

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. med. Ertl

Einfluss des Hepatozytenwachstumsfaktors (HGF)
auf das linksventrikuläre Remodeling:
Charakterisierung von Geometrie, Mechanik und
Narbenentwicklung mittels der NMR-Technik

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

vorgelegt von
Katharina Bathe
aus Stadtlohn

Würzburg, November 2006

Referent: Priv.-Doz. Dr. Chr. Waller

Koreferent: Prof. Dr. H. K. Müller-Hermelink

Dekan: Prof. Dr. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 14.07.2008

Die Promovendin ist Ärztin.

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|----|
| 1. Einleitung | 1 |
| 1.1 Kardiale Magnetresonanztomographie..... | 3 |
| 1.2 Myokardiale Ischämie und morphologische Charakterisierung mit Hilfe der MR-Cine Bildgebung am Tiermodell..... | 4 |
| 1.3 Der Hepatozytenwachstumsfaktor und dessen Wirkung auf die Myokard- zelle der Ratte | 5 |
| 1.4 Eigene Fragestellung | 6 |
| 2. Material und Methoden | 7 |
| 2.1 Tierpräparationen..... | 7 |
| 2.1.1 Präparation zur Erzeugung von Stenose und Reperfusion und Sham-OP... | 7 |
| 2.1.2 Implantation einer osmotischen Pumpe..... | 8 |
| 2.1.3 Tierpräparationen bei den MR-Messungen | 8 |
| 2.2 MR-Cine Bildgebung | 9 |
| 2.2.1 Physikalische Grundlagen der Magnetresonanztomographie..... | 9 |
| 2.2.2 NMR-Tomograph | 13 |
| 2.3 Aufbereitung des Rattenherzens..... | 13 |
| 2.3.1 Histologische Schnittanfertigung | 14 |
| 2.3.2 Färbung der Schnitte mit Pikro-Sirius-Red | 14 |
| 2.4 Auswertungen..... | 15 |
| 2.4.1 Auswertung der MR-Bildgebung | 15 |
| 2.4.2 Auswertung der histologischen Bilder | 17 |
| 2.5 Verlaufsprotokoll..... | 18 |
| 3. Ergebnisse..... | 19 |
| 3.1. Charakterisierung der morphologischen Parameter in 1. und 16.Woche nach Ischämie und Reperfusion..... | 20 |
| 3.1.1 Enddiastolische und endsystolische Volumina..... | 20 |
| 3.1.2 Enddiastolische und endsystolische Myokardmasse | 21 |
| 3.1.3 Schlagvolumen | 23 |
| 3.1.4 Ejektionsfraktion | 24 |

| | |
|--|----|
| 3.1.5 Cardiac output | 24 |
| 3.1.6 Körpergewicht und Index Herzgewicht /Körpergewicht..... | 25 |
| 3.2 Einfluss des Hepatozytenwachstumsfaktors (HGF)..... | 26 |
| 3.2.1 Enddiastolische und endsystolische Volumina..... | 26 |
| 3.2.2 Enddiastolische und endsystolische Myokardmasse | 28 |
| 3.2.4 Index Herzgewicht /Körpergewicht..... | 29 |
| 3.2.5 Schlagvolumen | 30 |
| 3.2.6 Ejektionsfraktion | 30 |
| 3.2.7 Cardiac output | 31 |
| 3.2.8 Systolische Wanddickenzunahme der Reperfusionstiere..... | 32 |
| 3.3 Histologische Daten..... | 33 |
| 3.3.1 Narbengrößen | 33 |
| 3.3.2. Korrelation von histologischen Daten mit MR-Daten..... | 33 |
| 4. Diskussion | 34 |
| 4.1 Morphologische Parameter in 1. und 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion..... | 35 |
| 4.2 Einfluss des Hepatozytenwachstumsfaktors (HGF)..... | 38 |
| 4.3 Histologische Parameter und Korrelationen mit der MR-Bildgebung..... | 44 |
| 5. Zusammenfassung | 45 |
| 6. Literaturverzeichnis..... | 47 |

1. Einleitung

Bei der koronaren Herzkrankheit (KHK) handelt es sich um stenosierende Veränderungen der Herzkranzgefäße, die sich durch Arteriosklerose manifestieren und ein Missverhältnis von Sauerstoffbedarf und –angebot in den Myokardzellen bedingen. Abhängig von dem Grad der sogenannten Koronarinsuffizienz sowie dem Ausmaß von Kollateralgefäßen kommt es zur ischämischen Schädigung der Myokardzellen. Es bildet sich ein Nekroseareal mit nachfolgender Narbenbildung, die sowohl durch endogene als auch exogene Faktoren wesentlich beeinflusst wird [1].

Zu den -für den Menschen unmittelbar lebensbedrohlichen- Phasen der KHK gehören die instabile Angina, der akute Myokardinfarkt sowie der plötzliche Herztod, die unter dem Begriff des 'Akuten Koronarsyndroms' zusammengefasst werden [2]. Von einem akuten Myokardinfarkt spricht man, wenn laut Definition zwei von drei Infarktkriterien erfüllt sind. Zu diesen zählen 1. länger als 15-20 Minuten anhaltende Angina Pectoris Beschwerden, 2. infarkttypische Veränderungen im Elektrokardiogramm (EKG) und 3. infarkttypische Serum-Enzym-Veränderungen [1].

Die Einführung der Reperfusionstherapie beim akuten Myokardinfarkt -in Form einer systemischen (intravenösen) Thrombolyse oder als perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTCA)- führte zu einer signifikanten Minderung der Mortalität [3] und wird als wichtigster Teil der Behandlung von ST-Strecken-Hebungsinfarkten (STEMI) beschrieben [4]. Ziel der Reperfusion bei Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt ist die Wiederherstellung des kardialen Blutflusses zur Einschränkung der myokardialen Nekrosen und zur Erhaltung der kardialen Kontraktilität [5]. Linksventrikuläre Dilatation und Symptome der Herzinsuffizienz stehen in zeitlicher Abhängigkeit von der Größe des entstehenden Narbenareals [6], wodurch sich die negative Korrelation zwischen Infarktgröße und kardialer Kontraktilität erklärt [7]. Die Prognose nach einem akuten Myokardinfarkt ist somit abhängig von der Ausdehnung des Narbenareals sowie dem Grad der kardialen Dysfunktion [8].

Bei der Untersuchung von unterschiedlichen medikamentösen Reperfusionstherapien am Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigte das Medikament, welches eine besonders schnelle und vollständige Wiederherstellung des koronaren Flusses erzielte, eine Verbesserung der linksventrikulären Funktion durch geringere Wandbewegungs-

einschränkungen des Infarktareals sowie erhaltener systolischer Funktionen im Vergleich zu weniger schnell wirkenden Medikamenten [9].

Die Beeinflussung des ventrikulären Remodelings durch Veränderungen der abnormalen ventrikulären Wandbewegung nach einem Herzinfarkt und dessen Abhängigkeit von ausreichender Perfusion des Infarktareals wurde in einer klinischen Studie aufgezeigt [10]. Patienten mit akutem Myokardinfarkt ohne Wiederherstellung des koronaren Flusses zum Infarktareal zeigten im Verlauf von 3 Monaten eine Vergrößerung des endokardialen linksventrikulären Flächenindex, während Patienten mit erfolgreich wiederhergestelltem anterograden Fluss zum Infarktareal im gleichen Zeitraum eine Reduktion der abnormalen Wandbewegung aufwiesen [10].

In einer Studie von Durakovic et al. [11] wurden innerhalb von zwei Jahren und drei Monaten 230 Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt behandelt. Die Durchführung einer systemischen (intravenösen) Thrombolyse mit Streptokinase über einen Zeitraum von 1,5 Stunden war bei 54 Patienten möglich. Den restlichen 176 Patienten musste diese Therapieoption aufgrund von Kontraindikationen versagt werden. Die Letalitätsrate in der Gruppe der unbehandelten Patienten war mit 17,6% deutlich höher als in der thrombolytisch behandelten Gruppe mit 5,5%.

Die Bedeutung der Reperfusionstherapie auf lange Sicht wird mit Hilfe einer retrospektiven Studie verdeutlicht, welche die Lebenserwartungen nach einem akuten Myokardinfarkt mit und ohne durchgeführter Reperfusionstherapie in direkten Vergleich stellt. Auch hier war die Reperfusionstherapie mit 15,2 Jahren der konventionellen Therapie mit 12,4 Jahren deutlich überlegen [12].

Die Anzahl der Möglichkeiten der Reperfusion zur Behandlung von Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom nimmt zu [5], und auch am Tiermodell wurde ihre Bedeutung verdeutlicht. So wurde am Tiermodell der Ratte [13] gezeigt, dass nach Durchführung einer Reperfusion des zum Infarkt führenden Gefäßes der Anteil der apoptotischen Kardiomyozyten geringer war als bei kontinuierlicher kardialer Ischämie. Am Mäuseherz führte anhaltende Ischämie im Gegensatz zum Reperfusionsmodell zu größeren Infarktarealen [7]. Die Reperfusionstherapie bedingte eine Wiederherstellung der kardialen Kontraktilität nach 8 Wochen. Zum gleichen Zeitpunkt wiesen Tiere mit kontinuierlichem Verschluss der Koronararterie aufgrund von Akinesie und Ausdünnung

des infarzierten Myokards eingeschränkte Schlagvolumina und Ejektionsfraktionen auf [7].

1.1 Kardiale Magnetresonanztomographie

Wie oben erläutert, besteht eine Abhängigkeit der klinischen Prognose nach einem Herzinfarkt vom bestehendem Ausmaß der kardialen Dysfunktion [8]. Die Beeinträchtigung der systolischen Wanddickenzunahme hat sich als ein zuverlässiger Indikator für eine segmentale Dysfunktion erwiesen. Daraus ergibt sich der Nutzen von nichtinvasiven und reproduzierbaren Bildgebungsmodalitäten zur Wanddickenbeurteilung als Möglichkeit zur Risikostratifizierung und Therapiebeurteilung nach einem akuten Myokardinfarkt [8]. Im letzten Jahrzehnt stellte sich besonders die kardiale MR-Bildgebung als zuverlässige und nicht invasive Möglichkeit für den Erwerb von hochauflösenden Bildern heraus [8] und hat sich an erfahrenen Zentren zu einer Routinediagnostik für kardiale Fragestellung entwickelt [14]. Durch die Analyse von Wandbewegung und Wanddickenzunahme wurde diese Möglichkeit vielfach zur Beurteilung der regionalen und globalen linksventrikulären Funktionen genutzt [8]. Das mit Hilfe der MR-Bildgebung ermittelte Ausmaß der myokardialen Dysfunktion bei Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt korrelierte gut mit der Infarktgröße [8], wobei fehlende Einschränkungen durch anatomische oder physikalische Probleme des Patienten bei der Bestimmung von ventrikulären Volumina und Myokardmassen von Nutzen waren [14]. Bezüglich der kardialen Funktionsanalyse und dem Nachweis von Myokardvitalität wird die kardiale Magnetresonanztomographie als Goldstandard beschrieben [15].

Durch Verlaufserhebung von strukturellen Parametern wie Wanddicke und Myokardmasse sowie funktionalen Parametern wie linksventrikulären Volumina, Schlagvolumen und Ejektionsfraktion wird die kardiale MR-Bildgebung am Tiermodell [16] sowie am Patienten [17] zur Beurteilung der Wirkung von neuen Medikamenten am infarzierten Herzen eingesetzt.

Die Überlegenheit der kardialen MR-Bildgebung wurde sowohl gegenüber der zweidimensionalen Echokardiographie bei der Frage nach Wiederholbarkeit zur Ermittlung des linksventrikulären Volumens, der Ejektionsfraktion und der

Myokardmasse am normalen, dilatierten und hypertrophierten Herzen des Menschen [18] sowie gegenüber der Single-Photon-Emission-Computed-Tomographie (SPECT) bezüglich der Grössenbestimmung von kleinen Infarkten [19] gezeigt.

1.2 Myokardiale Ischämie und morphologische Charakterisierung mit Hilfe der MR-Cine Bildgebung am Tiermodell

Das Modell des infarzierten Ratten- und Mäuseherzens hat sich bewährt, um Aussagen über die Entstehung und Prävention von Herzversagen bei Patienten zu treffen. Es gibt wichtige Parallelen zwischen dem infarzierten Rattenherzen und dem menschlichen Herzen bezüglich des linksventrikulären Remodelings [20,21].

Nahrendorf et al. [22] führten am Tiermodell der Ratte in der 4., 8., 12., und 16. Woche nach Erzeugung eines Myokardinfarktes die Bestimmung der Infarktgrösse, der linksventrikulären enddiastolischen und endsystolischen Volumina (EDV und ESV), der Myokardmassen, der Ejektionsfraktion (EF), des Cardiac output (CO) und des Schlagvolumens (SV) mit Hilfe der EKG-getriggerten Cine-CMR durch. Diese Untersuchungen führten zu einem besseren Verständnis des linksventrikulären Remodelings. Die MR-Cine Bildgebung erwies sich als ein angemessenes diagnostisches Mittel zur Untersuchung des kardialen Remodelings am Modell der Ratte und gilt bezüglich der quantitativen Funktionsdiagnostik auch am Kleintiermodell seit langem als „Goldstandard“ [22].

Die Ergebnisse der MR-Bildgebung zeigten am infarzierten Rattenherzen gute Korrelationen mit Werten aus Histologie, elektromagnetischer Flussmessung und Druck-Volumen-Kurven [20].

Neben dem klassischen Myokardinfarktmodell der Ratte und der Maus existiert das von Kloner et al. [23] etablierte Modell des Infarkts und der Reperfusion am Tiermodell der Ratte. Auch dieses Modell bildet die experimentelle Grundlage vieler Studien über Ischämie und deren Auswirkung auf Funktion und Morphologie des Rattenherzens.

Jones et al. [24] bestimmten mit Hilfe der MR-Bildgebung die linksventrikulären Volumina und die EF in der 1., 2., 4., 6., 8., und 10. Woche und unmittelbar nach Ischämie und Reperfusion am Tiermodell der Ratte. Diese Arbeitsgruppe zeigte, dass die Cine-MR-Bildgebung genutzt werden kann, um strukturelle und funktionale

Veränderungen des linken Ventrikels während des Remodelings aufzuzeigen. So zeigte sich unmittelbar nach dem Myokardinfarkt eine signifikante Abnahme der EF, die im weiteren zeitlichen Verlauf konstant blieb. Das ESV nahm im Verlauf bis zur 4. Woche nach Ischämie signifikant zu. Laut Jones et al. [24] kann die MR-Bildgebung eingesetzt werden, um neue Therapien zur Verminderung der Folgen des linksventrikulären Remodelings nach reperfundierten Myokardinfarkt zu beurteilen.

Lee et al. [25] zeigten anhand des Reperfusionsmodells der Ratte die kardioprotektive Wirkung eines neuen ATP sensitiven Kalium-Kanalöffners (MJ 355) auf. Der Verschluss der linken Koronararterie wurde in dieser Studie über einen Zeitraum von 45 Minuten aufrechterhalten, es folgte eine Reperfusionsdauer von 1 Stunde bevor die linke Koronararterie erneut verschlossen wurde. Die Verabreichung der zu untersuchenden Wirkstoffe erfolgte in allen Gruppen vor Erzeugung der Ischämie.

An diesem Modell konnte die Wirkung unterschiedlicher endogener und exogener Faktoren auf das Herz gezeigt werden. So erwies sich die präischämische Blockade des Endothelinrezeptors A (ET_A) als protektiv am infarzierten reperfundierten Rattenherz [26]. Auch die Vormedikation mit einem Agonisten des Peroxime Proliferator-Activated Receptor Alpha (PPAR- α) führte zu einem verkleinerten Infarktareal verglichen mit der Kontrollgruppe [27].

1.3 Der Hepatozytenwachstumsfaktor und dessen Wirkung auf die Myokardzelle der Ratte

Der Hepatozytenwachstumsfaktor (Hepatocyte Growth Factor; HGF) ist ein heterodimeres Protein, das als erstes in der Leber isoliert wurde [28], und an Gewebsregulation, Gefäßproliferation und Wundheilung beteiligt ist [29]. Der genaue Wirkmechanismus von HGF auf die Myokardzelle ist noch nicht geklärt [30]. Nachgewiesen wurde jedoch, dass HGF den Rezeptor 'c-met' über eine Tyrosinphosphorylierung aktiviert [31]. Myokardiale Ischämie induziert nicht nur eine vermehrte Expression des Rezeptors 'c-met', sondern auch einen Anstieg der HGF-Plasmakonzentration [30].

