

**Stimulation der endogenen Kollateralisierung im chronisch ischämischen
Myokard durch die Therapie mit Wachstumsfaktoren
Studien zur segmentalen, myokardialen Verkürzung (SMS)**

Stefanie Emilie Tascher

Aus der Abteilung der Herz- und Gefäßchirurgie der Chirurgischen Klinik der
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau
Vorstand: Prof. Dr. med. F. Beyersdorf

und

aus dem Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung
Vorstand: Prof. Dr. med. B. Gänsebacher
des Klinikums rechts der Isar
der Technischen Universität München

Eingereicht über Prof. Dr. med. vet. J. Hirschberger am Lehrstuhl für Innere Medizin der
kleinen Haustiere und Heimtiere der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Frau Prof. Dr. med. vet. K. Hartmann

Stimulation der endogenen Kollateralisierung im chronisch ischämischen Myo-
kard durch die Therapie mit Wachstumsfaktoren
Studien zur segmentalen, myokardialen Verkürzung (SMS)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität

von
Stephanie Tascher
aus Wadgassen

München 2005

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. DR. A. Stolle

Referent: Prof. Dr. J. Hirschberger

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. R. S. Müller

Tag der Promotion: 11. Februar 2005

Inhaltsverzeichnis

| | Seite |
|--|--------------|
| 1. Einleitung | 1 |
| 2. Literaturübersicht | 2 |
| 2.1 Die koronare Herzkrankheit (KHK) | 2 |
| 2.2 Angiogenese und Arteriogenese | 4 |
| 2.3 Wachstumsfaktoren | 6 |
| 2.3.1 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) | 7 |
| 2.3.2 Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2) | 8 |
| 2.3.3 Granulocyte Macrophage-Colony Stimulation Factor (GM-CSF) | 9 |
| 3. Eigene Untersuchungen | 10 |
| 3.1 Zielsetzung | 10 |
| 3.2 Material und Methoden | 10 |
| 3.2.1 Versuchstiere | 10 |
| 3.2.2 Geräte | 12 |
| 3.2.3 Verbrauchsmaterialien | 13 |
| 3.2.4 Pharmaka | 14 |
| 3.2.5 Versuchsablauf | 15 |
| 3.2.6 Prämedikation und Operationsvorbereitung für alle drei Operationen | 15 |
| 3.2.7 Narkosefortführung | 16 |
| 3.2.8 Erste Operation: Stenose-OP | 17 |
| 3.2.9 Zweite Operation: Operation zur Therapie | 20 |
| 3.2.10 Versorgung nach der ersten und zweiten Operation | 22 |
| 3.2.11 Dritte Operation: End-OP | 22 |
| 3.2.12 Messung der segmentalen, myokardialen Verkürzung | 24 |
| 3.2.13 Statistische Berechnung und Dokumentation | 26 |
| 3.3 Ergebnisse | 27 |
| 3.3.1 Kontrollgruppen | 28 |
| 3.3.2 Therapiegruppen | 29 |
| 3.3.3 Gesamtergebnisse | 34 |

| | |
|---|-----------|
| 4. Diskussion | 38 |
| 4.1 Regionale Funktion | 38 |
| 4.2 Kontrollgruppen | 39 |
| 4.3 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) | 40 |
| 4.4 Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2) | 42 |
| 4.5 Granulocyte Macrophage-Colony Stimulation Factor (GM-CSF) | 44 |
| 4.6 Kombination Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) und Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2) | 45 |
| 4.7 Histologie | 45 |
| 4.8 Molekularbiologische Analyse | 47 |
| 4.9 Ausblick | 47 |
| 4. Zusammenfassung | 48 |
| 5. Summary | 49 |
| 6. Anhang | 50 |
| 7. Literaturverzeichnis | 70 |
| 8. Abkürzungsverzeichnis | 85 |
| 9. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen | 86 |
| 10. Danksagung | 88 |
| 11. Curriculum vitae | 90 |

1. Einleitung

Die Koronare Herzkrankheit (KHK) ist die häufigste Todesursache in den westlichen Industriestaaten. In Deutschland waren 1999 20,7 % aller Todesfälle auf eine Koronare Herzkrankheit zurückzuführen (KREUZER und TIEFENBACHER, 2003).

Die molekulare Kardiologie zeigt neue Möglichkeiten der Therapie einer koronaren Herzkrankheit auf. Der Schwerpunkt wird hierbei auf die Prävention von Restenosen und auf die therapeutische Induktion des Kollateralwachstums gelegt (WALTENBERGER, 2000).

