

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. Georg Ertl

**Langzeitverlauf der
linksventrikulären Hypertrophie
von Mäuseherzen nach Aortenbanding**

**- nichtinvasive Charakterisierung mittels schneller hochauflösender in vivo
Magnetresonanztomographie -**

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

vorgelegt von

Christian Oliver Ritter

aus Neumarkt / Oberpfalz

Würzburg, Juli 2006

Referent: Professor Dr. med. Georg Ertl

Koreferent: Prof. Dr. med. Dietbert Hahn

Dekan: Professor Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Dezember 2006

Der Promovend ist Arzt.

Widmung

Aus Dank und Anerkennung
für die Ermöglichung meiner
medizinischen Ausbildung
widme ich diese Arbeit meinen Eltern,
Frau Ursula und Herrn Dr. med. Hermann Ritter.

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	1
2. Grundlagen der Magnetresonanztomographie	3
2.1 Der Kernspin	3
2.2 Die Entstehung der Magnetresonanz	4
2.3 Wichtung und Kontrastoptimierung	5
2.3.1 Die Relaxationszeit T_1	5
2.3.2 Die Relaxationszeit T_2	6
2.3.3 Die Relaxationszeit T_2^* oder T_2^{**}	6
2.4 Die technischen Basis-Bestandteile eines Kernspintomographen	7
2.4.1 Der Magnet	7
2.4.2 Die Hochfrequenz Sender und Spulen	7
2.4.3 Signalempfang und Signalverarbeitung	9
2.5 Pulssequenzen und Bilderzeugung	9
2.5.1 Bildgebung mit Spinechos (SE)	9
2.5.2 Bildgebung mit Gradientenechos (GE)	10
2.6 Status quo der MRT versus der Echokardiographie und Möglichkeiten der Optimierung	11
3. Methodik	14
3.1 Operatives Banding der Aorta	14
3.2 Versuchsaufbau	16
3.2.1 Hardware Komponenten	16
3.2.1.1 Der BIOSPEC-Scanner	16
3.2.1.2 Das Gradientensystem	18

3.2.1.3 Die Hochfrequenzspule	18
3.2.1.4 Die EKG-Trigger-Einheit	19
3.2.1.5 Narkotisierung der Versuchstiere	21
3.2.1.6 Temperierung	22
3.2.2 Pulssequenz	23
3.2.3 Messprotokoll und Einstellparameter	24
3.3 Ermittlung der linksventrikulären Funktionsparameter	29
3.4 Histologie-Gewinnung	32
3.5 Färbungen	33
3.5.1 Hämalaun-Eosin (HE) Färbung	33
3.5.2 Pikro-Sirius-Red (PSR) Färbung	34
3.6 Computergestützte Kardiomyozyten-Planimetrie	35
3.7 Collagendichte-Bestimmung mit Hilfe von zirkulär polarisiertem Licht	37
3.7.1 Histologie und Zytologie	37
3.7.2 Färbungen	37
3.7.3 Mikroskopische Untersuchungen	37
3.7.4 Software und Messmethoden	38
4. Strukturelle Besonderheiten des Mäuse-Herzens	44
4.1 Anatomie	44
4.2 Kardiale Dimensionen und zellulärer Besonderheiten des Mäuseherzens	44
5. Physiologie der linksventrikulären Hypertrophie	46
5.1 Druck-Volumen-Beziehungen des Herzen	46
5.2 Anpassungs-Möglichkeiten an eine akute Druckbelastung	46

5.2.1 Erhöhung der Herzfrequenz	46
5.2.2 Positive Inotropie	47
5.2.3 Frank-Starling-Mechanismus	48
5.3) Anpassung an eine chronische Belastung (Hypertrophie)	49
6. Ergebnisse	51
6.1 Ergebnisse der Magnetresonanztomographie	51
6.2 Histologisch gestützte Ergebnisse	64
6.2.1 Planimetrisch ermittelte Ergebnisse	64
6.2.2 Ergebnisse der Collagendichte-Messungen mit zirkulär polarisiertem Licht	65
7. Diskussion	66
7.1 Aortenbanding als Modell der Herzinsuffizienz durch druckinduzierte Hypertrophie	66
7.2 Veränderungen der kardialen Funktions-Parameter im Sinne eines Kompensations- und Dekompensations-Stadiums	67
7.2.1 Volumina	67
7.2.2 Linksventrikuläre Masse / linksventrikulärer Massenindex	68
7.2.3 Dynamik der Herzaktion (Volumen-Zeit-Kurven)	68
7.3 Interpretation des Zeitverlaufes der einsetzenden Mechanismen der Herzinsuffizienz des Mäuseherzen im Vergleich zu anderen Spezies	69
7.4 Änderung der Geometrie des linken Ventrikels bezüglich der Wand-Dickenzunahme	70
7.5 Strukturelle Umbauprozesse auf zellulärer Ebene	70

7.5.1 Veränderungen der Kardiomyozyten	70
7.5.2 Veränderung des Kollagengerüsts	72
8. Zusammenfassung und Ausblick	75
8.1 Vorteil der Spezies „Maus“ für die kardiale Grundlagen-Forschung	75
8.2 Vorteile des Einsatzes der Kernspintomographie in der kardialen Funktionsanalyse	75
9. Literaturverzeichnis	78
9.1 Wissenschaftliche Arbeiten	78
9.2 Verwendete Fachliteratur	85
10. Anhang: Graphen 24 – 31	87
11. Abkürzungen	91
Danksagung	
Lebenslauf	

1. Einleitung

Herz-Kreislaufkrankungen stehen in den Industrienationen an erster Stelle unter den häufigsten Todesursachen. Sie haben somit große medizinische und auch ökonomische Bedeutung. Die Erforschung der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz als Grundlage für gezielte und effektive Therapieansätze hat daher einen entscheidenden Stellenwert und wird mit hohem finanziellen und personellem Aufwand vorangetrieben.

Die Magnetresonanztomographie ist ein modernes, strahlungsfreies, nichtinvasives Bildgebungs-Verfahren mit hoher zeitlicher und räumlicher Auflösung zur exakten Bestimmung von Myokardmorphologie und -funktion. Im Gegensatz zur zweidimensionalen transthorakalen M-mode Echokardiographie ermöglicht die MR-Bildgebung eine zwei- bzw. dreidimensionale Darstellung komplexer geometrischer Formen, die reproduzierbare und genaue Ermittlung dynamischer Parameter für quantitative Aussagen mit Hilfe von Kino-Sequenzen sowie im Rahmen der MR-Spektroskopie Informationen über den kardialen Metabolismus [1, 2].

Unter den Tiermodellen hat das Modell „Maus“ einen herausragenden Stellenwert in der kardiologischen Grundlagenforschung erlangt. Es ermöglicht durch inzwischen detaillierte Kenntnisse des Mäusegenoms die gezielte Genmanipulation im Sinne einer Genmutation, Gentranslation oder Genablation, dem sog. Gen-Knockout. Kurze Generationszeiten, niedrige Haltungskosten und eine auch für Langzeitstudien ausreichende Lebensdauer machen die Maus zu einem attraktiven Forschungsobjekt.

Bei der Bildgebung von Mäuseherzen sind aufgrund der geringen Geringe Beschaffungskosten und hohe Reproduktionsraten machen die Maus unter den Kleinnagetiermodellen besonders interessant. War die bisherige Aufgabe eines Tiermodells die Beschreibung genetischer Veränderungen anhand ihres Phänotyps so gilt heute das Interesse der Forschung dem Rückschluss der veränderten Ausprägung auf die zugrunde liegende genetische Variation. Da das Genom der Maus nahezu vollständig entschlüsselt ist und gezielte genetische Manipulationen realisierbar sind, gilt das Augenmerk heute der genauen Charakterisierung der resultierenden phänotypischen Ausprägung. Bei einer sehr kleinen Organgröße und einer sehr hohen Herzfrequenz sind besonders bei der kardialen Bildgebung hohe technische

Anforderungen zu erfüllen. So konnten am Tiermodell „Maus“ bisher mangels geeigneter Untersuchungstechniken nur geringe valide Funktionsdaten ermittelt werden, eine Absolutquantifizierung war bisher kaum möglich. Dies war wesentlicher Bestandteil der Motivation für diese Arbeit.

Besondere Zielsetzung dieser Arbeit war die nicht-invasive Beobachtung einer Druckbelastung des Herzens durch definiertes Banding der Aorta ascendens in einem *in vivo* Mausmodell im Langzeitverlauf mit Hilfe der mikroskopischen Cine-MRT-Bildgebung. Besonderes Interesse galt den kardialen Funktionsparametern mit der Frage nach Kompensationsmechanismen im Sinne einer exzentrischen und/oder konzentrischen Hypertrophie sowie der Charakterisierung des zeitlichen Ablaufs dieser strukturellen und funktionellen Veränderungen bei der Maus. Anhand histologischer Untersuchungen sollte zusätzlich überprüft werden, inwieweit die auf das ganze Herz bezogene Änderung von Morphologie und Funktion mit den strukturellen Veränderungen auf zellulärer Ebene korreliert.

2. Grundlagen der Magnetresonanztomographie:

2.1. Der Kernspin

Physikalische Grundlage der Methode ist das magnetische Moment von Atomkernen. Dieses erklärt sich aus der Erkenntnis, dass es sich bei einem Atomkern um eine rotierende Masse mit einer geringen positiven Ladung handelt. Somit entsteht durch die Bewegung, auch Spin genannt, ein eigenes kleines Magnetfeld, symbolisiert durch den Vektor μ . Wird nun dieses Atom in ein äußeres Magnetfeld gebracht, so beginnt der Atomkern mit seinen eigenen magnetischen Eigenschaften um die Achse dieses Magnetfeldes zu kreisen. Dieses „Spielkreisel“-ähnliche Phänomen wird auch als Präzession bezeichnet. Die Frequenz ν der Präzession wird mit der „Larmour-Gleichung“ wie folgt beschrieben: $\nu = \gamma/2\pi * B$.

Dabei steht ν für die Larmour-Frequenz (Einheit Hertz = Hz), γ für das gyromagnetische Verhältnis (Einheit Hertz pro Tesla = Hz/T), B für die Magnetfeldstärke (Einheit Tesla = T) und π für die Kreiszahl. Das gyromagnetische Verhältnis beschreibt die Relation von mechanischen und magnetischen Eigenschaften eines Atomkerns zueinander und bildet für jeden Atomkern eine eigene Konstante. In einem Magnetfeld gleicher Stärke kreisen Atomkerne mit unterschiedlichen gyromagnetischen Eigenschaften und somit auch mit unterschiedlicher Larmour-Frequenz (z.B. ^1H bei 42,58 MHz/T)

In der Medizin interessante Atomkerne sind Wasserstoff (^1H), Kohlenstoff (^{13}C), Natrium (^{23}Na) und Phosphor (^{31}P), da sie von Natur aus im tierischen und menschlichen Organismus vorkommen.

Setzt man Atomkerne einem magnetischen Feld aus, so können sie Radiowellen absorbieren und nachfolgend wieder ausstrahlen. Dieser Vorgang wird als „Resonanz“ bezeichnet und gilt als grundlegendes Phänomen für die Kernspintomographie. Diese Eigenschaft wurde als „nuclear magnetic resonance“ von Felix Bloch und Edward M. Purcell beschrieben, die 1952 für ihre Forschungen den Nobelpreis für Physik erhielten.

2.2. Die Entstehung der Magnetresonanz

Die Frequenz der eingestrahlten Radiowellen hängt, wie oben bereits erwähnt, von der Magnetfeldstärke ab. Je höher die Feldstärke, desto höher muss auch die Radiofrequenz sein. Die heute zur Bildgebung verwendeten Frequenzen liegen im Megahertzbereich.

Trifft nun eine von außen eingestrahlte elektromagnetische Welle mit einer passenden Frequenz, der Larmour-Frequenz, auf einen dafür passenden Atomkern, so tritt dieser Kern aus einem Zustand niedriger Energie in einen Zustand höherer Energie über.

Betrachtet man den Nettoeffekt aller Atomkerne eines menschlichen Körpers in einem äußeren Magnetfeld, so erkennt man, wie gering der Unterschied zwischen aktuell stabilen und instabilen Energiezuständen ist. Von diesem Unterschied hängt jedoch das Signal, welches zur späteren Bilderstellung dient, ab.

Nach der Boltzmann-Verteilung ist jedoch die Wahrscheinlichkeit genau definiert, ob sich ein System im hohen ($N_{(h)}$) oder niedrigen ($N_{(n)}$) Energieniveau (N) befindet:

$$N_{(n)} / N_{(h)} = \exp (\Delta E / kT)$$

Dabei steht E für den Energiezustand zwischen beiden Niveaus, k für die Boltzmann-Konstante und T für die absolute Temperatur. Da der Energieunterschied zwischen beiden Niveaus der Magnetfeldstärke laut Larmour-Gleichung proportional ist und die Signalstärke von der Besetzungsdifferenz abhängt, lässt sich folgern, dass die Signalstärke mit zunehmender Feldstärke ansteigen wird. Allerdings ist das Anheben der Feldstärke nicht der alleinige Faktor für ein gutes Signal, da das Signal-zu-Rausch-Verhalten auch noch von anderen Faktoren wie z.B. Empfänger, Sende- und Empfangsspule abhängt.

Möchte man aus einem Vorgang, der sich in drei Dimensionen abspielt, eine Ortsinformation erhalten, muss man ein rotierendes Koordinatensystem für das Spin-System definieren. Man beobachtet hierbei das in der Larmour-Frequenz kreisende Spin-System aus einem dreidimensionalen Koordinatensystem mit den orthograd

zueinanderstehenden Achsen x-y-z heraus, welches selbst wiederum in der Larmour-Frequenz kreist.

Um den Spin eines Systems anzuregen, bedarf es kurzer Radioimpulse mit hoher Intensität. Die Frequenz dieser Radiowellen sollte der Larmour-Frequenz der anzuregenden Atomkerne entsprechen bzw. ihr möglichst nahe liegen. Physikalisch übt der eingestrahlte Radiofrequenz-Impuls eine Drehbewegung auf die Magnetisierung aus, d.h. sie wird aus der Richtung des äußeren Magnetfeldes B_0 gekippt. Dabei kreist die Nettomagnetisierung weiterhin mit der Larmour-Frequenz um B_0 , die sog. Präzessionsbewegung. Da es sich bei dieser rotierenden Magnetisierung um eine Oszillation handelt, ist es möglich, einen Teil der damit verbundenen Energie mit einer Radiofrequenzantenne aufzufangen.

Das Signal, welches man mit einer solchen Antenne empfängt, wird auch als freier Induktionsabfall bezeichnet (free induction decay, kurz FID). Dieses beinhaltet nun die verschiedensten Larmour-Frequenzen und muss zur Bilderstellung in seine Bestandteile zerlegt werden. Diese Frequenzanalyse erfolgt mit Hilfe einer nach Joseph Fourier benannten mathematischen Operation, der sog. „Fourier-Transformation“. Mit dem „Fast-Fourier-Algorithmus (FFT)“ geschieht diese Analyse in wenigen Millisekunden.

2.3 Wichtungen und Kontrast-Optimierung

2.3.1 Die Relaxationszeit T_1 (Längs-Relaxationszeit oder Spin-Gitter-Relaxation)

T_1 ist die charakteristische Zeit, die der Kern nach Anregung (Exzitation) braucht, um sich wieder zu „erholen“ (recovery). Der T_1 -Wert gibt definitionsgemäß die Erholzeit an, nach der 63% der Ruhemagnetisierung in einer exponentiellen Funktion erreicht sind.

Im Spinechoverfahren zeichnet sich die T_1 -Wichtung durch eine kurze Repetitionszeit (TR) und eine kurze Echozeit (TE) aus. TE muss hierbei so kurz gewählt werden, dass noch kein T_2 -Kontrast entstanden ist. Je kürzer man die TR wählt, desto stärker wird der T_1 -Kontrast, dies allerdings auf Kosten des Signals. In T_1 gewichteten Sequenzen erscheint Fett hell und Wasser dunkel.

Entscheidend für die Wichtung ist auch der sog. Flipwinkel α . Große Flipwinkel erzeugen T_1 gewichtete Bilder, wobei TR und α gegenläufigen Effekt haben.

2.3.2 Relaxationszeit T_2 (Quer-Relaxationszeit oder Spin-Spin-Relaxation)

Die charakteristische T_2 -Zeit beschreibt, wie schnell die gewebsspezifische Quermagnetisierung abklingt, d.h. wie schnell es zum Phasenverlust der rotierenden Atomkerne kommt (was zum Zerfall der Nettomagnetisierung in der x-y-Ebene führt).

Beim Spinecho-Verfahren wird nach der Resonanzanregung, z.B. einem 90° Impuls, zu einem vom Benutzer eingestellten Zeitpunkt (TE) der noch bestehende Anteil der Quermagnetisierung ermittelt. Je länger T_2 , desto stärker ist also das Signal und desto heller ist auch das Bild. Eine T_2 -gewichtete Sequenz zeichnet sich im Spinechoverfahren durch eine lange TR und eine lange TE aus. Der T_2 -Wert ist entsprechend der dazugehörigen Exponentialfunktion bei Erreichen von 63% der gesamten Dephasierung. Bei zweimal T_2 ergibt dies 86%, bei dreimal T_2 bereits 95% und bei fünfmal T_2 99%. In T_2 -gewichteten Bildern erscheint Fett dunkel und Wasser hell.

Will man den unter Umständen gegenläufigen Einfluss von T_1 vermeiden, wählt man TR so groß, dass die Erholung der Längsmagnetisierung bereits weitgehend erfolgt ist (bei dreimal T_2 95%).

2.3.3 Relaxationszeit T_2^* oder T_2^{}**

Sie tritt bei Gradientenechos auf und ist kein reiner Gewebparameter als vielmehr ein Überlagerungsprodukt aus der Homogenität des Magnetfeldes sowie lokaler Magnetfeldeinflüsse, der sog. „Suszeptibilität“.

2.4 Die technischen Basis-Bestandteile eines Kernspintomographen

Als grundlegende Bestandteile eines Kernspintomographen gelten:

2.4.1 Der Magnet

Der Aufbau eines statischen, stabilen und homogenen Magnetfeldes gelingt mit verschiedenen Magnetarten wie z.B. Permanentmagneten sowie Elektro- oder Widerstandsmagneten. Um jedoch homogene Feldstärken über 2 Tesla zu erreichen, werden derzeit supraleitende Magneten benutzt. Der Vorteil eines supraleitenden Magneten liegt darin, dass bestimmte Legierungen bei Abkühlung nahe dem absoluten Nullpunkt ($4 \text{ K} = -269^\circ \text{ C}$) einen drastisch erniedrigten Widerstand gegenüber elektrischer Spannung aufweisen. So können stabile Magnetfelder mit sehr hohen Feldstärken erzeugt werden. Als Kühlmittel für supraleitende Systeme werden derzeit flüssiger Stickstoff für den äußeren Kühlbehälter und flüssiges Helium für den inneren Kühlbehälter benutzt.

Da trotz dieses kostenintensiven Aufwands noch kein ausreichend homogenes Feld erzeugt werden kann, welches eine artefaktfreie Bildqualität ermöglicht, werden zusätzlich noch sogenannte Ausgleichsspulen (shim-coils) eingesetzt. Mit ihnen lassen sich Ausgleichfelder bekannter Ausmaße erzeugen, mit denen die Feldinhomogenitäten kompensiert werden können.

Eine weitere Möglichkeit zur Erzeugung eines hochhomogenen Feldes ist der Einsatz von magnetischen Feldgradienten, oder kurz Gradienten. Dies sind ladungstragende Konduktoren, welche Magnetfelder generieren können, die über die zu untersuchende Region linear angeordnet werden können. Verwendet man nun drei Gradienten in orthogonaler Ausrichtung, so kann man diese Netz-Gradienten in allen gewünschten Richtungen einsetzen.

2.4.2. Die Hochfrequenz-Sender und Spulen

Wie oben bereits erwähnt wird durch einen kurzdauernden Hochfrequenz(HF)-Impuls die initiale Anregung des Elementarmagneten durchgeführt, welcher in seiner Frequenz

der Larmour-Frequenz möglichst nahe liegt. Diese Pulse werden im Sendeteil des Gerätes produziert, ihre Dauer liegt im Regelfall zwischen 10 und 40 μs . Jedes zu untersuchende Objekt muss innerhalb einer HF-Sendespule liegen, welche die Eigenschaft aufweist, mit der oder nahe der Larmour-Frequenz der zu untersuchenden Atomkerne Resonanz zu zeigen. Somit darf die Spule nur einen geringen Widerstand gegenüber dem aus dem Sendeteil ankommenden Puls haben. Aufgrund des geringen Widerstandes von Kupfer sind die Spulen meist aus mehreren Windungen Kupferdraht hergestellt. Häufig verwendet werden Helmholtz-Spulen (Sattelspulen), Solenoidspulen sowie Oberflächenspulen [Abb. 1a-c].

Helmholtz-Spulen erzeugen ein oszillierendes Magnetfeld im rechten Winkel zur Zylinderachse, Solenoidspulen ein oszillierendes Magnetfeld parallel zur Zylinderachse. Oberflächenspulen dienen dazu, Signale einer kleinen Region unterhalb der Spule einzufangen.

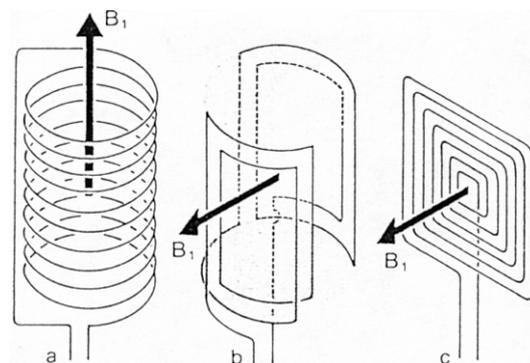


Abbildung 1 : a) Solenoidspule b) Helmholtz-Spule c) Oberflächenspule

Einen wesentlichen Faktor für die Bildqualität stellt das sog. Signal-zu-Rausch-Verhältnis dar (S/R). Hierbei handelt es sich um Überlagerungen des relativ schwachen Kernsignals mit dem natürlichen Hintergrundrauschen sowie den auftretenden Überspannungen. Um diesen Effekt so klein als möglich zu halten, muss der Untersuchungsraum gut abgeschirmt sein. Da das Untersuchungs-Objekt selbst jedoch ebenfalls Rauschen verursacht, muss man die Empfänger-Spulen möglichst sensibel für nur einen kleinen Empfängerbereich konstruieren. Das heißt also, je kleiner bei einem

konstanten Grundrauschen der zu untersuchende Bereich gewählt wird, desto größer wird das S/R-Verhältnis. Wiederholt man eine MRT-Untersuchung mehrmals und zeichnet das Signal bei jeder Messung erneut auf („Mittelung“), so addieren sich die NMR-Signale konstant, während das Rauschen abnimmt. Für n Durchläufe in der Datenermittlung liegt die Bruttozunahme des S/R bei \sqrt{n} , d.h. bei vier Wiederholungen steigt das S/R um den Faktor 2.

2.4.3 Signal-Empfänger und Signalverarbeitung

Der HF-Empfänger nimmt die sich im Mikrovoltbereich bewegenden NMR-Signale, die von dem zu untersuchenden Objekt ausgesandt werden, auf und verstärkt das Signal um den Faktor 500 – 1000. Nach der Umsetzung des Signals in den Voltbereich erfolgt eine Transformation in den Kilohertzbereich (Audiobereich). Dieses Analogsignal kann mit einem ADC (analog-to-digital converter) in ein digitales Signal mit binären Einheiten umgewandelt werden. Mit Hilfe spezieller Software kann nun die Fourier-Transformation zur Frequenzanalyse vorgenommen werden, ein Frequenzspektrum erstellt und mit diesem nach weiterer computergestützter Verarbeitung ein Magnetresonanzbild erzeugt werden.

2.5 Pulssequenzen und Bilderzeugung

Im folgenden ein kurzer Überblick etablierter Sequenzen in der MR-Bildgebung:

2.5.1 Bildgebung mit Spinechos (SE)

Konventionelle Spinecho-Sequenzen (Messdauer bis zu 10 Minuten) finden ihre Anwendung in der zweidimensionalen Bildgebung z.B. zur Darstellung von Gehirn, Augenhöhle, Gehörnerven, Gelenken, Band- und Sehnenapparat, Muskeln, Thorax und Herz. Es gelingt eine gute Abgrenzung anatomischer Strukturen. Als Weiterentwicklung stehen TurboSE (TSE) mit Multiecho-Sequenzen sowie TurboGradientenSE (GSE) zur Verfügung, die in einer wesentlich kürzeren Messzeit (bis zu 3 Minuten) eine höhere

Auflösung ermöglichen. In Atemanhaltetechnik ist eine gut auflösende Untersuchung des Abdomens möglich.

Zur sequentiellen Aufnahme von hochaufgelösten T_2 -gewichteten Bildern steht die HASTE-Sequenz (half-fourier acquisition single shot TurboSE) zur Verfügung. Die Messzeit liegt hier im Subsekunden- bis Sekunden-Bereich und wird bei Untersuchungen des Herzens zur Abgrenzung eines Perikardergusses oder eines Postinfarkt-Ödems verwendet.

2.5.2 Bildgebung mit Gradientenechos (GE)

Im Gegensatz zu den Spinecho-Sequenzen haben Gradientenecho-Sequenzen mehrere Vorteile:

- kürzere Messdauer mit der Möglichkeit dynamischer Messungen
- Unempfindlichkeit gegenüber Bewegungsartefakten durch Patienten- oder Atembewegung
- besseres S/R pro Zeiteinheit
- dreidimensionale- Bildgebung mit z.B. der FISP-Sequenz
- starker T_1 und/oder T_2^* gewichteter Kontrast

Konventionelle Gradientenecho-Sequenzen sind FLASH und FISP/PSIF. Bei der FLASH-Sequenz (fast-low-angle-shot) wird im Gleichgewichtszustand nur die Längsmagnetisierung genutzt. Die verbleibende Quermagnetisierung wird durch einen sog. „spoiler“ zerstört. Mit der FLASH-Sequenz lässt sich ein T_1 und ein T_2^* gewichteter Kontrast einstellen. Die Aufnahme zweidimensionaler FLASH-Bilder ist heute bereits unter 250 ms möglich, was eine ungetriggerte Bildgebung am menschlichen Herzen möglich macht.

Bei der FISP-Sequenz (free-induction-steady-state-precession) wird die Quermagnetisierung nicht zerstört, sondern für die Signalverstärkung genutzt. Die Höhe der Längsmagnetisierung hängt hierbei von T_1 , die Amplitude der Quermagnetisierung von T_2^* ab. Der Kontrast ist eine Funktion des Verhältnisses T_1/T_2^* und unabhängig

von TR. Als PSIF bezeichnet man die umgekehrte FISP, welche einen stark T_2^* -gewichteten Kontrast in kurzer Messzeit erreichen kann.

2.6 Status quo der MRT versus der Echokardiographie und Möglichkeiten der Optimierung

Die heute vielfach zur Bestimmung von kardialen Parametern verwendeten echokardiographischen Methoden (M-mode und 2D-Echo) unterliegen einer stark schwankenden Bildqualität. Es müssen aufgrund der wenigen gemessenen Schichten Annahmen bezüglich der realen anatomischen Konfiguration des Ventrikels getroffen werden und mit Hilfe der biplanen Volumetrie, welche auf ungenauen geometrischen Annahmen beruht, umgerechnet werden. Dies ist besonders bei erkrankten Herzen ungenau und somit ist die Standardabweichung bei der Massenbestimmung relativ hoch. Ein wesentlich limitierender Faktor ist die eingeschränkte räumliche Auflösung, da der dreidimensionale Ultraschall bisher noch nicht ausreichend entwickelt ist. So dient die Echokardiographie bisher für *in vivo* Größenbestimmungen und Aussagen zur Mechanik. Ein wesentliches Problem der Echokardiographie bei der Miniaturisierung zur Anwendung im Tiermodell „Maus“ ist die schwierige Abgrenzbarkeit des Myokard gegenüber dem umliegenden Gewebe. Eine Studie von Manning aus dem Jahr 1994 [3] verwendete einen zweidimensionalen 7,5 MHz M-Mode Echokardiographie Ansatz bei der Maus mit guten Ergebnissen in Korrelation zu den post mortem erhaltenen autoptischen Daten. In der Echokardiographie wird das Herz als Halbellipsoid mit einem apikalen Zylinder gesehen. Hierzu werden die Parameter Kammerlänge, epi- und endokardiale Kurzachs-Fläche verwendet [4]. Echokardiographische Studien von Lee et al. haben jedoch gezeigt, dass der postnatale linke Ventrikel eine eher längliche Form hat, welche sich in der Wachstumsphase in eine sphärische Form umbaut [5]. Auf diese Tatsache begründet sich eine Unterschätzung der linksventrikulären Masse bei jungen Mäusen in Modellen, die nur auf Messungen von Kurzachsschnitten basieren. Dennoch liefern z.B. Arbeiten von Gardin et al. stabile Funktionsparameter mit einer nur geringen Intra- und Interobservervariabilität [6, 7, 8].

Die MR-Herzbildgebung bietet gegenüber den in der Forschung etablierten Methoden wie Echokardiographie und Katheter-Hämodynamik einen großen Vorteil bei der Ermittlung zahlreicher Parameter mit einer einzigen Untersuchung. Es können Aussagen zu Anatomie, Funktion, Perfusion, Gefäßarchitektur und Energiestoffwechsel getroffen werden. Dies geschieht bis auf die eventuelle Gabe von Gadolinium(Gd)-haltigen Kontrastmittel nichtinvasiv. Es besteht keine Strahlenbelastung oder die Notwendigkeit der Gabe von iodhaltigen Kontrastmitteln.