Nakamura et al. [32] beschrieben HGF als einen multifunktionalen endogenen Faktor. Nach Induktion einer Koronarstenose und anschließender Reperfusion zeigten mit

HGF-behandelte Tiere eine verbesserte kardiale Funktion im Vergleich zur Kontrollgruppe, die nicht mit HGF behandelt wurde [32]. Die Arbeitsgruppe um Nakamura et al. [32] zeigte ebenfalls, dass die mit HGF-behandelte Gruppe 48 Stunden nach Ischämie und Reperfusion signifikant kleinere Narbenareale aufwies als die Kontrollgruppe, bei der das rekombinante HGF durch einen spezifischen Antikörper neutralisiert wurde [32]. Nakamura et al. [32] sprachen somit von einem Schutz der Myokardzelle vor ischämieinduzierter Apoptose und stellten aufgrund ihrer Erkenntnisse Diskussionen über präklinische sowie klinische Verabreichung von HGF an Patienten mit einem Myokardinfarkt an.

Entgegen diesen Aussagen, zeigte die Gruppe um Jin et al. [33] keinen signifikanten Unterschied in der Größe des Narbenareals in der 8. Woche nach Ischämie und Reperfusion bei den HGF-behandelten Tieren im Vergleich zur unbehandelten Gruppe. Bezüglich der kardialen Funktion zeigte die mit HGF behandelte Gruppe eine Verbesserung hinsichtlich des SVs und COs im Vergleich zur Kontrollgruppe.

1.4 Eigene Fragestellung

Das erste Ziel der Arbeit war die Erhebung der linksventrikulären Funktions- und Geometrieparameter des Rattenherzens während des Remodelings mit Hilfe der MR-Cine-Bildgebung. Diese Parameter wurden in der 1. und 16. Woche nach Erzeugung eines Myokardinfarktes mit anschließender Reperfusion ermittelt.

Dazu sollten die Narben- und Ventrikelgrößen in der 16. Woche postoperativ auch histologisch bestimmt werden, um die Korrelation der Werte mit denen der MR-Bildgebung zu ermöglichen.

Das zweite Ziel dieser Arbeit sollte es sein, eine Aussage über die Wirkung von HGF auf das linksventrikuläre Remodeling und die Funktions- und Geometrieparameter in der 1. Woche sowie in der 16. Woche postoperativ zu treffen.

Bisherige Untersuchungen des kardialen Remodelings erstreckten sich alle über einen kürzeren Zeitraum nach Ischämie und Reperfusion als in unserer Studie. Der von unserer Arbeitsgruppe gewählte Beobachtungszeitraum ermöglicht die Erfassung des späten kardialen Remodelings. Insbesondere auch die Wirkung von HGF auf das späte linksventrikuläre Remodeling wurde bisher nicht untersucht. Mit Hilfe unserer Studie

sollen Aussagen über die langfristige Wirkung von HGF auf das ischämisch reperfundierte Rattenherz getroffen werden.

2. Material und Methoden

2.1 Tierpräparationen

2.1.1 Präparation zur Erzeugung von Stenose und Reperfusion und Sham-OP

Bei allen Versuchstieren handelte es sich um weibliche Wistar-Ratten (Firma Charles-River, Sulzfeld, Deutschland), die bei Versuchsdurchführung ein Körpergewicht von 125-150 g aufwiesen.

Bei einer Temperatur von 20-21 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 55% wurden die Tiere in einem 12 Stunden Tag-/ Nachtrhythmus gehalten. Als Ernährung wurde den Tieren Wasser ad libitum und frei zugängliche Standard-1320-Ratte/Maus-Haltungsdiät (Firma Altromin, Lage, Deutschland) verabreicht. Zur 5-10 minütigen Operation wurden die Versuchstiere intubiert und über einen speziellen Kleintier-Respirator (Rodent Ventilator Typ 7025, Firma Hugo Sachs Elektronik, March, Deutschland) mit einem Atemzugvolumen von 2,8 ml/min bei ca. 90 Atemzügen/min beatmet. Die Narkotisierung erfolgte inhalativ mit 1,5%igem Isofluran über einen Verdampfer („Vapor2000“ Firma Dräger, Lübeck, Deutschland).

Nach der Eröffnung des Thorax auf Höhe des 4./5. Intercostalraumes links parasternal und durchgeführter Perikardiotomie, erfolgte die Luxation des schlagenden Herzens. Die Erzeugung des Myokardinfarktes mit anschließender Reperfusion wurde nach der etablierten Methode von Kloner et al. [23] wie folgt durchgeführt:

Am luxierten Herzen wurde die linke Koronararterie aufgesucht. Mittels eines 5/0 Prolene Fadens (Firma Ethicon, Norderstedt, Deutschland) wurde die Arterie 2-3 mm distal des Abgangs aus der Aorta abgebunden. Zudem wurde ein 2 mm dicker Kunststoffschlauch eingelegt, der bei der Wiedereröffnung des Gefäßes zum einen das Wiederauffinden und Öffnen der Ligatur vereinfachte und zum anderen Schäden an den Gefäßen und der Umgebung verminderte.

Eine Gruppe an Kontrolltieren wurde ebenfalls dem Streß der Operation ausgesetzt. Diese Tiere wurden unter gleichen Bedingungen wie oben beschrieben operiert mit dem

Unterschied, dass der Prolene Faden lediglich unter der Arterie durchgezogen und anschließend direkt wieder entfernt wurde. Diese Operation wird als Scheinoperation (Sham) bezeichnet und die entsprechenden Versuchstiere als Shamtiere. Nach der Rückverlagerung des Herzens wurde der Thorax mit resorbierbarer 2/0 Pherma-Hand Seide (Firma Ethicon, Norderstedt, Deutschland) wieder verschlossen und es folgte die Narkoseausleitung und nach Beginn der selbstständigen Atmung die Extubation. Nach zwei Stunden wurden die Versuchstiere erneut narkotisiert sowie intubiert. Die anschließende Thorakotomie erfolgte zur Entfernung des Prolene Fadens mit dem Ziel der Reperfusion - daher werden die entsprechenden Versuchstiere als Reperfusionstiere bezeichnet. Auch die Shamtiere wurden erneut thorakotomiert, um gleiche Bedingungen zu schaffen.

Nach Narkoseausleitung und Extubation wurden die Tiere für 5 Stunden überwacht und gegebenenfalls reanimiert. Die Letalität aller Versuchstiere lag in der Zeit zwischen Ischämie und Reperfusion bei 45,8 %. Nach der Reperfusion bis zur 16. Woche postoperativ betrug die Letalität 30 %.

2.1.2 Implantation einer osmotischen Pumpe

Bei einem Teil der operierten und scheinoperierten Tiere wurde 24 Stunden nach der Operation unter Isofluran-Intubationsnarkose eine osmotische Pumpe mit Jugulariskatheter (Firma Alzet, Palo Alto, USA) implantiert. Mit Hilfe dieser Pumpe wurde den Tieren HGF (Firma Reliatech, Braunschweig, Deutschland) in einer Dosierung von 0,45 mg/ kg Körpergewicht über 6 Tage intravenös infundiert.

2.1.3 Tierpräparationen bei den MR-Messungen

In der 1. und 16. Woche nach Erzeugung der Stenose mit anschließender Reperfusion bzw. nach der Scheinoperation wurden die MR-Messungen durchgeführt.

Zur Injektionsnarkose wurde Propofol intraperitoneal (Disoprivan 2 %, Astra Zeneca GmbH, Wedel, Deutschland) in einer Dosierung von 100 mg/kg Körpergewicht verwendet. Die Versuchstiere wurden intubiert und während der Beatmung wurde die Narkose mit Propofol (Disoprivan 40 mg/ (kg × min)) intravenös über die Schwanzvene aufrechterhalten. Nach der Lagerung der Versuchstiere auf der beheizten Messchiene und Befestigung der Oberflächenspule und EKG-Elektroden, wurden die MR-

Messungen unter Verwendung einer adaptierten Trigger-Einheit (Rapid Biomedical, Würzburg, Deutschland) durchgeführt.

2.2 MR-Cine Bildgebung

2.2.1 Physikalische Grundlagen der Magnetresonanztomographie

Als Kernspin wird der mechanische Eigendrehimpuls \mathbf{J} bezeichnet, den alle Atomkerne mit ungerader Protonen und/oder Neutronenzahl aufweisen. Der Kernspin wird in der Regel in der Einheit des Planckschen Wirkungsquantum h ($= 6.6256 \cdot 10^{-34}$ Js) angegeben. Seine Größe wird mit dem Symbol \mathbf{I} versehen und steht in Abhängigkeit von der Spinquantenzahl \mathbf{I} [34]. In Quanten laufen alle physikalischen Phänomene im Molekularbereich ab. Es bestehen keine fließenden Übergänge zwischen dem instabilen, energiereichen Status und dem Gleichgewichtszustand, sondern die Quantenmechanik besagt, dass Kerne mit einem Spin von $\frac{1}{2}$ nur zwischen diesen beiden Zuständen hin- und herspringen können [35]. Das magnetische Moment $\boldsymbol{\mu}$ wird dadurch erzeugt, dass sich geladene Atomkerne mit Spins um ihre eigene Achse drehen. Die Richtung des magnetischen Momentes $\boldsymbol{\mu}$ ist identisch mit der Richtung der Spinachse. Kernspin \mathbf{I} und magnetisches Drehimpuls $\boldsymbol{\mu}$ stehen in folgendem Verhältnis zueinander [34]:

$$\boldsymbol{\mu}_I = \gamma_I \mathbf{I} \quad (1)$$

Bei γ_I (Einheit: MHz) handelt es sich um eine Naturkonstante und wird gyromagnetisches Verhältnis genannt, das von der Kernart abhängig ist und das Verhältnis von magnetischen und mechanischen Eigenschaften des Kernes beschreibt [35]. Die Nachweisempfindlichkeit der Atomkerne wächst mit steigendem magnetischem Moment $\boldsymbol{\mu}_I$. Daher sind für die Bildgebung Atomkerne mit großem gyromagnetischem Verhältnis γ_I und großem Kernspin \mathbf{I} von Bedeutung. So zum Beispiel das Wasserstoffatom ^1H mit dem Spin $\mathbf{I} = 1/2$.

Bringt man nun einen Kernspin in ein Magnetfeld \mathbf{B}_0 , so wird dieser zur Larmorpräzession gezwungen. Darunter versteht man, dass der Kernspin sich in dem

Magnetfeld in Richtung der Magnetfeldachse (z-Achse) ausrichtet. Die entsprechende Magnetfeldstärke und die charakteristischen Merkmale des Atomkernes bestimmen die Präzessionsgeschwindigkeit [34].

Über die Lamor-Gleichung kann die Frequenz ω der Präzessionsbewegung bestimmt werden [35]:

$$\omega_I = \gamma_I B_0 \quad (2)$$

Diese Formel verdeutlicht, dass Kerne mit unterschiedlichem gyromagnetischen Verhältnis γ_I , wie zum Beispiel ^1H und ^{13}C , wenn sie dem gleichen Magnetfeld ausgesetzt sind, dennoch unterschiedlich präzedieren können [35].

Die Lamorfrequenz der präzedierenden Kerne wird auch als Resonanzfrequenz bezeichnet [34]. Ein Resonanzphänomen –magnetische Kernspinresonanz (NMR, Nuclear Magnetic Resonance)- tritt nämlich dann auf, wenn elektromagnetische Wellen mit Lamor-ähnlicher Frequenz auf den präzedierenden Kern treffen. Der sich auf niedrigem Energieniveau befindliche Kern wird dadurch auf ein höheres gehoben [35]. Bezüglich der Verteilung der Kerne mit höherem und niedrigerem Niveau gilt die Boltzmann-Verteilung mit folgender Gleichung [35]:

$$N_l / N_u = \exp(\Delta E / kT) \quad (3)$$

Hierbei entspricht N_l der Anzahl der Kerne auf niedrigerem Niveau und N_u der Anzahl der Kerne auf höherem Niveau. Der Energieunterschied ΔE zwischen den beiden Niveaus errechnet sich aus $h \times \omega$, bei T handelt es sich um die absolute Temperatur in Kelvin und k ist die Boltzmann-Konstante ($k = 1,381 \times 10^{-23} \text{ J} \times \text{K}^{-1}$).

Der Gleichgewichtszustand wird aufgehoben, wenn Radiowellen mit einer Energie von ΔE veranlassen, dass ein Spin auf ein höheres Energieniveau springt. Bei Rückkehr zum Ausgangszustand müssen ebenso viele Spins, die zuvor in ihrem Energieniveau gestiegen sind, wieder auf das geringere Energieniveau zurückkehren. Die durch den Prozess der Rückkehr in den Gleichgewichtszustand freiwerdende Energie entspricht ΔE und somit dem NMR-Signal.

Bei größerem Energieunterschied ΔE besteht gemäß der Boltzmann-Verteilung also auch ein größerer Besetzungsunterschied, der wiederum ein höheres NMR-Signal bedingt.

Ebenfalls proportional zum Unterschied der beiden Energieniveaus und zum NMR-Signal verhält sich die Feldstärke, dessen Zunahme daher mit einem größeren Signal-zu-Rausch-Verhältnis verbunden ist [35].

In Abhängigkeit vom Alter besteht der Mensch zu 53-75% aus Wasser [36]. Ein Tropfen Wasser besteht aus 10^{21} Kernen, die –wie oben näher erläutert- aufgrund eines großen gyromagnetisches Verhältnisses $\gamma_{\mathbf{I}}$ sowie eines großen Kernspin \mathbf{I} für die Protonenbildgebung sehr gut geeignet sind [34].

Befindet sich eine makroskopische Probe in einem äußeren Magnetfeld, liegen Kerne mit magnetischen Eigenschaften entweder im stabilen (niedrigerem) Energiezustand oder im angeregten (höherem) Energiezustand vor. Der Energieunterschied zwischen den beiden Niveaus ist sehr gering und das Besetzungsgleichgewicht nur leicht in Richtung des niederenergetischen Zustandes verschoben [35].

Summiert man alle Kerne, die in Richtung des äußeren Magnetfeldes präzedieren, so entspricht dies der Nettomagnetisierung \mathbf{M}_0 . Die Nettomagnetisierung \mathbf{M}_0 entspricht der Gesamtmagnetisierung des Besetzungsunterschiedes und kann nur dann erfasst werden, wenn sie durch einen elektromagnetischen Puls von der Achse des Hauptfeldes weggeneigt wird [35]. Vor Eintreffen des Hochfrequenzpulses rotieren die Spins um B_0 entlang der z-Achse. Der Hochfrequenzpuls lässt ein Magnetfeld B_1 entstehen, welches auf die Spins wirkt und zu einer Neigung der Nettomagnetisierung aus der z-Achse in die $x'-y'$ -Achse führt. Nach dem Hochfrequenzpuls rotieren die Spins in Phase um B_0 , während in der $x'-y'$ -Ebene eine Nettomagnetisierung entsteht. Bei Eintreffen des Pulses in einem Winkel von 90° , der x' folgt, ist die Nettomagnetisierung entlang der y' -Achse ausgerichtet. Durch das kurzzeitige Einstrahlen dieses zusätzlichen dynamischen Magnetfeldes wird das Spinsystem aus dem thermischen Gleichgewicht gebracht und kehrt danach mit charakteristischen Zeitkonstanten wieder in seinen Gleichgewichtszustand zurück. Dieser Vorgang wird als Spin-Gitter-Relaxationsprozeß oder auch als longitudinaler Relaxationsprozeß bezeichnet. Die dafür benötigte Zeit wird als Relaxationszeit T1 (63% des Gleichgewichtszustandes) bezeichnet [35]. Sie ist

abhängig von der Feldstärke und den anderen Molekülen und Ionen in der makroskopischen Probe [35].

Durch gegenseitige Wechselwirkung der Spins verlieren diese ihre Phasenkohärenz zueinander, was zu einem Verlust der Magnetisierung in xy-Richtung führt. Dieses Abklingen der transversalen Magnetisierung bezeichnet man als Spin-Spin- oder T2-Relaxation. Die transversale Magnetisierung kann in der Empfangsspule eines NMR-Spektrometers einen Strom induzieren und erzeugt dadurch ein Signal, welches als freier Induktionszerfall (FID=free induction decay) des Systems bezeichnet wird. Die Messung dieses Signals stellt die Grundlage der NMR-Verfahren dar. Zur Analyse der Informationen des FID muss er zunächst aufgeschlüsselt werden. Mit Hilfe eines schnellen Fourier-Transformations-Algorithmus (FFT= Fast Fourier Transformation) werden die Frequenzanteile des Signals und deren Intensität in nur wenigen Millisekunden bestimmt [35].

Für die „Bildgebung“ ist die Einführung entsprechender Magnetfeldgradienten erforderlich. Hierzu werden Gradientensysteme verwendet, die die nötigen Magnetfeldgradienten zur Schichtauswahl, Frequenz- und Phasenkodierung erzeugen.

