariert und mit einer Feinwaage gewogen.

## 5.3 Auswertung

### 5.3.1 Modelle zur Volumenbestimmung

Zur Bestimmung der Gesamtvolumina der Ventrikel werden verschiedene Techniken und Modelle in der Literatur diskutiert<sup>38</sup>. Der Großteil der Publikationen bezieht sich auf die linksventrikuläre Bildgebung am Menschen. Aber auch rechtsventrikuläre Volumina werden mit unterschiedlichen Modellen evaluiert.

An dieser Stelle wird nur die für den linken und für den rechten Ventrikel angewendete Simpsonmethode erläutert. Für eine weiterführende Zusammenfassung sei auf den Anhang E verwiesen.

#### 5.3.1.1 Simpson-Regel

Die Simpson Regel<sup>16,37,137</sup>(dreidimensionale Rekonstruktion) beruht auf der Summierung der aus Einzelschichten ermittelten Teilvolumina ( $S_N$ ) zum Gesamtvolumen (LVV):

$$LVV = S_1 + S_2 + S_3 + \dots + S_{N-1} + S_N \quad \text{Gl. 5.1}$$

Die Ungenauigkeit dieser Methode durch am Rand jedes Einzelvolumens entstehende Teilvolumeneffekte (partial volume effects) kann durch eine genaue Ausrichtung der Bildachse auf die Achse des Ventrikels gering gehalten werden. Eine weitere Optimierung ist der Verzicht auf „interslice gaps“. Diese zwischen den Schichten nicht gemessenen Räume werden in die Volumenberechnung nicht miteinbezogen und erhöhen den Anteil des geschätzten Volumens. Diese Methode gilt als die genaueste, da sie weder auf geometrischen Annahmen noch auf Schätzung größerer Areale beruht. Es muß jedoch eine relativ hohe Meßdauer in Kauf genommen werden. Siehe auch Anhang E.

## 5.4 Bildbearbeitung

Die in unseren Experimenten erfaßten Daten wurden für die Bearbeitung auf CD-ROM gesichert. Zur Auswertung wurde die Software IDL (Version 5.2.1, Research Systems Inc., ©1999, Nutzungslizenzen am Institut) verwendet. Das Segmentieren der Daten, d.h. die schichtweise Auswertung der zeitlichen frames, wurde mit im Institut entwickelten Programm-Modulen durchgeführt. Diese Module ermöglichten sowohl

manuelles als auch halbautomatisches Bestimmen von Volumina und Flächen. Außerdem standen eine ausreichende Vergrößerung des Bildausschnittes und die Animation als Film zur Verfügung.

#### **5.4.1 Durchführung der linksventrikulären Auswertung**

Die linksventrikuläre Auswertung gilt sowohl an der gesunden<sup>133,169</sup> wie auch an der kardial erkrankten Maus<sup>165,168,171</sup> inzwischen als standardisiertes Verfahren<sup>136,161</sup>. Die Auswertbarkeit rechtsventrikulärer Daten mußte anhand des Vergleiches mit den Ergebnissen des linken Ventrikels validiert werden. Dazu wurde der linke Ventrikel gemäß den o.g. Publikationen unserer Arbeitsgruppe und den Vorgaben in Kap. 5.5.3. ausgewertet.

#### **5.4.2 Durchführung der rechtsventrikulären Auswertung**

Die Betrachtung des rechten Ventrikels stellt sich aufgrund seiner komplexen Geometrie als schwieriger dar. Der rechte Ventrikel legt sich kappen- oder halbmondförmig an den linken Ventrikel an. Da geometrische Näherungen hier noch dringender die Frage der Genauigkeit aufwerfen<sup>112</sup>, wurde auf nähernde Modelle verzichtet und auch hier die Simpson-Regel angewendet.

Die Beurteilung des rechten Ventrikels erfordert eine gesteigerte Aufmerksamkeit hinsichtlich der Mitbeteiligung des rechten Vorhofs am betrachteten Blutvolumen und der Frage, welche nur als Teilvolumen angeschnittenen Pixel (partial volume effect) in die Bewertung mit einfließen dürfen. Auch das Kontraktionsverhalten des rechten Ventrikels und die Veränderung der Geometrie bei pathophysiologischen Vorgängen, insbesondere bei Volumen- oder Druckbelastung, müssen beachtet werden. Für diese Fragestellung sei auf die Möglichkeit hingewiesen, die gesamte cine-Sequenz mittels der am Institut entwickelten Software in Zeitlupe sowie die angrenzenden Schichten zu betrachten. Dies stellt ein wesentliches Charakteristikum der angewendeten Unterprogramme dar. Zur Unterscheidung, ob rechter Ventrikel oder Vorhof vorliegt, kann der Nachweis der Trikuspidalklappe und das gegensätzliche Kontraktionsverhalten von Kammer und Vorhof in Systole und Diastole herangezogen werden.

Die Bewertung des partial volume effects unterliegt der Erfahrung des Untersuchers. Seine Auswertung und die damit verbundene Variabilität im inter- und intraobserver-

Vergleich stellt einen der grundsätzlichen Diskussionspunkte in der Bewertung der Auswertbarkeit rechtsventrikulärer Daten dar.

### 5.4.3 Segmentieren der Daten

Zur Volumenberechnung mußte in den 2-dimensionalen Bildern zunächst die dem endsystolischen und enddiastolischen Blutvolumen entsprechende Fläche definiert werden. In jeder der aufgenommenen Schichten des Herzens wurde dazu systolischer und diastolischer Frame bestimmt. Dies wird durch schrittweises Beurteilen des cine-Datensatzes jeder Schicht erreicht. Als diastolischer Frame wurde das Bild bezeichnet, das möglichst direkt auf die R-Zacken-Triggerung folgte und welches das größte ventrikuläre Volumen zeigte. Als Systole wurde das Bild bezeichnet in dem das geringste Ventrikelvolumen festgestellt wurde.

Beide wurden anschließend segmentiert, d.h. es wurde Schicht für Schicht die diastolische und systolische endo- und epikardiale Myokardgrenze zum Blut mittels der Auswertungssoftware manuell umfahren (siehe Abbildungen 5.15 und 5.16a-c). Dazu stand eine ausreichende Vergrößerung zur Verfügung. Halbautomatische Verfahren, die ebenfalls zur Verfügung gestanden hätten, wurden aufgrund ihrer Störanfälligkeit und des resultierenden manuellen Korrekturbedürfnisses nicht angewendet.

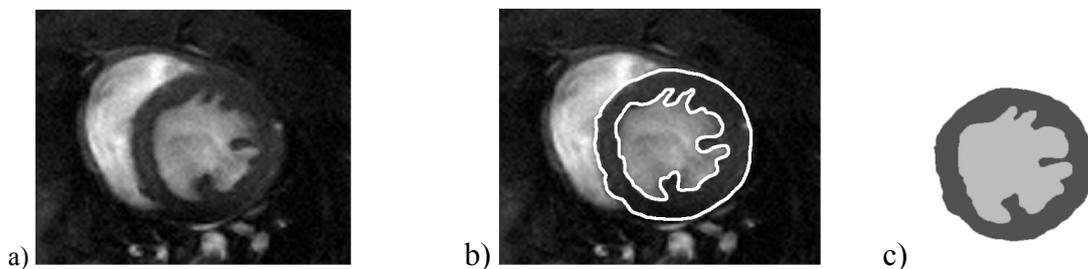


Abb. 5.15a-c: Volumenbestimmung des linken Ventrikels. a) Original Datensatz b) nach Umfahren endo- und epikardialer Grenzen c) nach Freistellen durch die Software; hellgrau: linksventrikuläres Blutvolumen, dunkelgrau: linksventrikuläres Myokard

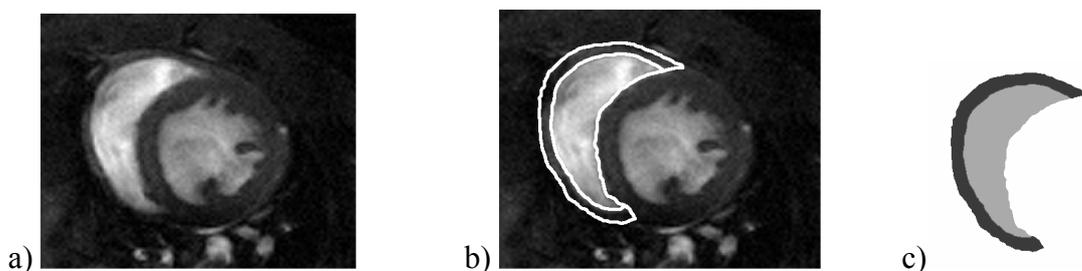


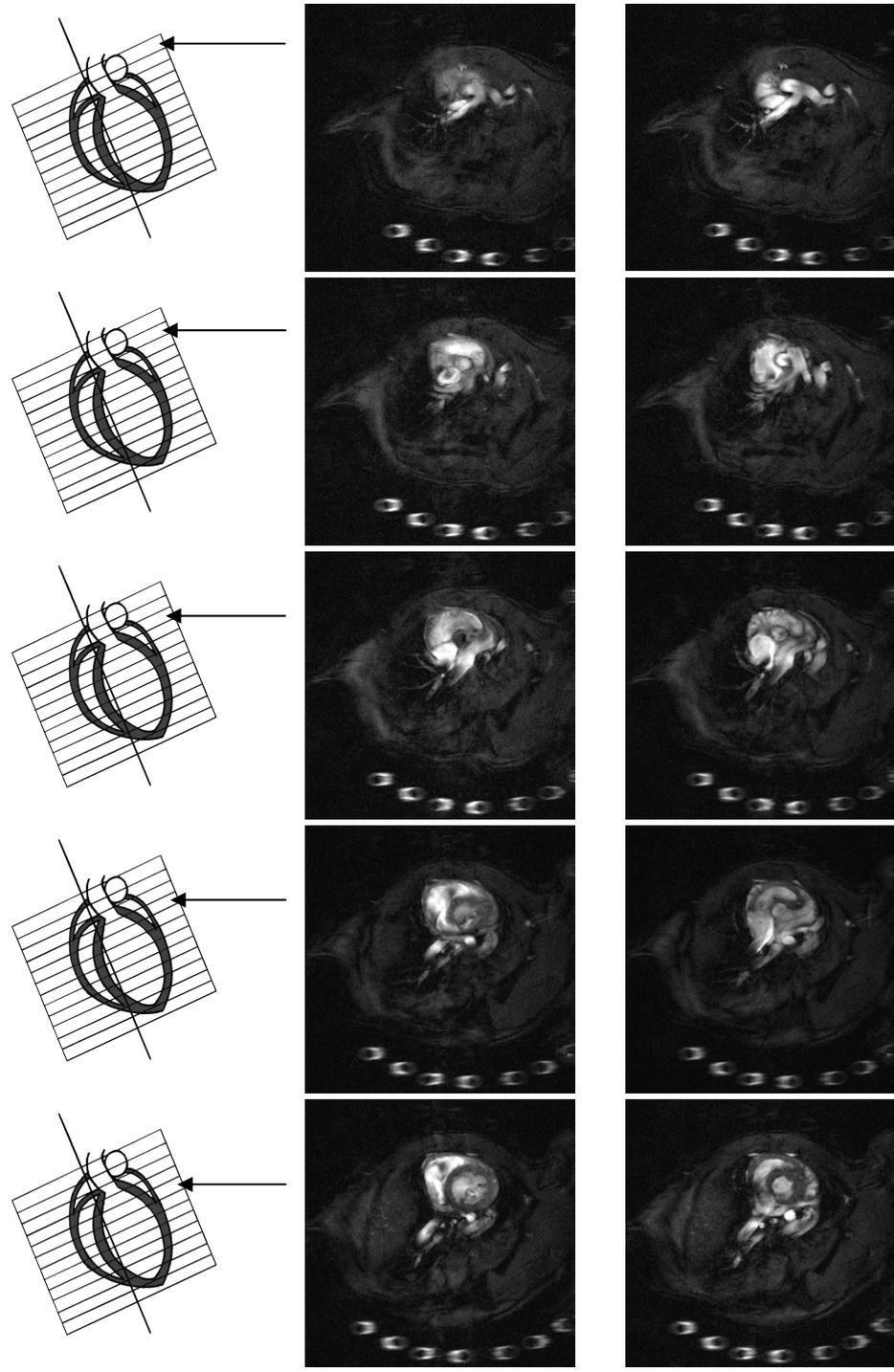
Abb. 5.16a-c: Volumenbestimmung des rechten Ventrikels. a) Original Datensatz b) nach Umfahren endo- und epikardialer Grenzen c) nach Freistellen durch die Software; hellgrau: rechtsventrikuläres Blutvolumen, dunkelgrau: rechtsventrikuläres Myokard

Aus der Summe der mittels Umrandung bestimmten Pixel konnte das ventrikuläre Volumen jeder Schicht in Diastole und in Systole abgeleitet werden. Bei einer Pixelgröße von  $117\mu\text{m}^2$  und einer Schichtdicke von  $1,0\text{mm}$  ergab sich ein Voxel-Volumen von  $117\mu\text{m}^2 \times 1,0\text{mm}$ , welches computergestützt in  $\mu\text{l}$  für Blutvolumina (bzw. mit dem Faktor 1,05 in mg Myokardmasse) umgerechnet wurde. Nach der in Gl. 5.1 dargestellten Simpson-Regel kann aus der Summation der einzelnen systolischen respektive diastolischen Schichten das jeweilige Ventrikelvolumen ermittelt werden.

Zur Verdeutlichung der Bildbeurteilung und -segmentierung siehe nun Abb. 5.17 und 5.18. Sie zeigen exemplarisch den Rohdatensatz einer Maus. Jede Einzelschicht ist mit enddiastolischem (linke Spalte) und endsystolischem (rechte Spalte) Bild dargestellt. Abbildung 5.18 demonstriert außerdem, hier in einem Bild zusammengefaßt, die umfahrenen epi- und endokardialen Myokardgrenzen des rechten und linken Ventrikels.

Abb. 5.17: Unsegmentierte Darstellung der Einzelschichten (slices)

Gezeigt sind jeweils diastolisches (linkes Bild) und systolisches (rechts) frame-Paar. Parameter: FOV 3,0cm<sup>2</sup>; Matrix 256x256; SLTH 1,0mm; TE 4.6ms; TR 1,5ms, FA 30°. Die Pfeile markieren eine grobe Orientierung am Mäuseherz.



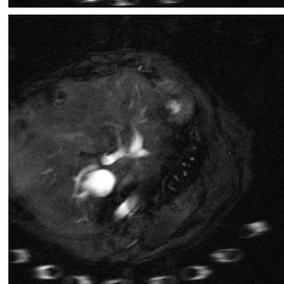
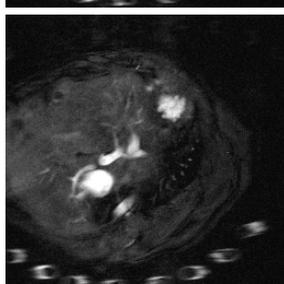
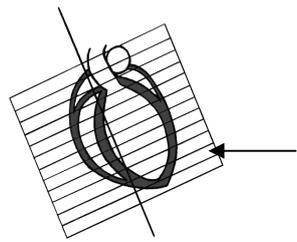
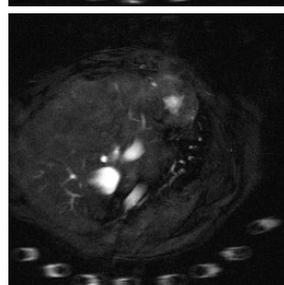
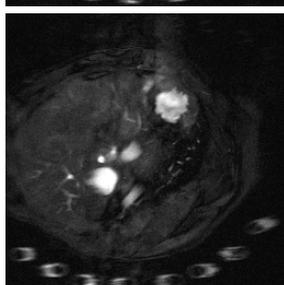
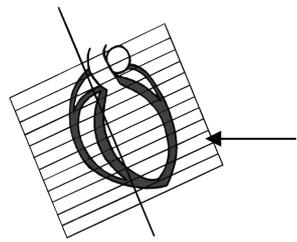
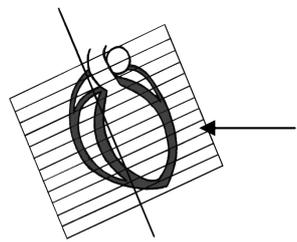
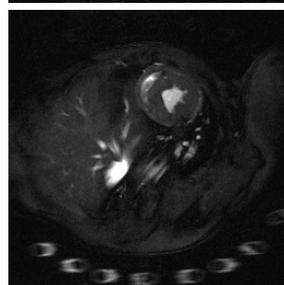
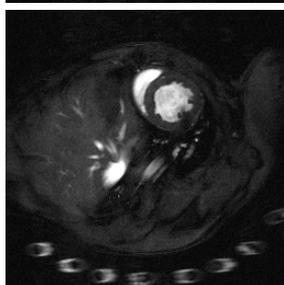
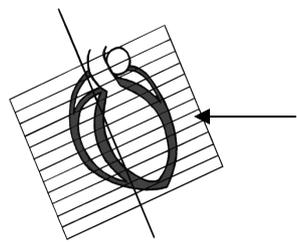
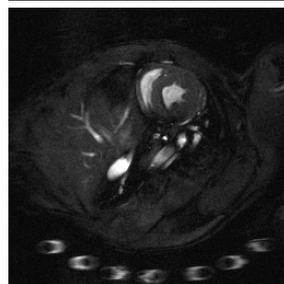
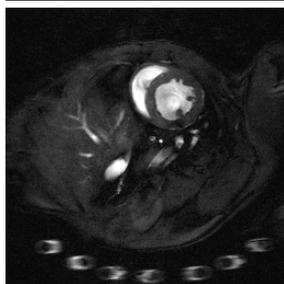
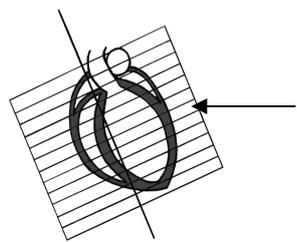
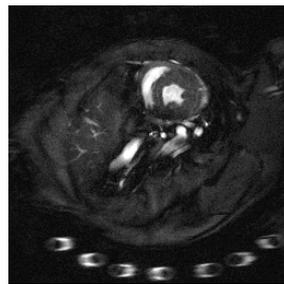
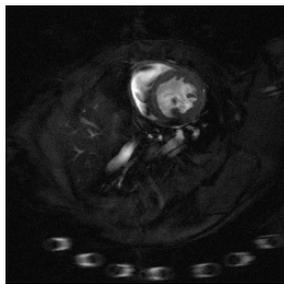
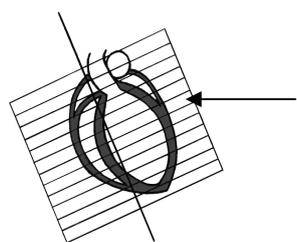
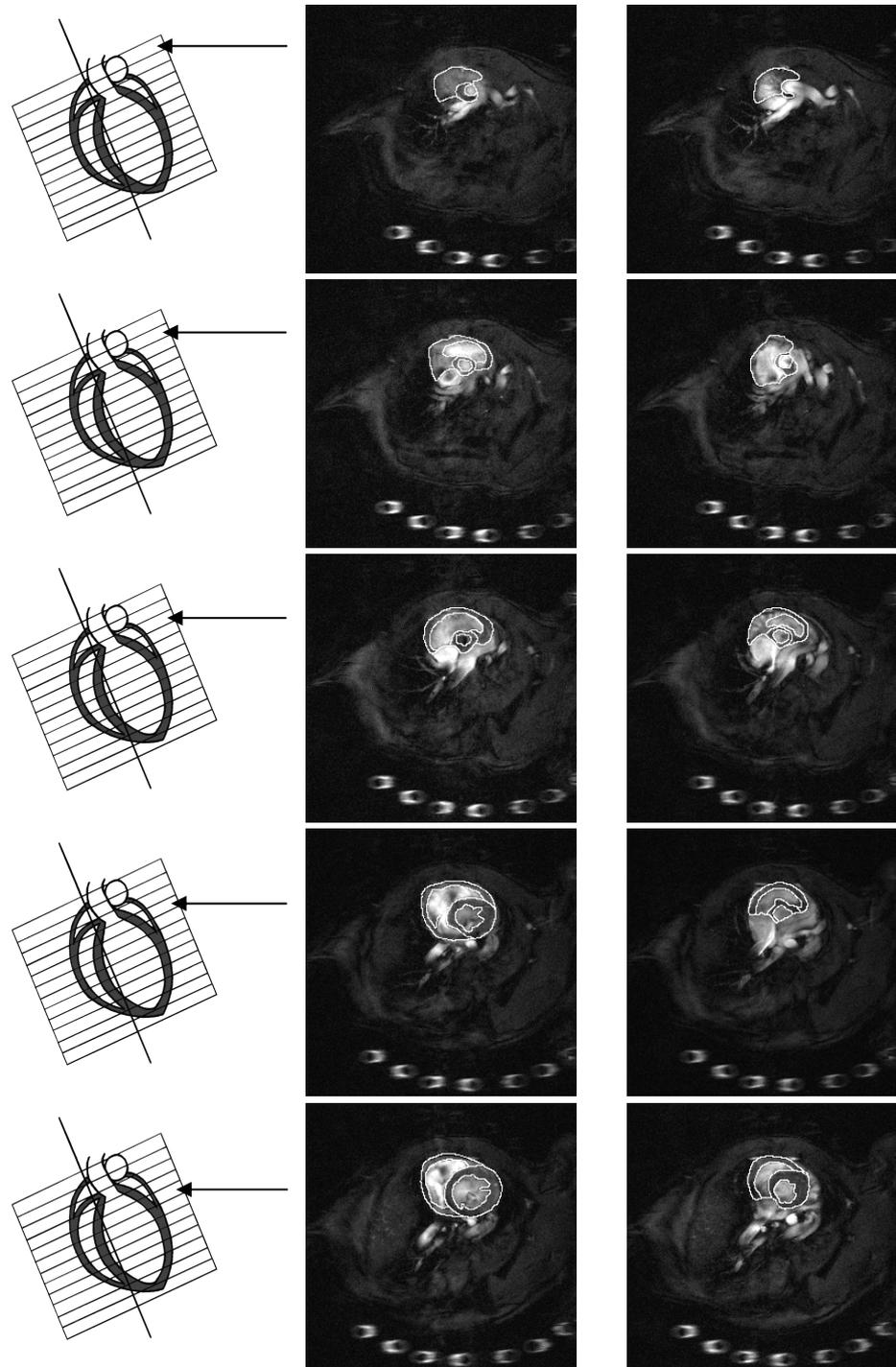
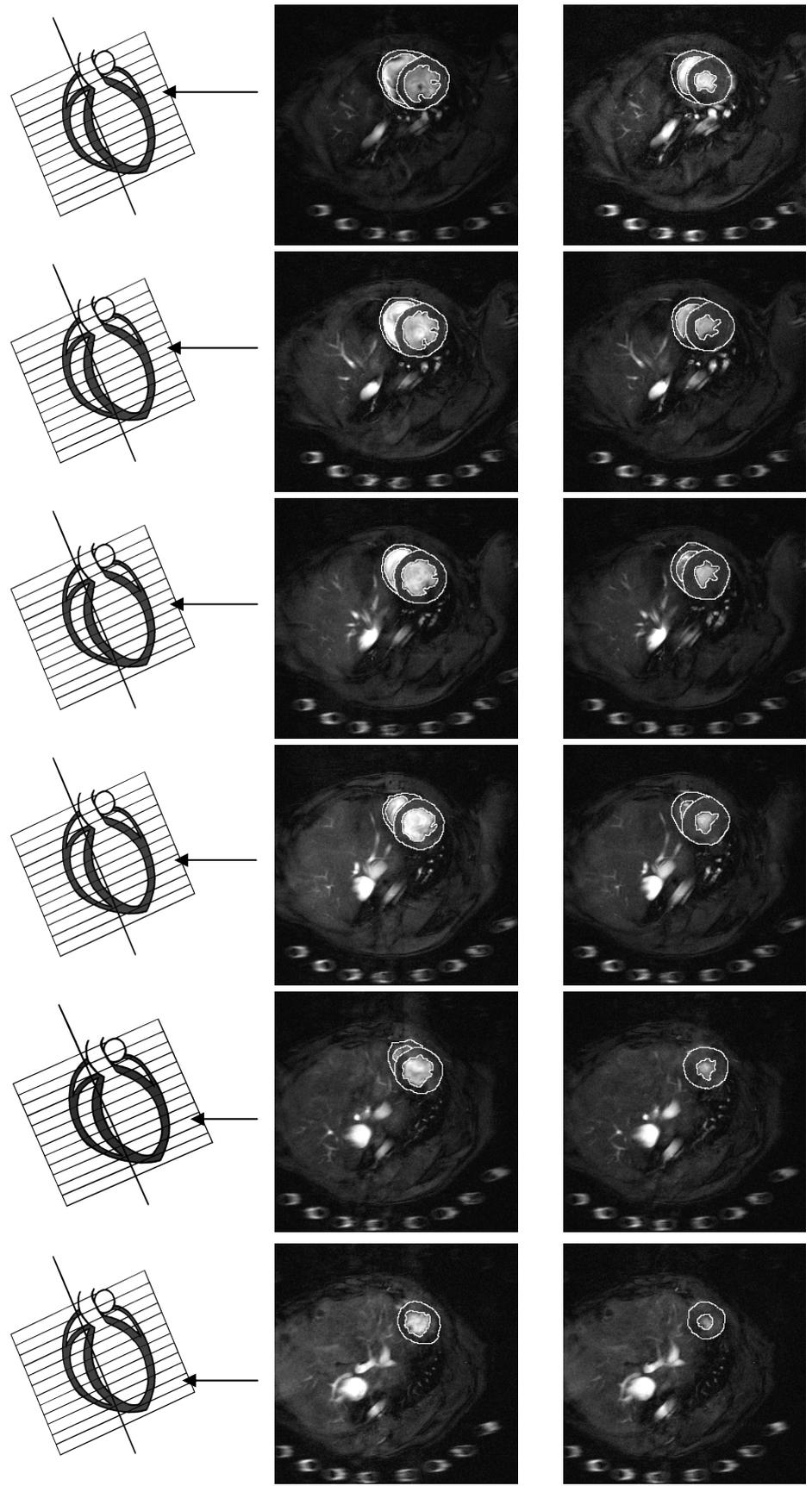