Der Einsatz der MR-Bildgebung am Menschen ist bei kardiologischen Fragestellungen wie Myokardvitalität, Perfusion, Funktion und Morphologie heute bereits in der klinischen Routine möglich [9, 10]. Untersuchungen von Bypass-Patienten, Patienten mit Koronararterienstenose sowie die Koronarplaque-Diagnostik sind mit der NMR möglich, jedoch noch kein Routineverfahren. Bei diesen speziellen Fragestellungen ist derzeit die neue Generation der Mehrschicht-Computertomographen (MSCT) , z.B. ein 64-Zeilen Computertomograph bzw. ein Dual-Source Computertomograph zu bevorzugen. Als derzeitiger Goldstandard für die klinische Diagnostik des Herzens hinsichtlich der Vitalität bei bekanntem kardialen bzw. koronaren Befund gelten nuklearmedizinische Untersuchungstechniken wie die Positronen-Emissions-tomographie (PET) und die Single-Photon-Emissions-Computer-tomographie (SPECT). Derzeit besteht aufgrund der schlechteren räumlichen Auflösung der nuklearmedizinischen Verfahren der Trend in Richtung Kombination der radiologischen und nuklearmedizinischen Methoden. Technisch realisiert wird dies derzeit durch Kombinationsgeräte wie PET/CT und SPECT/CT.

Technische Verbesserungen sind im Bereich des Spulendesigns möglich. Hier wird ein für die zu untersuchende Region optimal abgestimmtes Spulendesign (Phased-array-Spulen) gewünscht. Hinsichtlich der Gradientenleistung werden immer schnellere Gradientenschaltzeiten versucht (aktuell bis TR 1,5ms). Auch die Erhöhung der Gradientenstärke (aktuell 40mT/m) wird von verschiedenen Forschungsgruppen propagiert. Inwieweit das S/R sinnvoll ohne Einschränkung der Auflösung oder der zu untersuchenden Fläche erhöht werden kann, ist derzeit Gegenstand der wissenschaftlichen und technischen Diskussion. Gefordert wird auch eine möglichst hohe Homogenität des magnetischen Feldes, was durch die Erhöhung der magnetischen

Feldstärke von 1,5 T auf 3 T im klinischen Betrieb bereits erzielt werden kann. Entscheidend wird auch die Weiterentwicklung der vorhandenen Sequenzen sein. Ein besonderes Augenmerk verdienen hierbei die schnellen parallelen Bildgebungssequenzen.

Bei der Anwendung im Mausmodell ist die MRT sicher noch kein Routineverfahren, was auf die hohen Betriebskosten, den operationalen Aufwand und die im Vergleich zur Echokardiographie deutlich verringerte Verfügbarkeit zurückzuführen ist. Dennoch liefert die mikroskopische MRT bei der Anwendung im Mausmodell stabile und mit autoptisch gewonnenen Daten gut korrelierende Funktions- und Massenparameter [11].

3. Methodik

3.1 Operatives Banding der Aorta

Die abrupte Konstriktion der Aorta ascendens wird schon seit Jahrzehnten als ein probates Mittel zur Induktion einer linksventrikulären Hypertrophie bei Hunden, Schweinen, Meerschweinchen, Ratten und Mäusen genutzt. Der Grad der Konstriktion sowie der Alterszeitpunkt des Bandings spielt hierbei eine große Rolle [11]. Appliziert man ein leichtes Banding bei noch wachsenden jungen Hunden oder Schweinen, so entwickelt sich eine stufenweise Hypertrophie, die jedoch im ersten Jahr häufig nicht zu einer Herzinsuffizienz führt. Daher entschieden wir uns für eine Band-Ligatur der Aorta, welche eine definierte hochgradige Stenose erzeugt.

Nach kurzer Narkoseeinleitung in einem mit Ether begasten Glasbehälter über eine Minute, erfolgte eine Intubationsnarkose (ITN) mit Isofluran. Der operative Zugang fand nach Hautrasur und Desinfektion über einen medianen Hautschnitt und Sternotomie statt. Daraufhin erfolgte die Präparation des Aortenbogens mit Darstellung des Abgangs des Truncus brachiocephalicus, der Arteria carotis communis sinister sowie der linken Arteria subclavia.

Das Banding der Aorta im Arcus aortae erfolgt nach dem von Rockman et al. 1991 beschriebenen Schema [12; Abb.2] kurz nach dem Abgang des Truncus brachiocephalicus mit Hilfe einer 27 Gauge-Kanüle als definiertem Durchmesser. Diese wurde in die um die Aorta gelegte Fadenschlinge mit eingelegt. Nach Knoten des 7-0 Nylon-Fadens wurde die Kanüle entfernt, es entstand somit eine standardisierte Stenose mit einem Durchmesser von 0,4 mm, was einem Stenosegrad von 65-70% entspricht. Die Operationswunde wurde mit Einzelknopfnähten verschlossen.

Zur Validierung des Bandings wurde vor Beginn der Verlaufstudie bei jeder Maus eine 3D-NMR-Angiographiesequenz des Aortenbogens durchgeführt [Abb.3]. Nur Mäuse mit Banding-Nachweis wurden in die Studie eingeschlossen.

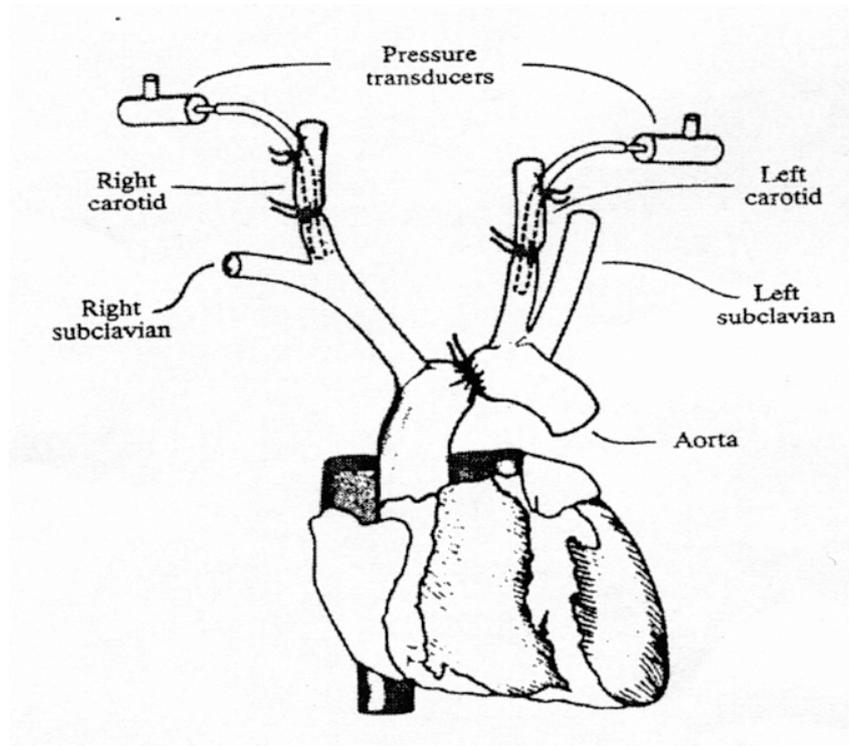


Abbildung 2: Darstellung des Bandings der Aorta im Arcusbereich [aus 2].

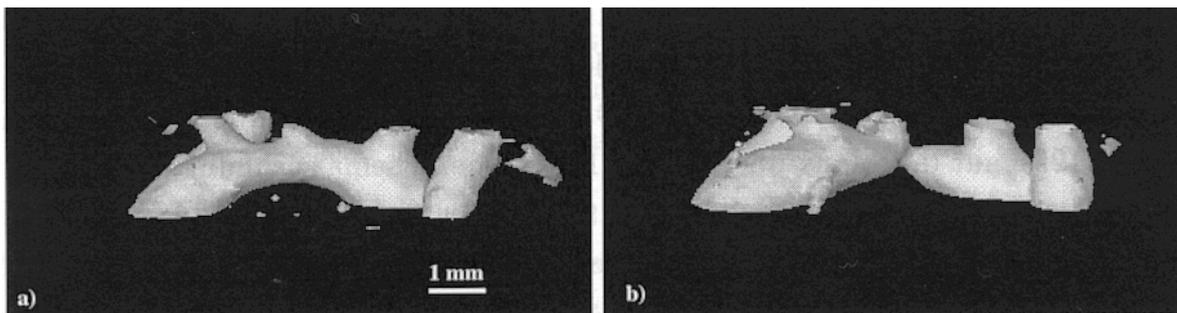


Abbildung 3: Oberflächendarstellung des Aortenbogens a) vor und b) nach Aorten-Banding aufgenommen mit einer 3D-MR-Angiographiesequenz [aus B14].

3.2 Versuchsaufbau:

3.2.1 Hardware-Komponenten:

3.2.1.1 Der BIOSPEC-Scanner

Alle Messungen wurden durchgeführt an einem BIOSPEC-70/20-Scanner der Firma Bruker Medizintechnik (Karlsruhe, Deutschland) mit einer horizontalen Magnetfeldbohrung von 21 cm Durchmesser [Abb. 4.1 und 4.2]. Die Feldstärke des supraleitenden Magneten beträgt 7,05 T, was einer Protonenresonanzfrequenz von 300,32 MHz entspricht. Das verwendete Magnetfeld ist somit zirka 140.000 mal stärker als das Erdmagnetfeld. In unserem Aufbau handelte es sich um einen horizontal aufgestellten, supraleitenden Magneten mit der Feldstärke 7,05 Tesla. Um diese hohe Magnetfeldstärke zu erreichen, wird der Magnet mit flüssigem Helium (LHe), welches bei 4°K (-269°C) siedet, unter die für die Supraleitung notwendige Sprungtemperatur T_c gekühlt werden. Aus Kostengründen wird das Helium durch flüssigen Stickstoff (LN₂), der bei 79°K (-194°C) siedet, vorgekühlt.

Zur Steuerung des Tomographen ist das System mit einem Computer der Baureihe „Aspect X32“ und dem Steuerprogramm „UXNMR“ ausgestattet, welches die Bildakquisition und eine Rekonstruktion der gewonnenen Datensätze erlaubt.



Abbildung 4.1: Das Bruker BIOSPEC, EP V, Universität Würzburg

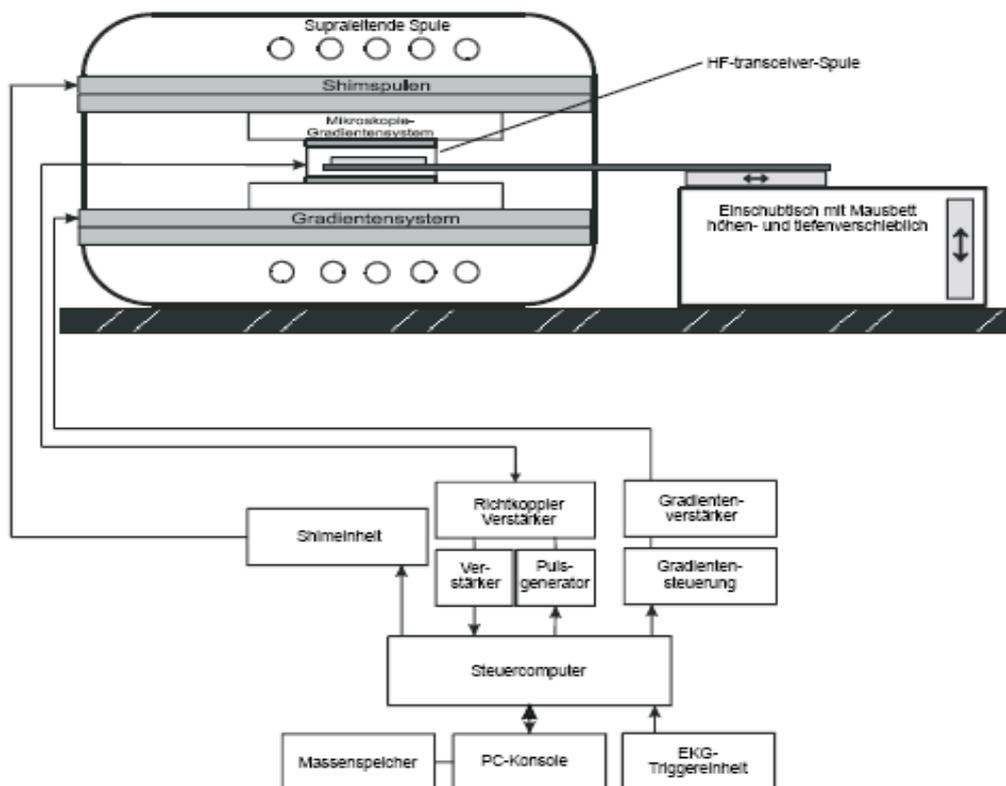


Abbildung 4.2: Schematischer Aufbau des verwendeten Tomographen Bruker BIOSPEC 70/20.

3.2.1.2 Das Gradientensystem

Der BIOSPEC-Scanner ist mit einem fest installierten, wassergekühlten Gradientensystem S116 (200mT/m) ausgestattet. Für höchste zeitliche und räumliche Auflösung wurde in dieses System das Mikroskopie-Gradientensystem GO 60 (Firma Bruker Medizintechnik) mit einer standardisierten Justierhilfe zur konstanten z-Positionierung eingesetzt [Abb. 5]. Der Innendurchmesser des Systems beträgt sechs Zentimeter, die maximale Gradientenstärke beträgt 870 mT/m. Die Risetime, also die effektive Zeit, zu welcher der Magnetfeldgradient die gewünschte Stärke tatsächlich aufgebaut hat, wurde auf 280 μ s für die drei Gradienten (x, y, z) optimiert. Da diese Einstellung unabhängig von Gradientensprüngen konstant gehalten wird, können die theoretisch errechneten Gradientenfeldstärken direkt übernommen werden. Ein sogenanntes „Trimmen“ (correction for slice trim) der Gradientenwerte in Abhängigkeit der Schichtdicke konnte daher entfallen.



Abbildung 5: Verwendetes Mikroskopie-Gradienten-System G060 der Firma Bruker, Karlsruhe

3.2.1.3 Die Hochfrequenz Spule

Für die *in vivo*-Untersuchungen der C57 BL/6-Mäuse konnten wir eine im Institut für Experimentelle Physik V, Universität Würzburg, entwickelte Birdcage-RF-Quadratur-Spule [13, 14; Abb.6] verwenden. Zur Optimierung des Signal/Rausch-Verhältnisses wurde hiermit ein Probenkopfsystem entwickelt, das aus einem elektronisch abschaltbaren Ganzkörper-Probenkopf für den Sendebetrieb und einer besonders empfindlichen, auf die Geometrie des Mäuseherzen *in vivo* angepassten

Quadraturoberflächenspule und der zugehörigen Schaltelektronik besteht. Die Empfindlichkeit der Spule nimmt über die Länge des Mäuseherzens weniger als 10% ab.

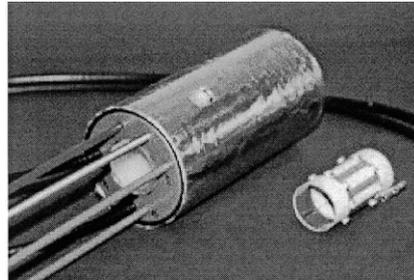


Abbildung 6: Quadratur-Birdcage-Resonator mit je zwei tune- und match-Kondensatoren. Links kompletter Probenkopf, rechts isolierter Resonator [aus 3]

3.2.1.4 Die EKG-Trigger-Einheit

Da es für NMR-Experimente am schlagenden Herzen unerlässlich ist, die Sequenzen mit der Herzaktion zu synchronisieren, verwendeten wir eine selbstentwickelte Kleintier-EKG-Triggereinheit [15]. Durch variable Frequenzfilter kann das Gerät für verschiedene Tierarten wie Ratten und Mäuse optimiert werden. Mit Hilfe eines eingebauten Drehkondensators gelingt es, das EKG-Signal nach Bedarf zu verstärken. Für die Untersuchung galt es, einen stabilen und dennoch verletzungsfreien Körperkontakt des EKG-Kabels mit der Maus herzustellen. Dies gelang durch Verwendung von handelsüblichem EKG-Gel und Umwickeln der Vorderpfoten mit selbstklebender, dünner Kupferfolie ($5 \times 5 \text{ mm}^2$), bevor der eigentliche Ableitdraht in engen Windungen um die Pfote gelegt wurde. Das Signal wurde über ein gut abgeschirmtes BNC-Kabel aus dem Magnetfeld herausgeleitet. Bei einigen Mäusen lies sich ein stabileres und besseres EKG-Signal [Abb.7] ableiten, indem die beiden Drähte, abhängig von der Herzachse, an der Vorderpfote und der gegenseitigen Hinterpfote befestigt wurden.

*Über die Vorderpfoten abgeleitetes
und verstärktes EKG-Signal*

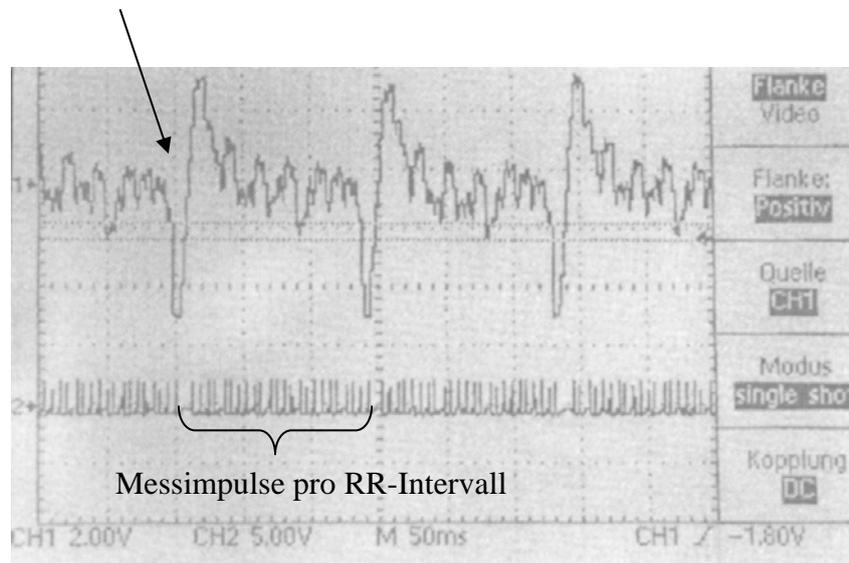


Abbildung 7: Oszillographisches Bild mit EKG-Ableitung und Triggerung während der Bildakquisition

3.2.1.5 Narkotisierung der Versuchstiere

Um eine ausreichende Narkosetiefe während der Messzeit von zirka 90 Minuten zu erreichen, und dennoch minimale, durch das Anästhetikum verursachte, negative Inotropie und Chronotropie zu erzielen, verwendeten wir eine Inhalationsnarkose mit Isofluran (Forene®, Abbott GmbH, Wiesbaden, Deutschland). Zur Erzeugung des gewünschten Mischverhältnisses von O₂ und Isofluran verwendeten wir den Vaporisator „Isoflurane Vapor 19,3“ (Drägerwerk AG Lübeck, Deutschland). Die Initialdosis betrug 4,0 Vol.% Isofluran bei einem O₂-Fluss von 1,5 Litern, die Maus wurde zur Narkoseeinleitung in eine Narkosekammer gesetzt. Nach der Narkoseeinleitung (zirka 2 Minuten) wurde der Maus in Rückenlage ein Atemkonus aufgesetzt und die Narkose unter Spontanatmung mit einer Isofluran-Dosis von 1,5 Vol.% bei einem O₂-Fluss von 1,5 Litern erhalten [Abb. 8].

Isofluran, ein Isomer des halogenierten Ethers Enfluran, ist stärker narkotisch wirksam als Enfluran. Wegen seiner schlechten Löslichkeit im Blut flutet die Narkose sehr schnell an und kann nach Narkoseende ebenso rasch abgeatmet werden.

In den oben angegebenen Konzentrationen wirkt Isofluran bei der Maus leicht atemdepressiv und verursacht eine Abnahme der Atemfrequenz mit Ausbildung einer charakteristischen „Schnappatmung“.

Die als Nebenwirkung beschriebene Senkung des peripheren Gesamtwiderstandes und der linksventrikulären Schlagarbeit konnte bei den durchgeführten Versuchen nicht beobachtet werden. Des weiteren hatte die Erhöhung der Isofluran-Konzentration bei individuellem Bedarf keine Auswirkung auf die Herzfrequenz [16].

Im Vergleich zu vielen früheren Studien, die durch eine Narkose mit Xylazin in Kombination mit Ketamin, Avertin (2,2,2-Tribromo-Ethanol) oder α -Chloralose/Urethan mit kardiodepressiven Effekten rechnen mussten [17], traten bei der Inhalationsnarkose mit Isofluran während der wiederholt am selben Tier durchgeführten Untersuchung keine derartigen Effekte auf.

Im Langzeitverlauf der Studie lies sich bei den älteren Tieren eine höhere Sensibilität für die Inhalationsnarkose feststellen. Dieses Phänomen ist höchstwahrscheinlich auf die respiratorische Insuffizienz durch Lungenödem im Rahmen der zunehmenden kardialen Dekompensation durch den Anstieg des LVEDP zurück.

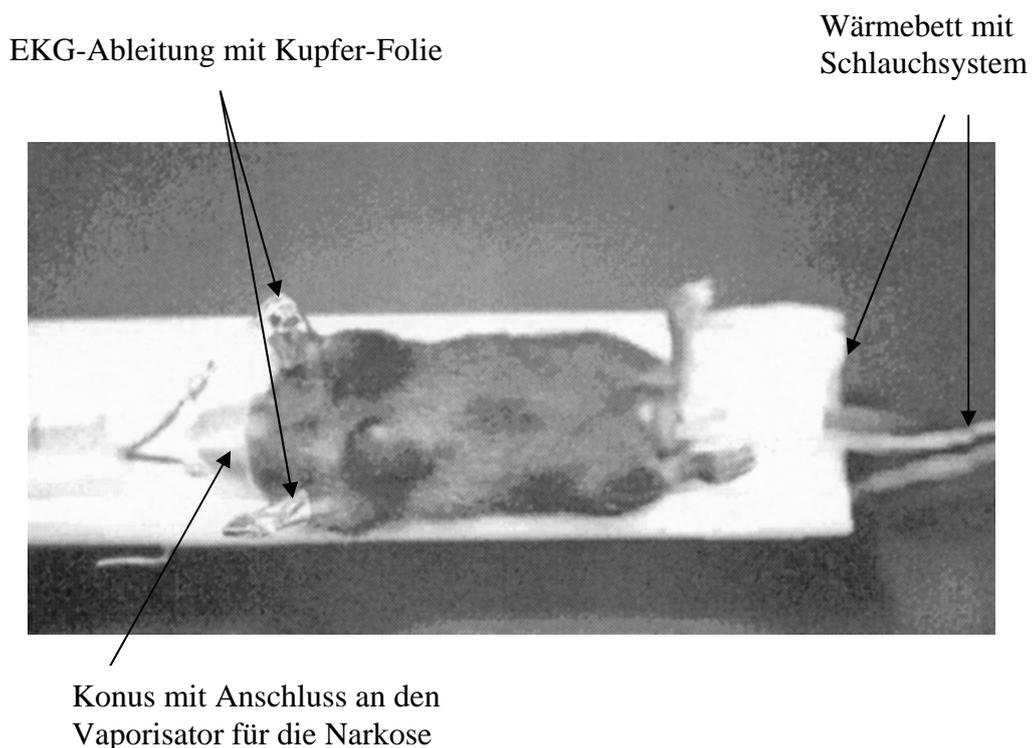


Abbildung 8: Lagerung des Versuchstieres auf der MR-Liegeschiene

3.2.1.6 Temperierung

Um ein Auskühlen der narkotisierten Maus im Magneten während der Messung zu verhindern, wurde ein Wärmebett konstruiert, das aus 2 mm dicken Schlauchwindungen besteht, die mit Klebefolie zu einem kleinen, flexiblen Wärmekissen verklebt wurden. Durch das mit einem Wärmebad (~ 40 °C.) mit Pumpe verbundene, zirka drei Meter lange Schlauchsystem konnte eine konstante Körpertemperatur (~ 36°C.) der Mäuse innerhalb des Magneten gewährleistet werden. Diese Temperaturkonstanz konnte in Vorversuchen mit rektaler Temperaturmessung während der gesamten Versuchsdauer gezeigt werden [17].

2.2.2 Pulssequenz

Bei der Bildgebung des schlagenden Herzens kann es zu Artefakten durch die Herzbewegung, die Atembewegung sowie dem Blutfluss kommen. Um diese zu vermeiden wurde eine EKG-getriggerte segmentierte fast low-angle shot (FLASH)-Sequenz mit einem Flip-Winkel von 40° als Grundsequenz implementiert [18]. Um ein optimales Signal/Rausch-Verhältnis bei höchster zeitlicher und räumlicher Auflösung zu erreichen, wurde eine TE von 1,5ms bei einer TR von 4,3ms gewählt. Dies macht eine Mittelung von zwei aufeinanderfolgenden Echos für eine k-Raum-Linie mit effektiver Akquisitionszeit von 8,6 ms ($2 \times 4,3\text{ms}$) möglich. Der puls-gain wurde auf 20 Dezibel festgelegt.

Da mit Hilfe des abgeleiteten Mäuse-EKG's der Endzeitpunkt der Systole nicht sicher zu bestimmen ist, wird mit Hilfe einer Cinematographie-Sequenz [18, 19, 20; Abb.9] eine Bildschleife des Herzzyklus aufgenommen. So sind diastolische (ca. 70ms) und systolische Aktion (ca. 50ms) nahezu durchgehend und mit gleicher Bildqualität beurteilbar.

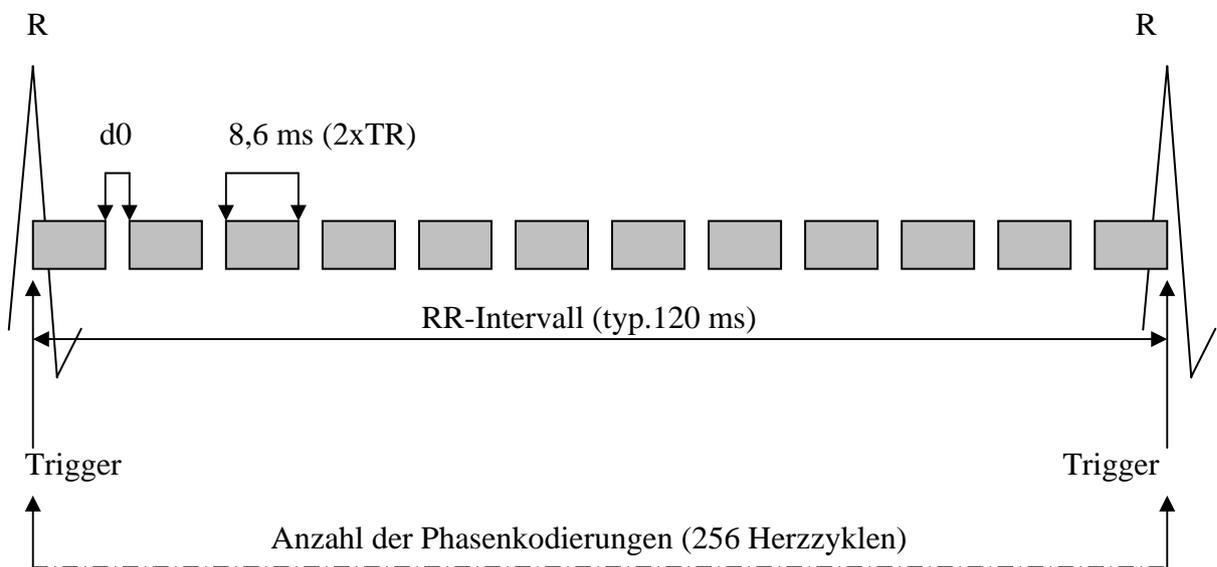


Abbildung 9 : Aufnahmeschema der verwendeten Cinematographie-Sequenz.

Eine Cinematographie-Sequenz für eine Schicht mit 12 über das RR-Intervall verteilten Bildern dauert 256 Herzzyklen oder bei einer Frequenz von zirka 500 Schlägen pro

Minute etwa 30 Sekunden. Bei vierfacher Mittelung (NAE=4) für eine zufriedenstellende Bildqualität dauert eine Untersuchung mit 10 oder, in Abhängigkeit von der Herzgröße, 12 Schichten und der benötigten Rekonstruktionszeit des Datensatzes zirka 20 Minuten.

2.2.3 Messprotokoll und Einstellparameter

Für die Erstellung der Planungsschichten wird eine Bildmatrix von 128 x 128 Punkten bei einem field-of-view (FOV) von 3 cm² und einer Schichtdicke (SLT) von einem Millimeter verwendet. TR und TE wurden kurz gewählt, was einer T₁-Wichtung entspricht und ein hohes S/R ermöglicht.

Zunächst wird die Maus in Rückenlage auf dem Wärmebett, versehen mit Beatmungskonus und Vorderpfoten-EKG-Ableitung, in Spulenmitte platziert. Um ein möglichst homogenes Gradienten-Feld zu erreichen, wird mit Hilfe eines automatisierten Shim-Mechanismus sowie der Feinabstimmung von Hand ein bestmöglicher Shim eingestellt.