Als Standardverfahren zur Behandlung der therapierefraktären, medikamentös nicht beherrschbaren KHK sind die perkutane transluminale Angioplastie (PTCA) einschließlich ihrer Modifikationen (Laser, Stent etc.), sowie die koronare Bypasschirurgie weltweit etabliert (STEGMANN und HOPPERT, 2000). Da die Restenoserate beider Methoden hoch ist und bei einer PTCA häufig keine vollständige Revaskularisation erfolgen kann (BESTEHORN, 1998), ist man bestrebt, Alternativen zur Revaskularisation zu entwickeln.

Die Bedeutung der Blutgefäßbildung und -entwicklung ist im Rahmen der Tumorentstehung gut bekannt. In neuester Zeit hat die Neoangiogenese zur Behandlung von Hypoxien und Ischämien wissenschaftliche Beachtung und Interesse gefunden (STEGMANN und HOPPERT, 2000).

Therapeutische Angiogenese kann bei der Behandlung von Patienten mit einer vaskulären Erkrankung eine Rolle spielen, bei denen keine Revaskularisation der Originalgefäße mehr zu erreichen ist (LAHAM, 2001).

In vielen Tiermodellen wird der Einsatz von angiogenetisch wirkenden Wachstumsfaktoren zur Verbesserung der Gewebsperfusion durch Neovaskularisation aufgezeigt (FREEDMANN und ISNER, 2002).

Die vorliegenden Untersuchungen sollen einen Ansatz zur therapeutischen Wirksamkeit sowohl von angiogenetisch und als auch von arteriogenetisch wirkenden Wachstumsfaktoren bei einer KHK überprüfen. Es soll auch untersucht werden, ob eine Kombination von Wachstumsfaktoren das Kollateralwachstum am ischämischen Kaninchenherzen fördert und somit eine verbesserte Herzleistung erzielt werden kann.

2. Literaturübersicht

2.1 Die Koronare Herzkrankheit (KHK)

Die KHK wird in den Leitlinien zur Diagnose und Behandlung der chronisch koronaren Herzkrankheit der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie (DIETZ und RAUCH, 2003) als die Manifestation der Artherosklerose an den Herzkranzarterien definiert.

Die Atherosklerose ist eine mit Lipideinlagerungen einhergehende Gefäßveränderung (STUNZI und WEIß, 1990). Diese entspricht einer nichtentzündlichen Fibrose und Sklerose von Arterienwänden.

Im Gegensatz zu Tieren, bei denen die Atherosklerose nur in Einzelfällen beobachtet wird, ist diese eine sehr häufig vorkommende Erkrankung beim Menschen. Im Frühstadium der Erkrankung sind beim Menschen in der Regel keine klinischen Symptome vorhanden, obwohl bereits Störungen der endothelialen Funktion und Lipideinlagerungen in der Gefäßwand vorliegen. Im fortgeschrittenen Stadium tritt mit zunehmender Einengung der Gefäße eine Unterversorgung des Herzmuskels auf, die sich klinisch meist in einer stabilen Angina pectoris äußert. Es kommt gerade bei älteren Patienten und bei Diabetikern zu einer stummen Myokardischämie, bei denen typische Beschwerden einer KHK fehlen (DIETZ und RAUCH, 2003). Die Auslöser krisenhafter Myokardischämien sind in der Regel Plaquerupturen, bzw. Plaqueeosionen. In der Folge kommt es zur Bildung eines Thrombus, der das betroffene Gefäß ganz verschließt, woraus nachfolgend ein akuter Myokardinfarkt im abhängigen Gebiet entsteht. Kommt es zu einem unvollständigen Verschluss des Gefäßes, ist in der Regel mit einer hochgradigen Reduktion des Blutflusses zu rechnen. Diese Reduktion endet in einer instabilen Angina pectoris. Die myokardiale Ischämie kann durch Vasospasmen und koronare Entzündungsvorgänge noch verstärkt werden (DIETZ und RAUCH, 2003).

Therapeutisches Ziel bei der Behandlung einer KHK ist vor allem die Vermeidung von Herzinfarkten bzw. die Entwicklung einer Herzinsuffizienz durch Myokarduntergang.

Beim Menschen stehen dabei Präventivmaßnahmen wie das Vermeiden von Risikofaktoren im Vordergrund. Zu den Risikofaktoren zählen Fettstoffwechselstörungen, Hypertonie, Diabetes mellitus, sowie der Lebensstil in Form von Nikotinabusus, Adipositas und Bewegungsmangel (THURSTON, 1997).