Es ist also möglich, mit Hilfe der NMR-Bildgebung, orts aufgelöste Informationen der zu untersuchenden Probe zu erhalten. Diese Informationen bekommt man, indem man ein ortsabhängiges Magnetfeld durch den Einsatz von Magnetfeldgradienten erzeugt. Diese dem Hauptmagnetfeld überlagerten schwächeren Magnetfelder und die Tatsache, dass die Resonanzfrequenz der einzelnen Atome abhängig von der Feldstärke ist, welche am Aufenthaltsort des Atoms vorherrscht, sind die Grundlage der NMR-Bildgebung [37].

Betrachtet man die Überlagerung des Magnetfeldes B_0 mit einem linearen Magnetfeldgradienten G , so entsteht ein ortsabhängiges Magnetfeld $B(r) = rG + B_0$. Die Resonanzfrequenz der Spins $\omega = \gamma(rG + B_0)$ ist somit auch linear ortsabhängig. Will man eine dreidimensionale Ortsinformation, so müssen weitere Gradienten (x,y,z) zeitabhängig geschaltet werden. Nach Anlage des Schichtgradienten G_z zur Schichtauswahl wird der Phasengradient G_y angeschaltet, um den Spins eine y-abhängige Ortsinformation aufzuprägen (Phasenkodierung). Während der Signalakquisition wird der "Read"-gradient G_x angelegt, der den Spins eine ortsabhängige Präzessionsfrequenz aufprägt (Frequenzkodierung). Nach Anlage dieser

drei Gradienten erhält man ein Signal, welches jetzt die gewünschten Bildinformationen enthält. Aus diesem Signal kann man mit Hilfe der zweidimensionalen Fouriertransformation die Magnetisierung am Ort (x, y) erhalten. Diese ist proportional zur Spindichte und läßt sich als Graustufenbild darstellen. Durch geeignete Vorexperimente lassen sich der Magnetisierung noch andere Informationen aufprägen, wie z.B. Diffusion, Flußgeschwindigkeit oder Relaxationszeiten, welche dann ebenso mit der NMR-Bildgebung dargestellt werden können.

2.2.2 NMR-Tomograph

Alle NMR-Bilder wurden mit einer Feldstärke von 7,05 Tesla (=300 MHz Resonanzfrequenz) an einem BIOSPEC 70/21 NMR-Spektrometer (Firma Bruker, Ettlingen, Deutschland) aufgenommen. Die MR-Cine-Messungen wurden EKG-getriggert unter Verwendung einer Fast-Low-Angle-Shot (FLASH) Sequenz nach Haase et. al [38] durchgeführt. Es wurde eine Spulenkombination aus einer selbst entwickelten Ganzkörperspule als Überträger (=Sendespule) und einer Oberflächenspule als Empfänger angewandt [39]. Das verwendete Gradientensystem besitzt eine maximale Gradientenstärke von 200 mT/m. Bei den durchgeführten Cine-Messungen galten folgende Parameter: Ein Flip Winkel von 30-40°, die Echozeit TE betrug 1,1 ms bei einer Repetitionszeit von TR=3,2 ms. Die Bildmatrix betrug 128×128 bei einer Flächenauflösung von 270×310µm² [40] und einer Schichtdicke von 1 mm. Die Meßfeldgröße (Field of View, FOV) betrug 3,5-4 x 3,5-4 cm. An einem Herz wurden in ~15 Schnittebenen (Slice), 12 Bilder (Frame) je Herzzyklus gemacht. Die Aufnahme pro Cine-Bild betrug je nach Herzfrequenz 40-50 Sekunden. Um das gesamte Herz abzubilden wurden 16 aufeinanderfolgende Schichten aufgenommen. Die gesamte Aufnahme eines Herzens dauerte 15-20 Minuten [40].

2.3 Aufbereitung des Rattenherzens

Nach den MR-Messungen in der 16. Woche postoperativ wurden die Versuchstiere durch eine Letaldosis von Narcoren (Pentobarbital) narkotisiert. Die Herzen wurden für eine Langendorff-Perfusion entnommen und im MR gemessen. Die hochauflösende MR-Koronarangiographie diente zum Nachweis eines Myokardinfarktes oder eines

wiedereröffneten Koronargefäßes. Anschließend wurden die Herzen in 4%ig gepufferter Formalinlösung eingelegt und im pathologischen Institut der Universität Würzburg innerhalb der nächsten 24 Stunden wie folgt weiter aufbereitet:

2.3.1 Histologische Schnittanfertigung

Mit einem Skalpell wurde das Herz in sechs senkrecht zur Herzachse verlaufende Scheiben von 2-3 mm Dicke geschnitten.

Nach Entwässerung der Scheiben und Xylol als Intermedium folgte die Einbettung in Paraffin für 1-2 Stunden. Nachdem die Scheiben zu Blöcken (Block A-B,E-H) gegossen wurden, folgte die Teilung in $\sim 5 \mu\text{m}$ dicke Schnitte mit Hilfe des Mikrotoms.

Block A und Block B entsprachen den Vorhöfen des Rattenherzens und umfassten somit das Myokard oberhalb der gesetzten Ligatur. Der Block E umfasste die Ligatur bzw. das Myokard unmittelbar distal der Ligatur. Die Blöcke F-H entsprachen dem Myokard distal der Ligatur bis zur Herzspitze.

2.3.2 Färbung der Schnitte mit Pikro-Sirius-Red

Die Schnitte wurden mit Pikro-Sirius-Red (PSR) nach Puchtler angefärbt. Hierbei handelt es sich um ein Reagenz aus gesättigter Pikrinsäure zur Anfärbung der Muskulatur und Epithelien und 1%igem Sirius-Rot zur Anfärbung des Kollagens.

Der Arbeitsablauf der Färbung [41] wurde wie folgt durchgeführt:

Die Schnitte wurden in Xylol für 20 Minuten entparaffiniert. Nach einer absteigenden Alkoholreihe (2×100%; 2×90%; 2×80%; 2×70%) wurden die Schnitte kurz in destilliertem Wasser gespült. Anschließend folgte die Färbung mit PSR-Reagenz für 30-45 Minuten bei Raumtemperatur. Der Spülung mit destilliertem Wasser folgte zur Entwässerung eine aufsteigende Alkoholreihe (2×70; 2×80; 2×90; 2×100%). Anschließend wurden die Schnitte für 2-5 Minuten in Xylol getaucht und daraufhin mit einer Folie (Tissue Teck® SCA™) abgedeckt.

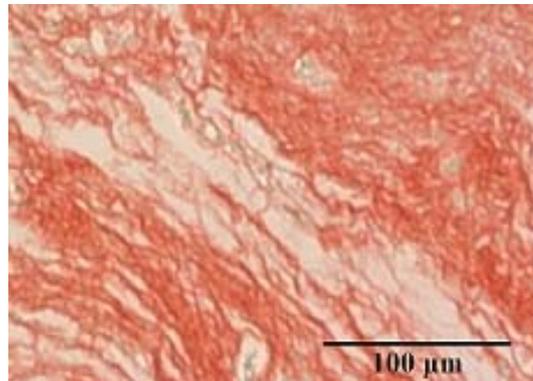
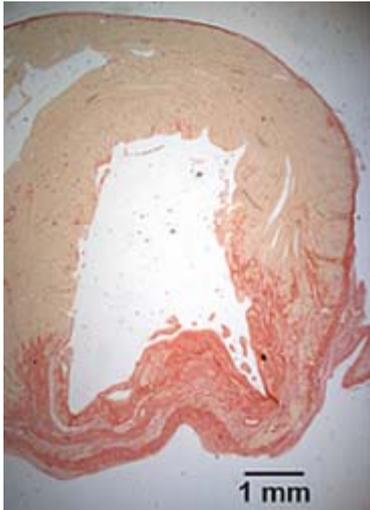


Abb. 1 (links): Myokard mit Nekrose (rot) in 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion,
1,25×Vergrößerung, PSR Färbung;

Abb. 2 (rechts) : Ausschnitt aus Nekroseareal 32×Vergrößerung

2.4 Auswertungen

2.4.1 Auswertung der MR-Bildgebung

Nach gleicher Methode wie Waller et al. [42] wurde das gesamte Herz über ~15 Schnitte (Slice) mit einer Dicke von 1 mm beurteilt. Pro Schnitt und Herzzyklus wurden 12 Bilder (Frames) aufgenommen (Abb. 3).

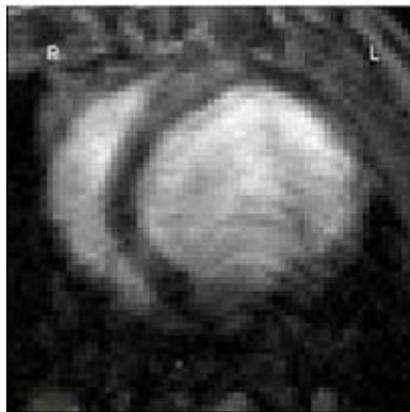


Abb. 3: Enddiastolisches Bild eines ischämischen Herzens

Die Auswertung der MR-Bilder erfolgte nach der von Zierhut et al. [16] etablierten Methode. Zur Analyse der Bilder wurde das Computerprogramm Interactive Data Language 5.2 (IDL) (Creaso GmbH, Gilching, Deutschland, 1999) verwendet. Für die

Berechnung der Narbengröße in % wurde der Schnitt (Slice) herausgesucht, der in der Höhe der Herzachse dem histologischen Block F entspricht. Von den 12 Bildern (Frames) dieses Schnittes wurde das Bild aufgesucht, welches in der Enddiastole aufgenommen wurde. Das vom Myokardinfarkt betroffene Areal wurde anhand der Wandausdünnung sowie der Akinesie oder Dyskinesie während der Systole erkannt [21].

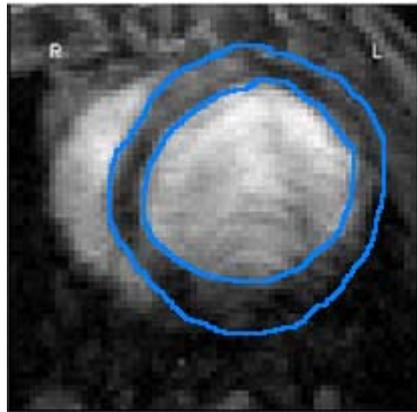


Abb. 4: Berechnung der Myokardmasse

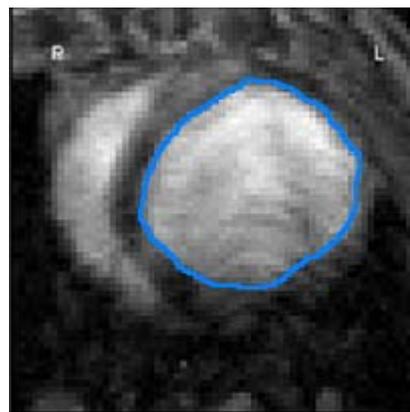


Abb.5: Berechnung des linksventrikulären Volumens

Im ausgewähltem Bild (Frame) wurden folgende Streckenlängen ermittelt: endokardial und epikardial entlang der Narbe sowie endokardial und epikardial entlang des gesamten linken Ventrikels. Die Narbengröße in % wurde ermittelt über folgende Formel [42]:

$$\frac{\text{Strecke der Narbe endokardial} + \text{Strecke der Narbe epikardial}}{\text{Strecke des linken Ventrikels endokardial} + \text{Strecke des linken Ventrikels epikardial}} \times 100 \quad (4)$$

Für die Berechnung der enddiastolischen und endsystolischen linksventrikulären Myokardmasse in mg wurden die entsprechenden Bilder aller Schnitte herangezogen. Durch manuelle Markierung der epikardialen und endokardialen Grenzen des linken Ventrikels (Abb.4) errechnete das Computerprogramm IDL die Compartment-Volumina der eingegrenzten Flächen. Die Summe der Volumina aller Schnitte eines Herzens wurde mit dem Faktor 1,05 für das spezifische Myokardgewicht (1,05g/cm³) multipliziert [22].

Das EDV und das ESV errechnete sich aus der Summe der endokardialen Compartment-Volumina aller Schnitte (Abb. 5) [42].

Das SV und die EF ließen sich durch Verwendung der ermittelten Werte mit Hilfe folgender Formeln errechnen [22]:

$SV = EDV - ESV$ (5) und $EF = SV / EDV$ (6).

Das CO wurde ermittelt durch Multiplikation von gemessener Herzfrequenz pro Minute (HF) mit dem SV [22]: $CO = SV \times HF$ (7).

Die enddiastolischen und endsystolischen Wanddicken wurden an den posterioren und anterioren Seiten des linken Ventrikels ermittelt [22]. Die Wanddickenzunahme in % wurde berechnet über folgende Formel:

$$\frac{\text{systolische Wanddicke} - \text{diastolische Wanddicke}}{\text{diastolische Wanddicke}} \times 100 \quad (8)$$

Das Körpergewicht der Versuchstiere in g wurde im Verlauf dokumentiert und in Beziehung zum Herzgewicht in mg in der 1. und 16. Woche gesetzt [40].

2.4.2 Auswertung der histologischen Bilder

Die zur Auswertung herangezogenen MR-Bilder entsprechen in ihrer Höhe in der Herzachse den histologischen Schnitten der Blöcke E-H. Aus diesem Grund wurden ausschließlich die Schnitte dieser Blöcke histologisch analysiert.

Alle Daten wurden an einem Lichtmikroskop der Firma Zeiss (Jena, Deutschland) mit digitaler Kamera und einer digitalen Bildverarbeitungssoftware (Meta Imaging Series, Visitron Systems, Puchheim, Deutschland) erhoben. Die Auswertung erfolgte in 1,25 bzw. 2,5facher Vergrößerung (Abb. 6).

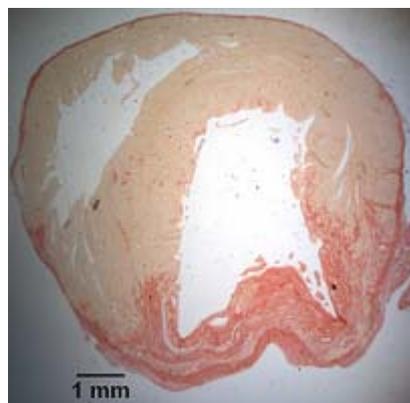


Abb. 6: Schnitt aus Block E, 1,25×Vergrößerung; PSR-Färbung

Der linke Ventrikel sowie das Nekroseareal wurden manuell umfahren und die oben genannte Software ermittelte die Größen der Flächen in mm² (Abb. 7 und Abb. 8).

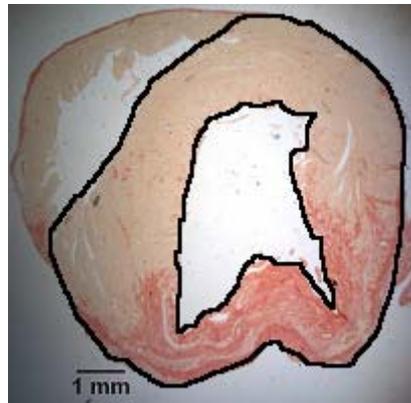


Abb. 7: Begrenzung von linkem Ventrikel in 1,25×Vergrößerung; entsprechen hier 33,49 mm²

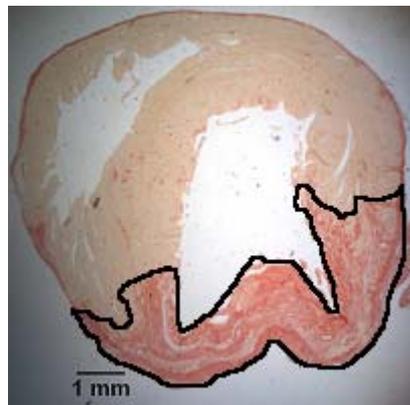


Abb. 8: Begrenzung des Nekroseareal in 1,25×Vergrößerung; entsprechen hier 11,17 mm²

Der prozentuale Anteil der Nekrosefläche an der Gesamtmyokardfläche des linken Ventrikels wurde über folgende Formel ermittelt:

Narbenfläche in % = $\frac{\sum \text{Narbenfläche}}{\sum \text{Gesamtmyokardfläche linker Ventrikel}} \times 100$ (9).

2.5 Verlaufsprotokoll

Wie Tabelle 1 zeigt, wurden 31 Versuchstiere zur Auswertung herangezogen. Davon blieben 16 Tiere nach der Operation unbehandelt und 15 Tiere erhielten eine HGF-Therapie nach oben erläuterten Bedingungen. Unter den unbehandelten Tieren waren 8 scheinoperierte Tiere (Shamtiere) und 8 Tiere, bei denen wie oben beschrieben Ischämie

und Reperfusion erzeugt wurde (Reperfusionstiere). Unter den HGF-behandelten Tieren waren 5 Shamtiere und 10 Reperfusionstiere.