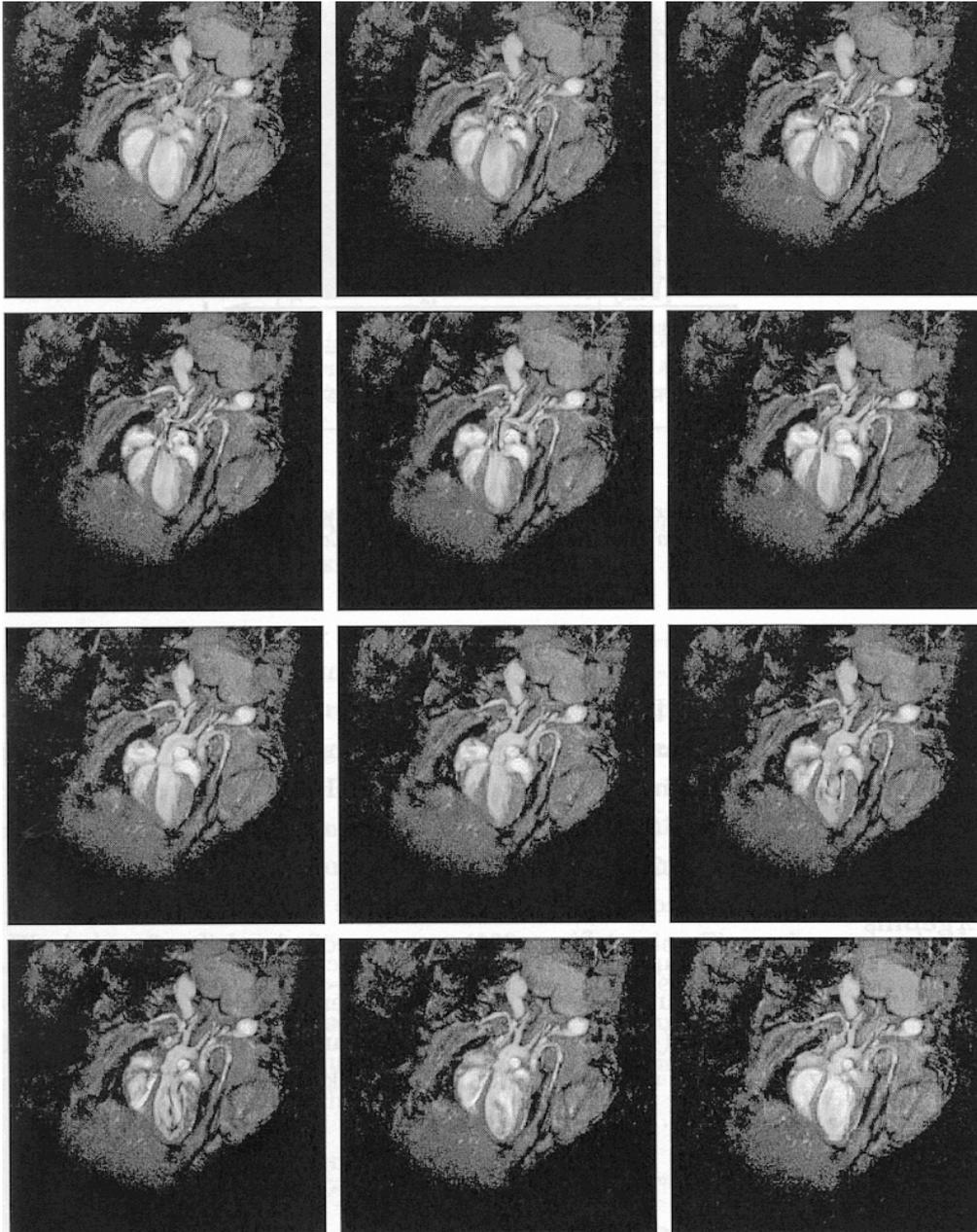


Abbildung 10: 12 frontale Bilder einer Schicht aus verschiedenen Herzphasen aufgenommen mit einer Cine- FLASH-Sequenz [aus B 14]

Dies geschieht bei der Quadraturspule für Sender- und Empfängerpaar getrennt. Während der gesamten Messung muss für die Gewährleistung eines konstanten Shims der Raum geschlossen bleiben, es dürfen keine elektrischen Geräte an oder abgeschaltet werden und es darf sich niemand während der Messung im Messraum bewegen. Danach erfolgt die automatisierte Ermittlung der Sender-Frequenz (SF). Die für die zu

messende Maus gewonnenen Daten werden in die System-Konfiguration kopiert und während der gesamten Messung nicht verändert.

Die Bildgewinnung erfolgt zunächst mit Hilfe eines standardisierten Protokolls. Die verwendete 2D-Gradienten-Echo-Sequenz in FLASH-Technik mittelt in einer Schicht vier aufeinander folgende Messungen mit je 16 Herzzyklen. Die Bild-Rekonstruktion erfolgt hierbei automatisch. Mit Hilfe des ersten Übersichtsbildes können nun Schnitte zur Beurteilung der Ventrikeldynamik angefertigt werden. Die drei klassischen Schnittebenen „kurze Herzachse“ [Abb.11a)], „vertikale lange Achse“ [Abb.11b)] und „horizontale lange Achse“ (Vierkammerblick) werden abhängig voneinander schrittweise erstellt. Abhängig von der aktuellen Herzfrequenz muss ggf. ein entsprechender Verzögerungsfaktor für die Positionierung des Triggers ermittelt werden.

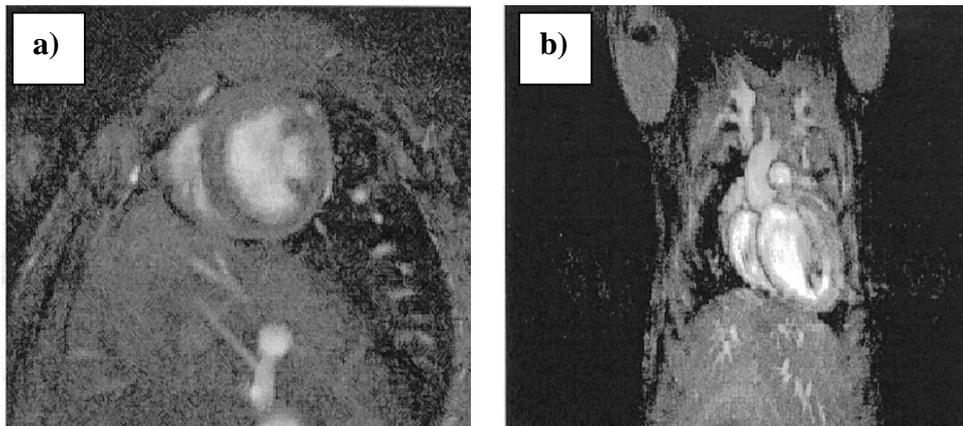


Abbildung 11: a) Kurzachsschnitt durch das Mäuseherz, b) Langachsschnitt durch das Mäuseherz

Mit Hilfe des doppelt-obliquen Schnittes kann nun der Kurzachsschnitt mit Achse durch die Mitte des linken Ventrikels erstellt werden.

Zur Erstellung der Cine-Bilder wurde ebenso eine standardisierte Puls- und Gradienten-Cinematographie-Sequenz mit einem FOV von 3 cm^2 und einer Matrix von 256×256 bei einer Pixelgröße von $117 \mu\text{m}^2$ verwendet.

Jede Schicht wird nach der Phasenkodierung (256 RR-Intervalle) insgesamt viermal nacheinander aufgenommen und danach automatisch gemittelt. Abhängig von der Größe des linken Ventrikels werden von der mittleren Schicht aus gleich viele Schichten nach apikal und kranial (insgesamt sieben oder neun Schichten) gewählt [Abb.12]. Die Schichtdicke beträgt hierbei 1mm. Je nach Herzfrequenz werden 10 oder 12 frames pro RR-Intervall bei einer TR von 4,3 ms und TE von 1,5 ms gewählt. Mit Hilfe einer vorprogrammierten Mehrschichten-Funktion erfolgt daraufhin die automatische Akquisition der Bilddaten der einzelnen Schichten sowie deren Rekonstruktion.

Die Messdauer beträgt 60-90 Sekunden pro Phasenkodierung, also vier bis sechs Minuten pro Schicht. Bei sieben bis neun Schichten beträgt die Gesamtmesszeit inklusive automatischer Rekonstruktionszeit 28-40 Minuten.

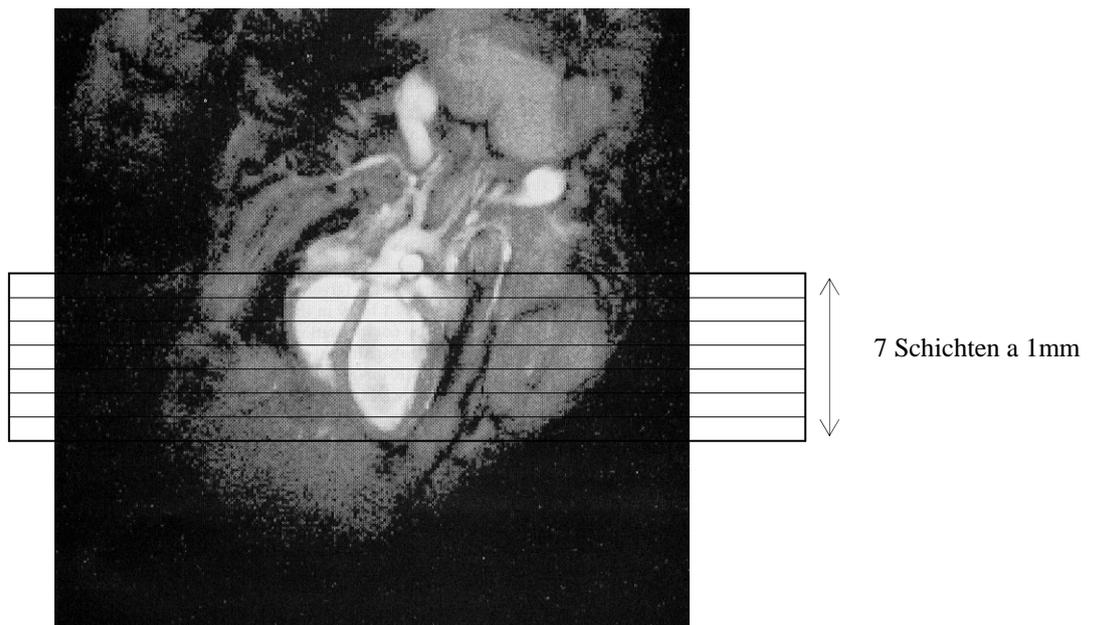


Abbildung 12: Schematische Darstellung der aufzunehmenden Kurzachs-Schichten von der Basis bis zur Herzspitze; aus [6]

Zur Bestimmung einer Zeit-Volumen-Kurve (dv/dt systolisch und dv/dt diastolisch) führten wir abschließend je eine Cine-Sequenz mit 20 frames pro Systole und 20 frames pro Diastole in der mittleren linksventrikulären Schicht durch. Bei gleichbleibender Repetitionszeit (TR) von 4,3 ms und ohne Mittelung zweier aufeinanderfolgender Echos pro k-Raum-Linie, setzten wir d_0 auf 0,2 ms - unabhängig vom RR-Intervall - fest. So betrug die Gesamtaufnahme-Zeit pro RR-Intervall 96 ms ($4,3 \text{ ms} + 0,2 \text{ ms} \times 20$). Die Sequenz beinhaltete wiederum 256 Herzzyklen und wurde viermal wiederholt und gemittelt.

Als Startpunkt der ersten Sequenz (systolische Aktion) wählten wir jeweils die Triggerung auf die R-Zacke, als Startpunkt der zweiten Sequenz (diastolische Aktion) wählten wir die Mitte des RR-Intervalles [Abb.13]. Dies gelingt mit Hilfe eines errechneten Trigger-delays (d_0).

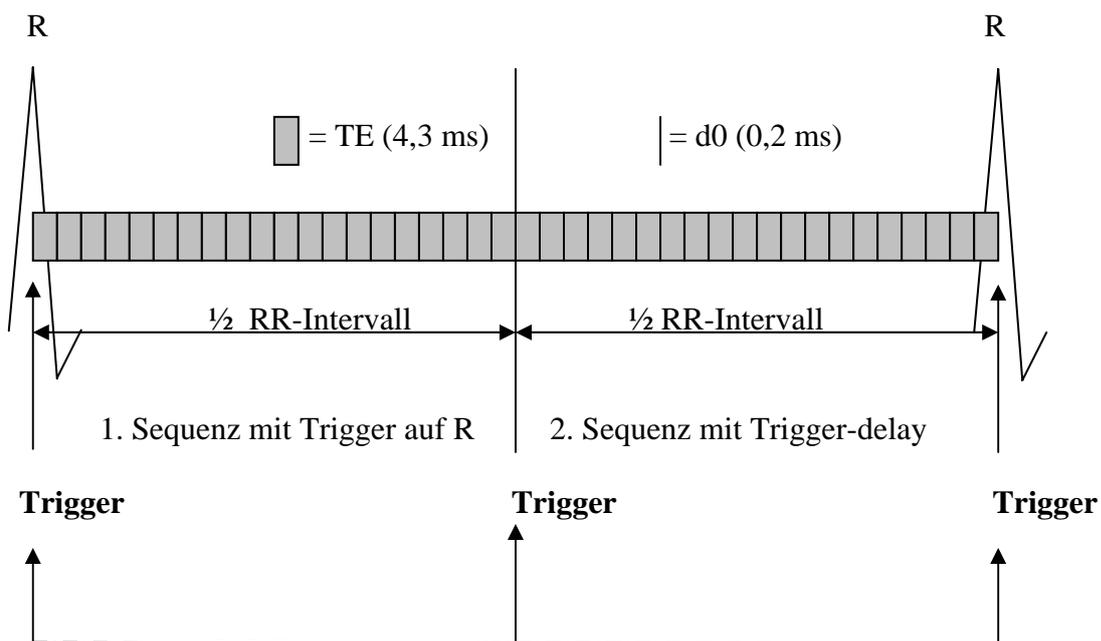


Abbildung 13: Schematische Darstellung der Sequenz zur Beurteilung der dv/dt

3.3 Ermittlung der linksventrikulären Funktionsparameter

Unter Verwendung der Bildverarbeitungssoftware IDL (Interactive Data Language) Version 5.2 (Research Systems Incorporation) konnten die aufgezeichneten NMR-Daten bearbeitet werden. Mit einer speziellen Auswerteroutine, die am Lehrstuhl EP V, Universität Würzburg, entwickelt wurde [21], erfolgte die Segmentation der aufgenommenen MRT-Bilder.

Zunächst galt es, die linksventrikuläre Masse zu bestimmen. Aufgrund des hohen Kontrastes des fließenden Blutes im linken Ventrikel gegenüber dem benachbarten Myokard kamen die endo- und epikardialen Begrenzungen sehr gut zur Abbildung. Hierzu wurde in jeder mit der Cine-Sequenz aufgenommenen Schicht des linken Ventrikels das endsystolische und enddiastolische Bild gesucht. Als enddiastolisch definierten wir das erste Bild nach dem triggerauslösenden QRS-Komplex, als endsystolisch legten wir das Bild mit dem geringsten LV-Volumen fest. Zunächst erfolgte die Freihand-Umfahrung der epikardialen Grenzen des linken Ventrikels im endsystolischen und enddiastolischen Einzelbild und die Definition als Kompartiment I. Als Kompartiment II wurde mit Hilfe eines Thresholding-Algorithmus das **LV-Volumen** in der jeweiligen Schicht automatisch segmentiert und gemäß Voxelanzahl x Voxelvolumen ($0,0137\mu\text{l}$) in μl angegeben [Abb.14 und Abb.15]. Die Bestimmung der myokardialen **LV-Masse** erfolgte mit der volumetrischen Mehrschicht-Methode, per Definition sind die Papillarmuskeln in der myokardialen Masse enthalten. Bestimmt wird die Differenz von Kompartiment I und Kompartiment II der jeweiligen Schicht enddiastolisch und endsystolisch. Nach Addition der myokardialen diastolischen und myokardialen endsystolischen Schicht-Werte wurde der Mittelwert gebildet und mit dem spezifischen myokardialen Massenfaktor von $1,05\text{ g/cm}^3$ multipliziert.

Zur Bestimmung des **Schlagvolumens** (SV) addiert man jeweils die enddiastolischen Volumina (EDV) und endsystolischen Volumina (ESV) der einzelnen Schichten und bildet die Differenz (EDV – ESV). Die **Ejektionsfraktion** (EF) in Prozent errechnet sich aus dem Verhältnis $\text{SV/EDV} \times 100$.

Die Bestimmung des **Herzzeitvolumens** (HZV) erfolgte nach der Formel $\text{HZV} = \text{SV} \times$ mittlere Herzfrequenz wurde in ml pro Minute angegeben.

Der **Linksventrikuläre Massenindex** (LVMI) errechnet sich aus dem Verhältnis der linksventrikulären Masse (mg) zu Körpergewicht der Maus (mg). Der **Herzindex** (CI) errechnet sich aus dem HZV bezogen auf das Körpergewicht (g KG).

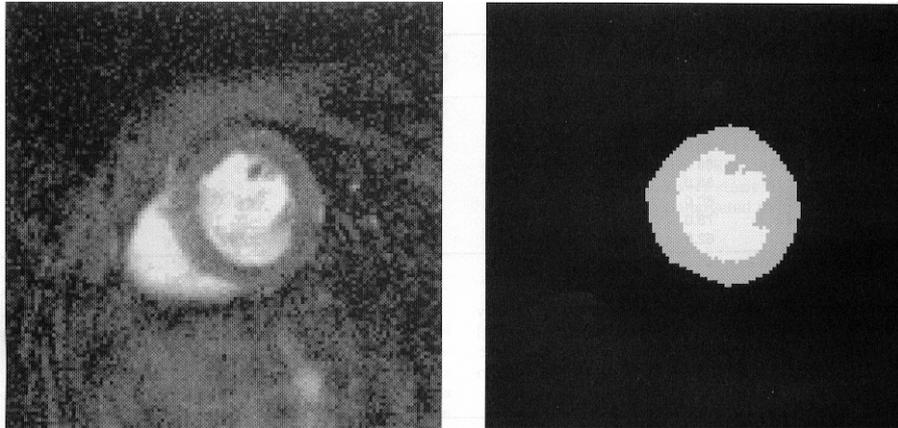


Abbildung 14: Diastolisches Cine-Bild (links) und zugehöriges LV-Segmentations-Ergebnis (rechts); [aus B14]

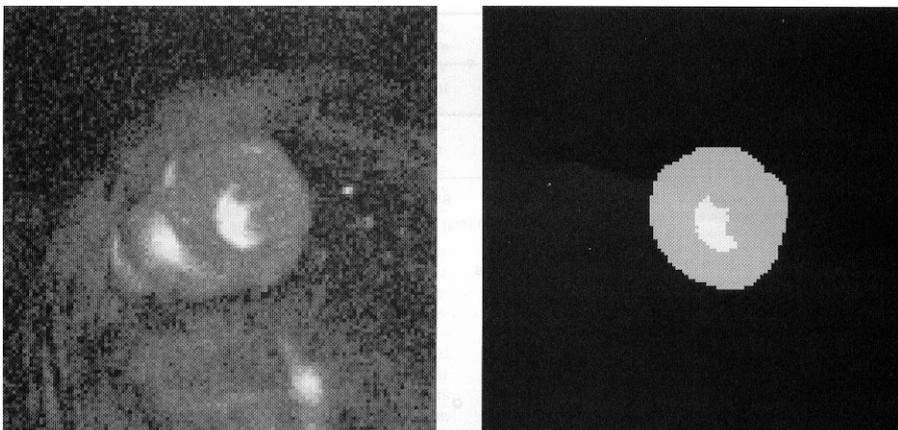


Abbildung 15: Systolisches Cine-Bild (links) und zugehöriges LV-Segmentations-Ergebnis (rechts); [aus B14]

Des weiteren wurde die **LV-Wanddicke** enddiastolisch sowie endsystolisch in vier Sektoren, anterior, lateral, inferior und septal, bestimmt. Dies geschah mit Hilfe eines

automatisierten 360° Messmechanismus, für den nur das Zentrum in der Mitte des linken Ventrikels festgelegt wird [Abb.16].

Zusätzlich erfolgte die Bestimmung der **endo- und epikardialen Durchmesser** des LV enddiastolisch und endsystolisch jeweils in der anterior-posterioren und septo-lateralen Achse [Abb. 15].

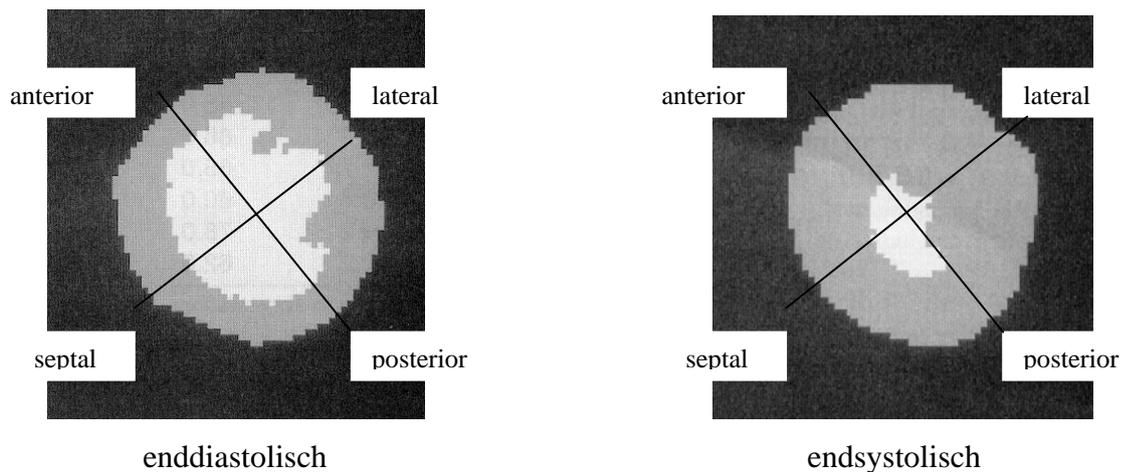


Abbildung 16: Manuelle Bestimmung der LV-Durchmesser

Aus den gewonnenen Daten kann nun auch die **enddiastolische und endsystolische Wanddicke** (**edwth** bzw. **eswth**) mittels folgender Formeln bestimmt werden:

Enddiastolische Wanddicke:

$$\mathbf{edwth} = \text{edwth lateral} + \text{edwth posterior} + \text{edwth septal} + \text{edwth anterior} / 4$$

Endsystolische Wanddicke:

$$\mathbf{eswth} = \text{eswth lateral} + \text{eswth posterior} + \text{eswth septal} + \text{eswth anterior} / 4$$

Mit Hilfe der bestimmten endo- und epikardialen LV-Diameter (diamendo bzw. diamepi) in anterior-posteriorer (ap) Achse leiten sich die **relativen** enddiastolischen und endsystolischen **Wanddicken** wie folgt ab:

Relative enddiastolische Wanddicke: $edrelwth = (edwth / eddiamapendo) \times 100$

Relative endsystolische Wanddicke: $esrelwth = (eswth / esdiamapendo) \times 100$

Will man eine Aussage über die **Wanddickenzunahme** unabhängig von Diastole oder Systole angeben, so kann dies mittels folgender Formeln absolut oder als relatives Verhältnis geschehen:

Absolutes Wanddickenverhältnis (abswthng): $abswthng = eswth - edwth$

Relatives Wanddickenverhältnis (relwthng): $relwthng = (eswth - edwth) / edwth \times 100$

3.4 Histologie-Gewinnung

Umgehend nach dem Exitus der Mäuse wurde eine Sternotomie mit Entnahme des Herzens in toto durchgeführt. Unter ausreichender Beleuchtung erfolgte die sorgfältige Präparation des linken Ventrikels mit Entfernung der Vorhöfe und des rechten Ventrikels. Nach kurzem vorsichtigen Wässern in NaCl-Lösung wurde der präparierte linke Ventrikel in ca. 10ml Formalin-Lösung eingelegt und entsprechend markiert.

Zur histologischen Aufarbeitung der Ventrikel bedurfte es zunächst der Entwässerung über eine Alkohol/Xylol-Reihe. Um ein Schneiden des Herzens zu ermöglichen, wurde es zunächst in Paraffin-Wachs gegossen. Nach gutem Kühlen des Wachsblockes (-20° Celsius, ca. 30 Minuten) auf der Kühlplatte wurde dieser in das Schneidegerät eingespannt und solange angeschnitten, bis das Gewebe der Herzspitze sichtbar wurde. Die ersten zwei Millimeter wurden verworfen. Darauf folgen 10 Schnitte mit 5µm-Dicke. Dann wurden zehn 50µm dicke Schnitte verworfen und wiederum 10 Schnitte mit 5µm-Dicke gewonnen [Abb.17]. Nach kurzer Zeit im Wasserbad (44-49° Celsius) wurden die Schnitte auf einen Objektträger faltenfrei aufgezogen und mit einem Deckgläschen versehen.

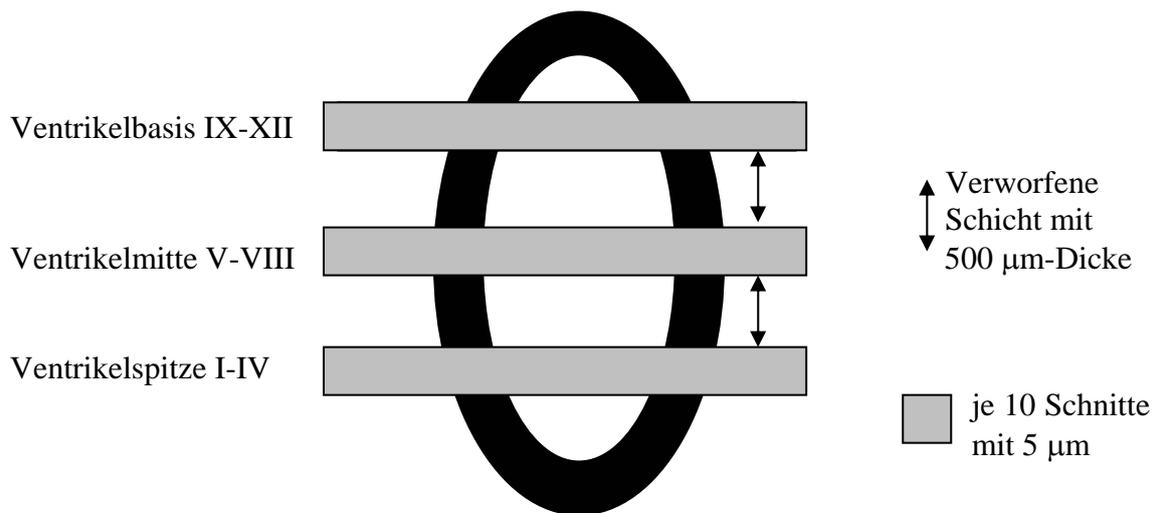


Abbildung 17: Schematische Darstellung der LV-Schnittebenen des Paraffinblockes

Das Entparaffinieren der Schnitte erfolgte in Xylol I, II, III über jeweils fünf Minuten. Daraufhin fünfminütiges Bad in Xylol und Alkohol abs. (1:1). Es folgte eine absteigende Alkoholreihe mit 100%, 95% und 50% Ethanol über je fünf Minuten. Die abschließende Klarspülung vor der Färbung erfolgte mit Aqua destillata.

3.5 Färbungen

3.5.1 Hä malaun-Eosin (HE) Färbung

Zunächst bedurfte es der Färbung des Präparates mit der selbst angesetzten, gereiften Hä malaun-Lösung nach Mayer (Bestandteile Firma Merck) über 10-15 Minuten. Hierauf wässerten wir sorgfältig zirka 10-Minuten mit fließendem, kaltem Leitungswasser. Die Gegenfärbung mit selbst angesetzter, gereifter Eosin 1%-Lösung (Fa. Merck) dauerte zirka drei Minuten. Das Entfärben erfolgte nach kurzem (Eosin ist stark wasserlöslich) Spülen mit Aqua destillata über einmaliges, kurzes Eintauchen in 100% Alkohol und sofortigem Wechsel in das Xylol/Alkohol-Bad und drei Mal je drei Minuten Xylol I, II und III-Bad. Danach wurden die Präparate getrocknet und mit Entellan eingedeckt.

3.5.2 Picro-Sirius-Rot (PSR) Färbung

Kollagen spielt eine entscheidende Rolle in der strukturellen Organisation des gesunden und auch erkrankten Herzmuskels. Studien von Whittaker et al. [13,14] zeigten, dass die PSR-Färbung eine sehr klares histologisches Bild des Kollagen-Bindegewebes liefert und die kombinierte Auswertung mit zirkulär polarisiertem Licht im Vergleich zu anderen Färbemethoden (z.B. Trichrome-Färbung) und Auswertemethoden (z.B. linear polarisiertem Licht) eine sehr genaue quantitative Beurteilung ermöglicht.

Als Reagenzien wurden gesättigte Pikrinsäure und Sirius-Rot 1% (1g Sirius-Rot auf 100ml Aqua destillata) verwendet. Der Ansatz bestand aus 90ml Pikrinsäure und 10ml Sirius-Rot-Lösung, welcher mindestens 24 Stunden vor Gebrauch hergestellt wurde. Die Präparate wurden zirka 30 Minuten gefärbt und danach kurz in Aqua destillata gespült. Das Entfärben erfolgte über eine aufsteigende Alkoholreihe mit 50%, 75% und 95% Ethanol über je 1-2 Minuten. Daraufhin bedurfte es eines fünfminütigen Bads in Xylol und Alkohol abs. (1:1) und der Überführung in Xylol I, II und III für je fünf Minuten. Nach der Trocknung des Präparates erfolgte der Verschluss mit Entellan.