Bei einer KHK ist das Herz nicht mehr in der Lage, die Gewebe mit genügend Blut und damit mit genügend Sauerstoff zu versorgen, um den Gewebstoffwechsel in Ruhe oder unter Belastung sicherzustellen (HOPPE und ERDMANN, 2001).

Die medikamentöse Therapie ist die primäre Behandlungsform einer KHK. Hierbei ist das Hauptziel die Senkung des Sauerstoffbedarfs und eine gleichzeitige Erhöhung des Sauerstoffangebotes (HOPPE und ERDMANN, 2001).

Für hämodynamisch relevante Stenosen stehen heute nur invasive Methoden zur Verfügung, welche eine revaskularisierende Therapie zum Ziel haben. Dies kann durch einen Eingriff an den nativen Koronargefäßen, einer sogenannten perkutanen Koronarintervention erfolgen. Als Standardmethode für eine perkutane Koronarintervention steht die PTCA, welche heute mit oder ohne Einsetzen von Stents durchgeführt wird (BESTEHORN, 1998).

Eine weitere Möglichkeit stellt die koronare Bypass Operation dar, welche stenosierte bzw. verschlossene Gefäße überbrücken soll. Ein großer Vorteil der PTCA-Methode gegenüber der Bypass-Operation ist der nicht invasive Eingriff und die schnellere Erholungsphase für den Patienten. Nachteil dieser Methode ist eine frühere Restenoserungsrate, und häufig sind vollständige Arterienokklusionen mit dieser Methode nicht therapierbar (SMITH et al., 2001). Beide Verfahren werden mit großem Erfolg eingesetzt, jedoch kommt es bei beiden Verfahren zu Restenosen.

Auch sind kleinere, peripher gelegene Koronargefäße durch beide Methoden nicht zugänglich. Bei ca. 15 % der Patienten können diese Methoden nicht angewendet werden, hier kann nur eine unvollständige Revaskularisation durchgeführt werden, da eine diffuse, inoperable Koronarerkrankung vorliegt (SELLKE et al., 2003).

Einen vielversprechenden Therapieansatz stellen hier Wachstumsfaktoren dar, welche Angiogenese und Arteriogenese fördern. Ziel ist es durch neues Gefäßwachstum ein ischämisches Myokardgebiet wieder zu revitalisieren (HAMAWY et al., 1999).

Der Effekt einer direkten, intraoperativen, intramyokardialen Injektion von angiogenetisch wirkenden Faktoren auf die Kollateralbildung wird in mehreren experimentellen Modellen beschrieben (KORONOWSKI et al., 2000)

2.2 Angiogenese und Arteriogenese

Der Mechanismus der Gefäßneubildungen kann in drei Gruppen unterteilt werden: Vaskulogenese, Angiogenese und Arteriogenese.

Unter **Vaskulogenese** versteht man die Bildung eines primitiven Gefäßnetzwerkes im Embryo (CARMELIET, 2000). Dieses entsteht aus dem Mesoderm. Undifferenzierte Vorläuferzellen, die Angioblasten, entwickeln sich zu endothelialen Zellen, die dann einen Gefäßplexus bilden.

Hämangioblasten exprimieren unter Einfluss von Fibroblast Growth Factor (FGF-2) den Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)-Rezeptor-2, welcher dann die Ausdifferenzierung von Hämangioblasten zu Angioblasten induziert. Die weitere Ausdifferenzierung zu röhrenförmigen Strukturen erfolgt dann unter Beteiligung des endothelialen VEGF-Rezeptors-1 (RISAU, 1997; CARMELIET, 2000; CONWAY et al., 2001) und entspricht der Formation eines primitiven Netzwerkes.

Im adulten Organismus findet eine Gefäßneubildung über Arteriogenese und Angiogenese statt.