In der folgenden Tabelle sowie in den Abbildungen des Ergebnisteils steht die Abkürzung „Sham“ für Shamtiere und „Rep“ für Reperfusionstiere.

Die MR-Messungen wurden in der 1. Woche und in der 16. Woche postoperativ durchgeführt.

In der Gruppe der HGF-behandelten Reperfusionstiere verstarben im Verlauf von 1. bis 16. Woche 2 Versuchstiere, so dass in der 16. Woche noch 8 Reperfusionstiere für die Messungen zur Verfügung standen. In allen anderen Gruppen veränderte sich im Verlauf von 1. bis 16. Woche die Anzahl der Versuchstiere nicht.

| | | | |
|------------------|---------|----------------|----------|
| 31 Versuchstiere | | | |
| UNBEHANDELT | | HGF-Behandlung | |
| 16 Tiere | | 15 Tiere | |
| SHAM | REP | SHAM | REP |
| 8 Tiere | 8 Tiere | 5 Tiere | 10 Tiere |

Tabelle 1

3. Ergebnisse

Nun werden die Ergebnisse der morphologischen und funktionellen Parameter nach Ischämie und Reperfusion in der 1. und 16. Woche postoperativ dargestellt. Der Einfluß des HGFs wird im Anschluß an die Ergebnisse der unbehandelten Tiere erläutert.

Darauf folgt die Darstellung der histologischen Daten und die Korrelation der histologisch ermittelten Werte für die Myokardgrößen mit den Werten, die nichtinvasiv mit Hilfe der MR-Bildgebung ermittelt wurden.

Alle Werte sind als Mittelwert \pm SEM dargestellt. Das Signifikanzniveau liegt bei $p < 0,05$. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm GraphPad InStat 3 unter Verwendung des „One-Way Anova with post test“ (Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test).

3.1. Charakterisierung der morphologischen Parameter in 1. und 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion

3.1.1 Enddiastolische und endsystolische Volumina (EDV und ESV)

Das EDV der unbehandelten Reperfusionstiere in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion war mit $391,06 \pm 49,86 \mu\text{l}$ signifikant größer als bei den unbehandelten Shamtieren mit $150,88 \pm 28,37 \mu\text{l}$.

In der 1. Woche postoperativ zeigten die Reperfusionstiere mit $255,71 \pm 29,54 \mu\text{l}$ keinen signifikanten Unterschied zu den zu gleichem Zeitpunkt erhobenen Werten der Shamtiere von $132,73 \pm 11,79 \mu\text{l}$.

Sowohl Reperfusionstiere als auch Shamtiere zeigten im Verlauf von der 1. bis zur 16. Woche postoperativ keine signifikanten Veränderungen der linksventrikulären enddiastolischen Volumina (Abb. 9).

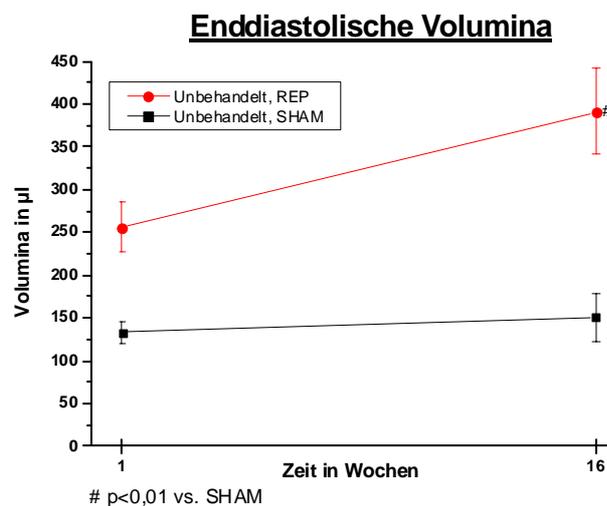


Abb. 9

Wie aus Abb. 10 ersichtlich wird, war das ESV der unbehandelten Reperfusionstiere mit $265,36 \pm 55,07 \mu\text{l}$ in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion signifikant verändert gegenüber dem ESV von $40,08 \pm 8,25 \mu\text{l}$ der unbehandelten Shamtiere in der 16. Woche postoperativ.

Bei den unbehandelten Shamtieren war das ESV mit $38,76 \pm 7,27 \mu\text{l}$ in der 1. Woche nahezu gleich mit dem ESV von $40,08 \pm 8,25 \mu\text{l}$ in der 16. Woche postoperativ. Auch bei den Reperfusionstieren zeigte sich mit einem ESV von $149,28 \pm 29,81 \mu\text{l}$ in der 1. Woche postoperativ keine signifikante Veränderung zu den Werten von $265,36 \pm 55,07 \mu\text{l}$ in der 16. Woche postoperativ.

In der 1. Woche nach Ischämie und Reperfusion gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den endsystolischen Volumina der Reperfusionstiere von $149,28 \pm 29,81 \mu\text{l}$ und den Werten der Shamtiere von $38,76 \pm 7,27 \mu\text{l}$.

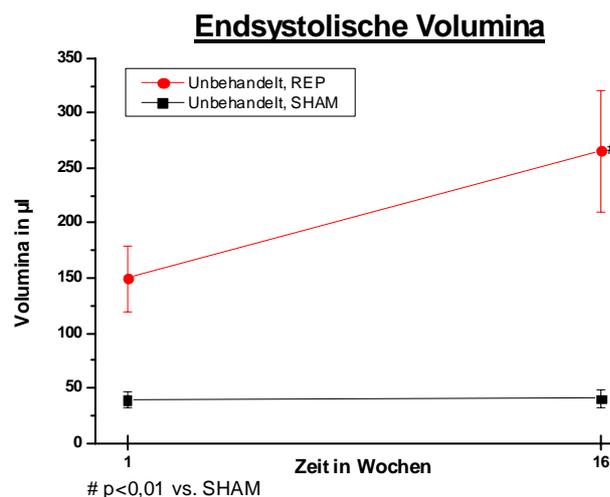


Abb. 10

3.1.2 Enddiastolische und endsystolische Myokardmasse

Die Reperfusionstiere zeigten eine signifikante Zunahme der linksventrikulären enddiastolischen Myokardmasse von $499,28 \pm 26,3 \text{ mg}$ in der 1. Woche postoperativ auf $682,23 \pm 26,86 \text{ mg}$ in der 16. Woche postoperativ. Die enddiastolische Myokardmasse der Shamtiere unterschied sich mit $439,06 \pm 24,25 \text{ mg}$ in der 1. Woche postoperativ nicht signifikant von der enddiastolischen Myokardmasse von $522,05 \pm 34,09 \text{ mg}$ in der 16. postoperativen Woche. Die enddiastolische Myokardmasse der Reperfusionstiere

war in der 1. Woche nach Ischämie und Reperfusion nicht signifikant verändert gegenüber den Shamtieren. In der 16. Woche postoperativ hingegen unterschieden sich die Werte der Reperfusionstiere mit $682,23 \pm 26,86$ mg signifikant von den Werten der Shamtiere von $522,05 \pm 34,09$ mg (Abb. 11).

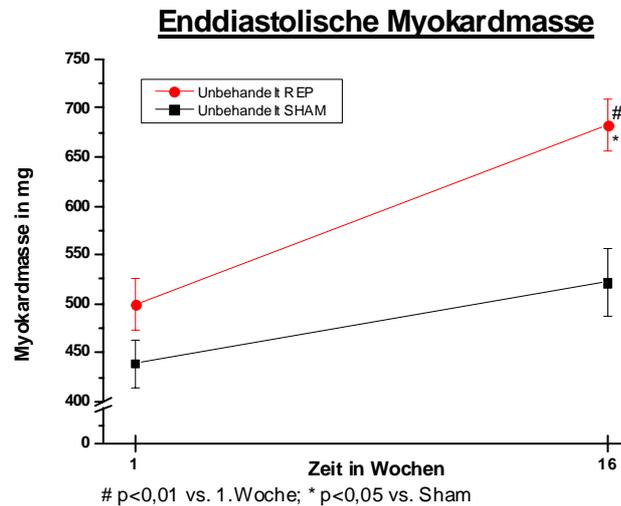


Abb. 11

Die endsystolische Myokardmasse der unbehandelten Reperfusionstiere steigerte sich signifikant von $577,02 \pm 27,31$ mg in der 1. Woche postoperativ auf $750,22 \pm 21,59$ mg in der 16. Woche.

Die Shamtiere jedoch zeigten bezüglich der endsystolischen Myokardmasse in mg im Verlauf von der 1. zur 16. Woche postoperativ keine signifikanten Veränderungen. In der 1. Woche postoperativ wurde die endsystolische Myokardmasse von $523,68 \pm 23,4$ mg ermittelt, während sie in der 16. Woche $581,5 \pm 45,94$ mg entsprach.

Analog zu der enddiastolischen Myokardmasse unterschieden sich die Werte der Reperfusionstiere in der 16. Woche mit $750,22 \pm 21,59$ mg signifikant von denen der Shamtiere mit $581,5 \pm 45,94$ mg (Abb. 12).

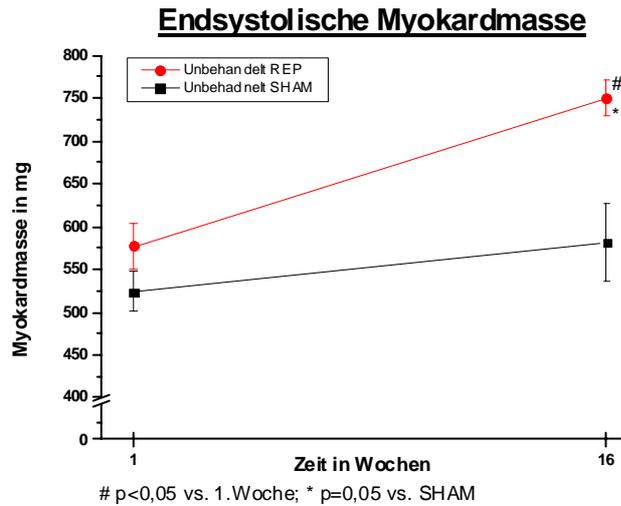


Abb. 12

3.1.3 Schlagvolumen

Wie Abb. 13 zeigt, lagen bezüglich des SV keine signifikanten Veränderungen in der Gruppe der unbehandelten Versuchstiere vor. In der 1. Woche nach Ischämie und Reperfusion betrug das SV der Reperfusionstiere $99,43 \pm 10,94 \mu\text{l}$ und in der 16. Woche $125,71 \pm 7,61 \mu\text{l}$. Bei den Shamtieren betrug das SV in der 1. Woche postoperativ $93,98 \pm 8,19 \mu\text{l}$ und in der 16. Woche postoperativ $110,80 \pm 21,06 \mu\text{l}$.

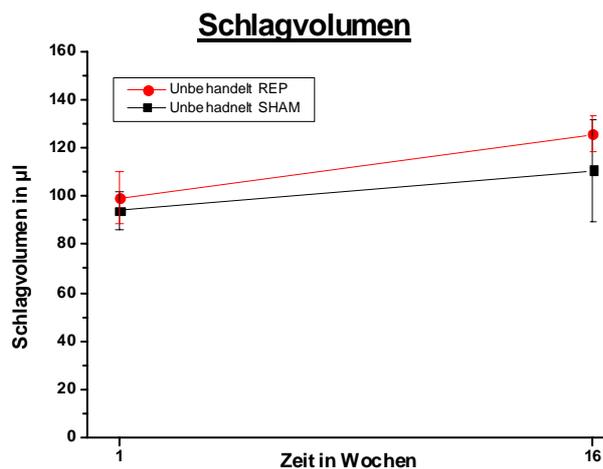


Abb. 13

3.1.4 Ejektionsfraktion

Die Reperfusionstiere zeigten mit einer EF von $45 \pm 6,06$ % in der 1. Woche und Werten von $37,31 \pm 6,21$ % in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion signifikant kleinere Ejektionsfraktionen als die Sham-Tiere, bei denen die EF in der 1. Woche postoperativ $71,77 \pm 4,64$ % und in der 16. Woche $73,66 \pm 1,85$ % betrug (Abb. 14).

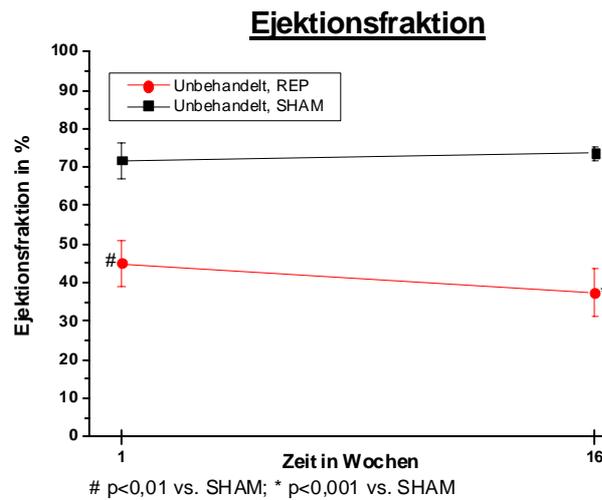


Abb. 14

3.1.5 Cardiac output

Die in Abb. 15 dargestellten Ergebnisse verdeutlichen, dass in der unbehandelten Gruppe weder bei den Shamtieren noch bei den Reperfusionstieren signifikante Veränderungen in der 1. sowie 16. Woche postoperativ bezüglich des CO nachgewiesen wurden. In der 1. Woche nach Ischämie und Reperfusion betrug das CO der Reperfusionstiere $28,03 \pm 3,49$ ml/min und in der 16. Woche postoperativ $35,62 \pm 2,3$ ml/min. Die Shamtiere zeigten in der 1. Woche ein CO von $28,26 \pm 2,6$ ml/min und in der 16. Woche von $31,22 \pm 6,12$ ml/min.

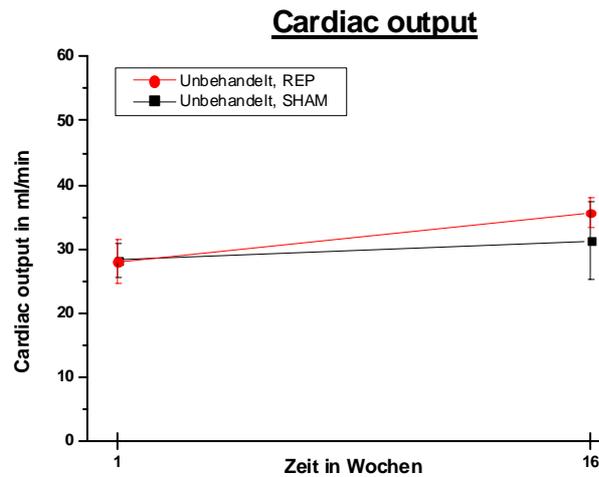


Abb. 15

3.1.6 Körpergewicht und Index Herzgewicht /Körpergewicht

Reperfusionstiere veränderten im Verlauf von der 1. zur 16. Woche postoperativ ihr Körpergewicht signifikant von $278,25 \pm 11,13$ g auf $371,5 \pm 13,3$ g. Ebenso steigerten Shamtiere über den gleichen Zeitraum das Körpergewicht signifikant von $252,25 \pm 8,13$ g auf $342,13 \pm 10,53$ g (Abb. 16). Hierbei handelt es sich entsprechend der Meßkurven der Firma Charles-River um physiologische Wachstumskurven [43].

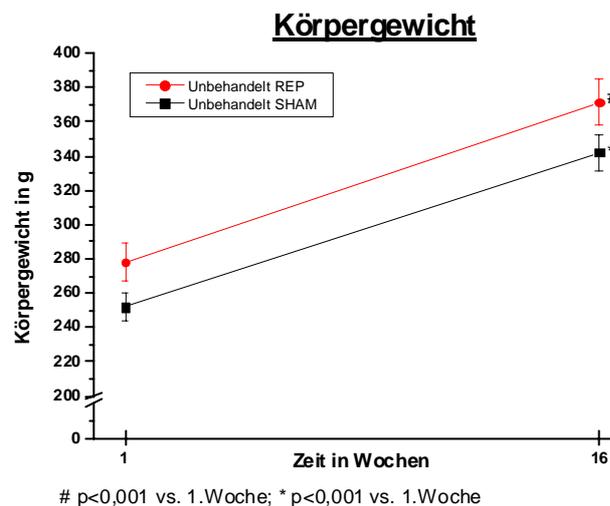


Abb. 16

Die mit Hilfe der MR-Bildgebung quantifizierte enddiastolische Myokardmasse entspricht dem Herzgewicht und wurde in Bezug zum Körpergewicht gesetzt. Die Bildung dieses Quotienten ermöglicht eine an das Körpergewicht adaptierte Aussage über eine mögliche Hypertrophie des Herzens [40]. Während die Daten der Myokardmasse alleine einen signifikanten Anstieg über die Zeit für die Reperfusionstiere zeigten, wurde nach Normierung auf das Körpergewicht dieser Unterschied nicht mehr deutlich (Abb. 17).