3.6 Computergestützte Kardiomyozyten-Planimetrie

Zunächst wurden die angefertigten histologischen, HE-gefärbten Schnitte (Dicke 5 μm) unter einem Laborlux-S Mikroskop (Firma Leitz) mit einer 50-fachen Vergrößerung betrachtet. Es wurden aus den drei Schnittebenen - der Herzspitze, der Mitte des LV-Ventrikels sowie der Herzbasis - je 3 Schnitte ausgewählt. Diese wurden nach angefärbten Kardiomyozyten abgesucht. Mit Hilfe des Vergrößerungskonus „periplane GF 10x20 (TL 160mm)“ und des montierten „WILD MPS 52“ Photoaufsatzes (beides Firma Leica) konnten von den Kardiomyozyten-reichen Regionen Diapositive erstellt werden (ISO 400, Firma AGFA). Nach Entwicklung der Diapositive konnte die Macintosh-Computer-gestützte Auswertung erfolgen. Dazu verwendeten wir einen Durchsicht-Scanner (Snapscan 1236, Firma AGFA) mit einer Ausgabeauflösung von 300 dpi und einer Tonkurve von Gamma 1,5 bei einer Scanzeit von ca. einer Minute. Die Abspeicherung erfolgte farbig im JPEG-Format bei einer Bildgröße von je 488 Kilobytes (kB). Mit Hilfe eines Graphik-Programmes (Adobe Photoshop Version 5.0) und entsprechenden Freihand-Messfunktionen konnte nun die eigentliche Auswertung der Kardiomyozytengröße stattfinden. Als Messebene definierten wir die größte Ausdehnung des Kardiomyozyten in seinem Querschnitt mit mittlerer Lage des Zellkerns [Abb.18]. Alle anders angeschnittenen Kardiomyozyten wurden nicht berücksichtigt. Gemessen wurde der Flächeninhalt in der Schnittebene. Dazu benötigt man zwei aufeinander senkrecht stehende Mess-Achsen und einen im Programm vorgegebenen Algorithmus. Die Messwerte wurden in Pixel (picture elements) angegeben.

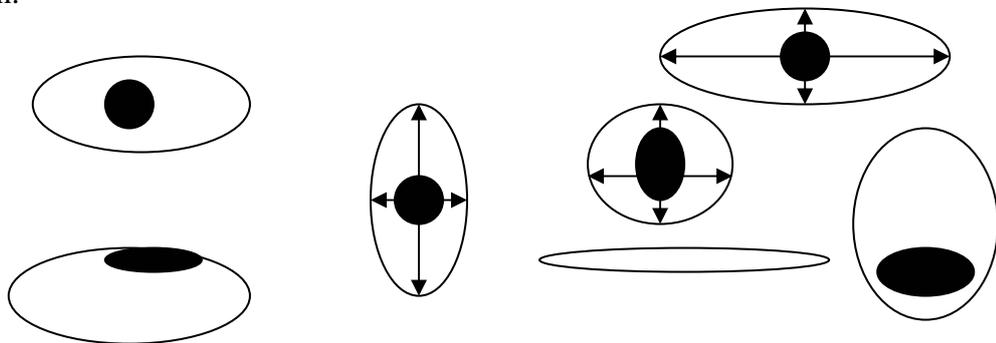
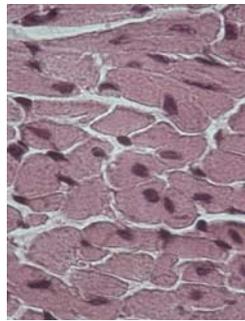
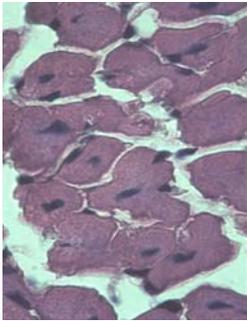
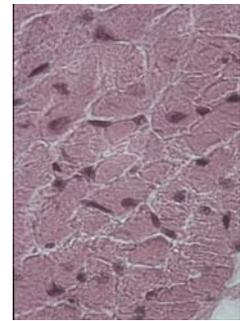
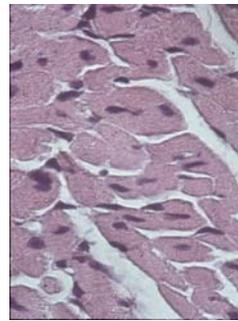


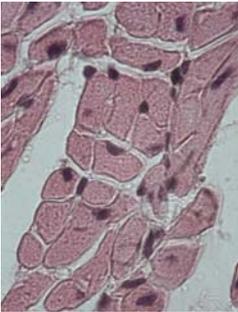
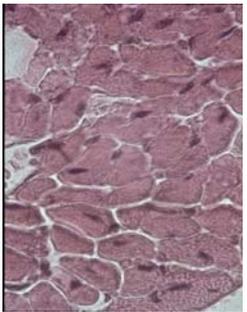
Abbildung 18: Schematische Darstellung der standardisierten Messlinienführung bei der Kardiomyozyten-Planimetrie.



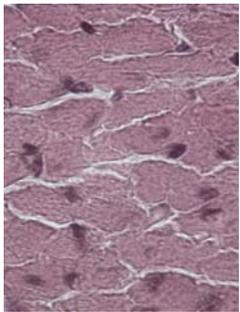
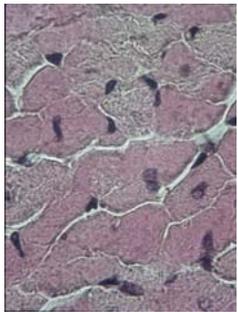
1 Woche nach Banding / Sham



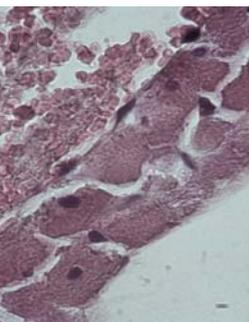
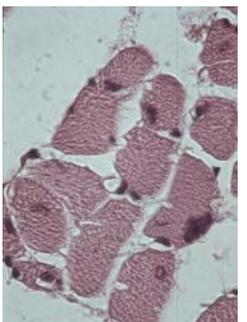
4 Wochen nach Banding / Sham



7 Wochen nach Banding / Sham



13 Wochen nach Banding / Sham



26 Wochen nach Banding / Sham

Abbildung 19: Histologische Schnittbilder von Banding- (links) und Sham-Tieren (rechts) jeweils im Vergleich zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten jeweils bei 50-facher mikroskopische Vergrößerung

3.7 Collagendichte-Bestimmung mit Hilfe von zirkulär polarisiertem Licht

3.7.1 Histologie und Zytologie

Um mögliche Unterschiede durch Schrumpfung zu vermeiden, achteten wir darauf, die einzelnen Präparate nach jeweils 48 Stunden zu entwässern und in Paraffin einzubetten. Dies geschah in der üblichen Technik unter Anwendung von handelsüblichen Automaten. Aus den medianen Anteilen des linken Ventrikels wurden Schnitte mit einer Dicke von 5µm angefertigt.

3.7.2 Färbungen

Zur Übersicht und zytologischen Beurteilung bedienten wir uns einer herkömmlichen Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) in der üblichen Technik. Die Darstellung des feineren interstitiellen Bindegewebsanteils gelang mit Hilfe einer Picro-Sirius-Rot-Färbung unter Betrachtung im Polarisationsmikroskop[22].

Die Färbelösung der Picro-Sirius-Rot-Färbung besteht aus 9 Volumenteilen gesättigter wässriger Picrinsäurelösung und 1 Volumenteil 1%iger wässriger Lösung Direct Red 80 (Fluka, Deutschland). Nach zwei Xylol-Stufen folgt über ein Xylol-Alkohol-Gemisch (1:1) eine absteigende Alkoholreihe bis zu reinem Wasser. Nun lässt man die Färbelösung über 50 Minuten einwirken und kann danach das Präparat wieder über eine aufsteigende Alkoholreihe und das Xylol-Alkohol-Gemisch zum Eindecken in reines Xylol überführen. Diese Färbung zeigt Collagen in roter Färbung und drängt Myozyten und Endo-/Epithelien in den Gelbbereich. Hinzu kommt die Eigenschaft der Drehung des polarisierten Lichts, so dass man es zur selektiven Beurteilung des Collagenanteils heranziehen kann.

3.7.3 Mikroskopische Untersuchung

Mittels eines speziellen Objektivs mit besonders großem Blickfeld konnten Übersichtsaufnahmen der isolierten Ventrikel in HE-Färbung bei 2,5-facher

Vergrößerung gewonnen werden. Dazu diente ein herkömmliches Labormikroskop (Zeiss, Deutschland) mit einer CCD3-Videokamera (Sony, Japan).

Zur zytologischen Untersuchung wurden unter 20facher Vergrößerung aus vier Bereichen des linken Ventrikels Bilder in HE-Färbung digitalisiert. Dazu verwendeten wir ein Quantimet 600 (Leica, Deutschland) mit einer CCD3-Videokamera baugleich zur obigen (Sony, Japan). An den Bildern im komprimierten TIFF-Format wurde zum Zwecke der besseren Handhabung eine Farbreduktion nach Stucki (Graphics Workshop, Alchemy Mindworks, Ontario, Kanada) durchgeführt. Dieser Algorithmus wählt aus den vorhandenen Farben des Bildes die 256 wichtigsten aus und führt so zu einem Bild vergleichbarer Qualität, aber wesentlich reduziertem Speicherbedarf. Größe, Auflösung, Seitenverhältnis und Farbkontrast bleiben dabei unbeeinträchtigt.

In der Picro-Sirius-Rot-Färbung wurde bei 20facher Vergrößerung der dem Septum gegenüberliegende Teil des linken Ventrikels (etwa die Hälfte der freien Wand) aufgenommen. Die Aufnahmen wurden in herkömmlichem Durchlichtverfahren und - ohne vorher den xy-Tisch zu bewegen - in polarisiertem Licht aufgenommen, so dass sie, abgesehen von der Farbgebung, deckungsgleich sind. Dazu wurden die zwei linearen Polarisationsfilter der Firma Hama (Deutschland) über Kondensor und Präparat im 90°-Winkel zueinander angeordnet, so dass der Lichtdurchlass minimal wurde. In dieser Stellung gelangt lediglich das Licht ins Objektiv, das zuvor im Präparat seine Schwingungsebene änderte und so in der Lage ist, den zweiten Polarisationsfilter zu passieren.

Mit jeder Serie von mikroskopischen Aufnahmen wurde ein Bild einer genormten Mikrometerskala angefertigt, um die Aufnahmen später eichen zu können.

3.7.4 Software und Meßmethoden

Bei allen Messungen wurde der Untersucher blind belassen, indem ein Nummerncode für die spätere Zuweisung vergeben wurde. Des weiteren wurden möglichst viele Schritte der Auswertung automatisiert. Die Umwandlung der Grafikformate und Farbreduktion wurden ausschließlich durch Graphics Workshop realisiert. Für die Messungen selbst fand ScionImage, Release 4b (Scion Corporation, USA) Verwendung. Dazu wurde zunächst allen Bildern mit dem dazugehörigen Eichbild ein

Maßstab zugewiesen, der auch im Grafikformat mit abgespeichert wurde. Sämtliche Messungen fanden auf dem selben Computersystem, einem Celeron 600MHz unter Windows NT4 SP6 statt. Die Daten der Messungen in ScionImage wurden über ein herkömmliches ASCII-Textformat in Microsoft Excel exportiert.

Von den HE-gefärbten Schnitten wurden als erstes Übersichtsaufnahmen angefertigt, die den gesamten linken bzw. rechten Ventrikel zeigten. Sie wurden aus technischen Gründen in Graustufen umgewandelt und kalibriert, um am linken Ventrikel die beiden Durchmesser, an drei Stellen die Wanddicke des Septums, an fünf Stellen die Dicke der freien Wand und am rechten Ventrikel an zehn Stellen seine Wanddicke zu messen. Die Durchmesser des linken Ventrikels waren definiert als 1. Durchmesser von der Mitte des Septums zur Mitte der gegenüberliegenden Wand und als 2. Durchmesser orthogonal zum ersteren. Ihre Schnittpunkte mit den Wandungen des linken Ventrikels markierten zugleich die ersten vier Messpunkte für die Wand- bzw. Septumdicke der linken Kammer. Im Septum lagen die zwei verbleibenden Messpunkte auf halber Strecke von Ansatz des rechten Ventrikels und Septummitte. Die übrigen Messpunkte der freien Wand lagen auf der Winkelhalbierenden der beiden Durchmesser auf der septumabgewandten Seite. Die Messstrecke war immer eine Orthogonale zur Tangente an die Wandung. Um eine genauere Messung der Muskelquerschnittsfläche zu erhalten, wurde die linke Kammer anhand einer Schwellenwertbestimmung markiert, automatisch planimetriert und ihr Umfang errechnet. Ebenso wurde mit ihrem Cavum nach Anwendung einer automatischen Füllfunktion verfahren. Der rechte Ventrikel wurde durch seine Messpunkte in gleichmäßigen Abständen unterteilt.

In der HE-Färbung wurde nach der obligatorischen Umwandlung in Graustufen die durchschnittliche Querschnittsfläche der Kardiomyozyten (CSA) und ihrer Zellkerne bestimmt. Gemessen wurden dabei Zellen des linksseitigen Septums, des rechtsseitigen Septums sowie Zellen aus der subendokardialen Schicht in der Mitte der freien Wand des linken Ventrikels und aus dem Papillarmuskel. Aus dem rechten Ventrikel wurden subendokardiale Zellen in der Mitte ausgewählt. Gemessen wurden alle in einem mikroskopischen Bild vorkommende Kardiomyozyten, die vollständig abgebildet, abgrenzbar und auch orthogonal angeschnitten waren, d.h. eine runde Schnittfläche des zentral liegenden Zellkernes zeigten. Ferner durften keine Lysezeichen der Zelle vorliegen.

Um einen Anhaltspunkt über das Verhältnis von Muskel und Interstitium zu bekommen, wurde das Ausgangsbild kalibriert und einer Farbanalyse unterworfen, die unter Kontrolle des Untersuchers einen Schwellenwert festlegte und damit die Kardiomyozyten markierte. Erythrozyten, Leukozyten und Epithelien wurden dabei weitestgehend ausgeschlossen und notfalls von Hand entfernt. Nun wurde das Bild in ein Binärbild umgewandelt, das nur noch aus zwei Farbwerten (Schwarz und Weiß) besteht. Das ermöglicht eine Auszählung der schwarzen Partikel des Bildes und damit der genauen Fläche des Kardiomyozyten, die in Relation zur Gesamtgröße des Bildes gesetzt wurde. Mit der gleichen Schwellenwertmessung konnte die Querschnittsfläche der Kerne der Kardiomyozyten und deren Anzahl gemessen werden. Bei den Schwellenwertmessungen wurde zur Vermeidung von Artefakten eine Mindestgröße der Partikel vorausgesetzt und damit Staub, kristalline Verunreinigungen etc. von der Messung ausgeschlossen.

Die Auswertung der Schnitte in Picro-Sirius-Rot-Färbung zur Bestimmung des Collagengehaltes wird durch Artefakte im Polarisationsbild erschwert. Diese entstehen vor allem durch Anlagerungen des Farbstoffes an Verunreinigungen und Brechung des Lichtes an den auskristallisierten Strukturen. Da das herkömmliche Durchlichtbild im unpolarisierten Licht wesentlich weniger anfällig für diese Art von Artefakten ist, wurde mit interaktiven Makros im ScionImage eigenen Pascaldialekt aus den Bildern im unpolarisierten Licht zunächst ein binäres Maskenbild erstellt. Die Makros laden die Bilder anhand ihrer Codenummer und kalibrieren sie mit dem zuvor festgelegten Maßstab des Eichbildes.

Es folgt die interaktive, durch den Benutzer kontrollierte Festlegung der Bildbegrenzung, um Bildfeld und Vignetierung des Mikroskops zu erfassen. Auf dem Bild ist lediglich das Myokard mittels Schwellenwert in der Farbpalette des Bildes markiert. Um kleinere Verunreinigungen und Artefakte herauszufiltern, folgt eine binäre Operation an der Maske, die zunächst in 4 Iterationen und einem Zähler von 1, eine Schicht von Pixeln (Bildpunkten) abträgt und sie dann wieder hinzufügt. Das bewirkt, dass kleine Gruppen von Pixeln verschwinden, die Gesamtfläche der verbleibenden Gruppen jedoch unverändert bleibt. Nach der obligatorischen Kontrolle

durch den Benutzer speicherte das Makro die erstellte Maske mit dem korrespondierenden Nummerncode ab [Abb.20].



Abbildung 20: PSR-gefärbter Schnitt (links) und zugehöriges Maskenbild (rechts)

Das nächste Makro lud das kalibrierte Polarisationsbild mit der zugehörigen Maske und erstellte ein neues artefaktbereinigtes Bild mittels einer binären AND-Verknüpfung der beiden Bilder. Im resultierenden Bild blieben nur noch die farbigen Punkte des Polarisationsbildes übrig, die zuvor von der Maske bedeckt wurden. Im polarisierten Licht erscheint Collagen bei der Picro-Sirius-Rot-Färbung als rötliche Färbung. In einem digitalisierten Bild werden die Farben der Bildpunkte durch eine Farbpalette definiert, die jede Farbe in ihre Grundbestandteile Rot, Grün und Blau aufschlüsselt (RGB-System). Jeder Anteil der Farbe kann 256 Stufen annehmen. Das Ergebnis ist die Mischfarbe der Anteile, die Helligkeit ist eine Funktion der absoluten Werte. In den hier verwendeten Bildern hatte die Farbpalette 256 Einträge. Die Palette war durch die Farbreduktion optimiert worden, so dass nur Farben definiert wurden, die für die Darstellung des Bildes auch notwendig waren. Eine rötliche Färbung in einem solchen Bild ist im RGB-System gekennzeichnet durch einen absoluten Überschuss im Rot-Anteil.

Das nächste Makro analysierte die Paletteneinträge jedes Bildes und setzte alle RGB-Werte auf Null, sofern der Roteintrag nicht größer als der Blau- und Grüneintrag war, also nicht rötlich war. Die RGB-Werte der verbleibenden Paletteneinträge wurden alle auf den Wert des Rotanteils gesetzt, um einen Grauwert von der Intensität der Rotfärbung zu erhalten. Das Ergebnis ist ein Graustufen-Bild, bei dem nur die ehemals

rötlich erscheinenden Regionen im Myokard im polarisierten Licht dargestellt werden. Der Hintergrund ist schwarz, da alle RGB-Werte auf Null gesetzt wurden, somit also keine Leuchtintensität zeigen. Das Bild ist jedoch nicht binär, da es in jedem Punkt die Information über die Dichte des Kollagens und nicht nur über seine Lokalisation enthält. Das Bild wurde daraufhin invertiert [Abb.21, 22], da es sonst für das Auge schwer beurteilbar ist. Um Unterschiede in der Beleuchtung auszuschließen und eine optimale Auflösung der Tonwerte zu erhalten, wurde die Tonwertkurve über den gesamten Palettenbereich gedehnt (unter exakter Beibehaltung der relativen Anteile).

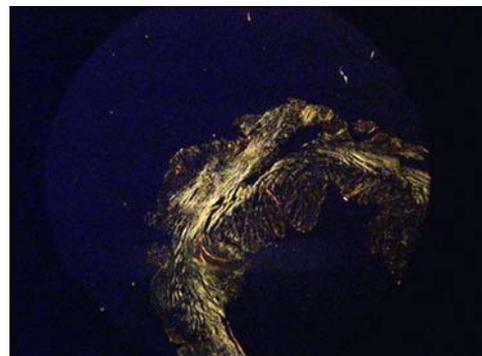


Abbildung 21: Dichtebild (links) und zugehöriges Polarisationsbild (rechts)

Das nun folgende Makro lud alle so gewonnenen Dichtebilder anhand ihres Nummerncodes, kalibrierte sie und markierte den gesamten Bildausschnitt, um darin die durchschnittliche Collagendichte zu messen. Die Kalibrationskurve war eine Gerade $y=ax+b$ mit der Steigung $a=-0,392$ und dem Achsenabschnitt $b=255$. Sie ordnete jedem Dichtewert den entsprechenden Prozentwert des Collagengehaltes zu. Die Kurve war für alle Bilder dieselbe, da zuvor eine Angleichung der Tonwertkurven durchgeführt worden war und die Dichtebilder daher neutral und gleichmäßig belichtet waren.

Im letzten Schritt wurde die Fläche der Maske gemessen, indem die schwarzen Bildpunkte gezählt und in Relation zur Gesamtanzahl der Pixel im Bild gesetzt wurden. Mittels diesem Faktor konnte die durchschnittliche Collagendichte, die sich auf den gesamten Bildausschnitt bezog, auf die real betrachtete Muskelfläche bezogen werden. Die Makros exportierten die gewonnenen Daten automatisch in von Microsoft Excel lesbare Textdateien.



Abbildung 22: Artefakt-korrigiertes Polarisationsbild

4. Strukturelle Besonderheiten des Mäuse-Herzens:

4.1 Anatomie

Innerhalb der Gruppe der Säugetiere gibt es generell nur sehr geringe Unterschiede der Herz-Morphologie. Das Mäuseherz ähnelt in seinem ventrikulären Aufbau dem menschlichen Herz. Nach Studien von Doevendans et al. [23] gibt es hier eher Unterschiede atrialer, venöser und nervaler Natur.

So mündet bei der Maus die Vena cava superior sinistra als eigenständiges Gefäß in den rechten Vorhof, entsprechend einer persistierenden linken oberen Hohlvene. Im Gegensatz zu den Vv. pulmonales dexter et sinister, welche beim Menschen in den linken Vorhof münden, wird der linke Vorhof der Maus nur von einer Pulmonalvene gespeist [24].

Des Weiteren besteht keine ausgeprägte Formation eines zweiten Vorhofseptums. Vergleicht man das Reizleitungssystem so liegt der Sinusknoten der Maus in der Vena cava superior oberhalb der Mündung in den rechten Vorhof. Purkinje-Zellen können histologisch bei der Maus nicht abgegrenzt werden, die Reizleitungsbündel münden direkt in das Myokard [24].

Das Koronarsystem unterscheidet sich bis auf den frühen Abgang einer grosslumigen Septum-Arterie nicht wesentlich von dem des Menschen. In der Literatur [24] wird derzeit noch kontrovers über den Ursprung und die Bedeutung der Arteria circumflexa bei der Maus diskutiert.

4.2 Kardiale Dimensionen und zelluläre Besonderheiten

Aufgrund der geringen Größe der Maus sind neben den anatomischen Besonderheiten vor allem die absoluten und physiologischen Parameter der thorakalen Organe zu erwähnen. Diese stellen eine große Herausforderung für den Untersucher dar, wie die folgende Tabelle aufzeigt.

	Mensch	Maus
Herzgröße / Herzgewicht	~ 10 x 6cm / ~270g	~10 x 5mm / ~0,15g
Herzfrequenz Ruhe - Stress	60 - 200 / min	370 – 790 / min
Aortaler Durchmesser	4-5 cm	< 2mm
Blutvolumen	5 – 7 l	4 – 5 ml
LV Schlagvolumen	~ 70ml	40 – 60 µl
Herzminutenvolumen	~ 4 l	15 – 20 ml
Totale Lungenkapazität	~ 6 l	0,9 – 1,5 ml
Atemzugvolumen	~ 500 ml	0,35 – 0,45 ml
Atemfrequenz	~ 12 / min	120 – 170 / min

Tabelle 1: Vergleich der anatomisch-physiologischen Parameter von Mensch und Maus; [aus 25]

Das totale Blutvolumen einer Maus beträgt demnach zirka 5-10% des Körpergewichtes, das absolute Herzgewicht einer Maus variiert abhängig vom Mäusestamm. So kann nur ein relatives Verhältnis von Herz- zu Körpergewicht von zirka 5.0 – 6.0 mg/g KG angegeben werden.

Für kardial gesunde, juvenile C57 BL/6-Mäuse wird in der Systole ein linksventrikulärer endsystolischer Querdurchmesser von 2,0 Millimetern, eine linksventrikuläre Wanddicke von 1,1 Millimetern sowie eine Septumdicke von 1,0 Millimetern beschrieben [25]. In den von uns durchgeführten Experimenten ließ sich der linksventrikuläre diastolische Innendurchmesser bei gesunden Mäusen mit rund 5mm abgrenzen. Die durchschnittliche Ruhe-Herzfrequenz beträgt bei Mäusen 500 Schläge pro Minute.

Eine MR-Tagging Studie von Henson et al. [26] aus dem Jahr 2000 zeigte, dass das Ausmaß und die zeitliche Abfolge des „Auswring-Mechanismus“ des Herzens während der Systole bei Mensch und Maus sich sehr ähnlich verhalten. Das Mäuseherz besteht aus ca. $7-10 \times 10^6$ Kardiomyozyten. Bei erwachsenen Mäusen werden 90 % des linksventrikulären Gewebavolumens von Kardiomyozyten verursacht. Betrachtet man beide Ventrikel so sind 85% aller Zellen jedoch interstitielle Zellen .

5) Physiologie der linksventrikulären Hypertrophie

5.1 Druck-Volumen-Beziehungen des Herzen

Da ein Papillarmuskel elastisch dehnbar ist, vermag er sich unter konstanter Belastung aktiv zu verkürzen, die sog. **isotonische Kontraktion**, oder bei konstant gehaltener Länge aktiv Spannung zu entwickeln, sog. **isometrische Kontraktion**. In der natürlichen Herztätigkeit sind beide Elemente in einer Unterstützungskontraktion vereint. Die Herzphase beginnt mit einer isovolumetrischen Phase, bei der zunächst der Innendruck bei konstantem Volumen ansteigt. Erreicht der Innendruck den hydrostatischen Druck der Flüssigkeitssäule, die auf den Klappen lastet, öffnen sich diese, und es folgt eine isotonische Volumenverkleinerung. Steigt der diastolische Aortendruck, verschiebt sich das Verhältnis zugunsten einer isovolumetrischen Kontraktion.

Theoretisch gesehen geht bei einem zu hohen diastolischen Aortendruck die **Unterstützungskontraktion** des linken Ventrikels schließlich in eine rein isovolumetrische Kontraktion über. Dies käme allerdings *in vivo* einem Herzzeitvolumen (HZV) von null gleich, ein mit dem Leben nicht vereinbarer Zustand.

5.2 Anpassungs-Möglichkeiten an eine akute Druckbelastung

5.2.1 Erhöhung der Herzfrequenz

Die Sympathikus-bedingte, Noradrenalin-vermittelte Zunahme der Herzfrequenz, die positiv chronotrope Sympathikus-Wirkung, stellt *in vivo* den wichtigsten Mechanismus zur Steigerung des Herzzeitvolumens bei Belastung dar. Dabei erhöht sich bei höherer Frequenz nicht nur die Zahl der Herzaktionen pro Zeiteinheit, sondern es kommt zu einer Veränderung des Verhältnisses von Systole und Diastole auf Kosten der Diastole. Die Netto-Arbeitszeit der Ventrikel nimmt bei steigender Frequenz deutlich zu und die Erholungsphasen nehmen dementsprechend ab. Da der Großteil der Ventrikelfüllung zu Beginn der Diastole erfolgt, ist eine ausreichende Füllung der Ventrikel auch bei stark

verkürzter Diastolendauer gewährleistet. Des Weiteren wirkt sich die Verstärkung der Vorhofsystole durch den Sympathikus günstig auf den Füllungsstatus aus.

Bei Tieren mit einem Körpergewicht unter einem Kilogramm wurde beobachtet, dass die Frequenz-Reserve nur zwei bis dreifach über der Ruhfrequenz liegt. Nach Kass et al. [27] liegt die Ruhfrequenz bei Mäusen bei etwa 550 Schlägen pro Minute. Die maximale Herzfrequenz wird bei zirka 30% über der Ruhfrequenz erreicht, was auf eine kinetische Beschränkung durch die Aktin-Myosin-Brücke zurückzuführen ist.

5.2.2 Positive Inotropie

Die Sympathikus-bedingte Erhöhung der Kontraktionskraft im Vorhof- sowie im Kammermyokard, die sog. positiv inotrope Wirkung, beinhaltet eine Verlagerung der Kurve der isovolumetrischen Maxima des linken Ventrikels nach oben, was einen Anstieg der Steilheit der Kurve der Unterstützungsmaxima zur Folge hat. So kann der linke Ventrikel ohne Vergrößerung des enddiastolischen Volumens einen höheren Druck überwinden oder ein größeres Schlagvolumen auswerfen.

Veränderungen der Kontraktilität lassen sich experimentell aus dem Verlauf der Maximalkurven des Zeit-Volumen-Diagrammes [Abb.23] ablesen. Um eine quantitative Aussage *in vivo* zu ermöglichen, bedient man sich der maximalen Geschwindigkeit der Volumenabnahme in der Systole (dv/dt_{syst}) sowie der maximalen Geschwindigkeit der Volumenzunahme in der Diastole (dv/dt_{diast}).

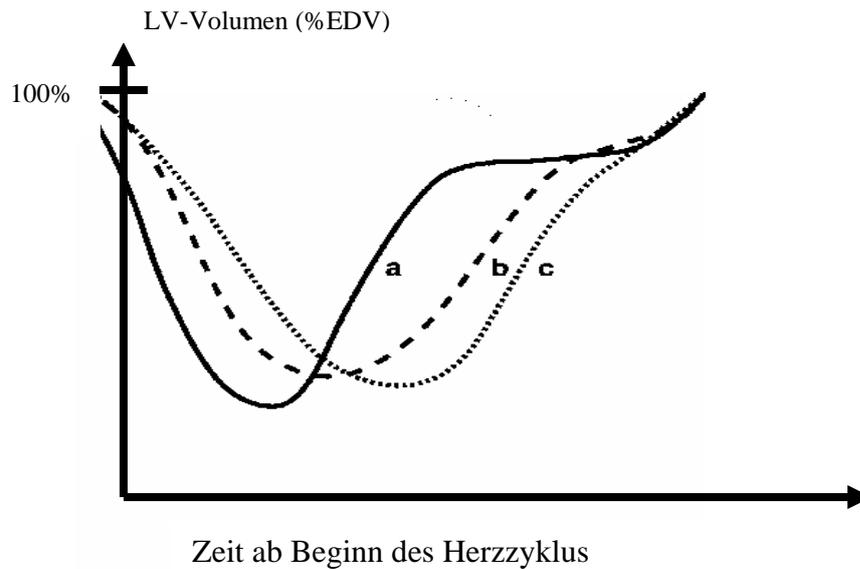


Abbildung 23: Schematische Darstellung der Zeit Volumen-Kurven eines a) gesunden Herzens, b) eines Herzens mit verzögerter Relaxation sowie c) eines Herzens mit verzögerter Relaxation und ohne langsame Füllungsphase [aus B9]

5.2.3 Frank-Starling-Mechanismus

Wird plötzlich im großen Kreislauf der Strömungswiderstand, wie in dieser Arbeit durch Banding der Aorta ascendens, erhöht, so kommt es zu einer stufenweisen Umstellung der Herztätigkeit.