Unter **Angiogenese** versteht man das Aussprossen und die Teilung vorhandener Gefäße. Angiogenese beginnt mit einer Vasodilatation, welche von einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität begleitet wird. Es kommt zu einer Auflösung des umliegenden Gewebes, somit sind aktivierte und proliferierende Endothelzellen in der Lage, ein neues Gefäßlumen zu bilden. Das schon differenzierte umliegende Gewebe wirkt unterstützend auf die weitere Differenzierung der einwandernden Endothelzellen, welche sich den vorliegenden Bedingungen anpassen (CONWAY et al., 2001). Bei der Angiogenese entstehen somit völlig neue Gefäße. Im Gegensatz hierzu kommt es bei der **Arteriogenese** zu einem Umbau schon vorhandener Gefäße. Hierbei entwickeln sich Kollateralen aus schon bestehenden Arteriolen. Ausgelöst wird dieser Prozess durch Scherkräfte, welche in einem Gewebe mit großen Druckdifferenzen entstehen. An den schon bestehenden Arteriolen haften sich Monozyten an. Diese sind für die Produktion von Wachstumsfaktoren und proteolytischen Enzymen verantwortlich, die dann wiederum die Einwanderung und Teilung von glatten Muskelzellen fördern (SCHOLZ et al., 2001).

Mikrovaskuläres Remodeling im adulten Organismus ist charakterisiert durch eine Reihe von zeit- und stimuli- abhängiger Prozesse, welche Angiogenese, Vaskulogenese, Intussuszeption, Arteriogenese und Regression beinhalten. Unter **Intussuszeption** versteht man die Teilung von vorhandenen Gefäßen in kleinere Gefäße wobei das Gefäßnetzwerk allerdings keine weitere Ausdehnung erfährt. Hierbei werden bereits vorhandene Gefäße durch Einschnürung oder Kompartimentierung via luminal einwachsender Endothelzellpfeiler geteilt. Bei fehlendem Blutfluss, Veränderungen im Stoffwechselbedarf, dem Fehlen von perivaskulären Zellkontakten und Änderungen in der Stimulation von Wachstumsfaktoren kommt es zu einer Regression. Die gezielte Apoptose spielt eine aktive Rolle in der Umstrukturierung des vorhandenen Gefäßnetzwerkes (PEIRCE und SKALAK, 2003).

Therapeutische Angiogenese beschreibt die Methode, einen verbesserten Blutfluss im ischämischen Gewebe durch Neovaskularisation auszulösen, welche durch angiogenetische Stoffe, die als rekombinierte Proteine oder durch Gentransfer verabreicht werden (KHAN et al., 2003 b).

Angiogenese ist abhängig von einem komplexen Zusammenspiel zwischen extrazellulärer Matrix, endothelialen Zellen und Perizyten als Antwort auf ein gestörtes Gleichgewicht von angiogenetischen und angiostatischen Faktoren in der lokalen Umgebung (FRANGOIANIS et al., 2002).

Die Angiogeneseforschung verfolgt drei Ziele:

Prognostische Marker bei Tumorpatienten, antiangiogenetische Therapie und angiogenetische Therapie (FOLKMANN, 1998).

Es ist nachgewiesen, dass VEGF als wichtiger Regulator von normalem und abnormalem Gefäßwachstum wirkt. Um das Gefäßwachstum zu stimulieren, produzieren die Tumorzellen Wachstumsfaktoren. Diese dienen als prognostische Marker bei Tumorpatienten. Heute versucht man diese Wachstumsfaktoren, mit einer antiangiogenetischen Therapie auszuschalten, der wichtigste angiogene Faktor hierbei ist VEGF (FERRARA et al., 2004).

2.3 Wachstumsfaktoren

Wachstumsfaktoren vermitteln entscheidende Funktionen und Signale bei einer Vielzahl physiologischer und pathologischer Prozesse. Somit sind sie an der Entstehung verschiedener Erkrankungen sowie an Regenerations- und Reparatursprozessen beteiligt. Im kardiovaskulären System haben Wachstumsfaktoren bei Arteriogenese und Angiogenese an Bedeutung gewonnen. Wachstumsfaktoren sind potente Regulatoren von Zellfunktion, Proliferation, Migration, Differenzierung, Überlebensdauer und Apoptose von Zellen. Die Stimulation von Zellen durch Wachstumsfaktoren ist ein komplexer und mehrstufiger Vorgang, welcher extrazelluläre Stimuli an die Zielzelle vermittelt und über verschiedene Signalkaskaden abläuft (WALTENBERGER, 1997).

Die Stimulation des Gefäßwachstums konnte in zahlreichen Studien durch verschiedene Arten von Applikationen von Wachstumsfaktoren und deren Genen aufgezeigt werden. Wachstumsfaktoren stimulieren unter anderem die Proliferation und Migration von Endothelzellen und glatten Muskelzellen (HELISCH und SCHAPER, 2000).