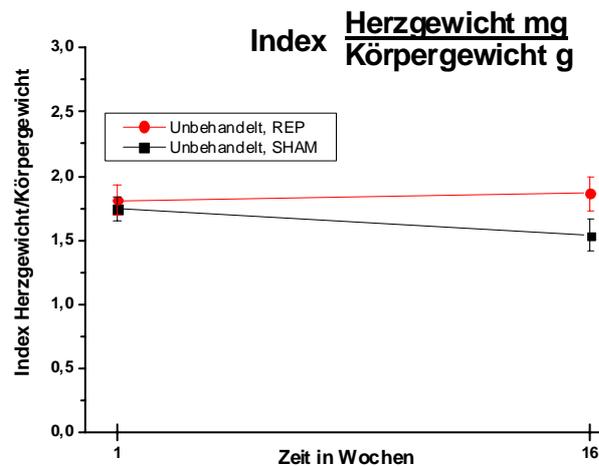


Abb. 17

3.2 Einfluss des Hepatozytenwachstumsfaktors (HGF)

3.2.1 Enddiastolische und endsystolische Volumina

Im Unterschied zu der Gruppe der unbehandelten Reperfusionstiere führte die HGF-Behandlung der Reperfusionstiere zu einer signifikanten Zunahme des EDV von $271,09 \pm 30,6 \mu\text{l}$ in der 1. Woche auf $592,17 \pm 94,71 \mu\text{l}$ in der 16. Woche postoperativ.

Wie auch bei den unbehandelten Versuchstieren unterschieden sich in der Gruppe der HGF-behandelten Versuchstiere die Werte von den Shamtieren mit $159,84 \pm 15,19 \mu\text{l}$ in der 16. Woche signifikant von denen der Reperfusionstiere mit $592,17 \pm 94,71 \mu\text{l}$ zu gleichem Zeitpunkt (Abb. 18).

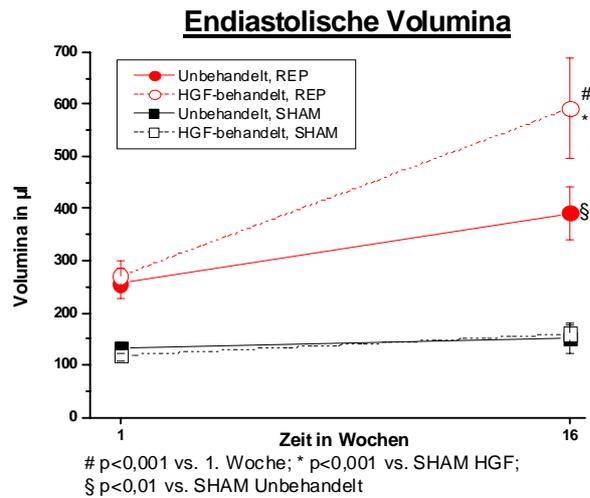


Abb.18

Auch bezüglich des ESV führte die HGF-Behandlung der Reperfusionstiere zu einem signifikanten Anstieg. Von $186,77 \pm 25,53 \mu\text{l}$ in der 1. Woche postoperativ steigerte sich das ESV auf $437,12 \pm 77,45 \mu\text{l}$ in der 16. Woche. In der Gruppe der unbehandelten Reperfusionstiere war kein signifikanter Anstieg dieses Parameters im Verlauf von der 1. bis zur 16. Woche beobachtet worden.

Mit $52,19 \pm 7,61 \mu\text{l}$ unterschieden sich die Shamtiere in der 16. Woche signifikant von den Reperfusionstieren, die in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion ein ESV von $437,12 \pm 77,45 \mu\text{l}$ aufwiesen (Abb. 19).

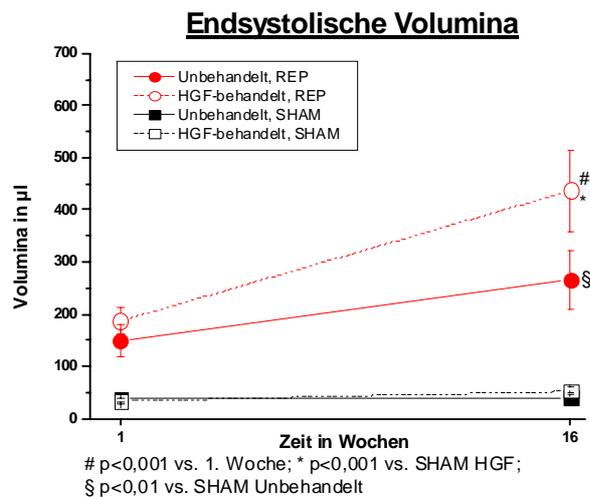


Abb. 19

3.2.2 Enddiastolische und endsystolische Myokardmasse

Die enddiastolische Myokardmasse der HGF-behandelten Reperfusionstiere betrug in der 1. Woche postoperativ $413,77 \pm 20,74$ mg und in der 16. Woche postoperativ $727,13 \pm 54,98$ mg. Diese Veränderung war signifikant. Ebenfalls signifikant steigerte sich die enddiastolische Myokardmasse der Shamtiere von $326,59 \pm 13,05$ mg in der 1. Woche postoperativ auf $502 \pm 21,08$ mg in der 16. Woche postoperativ. Shamtiere und Reperfusionstiere zeigten in der 16. Woche postoperativ signifikante Unterschiede bezüglich der enddiastolischen Myokardmasse in mg (Abb. 20).

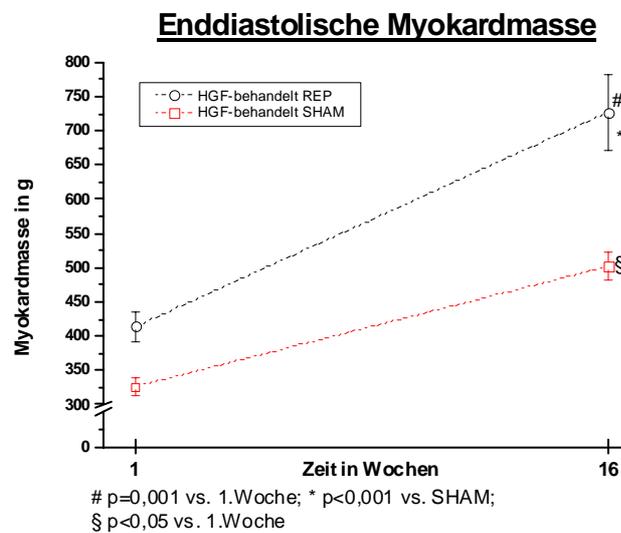


Abb. 20

Bei den HGF-behandelten Reperfusionstieren kam es zu einem signifikanten Anstieg der endsystolischen Myokardmasse von $456,79 \pm 19,86$ mg in der 1. Woche postoperativ auf $784,86 \pm 57,01$ mg in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion. Die HGF-behandelten Reperfusionstiere in der 16. Woche unterschieden sich signifikant von den Shamtieren mit $536,93 \pm 23,41$ mg zum gleichen Zeitpunkt (Abb. 21).

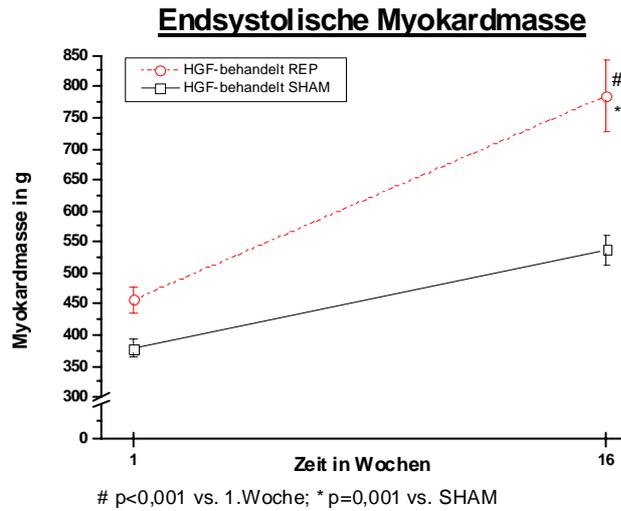


Abb. 21

3.2.4 Index Herzgewicht /Körpergewicht

Bezüglich des Quotienten Herzgewicht zu Körpergewicht in der 16. Woche postoperativ zeigten HGF-behandelte Reperfusionstiere mit $2,08 \pm 0,13$ im Vergleich zu den HGF-behandelten Shamtieren mit $1,48 \pm 0,04$ eine signifikant größere relative Myokardmasse. Dieser signifikante Unterschied zwischen Shamtieren und Reperfusionstieren konnte in der Gruppe der unbehandelten Versuchstiere nicht nachgewiesen werden (Abb. 22).

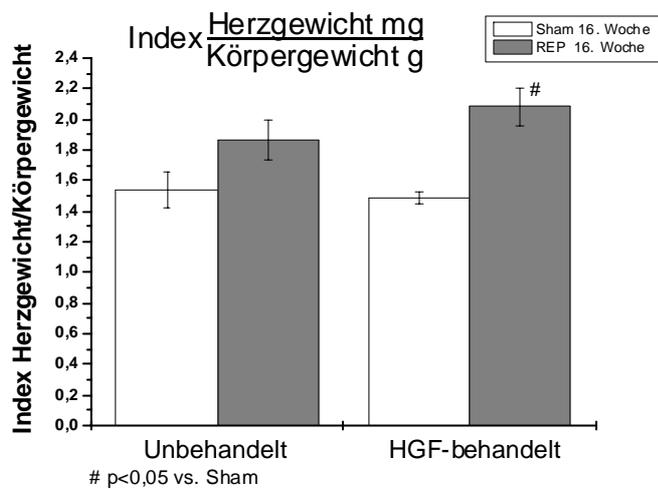


Abb. 22

3.2.5 Schlagvolumen

Die HGF-Behandlung führte bei den Reperfusionstieren zu einem signifikanten Anstieg des SV von $84,31 \pm 7,15 \mu\text{l}$ in der 1. Woche auf $155,05 \pm 25,82 \mu\text{l}$ in der 16. Woche. Die unbehandelten Reperfusionstiere zeigten in gleichem Zeitraum keinen signifikanten Anstieg dieses Parameters.

Alle anderen Veränderungen in der Gruppe der HGF-behandelten Versuchstiere waren nicht signifikant (Abb. 23).

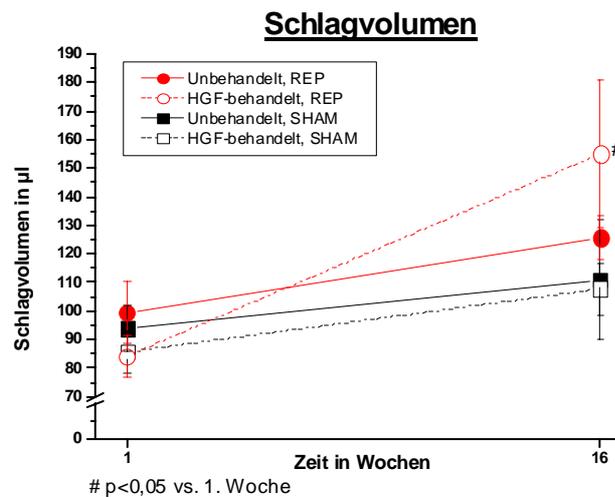


Abb. 23

3.2.6 Ejektionsfraktion

Die EF betrug in der Gruppe der HGF-behandelten Reperfusionstiere in der 1. Woche postoperativ $33,80 \pm 3,6 \%$. Bei den HGF-behandelten Shamtieren betrug der Wert zum gleichen Zeitpunkt $72,90 \pm 1,78 \%$. Dieser Unterschied war signifikant. Ebenfalls signifikant war der Unterschied in der 16. Woche postoperativ. Die EF betrug zu diesem Zeitpunkt $67,66 \pm 2,37 \%$ bei den Shamtieren im Vergleich zu $29,6 \pm 4,25 \%$ bei den Reperfusionstieren. Die HGF-Behandlung führte somit zu keinem Unterschied zu der Gruppe der unbehandelten Versuchstiere (Abb. 24).

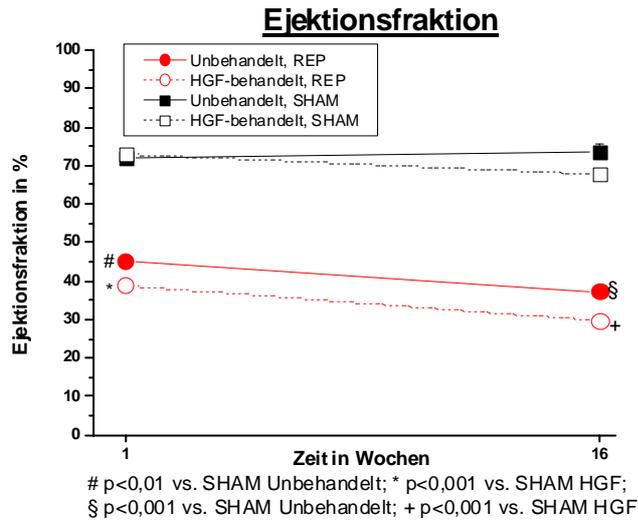


Abb. 24

3.2.7 Cardiac output

Im Unterschied zu der Gruppe der unbehandelten Reperfusionstiere zeigten HGF-behandelte Reperfusionstiere eine signifikante Zunahme des CO im Verlauf von der 1. bis zur 16. Woche postoperativ. In der 1. Woche nach Ischämie und Reperfusion betrug das CO $24,41 \pm 2,79$ ml/min und in der 16. Woche postoperativ $47,97 \pm 8,13$ ml/min (Abb. 25). Alle anderen Werte unterschieden sich nicht signifikant.

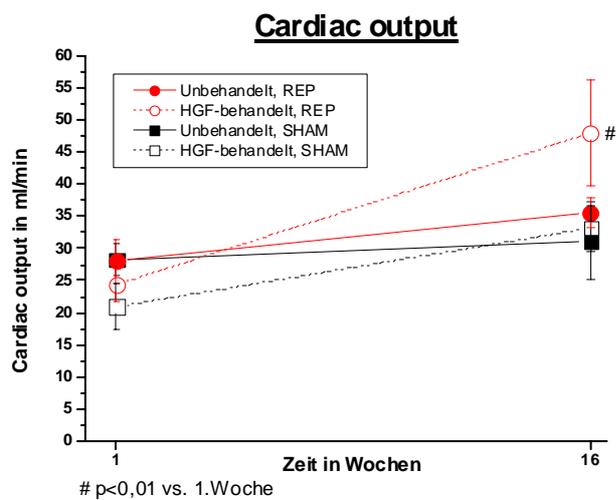


Abb. 25

3.2.8 Systolische Wanddickenzunahme der Reperfusionstiere

Die systolische Wanddickenzunahme betrug bei den unbehandelten Reperfusionstieren in der 1. Woche nach Ischämie und Reperfusion $27,11 \pm 6,87 \%$ an der anterioren Wand und $70,78 \pm 5,75 \%$ an der posterioren Wand. Dieser Unterschied war nicht signifikant. Ein signifikanter Unterschied hingegen war in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion nachgewiesen worden. An der anterioren Wand betrug die systolische Wanddickenzunahme zu diesem Zeitpunkt $22,92 \pm 9,83 \%$ im Vergleich zum Wert der posterioren Wand von $117,73 \pm 34,8 \%$.

In der Gruppe der HGF-behandelten Reperfusionstiere waren weder in der 1. noch in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion signifikante Unterschiede nachgewiesen worden. Die Wanddickenzunahme betrug in der 1. Woche postoperativ $33,97 \pm 4,7 \%$ an der anterioren Wand während an der posterioren Wand zum gleichen Zeitpunkt eine systolische Zunahme von $78,82 \pm 5,68 \%$ gemessen wurde. In der 16. Woche wurde eine systolische Wanddickenzunahme von $46,66 \pm 9,63 \%$ an der anterioren Wand und $71,6 \pm 5,46\%$ an der posterioren Wand ermittelt (Abb. 26).