Aufgrund des erhöhten Abflusswiderstandes sinkt der Aortendruck in der Diastole nicht auf seinen ursprünglichen Wert ab, der linke Ventrikel muß demnach in der folgenden Systole einen höheren Druck aufbringen, bevor die Austreibungsphase einsetzt. Dies führt jedoch zu einer Verkleinerung des Schlagvolumens, was ein größeres Restvolumen am Ende der Systole zur Folge hat. Bei gleichbleibendem venösen Zustrom kommt es nun automatisch zu einer stärkeren diastolischen Füllung. Betrachtet man eine physiologische Volumen-Dehnungs-Kurve, so verschiebt sich nun der Arbeitsbereich des linken Ventrikels so lange in Richtung größerer Volumina, bis dieser unter jetzt höherem Druck das ursprüngliche Volumen auswirft. Die größere Faserdehnung wird hier also für eine größere Kraftentfaltung eingesetzt. Eine erhöhte

Nachbelastung kann somit in der Systole durch eine isovolumetrische Druckerhöhung ausgeglichen werden.

5.3) Anpassung an eine chronische Belastung: Hypertrophie

Wird ein Herz wiederholt oder ständig, wie hier bei der iatrogen verursachten Stenose der Aorta durch Banding im Bogenbereich, einer erhöhten Nachlast ausgesetzt, so treten neben den akuten Kompensationsmechanismen im Verlauf wesentliche funktionelle und strukturelle Veränderungen vor allem des linken Ventrikels auf. Die häufigsten Ursachen für eine erhöhte linksventrikuläre Nachlast bei Menschen sind der arterielle Hypertonus sowie die Aortenklappenstenose.

Eine Studie von Schanwell [28] mit Patienten und Sportlern, deren Frage es war, ob zwischen einer pathologischen linksventrikulären Hypertrophie bei arterieller Hypertonie oder einer physiologischen Hypertrophie durch Sport unterschieden werden kann, zeigte, dass zwar bei beiden Gruppen eine signifikant höhere linksventrikuläre Masse festgestellt werden kann, jedoch ein unterschiedliches diastolisches Füllungsverhalten eine Unterscheidung möglich macht. Bei der pathologischen Form der linksventrikulären Hypertrophie ließ sich eine Dysfunktion im Sinne einer Abnahme der frühdiastolischen Füllung mit kompensatorischer Zunahme der atrialen Füllungskomponente feststellen.

Letztlich kann man die Hypertrophie des Herzens in drei morphologische Gruppen unterscheiden: a) ein konzentrisches Remodeling, d.h. eine Zunahme der relativen Wanddicke bei normaler linksventrikulärer Masse, b) eine konzentrische Hypertrophie mit einer Zunahme der relativen Wanddicke und der linksventrikulären Masse bei gleichbleibendem Füllungsvolumen und c) eine exzentrische Hypertrophie mit normaler oder sogar verringerter relativer Wanddicke bei Zunahme der linksventrikulären Masse und des Füllungsvolumens.

Aktuelle tierexperimentelle Studien haben gezeigt, dass eine Druck-induzierte Hypertrophie des Herzmuskels auch als adaptiver und protektiver Mechanismus

verstanden werden kann [28, 29]. Diese Aussage gründet sich in der Tatsache, dass ein akuter Druckanstieg, wie er zum Beispiel mit Hilfe eines Aortenbandings erzeugt werden kann, nicht automatisch einen chronisch pathologischen Umbau des Herzens verursachen muss [30, 31, 32, 33].

In einem Modell zum druckinduzierten Herzversagen bei Ratten konnte Desjardins [34] zeigen, dass es im Langzeitverlauf (82 Wochen nach suprarenalem Clipping der Aorta abdominalis) zu einer myokardialen Fibrose und einer exzentrischen Hypertrophie des linken Ventrikels kommt.

Eine MRT-Studie von Wang [35] an Kaninchen, bei denen im Lebensalter von einem Monat operativ eine Aortenstenose induziert wurde, zeigte gegenüber der Kontrollgruppe nach sieben Monaten eine signifikante Zunahme der myokardialen Masse sowie der Wanddicke des linken Ventrikels. Das enddiastolische Volumen zeigte ebenso einen signifikanten Unterschied in der Frühphase der kompensatorischen Hypertrophie, wobei dieser Unterschied im Langzeitverlauf nicht mehr signifikant war.

Bei der anhaltenden druckinduzierten Belastung des menschlichen Herzens kommt es zunächst zu keiner nennenswerten Vergrößerung des Herzens. Bei der einsetzenden Hypertrophie bleibt die Zahl der Herzmuskelzellen initial konstant. Lediglich die Dicke und ihre Länge nehmen gleichmäßig zu. Allerdings ist die Kompensation einer derartigen Störung begrenzt. Denn mit Zunahme des Faserradius werden gleichzeitig die Diffusionswege zwischen den Kapillaren und dem Innern der Herzmuskelfasern größer, so dass die Gefahr einer ungenügenden Sauerstoff-Versorgung entsteht. Bei Fortdauer einer stark pathologischen Belastung kann es daher schließlich zum Herzversagen im Sinne einer Myokardinsuffizienz kommen.

6. Ergebnisse

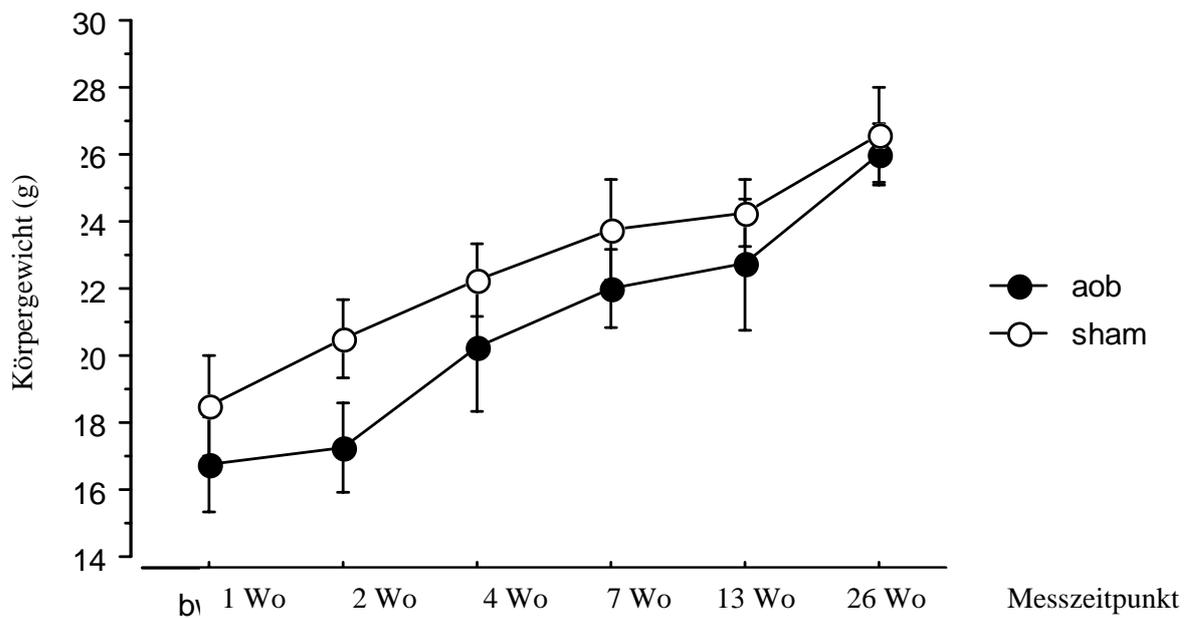
6.1 Ergebnisse der Magnetresonanztomographie

In die Studie wurden acht männliche C57BL/6 Inzucht-Mäuse der Firma Charles River mit Banding der Aorta ascendens (vgl. Abbildung 02) im Alter von 40 Tagen (17-19g KG) und acht Sham-operierte Mäuse gleichen Alters und Körpergewichtes eingeschlossen. Im Rahmen der Verlaufsstudie wurden sechs Messzeitpunkte gewählt. Diese waren eine, zwei, vier, sieben, 13 und 26 Wochen nach Banding- bzw. Sham-Operation. Insgesamt wurden 96 Messungen durchgeführt. Im Verlauf des Beobachtungsintervalles verstarben fünf von 16 Mäusen wie in Tabelle 2 aufgeschlüsselt.

Bestand zum Messzeitpunkt nach Intervention						
Typ	1 Wo	2 Wo	4 Wo	7 Wo	13 Wo	26 Wo
AoB	8	8	7	7	7	4
Sham	8	8	8	8	8	7

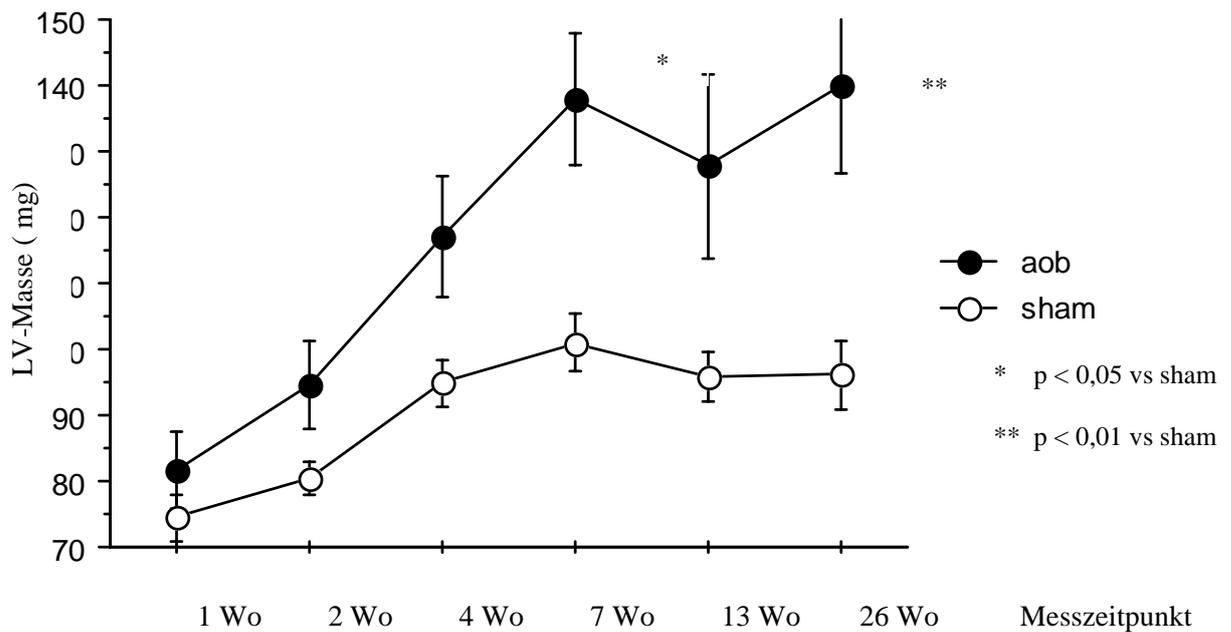
Tabelle 2: Änderung der Bestandszahlen im Beobachtungsintervall

Die Mäuse befanden sich im Beobachtungsintervall im Wachstum. Die physiologische Gewichtszunahme während des Studienverlaufs zeigt Graphik 1.



Graphik 1: Physiologische Zunahme des Körpergewichts im Beobachtungsintervall

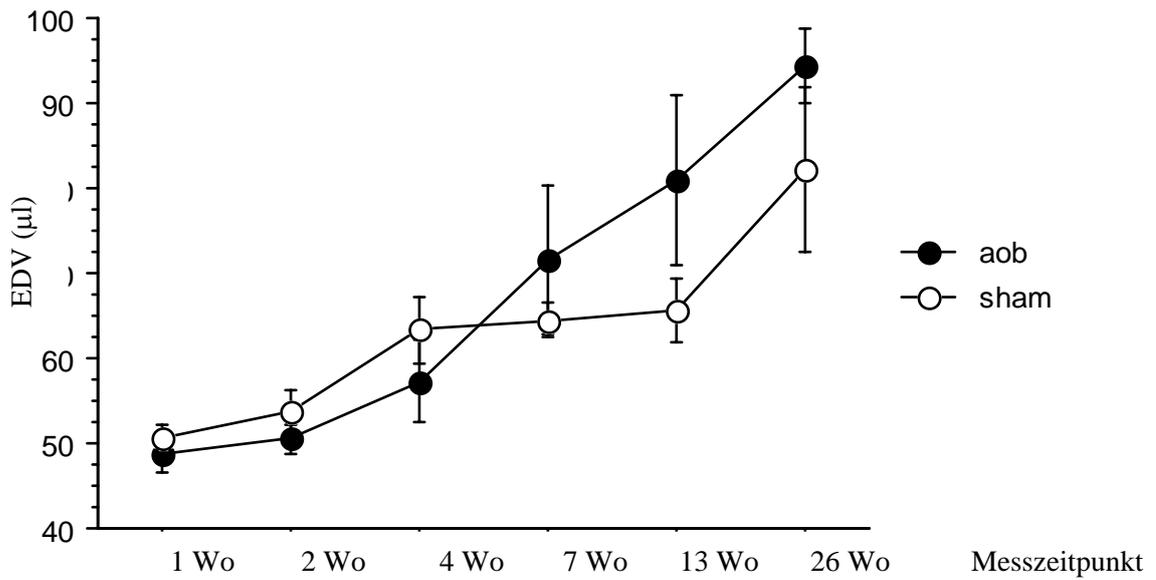
Um eine Aussage über die linksventrikuläre Massenänderung zu treffen, zeigt Graphik 2 zunächst die MR-bestimmten normalisierten linksventrikulären Massen im Zeitverlauf. Bei Banding- und Sham-Tieren nimmt die linksventrikuläre Masse innerhalb der ersten vier Wochen des Beobachtungszeitraums zu, was in Korrelation mit anderen Studien [10] auf das noch nicht vollständig angeschlossene Organwachstum zurückzuführen ist. Zwischen der vierten und siebten Woche nach Intervention kommt es jedoch bei Stagnation der LV-Masse bei den Sham-Tieren zu einer signifikanten ($p < 0,05$) LV-Massenzunahme der Banding-Tiere (Graphik 2).



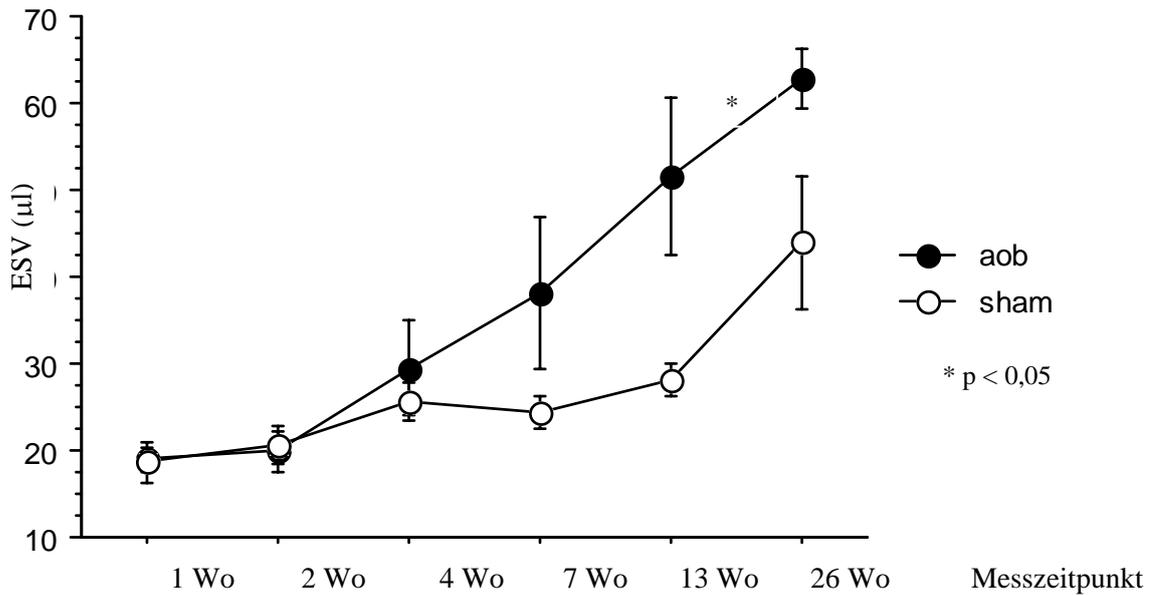
Graphik 2: Änderung der linksventrikulären Masse im Beobachtungsintervall

Bezieht man die linksventrikuläre Wanddicke auf die zuvor bestimmten endo- und epikardialen LV-Diameter, so kann man die relativen enddiastolischen und endsystolischen LV-Wanddicken ableiten (Graphik 4 und 5 im Anhang). Bei weitgehend parallel verlaufenden und im wesentlichen unveränderten endsystolischen Parametern zwischen der Banding- und Sham-Gruppe, zeigt sich bei der Betrachtung der enddiastolischen relativen Wanddicke eine deutliche Diskrepanz zwischen Banding und Sham-Gruppe. Zwischen der zweiten und vierten Woche nach Banding kommt es erwartungsgemäß zu einer deutlichen Zunahme der relativen LV-Wanddicken der Banding-Tiere, welches ab der dreizehnten Woche im weiteren Verlauf nahezu konstant bleibt (Graphik 4 im Anhang).

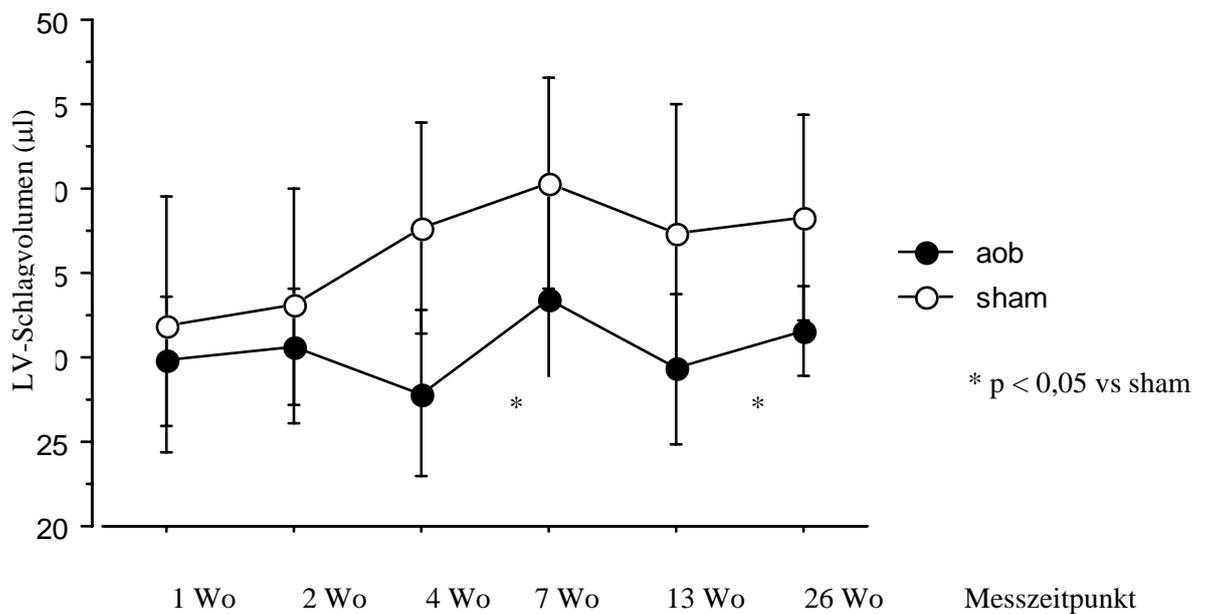
Betrachtet man die linksventrikulären Volumina enddiastolisch und endsystolisch im Verlauf (Graphik 6 und 7), so zeigt sich in den ersten vier Wochen nach Banding ein gleichbleibendes ESV sowie EDV bei Banding- und Sham-Tieren. Zwischen der vierten und siebten Woche kommt es zu einer Zunahme des EDV und einer signifikanten Erhöhung des ESV bei den Banding-Tieren, was für eine Dilatation der linken Herzhöhle spricht.



Graphik 6: Änderung des enddiastolischen Volumens im Beobachtungsintervall



Graphik 7: Änderung des endsystolischen Volumens im Beobachtungsintervall

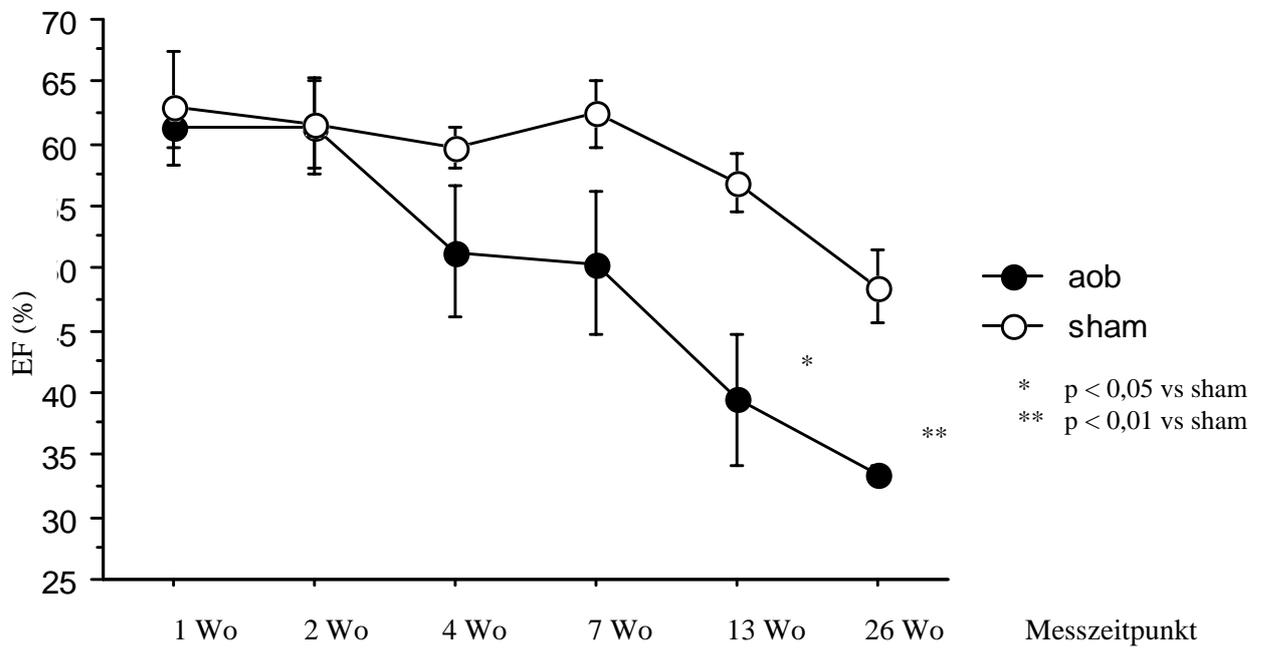


Graphik 8: Änderung der LV-Schlagvolumina im Beobachtungsintervall

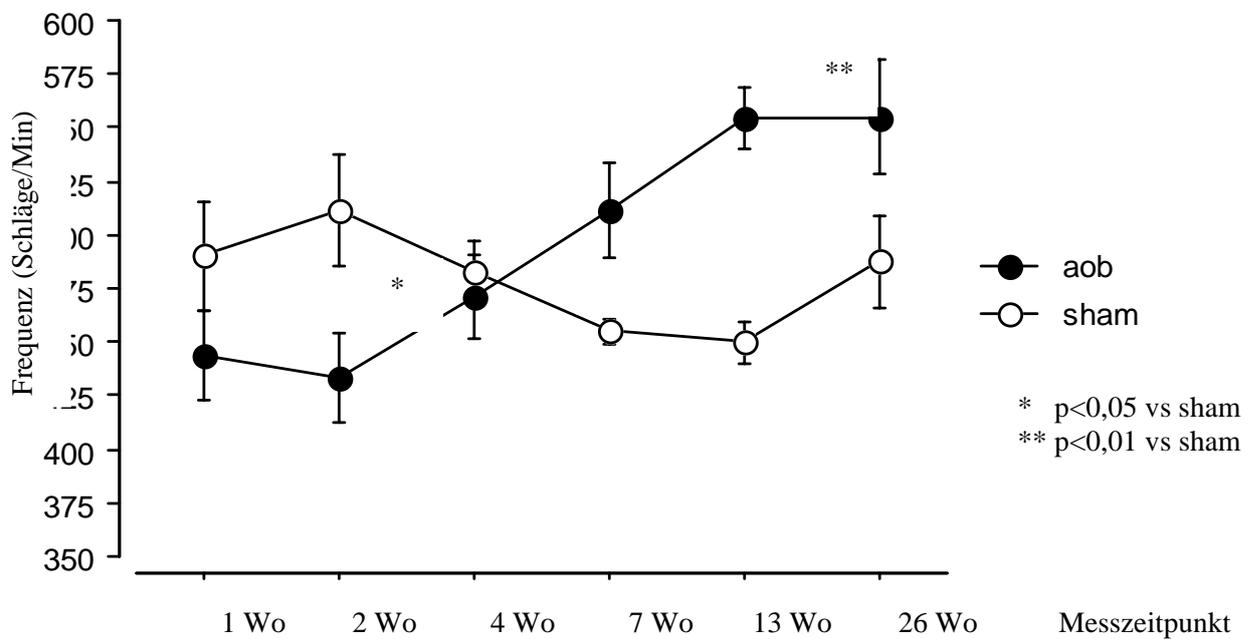
In den ersten Wochen nach Intervention bleibt das Schlagvolumen durch noch zu diskutierende Kompensationsmechanismen konstant. Ab der siebten Woche nach Banding kommt es zu einem signifikanten Abfall des LV-Schlagvolumens.

Betrachtet man das Verhältnis Schlagvolumen (SV) zu enddiastolischem linksventrikulären Volumen (EDV), die sog. Ejektionsfraktion (EF), so fällt auf, dass in den ersten beiden Wochen nach Banding keine Änderung stattfindet. Erst nach vier Wochen kommt es zu einem kontinuierlichen und schließlich auch signifikanten ($p < 0,05$ aob vs sham) Abfall der linksventrikulären EF bei den Banding-Tieren.

Entgegen der allgemeinen Vorstellung der Frequenzanhebung bei den Banding-Tieren als primärer Kompensationsmechanismus liegen die Banding Tiere in den ersten Wochen mit ihrer Ruhfrequenz unter Isofluran-Narkose signifikant unterhalb der der scheinoperierten Tiere. Im Verlauf der zunehmenden linksventrikulären Hypertrophie zeigt sich ein kontinuierlicher Trend hinsichtlich Anstiegs der Ruhfrequenz der Banding-Tiere mit einer Linienkreuzung (cross-over) um die vierte Woche nach Banding.