Zu den meist erforschten Wachstumsfaktoren zählen die unterschiedlichen Varianten des VEGF und des FGF. EL-GENDI et al. (2002), konnten lokal eine signifikante Erhöhung der endogenen, basalen VEGF- Konzentration bei Patienten mit einer Gefäßokklusion im Vergleich zu Patienten mit einer Gefäßstenose feststellen. Im Vergleich zu VEGF konnte keine Erhöhung der endogenen, basalen FGF-2 Konzentration festgestellt werden. Diese Studie ist der erste Beweis für einen lokalen Anstieg von VEGF bei einer KHK.

CAI et al. (2002), konnten jedoch im frühen Stadium des Gefäßwachstums einen Anstieg von FGF-2 feststellen.

SCHUMACHER et al. (1998) konnten nach Injektion von FGF-1 in das ischämische Herz einer Ratte Neoangiogenese beobachten und wiesen diese angiographisch nach.

2.3.1 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

VEGF wurde 1990 als ein Wachstumsfaktor, der an der Regulation der Angiogenese und Permeabilität der Blutgefäße beteiligt ist, entdeckt (POLTORAK et al., 2000).

In den frühen 90-iger Jahren wurde zum ersten Mal bewiesen, dass VEGF den kollateralen Blutfluss stimulieren kann (EPSTEIN et al., 2000).

Seit 1997 wird VEGF zur Behandlung der KHK eingesetzt (MORISHITA, 2002). Der Wachstumsfaktor VEGF ist ein homodimeres Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 34 bis 46 kiloDalton (kD). Die Expression dieses Faktors wird durch Hypoxie reguliert. Es kommt in einem ischämischen Gewebe zu einer Expression von VEGF. Aus dem Gen, welches humanes VEGF kodiert, entstehen fünf verschiedene mRNA-Varianten. Die Wachstumsfaktoren, welche durch diese mRNA kodiert werden, unterscheiden sich in der Anzahl ihrer Aminosäuren (BAUMGARTNER und ISNER, 2001).

Man geht davon aus, dass die so entstehenden fünf unterschiedlichen Isoformen verschiedene Wirkmechanismen haben. Die beiden größeren Formen, mit 189 und 206 Aminosäuren zeigen eine hohe Affinität zu Heparin. Diese Formen binden an Heparinsulfatproteoglycane im Extrazellularraum und an deren Rezeptoren, welche sich an Zellwänden befinden. VEGF 121 ist die einzige Form aus der VEGF-Familie, die nicht an Heparin bindet, somit besser in die Zellen diffundiert und die Blutgefäßpermeabilität steigert (POLTORAK et al., 2000).

Die drei kürzeren Formen mit 121, 145 und 165 Aminosäuren sind alle in der Lage Angiogenese zu induzieren, die Gefäßpermeabilität zu erhöhen und die Proliferation von endothelialen Zellen zu stimulieren. VEGF hat einen stimulierenden Effekt auf die Expression von Kollagenasen in endothelialen Zellen, diese wiederum lösen die Gewebsstrukturen auf. Somit kommt es zu einer erhöhten Gefäßpermeabilität durch Fenestration der endothelialen Zellen. Ferner kommt es zum Einwandern von Monozyten (PIPP et al., 2003).

Diese Effekte von VEGF werden über zwei Tyrosinkinase-Rezeptoren vermittelt. Fms-like tyrosine kinase ist ein Rezeptor mit einer sehr hohen Affinität zu VEGF. Der zweite Rezeptor, kinase-domain region, ist ein Rezeptor mit einer niedrigen Affinität zu VEGF.

Zusätzlich ist VEGF in der Lage, endotheliale Vorläuferzellen aus dem Knochenmark zu mobilisieren (HELISCH und WARE, 1999).

Obwohl eine Reihe von Studien dafür spricht, dass eine VEGF - Expression in pathologischen Prozessen involviert ist, welche im Zusammenhang mit endothelialer Hyperpermeabilität und Angiogenese stehen, sind die molekularen Mechanismen bisher weitgehend unbekannt (BEHZADIAN et al., 2003).

ZACHARY (2001) vermutet, dass VEGF sowohl negative, als auch positive Auswirkungen auf das kardiovaskuläre System hat, abhängig von der Art der Wirkung und der spezifischen Art der Erkrankung, sowie der Anwesenheit von anderen Zytokinen.