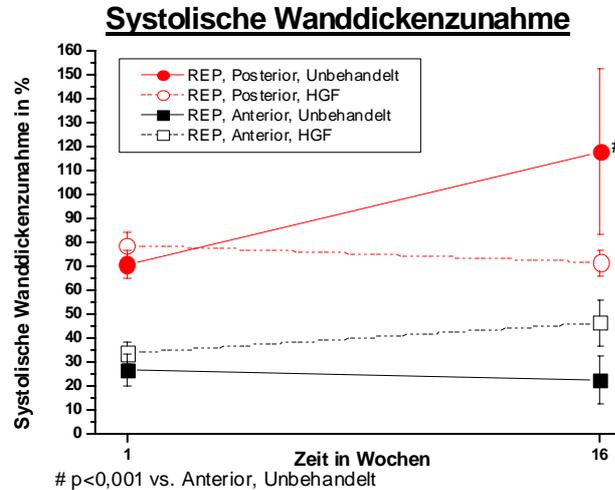


Abb. 26

3.3 Histologische Daten

3.3.1 Narbengrößen

Bezüglich der Narbengrößen in % unterschieden sich die unbehandelten Reperfusionstiere in der 16. Woche mit $23,97 \pm 5,19\%$ nicht von den HGF-behandelten Tieren zum gleichen Zeitpunkt mit $28,27 \pm 2,58 \%$ (Abb. 27).

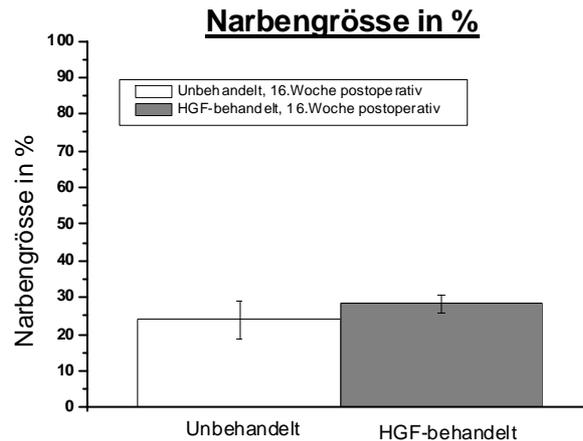


Abb. 27

3.3.2. Korrelation von histologischen Daten mit MR-Daten

Sowohl in der Gruppe der unbehandelten als auch der HGF-behandelten Versuchstiere korrelierten die histologisch ermittelten Werte gut mit den Werten, die durch das nichtinvasive Verfahren der MR-Cine-Bildgebung ermittelt wurden. Die Regressionsanalyse für die Gruppe der unbehandelten Tiere ist in Abb. 28 dargestellt.

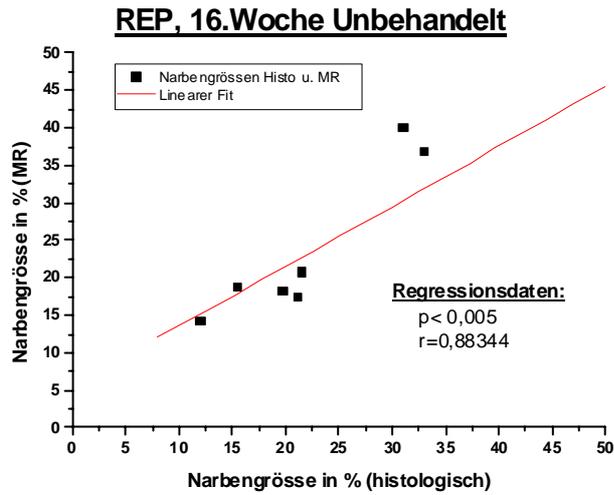


Abb. 28

Abb. 29 zeigt die Regressionsdaten für die HGF-behandelten Tiere.

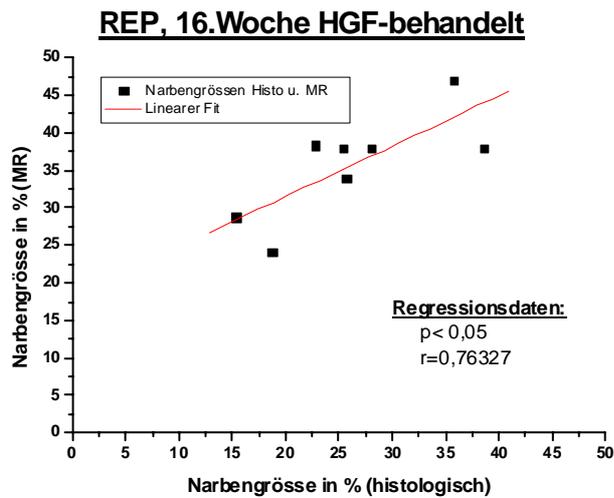


Abb. 29

4. Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war primär die Erfassung der linksventrikulären Funktions- und Geometrieparameter des Rattenherzens in der 1. und 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion sowie nach Scheinoperation mit Hilfe der MR-Bildgebung. Darüber hinaus sollte als zweites Ziel der Einfluss des HGFs auf das ventrikuläre

Remodeling herausgearbeitet und mit den unbehandelten Tieren verglichen werden. Der Beobachtungszeitraum wurde bewusst über einen Zeitraum von 16 Wochen gewählt. Alle bisherigen Studien [8,24], die das linksventrikuläre Remodeling nach Ischämie und Reperfusion erforscht haben, wählten einen kürzeren Zeitraum. Mit Hilfe unserer Studie, in der zum ersten Mal kardiale Funktions- und Geometrieparameter über einen so langen Zeitraum beobachtet wurden, sollten Aussagen über das späte kardiale Remodeling ermöglicht werden. Insbesondere auch Studien über die Wirkung von HGF auf das ventrikuläre Remodeling beziehen sich auf einen kürzeren Beobachtungszeitraum. So machten Nakamura et al. [32] Aussagen über die Wirkung von HGF auf das ischämisch reperfundierte Rattenmyokard nach 48 Stunden. Jin et al. [33] untersuchten bis zur 8. Woche nach Ischämie und Reperfusion Funktions- und Geometrieparameter des HGF behandelten Rattenherzens.

Die Ischämiezeit betrug in unserer Studie 2 Stunden. Nach dieser Zeit wurde der Koronarverschluss zum Zweck der Reperfusion des infarzierten Myokards operativ wiedereröffnet.

Die Gesamtmenge des infundierten HGF war äquivalent zu der Dosis, für die protektive Wirkungen am ischämisch reperfundierten Rattenherzen nachgewiesen wurden [32, 33]. Desweiteren sollte durch die histologische Größenbestimmung der Narbenareale nach der 16. Woche postoperativ die Korrelation von Datenerhebung mittels MR-Bildgebung und der postmortalen Methode der histologischen Auswertung ermöglicht werden.

4.1 Morphologische Parameter in 1. und 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion

Die unbehandelten Reperfusionstiere wiesen im Vergleich zu den Shamtieren in der 16. Woche postoperativ signifikant vergrößerte linksventrikuläre Volumina auf. Diese linksventrikuläre Dilatation [44] ist die langfristige Folge der kardialen Ischämie und Reperfusion. Als kurzfristige Folge der kardialen Ischämie und Reperfusion zeigten die Reperfusionstiere bereits in der 1. Woche postoperativ eine Tendenz zu vergrößerten linksventrikulären Volumina im Vergleich zu den Shamtieren auf, wobei endsystolische und enddiastolische Volumina sich zu diesem Zeitpunkt noch nicht signifikant unterschieden. Aufgrund dieser Tendenz konnte es -trotz nicht signifikanter

Veränderung der linksventrikulären Volumina im Verlauf bis zur 16. Woche bei beiden Tiergruppen- zu einem signifikanten Unterschied in der 16. Woche zwischen Shamtieren und Reperfusionstieren kommen.

Nahrendorf et al. [22] zeigten am Infarktmodell der Ratte ohne Reperfusionstherapie im Verlauf von der 4. bis zur 16. Woche eine signifikante Zunahme des EDV, wobei die Narbengröße der entsprechenden Tiere in der 16. Woche $35,2 \pm 2,2$ % betrug. In unserer Studie konnte bei einer durchschnittlichen Narbengröße von $23,97 \pm 5,19$ % der Reperfusionstiere in der 16. Woche postoperativ keine signifikante Zunahme der linksventrikulären Volumina im Verlauf von 1. bis zur 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse bestätigen die Aussagen von Pfeffer et al. [6] über die Abhängigkeit der ventrikulären Dilatation von der Ausdehnung des Narbenareals. Da wie oben erläutert [8] die Prognose nach einem Herzinfarkt von Narbengröße und kardialer Dysfunktion abhängig ist, ist die Aussage gerechtfertigt, dass dem Infarktmodell mit anschließender Reperfusionstherapie eine bessere Prognose bezüglich des Auftretens von Herzinsuffizienz zugesprochen werden muss als dem von Nahrendorf et al. [22] verwendeten Infarktmodell.

Die EF der Reperfusionstiere war sowohl in der 1. als auch in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion signifikant kleiner als bei den Shamtieren zum gleichen Zeitpunkt. In der 16. Woche postoperativ konnte die signifikant kleinere EF der Reperfusionstiere trotz annähernd gleichem SV von Reperfusionstieren und Shamtieren durch das signifikant größere EDV der Reperfusionstiere erklärt werden. Dieses Ergebnis spiegelt die Einschränkung der linksventrikulären Pumpfunktion der Reperfusionstiere als langfristige Folge von kardialer Ischämie und Reperfusion wider. Obwohl in der 1. Woche postoperativ Reperfusionstiere sich in ihren linksventrikulären Volumina nicht signifikant von den Shamtieren unterschieden und Reperfusionstiere und Shamtiere fast gleiche SV aufwiesen, bestand bezüglich der Ejektionsfraktion auch schon zu diesem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied. Dieses Ergebnis ist zum einen ein weiterer Hinweis für die Tendenz der Reperfusionstiere zu erhöhten linksventrikulären Volumina als Zeichen der linksventrikulären Ausweitung in der 1. Woche nach myokardialer Ischämie. Zum anderen zeigt die erniedrigte EF der Reperfusionstiere im Vergleich mit den Shamtieren, dass myokardiale Ischämie schon kurzfristig zu einer Einschränkung der linksventrikulären Pumpfunktion führt.

Die dargestellten Ergebnisse zeigen, dass die alleinige Beurteilung des SV beziehungsweise des CO zu keiner exakten Aussage über die ventrikuläre Pumpfunktion führt. Erst durch die Berechnung der EF, die sich in bereits veröffentlichten Arbeiten [21,22] über das ventrikuläre Remodeling am infarzierten Rattenmyokard als Marker für kardiale Funktionen etablierte, konnte die ischämiebedingte Einschränkung der linksventrikulären Pumpfunktion in 1. und 16. Woche postoperativ aufgezeigt werden.

Im Verlauf von 1. bis 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion zeigte die EF weder bei den Reperfusionstieren noch bei den Shamtieren signifikante Veränderungen. Bezüglich dieser Verlaufsbeobachtung besteht eine Übereinstimmung mit Jones et al. [24], die ebenfalls zeigten, dass es nach der 1. Woche zu keiner signifikanten Veränderung dieses Parameters am ischämisch reperfundierten Rattenherzen gekommen war.

Da die Reperfusionstiere im Gegensatz zu den Shamtieren im Verlauf von 1. bis zur 16. Woche postoperativ signifikant die linksventrikulären Myokardmassen steigerten und daher die endsystolische und enddiastolische Myokardmasse der Reperfusionstiere in der 16. Woche postoperativ signifikant größer war als bei den Shamtieren zum gleichen Zeitpunkt, könnte eine Myokardhypertrophie der Reperfusionstiere im Verlauf bis zur 16. Woche postoperativ vermutet werden.

Wie jedoch oben erläutert, muss das Herzgewicht in Beziehung zum Körpergewicht gesetzt werden, um eine an das Körpergewicht adaptierte Aussage über das Herzgewicht treffen zu können [45].

So ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen Shamtieren und Reperfusionstieren bezüglich des Quotienten Herzgewicht/Körpergewicht in 1. oder 16. Woche postoperativ zeigen. Trotz der signifikanten Steigerung der enddiastolischen Myokardmassen von 1. bis zur 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion lässt sich also eine myokardiale Hypertrophie der Reperfusionstiere nicht nachweisen. Im Vergleich zu unserer Arbeit wurde die ermittelte Myokardmasse in der Studie von Nahrendorf et al. [22] nicht in Bezug zum Körpergewicht gesetzt, während die myokardiale Wanddicke bei der Quantifizierung der Hypertrophie als weiterer Parameter diente. So zeigten Nahrendorf et al. [22] am Infarktmodell der Ratte unabhängig von der Infarktgröße eine im Verlauf von 4. bis 16. Woche signifikant

zunehmende myokardiale Hypertrophie auf. Unabhängig von der Narbengröße zeigte sich außerdem an dem Infarktmodell von Nahrendorf et al. [22] ein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Infarkttieren bezüglich der Myokardzellhypertrophie. Aufgrund der negativen Korrelation von myokardialer Hypertrophie und Funktion [22], sind die Ergebnisse unserer Studie im Vergleich zu dem Modell von Nahrendorf et al. [22] eine Bestätigung der Aussagen von Stadius et al. [46] über die verbesserte linksventrikuläre Funktion als Benefit der Reperfusionstherapie nach einem Myokardinfarkt.

Das Infarktmodell der Ratte zeigt bezüglich des linksventrikulären Remodelings Parallelen zum infarzierten Herzen des Menschen auf [21]. Das bedeutet, dass mit Hilfe der Ergebnisse am Rattenmodell klinische Aussagen über Entstehung und Prävention von Herzversagen am Patienten getroffen werden [22] können. Das in unseren Studien untersuchte Modell entspricht somit einer Imitation des menschlichen Herzinfarktes mit anschließender Reperfusion. Die Aussagen, dass myokardiale Ischämie mit anschließender Reperfusion langfristig zu einer linksventrikulären Ausweitung mit signifikant verminderter Pumpfunktion führt, ist somit nicht nur an dem hier untersuchten Rattenmodell, sondern auch in Bezug auf das menschliche Myokard zulässig. Die nachgewiesene verminderte ventrikuläre Dilatation, die damit verbundene verbesserte Prognose sowie der fehlende Nachweis einer Myokardzellhypertrophie des Reperusionsmodells in unserer Studie im Gegensatz zum Infarktmodell der Ratte von Nahrendorf et al. [22] beweist den Benefit einer Reperfusion auch am menschlichen Myokard. Somit zeigen die Ergebnisse unserer Studie eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Nidorf et al. [10], die an Infarktpatienten mit anschließend durchgeführter Reperfusion einen kleineren linksventrikulären Flächenindex im Vergleich zu Patienten mit einem Myokardinfarkt ohne Wiederherstellung des koronaren Flusses nachwiesen.

4.2 Einfluss des Hepatozytenwachstumsfaktors (HGF)

HGF-behandelte Reperfusionstiere zeigten eine signifikante Zunahme des SV und des CO im Verlauf von der 1. bis zur 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion.

Die Betrachtung des SV und des CO allein läßt auf eine Verbesserung der systolischen kardialen Funktion durch das verabreichte HGF schließen, wie es in vielen veröffentlichten Arbeiten bereits postuliert wurde [32, 33, 47, 48].

Die Untersuchungen der linksventrikulären Volumina sowie der EF im Verlauf von 1. bis 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion zeigten, trotz nachgewiesener verbesserter systolischer Funktion, eine Verstärkung der linksventrikulären Dilatation auf, was auf eine Verschlechterung der Prognose schließen lässt. Diese Ergebnisse unterstreichen die oben getroffene Aussage, dass bei der kardialen Funktionsanalyse neben dem SV und des CO immer auch die EF und die linksventrikulären Volumina miteinbezogen werden müssen.

Yasuda et al. [47] zeigten am Infarktpatienten mit Reperfusionstherapie eine umgekehrte Korrelation der vom Myokardinfarkt abhängigen HGF Sekretion und der linksventrikulären Volumina in der 4. Woche nach Ischämie und Reperfusion auf und beschrieben HGF daher als einen kardioprotektiven Faktor mit therapeutischem Potential in der Behandlung eines Myokardinfarktes.