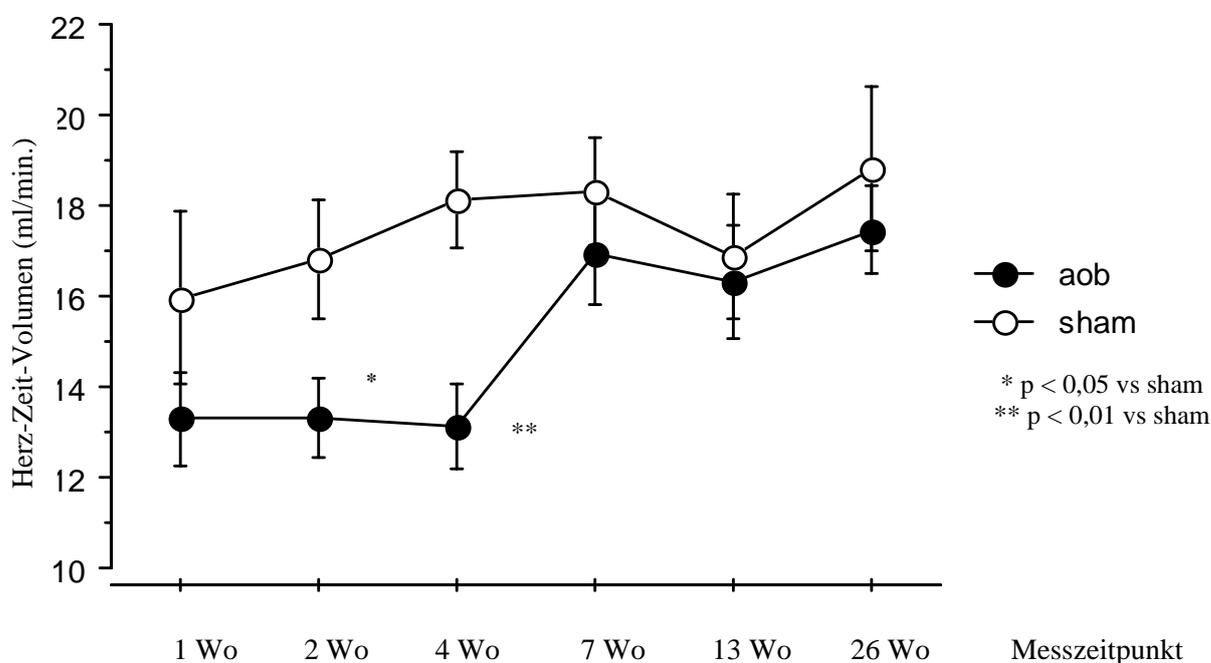


Graphik 9: Änderung der Ejektionsfraktion im Beobachtungsintervall



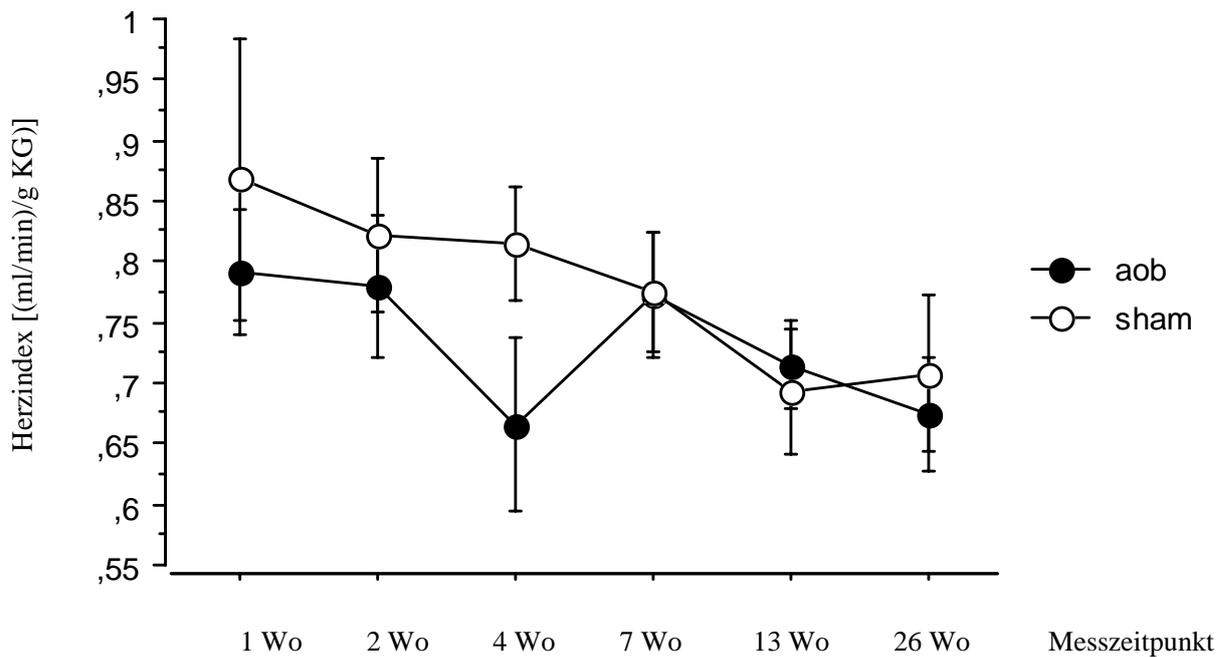
Graphik 10: Individuelle Herzfrequenzen zu den jeweiligen Messzeitpunkten

Betrachtet man das Herzzeitvolumen (HZV) als den Parameter, der mit Hilfe einer Frequenzerhöhung im Akutstadium einer Druckbelastung konstant gehalten werden kann, so zeigen die Graphiken 9 und 10, dass die Ruhfrequenz bei den Banding-Tieren in den ersten Wochen nach Intervention mit ca. 440/min. unterhalb der Frequenz der Sham-Tiere liegt. Somit ist auch das HZV in den ersten Wochen nach Banding vermindert. Ab der vierten Woche jedoch bewegen sich Herzfrequenz und HZV jedoch auseinander. Bei kontinuierlich steigender Frequenz kommt es ab der dreizehnten Woche nach Banding zu einem Abfall auf knapp 54% des HZV



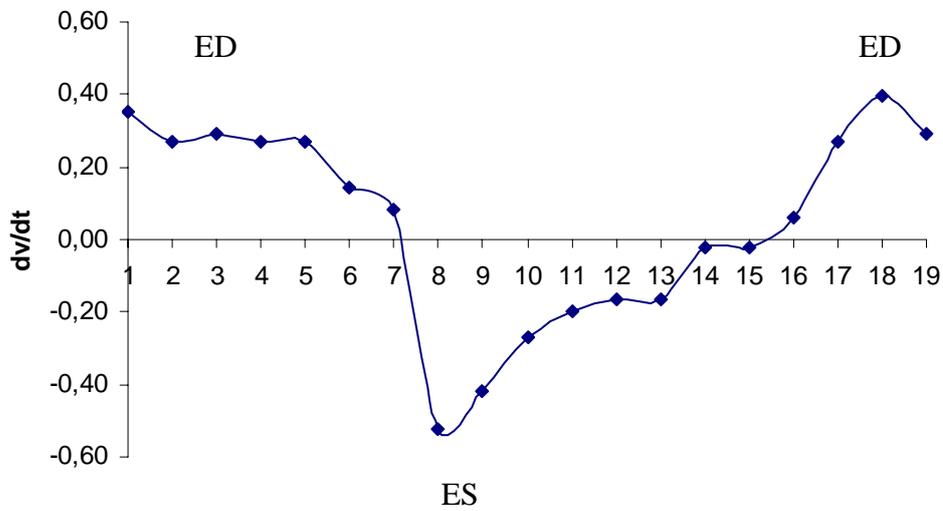
Graphik 11: Herzzeitvolumen im Verlauf

Bezieht man das Herzzeitvolumen auf das Körpergewicht (KG), so erhält man die Kenngröße des Herzindex (CI). Bei steigendem Körpergewicht (vgl. Graphik 1) zeigt dieser Parameter bei Banding-Tieren im Studienverlauf bis zur vierten Woche einen deutlichen Abfall. Nach der vierten Woche kommt es zu einer Erholung des CI in der Banding Gruppe mit nahezu Angleichung an die Sham-Gruppe.



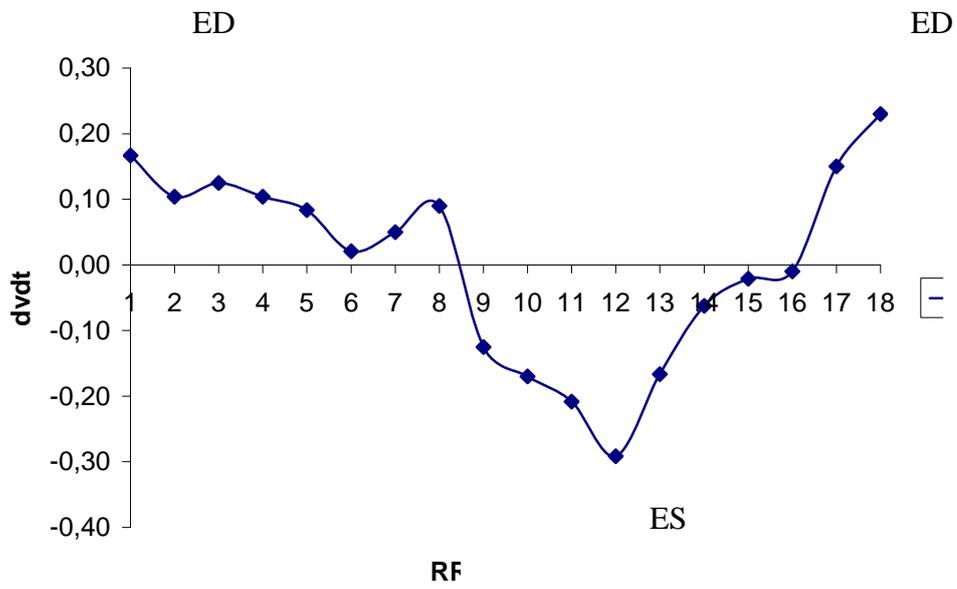
Graphik 12: Herzindex im Verlauf

In Kapitel 4 wurden bereits die Mechanismen der Herzinsuffizienz beschrieben. Die Graphik 12 zeigt eine Zeit-Volumen-Kurve eines gesunden und erkrankten Herzens. In den zugehörigen Graphen im Anhang sind jeweils paarweise die Zeit-Volumen-Kurven für die Sham- und Banding-Gruppe zu den sechs Messzeitpunkten aufgeführt (Graphik 13-17 im Anhang). Hierbei wird deutlich, dass die Steilheit der Kurve in der Auswurfphase bei beiden Gruppen während des gesamten Beobachtungszeitraumes konstant bleibt. Zum Messzeitpunkt sieben Wochen nach Banding lässt sich eine Verzögerung der Auswurfphase bei den Banding Tieren beobachten. In der Füllungsphase ist schon ab der ersten Woche nach Banding eine deutliche Abflachung der Kurve zu beobachten, d.h. die Füllungsphase verlängert sich. Dieser Effekt zeigt sich über den Messzeitraum deutlich progressiv und steht in guter Übereinstimmung mit einer Studie von Lorell aus dem Jahr 1987 [36]. Exemplarisch ist im Folgenden eine Zeit-Volumenkurve zum Messzeitpunkt 7 Wochen nach Intervention abgebildet. In der Kurve der Sham-Tiere zeigt sich nach einer Phase der Vorspannung eine zügige Ejektion mit nachfolgender schnellen Relaxation. Auffallend ist ein kleines Plateau in der Relaxationsphase, welchem eine erneute schnelle Ejektion des Restvolumens folgt.

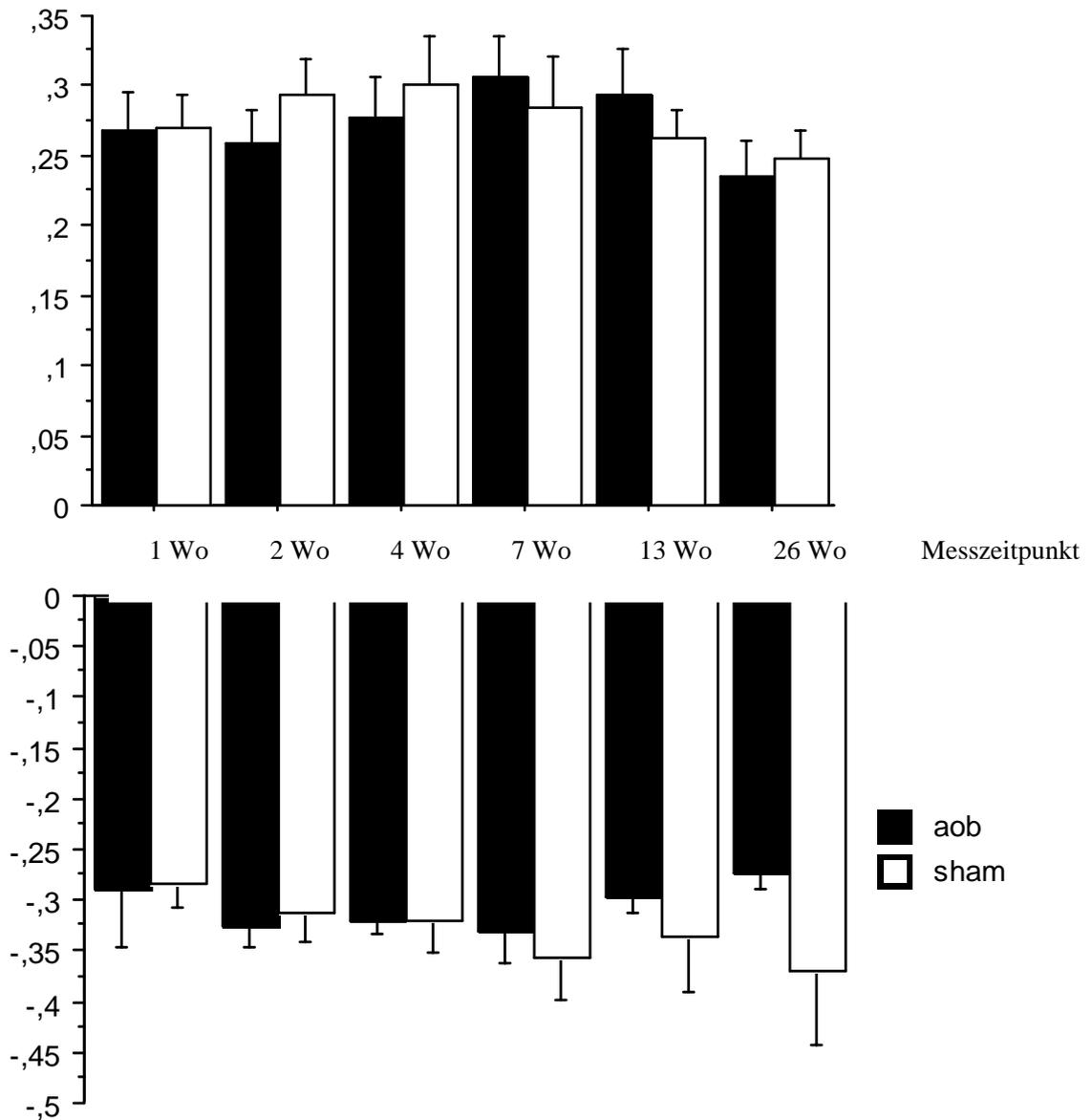


Graphik 18: Exemplarische Zeitvolumenkurve für eine Maus 26 Wochen nach Sham-Operation (ED: End-Diastole; ES: End-Systole)

Betrachtet man nun die Banding-Tiere zum selben Zeitpunkt erkennt man eine regelrechte und den Sham-Tieren ähnliche systolische Aktion. Auffallend ist jedoch die deutlich abgeflachte Relaxation im Sinne einer verlangsamten diastolischen Aktion. Wie auch bei den Sham-Tieren findet sich in der Relaxationsphase ein kleines Plateau vor dem endgültigen Abschluss der Füllungsphase (Graphik 18).



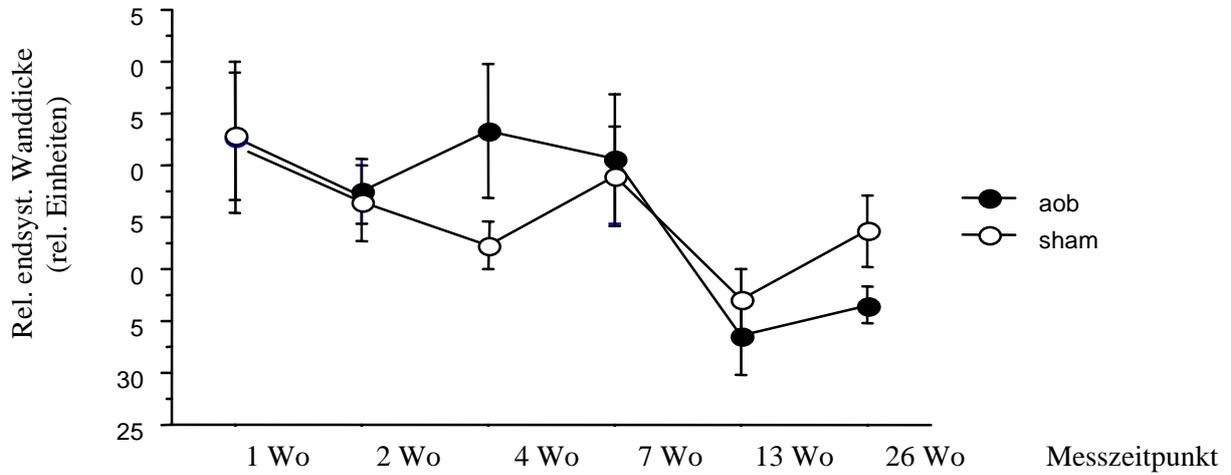
Graphik 19: Zeit-Volumenkurve für eine Maus 26 Wochen nach Aorten-Banding (ED: End-Diastole; ES: End-Systole)



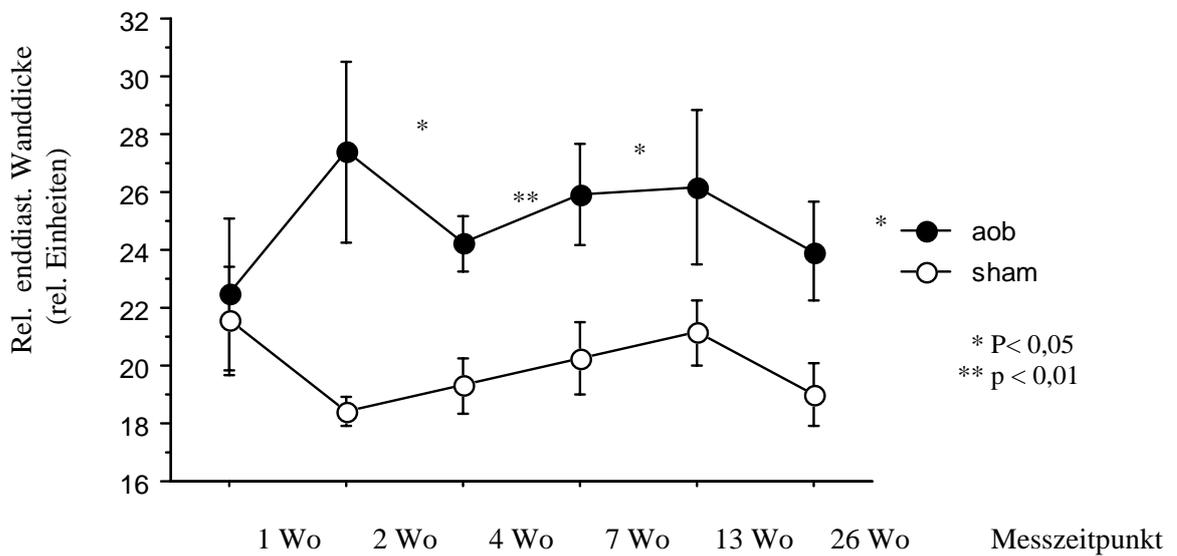
Graphik 20: Spitzen-Auswurfsrate sowie Spitzen-Füllungsrate der Banding- und Sham-Tiere zu den einzelnen Messzeitpunkten

Wichtig war auch die Frage, inwieweit sich nach Aorten-Banding eine wirkliche konzentrische Hypertrophie entwickelt oder es doch zu regionalen Unterschieden bezüglich der myokardialen Wanddicken kommt, und wenn ja, welcher Abschnitt des Myokards am stärksten von der Hypertrophie betroffen ist. Mit Hilfe der in Kapitel 3.3 beschriebenen Methode führten wir Wanddickenmessungen in vier Abschnitten des

Myokards (anterior, lateral, inferior (=posterior) und septal) einer mittventrikulären Schicht jeweils endsystolisch und enddiastolisch durch.



Graphik 21: Relative endsystolische LV-Wanddicke im Beobachtungsintervall



Graphik 22: Relative enddiastolische LV-Wanddicke im Langzeitverlauf

In den Graphen 21 und 22 sind die Gesamtwanddicken endsystolisch (Graph 21) und enddiastolisch (Graph 22) dargestellt. Die Graphen 23–30 mit den Messungen der einzelnen Wandabschnitte in Endsystole und Enddiastole sind im Anhang zu finden.

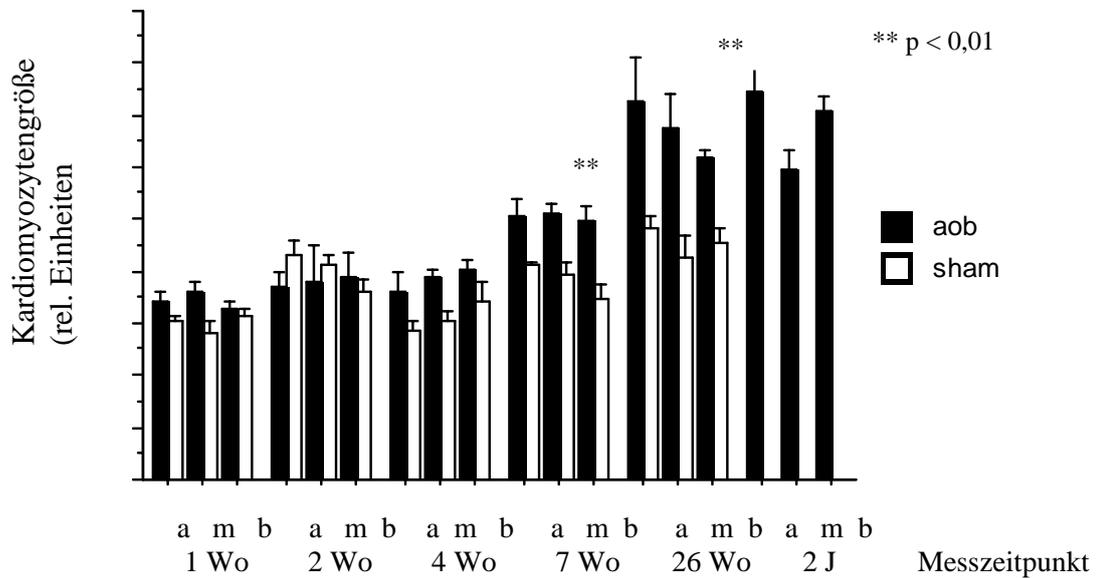
Betrachtet man zunächst die anteriore Wanddicke, so lässt sich endsystolisch eine starke Zunahme der Wanddicke (von 1,15 auf 1,5 mm) bis zur vierten Woche nach Banding erkennen. Ab der vierten Woche kommt es zu einer kontinuierlichen Abnahme der Wanddicke (bis 1,2 mm 26 Wochen nach AoB). Enddiastolisch kommt es ebenso zu einem kontinuierlichen Anstieg der Wanddicke (von 0,7 auf 1,05 mm) mit Stagnation ab der vierten Woche nach Banding.

Die laterale Wanddicke nimmt ebenso ab dem Zeitpunkt des Bandings zu. Endsystolisch kommt es zu einer Zunahme von 1,4 auf 1,8 mm mit Stagnation ab der siebten Woche nach Banding. Parallel dazu verhält sie sich enddiastolisch mit einer Zunahme von 0,8 auf 1,2 mm bis zur siebten Woche. Danach kommt es jedoch zu einer kontinuierlichen Abnahme der Wanddicke von 1,2 auf 1,05 mm.

Die inferiore (= posteriore) Wand des LV zeigt eine Wanddicken-Zunahme von endsystolisch 1,3 auf 1,6 mm bis zur vierten Woche nach Banding, worauf eine kontinuierliche Abnahme der Wanddicke einsetzt (bis 1,25 mm). Enddiastolisch kommt es primär ebenso zu einer geringen Zunahme der Wanddicke von 0,75 auf 1,05 mm bis zur vierten Woche, worauf eine Stagnation bei einer Wanddicke von ca. 1,0 mm zu beobachten ist.

6.2 Histologisch gestützte Ergebnisse

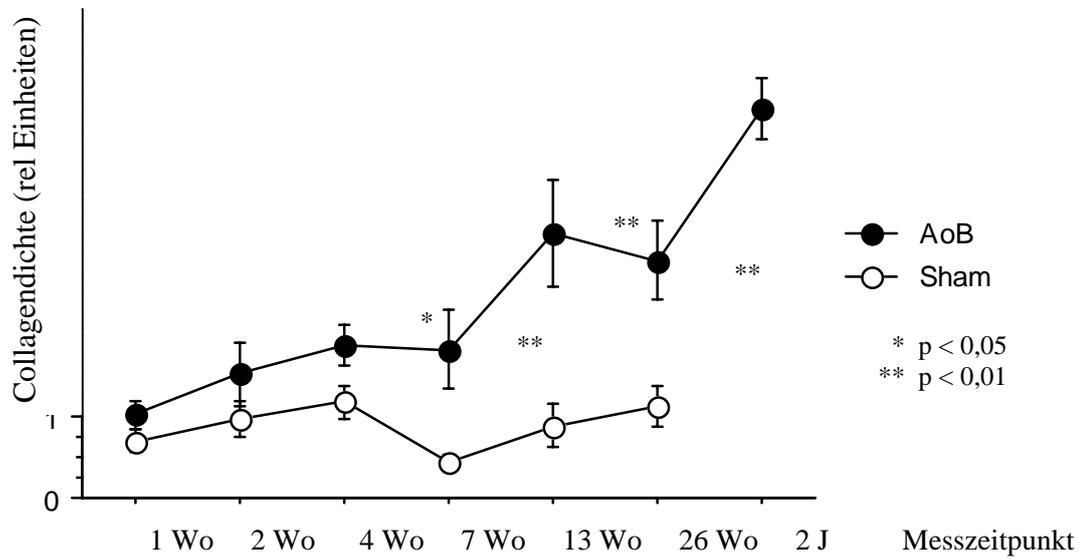
6.2.1 Planimetrisch ermittelte Ergebnisse



Graphik 33: Planimetrisch ermittelte Kardiomyozytengröße in drei Schnittebenen des Herzens (a=apikal, m=mittventrikulär, b=basal) in relativen Einheiten

Die Kardiomyozyten-Größe bleibt während der ersten vier Wochen nach Banding unverändert. Danach ist eine kontinuierliche Zunahme der Größe bis zur 13. Woche nach Banding zu erkennen. Messungen, die an Mäusen zwei Jahre nach Banding durchgeführt wurden, zeigten keine wesentliche Größen-Veränderung im Vergleich zum Messzeitpunkt 26 Wochen nach Banding (Graphik 31 und 32 im Anhang). Vergleicht man die einzelnen Messschichten (apikal, basal, mittventrikulär) miteinander (Graphik 33), so kann man mit der planimetrischen Methode keinen signifikanten Unterschied in der ortsbezogenen Größe der Kardiomyozyten abgrenzen. Eine Umrechnung der Pixel-Größen in Prozent ermöglicht eine klar definierte Größenzunahme und eine eindeutige Vergleichbarkeit.

6.2.2 Ergebnisse der Collagendichte-Messungen mit zirkulär polarisiertem Licht



Graphik 34: Änderung der myokardialen Collagendichte im Langzeitverlauf

7. Diskussion

7.1 Aortenbanding als Modell der Herzinsuffizienz durch druckinduzierte Hypertrophie

Eine linksventrikuläre Hypertrophie kann bei der Maus *in vivo* durch pharmakologische Manipulation (z.B. β -Rezeptor-Agonisten), durch Banding der Aorta ascendens oder abdominalis, durch kontinuierliches Training (Schwimmen, Laufrad), durch renovaskulär induzierten Hypertonus oder durch genetische Manipulation (Gen-Knockout) hervorgerufen werden. *In vitro* lässt sich eine Kardiomyozyten-Hypertrophie primär durch hormonellen Stimulus, Zytokine, Wachstumsfaktoren, vasoaktive Peptide sowie Katecholamine auslösen, die wiederum eine Vielzahl von Reaktionskaskaden aktivieren [37, 38, 39].

Die abrupte Konstriktion der Aorta ascendens wird schon seit Jahrzehnten als ein probates Mittel zur Induktion einer linksventrikulären Hypertrophie bei Hunden, Schweinen, Meerschweinchen, Ratten und Mäusen genutzt. Der Grad der Konstriktion sowie der Alterszeitpunkt des Bandings spielt hierbei eine große Rolle [40, 41, 42]. Appliziert man ein leichtes Banding bei noch wachsenden jungen Hunden oder Schweinen, so entwickelt sich eine progressive myokardiale Hypertrophie, die jedoch im ersten Jahr häufig nicht zu einer dekompensierten Herzinsuffizienz führt. Die bisher publizierten Arbeiten über das Aortenbanding bei Mäusen beschränkten sich auf einen zeitlichen Verlauf von maximal 11 Wochen nach Banding.

In dieser Arbeit entschieden wir uns für eine Ligatur der Aorta ascendens, welche im Gegensatz zu früheren Studien eine definierte hochgradige Stenose erzeugt. Es kam zu einer frühen linksventrikulären Hypertrophie bei chronischer Druckinduktion des Ventrikels. Nach der initialen Kompensationsphase zeigte sich bei stetig zunehmender LV-Dilatation eine ebenso zunehmende linksventrikuläre Fehlfunktion. Eine aktuelle Arbeit von Lygate et al. aus dem Jahr 2005 [43] beschreibt das Problem der Internalisierung der vorgenommenen Aortenligatur innerhalb der ersten 6 Wochen nach Banding, die wiederum zu einer fehlenden Abnahme des Gefäßquerdurchmessers

führen kann und eine inadäquate Reaktion, sprich eine fehlende Hypertrophie zur Folge hat. Dieses Problem konnte in dieser Arbeit nicht festgestellt werden. Limitierend muss allerdings festgestellt werden, dass in der vorliegenden Arbeit der Erfolg des Bandings nur postoperativ mit einer 3D-Sequenz des Aortenbogens überprüft wurde und nicht mehr im späteren Verlauf.

Ziel dieser Arbeit war es aufzuzeigen, wie lange das Mäuseherz eine Druckbelastung durch Banding der Aorta thoracalis kompensieren kann, zu welchem Zeitpunkt welche Funktionsparameter absinken und eine Insuffizienz auftritt, und welche Kompensations- bzw. Umbaumechanismen hierbei aktiviert werden. Im Folgenden werden die gefundenen Ergebnisse abschnittsweise diskutiert.

7.2 Veränderungen der kardialen Funktions-Parameter im Sinne eines Kompensations- und Dekompensations-Stadiums

7.2.1 Volumina

Die systolische Ventrikelfunktionsstörung im Rahmen der iatrogen erzeugten arteriellen Hypertonie begründet sich auf der Druckbelastung des linken Ventrikels, was eine Erhöhung der maximalen linksventrikulären Wandspannung (=Nachlast) bedeutet.

In dieser Studie zeigt sich in den ersten zwei Wochen nach Aortenbanding ein unverändertes linksventrikuläres endsystolisches Volumen (ESV) bei kontinuierlicher linksventrikulärer Massenzunahme. Dies ist als typisches Zeichen einer konzentrischen Hypertrophie im Sinne einer physiologischen Reaktion auf die erhöhte linksventrikuläre Druckbelastung zu deuten.

Ab der zweiten Woche kommt es zu einer im Verlauf progredienten Dilatation des linken Ventrikels mit signifikantem Anstieg des ESV. Die nach Druckinduktion gleichzeitig absinkende Ejektionsfraktion weist ebenso auf eine linksventrikuläre Dilatation hin. Die linksventrikuläre Dilatation ist also mit dem Verlust der systolischen Ventrikelfunktion verbunden. In echokardiographischen Studien [44, 45] mit Mäusen konnten in der Frühphase nach Aortenbanding vergleichbare Beobachtungen gemacht werden.