Abb. 5.18 Segmentierte Darstellung der Einzelschichten (slices)

Gezeigt sind jeweils diastolisches (linkes Bild) und systolisches (rechts) frame-Paar nach simulierter Umrandung der epi- und endokardialen Myokardgrenzen. Parameter: FOV 3,0cm<sup>2</sup>; Matrix 256x256; SLTH 1,0mm; TE 4,6ms; TR 1,5ms,





#### **5.4.4 Berechnung abgeleiteter Parameter**

Aus den enddiastolischen (EDV) und endsystolischen Volumina (ESV) konnten zusammen mit der gleichzeitig ermittelten Herzfrequenz (HF) folgende Beziehungen mathematisch abgeleitet werden. Sie gelten in der medizinischen Literatur als Standard-Parameter.

##### **5.4.4.1 Schlagvolumen**

Das Schlagvolumen (SV) ergibt sich aus der Differenz zwischen enddiastolischem und endsystolischem Kammervolumen. Es entspricht der Menge an Blut, die pro Herzschlag aus der Kammer befördert wird und ist daher Zeichen für die Kontraktionskraft und Leistung des Herzens.

$$SV = EDV - ESV \quad \text{Gl. 5.2}$$

##### **5.4.4.2 Ejektionsfraktion**

Die Ejektionsfraktion (EF) ist der Anteil des Schlagvolumens am Kammervolumen, der bei jedem Herzschlag ausgeworfen wird. Die EF ist ein Maß der Effektivität der Herzaktion und damit der suffizienten Herzleistung. Sie berechnet sich nach

$$EF = \frac{SV}{EDV} \quad \text{Gl. 5.3}$$

In der Medizin wird eine EF von 60-75% an gesunden Patienten erwartet. Werte deutlich darunter entstehen bei geringerem ESV oder SV (bei konstantem EDV) oder größerem EDV (bei konstantem SV) und entsprechen einem vermindertem Kontraktionsvermögen oder geringerer kontraktile Effizienz. Eine Verminderung auf 40-60% wird als leichtgradige, von 30-40% als mittelgradige und von von <30% als schwere Insuffizienz verstanden.

##### **5.4.4.3 Auswurfleistung**

Das Herzminutenvolumen oder Cardiac Output (CO), die Auswurfleistung des Herzens in einem Zeitintervall, berechnete sich aus

$$CO = HF \cdot SV [ml / \text{min}] \quad \text{Gl. 5.4}$$

## 5.5 Statistik

### 5.5.1 Statistische Analyse der Daten

Die Berechnung aller statistischer Daten erfolgte mit der Software StatView, Abacus Inc., USA. Nutzungslizenzen lagen am Institut vor. Die folgenden statistischen Gleichungen sind Teil des Programmes und mußten dort nicht eingegeben sondern nur ausgeführt werden.

#### 5.5.1.1 Datenform und grundlegende Verfahren

Alle Daten wurde als Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardfehler (SEM) des Mittelwertes oder Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD) angegeben. Die entsprechende Angabe findet sich an jeweiliger Stelle. Einheiten der Einzelwerte werden im Text erklärt oder sind Teil der Tabellenzeile/-spalte.

#### 5.5.1.2 Mittelwert (MW)

Der Mittelwert MW errechnet sich aus

$$MW = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad \text{Gl. 5.5}$$

MW gibt den Mittelwert an,  $\sum x$  die Summe der Einzelwerte x und n die Anzahl der Elemente.

#### 5.5.1.3 Standardabweichung und Varianz

Die Standardabweichung SD ist ein Maß für die durchschnittliche Abweichung des Einzelwertes vom ermittelten Mittelwert. Sie errechnet sich bei bekanntem Mittelwert nach

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - MW)^2}{n}} \quad \text{Gl. 5.6}$$

Es stehen x für den Meßwert, MW für den Mittelwert und n wiederum für die Anzahl der Elemente. Die Varianz der ermittelten Werte errechnet sich aus  $SD^2$ .

### 5.5.1.4 Standardfehler des Mittelwertes

Der Standardfehler des Mittelwertes SEM (standard error of the mean) wird mit

$$SEM = \frac{SD}{\sqrt{n}} \quad \text{Gl. 5.7}$$

errechnet. Der Standardfehler wird auch als mittlerer Fehler des Mittelwertes bezeichnet. Die Gleichung 5.7 impliziert, daß der Standardfehler klein ist, wenn die Stichprobe durch eine geringe Streuung bei einer großen Zahl von Meßwerten charakterisiert ist.

### 5.5.6 Statistische Methoden

#### 5.5.6.1 Korrelationsanalyse und Bestimmtheitsmaß

Zur Darstellung und Überprüfung des Zusammenhangs zweier Merkmalen ist der Korrelationskoeffizient  $r$  eine nützliche statistische Maßzahl. Die Formel für  $r$  entspricht der Steigung der gegeneinander aufgetragenen, zu vergleichenden Werte. Die Wertpaare werden in standardisierten Einheiten betrachtet,  $r$  hat keine Einheit. Aus der Regressionsgleichung für die Variabelpaare  $x$  und  $y$  ergibt sich die Formel

$$r = \frac{\sum (x - MW_x) \cdot (y - MW_y)}{n \cdot SD_x \cdot SD_y} \quad \text{Gl. 5.8}$$

für den Korrelationskoeffizienten. Es stehen  $(x - MW_x)$  bzw.  $(y - MW_y)$  für die jeweiligen Abweichungen der Einzelwerte von ihrem Mittelwert.  $r$  nimmt Werte von  $-1 \leq r \leq 1$  an. Je nach Vorzeichen von  $r$  spricht man von positiver oder negativer Korrelation, ist  $r = 0$  bezeichnet man die Merkmale als nicht korrelierend. Durch den Korrelationskoeffizienten läßt sich eine Aussage treffen, wie sicher linear der Zusammenhang der zwei Größen ist.

Das Quadrat des Korrelationskoeffizienten ( $r^2$ ) wird auch als Bestimmtheitsmaß bezeichnet. Es nimmt ebenfalls Werte von  $-1 \leq r^2 \leq 1$  an und überprüft die Güte der Übereinstimmung: Ausgedrückt wird, inwiefern der Verlauf der berechneten Gerade mit Steigung  $r$  tatsächlich der Punkteverteilung entspricht. Die Anpassung ist umso besser, je enger die Punkte an der Geraden liegen. In Zahlen ausgedrückt soll  $r^2$  ebenfalls möglichst gegen  $\pm 1$  laufen.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Ergebnisse mit dem Korrelationskoeffizienten  $r$  angegeben.

### 5.5.6.2 Untersuchung der Normalverteilung

Um die Signifikanz von ermittelten Ergebnissen zu errechnen bedient man sich sogenannter Signifikanz- oder Lokationsteste. Sie beurteilen, ob Unterschiede zwischen den Mittelwerten  $MW$  und  $MW_0$  zweier Messungen Signifikanz erreichen, oder als zufällige Stichprobenfehler auftreten. Dazu wurde für kleine  $n$  der  $t$ -Wert entwickelt. Der für  $t$  ermittelte Wert wird als Realisierung der  $t$ -verteilten Zufallsgröße mit  $MW = MW_0$  verstanden. Für die zweiseitige Hypothese  $H_0 MW = MW_0$  und  $H_1 MW \neq MW_0$  wird der  $t$ -Wert nach

$$t = \sqrt{n} \frac{MW - MW_0}{\sqrt{SD^2 + SD_0^2}} \quad \text{Gl. 5.9}$$

berechnet und entsprechend der für die Hypothese ermittelten Bedingungen verglichen.

Zur Beurteilung des  $t$ -Werts, der bestätigten oder widerlegten Hypothese, dient der sogenannte  $p$ -Wert. Er trifft die Aussage, wie wahrscheinlich unter Annahme von Hypothese  $H_0$  ein ebenso großer oder größerer Testwert ermittelt wird. Dies wird auf das übliche Signifikanzniveau von 95% bezogen. Kleine  $p$ -Werte oder Signifikanzen bestätigen die Hypothese  $H_0$  besser, daß beide Testwerte der Stichprobe übereinstimmen. Im Allgemeinen entspricht  $p < 0,05$  signifikanten,  $p < 0,001$  hochsignifikanten und  $p < 0,0001$  höchstsignifikanten Ergebnissen.

### 5.5.6.3 Bland-Altman-Analyse

BLAND und ALTMAN wiesen 1986 auf die Schwierigkeit hin, eine neue Meßmethode mit einer etablierten nur aufgrund einfacher Regressionsanalyse als übereinstimmend zu bezeichnen<sup>9,10</sup>. Diese Problematik besteht vor allem, wenn wie in dieser Arbeit indirekt korrelierende Parameter verglichen werden müssen. Bland und Altman empfehlen, vor dem Vergleich zweier Methoden einen absoluten Wert festzulegen, nachdem sich die Methoden klinisch sinnvoll unterscheiden dürfen. Die statistische Vorgabe einer Variation von  $x \pm 2SD$ , welche in etwa der Gauss'schen Normalverteilung für Meßergebnisse entspricht, wird dazu in der Regel verwendet. Die zu vergleichenden Ergebnisse werden voneinander abgezogen und die absoluten Differenzen gegen den Mittelwert der Messung aufgetragen. In der graphischen Darstellung sollen die Werte innerhalb der vordefinierten Grenzen liegen, um die Übereinstimmung der Daten zu zeigen.

## **6 Ergebnisse**

### **6.1 Teil I - Methodvalidierung**

#### **6.1.1 Allgemeine Ergebnisse**

Die 13 der MR-Bildgebung zugeführten Mäuse des Genotyps C57 Bl/6 im durchschnittlichen Alter von  $22 \pm 12$  Wochen (15-57 Wochen) mit einem Gewicht von  $34 \pm 8$  g (29-50g) haben die Narkoseein- und ausleitung gut vertragen. Bei einer Experimentdauer von insgesamt 60-90 Minuten wurde eine weitgehend konstante Herzfrequenz von  $461 \pm 14$  Schlägen/Min. ermittelt. Alle Mäuse haben das Experiment und die Narkose überlebt und sich nach ca. 30-60 Minuten wieder vollständig erholt.

Die orientierenden Bilder der Kurz- und Langachsen zeigten den vollständigen Überblick über das Kammersystem des Herzens und ermöglichten die Schichtplanung bei guter bis hervorragender Bildqualität. Bei allen Mäusen konnte die Schichtplanung orthogonal zum interventrikulären Septum durchgeführt werden und erlaubte die gleichzeitige Abbildung des linken und rechten Ventrikels. Endsystolische und enddiastolische Bilder (frames) konnten in jeder Schicht bestimmt werden. Ebenso waren alle Kammern des Herzens in den entsprechenden Frames und Schichten eindeutig erkennbar und gut vom umgebenden Gewebe zu unterscheiden; in den meisten Fällen konnten die entsprechenden Klappen als die atrioventikuläre Grenze ausgemacht werden.

Die RV Grenzen konnten insbesondere in den apikalen und mitt-ventrikulären Schichten einwandfrei bestimmt werden. Auch die herzbasisnahen Schichten, die durch Partialvolumeneffekte schwieriger zu bewerten waren, konnten spätestens nach Betrachtung der gesamten animierten cine-Sequenz bei allen Mäusen beurteilt werden.

#### **6.1.2 Vergleich links- und rechtsventrikulärer Volumina**

Tabelle 6.1 zeigt den Vergleich der linksventrikulär (LV 1) und rechtsventrikulär (RV 1) erhobenen Volumina an 13 Mäusen. Verglichen wurden LV 1 und RV 1 anhand des EDV, ESV, SV, der EF und des CO.

### 6.1.2.1 SV und CO

Der Vergleich links- und rechtsventrikulärer Schlagvolumina zeigte annähernd identische Werte, wie es bei physiologischen Bedingungen vorauszusetzen ist. Die Unterschiede erwiesen sich als nichtsignifikant. Da nur von der Herzfrequenz abhängig, verhält sich das Herzminutenvolumen (CO=cardiac output) gleichsinnig. In der Regressionsanalyse korrelierten sowohl SV als auch CO stark (jeweils  $r=0,97$ ,  $p<0,0001$ ; siehe Abb. 6.1).

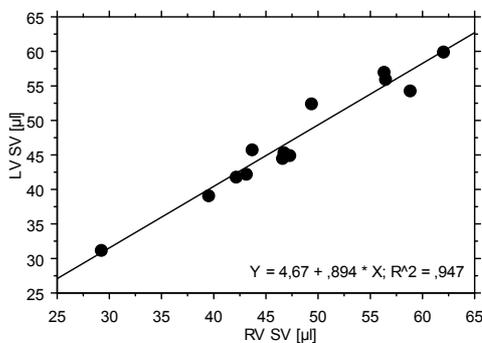


Abb. 6.1: Regressionsanalyse LV SV – RV SV

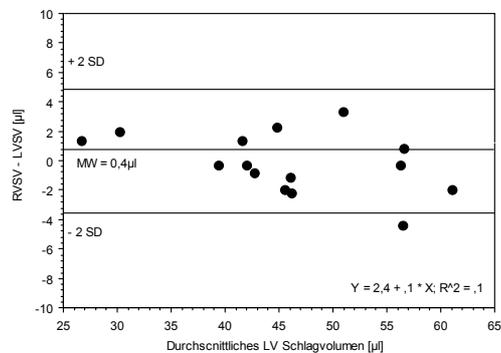


Abb. 6.2: Bland-Altman-Analyse LV SV – RV SV

Führt man die Werte der Bland-Altman-Analyse zu, findet sich eine mittlere Abweichung von  $0,4\mu\text{l}$  zwischen RV und LV Schlagvolumina innerhalb der engen Übereinstimmungsgrenzen ( $\pm 4,2\mu\text{l}$ , entspricht 2 SD; siehe Abb. 6.2).

Tabelle 6.1: LV-RV-Vergleichsmessungen

Maus		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	MW	+/-SD	+/-SEM
Parameter																	
<b>KG [g]</b>		34,0	32,0	39,0	31,0	31,0	41,0	38,0	29,0	29,0	38,0	50,0	24,0	22,0	33,7	7,5	13,0
<b>HF [bpm]</b>		500	500	440	375	387	430	460	460	430	500	460	550	500	460,9	49,4	2,0
	<b>LV 1</b>	61,7	90,2	80,3	73,5	59,9	92,5	68,8	75,7	65,9	91,9	89,5	59,9	56,7	74,3	13,4	3,7
<b>EDV [µl]</b>	<b>RV 1</b>	87,3	95,7	92,5	86,4	70,2	99,1	113,1	81,8	77,8	80,5	86,5	62,5	60,5	84,1	14,6	3,5
	<b>LV 1</b>	15,8	45,2	34,8	31,2	15,4	35,5	8,8	23,1	24,1	35,8	35,2	28,7	17,5	27,0	10,5	3,4
<b>ESV [µl]</b>	<b>RV 1</b>	43,7	48,5	45,9	43,3	23,7	42,9	51,1	32,5	35,7	24,1	27,8	33,3	21,0	36,4	10,2	3,0
	<b>LV 1</b>	45,9	45,0	45,5	42,3	44,5	57,0	60,0	52,6	41,8	56,1	54,3	31,2	39,2	47,3	8,2	2,0
<b>SV [µl]</b>	<b>RV 1</b>	43,6	47,2	46,6	43,1	46,5	56,2	62,0	49,3	42,1	56,4	58,7	29,2	39,5	47,7	8,9	2,1
	<b>LV 1</b>	74,4	49,9	56,7	57,6	74,3	61,6	87,2	69,5	63,4	61,0	60,7	52,1	69,1	64,4	10,3	3,1
<b>EF [%]</b>	<b>RV 1</b>	49,9	49,3	50,4	49,9	66,2	56,7	54,8	60,3	54,1	70,1	67,9	46,7	65,3	57,0	8,1	2,3
	<b>LV 1</b>	23,0	22,5	20,0	15,9	17,2	24,5	27,6	24,2	18,0	28,1	25,0	17,2	19,6	21,8	4,1	1,2
<b>CO [ml/min]</b>	<b>RV 1</b>	21,8	23,6	20,5	16,2	18,0	24,2	28,5	22,7	18,1	28,2	27,0	16,1	19,8	21,9	4,3	1,3

Legende:

MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, SEM=Standardfehler

EDV=Enddiastolisches Volumen, ESV=Endsystolisches Volumen, SV=Schlagvolumen, EF=Ejektionsfraktion, CO=Herzminutenvolumen (cardiac output)

LV 1=linksventrikuläres Ergebnis Untersucher 1

RV 1=rechtsventrikuläres Ergebnis Untersucher 1

### 6.1.2.2 EDV, ESV und EF

Enddiastolische und –systolische Volumina wiesen ein Charakteristikum auf, das aus der menschlichen Physiologie bekannt ist: RV EDV und ESV sind signifikant höher als LV EDV und ESV (beide  $p < 0,05$ ; siehe Abb. 6.3). Vergleichbar dazu ist die RV EF geringer als LV EF ( $p < 0,05$ ).

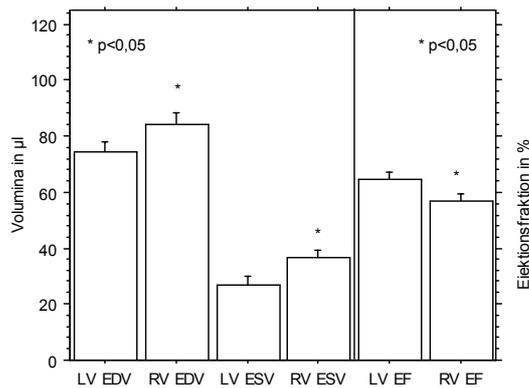


Abb. 6.3: Vergleich der LV und RV EDV, ESV in  $\mu\text{l}$  und EF in [%]. Die T-förmigen Balken zeigen den Standardfehler des Mittelwerts.

### 6.1.3 Intra- und interobserver Vergleich rechtsventrikulärer Parameter

#### 6.1.3.1 Intraobserver Vergleich

Im intraobserver Vergleich wurde die Wiederholbarkeit der Auswertungsergebnisse bestimmt. Zur Vermeidung von Wiedererkennungseffekten wurden die rechtsventrikulären Messungen RV 2a, RV 2b und RV 2c mit einem Abstand von jeweils ca. 4 Wochen von einem zweiten Auswerter an 11 bereits von Untersucher 1 bewerteten Mäusen durchgeführt (siehe Tab. 6.4). Die Ergebnisse des zweiten Untersuchers wurden anschließend untereinander auf ihre Abweichungen voneinander überprüft und zeigten für den intraobserver Vergleich die in der folgenden Tabelle dargestellten Variabilitäten von:

	(a-c) abs.	rel.	(b-c) abs.	rel.	(a-b) abs.	rel.
<b>RV EDV</b>	$9,3 \pm 1,9\mu\text{l}$	9,8%	$6,7 \pm 1,6\mu\text{l}$	7,0%	$4,7 \pm 1,0\mu\text{l}$	5,7%
<b>RV ESV</b>	$5,7 \pm 1,2\mu\text{l}$	13,7%	$4,2 \pm 1,2\mu\text{l}$	9,5%	$2,9 \pm 0,8\mu\text{l}$	9,1%
<b>RV SV</b>	$6,0 \pm 0,9\mu\text{l}$	11,1%	$3,6 \pm 0,9\mu\text{l}$	6,7%	$3,7 \pm 1,0\mu\text{l}$	7,9%
<b>RV EF</b>	$3,4 \pm 0,8\%$	5,9%	$2,5 \pm 0,7\%$	4,5%	$3,0 \pm 0,7\%$	5,1%
<b>RV CO</b>	$2,8 \pm 0,4\text{ml/min}$	11,1%	$1,6 \pm 0,4\text{ml/min}$	6,7%	$1,7 \pm 0,5\text{ml/min}$	7,8%

Tab. 6.2: Intraobserver Variabilitäten: absolute und relative Abweichungen

Die Bland-Altman-Analyse zeigt die Differenzen zwischen den einzelnen RSV-Messungen des zweiten Untersuchers gegen den Mittelwert seiner Messungen. Der Vorgabe entsprechend lag der Großteil der Messungen innerhalb der selbstgesetzten, engen Grenzen von 2 Standardabweichungen und wies nur eine kleine Zahl an Ausreißern auf. Als Mittelwert wurde das Mittel der Abweichungen aller drei Untersuchungen (RV SV:  $4,4 \pm 3,8\mu\text{l}$ ,  $\text{MW} \pm 2 \text{SD}$ ) gewählt.