Als langfristige Folge der Ischämie und Reperfusion zeigte unsere Studie für die Reperfusionstiere mit HGF-Behandlung im Vergleich zu den HGF-behandelten Shamtieren in der 16. Woche postoperativ signifikant größere linksventrikuläre Volumina als Zeichen der ventrikulären Dilatation auf. Zudem wurde als kurzfristige Folge eine in der 1. Woche postoperativ deutliche Tendenz zu vergrößerten linksventrikulären Volumina der Reperfusionstiere im Vergleich zu den Shamtieren nachgewiesen. Während bei den Reperfusionstieren nach HGF-Behandlung eine signifikante Zunahme der linksventrikulären Volumina im Verlauf von 1. bis 16. Woche postoperativ beobachtet wurde, war die Zunahme der linksventrikulären Volumina der unbehandelten Reperfusionstiere über die Zeit nicht signifikant. Obwohl in unserer Studie zu keinem Zeitpunkt eine Korrelation von HGF-Konzentration und linksventrikulären Volumina erhoben wurde, schließen die Ergebnisse der Funktionsparameter der HGF-behandelten Versuchstiere eine umgekehrte Korrelation von HGF-Konzentration und linksventrikulären Volumina in der 16. Woche postoperativ aus. Somit kann für die 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion keinesfalls von einem kardioprotektiven Effekt des HGF ausgegangen werden. Vielmehr rechtfertigen die Ergebnisse unserer Studie die Aussage, dass HGF

möglicherweise langfristig eine verstärkende Wirkung auf Dilatation nach Ischämie und Reperfusion hat. Außerdem ist die signifikant kleinere EF der HGF-behandelten Reperfusionstiere im Vergleich zu den Shamtieren in der 1. und 16. Woche postoperativ trotz erhöhtem SV und CO in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion im Vergleich zu den Shamtieren ein Zeichen für verminderte linksventrikuläre Pumpfunktion und Verschlechterung des linksventrikulären Remodelings unter HGF-Behandlung. Während Yasuda et al. [47] dem endogen sezerniertem HGF in der 4. Woche nach Ischämie und Reperfusion kardioprotektive Wirkung zuschrieb, schließt unsere Studie eine langfristige kardioprotektive Wirkung des exogen zugeführten HGF in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion aus und stimmt daher mit der Aussage von Yasuda et al. [47] bezüglich der möglichen Behandlung eines Myokardinfarktes mit HGF nicht überein.

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen ebenfalls keine Übereinstimmung mit den Aussagen von Nakamura et al. [32] und Jin et al. [33], die am ischämisch reperfundierten Rattenherzen eine Verbesserung der kardialen Funktion unter HGF-Behandlung im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigten und daher ebenfalls HGF als einen Faktor mit kardioprotektiver Wirkung am ischämisch reperfundierten Rattenherzen beschrieben.

Nakamura et al. [32] zogen bei der Beurteilung der kardialen Funktion ausschließlich die Auswertung der linksventrikulären Drücke heran und beobachteten die Wirkung von HGF auf das Myokard bis zu 48 Stunden nach Ischämie und Reperfusion. Zu diesem Zeitpunkt ist es weder zu einer vollständigen Narbenausbildung [49] noch zu einem Abschluss des kardialen Remodelings [24] am ischämisch reperfundierten Rattenherzen gekommen. Mögliche langfristige Wirkungen von HGF auf die infarzierten Myozyten werden somit in der Studie von Nakamura et al. [32] aufgrund des kurzen Beobachtungszeitraumes nicht miterfasst. Aus diesem Grund wählten Jin et al. [33] einen Beobachtungszeitraum von 8 Wochen nach Ischämie und Reperfusion und auch mit Hilfe unserer Ergebnisse wird die Verlaufsbeurteilung bis zum späten kardialen Remodeling unter HGF-Behandlung ermöglicht. An dieser Stelle muss betont werden, dass die Ergebnisse von Nakamura et al. [32] nicht in direkten Vergleich zu den Ergebnissen unserer Studie gestellt werden können. Während Nakamura et al. [32] eine Ischämiezeit von 20 Minuten einhielten, wurden in unserer Studie sowie in der Arbeit

von Jin et al. [33] nach einem Zeitraum von 2 Stunden die Reperfusion des infarzierten Myokards durchgeführt. Da sowohl tierexperimentell [13] als auch am Patienten [9] der Benefit einer möglichst schnellen Reperfusion durch kleinere Infarktareale als auch verbesserte kardiale Funktionen nachgewiesen wurde, müssen diese unterschiedlichen Bedingungen bei der Beurteilung der gegensätzlichen Ergebnisse von Nakamura et al. [32] und unserer Studie berücksichtigt werden.

Jin et al. [33] zeigten in der 8. Woche postoperativ bei der Beurteilung der kardialen Funktion der HGF-behandelten Reperfusionstiere signifikant größere Werte für SV und CO und einen signifikant kleineren systemischen vaskulären Druck im Vergleich zu den unbehandelten Tieren auf. Die Ergebnisse unserer Studie zeigen für die 16. Woche postoperativ keine Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Jin et al. [33]. Weder bezüglich des CO noch des SV wurde ein signifikanter Unterschied zwischen unbehandelten und HGF-behandelten Reperfusionstieren aufgezeigt.

In unserer Studie wurden weder Auswertungen des systemischen vaskulären Widerstandes noch des linksventrikulären diastolischen Druckes durchgeführt, aber die Interpretation der EF sowie der linksventrikulären Volumina konnten im Unterschied zu den Arbeiten von Nakamura et al. [32] und Jin et al. [33] bei der Beurteilung der kardialen Pumpfunktion berücksichtigt werden.

Wie oben näher erläutert, würde in unserer Studie die ausschließliche Beurteilung von SV und CO bei der kardialen Funktionsanalyse zu der falschen Annahme führen, dass es unter HGF-Behandlung in der 16. Woche zu einer verbesserten Funktion im Vergleich zu den Shamtieren gekommen ist. Erst die gleichzeitige Beurteilung der linksventrikulären Volumina und der EF, CO und SV der Reperfusionstiere im Vergleich zu den Shamtieren verhindert in unserer Studie die falsche Annahme der Verbesserung der Funktion unter HGF-Behandlung.

Unsere Studie zeigt somit die gegenseitige Abhängigkeit der einzelnen Parameter bei der kardialen Funktionsanalyse auf.

So gibt die ausschließliche Beurteilung des vergrößerten SV und CO bei Jin et al. [33] sowie der verbesserten linksventrikulären Drücke bei Nakamura et al. [32] keine Erklärung, ob es sich dabei tatsächlich um Zeichen der verbesserten systolischen Funktion oder um vorhandene Kompensationsmechanismen einer ventrikulären Dilatation handelt.

Bei den HGF-behandelten Versuchstieren zeigte sich nicht nur in der Gruppe der Reperfusionstiere eine signifikante Zunahme der Myokardmassen von der 1. bis zur 16. Woche sowie in der 16. Woche postoperativ ein signifikanter Unterschied zu den Shamtieren, wie es in der Gruppe der unbehandelten Reperfusionstiere ebenfalls beobachtet worden ist, sondern auch eine signifikante Zunahme der Myokardmasse der HGF-behandelten Shamtiere über die Zeit. Zudem ergab die Betrachtung des Quotienten Herzgewicht/Körpergewicht der HGF-behandelten Tiere in der 16. Woche postoperativ einen signifikanten Unterschied zwischen Reperfusionstieren und Shamtieren. Der signifikant grössere Index der HGF-behandelten Reperfusionstiere beweist die aufgetretene myokardiale Hypertrophie des ischämisch reperfundierten Rattenherzens unter HGF-Behandlung in der 16. Woche postoperativ [45]. Aufgrund der Tatsache, dass dieser signifikante Unterschied zwischen Shamtieren und Reperfusionstieren in der Gruppe der unbehandelten Tiere nicht nachgewiesen werden konnte, ist von einem Hypertrophie fördernden Effekt unter HGF-Behandlung auszugehen. Bezüglich dieses Ergebnisses besteht eine Übereinstimmung mit Ushikoshi et al. [50], die HGF als einen kardiohypertrophen Wachstumsfaktor beschrieben. Bezüglich weiterer Organe wie Lunge, Milz und Leber wurde dem HGF bereits in veröffentlichten Studien organotrophe Funktion zugeschrieben [29]. Insbesondere die Wirkung von HGF auf die Leber wurde bisher näher untersucht [28,29,51] und als potent mitogen beschrieben.

Reaktive Myokardhypertrophie nach einem Herzinfarkt führt zu Veränderung der myokardialen Mikrozirkulationen [52]. So haben Waller et al. [42] am Infarktmodell der Ratte hypertrophiebedingte Veränderungen der myokardialen Mikrozirkulation in Form von Hypoperfusionen nachgewiesen und bezeichneten das durch die Hypertrophie ausgelöste mikrovaskuläre Remodeling als einen wichtigen Parameter in der Entwicklung von Herzversagen. Da zudem die Entstehung von kardialer Hypertrophie auf eine verminderte Anzahl sowie geschwächte Funktion der Myozyten zurückgeführt wird [53], muss die in unserer Studie nachgewiesene hypertrophiefördernde Wirkung des HGF auf das ischämisch reperfundierte Rattenherz als negativer Effekt auf das ventrikuläre Remodeling angesehen werden.

In bereits veröffentlichten Studien an unterschiedlichen Tiermodellen [53,54,55] wurde dem HGF sowohl antifibrotische als auch angiogenetische Wirkungen am Myokard

zugeschrieben, die in Verbindung mit verbesserter kardialer Funktion gebracht wurden. Taniyama et al. [53] stellten aufgrund von Beobachtungen einer vergrößerten myokardialen Kapillardichte und eines verminderten Fibroseanteils am Hamstermyokards unter HGF-Gentransfer in einem Zeitraum von 8 Wochen Überlegungen zur Behandlung der Kardiomyopathie mittels HGF an. Azuma et al. [54] zeigten am Modell des Schweines nach HGF-Gentransfer einen signifikant verminderten Fibrose- und Kollagenanteil am Myokard, wobei diese Arbeitsgruppe einen Beobachtungszeitraum von 4 Wochen wählte. Jayasankar et al. [55] zeigten in der 6. Woche postoperativ am ischämisch reperfundierten Rattenmyokard unter der Behandlung mit intramyokardialem Transfer von HGF eine verminderte linksventrikuläre Dilatation mit assoziierter verbesserter Angiogenese und verminderter Apoptose im Vergleich zu den Kontrolltieren.

Während in unserer Studie zwar keine Aussagen über eine Veränderung des myokardialen Fibrose- und Kollagenanteils, der Angiogenese oder einer möglichen antiapoptischen Wirkung unter HGF-Therapie gemacht wurden, wird jedoch ein längerer Beobachtungszeitraum als in den oben genannten Studien gewährleistet und dadurch die langfristige Beurteilung der HGF-Wirkung ermöglicht. Aufgrund des langen Beobachtungszeitraumes wird in unserer Studie -trotz der ausschließlichen Betrachtung von funktionalen Parametern zur Analyse der myokardialen HGF-Wirkung- die in veröffentlichten Studien [32,33,53,54,55] getroffenen Aussagen über HGF als kardioprotektiver Faktor mit therapeutischem Potential widerlegt.

Laut Holman et al. [8] erweist sich die systolische Wanddickenzunahme als ein verlässlicher Indikator für kontraktile Dysfunktionen nach einem Herzinfarkt. Bezüglich dieses Parameters zeigte sich weder an anteriorer noch an der posteriorer Wand ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. In der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion war bei den unbehandelten Reperfusionstieren die systolische Wanddickenzunahme an der posterioren Wand signifikant größer als an der anterioren Wand. Dieser Unterschied lässt sich durch die Lokalisation der transmuralen Infarkt Narbe erklären.

Desweiteren zeigten unbehandelte Reperfusionstiere im Verlauf bis zur 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion Tendenz zur Vergrößerung der systolischen Wanddickenzunahme an der posterioren Wand.

Bei den HGF-behandelten Reperfusionstieren konnte weder ein Unterschied zwischen der infarzierten anterioren und der posterioren Wand bezüglich der systolischen Wanddickenzunahme noch eine Tendenz zu vergrößerter posteriorer systolischer Wanddickenzunahme von 1. bis zur 16. Woche nachgewiesen werden.

Die Verlaufsbeurteilung der systolischen Wanddickenzunahme zeigt somit für die HGF-behandelten Reperfusionstiere in der 16. Woche postoperativ eine größere Tendenz zu eingeschränkter systolischer Funktion und dysfunktionalem Myokard.

4.3 Histologische Parameter und Korrelationen mit der MR-Bildgebung

In der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion wurden die Narbengrößen der Reperfusionstiere histologisch bestimmt. Zwischen HGF behandelten und unbehandelten Tieren bestand kein signifikanter Unterschied. Die unter HGF Behandlung aufgetretenen Veränderungen der Geometrie- und Funktionsparameter lassen sich somit nicht auf ein im Vergleich zu den unbehandelten Versuchstieren vergrößertes Narbenareal zurückführen. Bezüglich des Narbenareals lagen in der Studie bei beiden zur Auswertung herangezogenen Versuchsgruppen gleiche Bedingungen vor. Nahrendorf et al. [21] zeigten am Infarktmodell der Ratte in der 16. Woche postoperativ gute Korrelationen von Histologie und MR-Bildgebung bezüglich der Infarktgrößenbestimmung. Unsere Studie erwies sich als erste Korrelationsstudie zum Infarktgrößenvergleich am Reperfusionsmodell und zeigte in der Gruppe der unbehandelten sowie HGF-behandelten Versuchstiere für diese beiden diagnostischen Verfahren eine gute Korrelation auf.

Baks T. et al [56] beschrieben gute Korrelationen der Kontrastmittel-MR-Bildgebung mit der Histologie bezüglich Infarktgrößenbestimmung am Tiermodell. Aufgrund der Ergebnisse unserer Studie können die Aussagen von Baks et al. [56] auf die Cine-MR-Bildgebung ausgeweitet werden.

Da, wie oben näher erläutert, das Auftreten von kardialer Dysfunktion in Abhängigkeit von Narbengröße und -lokalisierung steht [6], ermöglicht die Cine-MR-Bildgebung durch die sichere, präzise und nichtinvasive Bestimmung der Narbengröße prognostische Aussagen nach einem Myokardinfarkt. Bereits in der 1. Woche nach einem Infarkt wird durch die nichtinvasive Bestimmung von EF, SV, CO,

linsventrikulären Volumina und Myokardmasse eine präzise Beurteilung der kardialen Funktion durch die Cine-MR-Bildgebung gewährleistet.

Nachdem die Cine-MR-Bildgebung sowohl tierexperimentell [16] als auch am Menschen [17] zur Beurteilung der Wirkung von neuen Medikamenten am infarzierten Herzen eingesetzt wurde, zeigt unsere Studie, dass dieses diagnostische Mittel auch zur Verlaufsbeurteilung der HGF-Wirkungen am ischämisch reperfundierten Myokard eingesetzt werden kann.

5. Zusammenfassung

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war die Verlaufsbeurteilung von Geometrie- und Funktionsparametern am Rattenherzen von der 1. bis zur 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion mit Hilfe der Cine-MR-Bildgebung. Insbesondere der Einfluss von HGF auf das späte ventrikuläre Remodeling im Vergleich zum unbehandelten Rattenherzen sollte untersucht werden. Zudem sollten die Narbengrößen in der 16. Woche postoperativ histologisch bestimmt werden, um die Ergebnisse mit denen der MR-Cine-Bildgebung korrelieren zu können.

Wie auch schon in anderen Arbeiten gezeigt wurde, erwies sich in unserer Studie die MR-Cine-Bildgebung als ein sicheres, nicht invasives diagnostisches Mittel zur präzisen Beurteilung von kardialen Funktionsparametern und guter Korrelation mit der Histologie bezüglich der Bestimmung von Narbengrößen.

Darüber hinaus wurde in unserer Studie die Cine-MR-Bildgebung zum ersten Mal zur Verlaufsbeurteilung des kardialen Remodelings über einen Beobachtungszeitraum von 16 Wochen nach Ischämie und Reperfusion eingesetzt. Auch bezüglich der Einflüsse von HGF auf das ischämisch reperfundierte Rattenherz erwies sich die Cine-MR-Bildgebung als ein präzises diagnostisches Mittel, wobei sich unsere Arbeit als die erste Studie herausstellte, in der die Wirkungen von HGF über einen so langen Beobachtungszeitraum untersucht wurde.

Die vorliegende Arbeit weist für die unbehandelten Tiere eine Dilatation des linken Ventrikels in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion, sowie eine bereits in der 1. Woche postoperativ bestehende eingeschränkte systolische Pumpfunktion nach. Der

negative Nachweis myokardialer Hypertrophie sowohl in der 1. als auch in der 16. Woche nach Ischämie und Reperfusion beweist den kardioprotektiven Effekt der Reperfusionstherapie nach einem Myokardinfarkt.

Bisherige Studien am ischämisch reperfundierten Rattenherzen [32,33,55] schrieben HGF eine kardioprotektive Wirkung mit Verbesserung der systolischen Funktion zu und stellten daher Überlegungen zur Verabreichung von HGF nach einem Herzinfarkt an.

Die vorliegende Arbeit zeigt unter HGF-Behandlung langfristig eine verstärkte linksventrikuläre Dilatation und Hypertrophie auf, die trotz verbesserter systolischer Funktion zu einer langfristigen Verschlechterung des linksventrikulären Remodeling führt.

Aufgrund dieser Ergebnisse kann auf lange Sicht nicht von einem kardioprotektiven Effekt unter HGF-Behandlung ausgegangen werden, wie sie in zahlreichen anderen Publikationen [32,33,47] postuliert wurde. Ebenso rechtfertigen die Ergebnisse unserer Studie nicht die Überlegungen von HGF als Therapieoption nach einem Myokardinfarkt. Die in anderen Arbeiten nachgewiesenen positiven Effekte des HGFs auf das Myokard sind möglicherweise auf einen zu kurzen Beobachtungszeitraum nach Ischämie und Reperfusion und auf die fehlende Berücksichtigung von wichtigen Parametern bei der kardialen Funktionsanalyse zurückzuführen.