Die LV endsystolischen Dimensionen stiegen deutlich zwischen der 2 und 11 Woche nach Banding an, wobei die LV enddiastolische Dimensionen erst ab der 11 Woche nach Banding signifikant zunahmten, was anzeigt, dass die systolische Funktion schon in der Frühphase signifikant beeinträchtigt wird.

7.2.2 Linksventrikuläre Masse / linksventrikulärer Massenindex (LVMI)

Siri beschrieb 1994 [46] in einer Banding-Studie mit CD-1 Mäusen eine moderate kardiale Hypertrophie nach vier Wochen sowie eine ausgeprägte Hypertrophie 8-12 Wochen nach Banding. Eine Studie von Fard et al. [47] mit Inbred BALB C-Mäusen zeigte, dass die LV-Masse ihr Maximum in der dritten Woche nach Banding erreicht und bis zur achten Woche ein Plateau ausbildet. Die systolische Wanddicke stieg in der genannten Studie signifikant bis zur zweiten Woche nach Banding an und bildete danach ein Plateau aus.

In dieser Studie zeigt sich bereits eine Woche nach Banding-Operation ein im Verlauf progredienter Anstieg des LVMI, welcher zwischen der siebten und dreizehnten Woche wiederum eine deutliche Reduktion aufweist. In Zusammenschau mit den histologischen Ergebnissen handelt es sich hierbei um die Phase des Zellunterganges und der Fibrosierung.

7.2.3 Dynamik der Herzaktion (Volumen-Zeit-Kurven)

Während der Kompensationsphase einer chronischen Druckbelastung kommt es bei der Ratte zu einer Verlangsamung der Kontraktionsgeschwindigkeit [48, 49]. Der Verlust der Effizienz eines dilatierten Herzens ist zurückzuführen auf den Verlust der normalen Kontraktion des Myokards während der Auswurfphase.

Betrachtet man die Zeit-Volumen-Kurven dieser Studie, so zeigt sich ab der siebten Woche nach Banding eine deutlich abgeflachte Relaxation im Sinne einer verlangsamten diastolischen Füllungsaktion gegenüber den Sham-Tieren.

7.3 Interpretation des Zeitverlaufes der einsetzenden Mechanismen im Rahmen der Herzinsuffizienz des Mäuseherzen im Vergleich zu anderen Spezies

Die bisher publizierten Arbeiten beschränkten sich auf einen zeitlichen Verlauf von maximal 11 Wochen nach Banding. Anhand unserer Messungen lässt sich folgender grober Zeitplan der einzelnen Phasen aufstellen:

- 1) Akute Belastungsphase (1-7 Tage nach Banding):
erhaltene initiale systolische und enddiastolische Funktion bei unveränderter Ejektionsfraktion

- 2) Kompensationsphase (2-4 Wochen nach Banding):
Linksventrikuläre Wanddicken- und Massenzunahme im Sinne der kompensatorischen Hypertrophie

- 3) Umbauphase (4 Wochen nach Banding):
konzentrische Hypertrophie bereits zwei Wochen nach Banding, ab der vierten Woche zusätzliche Relaxationsstörungen

- 4) Dekompensationsphase (7 Wochen nach Banding):
Deutlicher Abfall des linksventrikulären Schlagvolumens mit Einbruch der Ejektionsfraktion als Zeichen des Verlustes der systolischen Funktion. Nach 26 Wochen sind bereits 50% der Banding-Tiere verstorben.

7.4 Änderung der Geometrie des linken Ventrikels bezüglich der Wanddickenzunahme

In der bereits oben genannten Studie von Siri [46] wird ein signifikanter Anstieg der systolischen Wanddicke bis zur zweiten Woche nach Banding beschrieben, der danach ein Plateau ausbildete.

In den mit dieser Studie ermittelten Parametern zeigt sich ein deutlicher Anstieg der endsystolischen anterioren, septalen und posterioren Wanddicke innerhalb der ersten zwei bis vier Wochen nach Banding mit nachfolgender stetiger Abnahme im verbleibenden Beobachtungszeitraum. Eine kontinuierliche Wanddickenzunahme ist nur bei der lateralen endsystolischen Wanddicke zu beobachten. Daraus lässt sich folgern, dass die Einschränkung der systolischen Funktion noch vor dem Auftreten einer exzentrischen Hypertrophie stattfindet.

Nach Siri [46] ist endsystolisch die laterale Wand mitral gemessen etwas dicker als die septale, laterale oder posteriore Wand. Auf Höhe des Papillarmuskels waren die Wanddicken septal und lateral signifikant dicker als die anteriore Wanddicke.

In einer echokardiographischen Studie von Liao [44] stieg die diastolische LV posteriore Wanddicke kontinuierlich zwischen der 2. und 11. Woche nach Banding. Betrachtet man die Daten unserer Studie, so kommt es enddiastolisch über den gesamten Beobachtungszeitraum zu einer kontinuierlichen Wanddickenzunahme der anterioren, lateralen, posterioren und septalen Wand, wobei nicht die posteriore sondern die laterale Wanddicke im Verhältnis am meisten zunimmt, was wiederum gut mit den Ergebnissen von Siri korreliert.

7.5 Strukturelle Umbauprozesse auf zellulärer Ebene

7.5.1 Veränderungen der Kardiomyozyten

Druck-Belastung ist eine qualitative Veränderung für den rechten und eine quantitative Veränderung für den linken Ventrikel. Eine Volumenüberlastung führt in der Regel zu

einer exzentrischen Hypertrophie mit vornehmlich Zunahme des Längsmasses der Kardiomyozyten, wohingegen die Drucküberbelastung zu einer konzentrischen Hypertrophie führt, die sich in einer Zunahme des Querdurchmessers der Kardiomyozyten widerspiegelt. Dies gilt für Mensch und Maus gleichermaßen [50, 51, 52, 53].

Die kardiale Hypertrophie ist nach Swynghedauw [54] ein Anpassungsmechanismus an chronische Druck-Überlastung der auf subzellulärer Ebene (Vermehrung der kontraktilen Elemente) sowie auf Ganzorgan- Ebene (Verminderung der Wandspannung) abläuft.

Prinzipiell gilt: konzentrische Hypertrophie durch Wanddickenzunahme bei Zunahme der Zellbreite bei gleicher Zellzahl. Dadurch kommt es zu einem Rückgang der Wandspannung nach dem Laplace-Gesetz [55].

Aus dieser Erkenntnis heraus erfolgte in dieser Studie die planimetrische Größenbestimmung der Kardiomyozyten in einer apikalen, mittventrikulären und basalen Schnittebene. Diese zeigte keine wesentliche Änderung des Kardiomyozyten-Querdurchmessers in den ersten vier Wochen nach Banding. Danach kam es zu einer kontinuierlichen und signifikanten Zunahme des Querdurchmesser. Nach Wikman-Coffelt et al. [56] gibt es jedoch biologische Begrenzungen dieses Anpassungsprozesses, da die Myozyten nur begrenzt hypertrophieren können. Limitierend wirken hierbei das Verhältnis von DNA/Zytoplasma sowie die Tatsache, dass ausgereifte Myozyten keine Mitose betreiben können. Eigene Messungen an histologischen Schnitten von Banding-Tieren zwei Jahre nach Intervention zeigten ebenso keine weitere Größenzunahme der Kardiomyozyten.

Studien von Campbell et al. [48, 49] an Ratten führen die LV-Massenzunahme auf die Myozyten-Hypertrophie und nicht auf die -Hyperplasie zurück. Des weiteren bestand bei Ratten eine gute Korrelation zwischen der LV-Masse und der Größe der Kardiomyozyten. Betrachtet man die LV-Massenkurve (Graphik 2) so erkennt man schon ab der vierten Woche nach Banding eine deutliche Zunahme. Allerdings bleibt die LV-Masse bei den Banding-Tieren ab der siebten Woche post interventionem konstant.

Nach den Erkenntnissen von Tomanek [55] et al. kommt es bei akut hypertensiven Ratten während der Frühphase der LV-Druckbelastung zu einer Wanddicken-Zunahme des Endomyokards, wohingegen es in der Spätphase der Hypertrophie zu einer ausgeprägteren Dickenzunahme des Epimyokards kommt. Diese Differenzierung war nicht Gegenstand dieser Studie.

7.5.2 Veränderung des Kollagengerüstes

Die Pikro-Sirius-Rot-Färbung in Kombination mit der Auswertung unter zirkulär polarisiertem Licht ist eine einzigartige Methode, um den Aufbau und die Änderung kollagener Matrix im hypertrophierten Myokard zu analysieren [57].

Junqueira et al. [58] beschreiben, dass aufgrund der spezifischen Licht-Brechung des Kollagens unterschiedliche Dicken von Kollagenfasern unterschieden werden können. So leuchten bei PSR-gefärbten Präparaten bei Verwendung von zirkulär polarisiertem Licht dünne Fasern grün, dickere Fasern gelb bzw. gelb-rot.

Das Myokard der Maus besteht im wesentlichen aus Kollagen Typ I und III. Beide Typen haben unterschiedliche elastische Konstanten. Typ I -Kollagen ist ein starres, fibrilläres Protein, welches eine grundlegende Reißfestigkeit in biologischen Strukturen wie z.B. Sehnen gewährleistet. Kollagen Typ III hingegen dient als unterstützendes, retikuläres Bindegewebe [59].

Studien von Jalil et al. zeigten bereits 1989, dass bei fortdauernder Volumenbelastung des linken Ventrikels dicke und dünne Kollagenfasern die Kardiomyozyten mit einem dichtem Netz umgeben. Dies behindert deutlich die synchronisierte Muskelkontraktion. Unelastisches Kollagen schränkt auch die Rückstellkräfte in der Relaxationsphase der Herzaktion ein, was wiederum zu einer Reduktion der Kraftentwicklung aufgrund der limitierten Längsverkürzung führt [59].

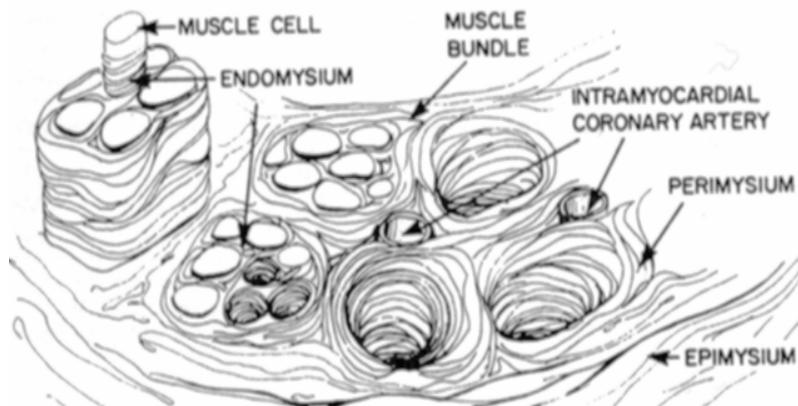


Abbildung 24: Vereinfachte Darstellung des myokardialen Kollagennetzwerkes mit seinen endo-, peri- und epimysialen Komponenten

Eine Hypertrophie-Studie von Pick et al. [60, Abb.2] aus dem Jahre 1989 zeigte, dass es in der Initialisierungsphase der Hypertrophie zu einem höheren Anteil an neu gebildeten perimysialen Fasern entlang der Muskelfasern kommt. Fibrilläres Kollagen war an manchen Stellen verschwunden und die Zwischenmuskelräume waren deutlich aufgeweitet. In elektrophoretischen Analysen ließ sich ein signifikant erhöhter, beinahe verdoppelter Kollagen Typ III-Anteil nachweisen.

Die in unserer Studie durch die Untersuchungen unter dem zirkulär polarisiertem Licht gewonnenen Daten zeigen, dass die vermehrte Kollagenbildung mit der Phase 3 (Umbauphase) beginnt und erste Auswirkungen auf die Funktion des linksventrikulären Myokards im Sinne von auftretenden Relaxationsstörungen zeigt.

Mikroskopisch nahm die Kardiomyozytengröße zwischen der 4 und 7 Woche sowie der 7 und 26 Woche signifikant zu, was wiederum in guter Korrelation zur Veränderung der funktionellen Parameter steht. 26 Wochen nach Banding hatte sich die interstitielle Gesamtkollagendichte verdoppelt.

Bei Pick ließen sich in der Frühphase der Hypertrophie die Zwischenmuskelräume wieder normal weit abgrenzen. Intermuskulär ließ sich nun ein ineinander verstricktes, engmaschiges Netzwerk von dicken und dünnen Kollagenfibrillen nachweisen, welches

die Muskelbündel eng umschlang. Zu diesem Zeitpunkt konnte lichtmikroskopisch keine Nekrose nachgewiesen werden. Der Kollagen Typ III-Anteil war zu diesem Zeitpunkt wieder abgesunken.

In der Spätphase der Hypertrophie ließen sich bei Pick die in der Initial- und Frühphase beschriebenen Veränderungen in wesentlich ausgeprägterer Form nachweisen. Viele Muskelzwischenräume beinhalteten perimysiale Fibrillen. Zusätzlich ließ sich das, die Muskelfasern ummauernden, endo- und perimysiale Netz deutlich breiter abgrenzen. Des weiteren ließen sich Nekrosenzonen nachweisen, die von einem dichten Netzwerk aus dicken und dünnen Kollagenfibrillen überbrückt wurden und somit die nebeneinander liegenden Muskelbündel miteinander verknüpften.

Hinsichtlich des genauen Mechanismus der Ausbildung von Nekrosenzonen besteht noch Unklarheit. Es wird vermutet, dass die Diffusionsstrecke durch das dichte Netzwerk von Kollagenfasern zu groß wird, und somit das Angebot von Sauerstoff und Substrat für den Kardiomyozyten zu gering ist. Zusätzlich wird eine, durch die Fibrose bedingte, Kompression der ernährenden Gefäße bzw. des Muskels selbst vermutet.

8. Zusammenfassung und Ausblick

8.1 Vorteil der Spezies Maus für die kardiale Grundlagen-Forschung

Das Maus-Modell ist vielversprechend für zukünftige Studien. Bei der Untersuchung von Aminosäuresequenzen von Maus und Mensch konnte eine Homologie von $85,7 \pm 13,6 \%$ sowie eine Identität von $82,5 \pm 15,7 \%$ festgestellt werden [61]. In einem Science-Artikel von Hieter und Boguski aus dem Jahr 1997 [62] wird deutlich aufgezeigt, dass die Zukunft der kardiovaskulären Forschung mit Kenntnis der Struktur des Genoms der Maus auf der Erforschung der Funktion des Genoms (Schlagwort: „functional genomics“) liegen wird. Daher wird eine noch intensivere Zusammenarbeit von Genetikern, Biochemikern, Pharmakologen, Molekularbiologen, Zellbiologen und auch klinischen Forschern von großer Bedeutung sein.

Die funktionelle MR-Forschung am manipulierten Mäuseherzen stellt hierbei eine wesentliche Schnittstelle zwischen Lern- und Erprobungsprozess an der Maus und der späteren gezielten therapeutischen Anwendung am Menschen dar.

Als nichtinvasives Bildgebungsmedium steht mit der kardialen MR-Bildgebung somit eine inzwischen durch zahlreiche Studien validierte Möglichkeit einer seriellen Bildgebung auch nach schwerem operativen Eingriff oder gezielter genetischer Manipulation bei Mäusen zur Verfügung.

8.2 Vorteile des Einsatzes der Kernspintomographie in der kardialen Funktionsanalyse

Die Kernspintomographie ist eine teure und außerhalb großer Zentren noch nicht weit verbreitete Methode. Die Magnetresonanztomographie des Herzens stellt hohe technische Anforderungen, ein optimales Spulendesign sind Voraussetzung für eine diagnostische Bildqualität. Der entscheidende Vorteil der MR-Bildgebung gegenüber Methoden wie Echokardiographie, Röntgenkontrast- und Radionuklid-Ventrikulographie ist die Möglichkeit der dreidimensionalen Erfassung der Herzmuskelaktion.

Nach Rose et al. 1994 [63] und Siri et al. 1997 [64] bestätigten Slawson et al. [65] und Wiesmann et al. [18, 19, 66] 1998 die hohe Korrelation zwischen der postmortem und der durch MR-Bildgebung *in vivo* bestimmten linksventrikulären Masse im Tiermodell. Der wesentliche Vorteil der MR-Bildgebung liegt in der Quantifizierung kardialer Parameter mit großer Genauigkeit und hoher Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

Das in dieser Studie erlangte Wissen über den zeitlichen Verlauf der geometrischen und funktionellen kardialen Änderungen während chronischer Druckinduktion des Herzens ist eine wichtige Grundlage für die Planung weiterer Studien, besonders in Hinblick auf den Einsatz von Modellen mit transgenen Tieren sowie Tieren mit Gen-Knockout. Vorteil der Methode ist der Einsatz als Kontrollmethode der Auswirkungen der genetischen Manipulation nahezu direkt nach der Geburt.

Entscheidend ist die umfassende kardiovaskuläre Phänotyp-Charakterisierung der Maus als Schlüssel für die Anwendung der experimentell gewonnen Erkenntnisse zum weiteren Verständnis der Morphologie und funktionellen Abläufe des Herzens sowie der sich daraus ableitenden Therapiemöglichkeiten am menschlichen Herzen [66]. So kann die MR-Bildgebung durch Erfassung multipler Parameter in einem Untersuchungsgang eine wichtige Rolle spielen. Eine Anwendung der funktionellen mikroskopischen MR-Bildgebung an der Maus ist in der Zukunft zum Beispiel denkbar für die Untersuchung von Remodeling-Prozessen nach Myokard-Infarkt, regionaler Herzmuskelfunktion unter Verwendung der Stress-Cinematographie [67], MR-Tagging-Bildgebung sowie der myokardialen First-Pass Perfusionsbildgebung in Kombination mit dem späten Kontrastmittel-Enhancement bei Mäusen nach Myokardinfarkt oder chronisch-entzündlichen Herzerkrankungen. Die Erforschung von Koronararterien mit Bestimmung von Blutfluss und Strömungsgeschwindigkeit steckt aufgrund der derzeitigen limitierten räumlichen Auflösung weiterhin noch in ihren Anfängen, verspricht aber durch neue Bildgebungs-Sequenzen eine deutliche Verbesserung der Bildqualität [68].

Dass eine Untersuchung des Herzens umfassend sein muss, wird zum Beispiel durch eine Studie von Slawson et al. [65] deutlich, die die Wichtigkeit der Beobachtung des gesamten Herzens, nicht nur des linken Ventrikels, betont, da verschiedene Formen der

Hypertrophie auch Veränderungen des rechten Ventrikels verursachen können. Siri et al. [64] ziehen die rechtsventrikuläre Hypertrophie (RV-Masse/KG) sowie den pulmonalen Stau (Lungen-Masse/KG) im Tiermodell bereits mit in ihre Beobachtungen ein. Hierbei wird diskutiert, ob eine rechtsventrikuläre Hypertrophie als zwingende Konsequenz aus einem linksventrikulären Herzversagen resultiert. Einen wichtigen Schritt in Richtung sicherer Diagnostik des rechten Ventrikels, der bislang aufgrund seiner anatomischen Besonderheiten in der funktionellen MR-Bildgebung nicht ausreichend zu beurteilen war, stellt eine Arbeit aus dem Jahr 2002 [69] dar. Hier wird gezeigt, dass mit einem ähnlichen Untersuchungsansatz wie in dieser Arbeit die rechtsventrikulären Funktionsparameter mit einer hohen Inter- und Intraobservervariabilität bestimmt werden können .

Die Zukunft der Magnetresonanztomographie des Mäuseherzens kann bei guten und zuverlässigen bereits vorliegenden Ergebnissen für den linken und inzwischen auch rechten Ventrikel als ein attraktives, nicht-invasives Kontrollinstrument für genmanipulierte Mausmodelle dienen. Wichtig hierfür wird die Weiterentwicklung der Auswerte-Software sein, da der Untersucher mit den derzeit existierenden Versionen einen für den Routinebetrieb noch zu hohen Zeitaufwand in die Auswertung investieren muss. Auch in Hinblick auf eine eventuelle Fusion von Daten der kardialen MRT mit den Daten eines Kleintier-PETs bestehen hohe Herausforderungen an eine intelligente und integrative Software.

Die Bestimmung der Kontraktilität, der kardialen Volumina und der Herzmuskelmasse über einen langen Zeitverlauf sowie verschiedene Modelle zur Ermittlung von Funktion und Perfusion auch unter induzierten Stressbedingungen sowie die Phänotypisierung genetischer Spielarten machen die MRT des Mäuseherzen auch für einen serienmäßigen Einsatz z. B. bei der Testung von Arzneimitteln und gentechnischen Wirkstoffen interessant.

9. Literaturverzeichnis

9.1 Wissenschaftliche Arbeiten

- 1) Neubauer S., Kochsiek K., Hahn D., Magnetresonanz-Verfahren in der Herzdiagnostik, *Deutsches Ärzteblatt*, 1998; Heft 41 (27): C1811-1816.
- 2) Wiesmann F. et al., Aktuelle Bedeutung der MR-Bildgebung für die Diagnostik der koronaren Herzkrankheit, *Z Kardiol*, 1997; 86: 657-668.
- 3) 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.
- 4) Collins K.A., Korcarz C.E. et al., Accuracy of echocardiographic estimates of left ventricular mass in mice; *Am J Physiol (HeartCircPhysiol)*; 2001, 280: H1954-H1962.
- 5) Lee J.C., Taylor J.F.N., Downing S.E., A comparison of ventricular weights and geometry in newborn, young and adult mammals, *J Appl Physiol*, 1975; 38: 147-150.
- 6) Lorenz J.N., Robbins J., Measurements of intraventricular pressure and cardiac performance in the intact closed-chest anesthetized mouse. *Am J Physiology* 1997; 272: H1137-H1146.
- 7) Gardin J.M., Siri F.M. et al., Echocardiographic assessment of left ventricular mass and systolic function in mice. *Circulation Research*, 1995; 76: 907-914.
- 8) Gardin J.M., Siri F.M. et al., Echocardiographic assessment of left ventricular mass and systolic function in mice. *Circ Res*, 1995; 77: 632-637.

- 9) Weiss RG. Imaging the Murine Cardiovascular System With Magnetic Resonance. *Circ. Res.* 2001;88:550-551.
- 10) Bohndorf et al, Neue Möglichkeiten der MR-Diagnostik und des Kontrastmitteleinsatzes, *Fort .d .Medizin*, 116.Jg.,1998,Suppl. 184.
- 11) Kleinmann L.H., Wechsler A.S. et al., A reproducible model of moderate to severe concentric left ventricular hypertrophy, *Am J Physiol*, 1978; 234(3): H515-H524.
- 12) Rockman H.A., Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo model of cardiac hypertrophy, *Proc Natl Acad Sci (US)*, 1991;88:8277-8281.
- 13) Lanz T., Mono- und doppelresonante Birdcage-Meßspulen für NMR-Experimente, *Diplomarbeit*, Universität Würzburg, 1996.
- 14) Chen C.N. et al., Quadrature detection coils – a further $\sqrt{2}$ improvement in sensitivity, *J Magn Reson*, 1983; 54: 324-327.
- 15) Rommel E., Haase A., An ECG-Trigger Unit Optimized for fast Rat Heart Imaging. *Proceedings of 3rd SMR/ESMRMB* 1995:938.
- 16) Ruff J., Wiesmann F. et al., Influence of isoflurane anesthesia on contractility of mouse heart in vivo. A NMR imaging study, *Proceedings of the 15th annual meeting of the Europ Soc Magn Reson Med Biol*, 1998, Geneva, Switzerland, 169.
- 17) Ruff J., Wiesmann F. et al., Microscopic Magnetic Resonance Imaging for Noninvasive Quantification of Myocardial Function and Mass in the Mouse; *Magnetic Resonance in Medicine*, 1998; 40: 43-48.

- 18) Haase A., Frahm J. et al., FLASH imaging: rapid NMR imaging using low flip angle pulses. *J Magn Res* 1986; 67:258-266.
- 19) Wiesmann F. et al., Developmental changes of cardiac function and mass assessed with MRI in neonatal, juvenile and adult mice, *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)*, Feb 2000; 278 (2): 652-657.
- 20) Glover G.H. et al., A rapid-gated cine MRI technique, *Magn Reson Annu*, 1987; Review: 299-333.
- 21) Kress J., Quantitative Segmentation mehrdimensionaler NMR-Bilder, *Diplomarbeit*, Universität Würzburg, 1996.
- 22) Whittaker P. et al., Quantitative assessment of myocardial collagen with picrosirius red staining and circularly polarized light, *Basic Res Cardiol (US)*, 1994; 89:397-410.
- 23) Doevendans P.A., Daemen M.J. et al., Cardiovascular phenotyping in mice, *Cardiovascular Research*, 1998; 39: 34-49.
- 24) Webb S., Brown N.A. et al., The structure of the mouse heart in late fetal stages. *Anat Embryol Berl*, 1996; 194: 37-47.
- 25) James JF, Hewett TE, Robbins J. Cardiac Physiology in Transgenic Mice. *Circ Res* 1998;82:407-415.
- 26) Henson R.E., Song S.K. et al., Left ventricular torsion is equal in mice and humans, *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)*, 2000, 278: H1117–H 1123.

- 27) Kass D.A. et al., Murine Cardiac Function, A Cautionary Tail, *Circulation Res*, 1998; 82: 519-522.
- 28) Schanwell C.M., Marx R., Kann eine linksventrikuläre pathologische Hypertrophie bei arterieller Hypertonie von einer physiologischen Hypertrophie durch Sport unterschieden werden?, *Dtsch.Med.Wschr.*, 2001; 126: 263-267.
- 29) Nakamura A, Rokosh DG, Paccanaro M, Yee RR, Simpson PC, Grossmann W, Forster E. LV systolic performance improves with development of hypertrophy after transverse aortic constriction in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:H1104-H1112.
- 30) Frey N, Katus HA, Olson EN, Hill JA. Hypertrophy of the heart – a new therapeutic target? *Circulation* 2004;109:1580-1589.
- 31) Lecarpentier Y. et al., Load dependence of mammalian heart relaxation during cardiac hypertrophy and heart failure, *Am J Physiology*, 1982; 242: H855-H861.
- 32) Hill J.A., Karimi M. et al., Cardiac Hypertrophy is Not a Required Compensatory Response to Short-Term Pressure Overload, *Circulation*, 2000; 101: 2863-2869.
- 33) Gao XM, Kiriazis H, Moore KL, Sheppard K, Dart A, Du XJ. Regression of pressure overload-induced left ventricular hypertrophy in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288(6): H2702-2707.
- 34) Berenji K, Drazner MH, Rothermel BA, Hill JA. Does load-induced ventricular hypertrophy progress to systolic heart failure? *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289:8-16.
- 35) Desjardins S., Mueller R.W., Cauchy M.J., A pressure overload model of congestive heart failure in rats, *Cardiovas. Res.*, 1988; 22: 696-702.

- 36) Lorell B.H., Grossman W., Cardiac Hypertrophy: The consequences for diastole. *J Am College Cardiol*, 1987; 9:1189-1193.
- 40) Wang J.Z., Mezrich R.S. et al., MRI evaluation of left ventricular hypertrophy in a canine model of aortic stenosis, *Invest Radiol*, 1990, 25(7):783-788.
- 41) Rockman H.A., Ono S. et al., Molecular and physiological alterations in murine ventricular dysfunction. *Proc Natl Acad Sci (US)*, 1994; 91: 2694-2698.
- 42) Kramer C.M., Integrated approach to ischemic heart disease, *Card.Magn.Res.Imag.*, 1998; 16 (2):267-76
- 43) Lygate C.A., Schneider J.E., Hulbert K., Ten Hove M., Sebag-Montefiore L.M., Cassidy P.J., Clarke K., Neubauer S.. Serial high resolution 3D-MRI after aortic banding in mice: band internalization is a source of variability in the hypertrophic response. *Basic Res Cardiol* 2005 Sep1; S0300-8428.
- 44) Liao Y., Ishikura F. et al., Echocardiographic assessment of LV hypertrophy and function in aortic-banded mice: necropsy validation, *Am J Physiol (HeartCircPhysiol)*, 2002, 282: H1703-H1708.
- 45) Tanaka N. et al., Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse, *Circulation*, 1996; 94: 1109-1117.
- 46) Siri F.M., Nordin C. et al., Compensatory hypertrophy and failure in gradual pressure-overload guinea pig heart, *Am J Physiol*, 1989; 257: H1016-1024.
- 47) Fard A., Wang C.Y. et al., Noninvasive assessment and necropsy validation of changes in left ventricular mass in ascending aortic banded mice, *J Am Soc Echocardiogr*, 2000; 13: 582-587.

- 48) Campbell S.E. et al., Change in cardiac myocyte size distribution in aortic-constricted neonatal rats, *Basic Res Cardiol*, 1989; 84: 247-258.
- 49) Campbell S.E. et al., Remodeling of myocyte dimensions in hypertrophic and atrophic rat hearts, *Circ Res*, 1991; 68: 984-996.
- 50) Hasenfuss G., Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy, *Cardiovascular Research*, 1998; 39: 60-76,
- 51) Hasenfuss G., Mulieri L.A. et al., Energetics of Isometric Force Development in Control and Volume-Overload Human Myocardium. Comparison with animal species, *Circulation Research* 1991; 68: 836-846.
- 52) Kleaveland J.P., Kussmaul W.G. et.al., Volume overload hypertrophy in a closed-chest model of mitral regurgitation, *Am J Physiol*, 1988; 254: H1034-1041.
- 53) Geisterfer-Lowrance A.T., Christe M., Conner D.A. et al., A mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy, *Science*, 1996; 272: 731-734.
- 54) Swynghedauw B., Remodeling of the heart in response to chronic mechanical overload, *Eur Heart J.*, 1989; 10: 935-943.
- 55) Tomanek R.J., The role of prevention or relief of pressure overload on the myocardial cell of spontaneously hypertensive rats: A morphometric and stereology study, *Lab Invest*, 1979; 40: 83-91.
- 56) Wikman-Coffelt J., The cardiac hypertrophy process: Analysis of factors determining pathological vs. physiological development, *Circ Res*, 1979; 45: 697-707.