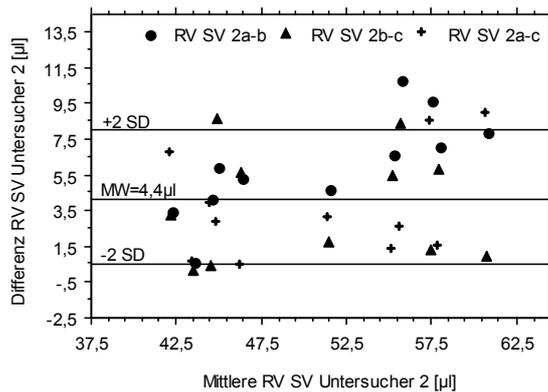


Abb. 6.4: Bland-Altman-Analyse des intraobserver Vergleichs der RSV

### 6.1.3.2 Interobserver Vergleich

Der interobserver Vergleich deckt die Unterschiede zwischen zwei Auswertern auf. Er steht daher auch für die Wiederholbarkeit eines Versuches bzw. einer Methode. Dazu wurden die Ergebnisse des ersten Auswerters (RV 1) mit den 3 Auswertungsrunden des zweiten Auswerters (RV 2a, 2b und 2c) verglichen. Aus den Daten von 11 untersuchten Mäusen ergaben sich die in Tab. 6.3 ersichtliche Variabilitäten:

	(2c-1) abs.	rel.	(2a-1) abs.	rel.	(2b-1) abs.	rel.
<b>RV EDV</b>	$4,6 \pm 1,0\mu\text{l}$	5,1%	$7,5 \pm 1,4\mu\text{l}$	8,4%	$6,1 \pm 1,4\mu\text{l}$	7,0%
<b>RV ESV</b>	$4,0 \pm 0,7\mu\text{l}$	11,5%	$5,0 \pm 1,1\mu\text{l}$	12,9%	$4,8 \pm 0,9\mu\text{l}$	13,3%
<b>RV SV</b>	$2,3 \pm 0,6\mu\text{l}$	4,7%	$5,2 \pm 1,2\mu\text{l}$	10,1%	$4,0 \pm 0,7\mu\text{l}$	8,0%
<b>RV EF</b>	$3,2 \pm 0,4\%$	5,6%	$3,5 \pm 1,2\%$	6,6%	$3,8 \pm 0,5\%$	6,9%
<b>RV CO</b>	$1,0 \pm 0,3\text{ml/min}$	4,7%	$2,4 \pm 0,5\text{ml/min}$	10,1%	$1,9 \pm 0,4\text{ml/min}$	8,0%

Tab. 6.3: Interobserver Variabilitäten: absolute und relative Abweichungen

In der Bland-Altman-Analyse wurden die Differenzen von rechtsventrikulären Einzelmessungen des Untersuchers 2 gegen die mittleren rechtsventrikulären

Schlagvolumina jeder Maus des ersten Untersuchers aufgetragen. Die Abbildung 6.5 zeigt die gute Verteilung der Werte um den Mittelwert innerhalb der engen Grenzen von  $MW \pm 2SD$  ( $4,4 \pm 3,8\mu\text{l}$ ). Die Regression der durch den zweiten Untersucher bestimmten RV SV korrelieren durchschnittlich ( $r=0,76$ ,  $p<0,0001$ ) mit den durch den ersten Untersucher erhobenen Werte (siehe Abb. 6.6).

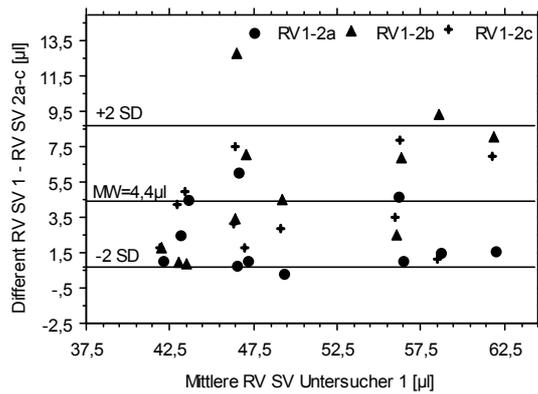


Abb. 6.5: Bland-Altman-Analyse des interobserver Vergleichs

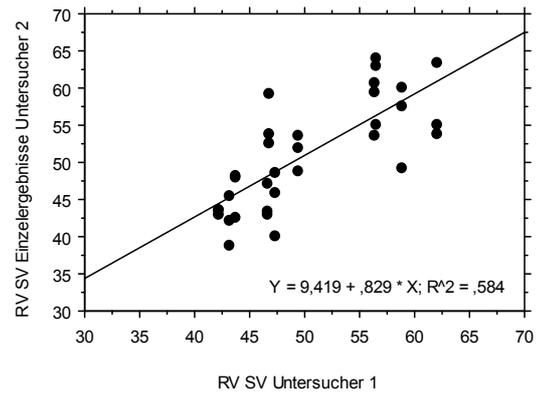


Abb. 6.6: Regression RV SV Einzelergebnisse Untersucher 2 gegen Ergebnisse des Untersucher 1

Tabelle 6.4: Vergleich der RV-Ergebnisse Untersucher 1 und 2

Param.	Maus	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	MW	+/-SD	SEM
<b>KG [g]</b>		34,0	32,0	39,0	31,0	31,0	41,0	38,0	29,0	29,0	38,0	50,0	35,6	6,4	13,0
<b>HF</b>		500	500	440	375	387	430	460	460	430	500	460	449	42,8	2,0
<b>EDV [μl]</b>	<b>RV 1</b>	87,3	95,7	92,5	86,4	70,2	99,1	113,1	81,8	77,8	80,5	86,5	88,3	11,6	3,5
	<b>RV 2a- 1</b>	3,4	13,5	3,5	14,3	5,2	5,1	10,4	2,6	3,0	8,0	12,9	7,4	4,6	1,4
	<b>RV 2b- 1</b>	8,1	6,8	6,0	14,8	0,2	0,0	5,7	4,2	3,7	12,9	4,7	6,1	4,6	1,4
	<b>RV 2c- 1</b>	2,4	1,1	5,7	0,6	4,1	10,9	9,3	5,7	4,9	5,1	1,0	4,6	3,3	1,0
	<b>RV 2a- 2b</b>	11,5	6,7	2,5	0,5	5,4	5,1	4,7	1,6	0,7	4,9	8,2	4,7	3,3	1,0
	<b>RV 2a- 2c</b>	5,8	14,6	2,2	14,9	9,3	16,0	19,7	3,1	1,9	2,9	11,9	9,3	6,5	1,9
	<b>RV 2b- 2c</b>	5,7	7,9	0,3	15,4	3,9	10,9	15,0	1,5	1,2	7,8	3,7	6,7	5,3	1,6
<b>ESV [μl]</b>	<b>RV 1</b>	43,7	48,5	45,9	43,3	23,7	42,9	51,1	32,5	35,7	24,1	27,8	38,1	9,8	3,0
	<b>RV 2a- 1</b>	2,6	6,5	9,2	13,4	1,9	2,7	2,4	7,0	4,7	1,2	3,6	5,0	3,7	1,1
	<b>RV 2b- 1</b>	3,3	8,4	1,3	10,7	3,2	3,3	1,1	6,9	5,3	5,2	3,7	4,8	2,9	0,9
	<b>RV 2c- 1</b>	2,1	2,2	0,4	1,9	3,3	6,2	7,7	5,4	6,0	6,2	2,5	4,0	2,4	0,7
	<b>RV 2a- 2b</b>	5,9	1,9	7,9	2,7	5,1	0,6	3,5	0,1	0,6	4,0	0,1	2,9	2,6	0,8
	<b>RV 2a- 2c</b>	0,5	8,7	8,8	11,5	5,2	8,9	10,1	1,6	1,3	5,0	1,1	5,7	4,1	1,2
	<b>RV 2b- 2c</b>	5,4	10,6	0,9	8,8	0,1	9,5	6,6	1,5	0,7	1,0	1,2	4,2	4,0	1,2
<b>SV [μl]</b>	<b>RV 1</b>	43,6	47,2	46,6	43,1	46,5	56,2	62,0	49,3	42,1	56,4	58,7	50,2	6,9	2,1
	<b>RV 2a- 1</b>	0,8	7,0	12,7	0,9	3,3	2,4	8,0	4,4	1,7	6,8	9,3	5,2	3,9	1,2
	<b>RV 2b- 1</b>	4,8	1,6	7,3	4,1	3,0	3,3	6,8	2,7	1,6	7,7	1,0	4,0	2,4	0,7
	<b>RV 2c- 1</b>	4,5	1,1	6,1	2,5	0,8	4,7	1,6	0,3	1,1	1,1	1,5	2,3	1,9	0,6
	<b>RV 2a- 2b</b>	5,6	8,6	5,4	3,2	0,3	5,7	1,2	1,7	0,1	0,9	8,3	3,7	3,1	0,9
	<b>RV 2a- 2c</b>	5,3	5,9	6,6	3,4	4,1	7,1	9,6	4,7	0,6	7,9	10,8	6,0	2,9	0,9
	<b>RV 2b- 2c</b>	0,3	2,7	1,2	6,6	3,8	1,4	8,4	3,0	0,5	8,8	2,5	3,6	3,0	0,9
<b>EF [%]</b>	<b>RV 1</b>	49,9	49,3	50,4	49,9	66,2	56,7	54,8	60,3	54,1	70,1	67,9	57,2	7,8	2,3
	<b>RV 2a- 1</b>	1,1	0,4	11,4	8,6	0,3	0,5	2,2	7,5	4,5	1,3	0,8	3,5	3,9	1,2
	<b>RV 2b- 1</b>	0,8	5,6	4,3	4,6	4,4	3,3	12,2	6,7	4,9	1,5	2,6	3,8	3,4	1,0
	<b>RV 2c- 1</b>	3,7	1,7	3,3	2,5	2,5	1,3	2,8	4,1	5,2	5,5	2,5	3,2	1,3	0,4
	<b>RV 2a- 2b</b>	0,3	6,0	7,1	4,0	4,7	2,8	14,4	0,8	0,4	2,8	3,4	3,4	2,5	0,8
	<b>RV 2a- 2c</b>	2,6	1,3	8,1	6,1	2,8	1,8	0,6	3,4	0,7	6,8	3,3	2,5	2,2	0,7
	<b>RV 2b- 2c</b>	2,9	7,3	1,0	2,1	1,9	4,6	15,0	2,6	0,3	4,0	0,1	3,0	2,3	0,7
<b>CO</b>	<b>RV 1</b>	21,8	23,6	20,5	16,2	18,0	24,2	28,5	22,7	18,1	28,2	27,0	22,6	4,2	1,3
	<b>RV 2a- 1</b>	0,4	3,5	5,6	0,4	1,3	1,1	3,7	2,0	0,7	3,4	4,3	2,4	1,8	0,5
	<b>RV 2b- 1</b>	2,4	0,8	3,2	1,6	3,4	1,4	4,6	1,2	0,7	3,9	0,5	1,9	1,2	0,4
	<b>RV 2c- 1</b>	2,3	0,5	2,7	0,9	0,3	2,0	0,8	0,2	0,5	0,5	0,7	1,0	0,9	0,3
	<b>RV 2a- 2b</b>	2,8	4,3	2,4	1,2	2,1	2,5	0,9	0,8	0,0	0,5	3,8	1,7	1,5	0,5
	<b>RV 2a- 2c</b>	2,7	3,0	2,9	1,3	1,6	3,1	4,5	2,2	0,2	3,9	5,0	2,8	1,4	0,4
	<b>RV 2b- 2c</b>	0,1	1,3	0,5	2,5	3,7	0,6	5,4	1,4	0,2	4,4	1,2	1,6	1,4	0,4

Legende:

EDV=Enddiastolisches Volumen [μl], ESV=Endsystolisches Volumen [μl], SV=Schlagvolumen [μl], EF=Ejektionsfraktion [%],

CO=Cardioac Output [ml/min], MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, SEM=Standardfehler

RV 1=rechtsventrikuläre Ergebnisse Untersucher 1

RV 2(a-c)=rechtsventrikuläre Ergebnisse Untersucher 2, Auswertungsdurchgänge a-c

### 6.1.4 Myokardmassenvergleich gegen Autopsie

Die 12 diesem Vergleich zugeführten Mäuse unterschiedlichen Alters und Geschlechts mit einem Gewicht von  $24 \pm 2\text{g}$  haben die kernspintomographische Untersuchung und die Narkose gut toleriert. Anschließend wurden die Tiere getötet, das Herz entnommen, präpariert und das rechtsventrikuläre Myokard gewogen. Der Vergleich der RV Masse zeigte für die MR-Bildgebung (RV MRT) mit  $26,8 \pm 1,8\text{mg}$  bei einem *ex vivo* ermittelten Feuchtgewicht (RV FG) von  $23,2 \pm 1,4\text{mg}$  ( $p < 0,001$ , mean  $3,7 \pm 0,6\text{ mg}$ ) nur geringe Abweichungen. Die Werte sind in Tabelle 6.5 aufgeführt.

Maus	KG [g]	Masse		Differenz [mg]	rel. Differenz [%]
		RV MRT [mg]	RV FG [mg]		
14	22	23,3	22,5	0,8	3,4
15	24	18,5	16,7	1,8	9,5
16	24	29,9	28,0	1,9	6,4
17	24	26,2	21,6	4,6	17,6
18	28	34,3	29,0	5,3	15,5
19	22	31,7	27,0	4,7	14,7
20	22	14,4	14,0	0,4	2,4
21	24	34,4	27,0	7,4	21,5
22	24	27,2	21,0	6,2	22,8
23	22	25,0	22,0	3,0	12,0
24	22	23,9	20,0	3,9	16,1
25	28	33,1	29,0	4,1	12,4
<b>MW</b>	<b>23,8</b>	<b>26,8</b>	<b>23,2</b>	<b>3,7</b>	<b>12,9</b>
<b>+/- SD</b>	<b>2,1</b>	<b>6,3</b>	<b>4,9</b>	<b>2,2</b>	<b>6,5</b>
<b>SEM</b>	<b>0,6</b>	<b>1,8</b>	<b>1,4</b>	<b>0,6</b>	<b>1,9</b>

Tabelle 6.5: Vergleich der autopsisch ermittelten und MRI-bestimmten RV Massen

Die Regressionsanalyse (siehe Abb. 6.7) zeigte eine sehr enge Korrelation der beiden Verfahren ( $r=0,96$ ,  $p < 0,0001$ )

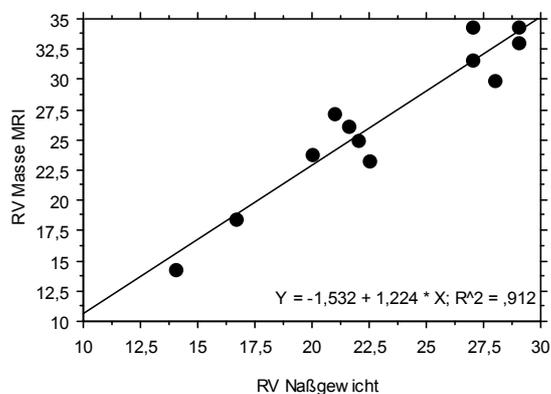


Abb. 6.7 Vergleich RV-Massenbestimmung MRI – Feuchtgewicht in[mg]

Die mittlere Abweichung von  $3,7 \pm 0,6\text{mg}$  (bzw. 12,9% relative Abweichung) zeigte, daß die MR-Bildgebung tendentiell etwas größere Werte ermittelt.

### 6.1.5 Wiederholbarkeit der Messungen (interstudy Vergleich)

Zur Darstellung der Wiederholbarkeit der Messungen wurden 3 zufällig ausgewählte Mäuse unterschiedlichen Geschlechts und Alters mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von  $23,3 \pm 0,7\text{g}$  bei einer Herzfrequenz von  $505,3 \pm 24,4$  Schlägen/min an aufeinanderfolgenden Tagen gemessen. Bei konstant guten Meß- und Auswertbedingungen ergaben sich folgende Werte:

Maus	KG HF		RV1					RV2				
	[g]	[bpm]	EDV [µl]	ESV [µl]	SV [µl]	EF [%]	CO [ml/min]	EDV [µl]	ESV [µl]	SV [µl]	EF [%]	CO [ml/min]
26	24	466,0	87,1	46,2	40,9	47,0	19,1	86,5	45,5	41,0	47,4	19,1
27	24	550,0	62,5	33,3	29,2	46,7	16,1	59,0	32,6	26,4	44,7	14,5
28	22	500,0	58,7	23,7	35,0	59,6	17,5	54,0	21,0	33,0	61,1	16,5
<b>MW</b>	<b>23,3</b>	<b>505,3</b>	<b>69,4</b>	<b>34,4</b>	<b>35,0</b>	<b>51,1</b>	<b>17,6</b>	<b>66,5</b>	<b>33,0</b>	<b>33,5</b>	<b>51,1</b>	<b>16,7</b>
+/- SD	1,2	42,3	15,4	11,3	5,9	7,4	1,5	17,5	12,3	7,3	8,8	2,3
+/-SEM	0,7	24,4	8,9	6,5	3,4	4,3	0,9	10,1	7,1	4,2	5,1	1,3

Maus	KG HF		Diff. absolut					Diff. relativ				
	[g]	[bpm]	EDV [µl]	ESV [µl]	SV [µl]	EF [%]	CO [ml/min]	EDV [%]	ESV [%]	SV [%]	EF [%]	CO [%]
26	24	466,0	0,6	0,7	0,1	0,4	0,0	0,7	1,5	0,2	0,9	0,0
27	24	550,0	3,5	0,7	2,8	2,0	1,6	5,6	2,1	9,6	4,2	9,9
28	22	500,0	4,7	2,7	2,0	1,5	1,0	8,0	11,4	5,7	2,5	5,7
<b>MW</b>	<b>23,3</b>	<b>505,3</b>	<b>2,9</b>	<b>1,4</b>	<b>1,6</b>	<b>1,3</b>	<b>0,9</b>	<b>4,8</b>	<b>5,0</b>	<b>5,2</b>	<b>2,6</b>	<b>5,2</b>
+/- SD	1,2	42,3	2,1	1,2	1,4	0,8	0,8	3,7	5,5	4,7	1,6	5,0
+/-SEM	0,7	24,4	1,2	0,7	0,8	0,5	0,5	2,2	3,2	2,7	0,9	2,9

Tab. 6.6: Darstellung der Werte zum interstudy Vergleich (Wiederholbarkeit der Messung)

Der interstudy Vergleich zeigte Differenzen des EDV von  $2,9 \pm 1,2 \mu\text{l}$  ( $4,8 \pm 2,2 \%$ ), des ESV von  $1,4 \pm 0,7 \mu\text{l}$  ( $5,0 \pm 3,2 \%$ ), des SV von  $1,6 \pm 0,8 \mu\text{l}$  ( $5,2 \pm 2,7 \%$ ), der EF von  $1,3 \pm 0,5 \%$  ( $2,6 \pm 0,9 \%$ ) und des CO von  $0,9 \pm 0,5 \text{ml/min}$  ( $5,2 \pm 2,9 \%$ ). EDV, ESV, SV und CO erwiesen sich in der Regressionsanalyse als signifikant ( $p < 0,05$ ) und zeigten wie auch die EF hohe Korrelationen (für alle  $r = 0,99$ ).

## 6.2 Teil II – Modell der Globalinsuffizienz: Myokardinfarkt

An 5 Mäusen unterschiedlichen Alters und Geschlechts wurde durch Ligatur der LAD ein Myokardinfarkt erzeugt. Die Mäuse wurden nach einem Intervall von ca. 4 Wochen der Messung zugeführt. Die Narkose und Untersuchung wurde von diesen Tieren mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von  $28,0 \pm 1,4$ g und einer HF von  $466 \pm 29,3$  Schlägen/Minute gut vertragen. Tabelle 6.7 zeigt die ermittelten LV und RV Parameter.

Maus	KG [g]	HF [bpm]	LV					RV					Infarkt- größe [%]
			EDV [μl]	ESV [μl]	SV [μl]	EF [%]	CO [ml/min]	EDV [μl]	ESV [μl]	SV [μl]	EF [%]	CO [ml/min]	
29	28	400,0	143,8	116,4	27,4	19,1	11,0	61,1	35,1	26,0	42,6	10,4	48,6
30	30	500,0	187,7	158,2	29,5	15,7	14,8	70,1	52,3	17,8	25,4	8,9	57,2
31	30	400,0	164,4	138,9	25,5	15,5	10,2	61,7	41,3	20,4	33,1	8,2	63,8
32	32	550,0	142,7	102,6	40,1	28,1	22,1	69,2	43,6	25,6	37,0	14,1	47,6
33	24	480,0	177,4	135,1	42,3	23,8	19,7	87,1	46,2	40,9	47,0	19,1	52,3
<b>MW</b>	<b>28,8</b>	<b>466,0</b>	<b>163,2</b>	<b>130,2</b>	<b>33,0</b>	<b>20,4</b>	<b>15,6</b>	<b>69,8</b>	<b>43,7</b>	<b>26,1</b>	<b>37,0</b>	<b>12,1</b>	<b>53,9</b>
<b>+/- SD</b>	<b>3,0</b>	<b>65,4</b>	<b>20,0</b>	<b>21,4</b>	<b>7,7</b>	<b>5,4</b>	<b>5,2</b>	<b>10,5</b>	<b>6,3</b>	<b>9,0</b>	<b>8,4</b>	<b>4,5</b>	<b>6,7</b>
<b>+/-SEM</b>	<b>1,4</b>	<b>29,3</b>	<b>8,9</b>	<b>9,6</b>	<b>3,4</b>	<b>2,4</b>	<b>2,3</b>	<b>4,7</b>	<b>2,8</b>	<b>4,0</b>	<b>3,7</b>	<b>2,0</b>	<b>3,0</b>

Tabelle 6.7: RV Bestimmung bei Herzinsuffizienz: post Myokardinfarkt

Bei einer durchschnittlichen Infarktgröße von  $53,9 \pm 3,0\%$  zeigte sich bei allen Mäusen eine aneurysmatische Aussackung des linken Ventrikels und das Bild einer Herzinsuffizienz. Der Vergleich der infarzierten Mäuse erfolgte mit dem aus Teil I untersuchten Normalkollektiv (jeweils Infarkttiere gegenüber Normalkollektiv). Linksventrikuläre enddiastolische ( $163,2 \pm 8,9 \mu\text{l}$  gegenüber  $74,3 \pm 3,7 \mu\text{l}$ , mean  $88,9 \mu\text{l}$ ,  $p < 0,0001$ ) und endsystolische ( $130,2 \pm 9,6 \mu\text{l}$  gegenüber  $27,0 \pm 3,4 \mu\text{l}$ , mean  $103,2 \mu\text{l}$ ,  $p < 0,0001$ ) Volumina waren gegenüber dem gesunden Mäusekollektiv signifikant erhöht. Linksventrikuläres Schlagvolumen ( $33,0 \pm 3,4 \mu\text{l}$  gegenüber  $47,3 \pm 2,0 \mu\text{l}$ , mean  $14,4 \mu\text{l}$ ,  $p < 0,005$ ) und Ejektionsfraktion ( $20,4 \pm 2,4 \%$  gegenüber  $64,4 \pm 3,1 \%$ , mean  $44,0\%$ ,  $p < 0,0001$ ) waren ebenso wie das Herzminutenvolumen ( $15,7 \pm 2,4 \text{ ml/min}$  gegenüber  $21,8 \pm 1,2 \text{ ml/min}$ , mean  $6,2 \text{ ml/min}$ ,  $p < 0,001$ ) signifikant reduziert.