2.3.2 Fibroblast Growth factor (FGF-2)

Der Wachstumsfaktor FGF ist ebenso wie VEGF ein potent, mitogen wirkender Faktor der Endothelzellen. FGF ist ein heparin-bindendes Glykoprotein, welches eine Gruppe von Subtypen von 16 bis 18 kD Einketten-Peptide beinhaltet (STEGMANN und HOPPERT, 2000; KHAN et al., 2003 a). Man zählt mehr als 20 strukturell verwandte Polypeptide mit einer hohen Affinität zu zellulären Heparinsulfaten zur Familie des Fibroblast Growth Factor. Zwei Subtypen der FGF-Familie, das saure FGF-1 und das basische FGF-2 spielen eine große Rolle in angiogenetischen Prozessen.

Sowohl FGF-1 als auch FGF-2 regulieren Angiogenese durch proliferative Prozesse, indem sie chemotaktisch und mitogen auf die Endothelzellen wirken. Ferner induzieren sie die Auflösung des umliegenden Gewebes durch Aktivierung des proteolytischen Systems (AZRIN, 2001). FGF-2 ist an die extrazelluläre Matrix gebunden und wird durch enzymatische Spaltung freigesetzt. Durch die Freisetzung beeinflusst FGF-2 die Endothelzelladhäsion und Zellteilung, welche durch Integrine an der Zelloberfläche vermittelt wird (AUGUSTIN und BREIER, 2003).

FGF bindet an fünf verschiedene Membran-Tyrosin-Kinase-Rezeptoren (FGFR-1-5) um die Proliferation von verschiedenen Zelltypen zu stimulieren. Neben der Stimulierung von endothelialen Zellen ist FGF auch in der Lage, die Proliferation von glatten Muskelzellen anzuregen (RISSANEN et al., 2003).

FGF-1 und FGF-2 sind physiologischer Weise in Herzmuskelzellen zu finden. Man nimmt an, dass sie dort eine autokrine Funktion innehaben, welche die physiologischen, zellulären Prozesse regulieren. Des Weiteren spielt FGF eine Rolle bei der Adaptation des Herzgewebes während einer myokardialen Ischämie (BRIZZI et al., 2001).

Bei Patienten mit einer KHK ist der Serum - FGF-2-Spiegel erhöht (KATINIOTI et al., 2002).

2.3.3 Granulocyte Monocyte-Colony Stimulating Factor (GM-CSF)

Der Granulozyten-Makrophagen-Stimulierende Faktor (GM-CSF) ist ein Wachstumsfaktor, der das Wachstum und die Differenzierung von hämatopoetischen Vorläuferzellen reguliert. Es handelt sich um ein 18-40 kD großes, monomeres Glykoprotein. Dieses wird von T-Zellen, Makrophagen und B-Zellen nach deren Aktivierung sezerniert. Bislang findet GM-CSF Anwendung bei der Regeneration des hämatopoetischen Systems nach Chemotherapien und Knochenmarkstransplantationen. GM-CSF beeinflusst die Überlebensdauer, die Proliferation und Differenzierungsrate von verschiedenen hämatopoetischen Zellpopulationen positiv. Die stärkste Wirkung bei der Modulation der Zelllinien durch GM-CSF ist bei der Granulozyten-Makrophagen-Linie zu beobachten, die Thrombozyten werden nur wenig beeinflusst. Die lymphozytäre Reihe wird nicht von GM-CSF moduliert. In der Peripherie erhöht GM-CSF die Aktivität von neutrophilen und eosinophilen Granulozyten und Makrophagen (BUSCHMANN et al., 2001).

Monozyten spielen eine entscheidende Rolle während der Arteriogenese. Sie beeinflussen das Wachstum und Remodeling von Kollateralarterien (SCHOLZ et al., 2001).

GM-CSF wird durch Scherkräfte, welche nach einer Okklusion wirken, in den Endothelzellen hochreguliert. Der direkte Einfluss von GM-CSF ermöglicht es, die Apoptoserate von zirkulierenden und adherierenden Monozyten, sowie den neu angelockten Makrophagen zu reduzieren (BUSCHMANN et al., 2001).

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Zielsetzung

In der vorliegenden Arbeit soll ein Therapieansatz bei einer chronisch ischämisch myokardialen Herzerkrankung durch Wachstumsfaktoren, bzw. Wachstumsfaktor-Kombinationen aufgezeigt werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, eine Verbesserung der Herzleistung am Kaninchen durch myokardiale Injektion von Wachstumsfaktoren zu erreichen.