- 57) Jalil J.E. et al., Fibrillar Collagen and Myocardial Stiffness in the Intact Hypertrophied Rat Left Ventricle, *Circ Res*, 1989; 64:1041-1050.
- 58) Junqueira LCU., Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy, *Arch Histol Jpn*, 1978; 41: 267-247.
- 59) Doering Ch.W., Jalil J.E. et al., Collagen network remodelling and diastolic stiffness of rat left ventricle with pressure overload hypertrophy, *Card Vasc Res*, 1988, 22: 686-695.
- 60) Pick R, Janicki J.S., Weber K.T., Myocardial Fibrosis in Nonhuman Primate with Pressure Overload Hypertrophy, *Am J Pathol*, 1989; 135(5): 771-781.
- 61) del Monte F., Butler K. et al., Novel technique of aortic banding followed by gene transfer during hypertrophy and heart failure. *Physiol Genomics*, 2002; 9: 49-56.
- 62) Hieter P., Boguski M., Functional genomics: It's all how you read it. *Science*, 1997; 278: 601-602.
- 63) Rose S.E. et al., High resolution high field rodent cardiac imaging with flow enhancement suppression, *Magn Reson Imaging*, 1994, 12: 1183-1190.
- 64) Siri F.M., Jelicks L.A. et al., Gated Magnetic Resonance Imaging of normal and hypertrophied murine hearts. *Am J Physiology*, 1997; 272: H2394-H2402.
- 65) Slawson S.E. et al., Cardiac MRI of the Normal and Hypertrophied Mouse Heart, *MRM*, 1998; 39: 980-987.
- 66) Wiesmann F. et al., Cardiovascular phenotype characterization in mice by high-resolution magnetic resonance imaging, *MAGMA*, Nov 2000; 11 (1-2): 10-15.

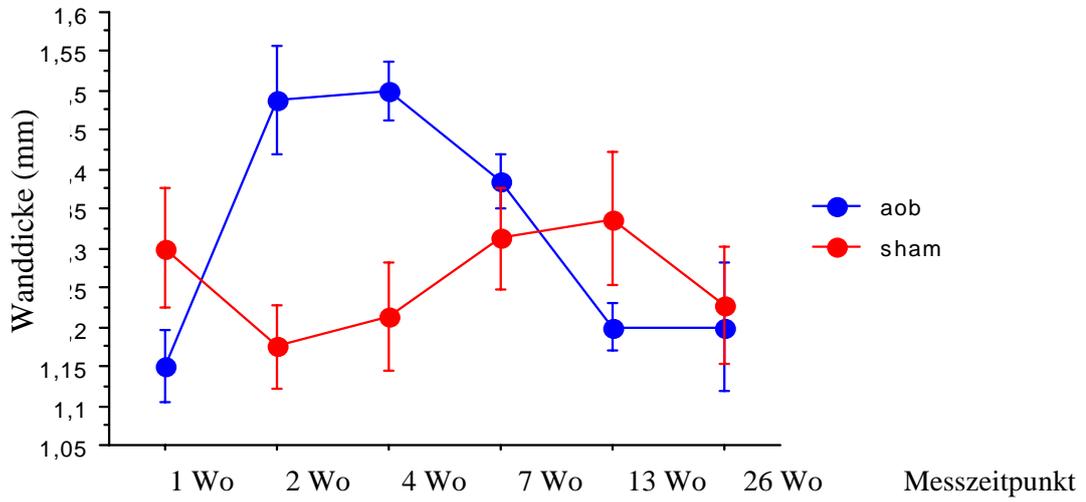
- 67) Wiesmann F. et al., Dobutamine-stress magnetic resonance microimaging in mice: acute changes of cardiac geometry and function in normal and failing murine hearts, *Circ Res (US)*, Mar 2001; 88(6): 563-569.
- 68) Wiesmann F. et al., Magnetic resonance imaging of coronary arteries and heart valves in a living mouse: techniques and preliminary results, *J Magn Reson (US)*, Oct 2000; 146(2): 290-296.
- 69) Wiesmann F., Frydrychowicz A. et al., Analysis of right ventricular function in healthy mice and murine model of heart failure by in vivo MRI, *Am J Heart Circ Physiol*, 2002; 283:H1065-1071.

9.2 Verwendete Fachliteratur

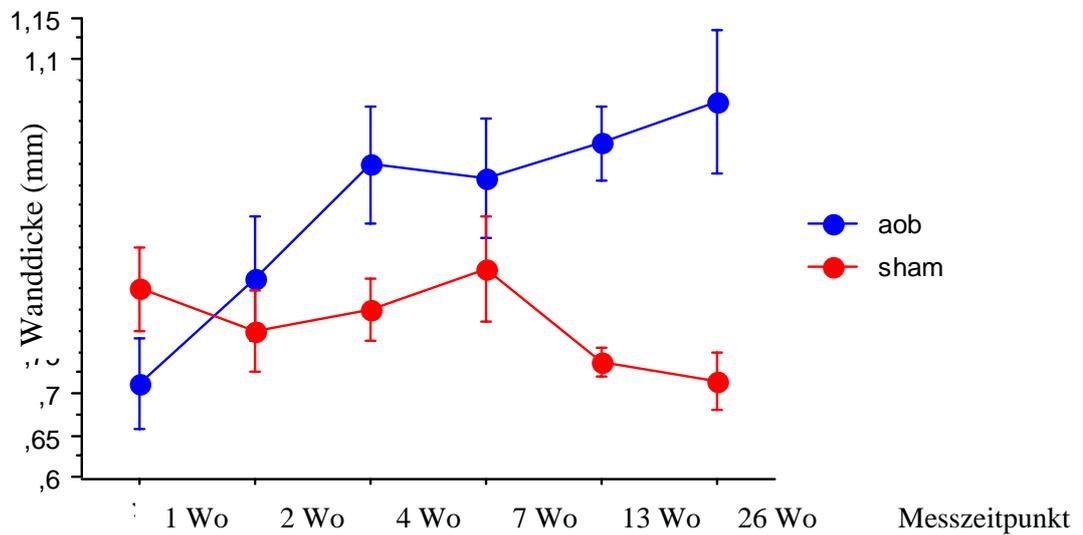
- 1) Basic Principles of MR-Imaging, Fa. Philips, 1995.
- 2) Rinck P.A. et al., Magnetresonanz in der Medizin, Eine Einführung; Sonderdruck für European Workshop on Nuclear Magnetic Resonance in Medicine, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1985.
- 3) Schild H., MRI-made easy, Schering Diagnostika, Schering Aktiengesellschaft, 1990.
- 4) Idy-Peretti I., Bittoun J., NMR of the human body, Springer-Verlag, 1994.
- 5) Küttler T., Pharmakologie und Toxikologie, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1996.
- 6) Katz A.M., Physiology of the heart, 2nd Edition, Raven Press, New York, 1990.
- 7) Schmidt R.F., Thews G., Physiologie des Menschen, Springer-Verlag, 27. Auflage, 1997.

- 8) Heinzerling J., *Magnetom Vision: Applikations-Handbuch*, Rev. 05, 1995.
- 9) Classen M., Diehl V., Kochsiek K., *Innere Medizin*, 3. Auflage, 1994. Verlag Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore.
- 10) Braunwald E, Zipes PZ, Libby P. *Braunwald's Heart Disease*. 6th edition 2001. W.B. Saunders. Comp. CD-ROM-Ausgabe
- 11) Harrison, Tinsley R. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 15th edition 2001, McGraw-Hill, New York.
- 12) Higgins CB, Hricak H, Helms CA. *Magnetic Resonance Imaging of the Body*. 1996. Lippincot-Raven Publishers, Philadelphia. PA, U.S.A.
- 13) Pohost GM, O'Rourke RA, Berman DS, Shah PM (eds.). *Imaging in Cardiovascular Disease*. 2000. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, U.S.A.
- 14) Ruff J., *Funktionelle NMR-Bildgebung am Herzen der Maus*, Edition Wissenschaft: Reihe Physik: Bd. 102, Tectum Verlag, Marburg, 2001.
- 15) Haase A., Ruff J., Rokitta M. et al., *Handbook of computer vision and application*, Kapitel: NMR microscopy in biological and medical research, pp. 507-518, Academic Press, 1998.
- 16) Pinger St., *Repetitorium der Kardiologie*, *Novartis Pharma Verlag*, Wehr, 1996.
- 17) Crawford M.H., *Cardiology Clinics: Cardiac Magnetic Resonance Imaging*, *W.B. Saunders Company*, London, Vol. 16, No 2, 1998.

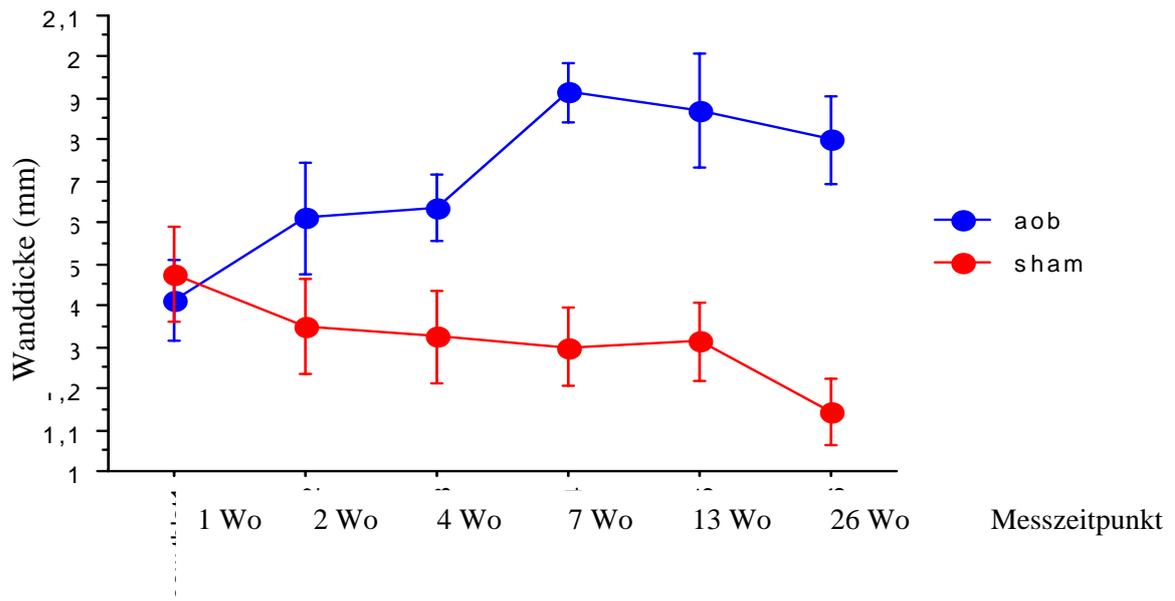
10. Anhang



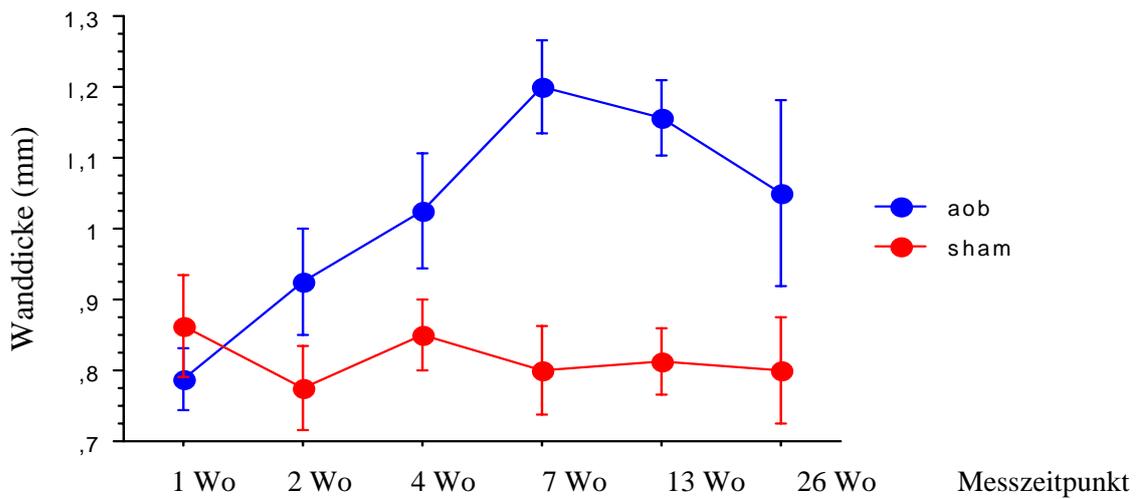
Graphik 24: Anteriore endsystolische Wanddicke im Langzeitverlauf



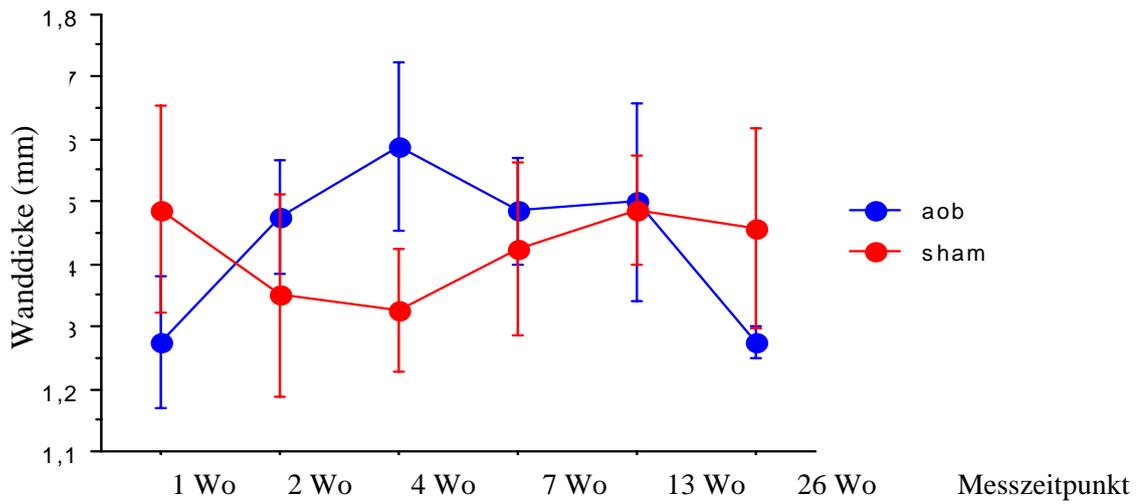
Graphik 25: Anteriore enddiastolische Wanddicke im Verlauf



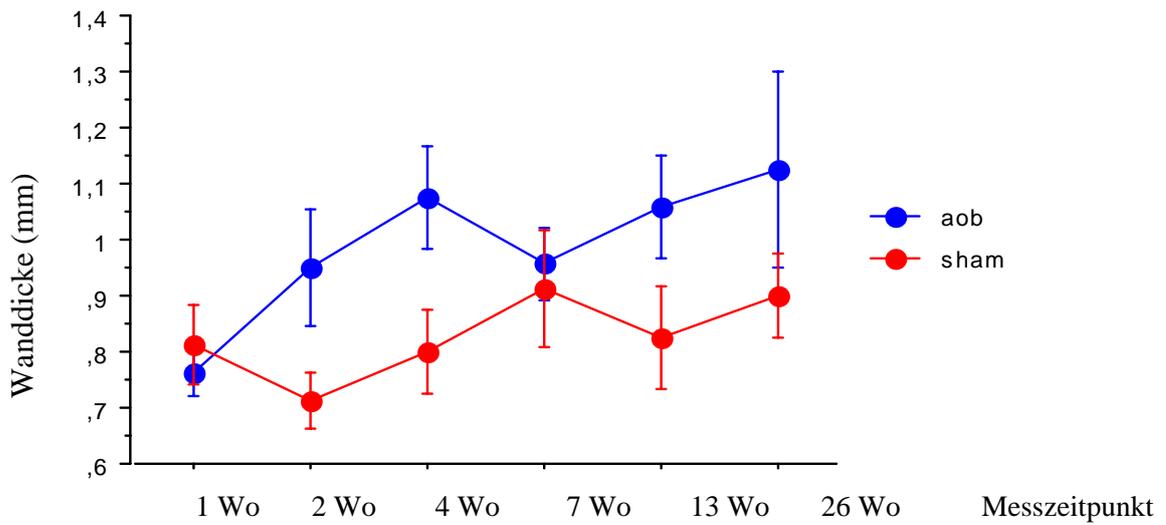
Graphik 26: Laterale endsystolische Wanddicke im Verlauf



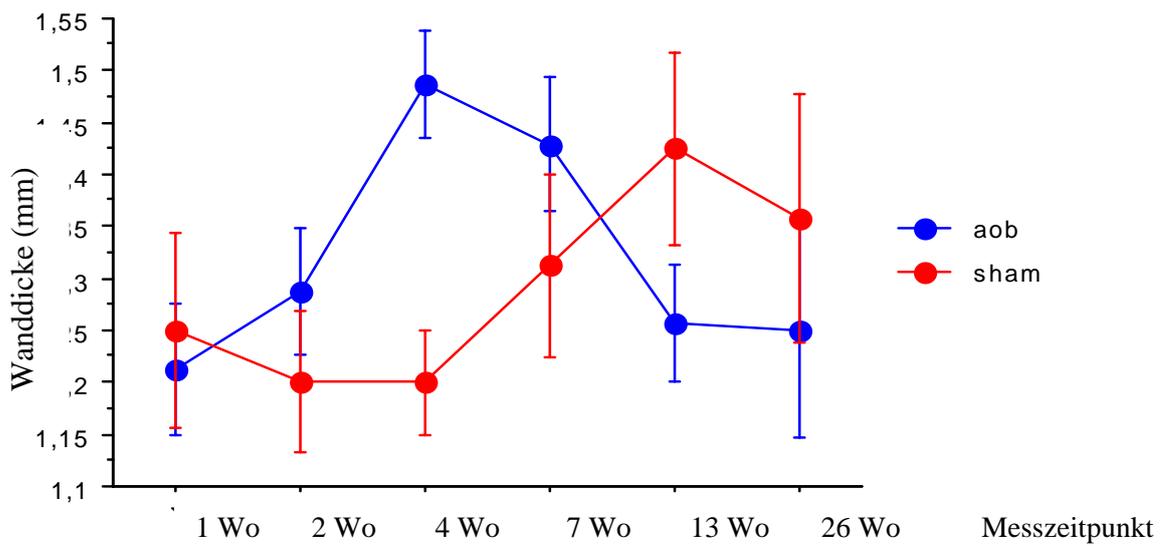
Graphik 27: Laterale enddiastolische Wanddicke im Verlauf



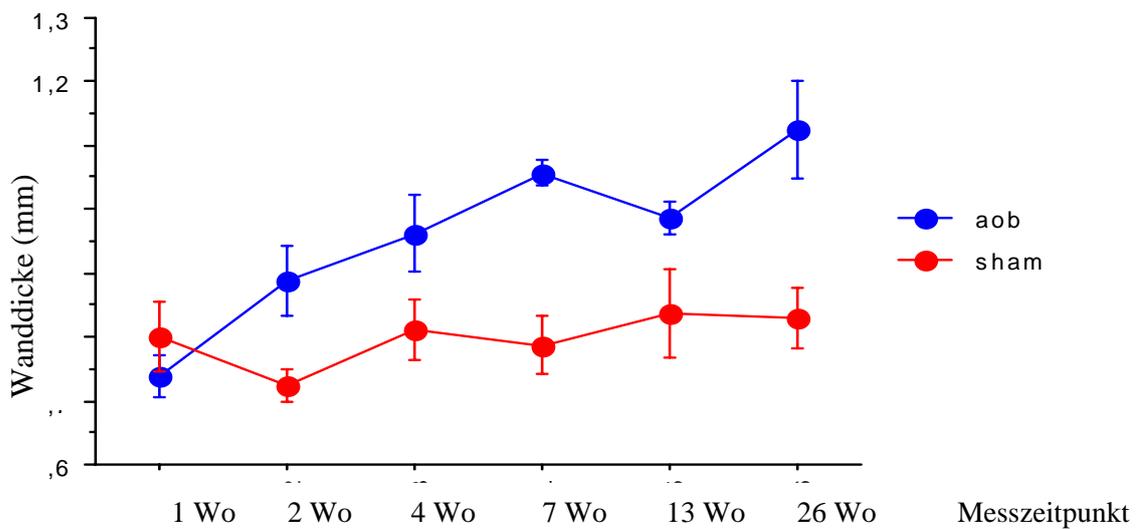
Graphik 28: Inferiore endsystolische Wanddicke im Verlauf



Graphik 29: Inferiore enddiastolische Wanddicke im Verlauf



Graphik 30: Septale endsystolische Wanddicke im Verlauf



Graphik 31: Septale enddiastolische Wanddicke im Verlauf

11. Abkürzungen

ABSWTHNG	absolute wall thickening
AoB	Aortenbanding
CAT	Combined Aquisition Technique
CI	Cardiac Index = Herzindex
CO	Cardiac Output = Herzzeitvolumen (HZV)
CINE	Cinematographie
EDV	Enddiastolisches Volumen
EDWTH	Enddiastolische Wanddicke
ESV	Endsystolisches Volumen
ESWTH	Endsystolische Wanddicke
EF	Ejektionsfraktion
EPI	Echoplanares Imaging
ESV	Endsystolisches Volumen
FFT	Fast-Fourier-Transformation
FID	Free Induction Decay = freier Induktionsabfall
FLASH	"Fast-low-angle-shot"-Sequenz
FOV	field of view = Beobachtungsfenster
HASTE	half-fourier acquisition single-shot TSE
HE	Hämalaun-Eosin
HF	Herzfrequenz
Hz	Frequenz in Hertz
HZV	Herzeitvolumen = Cardiac Output (CO)
IDL	Interactive Data Language
K	Kelvin (0 K = -273,15 °Celsius)
KG	Körpergewicht
LV	Linker Ventrikel; linksventrikulär
LVMl	Linksventrikulärer Massen-Index
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MRT	Magnet Resonanz Tomographie
p	Konfidenzintervall
PSR	Pikro-Sirius-Rot
RELWTHNG	relative wall thickening
SE	Spin-Echo
SHAM	Scheinoperierte Tiere
SLT	Slice-Thickness = Schichtdicke
S/R	Signal-zu- Rausch-Verhältnis
SV	Schlagvolumen
T	Tesla (Magnetfeldstärke)
TE	Time of echo = Echozeit
TIR	Total inversion recovery
TR	Time of recovery = Repetitionszeit
TSE	Turbo-Spin-Echo

Danksagung

Bei Herrn **Prof. Dr. Axel Haase** als ehemaligem Vorstand des Institutes für experimentelle Physik V und jetzigem Präsidenten der Universität Würzburg darf ich mich für die Einrichtung der nötigen Messzeit sowie der Genehmigung der Gerätebenutzung seines Institutes bedanken.

Herrn **Prof. Dr. Georg Ertl** darf ich als meinem Doktorvater für die Erlaubnis der Promotion und die freundliche Aufnahme in sein Forschungsteam danken.

Herrn **Prof. Dr. Stefan Neubauer** (John Radcliff Hospital, Oxford, Great Britain) möchte ich für die Themenvorgabe und die Betreuung während seiner Zeit an der Medizinischen Klinik in Würzburg danken. Er inspirierte als sehr gutes Vorbild und war richtungsweisend bei den konkreten Fragen und Inhalten dieser Arbeit.

Meinem wissenschaftlichen Betreuer und Mentor während der gesamten Arbeit, **Priv.-Doz. Dr. Frank Wiesmann** (Medizinische Klinik, Universität Würzburg) gebührt eine hohe Anerkennung für seine Geduld und seinen immerwährenden wissenschaftlichen Zuspruch. Seine schwere Erkrankung und seiner früher Tod war für alle, die ihn privat und beruflich kannten, ein schwerer und unerwarteter Schicksalsschlag.

Für seinen unermüdlichen Einsatz in der Verbesserung und Optimierung der bildgebenden Sequenzen möchte ich **Dr. Jan Ruff** (Institut für Experimentelle Physik V) ganz herzlich danken. Auch wenn Physiker und Mediziner einen unterschiedlichen Ansatz bei der Problembewältigung haben, so konnten wir uns immer auf eine sinnvolle und effektive Lösung verständigen.

Eine derart prägnante und hochauflösende Bildgebung wäre ohne ein speziell auf die Bedürfnisse des Mäuseherzens abgestimmtes Spulendesign nicht möglich gewesen. Für die kontinuierlichen neuen und ausgefeilteren Varianten an Spulen besten Dank an **Dr. Titus Lanz** (ehemals Institut für Experimentelle Physik V).

Wer mit Tieren in der Forschung arbeitet, weiß, wie wichtig der artgerechte Umgang und die sachgerechte Versorgung ist. Dass auf diesem Gebiet in den Jahren der Studie keinerlei Probleme auftraten, dafür sorgte **Frau Alexandra Klaus** aus dem Tierstall (Biozentrum am Hubland).

Ein entscheidender Punkt für diese Arbeit war das korrekte Banding der Aorta thorakalis. Die angewandte Operations-Technik benötigt neben chirurgischem Fingerspitzengefühl und viel Geduld auch Leidenschaft. Im Hause besitzt diese Fähigkeiten wohl niemand so ausgeprägt wie **Frau Barbara Dienesch** (ehemals Labor PD Dr. Neubauer, Medizinische Klinik). Für ihre Assistenz danke ich sehr herzlich.

Frau Lisa Bauer (ehemals Labor PD Dr. Neubauer, Medizinische Klinik) möchte ich ebenso herzlich für das Anfertigen von Hunderten von Schnitten und gefärbten Präparaten danken. Die histologische Korrelation wäre ohne sie nicht zu bewältigen gewesen.

Jedes Labor braucht einen integrativen Geist, jemanden der über alles Bescheid weiß, organisatorisch alles im Griff hat und der immer da ist, wenn irgendwo „Not am Mann“ ist. Für die zahlreichen Fragen, die stets beantwortet werden konnten und die organisatorische Unterstützung danke ich **Frau Sabine Voll** (Experimentelle Physik V).

Für die Auswertung der PSR-gefärbten Präparate mit Hilfe der Mikroskopie unter zirkulär polarisiertem Licht darf ich **Dr. Ralf Kaiser** (Medizinische Klinik, Klinikum Mannheim) recht herzlich danken.

Schließlich gilt mein Dank auch meinem derzeitigen Ausbilder und Chef, Herrn **Prof. Dr. Dietbert Hahn**, der freundlicherweise das Koreferat für diese kardiologisch-radiologische Doktorarbeit übernommen hat.

Lebenslauf

CHRISTIAN OLIVER RITTER

wohnhaft Schiestlstrasse 25c, 97080 Würzburg

PERSÖNLICHE DATEN

Familienstand: ledig

Staatsangehörigkeit: deutsch

Geburtsdatum / Geburtsort: 02. März 1974 / Erlangen

Konfession: katholisch

AUSBILDUNG

1980 - 1984	Grundschule "An der Bräugasse", Neumarkt/Oberpfalz
1984 - 1993	Ostendorfer - Gymnasium, Neumarkt/Oberpfalz Humanistisch - Neusprachliches Gymnasium Fremdsprachen: Latein, Englisch, Französisch, Italienisch, Russisch
1993	Allgemeine Hochschulreife
1993 - 1996	Studium der Humanmedizin, Universität Regensburg
1996 - 2000	Studium der Humanmedizin, Universität Würzburg Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung: 03/1998 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung: 03/1999 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung: 10/2000

PRAKTISCHES JAHR

1. Tertial	Institut für Röntgendiagnostik, Universität Würzburg Schwerpunkte: Konventionelles Röntgen, CT, MRT
2. Tertial	Chirurgische Klinik, Universität Würzburg Schwerpunkt: Kinderchirurgie, Visceralchirurgie
3. Tertial	Medizinische Klinik, Universität Würzburg Schwerpunkt: Nephrologie, Kardiologie

ARZT IM PRAKTIKUM

01.01.01 - 30.06.02 Institut für Röntgendiagnostik der Universität Würzburg
Konventionelles Röntgen inkl. Durchleuchtung, Sonographie,
Farbkodierte Duplexsonographie, Angiographie

BERUFLICHER WERDEGANG

seit 07/2002 Assistenzarzt im Angestelltenverhältnis am Institut für
Röntgendiagnostik der Universitätsklinik Würzburg
Bisherige Ausbildung: internistisches und chirurgisches Röntgen
inkl. Durchleuchtungs-Untersuchungen; internistische und
chirurgische Sonographie und Farbkodierte Duplexsonographie,
Angiographie mit interventioneller Radiologie,
Computertomographie, Magnetresonanztomographie.

WISSENSCHAFTLICHE ARBEITEN

- Mitarbeit im SFB 355 "Pathomechanismen der Herzinsuffizienz", Teilprojekt A6, 04/1998 - 12/2000.
- Mitarbeit im DFG-Projekt KO 2938/1-1 seit 10/2005.
- Kontinuierliche wissenschaftliche Betätigung am Institut für Röntgendiagnostik in der Abteilung für Magnetresonanztomographie im Rahmen der Arbeitsgruppe „MRT-Herzbildgebung“ mit dem Schwerpunkt „Myokardiale Perfusion“ seit 06/2001.
- Kontinuierliche nationale und internationale Vortrags- und Publikationstätigkeit auf dem Gebiet der MRT des Herzens seit 01/2002.
- Kontinuierliche studentische Lehrtätigkeit im Rahmen des radiologischen Kursus seit 04/2001.
- Lehrtätigkeit im Rahmen verschiedener Workshops auf dem Gebiet der MRT des Herzens sowie der MR-Angiographie sowie der konventionellen Röntgendiagnostik des Thorax seit 2001.

Würzburg, 19. Juli 2006