Bezüglich der rechtsventrikulären Funktion zeigten sich ebenfalls deutliche Änderungen: Das rechtsventrikuläre endsystolische Volumen ( $43,7 \pm 2,8 \mu\text{l}$  gegenüber  $36,4 \pm 3,0 \mu\text{l}$ , mean  $7,3 \mu\text{l}$ ,  $p = \text{n.s.}$ ) war gegenüber dem gesunden Mäusekollektiv leicht erhöht, während rechtsventrikuläres enddiastolisches Volumen ( $69,8 \pm 4,7 \mu\text{l}$  gegenüber

84,1 ± 3,5 µl, mean 14,3 µl, p=n.s.), Schlagvolumen (26,1 ± 4,0 µl gegenüber 47,4 ± 2,1 µl, mean 21,6 µl, p<0,001), Ejektionsfraktion (37,0 ± 3,7 % gegenüber 57,0 ± 2,3 %, mean 20,1%, p<0,001) sowie Herzminutenvolumen (12,2 ± 2,1 ml/min gegenüber 21,9 ± 1,3 ml/min, mean 9,8 ml/min, p<0,001) signifikant reduziert waren.

### 6.3 Teil III – Modell der Rechtsherzinsuffizienz: Pulmonales

#### Banding

An 4 pulmonal gebandeten Mäusen wurde die MR-Bildgebung durchgeführt. Wegen starker Arrhythmie und folglich schlechter EKG-Triggerbarkeit konnte eine Maus nicht der Auswertung zugeführt werden. Schließlich wurden 3 Tiere mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 31,7 ± 2,8g und einer Herzfrequenz von 453,3 ± 29,1 Schlägen/min ausgewertet. Bei guter Bildqualität und EKG-Triggerung konnten diese Mäuse sowohl links- als auch rechtsventrikuläre Parameter sicher bestimmt werden.

Maus	KG [g]	HF	LV					RV				
			EDV	ESV	SV	EF	CO	EDV	ESV	SV	EF	CO
34	26	400	50,3	15,8	34,5	68,6	13,8	114,5	82,9	31,6	27,6	12,6
35	35	500	72,3	42,6	29,7	41,1	14,8	140,8	108,9	31,9	22,7	16,0
36	34	460	95,5	39,1	56,4	59,1	25,9	109,0	61,8	47,2	43,3	21,7
MW	31,7	453,3	72,7	32,5	40,2	56,3	18,2	121,4	84,5	36,9	31,2	16,8
+/- SD	4,9	50,3	22,6	14,6	14,2	14,0	6,7	17,0	23,6	8,9	10,8	4,6
+/- SEM	2,8	29,1	13	8,4	8,2	8,1	3,9	9,8	13,6	5,2	6,2	2,7

Tab. 6.8: RV und LV Daten pulmonal gebandeter Mäuse

Der Vergleich der pulmonal gebandeten Mäuse erfolgte mit dem aus Teil I untersuchten Normalkollektiv. Bei einer hohen intraoperativen Letalität wurden folgende Werte ermittelt: Die linksventrikulären Parameter unterschieden sich nur unwesentlich. Enddiastolische Volumina (72,7 ± 13,0 µl gegenüber 74,3 ± 3,7 µl, mean 1,7 µl, p=n.s.) sowie endsystolische Volumina (32,5 ± 8,4 µl gegenüber 27,0 ± 3,4 µl, mean 5,5 µl, p=n.s.) waren gegenüber dem gesunden Mäusekollektiv kaum verändert. Linksventrikuläres Schlagvolumen (40,2 ± 8,2 µl gegenüber 47,3 ± 2,0 µl, mean 7,2 µl, p=n.s.) und Ejektionsfraktion (56,3 ± 8,1 % gegenüber 64,4 ± 3,1 %, mean 8,2%,

p=n.s.) waren ebenso wie das Herzminutenvolumen ( $18,2 \pm 3,9$  ml/min gegenüber  $21,8 \pm 1,2$  ml/min, mean  $3,5$  ml/min, p=n.s.) nur unwesentlich different.

Bezüglich der rechtsventrikulären Funktion zeigten sich deutliche Änderungen: Das rechtsventrikuläre endsystolische Volumen ( $84,5 \pm 13,6$   $\mu$ l gegenüber  $36,4 \pm 3,0$   $\mu$ l, mean  $48,1$   $\mu$ l,  $p < 0,0001$ ) war gegenüber dem gesunden Mäusekollektiv hochsignifikant erhöht, ebenso das rechtsventrikuläre enddiastolische Volumen ( $121,4 \pm 9,8$   $\mu$ l gegenüber  $84,1 \pm 3,5$   $\mu$ l, mean  $37,3$   $\mu$ l,  $p < 0,005$ ). Die Ejektionsfraktion ( $31,2 \pm 6,2$  % gegenüber  $57,0 \pm 2,3$  %, mean  $25,9\%$ ,  $p < 0,001$ ) zeigte sich signifikant erniedrigt. Schlagvolumen ( $36,9 \pm 5,2$   $\mu$ l gegenüber  $47,4 \pm 2,1$   $\mu$ l, mean  $10,8$   $\mu$ l, p=n.s.) und Herzminutenvolumen ( $16,8 \pm 2,7$  ml/min gegenüber  $21,9 \pm 1,3$  ml/min, mean  $5,1$  ml/min, p=n.s.) waren gegenüber dem gesunden Kollektiv vermindert, die Unterschiede blieben aber unterhalb des Signifikanzniveaus.

## **7 Diskussion**

Das Fortschreiten der kardiovaskulären Grundlagenforschung beinhaltet mittlerweile Aspekte der Physik, Biogenetik, Werkstoffforschung und Chemie ebenso wie die klinische Untersuchung, Pharmakotherapie und Epidemiologie. Die Vorteile des Forschungsobjektes Maus, vor allem aus ökonomischer und biogenetischer Sicht, sind bereits eingangs geschildert worden. Heutzutage können Gene an- oder ausgeschaltet, verändert und hinzugefügt werden. Neben operativen und apparativen Methoden werden auf diese Weise neue Modelle für Krankheiten oder pathophysiologische Vorgänge geschaffen. Diese Modelle fordern zu neuen Fragestellungen und Ideen auf, bedürfen aber, wie 1992 von OLDERSHAW gefordert<sup>111,112</sup>, auch exakter Nachweis- und Beurteilungsmöglichkeiten. Neben makroskopischen oder laborchemischen Nachweisen ist dabei auch die Beurteilung über längere Lebensspannen, im Verlauf oder punktuell, von Interesse.

Auf dem großen Gebiet der Herzinsuffizienz-Forschung wurde der Beurteilung des rechten Ventrikels bisher wenig Beachtung geschenkt; seine Einschätzung im Kontext des versagenden Herzens veränderte sich von „dem verzichtbaren rechten Ventrikel“<sup>134</sup> über eine „essentielle Funktion“<sup>51</sup> zu einem „äußerst spezifischen Teil des kardiovaskulären Systems“<sup>46</sup>. Dennoch ist weiterhin nicht geklärt, ob die Verschlechterung der Prognose bei rechtsventrikulärem Versagen z.B. im Kontext der Globalinsuffizienz eine eigene pathologische Entität darstellt oder nur als Folge des linksventrikulären Versagens zu verstehen ist. Das stetig steigende Bewußtsein der Relevanz des rechten Ventrikels in der Pathologie und Prognose der Herzinsuffizienz wird durch die fortschreitende Bildgebungstechnik der letzten Jahre unterstützt und in der vorliegenden Arbeit aufgegriffen.

### **7.1 Methode**

#### **7.1.1 MR-Bildgebung**

WEISS stellt die MR-Bildgebung als Goldstandard der kardialen Mäusebildgebung dar und betont den einzigartigen Vorteil der inherenten Dreidimensionalität und des exzellenten Gewebekontrasts bei gleichzeitiger Nicht-Invasivität<sup>161</sup>. Damit stellt er die methodischen Vorteile gegenüber der Echokardiographie und Katheterverfahren

deutlich dar. Hohe räumliche und zeitliche Auflösung sowie die Feststellung, daß Nebenwirkungen auf biologische Untersuchungsgüter bei sachgemäßer Nutzung der in dieser Arbeit verwendeten Feldstärken und Untersuchungszeiten nicht nachzuweisen waren, ergänzen die Vorteile. Auch die Möglichkeit, Untersuchungsebenen völlig frei im Untersuchungsobjekt zu wählen sowie der ohne Zugabe von Kontrastmitteln erhältliche Gewebekontrast zwischen Flüssigkeit und geformtem Gewebe ermöglichen Ergebnisse bei weitgehend unbeeinflussten Meßbedingungen des kardiovaskulären Systems und geringem Nebenwirkungspotential. Hinsichtlich der räumlichen Auflösung besteht kein ernster Vergleich vor dem Hintergrund kardiovaskulärer Bildgebung am Mäuseherzen; Pixelgrößen im Bereich von  $100\mu\text{m}^2$  bietet keine andere bildgebende Methode.

EKG- und Atemtriggerung sind bei den bisher zur verwendeten Feldstärken unproblematisch, so daß gleichzeitig morphologische und physiologische Daten erhoben werden können. Die zeitliche Auflösung ist in den vergangenen Jahren immer besser geworden und ermöglicht z.B. bei der FLASH-Sequenz Bildraten von  $>100$  Bildern/sec.<sup>58</sup>. Auf diesem Weg konnte die MR-Bildgebung zum Goldstandard der kardialen Volumetrie an der Maus avancieren<sup>74,161</sup>.

Ein Kritikpunkt an der MR-Bildgebung ist die meist vertikal einzubringende Probe mit einer konsekutiv unphysiologischen Lagerung der Tiere. Neue Ergebnisse zeigen aber, daß keine orthostatischen Probleme entstehen<sup>167</sup>. Der hier verwendete Versuchsaufbau nutzt überdies einen horizontalen Aufbau, welcher diesen Vorwurf grundsätzlich abweist.

Auch der mögliche kardiodepressive Einfluß der Inhalationsnarkose mit Isofluran<sup>®</sup> ist aus der Erfahrung in unserem Projekt klein. Eine Upregulation der  $\beta$ -Rezeptoren für das verwendete Isofluran<sup>®</sup> ist zwar beschrieben worden, während des Versuches wurde aber regelmäßig die Herzfrequenz überprüft. Diese blieb, neben ihrer Temperaturanfälligkeit bei langer Meßdauer, weitgehend konstant.

### **7.1.2 Abgrenzung zu alternativen Verfahren**

Die 3D- und 2D-Echokardiographie hat ebenfalls große Fortschritte auf dem Gebiet kardialer Volumetrie gemacht. Die Vorteile dieser Verfahren liegen in dem geringeren Kostenaufwand und der weiteren Verbreitung. Außerdem ist das Wechseln zwischen unterschiedlichen Bildgebungsmodalitäten einfacher als bei der Kernspintomographie.

Dieser Vorteil gegenüber der MR-Bildgebung mit einer aufwendigen Datennachverarbeitung wird sich durch die Verbesserung der Computertechnik mittelfristig verringern. Ebenso sind Echokardiographiesysteme, die für die Untersuchung von Mäusen geeignet sind (30MHz), teurer als Geräte des klinischen Alltags.

Die genannten echokardiographischen Verfahren auch offensichtliche Nachteile gegenüber der MR-Bildgebung: die zugrundeliegende 2-Dimensionalität, das kleine Schallfenster zwischen den Rippen und die bekannte, hohe Untersucherabhängigkeit in Durchführung und Auswertung sind auch aus der Humanmedizin bekannt. In 2000 grenzte CHUANG die Vorteile der MR-Bildgebung gegenüber dem transthorakalem Echo ab, indem er hinsichtlich der auch in dieser Arbeit zu ermittelnden Werte für SV und EF den Vorteil eines dreidimensionalen Verfahrens gegenüber zweidimensionalen Daten exakt herausarbeitete<sup>21</sup>.

Die früher als Standard geltende Ventrikulographie ist zumindest semi-invasiv und nutzt Kontrastmittel. Außerdem bietet auch sie nur 2 Dimensionen. Ihr großer Vorteil ist die fast ubiquitäre Verbreitung der Technik und die schnelle Echtzeitbeurteilbarkeit. Für den Einsatz an der Maus bietet die Methode jedoch aufgrund der fehlenden Miniaturisierung wenig Einsatzmöglichkeiten; die von ROCKMAN et al. 1994 beschriebene und für Mäuse modifizierte digitalisierte Mikroangiographie des Herzens hat keine weitere Verbreitung gefunden.

Im Kontext energiereicher Strahlenquellen muß die Computertomographie erwähnt werden. Mittlerweile ist sie aus der Akutdiagnostik beim Menschen nicht mehr wegzudenken. Ihr Einsatz an der Maus ist allerdings durch die hohe Strahlenbelastung und geringe zeitliche Auflösung z. Zt. nicht vorstellbar.

### **7.1.3 Auswertung**

#### **7.1.3.1 Berechnungsmodell**

Seitens der Auswertung stellt sich zunächst die Frage nach der optimalen Berechnungsgrundlage. Die Simpson-Methode bietet die höchste Meßsicherheit und wurde trotz des größeren Zeitaufwandes bei Messung und Nachbearbeitung bevorzugt. Die Meßsicherheit basiert auf dem Verzicht auf geometrische Modelle, der Abbildung der Ventrikel ohne Zwischenräume und der geringen Schichtdicke.

Unveröffentlichte Vorversuche unserer Arbeitsgruppe haben gezeigt, daß auch andere Modelle zur Volumenberechnung in der MR-Bildgebung am linken Ventrikel der Maus ausreichend genaue Ergebnisse liefern können, auch wenn sie sich z.T. komplexer geometrischer Näherungen bedienen. Ob dies auch am rechten Ventrikel möglich ist, ist noch nicht geklärt. Es erscheint aber nicht plausibel, ohne zwingenden Grund das derzeit höchstauflösendste Bildgebungsverfahren einzusetzen, um anschließend geometrische Näherungen zu nutzen. Da die rechtsventrikuläre Geometrie und ihre Veränderungen unter pathophysiologischen Bedingung noch spekulativer Natur sind<sup>112</sup>, bietet die Kombination aus MR-Bildgebung und Simpson-Methode meiner Ansicht nach die zur Zeit optimale Grundlage für die Beurteilung des rechten Ventrikels der Maus.

### **7.1.3.2 Durchführung der Auswertung**

Neben der zeitaufwendigen manuellen Umfahrung der epi- und endokardialen Grenzen besteht auch die Möglichkeit, automatische Verfahren einzusetzen. Die mir zur Verfügung stehende Software des Instituts ließ eine halbautomatische Bestimmung zu, die sich jedoch als sehr korrekturbedürftig erwies. Damit stellte sie sich im Vergleich zur direkten manuellen Bewertung als zeitlich und bezüglich der Meßgenauigkeit als nachteilig heraus. Mit der Entscheidung manuell auszuwerten wird die Methode untersucherabhängig. Für die Auswertung ist dabei eine Instruktion durch einen erfahrenen Auswerter notwendig. Das Erlernen der Umfahrung und der anschließenden Volumenberechnung ist jedoch unproblematisch und ohne weiteres durch nicht-ärztliches Personal durchführbar. Auch die Abgrenzung der rechten Herzkammer von Blut und umliegenden Gewebe in den der Herzspitze nahen Schichten ist verhältnismäßig leicht. Schwieriger und von höherem Abweichungs- und Fehlerpotential sind die herzbasisnahen Schichten des rechten Ventrikels. Der rechte Ventrikel läuft hier einerseits weniger spitz zu und steht andererseits in ungünstigerem Winkel zu dem gleichzeitig abgebildeten rechten Vorhof und Ausflußtrakt (siehe Abb. 5.17). Daher entstehen mehr Partialvolumeneffekte an den Rändern des Ventrikels und größerer Entscheidungsbedarf, ob Vorhof, Ventrikel oder Ausflußtrakt vorliegen. Nach einer Einweisung, einigen Vorversuchen, der eigenständigen Auswertung von 2-3 Mäusen und nach dem Durchlaufen einer Lernkurve ist jedoch eine sichere Beurteilung des rechten Ventrikels möglich.

## **7.1.4 Modelle der Herzinsuffizienz**

### **7.1.4.1 LAD-Banding**

Das Banding des Ramus interventricularis anterior (RIVA, LAD) ist eine in der kardiovaskulären Forschung an unterschiedlichen Versuchstier häufig eingesetzte und etablierte Methode zur Erzeugung eines Myokardinfarktes und einer konsekutiven Globalherzinsuffizienz<sup>116,168</sup>. Sie ist operativ relativ unkompliziert durchführbar, da nach Eröffnen des Perikardsackes der RIVA in der Regel gut zugänglich ist. Die intraoperative Letalität der in unserer Arbeitsgruppe durchgeführten Operationen liegt bei 20%, direkt postoperativ bei 8,3%.

Der erzeugte Infarkt führt zu einer Minderung der Pumpkraft des Herzens und daher zu einer Herzinsuffizienz. Die Infarktgröße ist entsprechend der bekannten Auswertung in jeder Schicht zu bestimmen und auf das Gesamtmyokard zu beziehen. Dieses Vorgehen ist bereits durch unsere Arbeitsgruppe veröffentlicht worden<sup>168</sup>.

### **7.1.4.2 Pulmonales Banding**

Pulmonales Banding ist bisher nur einmal an Mäusen beschrieben worden<sup>124</sup>, die kardialen Konsequenzen sind jedoch nie mit der MR-Bildgebung oder einem vergleichbaren, standardisierten Verfahren ausgewertet worden. Über eine Druckerhöhung im Lungenkreislauf kommt es zu einer erhöhten Nachlast für den rechten Ventrikel, der bei Überlastung dekompenziert. Die Folge ist eine isolierte Rechtsherzinsuffizienz. Das pulmonale Banding an Mäusen stellt eine zur Zeit noch relativ unbekanntes Prozedur dar. Zum Zeitpunkt des Entstehens dieser Arbeit war nur die Veröffentlichung ROCKMANS und Mitarbeiter bekannt<sup>124</sup>. Sie stellen das von uns aufgegriffene Verfahren vor und überprüfen die Veränderungen am rechten Ventrikel genetisch, durch biochemische Analyse und mit Hilfe der digitalisierten Mikroangiographie. Nach ihrem Bericht von 1994 wurde das Verfahren nicht weiter aufgegriffen, was an der sehr spezifischen Validierungsmethode liegen könnte.

Die Entscheidung, das pulmonales Banding zur Erzeugung pulmonaler Hypertonie alternativen Modellen vorzuziehen, fußt auf verschiedenen Gedanken: Genetische Manipulationen sind bereits gut beschrieben, beinhalten aber neben den strengen gesetzlichen Auflagen hohe Kosten für die Beschaffung, Züchtung und Haltung der Tiere. Aufgrund des hohen apparativen Aufwandes stellt eine Haltung der Tiere in

Hypoxie ein logistisches und finanzielles Problem dar. Medikamentöse Induktionen müssen ebenfalls differenziert bewertet werden. Da es sich meist um Nebenwirkungen verschiedener Medikamente (Bleomycin, Amiodaron, verschiedene Chemotherapeutika) oder Stoffe (Monocrotalin) handelt, sind die Wirkungen und die Frage, ob der für das Modell gewünschte Nebeneffekt tatsächlich eintritt, zu bedenken. Ein Vorversuch unserer Arbeitsgruppe, das bei Ratten wiederholt erfolgreich zur Anwendung gebrachte Monocrotalin<sup>84,162</sup> (Crotaline<sup>®</sup>, Alkaloid der *Crotalis specc.*, im med. Fachhandel) an der Maus einzusetzen, ergab keinerlei signifikante Veränderungen bezüglich rechtsventrikulärer Geometrie, Volumina oder Funktion (Daten nicht gezeigt) und wirft die Frage nach der Übertragbarkeit des Schädigungsmodelles auf die Maus auf. Daher wurde auf weitere Pilotstudien mit Medikamenten verzichtet und das Operationsmodell gewählt.

Ein Vorteil eines operativen Modells ist die sichere manuelle Erzeugung des pulmonalen Hypertonus und somit die höhere Sicherheit gegenüber chemischer Induktion. Schwieriger ist vor diesem Hintergrund die ausreichende Stenosierung mit möglichst geringer postoperativer Mortalität. ROCKMAN ET AL. benutzen 25G-Kanülen zur Erzeugung moderater und 26G-Kanülen zur Erzeugung schwerer Stenosen. Im Vergleich mit den Ergebnissen des Aortenbandings unserer Arbeitsgruppe besteht darüber hinaus die Option, den Erfolg des Bandings kernspintomographisch nachzuweisen und gegebenenfalls in Zukunft zu quantifizieren<sup>171</sup>.

Die Erfahrungen dieser Arbeit zeigen, daß vor allem das operative Trennen von A. pulmonalis com. vom Aortenbogen sehr schwierig und häufig operationsbeendend ist. Weiterhin stellt die aufwendigere Operation ein größeres Problem für das Versuchstier dar. In diesem Zusammenhang ist auch die linksventrikulären Beteiligungen am Ergebnis des pulmonalen Bandings zu verstehen. Durch weitere Operationsroutine läßt sich die Operationsmethode jedoch verfeinern und damit die Letalität senken.

#### **7.1.4.3 Invasivität der Verfahren**

Für beide Operationen müssen Thorax und Perikard eröffnet werden. Hiermit ist die vollkommene Unversehrtheit des kardiovaskulären Systems prinzipiell nicht mehr gegeben. Perioperativ wurde daher strikt keimarm gearbeitet, um eine zusätzliche Infektion zu verhindern. Nach der Operation wurde den Tieren eine Erholungsphase zugestanden, die auch zu einer Heilung der Wunden führte. Es kann somit von einem

grundsätzlich ungestörten kardiopulmonalen System gesprochen werden, insbesondere da in keinem der angefertigten Bilder ein intrapleuraler Flüssigkeitsspiegel nachgewiesen werden konnte.