6. Literaturverzeichnis

- 1: Greten H. *Innere Medizin Verstehen-Lernen-Anwenden*. Georg Thieme Verlag Stuttgart, 2005.
- 2: Huber K, Pachinger O. *Diagnostic- and therapeutic recommendations for acute coronary syndrome without ST-segment elevation 2005: Latest guidelines*. J Kardiol, 2005; 12: 89-97.
- 3: Faxon DP. *Early reperfusion strategies after acute ST-segment elevation myocardial infarction: the importance of timing*. Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine, 2005; 2: 22-28.
- 4: Bassand JP, Danchin N, Filippatos G, Gitt A, Hamm C, Silber S, Tubaro M, Weidinger F. *Implementation of reperfusion therapy in acute myocardial infarction. A policy statement from the European Society of Cardiology*, Eur Heart J, 2005; 26(24): 2733-2741
- 5: Andrassy P, Zielinska M, Busch R, Schömig A, Firsche C. *Myocardial blood volume and the amount of viable myocardium early after mechanical reperfusion of acute myocardial infarction: prospective study using venous contrast echocardiography*. Heart, 2002; 87: 350-355.
- 6: Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fletscher PJ, Braunwald E. *Progressive ventricular remodeling in rat with myocardial infarction*. Am J Physiol, 1991; 260: H1 406-414.
- 7: De Celle T, Cleutjens JP, Blankesteyn WM, Debets JJ, Smits JF, Janssen BJ. *Long-term structural and functional consequences of cardiac ischaemia-reperfusion injury in vivo in mice*. Exp Physiol, 2004; 89(5): 605-615.

- 8: Holman ER, Buller VG, de Roos A, van der Geest RJ, Baur LH, van der Laarse A, Bruscke AV, Reiber JH van der Wall EE. *Detection and quantification of dysfunctional myocardium by magnetic resonance imaging*. Circulation, 1997; 95: 924-931.
9. The GUSTO Angiographic Investigators. *The effects of tissue plasminogen activator, Streptokinase, or both on coronary-artery patency, ventricular function, and survival after acute myocardial infarction*. New England J Med, 1993; 329: 1615-1622.
- 10: Nidorf SM, Siu SC, Galambos G, Weyman AE, Picard MH. *Benefit of late coronary reperfusion on ventricular morphology and function after myocardial infarction*. J Am Col Cardiol, 1993; 21(3): 683-691.
- 11: Durakovic Z, Smalcelj A, Radonic R, Ivanovic D, Gasparovic V, Gjurasin M, Bosnic D, Ljubojevic B, Bogdan I, Grgic V. *Evaluation of the effectiveness of streptokinase in acute myocardial infarct with respect to the pump function of the heart*. Acta Med Iugosl, 1990; 44(3): 185-196.
- 12: Domburg RT, Sonnenschein K, Nieuwlaat R, Kamp O, Storm CJ, Bax JJ, Simoons ML. *Sustained benefit 20 years after reperfusion therapy in acute myocardial infarction*. J Am Col Cardiol, 2005; 46: 15-20.
- 13: Fliss H, Gattinger D. *Apoptosis in ischemic and reperfused rat myocardium*. Circ Res, 1996; 79: 949-956.
- 14: Strohm O, Heinemann S, Kleinertz K, Sechtem U. *Aktueller Stand der kardiovaskulären MRT und CT*. Herz, 2004; 29: 223-228.
- 15: Burgstahler C, Merkle N, Hombach V. *Indikationen für nicht invasive Diagnostik mit Multislice-CT und MRT*. Cardiovasc, 2005; 2: 26-31.
- 16: Zierhut W, Rudin M, Robertson E, Zerwes HG, Novosel D, Evenao JP, Stirnimann R, Hof RP. *Time course of spirapril induced structural and functional changes after*

myocardial infarction in rats followed with magnetic resonance imaging. J Cardiovasc Pharmacol, 1993; 21: 937-946.

17: Steen H, Lehrke S, Wiegand UK, Merten C, Schuster L, Richardt G, Kulke C, Gehl HB, Lima JA, Katus HA, Giannitsis E. *Very early cardiac magnetic resonance imaging for quantification of myocardial tissue perfusion in patients receiving tirofiban before percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction.* Am Heart J, 2005; 149: 564.e1-564.e7.

18: Grothues F, Smith GC, Moon JCC, Bellenger NG, Collins P, Klein HU, Pennell DJ. *Comparison of interstudy reproducibility of cardiovascular magnetic resonance with two-dimensional echocardiography in normal subjects and in patients with heart failure or left ventricular hypertrophy.* Am J Cardiol, 2002; 90: 29-34.

19: Gibbons RJ, Valeti US, Araoz PA, Jaffe AS. *The quantification of infarct size.* J Am Col Cardiol, 2004; 44(8): 1533-1542.

20: Nahrendorf M, Hiller KH, HU K, Ertl G, Haase A, Bauer WR. *Cardiac magnetic resonance imaging in small animal models of human heart failure.* Med Image Anal, 2003; 7(3): 369-75.

21: Nahrendorf M, Wiesmann F, Hiller KH, Han H, Waller C, Ruff J, Haase A, Ertl G, Bauer WR. *In vivo assessment of cardiac remodeling after myocardial infarction in rats by cine-magnetic resonance imaging.* J Cardiovasc Magn Reson, 2000; 2(3): 171-180.

22: Nahrendorf M, Wiesmann F, Hiller KH, Hu K, Waller C, Ruff J, Lanz TE, Neubauer S, Haase A, Ertl G, Bauer WR. *Serial Cine-Magnetic Resonance Imaging of left ventricular Remodeling after myocardial infarction in rats.* JMRL, 2001; 14: 547-555.

- 23: Kloner RA, Ellis SG, Carlson NV, Braunwald E. *Coronary reperfusion for the treatment of acute myocardial infarction: postischemic ventricular dysfunction*. *Cardiology*, 1983; 70(5): 233-246.
- 24: Jones JR, Mata JF, Yang Z, French BA, Oshinski JN. *Left ventricular remodeling subsequent to reperfused myocardial infarction: evaluation of a rat model using cardiac magnetic resonance imaging*. *J Cardiovasc Magn reson*, 2002; 4(3): 317-326.
- 25: Lee YM, Peng YY, Sheu JR, Cheng CY, Yen MH. *The effects of a newly synthesized ATP-sensitive potassium channel opener, MJ 355, on blood pressure and myocardial Ischemia-Reperfusion injury in rats*. *Jpn J Pharmacol*, 1999; 81: 185-193.
- 26: Ozdemir R, Parlakpinar H, Polat A, Colak C, Ermis N, Acet A. *Selective endothelin (ET_a) receptor antagonist (BQ-123) reduces both myocardial infarct size and oxidant injury*. *Toxicology*, 2006; 219: 142-149.
- 27: Bulhak AA, Sjöquist PO, Xu CB, Edvinsson L, Pernow J. *Protection against myocardial ischemia/reperfusion injury by PPAR- α activation is related to production of nitric oxide and endothelin-1*. *Basic Res Cardiol*, 2006; 101: 1- 9.
- 28: Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M. *Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor*. *Nature*, 1989; 342: 440-443.
- 29: Matsumoto K, Nakamura T. *Emerging multipotent aspects of hepatocyte growth factor*. *J Biochem (Tokyo)*, 1996; 119(4): 591-600.
- 30: Ueda H, Nakamura T, Matsumoto K, Sawa Y, Matsuda H, Nakamura T. *A potential cardioprotective role of hepatocyte growth factor in myocardial infarction in rats*. *Cardiovasc Res*, 2001; 51: 41-50.

- 31: Bottaro DP, Rubin JS, Faletto DL, Chan AM, Kmiecik TE, Vande Woude GF, Aaranson SA. *Identification of the hepatocyte growth factor as the c-met proto-oncogene product.* Science, 1991; 251: 802-804.
- 32: Nakamura T, Mizuno S, Matsumoto K, Sawa Y, Matsuda H, Nakamura T. *Myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by endogenous and exogenous HGF.* J Clin Invest, 2000; 106: 1511-1519.
- 33: Jin H, Yang R, Li W, Ogasawara AK, Schwall R, Eberhard DA, Zheng Z, Kahn D, Paoni NF. *Early Treatment with Hepatocyte Growth Factor Improves Cardiac Function in Experimental Heart Failure Induced by Myocardial Infarction.* JPET , 2003; 304(2): 654-660.
- 34: Hausser KH, Kalbitzer HR. *NMR für Mediziner und Biologen.* Springer Verlag Berlin, 1989.
- 35: Rinck PA. *Magnetresonanztomographie in der Medizin.* Lehrbuch des European Magnetic Resonance Forum, 5.Auflage, ABW Wissenschaftsverlag GmbH Berlin, 2003.
- 36: Schmidt R, Thews G, Lang F. *Physiologie des Menschen.* Springer Verlag Berlin, 2000; 772.
- 37: Lauterbur PC. *Image formation by induced local interactions: examples employing NMR.* Nature, 1973; 242: 190.
- 38: Haase A. *SnapShot FLASH MRI. Application to T1, T2 and chemical-shift imaging.* Magn Res Med, 1990; 13: 77-89.
- 39: Rommel E, Haase A. *A crossed coil probehead for Snap-Shot FLASH relaxation studies.* 12th annual meeting SMR (Abstract), New York, 1993: 1358

- 40: Waller C, Hiller KH, Rüdiger T, Kraus G, Konietzko C, Hardt N, Ertl G, Bauer W. *Noninvasive imaging of angiogenesis inhibition following nitric oxide synthase blockade in the ischemic rat heart in vivo*. *Microcirculation*, 2005; 12: 339-347.
- 41: Kiernan JA, *Histological and Histochemical Methods*. Butterworth Heinemann, Oxford (England) oder Woburn, MA, USA, 1999.
- 42: Waller C, Hiller KH, Kahler E, Hu K, Nahrendorf M, Voll S, Haase A, Ertl G, Bauer WR. *Serial Magnetic Resonance Imaging of Microvascular Remodeling in the Infarcted Rat Heart*. *Circulation*, 2001;103: 1564-1569.
- 43: Daten der Firma Charles River, Sulzfeld, Deutschland.
- 44: Fletcher PJ, Pfeffer MJ, Pfeffer MA, Braunwald E. *Left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction*. *Circ Res*, 1981;49: 618-626.
- 45: van Kerckhoven R, Saxena PR, Schoemaker, RG, *Restored capillary density in spared myocardium of infarcted rats improves ischemic tolerance*, *Cardiovasc Pharmacol*; 2002; 40(3): 370-380.
- 46: Stadius ML, Ritchie JL. *Effects of thrombolytic therapy on evolution of left ventricular function in acute myocardial infarction*. *Herz*, 1986; 11(1): 33-40.
- 47: Yasuda S, Goto Y, Baba T, Satoh T, Sumida H, Miyazaki S, Nonogi H. *Enhanced secretion of cardiac hepatocyte growth factor from an infarct region is associated with less severe ventricular enlargement and improved cardiac function*. *J Am Col Cardiol*, 2000; 36(1): 115-121.
- 48: Wang W, Yang ZJ, Ma DC, Wang LS, Xu SL, Zhang YR, Cao KJ, Zhang FM, Ma WZ. *Induction of collateral artery growth and improvement of post-infarct heart*

function by hepatocyte growth factor gene transfer. Acta Pharmacol Sin, 2006; 27(5): 555-560.

49: Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. *Experimental myocardial infarction in the rat: qualitative and quantitative changes during pathologic evolution, Am J Pathol, 1978; 90(1): 57-70.*

50: Ushikoshi H, Takahashi T, Chen X, Khai NC, Esaki M, Goto K, Takemura G, Maruyama R, Minatoguchi S, Fujiwara T, Nagano S, Yuge K, Kawai T, Murofushi Y, Fujiwara T, Kosai K. *Local overexpression of HB-EGF exacerbates remodeling following myocardial infarction by activating noncardiomyocytes. Lab Invest, 2005; 85(7): 862-873*

51: Tashiro K, Hagiya M, Nishizawa T, Seki T, Shimonishi M, Shimizu S, Nakamura T. *Deduced primary structure of rat hepatocyte growth factor and expression of the mRNA in rat tissues. Proc Natl Acad Sci USA, 1990; 87: 3200-3204*

52: Nelissen-Vrancken HJ, Debets JJ, Snoeckx LH, Daemen MJ, Smits JF. *Time-related normalization of maximal coronary flow in isolated perfused hearts of rats with myocardial infarction. Circulation, 1996; 93: 349-355.*

53: Taniyama Y, Morishita R, Aoki M, Hiraoka K, Yamasaki K, Hashiya N, Matsumoto K, Nakamura T, Kaneda Y, Ogihara T. *Angiogenesis an antifibrotic action by hepatocyte growth factor in cardiomyopathy. Hypertension, 2002; 40:47.*

54: Azuma J, Taniyama Y, Takeya Y, Iekushi K, Aoki M, Dosaka N, Matsumoto K, Nakamura T, Ogihara T, Morishita R. *Angiogenic and antifibrotic actions of hepatocyte growth factor improve cardiac dysfunction in porcine ischemic cardiomyopathy. Gene Ther, 2006, E-Pub*

55: Jayasankar V, Woo J, Bish LT, Pirolli TJ, Chatterjee S, Berry MF, Burdick J, Gardner TJ, Sweeney HL. *Gene transfer of hepatocyte growth factor attenuates postinfarction heart failure.* Circulation, 2003; 108: II-230.

56: Baks T, van Geuns RJ, Biagini E, Wielopolski P, Mollet NR, Cademartiri F, van der Giessen WJ, Krestin GP, Serruys PW, Duncker DJ, de Feyter PJ. *Effects of primary angioplasty for acute myocardial infarction on early and late infarct size and left ventricular wall characteristics.* J Am Col Cardiol, 2006; 47(1): 40-44.

Danksagung

Meinen besonderen Dank möchte ich Frau Priv.-Doz. Dr. Christiane Waller für die uneingeschränkte Unterstützung und Hilfe bei der Betreuung dieser Arbeit aussprechen.

Für die Präparation der Ratten danke ich Charlotte Dienesch, Günter Kraus, Yvonne Vogt und besonders Korbinian Gollnau. Letzterem möchte ich außerdem meinen Dank für die sehr gute und freundschaftliche Zusammenarbeit während der Promotion aussprechen.

Frau Brigitte Schmidt ein Dankeschön für die Färbung der Schnitte.

Frau Sabine Voll und Herrn Dr. Karl-Heinz Hiller danke ich für die MR-Messungen und die zahlreichen Anregungen und Hilfestellungen bei der Fertigstellung meiner Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Wolfgang Bauer sei Dank für die Bereitstellung des Themas.

Der größte Dank gilt meinen großen Geschwistern Alexandra, Michael und Theresa, und unseren Eltern, Leo und Elisabeth Bathe, für ihre liebevollen und konstruktiven Ratschläge, die mir während des gesamten Studiums den Weg wiesen.

Curriculum vitae

Persönliche Angaben

| | |
|---------------------|--------------------|
| Name | Katharina Bathe |
| Geburtsdatum | 27.06.1981 |
| Geburtsort | Stadtlohn |
| Staatsangehörigkeit | deutsch |
| Religion | römisch-katholisch |
| Familienstand | ledig |

Schulbildung

| | |
|-----------|---|
| 1987-1991 | Grundschule St. Roncalli, Borken-Weseke |
| 1991-2000 | Gymnasium Mariengarden, Borken-Burlo |

Studium

| | |
|-----------------|--|
| WS 2000-SS 2001 | Christian-Albrechts-Universität zu Kiel |
| August 2002 | Ärztliche Vorprüfung |
| WS 2002-SS 2006 | Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg |
| August 2003 | 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung |
| September 2005 | 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung |
| November 2006 | 3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung |

Praktisches Jahr

| | |
|-------------------|---|
| 10/2005 – 01/2006 | Innere Medizin, Krankenhaus Agatharied Lehrkrankenhaus der Universität München |
| 01/2006 – 05/2006 | Chirurgie, Kantonales Spital Herisau Lehrkrankenhaus der Universität Zürich |
| 05/2006 - 09/2006 | Neurologie, Universitätsklinik Würzburg |

Famulaturen

Gynäkologie

Klinikum Rosenheim

Missionsärztliches Klinikum Würzburg

Innere Medizin

Krankenhaus Agatharied

Anästhesie

Missionsärztliches Klinikum Würzburg

Handchirurgie

Praxis Dr. Jakob in Düsseldorf

Würzburg, im November 2006

Katharina Bathe