Hierzu werden die segmentale, myokardiale Verkürzung (SMS), der regional, myokardiale Blutfluss, sowie histologische und molekularbiologische Untersuchungen ausgewertet. Die vorliegende Arbeit umfasst den Parameter der regionalen Funktion in Form der segmentalen, myokardialen Verkürzung. Der regionale, myokardiale Blutfluss wird von RENNER (in Vorbereitung) untersucht. Die histologische Auswertung der Herzschnitte bearbeitet BREDOW (in Vorbereitung). Die molekularbiologischen Untersuchungen werden von HEILMANN et al. (in Vorbereitung) durchgeführt.

Das Tierversuchsvorhaben wurde durch das Regierungspräsidium Freiburg (Frau Dr. Dietrich) gemäß dem § 8 des Deutschen Tierschutzgesetzes genehmigt.

3.2 Material und Methoden

3.2.1 Versuchstiere

Die 64 weiblichen Kaninchen der Rasse „Weiße Neuseeländer“ stammen von Charles River Deutschland GmbH, Stolzenseeweg 32-36, D-88353 Kißleg oder von Harlan Winkelmann, Gartenstraße 27, D-33178 Borcheln. Die Tiere werden bis zu einem Gewicht von 4 kg in dem Versuchsgut „Landwasser“, welches dem Uniklinikum Freiburg angeschlossen ist, in Freilaufställen gehalten. Die Fütterung ist Heu ad libitum und Aufzuchtsfutter für Versuchstiere. Ebenso erhalten die Tiere hier Wasser ad libitum.

Die Tiere werden je nach Therapieplan in sieben Gruppen eingeteilt (Tab. 1).

Versuchsgruppen

Tabelle 1:

Gruppeneinteilung der Kaninchen und das Untersuchungsschema.

| Gruppen | Nummerierung | Dosierung der Wachstumshormone | Anzahl der Tiere | 1. Messung | 2. Messung | 3. Messung |
|------------------------------|--------------|--------------------------------|------------------|-----------------|------------------------|------------------------|
| | | | | SMS 1 | SMS 2 | SMS 3 |
| | | | | (vor Okklusion) | (5 min nach Okklusion) | 14 Tage nach Okklusion |
| Kontrolle | 1 | | 10 | Tag 0 | Tag 0 | Tag 14 |
| Leerplasmid-Kontrolle | 2 | | 11 | Tag 0 | Tag 0 | Tag 14 |
| VEGF₁₂₁ | 3 | 150 µg | 10 | Tag 0 | Tag 0 | Tag 14 |
| FGF-2 | 4 | 150 µg | 9 | Tag 0 | Tag 0 | Tag 14 |
| GM-CSF | 5 | 150 µg | 8 | Tag 0 | Tag 0 | Tag 14 |
| VEGF +FGF-2 | 6 | je 150 µg | 8 | Tag 0 | Tag 0 | Tag 14 |
| VEGF +FGF-2 | 7 | je 75 µg | 8 | Tag 0 | Tag 0 | Tag 14 |

SMS: segmentale, myokardiale Verkürzung

VEGF₁₂₁: Vascular Endothelial Growth Factor

FGF-2: Fibroblast Growth Factor-2

GM-CSF: Granulocyte-Monocyte-Colony Stimulating Factor

Die erste Kontrollgruppe bleibt unbehandelt.

Die Leerplasmidkontrolle erhält nach sieben Tagen nur das Plasmid. Bei dem Plasmid handelt es sich um ein Expressionsplasmid für Säugetierzellen unter Kontrolle des CMV-Promotors (pCI-neo der Firma Promega)

Die dritte Gruppe erhält nach sieben Tagen 150 µg cDNA von humanem VEGF₁₂₁ in Plasmid-DNA.

Äquivalent erhalten die Tiere in der vierten Gruppe cDNA von humanem FGF-2,

die Tiere in der fünften Gruppe cDNA von humanem GM-CSF.

Die Tiere der sechsten Gruppe erhalten jeweils 150 µg cDNA von VEGF₁₂₁ und FGF-2.

In der siebten Gruppe erhalten die Tiere jeweils 75 µg cDNA von VEGF₁₂₁ und FGF-2 als Plasmid-DNA.

Die DNA ist auf die jeweiligen Dosierungen aliquotiert, es bleibt zu berücksichtigen, dass geringe Mengen der Lösung im Spritzenkonus und der Kanüle verbleiben.