## **7.2 Diskussion der erhobenen Daten und Ergebnisse**

### **7.2.1 Allgemeine Betrachtung**

Hinsichtlich der Nichtinvasivität und seriellen Einsetzbarkeit des Verfahrens ist festzustellen, daß alle Mäuse die MR-Bildgebung überlebt haben. Damit stehen die Tiere außerdem einer seriellen Untersuchung zur Verfügung. Bei optimalen Meßbedingungen konnten die Schichten schnell geplant werden. Die Meßdauer gestaltete sich frequenzabhängig. Trotz der leicht kardiodepressiven Wirkung des Inhalationsnarkotikums blieben die Mäuse frequenzstabil. Innerhalb eines RR-Intervalls wurden durchschnittlich 12 Meßpunkte (frames) aufgenommen.

### **7.2.2 Methodvalidierung**

#### **7.2.2.1 Vergleich links- und rechtsventrikulärer Volumina**

Die Ergebnisse dieses Ausgangsversuches zeigten eindeutig, daß LV und RV Volumina im Sinne der physiologischen Bedingungen vergleichbar sind. Als Maßstab sind SV und CO anzusehen. Aus der Physiologie kann abgeleitet werden, daß rechter und linker Ventrikel beim Gesunden annähernd identische Volumina fördern müssen. Dies demonstrierten sowohl die absolut erhobenen, hochsignifikanten Einzelwerte, die Mittelwerte (LVSV gg. RVSV:  $47,3 \pm 8,2$  gg.  $47,7 \pm 8,9\mu\text{l}$ ;  $p < 0,0001$ ,  $r = 0,97$ ) aber auch die Regressions- und Bland-Altman-Analyse. Bei erwartungsgemäß hohen Korrelationen zeigte der Auftrag der Abweichungen der Einzelwerte vom Mittelwert gegen den Mittelwert selbst eine geringe Streuung und lag in einem für derartige Messungen vertretbaren engen Fenster.

Somit läßt sich feststellen, daß die Auswertbarkeit des rechten Ventrikels in gleichem Maße wie die des bereits etablierten linken Ventrikels gegeben ist. Für den Vergleich links- und rechtsventrikulärer EDV, ESV und EF wurde ebenfalls die physiologische Vorgabe bestätigt<sup>101</sup>: RV EDV und ESV waren signifikant höher (LVEDV gg. RVEDV  $74,3 \pm 13,4$  gg.  $84,1 \pm 14,6 \mu\text{l}$ ;  $p < 0,05$ ), RV EF entsprechend niedriger als die LV Korrelate (LVEF gg. RVEF  $64,4 \pm 10,3$  gg.  $57,0 \pm 8,1 \%$ ;  $p < 0,05$ ). Dabei zeigten sich

sämtliche Werte in guter Übereinstimmung mit den bekannten und validen Normwerten aus der Humanphysiologie<sup>139,175</sup>.

Die hier ausgewertete Gruppe von Mäusen konnte ebenfalls als Normkollektiv herangezogen werden.

#### **7.2.2.2 Intraobserver Vergleich**

Der Vergleich der wiederholten rechtsventrikulären Einzelmessungen eines Untersuchers (RV 2a, b und c) soll demonstrieren, daß mehrfache Wiederholung idealerweise die gleichen Werte erzeugt. Die Werte der untersuchten Teilvolumina variierten zwischen 5 und 14%; die Mehrheit der Werte wich zwischen 7 und 11% voneinander ab. Insbesondere die bisher zur Diagnostik herangezogenen Parameter SV, EF und CO variierten in dieser Teilstudie um 4-11%.

#### **7.2.2.3 Interobserver Vergleich**

Der Vergleich der rechtsventrikulären Ergebnisse zwischen zwei Untersuchern (interobserver variability) unterstreicht neben der relativen Untersucherunabhängigkeit der Methode ebenfalls ihre Wiederholbarkeit. Verglichen wurden dazu die Einzelmeßergebnisse des Untersuchers 2 (RV2a,b,c) mit dem Ergebnis des ersten Untersuchers (RV1).

Auch hier variierten die ermittelten Werte im Bereich von 5-13% und es war wiederum das ESV, das die höchsten Abweichungen zeigte (11-13%); SV, EF und CO variierten dagegen wie im Vorversuch in engeren Grenzen (5-10%). Die Bland-Altman-Analyse gibt die vertretbar enge Streuung der Werte wieder (Abb. 6.5), was von einer guten Korrelation der RV SV Werte unterstrichen wird (Abb. 6.6).

#### **7.2.2.4 RV Myocardmasse gegen MR-Feuchtgewicht**

Um die Genauigkeit der Methode zu untersuchen und eine Basis für kommende Versuchsreihen mit Quantifizierung hypertrophierender Vorgänge darzustellen, wurde die mittels MR-Bildgebung ermittelbare Masse mit dem autoptischen Feuchtgewicht an 12 Versuchstieren verglichen. Bei  $23,2 \pm 1,4\text{mg}$  präpariertem und  $26,8 \pm 1,8\text{mg}$  berechnetem Herzgewicht (Varianzen von  $3,7 \pm 0,6\text{mg}$ ) zeigte sich, daß die MR-Bildgebung bei sehr guter Korrelation ( $r=0,96$ ,  $p<0,0001$ ) der Werte tendentiell zu einer Überschätzung der Myokardmasse neigt. Trotzdem lagen die Werte bei 1-7% Abweichung ausreichend nah aneinander, um diesen Aspekt in der Zukunft nutzen und

um Aussagen über Herzmuskelmassen-Veränderungen treffen zu können. Der systematische Fehler einer konstanten Überschätzung der Werte läßt sich am ehesten mit der komplexen Situation bei der Bewertung der basalen Abschnitten des Herzens erklären. Hier kann es schwierig sein, atriale und ventrikuläre Myokardmassen mit höchster Genauigkeit voneinander zu unterscheiden. Dies liegt einerseits an der Bewegung des rechten Ventrikels und Atriums durch die Bildebene, andererseits an den räumlichen Beziehungen.

#### **7.2.2.5 Interstudy Vergleich**

Das repetitive Messen derselben Maus unterstreicht die Wiederholbarkeit des Meßverfahrens. Die Ergebnisse der drei untersuchten Mäuse zeigen die exzellente Reproduzierbarkeit der MR-Quantifizierung des rechten Ventrikels. Bei durchgehend guter Signifikanz und hohen Korrelationen ( $p < 0,05$ ,  $r = 0,99$ ) sind Abweichungen von durchschnittlich 1-5% Beweis für eine hohe Genauigkeit. Damit können die Einflüsse des Verfahrens auf Unterschiede der RV Ergebnisse als gering angegeben werden.

#### **7.2.3 Modell der globalen Herzinsuffizienz**

Das LAD-Banding ist ein in der experimentellen Kardiologie routinemässig angewendetes Verfahren zur Erzeugung einer Globalinsuffizienz nach Myokardinfarkt<sup>168</sup>. Die mit vorbeschriebener Technik nachgewiesenen Infarktgrößen von  $53,9 \pm 3,0\%$  (47,6-63,8%) beweisen die erfolgreiche Infarzierung eines großen Myokardareals.

Die Veränderungen am linken Ventrikel verhielten sich gemäß der pathophysiologischen Vorstellung bei Linksherzinsuffizienz. Der geschädigte linke Ventrikel fördert das Blut nicht in ausreichendem Maß, das Schlagvolumen sinkt und damit auch das Herzminutenvolumen. Ebenso fiel die Ejektionsfraktion als Verhältnis von Schlagvolumen zu enddiastolischem Volumen. Diese logischen Vorgaben konnte auch am Modell nachvollzogen werden: EDV und ESV stiegen signifikant, SV, EF und CO sanken konsekutiv deutlich. Auch die Ejektionsfraktion als Parameter der Kontraktilität war signifikant auf  $20,4 \pm 2,4\%$  im Vergleich zu  $64,4 \pm 3,1\%$  im Normalkollektiv reduziert ( $p < 0,0001$ ).

Am rechten Ventrikel werden im Allgemeinen vergleichbare Veränderungen erwartet. Nach Insuffizienz des linken Ventrikels entsteht für die rechte Kammer eine

erhöhte Nachlast, die auf Dauer über die damit verbundene Mehrarbeit eine Insuffizienz bedingt. SV, EF und CO waren erniedrigt, nicht jedoch in der Deutlichkeit wie bei den linksventrikulären Veränderungen. An EDV und ESV fiel auf, daß das ESV nur leicht erhöht, das EDV sogar leicht gesunken war.

Bei der Betrachtung dieser Daten ist zu berücksichtigen, daß klinische Zeichen einer Rechtsherzbelastung an der Maus nicht abzulesen sind. Die RVEF von  $37,0 \pm 3,7\%$  zeigte jedoch eindeutig eine Rechtsherzinsuffizienz (RVEF des Normalkollektivs  $57,0 \pm 2,3\%$ ). Die beschriebenen MR-Untersuchungen wurden im Mittel 4 Wochen nach den Pulmonalbanding-Operationen durchgeführt. Die Beobachtung eines nur wenig veränderten enddiastolischen Volumens könnte darauf zurückgeführt werden, daß der gewählte Meßzeitpunkt vor allem für die RV Beteiligung bei LV Rückwärtsversagen zu früh für die volle Ausprägung rechtsventrikulärer Veränderungen gewählt wurde und die erwartete Dilatation noch nicht vollständig ausgeprägt war.

In diesen Sinne kann auch das reduzierte EDV verstanden werden, das den pathophysiologischen Vorgaben nicht zu entsprechen scheint. Es kann eventuell als Hinweis auf den Fortschritt der Rechtsherzinsuffizienz gewertet werden. Eine mögliche Kammerhypertrophie läßt ein zunächst vermindertes EDV vermuten; erst die Dekompensation mit Dilatation des Ventrikles führt zu einem erhöhten EDV, so daß spekuliert werden kann, inwiefern das erniedrigte EDV bei noch nicht vollständig erniedrigter EF für noch ausreichende hypertrophe Kompensationsmechanismen sprechen könnte. Dieser Gedanke kann durch die Betrachtung der Ursache für den Kompensationsbedarfs unterstützt werden: Durch die Infarzierung besteht das initiale Problem des LV aus der verminderten kontraktilen Myokardmasse. Für den rechten Ventrikel entsteht aus dem Rückwärtsversagen eine Nachlasterhöhung auf die nach bestehendem Modelldenken mit Hypertrophie reagiert wird.

Insgesamt zeigen die Werte jedoch eindrücklich die rechtsventrikuläre Beteiligung bei Globalinsuffizienz im Sinne einer Rechtsherzinsuffizienz und können Anstoß für eine weitere Klärung dieses Verlaufes darstellen.

#### **7.2.4 Modell der Rechtsherzinsuffizienz**

Die drei zur Auswertung gekommenen Tiere wurden, wie auch die Tiere der Vorgruppe, mit den 13 aus dem ersten Versuchsteil als Normalkollektiv bezeichneten Tieren verglichen. Nach Stenosierung der Pulmonalarterie erwartet man eine isolierte

Belastung der rechten Herzkammer. Bei gesteigerter Nachlast entstehen erhöhte Drücke für den rechten Ventrikel, was die Wandspannung erhöht. Diese kann nach LAPLACE mit erhöhtem Radius (Dilatation und erhöhte Volumina) oder Wandverdickung (Hypertrophie) kompensiert werden. Das linke Herz soll dabei nur durch den möglicherweise erhöhten intraperikardialen Druck und eine paradoxe Septumbewegung<sup>88</sup> akut beeinträchtigt sein.

Wie bei diesem Schädigungsmodell erwartet, variierten die linksventrikulären Volumina nur unwesentlich vom Normalkollektiv. LVSV und CO blieben unverändert, die EF mit 56,3% im Normbereich. Die mittleren Varianzen der Werte lagen im Bereich des Standardfehlers der Messungen.

Rechtsventrikulär zeigten sich deutlichere Unterschiede. Das endsystolische Volumen hat sich mehr als verdoppelt, das enddiastolische war um mehr als 50% erhöht. Die für die klinische Definition der Herzinsuffizienz wichtige RVEF sank hochsignifikant auf  $31,2 \pm 6,2\%$  (Normalkollektiv  $57,0 \pm 2,3\%$ ,  $p < 0,0001$ ) und zeigte damit deutlich die Insuffizienz des rechten Ventrikels. Weniger deutlich und nicht signifikant blieben die Veränderungen des SV und des CO. Zwar sanken beide, die Werte erwiesen sich aber nicht signifikant.

Diese Teilergebnisse demonstrierten eindrucksvoll die Konsequenzen des pulmonalen Bandings auf RV Struktur und Funktion. Es ist allerdings wahrscheinlich, daß diese Werte nur einen frühen Ausschnitt der progredienten Rechtsherzinsuffizienz darstellen. Wie progredient dieser Prozess verläuft und ob er eine Einschränkung der Funktion des linken Herzens beinhaltet, muß in anderen Studien mit größerem Tierkollektiv und serieller Betrachtung der RV Parameter gezeigt werden.

Das von ROCKMAN und Mitarbeitern aufgegriffene Modell zeigt jedoch ein deutliches Problem gegenüber den medikamenten- oder hypoxieinduzierten Beispielen: die hohe perioperative Letalität der bislang noch relativ selten durchgeführten Operation. Die Schwierigkeiten entstehen durch die schwierige Trennung der A. pulmonalis communis aus ihrer bindegewebigen Umgebung. Dabei kommt es häufig zu Läsionen der A. pulmonalis oder der Aorta. Geringer sind die Probleme nach erfolgter Stenosierung der Pulmonalarterie, die die Maus in der Regel gut toleriert. In der postoperativen Phase der Tiere verstarb nur ein Tier beider Operationsmodelle.

Mit zunehmender Erfahrung ist dieses Modell sicher zu verbessern. Trotz der geringen Zahl der resultierenden Versuchstiere läßt sich ein deutlicher Trend der Ergebnissen ablesen.

## **7.3 Limitationen**

### **7.3.1 Verfahren und Methode**

#### **7.3.1.1 MR-Bildgebung**

Die hochaufgelöste cine-MR-Bildgebung ist zur Zeit an nur wenigen Zentren einsetzbar. Die technische Ausrüstung sowie das physikalische Grundwissen zur Nutzung und Weiterentwicklung ist teuer und noch immer weniger verbreitet, als alternative Bildgebungsverfahren wie beispielsweise die Echokardiographie. Da die MR-Bildgebung durch ihre Nichtinvasivität, das Fehlen von energiereichen Strahlen, ihre zeitliche und örtliche Auflösung sowie ihre stetige Weiterentwicklung immer weitere Verbreitung findet, wird diese Aussage aber schon mittelfristig überholt sein.

Wie auch die Echokardiographie bedarf die hier dargestellte Methode geschulter Untersucher. Die Bedienung und Messung am Kernspintomographen ist jedoch nach schon ausgearbeiteten Algorithmen für neue Anwender automatisierbar. In der Auswertung können einfache Richtlinien dazu dienen, systematische Fehler zu vermeiden. Damit entfallen große Teil der Untersucherabhängigkeit, die die Bewertung und Durchführung der Echokardiographie bestimmen. Ebenso können Daten einfacher von einer den Tomographen bedienenden Person einem weiteren, unabhängigen Auswerter weitergegeben werden.

Wünschenswert wäre in Ergänzung zu den MR-Daten die Erhebung von intraventrikulären Druckmessungen<sup>111</sup> die die RV Beurteilung komplettieren würden. Diese ist jedoch invasiv und endet durch den intraarteriellen Zugang mit dem Tod des Tieres nach Versuchsende. Findet eine weitere Miniaturisierung nicht-magnetischer Meßkatheter statt oder wird eine andere an der Maus durchführbare Methode zur Druckmessung bereitgestellt kann dieser Spagat ohne weiteres mit der hier demonstrierten Methode überwunden werden.

Zur Zeit ist seitens der MR-Bildgebung eine Messung der Flußgeschwindigkeit möglich, von der indirekte Hinweise auf Druckdifferenzen ableitbar erscheinen. Dazu werden jedoch Meßsequenzen benötigt, die eine längere Untersuchungszeit bedingen.

Der Versuch stellt außerdem mit gegebenenfalls mehrfacher Narkose zur seriellen Beurteilung, Temperaturschwankungen und periexperimenteller Atmosphäre eine Belastung für jedes Versuchstier dar. In Vorversuchen waren insbesondere neugeborene transgene Mausmodelle nur bedingt meßbar, alle Tiere der hier vorliegenden Arbeit konnten jedoch auch in serieller Messung sehr gut beurteilt werden.

#### **7.3.1.2 EKG-Triggerung**

Methodisch gesehen bedarf die Messung einer vollen cine-Sequenz über alle links- und rechtsventrikulären Schichten frequenzabhängig zwischen 45 und 70 Minuten. Daher sind anfällige Mausmodelle mit starker kardialer Dekompensation und in der Folge häufig auftretender Rhythmusstörungen nur bedingt meßbar. Auch genetisch veränderter Mäuse und ihr zum Teil stark beeinflusster Herzrhythmus unterliegen diesem Problem. Da die cine-Messungen EKG-getriggert durchgeführt werden müssen, sind stark veränderte Rhythmen zum Teil nur eingeschränkt meß- oder auswertbar. Vor allem den RR-Abstand häufig variierende oder die Repolarisationsphase stark störende Veränderungen können die resultierende Bildqualität stark stören. Dies kann trotz stetiger Verbesserung der EKG-Technik dazu führen, daß Tiergruppen nicht ausgewertet werden können.

Die Tatsache, daß ein „echter“ endsystolischer und enddiastolischer Zeitpunkt nie mit absoluter Sicherheit getroffen werden kann, wurde definitionsgemäß umgangen, indem der Moment geringster bzw. maximaler Ventrikelfüllung als Endsystole bzw. Enddiastole ausgewertet wurde. Auch diese Annahme beinhaltet einen systematischen Fehler, der einen Teil zur beobachteten Varianz beiträgt. Weiter fortgeschrittene Meßsequenzen können in Zukunft dazu beitragen, daß dieser Fehler weiter reduziert wird.

Durch die hohe Zahl der Mittlungen, die für einen Meßzeitpunkt gewählt wurden, ist allerdings auch dieser Fehler insgesamt als gering einzuschätzen. Ebenso ist die bei MARVING et al. angenommene Schlag-zu-Schlag-Variation<sup>101</sup> der Einzelvolumina vor dem Hintergrund der Mittelungszahl zu vernachlässigen.

#### **7.3.2 Modelle**

Die Zahl der in den Modellen zur Auswertung gekommenen Versuchstiere ist klein. Daher soll das pulmonale Banding nur als Anwendungsbeispiel verstanden werden. Die

anderen Versuchsteile können, vor allem aufgrund ihrer hohen Korrelationen und Signifikanzen auf größere Kollektive übertragen werden. Die schwierig durchzuführende Operation weist durch die bisher geringe Erfahrung eine hohe Mortalität auf. Mit der steigenden Operationsroutine wird eine Verbesserung der OP-Letalität erzielt werden können.

Weiterhin sind die Beurteilung der rechtsventrikulären freien Wand bei einer räumlichen Auflösung in dieser Arbeit von ca. 0,1mm sowie die konstante Überschätzung der rechtsventrikulären Masse mittels MR-Bildgebung Hinweis darauf, daß Absolutquantifizierungen von rechtsventrikulärer Hypertrophie nicht trivial sind.

## **7.4 Zusammenfassung**

Diese Arbeit zeigt erfolgreich die Durchführbarkeit hochaufgelöster Volumetrie mittels MR-Bildgebung am rechten Ventrikel, sowohl an der gesunden Maus als auch an zwei ausgewählten Modellen der Herzinsuffizienz. Es wurde gezeigt, daß an gesunden Versuchstieren untersucherunabhängig ausreichend verlässliche und reproduzierbare Werte ermittelt werden können. Die Methode ist somit geeignet, am pathophysiologischen Modell angewendet zu werden.

In dem hier demonstrierten Modell der Globalinsuffizienz durch LAD-Banding konnten eindrucksvoll die linksventrikulären und rechtsventrikulären morphologischen und funktionellen Veränderungen gezeigt werden. Auch das Modell einer isolierten Rechtsherzinsuffizienz kann trotz der kleinen Zahl der Versuchstiere und bei noch hoher perioperativer Letalität für weitere Versuche genutzt werden. Die Ergebnisse versprechen eine deutliche Verschlechterung der Funktion des rechten Herzens bei weitgehend unbeeinflusstem linken Ventrikel und geben Hinweise auf möglicherweise zeitlich unterschiedliche Verläufe bei rechtsventrikulären Kompensationsmechanismen. Insgesamt kann der Aufforderung OLDERSHAWs nach einer akkuraten und wiederholbaren Methode zur Erhebung rechtsventrikulärer Parameter entsprochen werden<sup>112</sup>. Die Methode ist zudem gut mit Ergebnissen der kardialen Bildgebung am Menschen vergleichbar<sup>33,127,166</sup>.

## **7.5 Ausblick**

Die guten Ergebnisse und die vielversprechende Weiterentwicklung der MR-Bildgebung lassen weitreichende und interessante Möglichkeiten erahnen, zu deren

Grundlage diese Arbeit einen Beitrag leisten kann. In Anlehnung der Ergebnisse des linken Ventrikels kann die Entwicklung von Kontraktilität und Volumina über die Lebensspanne der Maus am gesunden und modellhaft kranken Versuchstier gezeigt werden<sup>170</sup>, Modelle zur Funktionsdiagnostik ähnlich dem Dobutamin-Streßtest<sup>168</sup> aber auch die Phänotypisierung genetischer Variationen können über die Zeit beobachtet werden. Auch die Quantifizierung des erreichten Stenosegrades an der Pulmonalarterie kann in zukünftigen Messungen erfolgen, was eine Korrelation des Stenosegrades und seiner Auswirkungen sowie indirekt den Rückschluß von der Größe der Nachlast auf die Reaktion des rechten Ventrikels zuließe.

Dem Postulat OLDERSHAW'S, ventrikuläre Funktionsdiagnostik könne nur in Intergration volumetrischer Ergebnisse mit gleichzeitiger Druckmessung, Bestimmung der Kontraktilität und der externalen Einflüsse sinnvoll erfolgen<sup>112</sup>, wird dadurch nicht widersprochen. Vielmehr ist ein Grundstein für einer weiterführende Diagnostik gelegt. Insbesondere die Messung der Kontraktilität ist ohne weiteres in Anlehnung an die bereits vom linken Ventrikel bekannten Daten möglich. Auch die Ergänzung der vorgestellten Methode mit einer biochemischen und histologischen Aufarbeitung gemessener Schädigungsmodelle ist durchaus denkbar und vervollständigt die zukünftige Beurteilbarkeit rechtsventrikulärer Morphologie und Funktion.

Weiterführende Entwicklungen sind nicht nur in Form der Messung verschiedener therapeutischer oder pathophysiologischer Verlaufsstudien von Mausmodellen zu erwarten. An Schädigungsmodellen, die zu einer deutlichen Abnahme der rechtsventrikulären Wanddicke z.B. durch maximale Dilatation oder Narbe führen, kann dann auch sicher die Veränderung der Kontraktilität und die Veränderung der Myokardmasse über die Zeit demonstriert werden.

Auch hinsichtlich der Auswertung können halb- oder vollautomatische Module die Abhängigkeit von einem Untersucher und den großen Zeitaufwand minimieren helfen. Intelligente Software, die sich der Fuzzy-Logik (Programme mit Entscheidungsalgorithmen) bedient wird in der kardialen Volumetrie entwickelt.

Ebenso ist seitens der Mausmodelle durch Operations- und Gentechnik ein weites Spektrum der Möglichkeiten eröffnet. Neue (z.B. doppel-Knockout-) Mausmodelle sowie die immer weiter fortschreitenden Entdeckungen neuer kardial kodierender Gene können mit der vorgestellten Methode nun vollkommener beurteilt werden. In den

vergangenen 10 Jahren konnten über 1400 übereinstimmende Genloci im Vergleich der menschlichen Genkarte mit der der Mäuse festgestellt werden<sup>29</sup>. Davon sind auch kardial kodierende Gene betroffen, der implizierte Bedarf an Phänotypisierung ist weitreichend.

Durch die in Zukunft sinkenden Kosten der MR-Bildgebung, der konsekutiv weiteren Verbreitung und damit routinierteren Anwendung kann auch die kommerzielle Nutzung möglich werden. In „Mäusekliniken“ könnte die hochaufgelöste cine-MR-Bildgebung ein potentes Instrument zur serienhaften Testung von Wirkungen und unerwünschten Effekte pharmakologischer Stoffe und genetischer Modifikationen darstellen. Erfahrungen der Arbeitsgruppe zeigen, daß seitens der Industrie schon jetzt ein Interesse an einer Kooperation und Nutzung des unter anderem in dieser Arbeit gezeigten Wissens im Sinne einer Dienstleistung besteht.

„MRI is probably [...] the leading noninvasive technique for characterizing the structure and function of the irregularly shaped right ventricle in mice [...].“<sup>161</sup>

## **Anhang**

### **A – Elektronische Literaturrecherche**

Die Literaturrecherche zu dieser Arbeit umfaßte neben dem Auffinden von Textstellen in den entsprechenden Printmedien die Suche nach Literaturstellen unter <http://www.pubmed.org>. Unter dieser im Internet frei zugänglichen Adresse kann nach Stichworten, Sätzen oder nach Autoren abgefragt werden. Die Resultate sind Veröffentlichungen der gewählten Themen, Jahre, Autoren etc. Bereitgestellt wird dieser Service von der amerikanischen Regierung und ist nicht abhängig oder beeinflusst von privaten oder gewerblichen Geldgebern.

### **B – Genom der Maus**

Das Genom der Maus ist mittlerweile veröffentlicht und über das Internet jedem zugänglich. Unter <http://www.ucbi.nlm.nih.gov/> sind die zum Zeitpunkt des Entstehens der Arbeit entschlüsselten 96% der Gene einsehbar, zum Herunterladen freigegeben und die eingesetzten Techniken beschrieben.

### **C - Invertierte Gradienten und Pulssequenz-Diagramm**

Wird nach Anwenden eines  $90^\circ$ -HF-Pulses nichts unternommen, läuft die Quermagnetisierung  $V_Q$  nach Ende des Pulses entsprechend der Relaxationszeiten langsam wieder gegen null.  $V_Q$  zerfällt außer mit der gewebspezifischen  $T_2$  auch mit der kleineren Zerfallskonstanten  $T_2^*$ , die durch Magnetfeldinhomogenitäten bestimmt wird, und nicht zum Signal beitragen soll. Daher ist ein langsam abfallendes („längeres“)  $T_2^*$  von Vorteil, da bis zum späteren Entstehen des Echos weniger Signal verloren geht als bei kurzer  $T_2^*$ .

Bei dem in dieser Arbeit verwendeten Gradientenecho nutzen wir schnell invertierte Gradienten im Anschluß an den slice- oder read-Gradienten. Während der Lese-Phase, in der nach einem negativen nun ein positiver Gradient  $G_x$  von gleicher Fläche unter dem Grad wie im Schichtauswahlgradienten angewendet wird (siehe graue Flächen der Abb. A.1), kommt es zu einem langsam ansteigenden und anschließend wieder abfallenden FID-Signal. Dieses wird als Echo bezeichnet. Die Möglichkeit des schnellen Invertierens hängt dabei maßgeblich von der  $T_1$ -Relaxationszeit ab: Nach jedem

Repetitionsintervall muß ausreichend Längsmagnetisierung wiederhergestellt werden. Kurze T1-Werte ermöglichen so schnelle Repetitionszeiten.

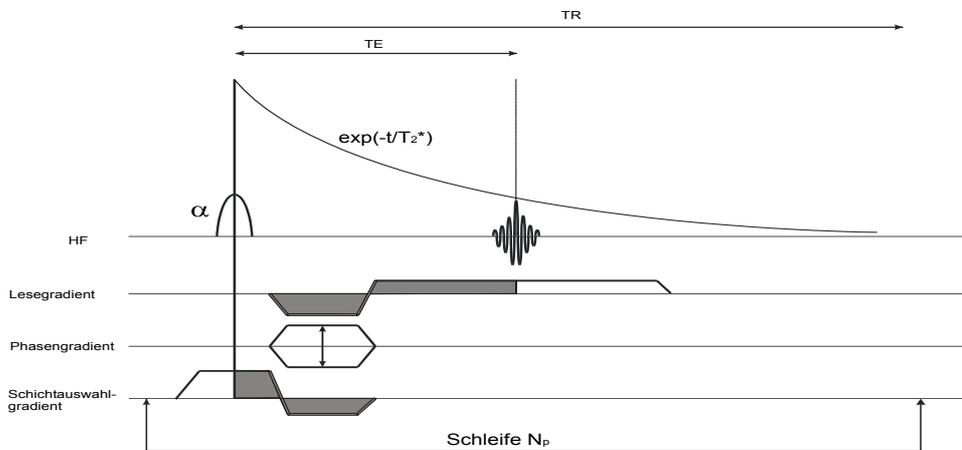


Abb. A.1: Pulssequenzdiagramm des zur Anwendung gebrachten Gradientenechos. Flächen gleicher Färbung entsprechen gleicher Größe.

Die Grafik zeigt den 90°-HF-Puls  $\alpha$  während gleichzeitig der Schichtauswahlgradient ( $G_s$ ) angelegt wird. Gradient und 90°-Puls bieten bei definierter Bandbreite des Pulses die Voraussetzung, genau eine Schicht zu definieren. Da auch bei  $G_s$  eine Dephasierung stattfindet, die jedoch nicht erwünscht ist, wird der  $G_s$  zur Beendigung ins Negative gedreht um eine Rephasierung zu erreichen. Während der Rephasierung des  $G_s$  kann der Phasengradient  $G_p$  in der nächsten Raumrichtung angelegt werden. Dabei prägt er den Spins eine Phase auf. Dieser Gradient wird anschließend nicht invertiert, da die Dephasierung den Beitrag zur räumlichen Auflösung liefert. Der Lesegradient  $G_L$  wird zum Ende des Phasengradienten negativ angelegt und erzeugt nach Invertieren ein Gradientenecho. Die Zeit zwischen dem 90°-HF-Puls und dem willkürlichen Auslesen des Signals bezeichnet man als Echozeit (TE). Diese Echo wird  $n_{\text{read}}$ -fach zu bestimmten Zeitpunkten abgetastet. Zur Auflösung in Phasenrichtung wird das Experiment außerdem  $n_{\text{phase}}$ -fach mit unterschiedlich starkem  $G_p$  wiederholt.

## D – Aufbau der MR-Bildgebung

Die Abbildung gibt einen schematischen Überblick über den Aufbau des in der Arbeit verwendeten Kernspintomographen Bruker Biospec 70/20.

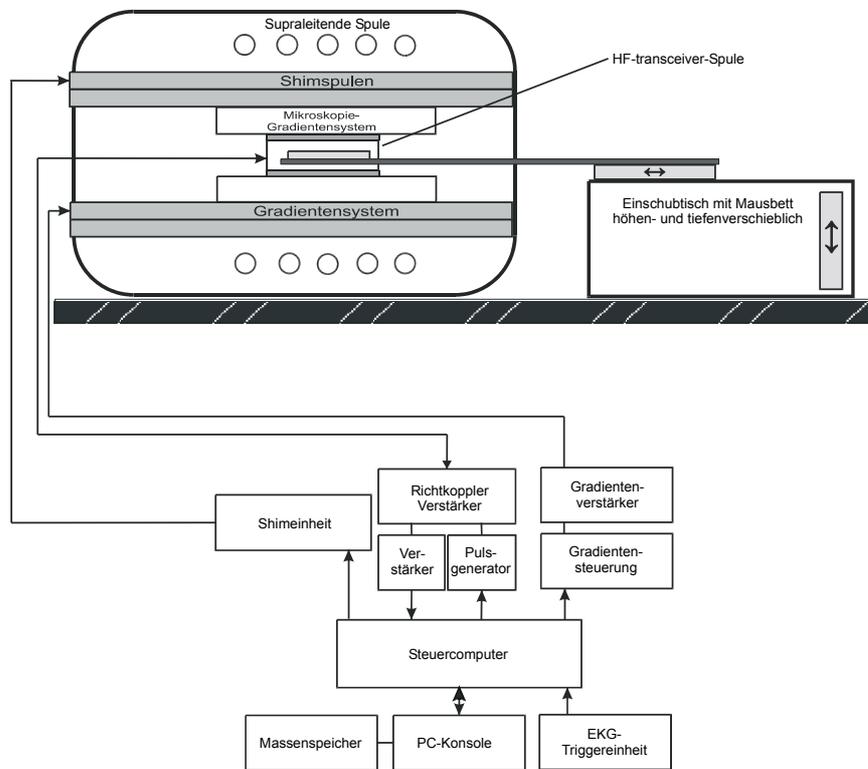


Abb. A.2: Schematischer Aufbau der MR-Bildgebung

## E – Weitere Modelle zur Volumenberechnung

### E.1 LV- Modelle

Eine große Zahl anderer Modelle wird zur Auswertung linksventrikulärer Volumina bei Menschen und Mäusen angewendet. Diese unterscheiden sich in einem wesentlichen Punkt von der Simpson-Methode: Sie beruhen auf geometrischer Näherung. Es werden zwar weniger Schichten benötigt, doch bringt diese Ersparnis an Meßdauer den Nachteil geometrischer Näherung, mögliche Quelle für Ungenauigkeit, mit sich.

#### E.1.1 Modifizierte Simpson-Regel

Von der Simpson-Regel leitet sich die modifizierte Simpson Regel<sup>18,49</sup> ab. Hier werden nicht alle Kurzachsenschnitte des linken Ventrikels aufaddiert, sondern es wird aus zwei definierten Kurzachsenschnitten und der Länge des linken Ventrikels ein Modell

erstellt: Es bedient sich der Annahme, der linke Ventrikel bestehe aus einem Zylinder von der Herzbasis zur Mitralklappe, einem Konus von Mitralklappe bis zum Ende der Papillarmuskel und einem weiteren Konus unterhalb der Papillarmuskel bis zur Herzspitze. Die Längen der drei Anteile wurden näherungsweise mit 1/3 der Länge des linken Ventrikels bestimmt.

Die Ungenauigkeit in der unterschiedlichen Anwendung der Simpsonmethode kann wie folgt vereinfacht nachvollzogen werden:

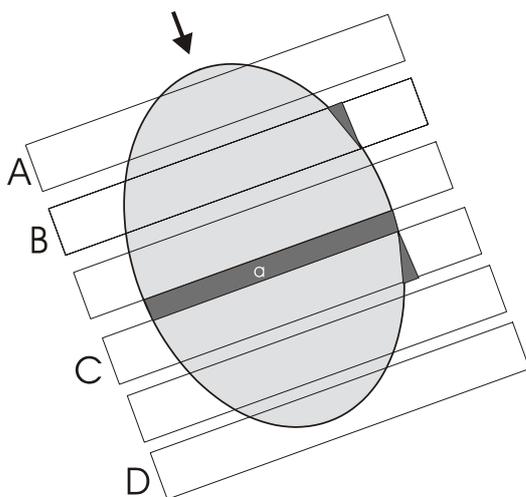


Abb. A.3: Demonstration der Ungenauigkeit der Simpsonregel an einem Modell

A, B, C und D sind Meßebenen durch ein Ellipsoid. Bei der Auswertung der Einzelschichten betrachtet der Untersucher die Einzelschichten aus der Richtung des Pfeiles. In Teilschicht B unterschätzt der Untersucher die Fläche der gemessenen Ebene um den dunkelgrau hervorgehobenen Teil, in Ebene C überschätzt er um eine ähnliche Fläche. Beide dunkelgrauen Bereiche zeigen in der Bildgebung geringere Intensitäten als die vollständig abgebildete Schicht. Bei geringerer Schichtdicke bei größerer Ellipsoid-Querschnittsfläche verringert sich dieser Anteil weiter. Schichten A und D zeigen, daß eine genaue Schichtplanung ebenfalls eine größere Meßgenauigkeit mit sich bringt. Oberhalb von Schicht A wird ein Teil des Ellipsoidvolumens nicht in die Auswertung miteinbezogen. Schicht D zeigt eine Schicht, die nur zu einem Teil Volumen abbildet. In der abgebildeten Ebene werden geringere Intensitäten erreicht. Auch dies muß der erfahrene Auswerter berücksichtigen. Werden Zwischenräume wie als a dargestellt zwischen den Schichten zugelassen, werden Teile des Volumens nicht der Messung und Auswertung zugeführt.

### **E.1.2 Zweischicht-Ellipsoid-Modell**

Das Zweischicht-Ellipsoid-Modell<sup>49,85</sup> behandelt den linken Ventrikel als Ellipse. Es benötigt für die Berechnung des Volumens die Fläche einer Kurzachsschicht in der Mitte des Ventrikels, den Durchmesser in dieser Schicht und eine Langachsschicht mit deren größter Länge. Grundlage des Hemisphere-Zylinder-Modells<sup>172-174</sup> ist die Addition des Volumens eines Zylinders und das einer halben Ellipse. Dazu benötigt man wiederum nur 2 senkrecht aufeinanderstehende Schichten: Eine Langachsschicht und deren Länge sowie die Fläche einer Kurzachsschicht unterhalb der Mitralsegel. Schon die wenig genaue Definition „unterhalb der Mitralsegel“ weist auf die mögliche Schwäche der Methode hin.

### **E.1.3 Einschicht-Ellipsen-Modell**

Das Einschicht-Ellipsen-Modell berechnet das Volumen des linken Ventrikels mit noch größerer geometrischer Annahme: Aus der Länge und der Fläche einer einzigen Langachsschicht wird das linksventrikuläre Volumen berechnet<sup>54,135,142</sup>. Diese Modelle haben, wie auch das Modifizierte Teichholz-Modell<sup>152</sup>, wenig Stellenwert erlangt. Die Reduktion der Form des linken Ventrikels auf eine anhand des Durchmessers definierten Ellipse oder anderer Näherungen wird der Geometrie des linken Ventrikels nicht ausreichend gerecht.

## **E.2 RV-Modelle**

### **E.2.1 Prisma-Modell**

Die Arbeitsgruppe um FISHER schlug 1975 ein Prisma-Modell zur radiologischen Evaluation rechtsventrikulärer Volumina vor<sup>48</sup>. Ausgehend von lateraler und anterior-posterior durchgeführter Röntgenübersichtsaufnahme verglichen sie erhobene RV Volumina sowohl mit den LV Daten als auch mit RV Volumina eines Phantoms und den Daten der Simpson-Analyse. Sie ermittelten hochsignifikante Korrelationen ( $r=0,91$  bis  $0,99$ ;  $p<0,001$ ). Die Berechnung erfolgte nach

$$RV = \frac{D \times W}{2} \times L \quad \text{Gl. A.3}$$

Es bedeuten  $D$  = durchschnittliche Breite in der a.p.-Projektion,  $L$  = durchschnittliche Länge und  $W$  = durchschnittliche Breite in der Lateralprojektion.

## E.2.2 Dreiseitiges Pyramidenstumpf-Modell

Ebenfalls in 1975 schlugen FERLINZ und Mitarbeiter ein dreiseitiges Pyramidenstumpf-Modell vor<sup>47</sup>. Dieses evaluierten sie mit Hilfe von 30°-RAO und 60°-LAO Angiographien von rechtsventrikulären Ausgußpräparaten gegen deren Wasserverdrängung. Vereinfacht erfolgt die Berechnung nach

$$RV = 0,6 \frac{A_{RAO} \times A_{LAO}}{L_{RAO}} + 3,9 \quad \text{Gl. A.4}$$

mit A = Fläche und L = Länge der entsprechenden Projektion.

## E.2.3 Denslows elliptisches Schalenmodell<sup>32-34</sup>

DENSLOW beschrieb 1994 das elliptische Schalen-Modell, das er in den Folgejahren weiter spezifizierte. 1995 stellte er das elliptische Schalen-Modell basierend auf der Auswertung zweier Achsen, dem 4-Kammerblick und der Kurzachse vor<sup>33</sup>, 1996 berechnete er das Volumen anhand einer einzigen Schicht<sup>34</sup>, wiederum des 4-Kammerblicks.

### E.2.3.1 basierend auf 2 Achsen

Anhand zweier Schichten, der Kurzachse in Herzmitte und einer darauf orthogonal ausgerichteten Langachse, wird das Gesamtvolumen als Drittel der Addition aller drei Teilgleichungen  $RV_{1-3}$  berechnet.

$$\text{a) } RV_1 = \frac{2}{3} A_{sax(LV)} L_{(LV)}$$

$$\text{b) } RV_2 = \frac{2}{3} A_{4ch(RV)} \left( D_{c(LV)} + \frac{D_{u(RV)}}{2} \right) \quad \text{Gl. A.5 a-c}$$

$$\text{c) } RV_3 = \frac{2}{3} A_{4ch(LV)epi} D_{u(RV)}$$

Dabei geben A=Fläche, D=Durchmesser, L=Länge, sax=Kurzachse, 4ch=4-Kammerblick, c=parallel zum Septum, u=normal zum Septum und epi=epikardial an. Dieser Ansatz wurde am Modell, an retrospektiv bearbeiteten Patientendaten und freiwilligen Testpersonen anhand angiographischer Daten validiert. Die Ergebnisse zeigen durchweg hohe Korrelationen von  $r=0,95$  bis  $0,98$ .

### E.2.3.2 basierend auf einer Achse

In 1996 beschreibt er das Modell basierend auf der einer Achse, der Langsachse im 4-Kammerblick. Hier werden beide Teilgleichungen addiert und der Mittelwert gebildet.

$$\text{a) } RV_1 = \frac{2}{3} (A_{4ch(RV)epi}) (D_{u(RV)})$$

Gl. A.6 a und b

$$\text{b) } RV_2 = \frac{2}{3} (A_{4ch(LV)}) \left( D_{u(LV)} + \frac{D_{u(RV)}}{2} \right)$$

Für diese Methode ergaben sich hohe Korrelationen zu den zum Vergleich durchgeführten Angiographie- und MR-Daten nach der Simpson-Regel ( $r=0,91$  bis  $0,98$ ).

## F – Begriffe und Parameter der Messung

### F.1 Pixel

Das Wort Pixel ist dem Computer-Neudeutsch entnommen und beschreibt den graphisch zweidimensionalen Punkt. Ähnlich dem Viereck ist es mit 2 Kantenlängen a und b ausgestattet. Die Anzahl der in einem Bild darstellbaren Pixel wird als Maß der Auflösung verwendet, ebenso ihre Größe. Als Beispiel sei auf die Auflösung eines Computerbildschirms hingewiesen, die z.B. als 1680x1024 Pixel angegeben wird. In dieser Arbeit entsprechen die Pixelgrößen  $270\mu\text{m}^2$  in den Planungsschnitten und  $117\mu\text{m}^2$  für die hochaufgelösten Bilder der cine-Sequenz.

### F.2 Voxel

Das Voxel versucht den Datenpunkt im zweidimensionalen Raum in der dritten Dimension zu beschreiben. Neben den Kantenlängen a und b für Breite und Höhe ist der das Voxel außerdem durch seine Tiefe c bestimmt. Ein Volumenpunkt bei den Messungen dieser Arbeit war  $270\mu\text{m} \times 270\mu\text{m} \times 1,0\text{mm}$  bei den Planungsschnitten respektive  $117\mu\text{m} \times 117\mu\text{m} \times 1,0\text{mm}$  bei den Schnitten der cine-Sequenz groß.

### F.3 Atemtriggerung

Unter Atemtriggerung kann man ebenfalls verschiedene Aspekte der Meß- oder Interventionsstrategie verstehen. In der MR-Bildgebung mit der Notwendigkeit wiederholter Aufnahmen ist Bewegung des Untersuchungsobjektes eine Ursache für

Artefakte und mangelnde Bildqualität. Die Atemtriggerung ermöglichte uns eine variabel vor und nach der stärksten Atemexkursion zu bestimmende Meßpause. Dazu wird folgendes Phänomen ausgenutzt: Durch die starke, ruckhafte Atembewegung, die bei einer Isofluran-Narkose den gesamten Mauskörper bewegt, entsteht im EKG eine übergroße Potentialschwankung. Diese läßt sich ebenfalls triggern.

#### **F.4 Frames**

Frames sind zeitliche Einzelbilder der cine-Messung: Ein RR-Intervall wurde z.B. in 12 Einzelbilder, „frames“, unterteilt. Von diesen wurde je Schicht der enddiastolische und der endsystolische frame ausgewählt und zur Auswertung verwendet.

#### **F.5 Parameter der Messung**

Um die **Auflösung der Messung** zu bestimmen, benötigt man einerseits das Field of view (FOV, Bildgröße). Es ist abhängig von der maximalen Gradientenstärke und Bandbreite des HF-Pulses wählbar. Andererseits wird die Größe der akquirierten Matrix benötigt. Wir verwenden bei unseren Messungen Bildausschnitte von 3,5cm<sup>2</sup> bei einer Matrix von 128x128 Bildpunkten (Planungsschnitte) oder einem FOV von 3,0cm<sup>2</sup> bei einer Matrix von 256x256 Punkten (cine-Bildgebung). Dies ermöglicht nach der Formel

$$Auflösung = \frac{FOV}{Matrix} \quad \text{Gl. A.1}$$

Auflösungen von 270µm in der Schicht bei der Bildplanung und von 117µm bei der cine-Bildgebung. Die Verdopplung der Pixelzahl der Matrix in Phasenrichtung erhöhte dementsprechend die Meßdauer auf das Vierfache.

Die **Schichtdicke** ist von der Stärke der Gradienten und der Frequenzbandbreite abhängig. In unseren Experimenten wurde eine Schichtdicke von 1,0mm verwendet. Zwischen den Schichten befand sich kein Zwischenraum (interslice gap).

Das **Signal-Rausch-Verhältnis** ist wesentliches Maß für die Bildqualität (SNR, signal-to-noise-ratio). Rauschen entsteht durch Kleinströme im lebenden Untersuchungsobjekt, an den ohmschen Widerständen der Spule, durch Inhomogenitäten des Magnetfeldes und Charakteristika der Spule. Um das Rauschen zu minimieren werden mehrere Messungen durchgeführt, die nach den Regeln der Standardabweichung zu einer Erhöhung der SNR führen. Nach

$$\Delta \text{SNR} = \sqrt{n}$$

Gl. A.2

führt eine n-fache Wiederholung der Messung zu einer Verbesserung des SNR um  $\sqrt{n}$ . Setzt man das Rauschen der mathematischen Standardabweichung gleich, reduziert eine 4fache Wiederholung der Messung die Standardabweichung um den Faktor 2 während der durchschnittliche Meßwert gleich bleibt. Man „erkauft“ mit vierfacher Meßdauer eine Rauschverminderung um den Faktor 2, bei 9facher Meßdauer um den Faktor 3.

Das SNR wird neben anderen Faktoren außerdem von TR beeinflusst. Ein zu kurzes Intervall kann zu einer Sättigung der Pulse führen. Neben dem Ausgangssignal wird auch das detektierte Signal kleiner. Ein zu langes Intervall in einer vorgegebenen Zeit ermöglicht wiederum weniger Wiederholungen, die nach oben genannter Formel das SNR verbessert hätten. Nach Gleichung A.2 ist demnach das SNR auch von TE abhängig: Das Verwenden zweier Echos und folglich doppelter TE verbessert das SNR um etwa 40%.



## Literaturverzeichnis

1. Abbott A. A post-genomic challenge: learning to read patterns of protein synthesis. *Nature* 1999;**402**(6763):715-20.
2. Alfidi RJ, Haaga JR, El-Yousef SJ, et al. Preliminary experimental results in humans and animals with a superconducting, whole-body, nuclear magnetic resonance scanner. *Radiology* 1982;**143**(1):175-81.
3. Andersen HR, Nielsen D, Lund O, Falk E. Prognostic significance of right ventricular infarction diagnosed by ST elevation in right chest leads V3R to V7R. *Int J Cardiol* 1989;**23**(3):349-56.
4. Baker B, Wilen M, Boyd C, Dinh H, Franciosa J. Relation of right ventricular ejection fraction to exercise capacity in chronic left ventricular failure. *Am J Cardiol* 1984;**54**(6):596-9.
5. Bakos ACP. The question of the function of the right ventricular myocardium. An experimental study. *Circulation* 1950;**1**:724.
6. Barnothy MF. Biological effects of magnetic fields. *Prog Biometeorol* 1974;**1**(1A):392-9.
7. Beer M, Buchner S, Sandstede J, et al. (31)P-MR Spectroscopy for the evaluation of energy metabolism in intact residual myocardium after acute myocardial infarction in humans. *Magma* 2001;**13**(2):70-5.
8. Berger PB, Ryan TJ. Inferior myocardial infarction. High-risk subgroups. *Circulation* 1990;**81**(2):401-11.
9. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurements. *The Lancet* 1986;**I**:307-310.
10. Bland JM, Altman DJ. Regression analysis. *Lancet* 1986;**1**(8486):908-9.
11. Boxt LM, Katz J. Magnetic resonance imaging for quantitation of right ventricular volume in patients with pulmonary hypertension. *J Thorac Imaging* 1993;**8**(2):92-7 Issn: 0883-5993.
12. Boxt LM, Katz J, Kolb T, Czegledy FP, Barst RJ. Direct quantitation of right and left ventricular volumes with nuclear magnetic resonance imaging in patients with primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1992;**19**(7):1508-15.

13. Brooks H, Al-Sadir J, Schwartz J, Rich B, Harper P, Resnekov L. Biventricular dynamics during quantitated anteroseptal infarction in the porcine heart. *Am J Cardiol* 1975;**36**(6):765-75.
14. Brown KA, Okada RD, Boucher CA, Strauss HW, Pohost GM. Right ventricular ejection fraction response to exercise in patients with coronary artery disease: influence of both right coronary artery disease and exercise-induced changes in right ventricular afterload. *J Am Coll Cardiol* 1984;**3**(4):895-901.
15. Budinger T, Lauterbur P. Nuclear magnetic resonance technology for medical studies. *Science* 1984;**226**(4672):288-98.
16. Buser PT, Auffermann W, Holt WW, et al. Noninvasive evaluation of global left ventricular function with use of cine nuclear magnetic resonance. *J Am Coll Cardiol* 1989;**13**:1294-1300.
17. Carlon CA, Mondini PG, DeMarchi R. Surgical Treatment of some cardiovascular diseases (a new vascular anastomosis). *J Internat Coll Surg* 1951;**16**:1.
18. Chapman CB, Baker O, Reynolds J, Bonte FJ. Use of biplane cinefluorography for measurement of ventricular volume. *Circulation* 1958;**18**:1105-1117.
19. Check E. Draft mouse genome makes public debut. *Nature* 2002;**417**(6885):106.
20. Chien KR. Genes and physiology: molecular physiology in genetically engineered animals. *J Clin Invest* 1996;**97**(4):901-9.
21. Chuang ML, Beaudin RA, Riley MF, et al. Three-dimensional echocardiographic measurement of left ventricular mass: comparison with magnetic resonance imaging and two-dimensional echocardiographic determinations in man. *Int J Card Imaging* 2000;**16**(5):347-57.
22. Cohn J, Guiha N, Broder M, Constantinos J. Right ventricular infarction: Clinical and hemodynamic features. *Am J Cardiol* 1974;**33**:209-14.
23. Cohn JN. Right ventricular infarction revisited. *Am J Cardiol* 1979;**43**(3):666-8.
24. Cope FW. Nuclear magnetic resonance evidence using D2O for structured water in muscle and brain. *Biophys J* 1969;**9**(3):303-19.
25. Damadian R. Tumor detection by nuclear magnetic resonance. *Science* 1971;**171**(976):1151-3.

26. Damadian R, Zaner K, Hor D, DiMaio T, Minkoff L, Goldsmith M. Nuclear magnetic resonance as a new tool in cancer research: human tumors by NMR. *Ann N Y Acad Sci* 1973;**222**:1048-76.
27. Davies MK, Hollman A. William Harvey (1578-1657). *Heart* 1996;**76**(1):11-2.
28. Davis K, Kennedy J, Kemp H, Judkins M, Gosselin A, T K. Complications of coronary angiography from the collaborative study of coronary artery surgery (CASS). *Circulation* 1979;**59**:1105-12.
29. de Bry RW, Seldin MF. Human/Mouse Homology Relationships. *Genomics* 1996;**33**:337-351.
30. DeLayre JL, Ingwall JS, Malloy C, Fossel ET. Gated sodium-23 nuclear magnetic resonance images of an isolated perfused working rat heart. *Science* 1981;**212**(4497):935-6.
31. Dell'Italia LJ, Starling MR. Right ventricular infarction: an important clinical entity. *Curr Probl Cardiol* 1984;**9**(9):1-72.
32. Denslow S. An ellipsoidal shell model for volume estimation of the right ventricle from magnetic resonance images. *Acad Radiol* 1994;**1**(4):345-51.
33. Denslow S, Wiles HB, McKellar LF, Wright NA, Gillette PC. Right ventricular volume estimation with an ellipsoidal shell model and two-plane magnetic resonance imaging. *Am Heart J* 1995;**129**(4):782-90.
34. Denslow S, Wiles HB, McKellar LF, Wright NA, Gillette PC. Right ventricular volume estimation using an ellipsoidal shell model and single-plane magnetic resonance imaging. *Invest Radiol* 1996;**31**(1):17-25.
35. Dinsmore RE, Wismer GL, Miller SW, et al. Magnetic resonance imaging of the heart using image planes oriented to cardiac axes: experience with 100 cases. *AJR Am J Roentgenol* 1985;**145**(6):1177-83.
36. Doherty NE, 3rd, Fujita N, Caputo GR, Higgins CB. Measurement of right ventricular mass in normal and dilated cardiomyopathic ventricles using cine magnetic resonance imaging. *Am J Cardiol* 1992;**69**(14):1223-8.
37. Dulce MC, Friese K, Albrecht A, Hamm B, Buttner P, Wolf KJ. [Variability and reproducibility in the determination of left-ventricular heart volume by cine-MR. A comparison of measurement methods]. *Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 1991;**155**(2):99- 108.

38. Dulce MC, Higgins CB. Evaluation of ventricular dimensions and function with magnetic resonance imaging. *Am J Card Imaging* 1994;**8**(2):168-80.
39. Edelstein WA, Hutchison JM, Smith FW, Mallard J, Johnson G, Redpath TW. Human whole-body NMR tomographic imaging: normal sections. *Br J Radiol* 1981;**54**(638):149-51.
40. Elzinga G, van Grondelle R, Westerhof N, van den Bos GC. Ventricular interference. *Am J Physiol* 1974;**226**(4):941-7.
41. Engelhardt S, Hein L, Wiesmann F, Lohse M. Progressive hypertrophy and heart failure in beta1-adrenergic receptor transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;**96**(12):7059-64.
42. Fagan KA. Selected Contribution: Pulmonary hypertension in mice following intermittent hypoxia. *J Appl Physiol* 2001;**90**(6):2502-7.
43. Fayad Z, Fallon J, Shinnar M, et al. Noninvasive In vivo high-resolution magnetic resonance imaging of atherosclerotic lesions in genetically engineered mice [see comments]. *Circulation* 1998;**98**(15):1541-7.
44. Fayad ZA, Ferrari VA, Kraitchman DL, et al. Right ventricular regional function using MR tagging: normals versus chronic pulmonary hypertension. *Magn Reson Med* 1998;**39**(1):116-23.
45. Feneley MP, Gavaghan TP, Baron DW, Branson JA, Roy PR, Morgan JJ. Contribution of left ventricular contraction to the generation of right ventricular systolic pressure in the human heart. *Circulation* 1985;**71**(3):473-80.
46. Ferlinz J. Right ventricular function in adult cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis* 1982;**25**(3):225-67.
47. Ferlinz J, Gorlin R, Cohn PF, Herma MV. Right ventricular performance in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1975;**52**:608-18.
48. Fisher EA, Dubrow IW, Hastreiter AR. Right ventricular volume in congenital heart disease. *Am J Cardiol* 1975;**36**:67-74.
49. Folland ED, Parisi AF, Moynihan PF, et al. Assessment of left ventricular ejection fraction and volumes by real-time, two-dimensional echocardiography. *Circulation* 1979;**60**:760-66.
50. Fontan F, Baudet E. Surgical repair of tricuspid atresia. *Thorax* 1971;**26**(3):240-8.

51. Furey SA, 3rd, Zieske HA, Levy MN. The essential function of the right ventricle. *Am Heart J* 1984;**107**(2):404-10.
52. Geisterfer-Lowrance AAT, Christie M, Conner DA, et al. A mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Science* 1996;**272**:731-734.
53. Glenn WWL, Patino JF. Circulatory bypass of the right heart. I. Preliminary observations on the direct delivery of vena caval blood into the pulmonary arterial circulation. Azygos vein-pulmonary artery shunt. *Yale J Biol Med* 1954;**27**:147ff.
54. Greene DG, Carlisle R, Grant C, Bunnell IL. Estimation of left ventricular volume by one-plane cineangiography. *Circulation* 1967;**35**(1):61-9.
55. Grose R, Strain J, Yipintosoi T. Right ventricular function in valvular heart disease: relation to pulmonary artery pressure. *J Am Coll Cardiol* 1983;**2**(2):225-32.
56. Grupp IL, Subramaniam A, Hewett TE, Robbins J, Grupp G. Comparison of normal, hypodynamic, and hyperdynamic mouse hearts using isolated work-performing heart preparations. *Am J Physiol* 1993;**265**(4 Pt 2):H1401-10.
57. Haase A, Frahm J, Matthaei M, Hänicke W, Merboldt KD. FLASH imaging: rapid NMR imaging using low flip angle pulses. *J Magn Res* 1986;**67**:258-266.
58. Haase A, Matthaei D. Biophysical and medical aspects of fast NMR-imaging. *Med Prog Technol* 1987;**13**(2):57-67.
59. Hahn D, Beer M, Sandstede J. [MR tomography of the heart]. *Radiologe* 2000;**40**(10):888-96.
60. Haller JA, Jr., Adkins JC, Worthington M, Rauenhorst J. Experimental studies on permanent bypass of the right heart. *Surgery* 1966;**59**(6):1128-32.
61. Hayes C, Axel L. Noise performance of surface coils for magnetic resonance imaging at 1.5 T. *Med Phys* 1985;**12**(5):604-7.
62. Hazlewood CF, Nichols BL, Chamberlain NF. Evidence for the existence of a minimum of two phases of ordered water in skeletal muscle. *Nature* 1969;**222**(195):747-50.
63. Heneghan M, Biancaniello T, Heidelberger E, Peterson S, Marsh M, Lauterbur P. Nuclear magnetic resonance zeugmatographic imaging of the heart: application to the study of ventricular septal defect. *Radiology* 1982;**143**(1):183-6.

64. Hennig J, Schneider B, Peschl S, Markl M, Krause T, Laubenberger J. Analysis of myocardial motion based on velocity measurements with a black-blood prepared segmented gradient-echo sequence: methodology and applications of normal volunteers and patients. *JMRI* 1998;**8**:868-877.
65. Hess OM, Bhargava V, Ross J, Jr., Shabetai R. The role of the pericardium in interactions between the cardiac chambers. *Am Heart J* 1983;**106**(6):1377-83.
66. Heywood JT, Grimm J, Hess OM, Jakob M, Krayenbuehl HP. Right ventricular systolic function during exercise with and without significant coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1991;**67**(8):681-6.
67. Higgins C, Byrd Bd, McNamara M, et al. Magnetic resonance imaging of the heart: a review of the experience in 172 subjects. *Radiology* 1985;**155**(3):671-9.
68. Higgins C, Byrd Bd, Stark D, et al. Magnetic resonance imaging in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1985;**55**(9):1121-6.
69. Higgins C, Lanzer P, Stark D, et al. Assessment of cardiac anatomy using nuclear magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* 1985;**5**(1 Suppl):77S-81S.
70. Higgins CB. New horizons in cardiac imaging. *Radiology* 1985;**156**(3):577-88.
71. Hinshaw WS, Andrew ER, Bottomley PA, Holland GN, Moore WS. Display of cross sectional anatomy by nuclear magnetic resonance imaging. *Br J Radiol* 1978;**51**(604):273-80.
72. Hinshaw WS, Bottomley PA, Holland GN. Radiographic thin-section image of the human wrist by nuclear magnetic resonance. *Nature* 1977;**270**(5639):722-3.
73. Hoffman EA. Interactions: the integrated functioning of heart and lungs. *Adv Exp Med Biol* 1993;**346**:347-64 Issn: 0065-2598.
74. Hoit BD. New approaches to phenotypic analysis in adult mice. *J Mol Cell Cardiol* 2001;**33**(1):27-35.
75. Holland GN, Hawkes RC, Moore WS. Nuclear magnetic resonance (NMR) tomography of the brain: coronal and sagittal sections. *J Comput Assist Tomogr* 1980;**4**(4):429-33.
76. Hunter JJ, Tanaka N, Rockmann HA, Ross JJ, Chien KR. Ventricular expression of a MLC-2v-ras fusion gene induces cardiac hypertrophy and selective diastolic dysfunction in transgenic mice. *J Biol Chem* 1995;**270**:23173-78.

77. Iwase M, Bishop SP, Uechi M, et al. Adverse effects of chronic endogenous sympathetic drive induced by cardiac GS alpha overexpression. *Circ Res* 1996;**78**(4):517-24.
78. James JF, Hewett TE, Robbins J. Cardiac Physiology in Transgenic Mice. *Circ. Res.* 1998;**82**:407-415.
79. Johnson RA, Zir LM, Harper RW, et al. Patterns of haemodynamic alteration during left ventricular ischaemia in man. Relation to angiographic extent of coronary artery disease. *Br Heart J* 1979;**41**(4):441-51.
80. Just Viera JO, Rive Mora E, Rodriguez OL, Altieri PI, Girod CE. Atriopulmonary shunt. *Ann Thorac Surg* 1973;**15**(1):41-9.
81. Kagan A. Dynamic responses of the right ventricle following extensive damage by cauterization. *Circulation* 1952;**5**:816.
82. Kass DA, Hare JM, Georgakopoulos D. Murine cardiac function: a cautionary tail. *Circ Res* 1998;**82**(4):519-22.
83. Katz J, Whang J, Boxt LM, Barst RJ. Estimation of right ventricular mass in normal subjects and in patients with primary pulmonary hypertension by nuclear magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* 1993;**21**(6):1475-81.
84. Kay J, Keane P, Suyama K, Gauthier D. Angiotensin converting enzyme activity and evolution of pulmonary vascular disease in rats with monocrotaline pulmonary hypertension. *Thorax* 1982;**37**(2):88-96.
85. Kennedy JW, Baxley WA, Figley MM, Dodge HT, Blackmon JR. Quantitative angiocardiology. I. The normal left ventricle in man. *Circulation* 1966;**34**(2):272-8.
86. Klein S, Graham TJ, Lorenz C. Noninvasive delineation of normal right ventricular contractile motion with magnetic resonance imaging myocardial tagging. *Ann Biomed Eng* 1998;**26**(5):756-63.
87. Kramer MR, Valantine HA, Marshall SE, Starnes VA, Theodore J. Recovery of the right ventricle after single-lung transplantation in pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 1994;**73**(7):494-500.
88. Krayenbuehl HP, Turina J, Hess O. Left ventricular function in chronic pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 1978;**41**(7):1150-8.

89. Kreutzer G, Galindez E, Bono H, De Palma C, Laura JP. An operation for the correction of tricuspid atresia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1973;**66**(4):613-21.
90. Kumar A, Crawford K, Close L, et al. Rescue of cardiac actin deficient mice by enteric actin. *Proc Natl Acad Sci U.S.S.* 1997;**94**:4406-4411.
91. Lauterbur P. Image formation by induced local interactions. Examples employing nuclear magnetic resonance. 1973 [classical article]. *Clin Orthop* 1989(244):3-6.
92. Lauterbur PC. NMR zeugmatographic imaging in medicine. *J Med Syst* 1982;**6**(6):591-7.
93. Longmore DB, Klipstein RH, Underwood SR, et al. Dimensional accuracy of magnetic resonance in studies of the heart. *Lancet* 1985;**I**:1360-1362.
94. Lorell B, Leinbach RC, Pohost GM, et al. Right ventricular infarction. Clinical diagnosis and differentiation from cardiac tamponade and pericardial constriction. *Am J Cardiol* 1979;**43**:465.
95. Lorenz JN, Kranias EG. Regulatory effects of phospholamban on cardiac function in intact mice. *Am J Physiol* 1997;**273**(6 Pt 2):H2826-31.
96. Mallard J, Hutchison JM, Edelstein W, Ling R, Foster M. Imaging by nuclear magnetic resonance and its bio-medical implications. *J Biomed Eng* 1979;**1**(3):153-60.
97. Manning WJ, Wei JY, Katz SE, Litwin SE, Douglas PS. In Vivo Assessment of LV Mass in Mice Using High-Frequency Ultrasound: Necropsy Validation. *Am J Physiol* 1994;**266**:H1672-H1675.
98. Mansfield P, Maudsley A. Medical imaging by NMR. *Br J Radiol* 1977;**50**(591):188-94.
99. Marmor A, Geltman EM, Biello DR, Sobel BE, Siegel BA, Roberts R. Functional response of the right ventricle to myocardial infarction: dependence of the site of left ventricular infarction. *Circulation* 1981;**64**(5):1005-11.
100. Marshall E. Genome sequencing. Public group completes draft of the mouse. *Science* 2002;**296**(5570):1005.
101. Marving J, Hoiland-Carlsen PF, Chraemmer-Joergensen B, Gadsboll N. Are right and left ventricular ejection fractions equal? Ejection fractions in normal subjects and in patients with first myocardial infarction. *Circulation* 1985;**72**(3):502-514.

102. Maughan WL, Kallmann CH, Shoukas A. The Effect of Right Ventricular Filling on the Pressure-Volume-Relationship of the Ejecting Canine Left Ventricle. *Circ Res* 1981;**49**(2):382-388.
103. Mehta SR, Eikelboom JW, Natarajan MK, et al. Impact of right ventricular involvement on mortality and morbidity in patients with inferior myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2001;**37**(1):37-43.
104. Milano CA, Allen LF, Rockman HA, et al. Enhanced myocardial function in transgenic mice overexpressing the beta 2 adrenergic receptor. *Science* 1994;**264**:582-586.
105. Morris-Thurgood JA, Frenneaux MP. Diastolic ventricular interaction and ventricular diastolic filling. *Heart Fail Rev* 2000;**5**(4):307-23.
106. Mungrue IN, Husain M, Stewart DC. The Role of NOS in Heart Failure: Lessons from Murine Genetic Models. *Heart Failure Reviews* 2002;**7**:407-422.
107. Nagel E, Stuber M, Hess OM. Importance of the right ventricle in valvular heart disease. *Eur Heart J* 1996;**17**(6):829-36.
108. Neubauer S. Cardiac magnetic resonance spectroscopy: potential clinical applications. *Herz* 2000;**25**(4):452-60.
109. Neubauer S, Newell Jb, Ingwall Js. Metabolic consequences and predictability of ventricular fibrillation in hypoxia. A <sup>31</sup>P- and <sup>23</sup>Na-nuclear magnetic resonance study of the isolated rat heart. *Circulation* 1992;**86**(1):302-10.
110. Neubauer S, Beer M, Landschutz W, et al. Absolute quantification of high energy phosphate metabolites in normal, hypertrophied and failing human myocardium. *MAGMA* 2000;**11**(1-2):73-4.
111. Oldershaw P. Assessment of right ventricular function and its role in clinical practice. *Br Heart J* 1992;**68**(1):12-5.
112. Oldershaw P, Bishop A. The difficulties of assessing right ventricular function [editorial] [see comments]. *Br Heart J* 1995;**74**(2):99-100.
113. Ordidge R, Mansfield P, Doyle M, Coupland R. Real time movie images by NMR. *Br J Radiol* 1982;**55**(658):729-33.
114. Pattynama P, Lamb H, Van dVE, Van dGR, Van dWE, De RA. Reproducibility of MRI-derived measurements of right ventricular volumes and myocardial mass. *Magn Reson Imaging* 1995;**13**(1):53-63.

115. Pattynama PM, De Roos A, Van der Wall EE, Van Voorthuisen AE. Evaluation of cardiac function with magnetic resonance imaging. *Am Heart J* 1994;**128**(3):595-607 Issn: 0002-8703.
116. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fletcher PJ, Braunwald E. Progressive ventricular remodeling in rat with myocardial infarction. *Am J Physiol* 1991;**260**:H1406-14.
117. Polak JF, Holman BL, Wynne J, Colucci WS. Right ventricular ejection fraction: an indicator of increased mortality in patients with congestive heart failure associated with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1983;**2**(2):217-24.
118. Raabe DS, Jr., Chester AC. Right ventricular infarction. *Chest* 1978;**73**(1):96-9.
119. Rao S, Verkman AS. Analysis of organ physiology in transgenic mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000;**279**(1):C1-C18.
120. Ratliff NB, Hackel DB. Combined right and left ventricular infarction: pathogenesis and clinicopathologic correlations. *Am J Cardiol* 1980;**45**(2):217-21.
121. Rigo P, Murray M, Taylor DR, et al. Right ventricular dysfunction detected by gated scintiphotography in patients with acute inferior myocardial infarction. *Circulation* 1975;**52**(2):268-74.
122. Robicsek F, Sanger PW, Moore M, Daugherty HK, Robicsek LK, Bagby E. Observations following four years of complete circulatory exclusion of the right heart. *Coll Works Cardiopulm Dis* 1969;**15**:37-43.
123. Robicsek F, Sanger PW, Gollucci V, Daugherty HK. Longterm circulatory exclusion of the right heart. *Surgery* 1966;**59**:431ff.
124. Rockman HA, Ono S, Ross RS, et al. Molecular and physiological alterations in murine ventricular dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;**91**(7):2694-8.
125. Rodbard S, Wagner D. Bypassing the right ventricle. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949;**71**:69ff.
126. Rodrigues EA, Dewhurst NG, Smart LM, Hannan WJ, Muir AL. Diagnosis and prognosis of right ventricular infarction. *Br Heart J* 1986;**56**(1):19-26.
127. Rominger M, Bachmann G, Geuer M, et al. Accuracy of right and left ventricular heart volume and left ventricular mass determination with cine MRI in breath holding technique. *Rofu Fortschr Geb Rontgenstr* 1999;**170**(1):54-60.

128. Rominger M, Bachmann G, Pabst W, Rau W. Right ventricular volumes and ejection fraction with fast cine MR imaging in breath-hold technique: applicability, normal values from 52 volunteers, and evaluation of 325 adult cardiac patients. *J Magn Reson Imaging* 1999;**10**(6):908-18.
129. Rommel E, Kuhstrebe J, Wiesmann F, Szimtenings M, Streif J, Haase A. A double trigger unit for ECG and breath triggered mouse heart imaging. *MAGMA* 2000;**11**(Suppl 1):568.
130. Rose JC, Cosimano SJ, Hufnagel CA, Massullo EA. The effects of exclusion of the the right ventricle from the circulation in dogs. *J Clin Invest* 1955;**34**:1625.
131. Rose S, Wilson S, Zelaya F, Crozier S, Doddrell D. High resolution high field rodent cardiac imaging with flow enhancement suppression. *Magnetic Resonance Imaging* 1994;**12**:1183-1190.
132. Ross DN, Somerville J. Correction of pulmonary atresia with a homograft aortic valve. *Lancet* 1966;**2**(7479):1446-7.
133. Ruff J, Wiesmann F, Hiller K, et al. Magnetic resonance microimaging for noninvasive quantification of myocardial function and mass in the mouse. *Magn Reson Med* 1998;**40**(1):43-8.
134. Sade R, Castaneda A. The dispensable right ventricle. *Surgery* 1975;**77**:624-31.
135. Sandler H, Dodge HT. The use of single plane angiocardiograms for the calculation of left ventricular volume in man. *Am Heart J* 1968;**75**:325-334.
136. Scherrer-Crosbie M, Steudel W, Hunziker P, et al. Determination of right ventricular structure and function in normoxic and hypoxic mice: a transesophageal echocardiographic study. *Circulation* 1998;**98**(10):1015-21.
137. Sechtem U, Pflugfelder P, Higgins C. Quantification of cardiac function by conventional and cine magnetic resonance imaging. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1987;**10**(6):365-73.
138. Sechtem U, Pflugfelder P, White R, et al. Cine MR imaging: potential for the evaluation of cardiovascular function. *AJR Am J Roentgenol* 1987;**148**(2):239-46.
139. Sechtem U, Pflugfelder PW, Gould RG, Cassidy MM, Higgins CB. Measurement of right and left ventricular volumes in healthy individuals with cine MR imaging. *Radiology* 1987;**163**:697-702.

140. Sechtem U, Tscholakoff D, Higgins C. MRI of the abnormal pericardium. *AJR Am J Roentgenol* 1986;**147**(2):245-52.
141. Seki S, Ohba O, Tanizaki M, Takahashi S, Teramoto S. Construction of new right ventricle on the epicardium: a possible correction for underdevelopment of the right ventricle. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975;**70**(2):330-7.
142. Silverman NH, Ports TA, Snider AR, Schiller NB, Carlsson E, Heilbron DC. Determination of left ventricular volume in children: echocardiographic and angiographic comparisons. *Circulation* 1980;**62**(3):548-57.
143. Siri FM, Jelicks LA, Leinwand LA, Gardin JM. Gated magnetic resonance imaging of normal and hypertrophied murine hearts. *Am J Physiol* 1997;**272**:H2394-2402.
144. Slinker BK, Glantz SA. End-systolic and end-diastolic ventricular interaction. *Am J Physiol* 1986;**251**(5 Pt 2):H1062-75.
145. Smith F, Hutchison J, Mallard J, et al. Renal cyst or tumour? Differentiation by whole-body nuclear magnetic resonance imaging. *Diagn Imaging* 1981;**50**(2):61-5.
146. Smith F, Mallard J, Reid A, Hutchison J. Nuclear magnetic resonance tomographic imaging in liver disease. *Lancet* 1981;**1**(8227):963-6.
147. Stark J, Berry CL, Silove ED. The evaluation of materials used for pulmonary artery banding. Experimental study in piglets. *Ann Thorac Surg* 1972;**13**(2):163-9.
148. Starr I, Jeffers WA, Meade RH. The absence of conspicuous increments of venous pressure after severe damage to the right ventricle of the dog. *Am Heart J* 1943;**26**:291-301.
149. Steudel W, Scherrer-Crosbie M, Bloch KD, et al. Sustained pulmonary hypertension and right ventricular hypertrophy after chronic hypoxia in mice with congenital deficiency of nitric oxide synthase 3. *J Clin Invest* 1998;**101**(11):2468-77.
150. Suzuki J, Caputo GR, Masui T, Chang J, O'Sullivan M, Higgins C. Assessment of right ventricular diastolic and systolic function in patients with dilated cardiomyopathy using cine magnetic resonance imaging. *Am Heart J* 1991;**122**:1035-40.

151. Suzuki J, Chang J, Caputo G, Higgins C. Evaluation of right ventricular early diastolic filling by cine nuclear magnetic resonance imaging in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1991;**18**(1):120-6.
152. Teichholz LE, Kreulen T, Herman MV, Gorlin R. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic- angiographic correlations in the presence of absence of asynergy. *Am J Cardiol* 1976;**37**(1):7-11.
153. Tian R, Ingwall JS. The Molecular Energetics of the failing Heart from Animal Models - Small Animal Models. *Heart Failure Reviews* 1999;**4**:245-253.
154. Underwood SR, Rees RSO, Savage PE, al. e. Left ventricular volume measured rapidly by oblique magnetic resonance imaging. *Br Heart J* 1988;**60**:188-195.
155. van Dijk P. Direct cardiac NMR imaging of heart wall and blood flow velocity. *J Comput Assist Tomogr* 1984;**8**(3):429-36.
156. von Kienlin M, Rosch C, Le Fur Y, et al. Three-dimensional <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopic imaging of regional high-energy phosphate metabolism in injured rat heart. *Magn Reson Med* 1998;**39**(5):731-41.
157. Waller C, Hiller KH, Voll S, Haase A, Ertl G, Bauer WR. Myocardial perfusion imaging using a non-contrast agent MR imaging technique. *Int J Cardiovasc Imaging* 2001;**17**(2):123-32.
158. Waller C, Kahler E, Hiller K, et al. Myocardial perfusion and intracapillary blood volume in rats at rest and with coronary dilatation: MR imaging in vivo with use of a spin-labeling technique. *Radiology* 2000;**215**(1):189-97.
159. Wang Y, Halks-Miller M, Vergona R, et al. Increased aortic stiffness assessed by pulse wave velocity in apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;**278**(2):H428-34.
160. Weber KT, Janicki JS, Shroff S, Fishman AP. Contractile mechanics and interaction of the right and left ventricles. *Am J Cardiol* 1981;**47**(3):686-95.
161. Weiss RG. Imaging the Murine Cardiovascular System With Magnetic Resonance. *Circ. Res.* 2001;**88**:550-551.
162. Werchan PM, Summer WR, Gerdes AM, McDonough KH. Right ventricular performance after monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Am J Physiol* 1989;**256**(5 Pt 2):H1328-36.

163. Weyman AE, Wann S, Feigenbaum H, Dillon JC. Mechanism of abnormal septal motion in patients with right ventricular volume overload: a cross-sectional echocardiographic study. *Circulation* 1976;**54**(2):179-86.
164. Wiesmann F. Reduced contractile reserve and diastolic dysfunction in a transgenic mouse model with beta1-adrenergic receptor overexpression assessed by MRI. *Circulation* 1999;**100**(18):I-565.
165. Wiesmann F, Frydrychowicz A, Rautenberg J, et al. Analysis of right ventricular function in healthy mice and a murine model of heart failure by in vivo MRI. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;**283**(3):H1065-71.
166. Wiesmann F, Gatehouse PD, Panting JR, Taylor AM, Firmin DN, Pennell DJ. Comparison of fast spiral, echo planar and FLASH magnetic resonance imaging for cardiac volumetry at 0.5T. *JMRI* 1998;**8**:1033-39.
167. Wiesmann F, Neubauer S, Haase A, Hein L. Can we use vertical bore MR scanners for murine cardiovascular phenotype characterization? Influence of upright body position on left ventricular hemodynamics in mice. *JCMR* 2001;**in press**.
168. Wiesmann F, Ruff J, Engelhardt S, et al. Dobutamine-stress magnetic resonance microimaging in mice : acute changes of cardiac geometry and function in normal and failing murine hearts. *Circ Res* 2001;**88**(6):563-9.
169. Wiesmann F, Ruff J, Haase A. High-resolution MR imaging in mice. *Magma* 1998;**6**(2-3):186-8.
170. Wiesmann F, Ruff J, Hiller K, Rommel E, Haase A, Neubauer S. Developmental changes of cardiac function and mass assessed with MRI in neonatal, juvenile, and adult mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;**278**(2):H652-7.
171. Wiesmann F, Ruff J, Hiller KH, Rommel E, Haase A, Neubauer S. Developmental changes of cardiac function and mass assessed with MRI in neonatal, juvenile, and adult mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;**278**(2):H652-7.
172. Wyatt HL, Heng MK, Meerbaum S, et al. Cross-sectional echocardiography. II. Analysis of mathematic models for quantifying volume of the formalin-fixed left ventricle. *Circulation* 1980;**61**(6):1119-25.
173. Wyatt HL, Heng MK, Meerbaum S, et al. Cross-sectional echocardiography. I. Analysis of mathematic models for quantifying mass of the left ventricle in dogs. *Circulation* 1979;**60**(5):1104-13.

174. Wyatt HL, Meerbaum S, Heng MK, Gueret P, Corday E. Cross-sectional echocardiography. III. Analysis of mathematic models for quantifying volume of symmetric and asymmetric left ventricles. *Am Heart J* 1980;**100**(6 Pt 1):821-8.
175. Wyns W, Melin JA, Vanbutsele RJ, et al. Assessment of right and left ventricular volumes during upright exercise in normal men. *Eur Heart J* 1982;**3**(6):529-36.
176. Zehender M, Kasper W, Kauder E, et al. Right ventricular infarction as an independent predictor of prognosis after acute inferior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1993;**328**(14):981-8.
177. Zehender M, Kasper W, Kauder E, et al. Eligibility for and benefit of thrombolytic therapy in inferior myocardial infarction: Focus on prognostic importance of right ventricular infarction. *J Am Coll Cardiol* 1994;**24**:362-9.

## Zur Bearbeitung herangezogene Bücher

1. Braunwald E, Zipes PZ, Libby P. *Braunwald's Heart Disease*. 6th edition 2001. W.B. Saunders. Comp. CD-ROM-Ausgabe
2. Classen M, Dierks V, Kochsiek K. *Innere Medizin*. 4., neubearb. Auflage 1998. Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore.
3. Harrison, Tinsley R. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 15<sup>th</sup> edition 2001, McGraw-Hill, New York.
4. Herold G, und Mitarbeiter. *Innere Medizin*. 2002. Im Vertrieb des Autors, Köln.
5. Higgins CB, Hricak H, Helms CA. *Magnetic Resonance Imaging of the Body*. 1996. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. PA, U.S.A.
6. Pohost GM, O'Rourke RA, Berman DS, Shah PM (eds.). *Imaging in Cardiovascular Disease*. 2000. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, U.S.A.
7. Timischl W. *Biostatistik – Einführung für Biologen und Mediziner*. 2000, Springer Verlag Wien.
8. Westbrook C, Kaut C. *MRI in practice*. 2<sup>nd</sup> edition 1998. Blackwell Science Ltd. Oxford, UK

## Abbildungsnachweis

### Abbildungen

Abb. 4.1: Kernspin und Präzession im Magnetfeld

angelehnt an: Siemens. MR-Bildgebung Schritt für Schritt.

Abb. 4.2: Free induction decay (FID)

angelehnt an: Siemens. MR-Bildgebung Schritt für Schritt

Abb. 4.3: Relaxationszeiten T1 und T2

aus: C. Westbrook, C. Kaut. MRI in Practice. 2<sup>nd</sup> edition 1998, Blackwell Science Ltd., Oxford, UK

Abb. 4.4: Bandbreite und Gradientensteilheit

angelehnt an: C. Westbrook, C. Kaut: MRI in Practice. 2<sup>nd</sup> edition 1998, Blackwell Science Ltd., Oxford, UK

Abb. 4.5: Ortskodierung der Gradienten

aus: Westbrook C, Kaut C. MRI in Practice. 2<sup>nd</sup> edition 1998, Blackwell Science Ltd., Oxford, UK

Abb. 4.6: R-Triggerung

vom Autor

Abb. 5.1-6: Entstanden in Zusammenarbeit mit Dr. Kai Hu, Medizinische Klinik der Universität Würzburg.

Abb. 5.7-10: Entstanden am Physikalischen Institut der Universität Würzburg

Abb. 5.11-16: Exemplarischer Datensatz dieser Arbeit.

5.15: Enddiastolische Bilder

5.16: Endsystolische Bilder

Abb. 6.1: Regression LVSV-RVSV, erstellt mit StatView<sup>®</sup>-Software

Abb. 6.2: Bland-Altman-Analyse LVSV-RVSV, erstellt mit StatView<sup>®</sup>-Software

Abb. 6.3: Vergleich LV-RV EDV, ESV, EF, erstellt mit StatView<sup>®</sup>-Software

Abb. 6.4: Bland-Altman-Analyse intraobserver Vergleich RVSV, erstellt mit StatView<sup>®</sup>-Software

Abb. 6.5: Bland-Altman-Analyse RVSV1-RVSV2a-c, erstellt mit StatView<sup>®</sup>-Software

Abb. 6.6: Vergleich RV2-RV1, erstellt mit StatView<sup>®</sup>-Software

Abb. A.1: mit freundlicher Genehmigung des Autors angelehnt an:

In vivo Fluor-NMR-Oximetrie an einem 2T-Ganzkörpermographen und  
Charakterisierung der NMR-Dispersion eines fluorierten Kontrastmittels.  
Streif JU. 07/1999. Diplomarbeit am Physikalischen Institut der Universität  
Würzburg.

Abb. A.2: Fehlermöglichkeiten der Volumenberechnung  
vom Autor

Abb. A.3: Schema Aufbau MR-Bildgebung

mit freundlicher Genehmigung des Autors angelehnt an:

In vivo Fluor-NMR-Oximetrie an einem 2T-Ganzkörpermographen und  
Charakterisierung der NMR-Dispersion eines fluorierten Kontrastmittels.  
Streif JU. 07/1999. Diplomarbeit am Physikalischen Institut der Universität  
Würzburg

## **Tabellen**

Tab. 3.1: Vergleich anatomischer und physiologischer Parameter von Mensch und  
Maus

angelehnt an: James JF, Hewett, TE, Robbins J. Cardiac Physiology in  
Transgenic Mice. Circ Res. 1998;82:407-415

Tab. 6.1: Vergleichsdaten LV und RV der Mäuse 1-13

Tab. 6.2: Intraobserver Vergleich Variabilitätsliste absolut und relativ

Tab. 6.3: Interobserver Vergleich Variabilitätsliste absolut und relativ

Tab. 6.4: RV-Ergebnisse RV1 und RV2a-c

Tab. 6.5: Massenvergleich Autopsie gg. MRI-bestimmtes Gewicht

Tab. 6.6: Interstudy Vergleich RV

Tab. 6.7: RV und LV bei Globalinsuffizienz: LAD-Banding-Modell

Tab. 6.8: RV und LV bei Rechtsherzinsuffizienz: Pulmonal-banding-Modell

## **Gleichungen**

Gl. 4.1: Lamorgleichung

Gl. 5.1: Simpson-Regel

Gl. 5.2: Schlagvolumen

- Gl. 5.3: Ejektionsfraktion
- Gl. 5.4: Cardiac Output (Herzminutenvolumen)
- Gl. 5.5: Mittelwert
- Gl. 5.6: Standardabweichung des Mittelwertes
- Gl. 5.7: Standardfehler des Mittelwertes
- Gl. 5.8: Korrelation
- Gl. 5.9: Normalverteilung
- Gl. A.1: Auflösung in der MR-Bildgebung
- Gl. A.2: Signal-Rausch-Verhältnis
- Gl. A.3: Prisma-Modell
- Gl. A.4: Dreiseitiges Pyramidenstumpf-Modell
- Gl. A5a-c: Denslows ellipisches Schalenmodell basierend auf zwei Achsen  
 aus: Denslow S, Wiles HB, McKellar LF, Wright NA, Gillette PC. Right  
 ventricular volume estimation with an ellipsoidal shell model and two-plane  
 magnetic resonance imaging. Am Heart J. 1995;129(4):782-790
- Gl. A6a-c: Denslows elliptisches Schalenmodell basierend auf einer Achse  
 aus: : Denslow S, Wiles HB, McKellar LF, Wright NA, Gillette PC. Right  
 ventricular volume estimation using an ellipsoidal shell model and single-  
 plane magnetic resonance imaging. Invest Radiol. 1996;31(1):17-25

## Abkürzungen

A., Aa.	Arterie, Arterien
Abb.	Abbildung
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
CO	cardiac output (Herzminutenvolumen)
COPD	chronic obstructive pulmonary disease
EDV	enddiastolisches Volumen
EF	Ejektionsfraktion (ejection fraction)
EKG	Elektrokardiogramm
ESV	endsystolisches Volumen
FID	free induction decay
FG	Feuchtgewicht
FLASH	fast-low-angle-shot (Kernspintomograph. Verfahren, im Text)
FOV	Field of view (engl. für Bildausschnitt)
FT	Fourier Transformation
G	Gauche, Maßeinheit
gg.	gegen, gegenüber
Gl.	Gleichung
HF	Hochfrequenz
KG	Körpergewicht
~ - KO	knockout (genetisch) des ~Gens
KST	Kerspintomographie
LAD	left anterior descending [artery] (engl. für RIVA)
LV	linker Ventrikel, linksventrikulär
MHz	MegaHertz
MR	Magnetresonanz
MRS	Magnetresonanzspektroskopie
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
NMR	nuclear magnetic resonance
NMV	Nettomagnetisierungsvektor

NO	Stickstoffmonoxyd
RF/HF	radiofrequency (engl- für Hochfrequenz)
RIVA	Ramus interventricularis anterior
RV	rechter Ventrikel, rechtsventrikulär
SD	standard deviation (engl. für Standardabweichung vom Mittelwert)
SEM	standard error of the mean (engl. für Standardfehler vom Mittelwert)
SNR	Signal-to-noise-ratio (engl. für Signal-Rausch-Verhältnis)
T	Tesla (Einheit der Magnetfeldstärke)
Tab.	Tabelle
TE	Echozeit
TR	Repetitionszeit
z.B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil
z. Zt.	zur Zeit



## Danksagung

Mein Dank gilt

- Herrn Prof. Dr. S. Neubauer für die Möglichkeit, in seiner Arbeitsgruppe mitwirken zu können, die Stellung des Themas und die Benotung der Arbeit.
- Dem Koreferenten Herrn Prof. Dr. D. Hahn für Durchsicht, Gutachten und Benotung der Arbeit sowie die Monate der Mitarbeit an seinem Institut in angenehmer Arbeitsatmosphäre.
- Herrn Prof. Dr. A. Haase für die Möglichkeit, die Messungen an seinem Institut durchführen zu können.
- Herrn Dr. Frank Wiesmann für die gemeinsame Arbeit, seine Leitung durch die Jahre im Projekt, die vielen Hilfestellungen und kritischen Worte. Ich habe sehr von dem Einblick in wissenschaftliches Arbeiten, den eröffneten Möglichkeiten und den freundschaftlichen Ratschlägen für Studium und Beruf profitiert!
- Herrn Christian Ritter und Herrn Ralf Illinger für die Einarbeitung in die MR-Bildgebung, eine gute Zusammenarbeit und einige lange Nächte am Rechner!
- Herrn Dr. Michael Szimtenings für die Zusammenarbeit in der Physik und viele (nicht nur theoretische) Einsichten!
- Herrn Dr. Jörg Streif und Herrn Dr. Titus Lanz für die Hilfestellungen am Gerät, ruhige Nerven und die Durchsicht des physikalischen Teils!
- Herrn dipl. phys. Jochen Kuhstrebe für viele unterhaltsame Meßtage.
- Frau Judith Rautenberg und Frau Lisa Bauer für die Mitarbeit an den rechtsventrikulären Messungen und Modellen.
- Frau Sabine Voll und Frau Elsbeth Fekete für die Mitarbeit am Projekt in Form vieler „unsichtbarer“ Hilfestellungen sowie Frau Cornelia Heindl für die Mitarbeit am rechtsventrikulären Monocrotalin-Modell.
- Herrn Dr. Kai Hu für die Arbeit am pulmonalen Banding und Frau Charlotte Dienisch für die Arbeit an der LAD-Ligatur.
- Frau Alexandra Klaus für die aufmerksame Tierpflege.
- Meinen Eltern für *alle* eröffneten und unterstützten Möglichkeiten, das kritische Hinterfragen des Fortschrittes der Arbeit, das Vertrauen in meine Fähigkeiten und die Durchsicht der Entwürfe.



## **Lebenslauf**

### **Alex Frydrychowicz**

aktuell: Stühlingerstr. 11  
79106 Freiburg

geboren 03.07.1975 in Frankfurt am Main

ledig

### **Schule**

1981-1985 Grundschule Kelkheim i. Ts.

1985-1994 Bischof-Neumann-Schule Königstein i. Ts., Abitur

### **Zivildienst**

1994-1995 Malteser Hilfsdienst Kelkheim, Ausbildung zum Rettungssanitäter

### **Ausbildung**

1995 1 Semester Studium der Biologie (Diplom), Universität Würzburg

#### **Studium der Humanmedizin**

3/1998 Physikum

3/1999 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

3/2002 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

6/2003 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

### **Praktische Erfahrungen**

Famulaturen in den Fächern Chirurgie, Dermatologie, Radiologie, Innere Medizin, Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde in Deutschland, England und den USA

### **Praktisches Jahr**

Innere Medizin: Universität Würzburg, Universität Oxford, GB

Radiologie: Universität Würzburg

Chirurgie: Universität Zürich, CH

### **Berufl. Werdegang**

06/03-06/04 Medizinischen Klinik III, Abt. Kardiologie und Angiologie  
Universitätsklinik Freiburg

ab 07/04 Institut für Röntgendiagnostik, Universitätsklinik Freiburg