3.2.2 Geräte

Tabelle 2:

Hersteller und Herkunft der verwendeten Geräte.

| Artikel | Hersteller | Ort |
|---------------------------------|---------------------|----------------------|
| Absaugpumpe | Weinman | Hamburg |
| Capnomac ultima | Datex | Duisburg |
| EKG: Siemens Sirecust 404 | Siemens | Erlangen |
| Harvard-Pumpe | Hugo Sachs | March-Hugstetten |
| Infusomat fm | Braun | Melsungen |
| IsofluraneVaporizer 952 | Siemens | Erlangen |
| Kauter: ME81 | Martin | Tuttlingen |
| Oximeter | Radiometer | Kopenhagen, Dänemark |
| Perfusor [®] secura FT | Braun | Melsungen |
| Servoventilator 900C | Siemens-Elema | Solna, Schweden |
| Wärmematte: Aquatherm 640 | Hico- Hirtz & Co | Köln |

3.2.3 Verbrauchsmaterialien

Tabelle 3:

Herkunft und Hersteller der Verbrauchsmaterialien.

| Artikel | Hersteller | Ort |
|--|--------------------------------|----------------------|
| Adhaesiv-Spray, Hautkleber | HLZ Logistik GmbH | Gallin |
| Aesculap Schermaschine Favorita II | Aesculap | Tuttlingen |
| Aesculap Scherkopf GH700 | Aesculap | Tuttlingen |
| Buster OP Cover 90x120 | Heiland | Hamburg |
| Discofix [®] 3-Wege Hahn | Braun | Melsungen |
| Disposable scalpel feather Nr. 21, Nr. 11 | Pfm Produkte für Medizin AG | Köln |
| Elastomull haft | Hartmann | Heidenheim |
| Flint Sprühverband | Togal-Werk | München |
| Hahnenbank Discofix Typ 3-fach | Braun | Melsungen |
| Heidelberger Verlängerung 75 cm | Braun | Melsungen |
| Infusionsbesteck Intrafix [®] Air 150cm | Braun | Melsungen |
| Kanülen, Sterican [®] | Braun | Melsungen |
| Leucoplast 2,5x9,2 | Beiersdorf AG | Hamburg |
| Nahtmaterial | Ethicon | Norderstedt |
| OP Absaugset SumP | Yankauer | Los Angeles, USA |
| Original Infusomat [®] Leitungen Standard | Braun | Melsungen |
| Original Perfusor [®] Leitungen PE Luer Lock, 150 cm | Braun | Melsungen |
| Original Perfusor [®] Spritzen OPS 50 ml Luer Lock | Braun | Melsungen |
| Peha-taft [®] powderfree | Hartmann | Heidenheim |
| Pico 50 Arterial Blood Sampler 1x2 W | Radiometer | Kopenhagen, Dänemark |
| Receptal [®] Einmalabsaugbeutel | Abbott | Donegal, Ireland |
| Spritzen | Braun | Melsungen |
| Ultraschallgel Aquasonic 100 | Parker Laboratories | New Jersey, USA |
| Vasofix [®] Braunülen [®] mit Injektionsventil | Braun | Melsungen |

3.2.4 Pharmaka

Tabelle 4:

Herkunft und Hersteller der Pharmaka.

| Wirkstoff (verwendetes Präparat) | Hersteller | Ort |
|---|----------------------|-----------------|
| Aminosäuren-Lösung mit Elektrolyten, Glucose und Vitaminen des B-Komplexes (Aminin [®] 100 ml) | Merial | Hallbergmoos |
| Atipamezol (Antisedan [®]) | Pfizer | Karlsruhe |
| Atropin (Atropinsulfat [®] Braun 0,5 mg) | Braun | Melsungen |
| Iod (Betaisodona [®] - Lösung) | Braun | Melsungen |
| Probiotikum (Bird Bene Bac [®]) | Albrecht GmbH | Tuttlingen |
| Propofol (Disoprivan [®] 1 %) | Astra Zeneca | Wedel |
| Medetomidin (Domitor [®]) | Pfizer | Karlsruhe |
| Fentanyl (Fentanyl Janssen [®] 0,5 mg) | Janssen Cilac | Beerse, Belgien |
| Isofluran (Forene [®] 250 ml) | Abbott GmbH&Co.KG | Wiesbaden |
| Glucose (Glucose-Lösung 5 %) | Delta Pharma | Pfullingen |
| NaCl (Isotonische Natriumchlorid-Lösung 0,9 %) | Delta Select | Ingelheim |
| KCl (Kaliumchlorid) | Braun | Melsungen |
| Ketamin (Ketamin [®] 10 %) | Essex Tierarznei | München |
| Heparin-Natrium (Liquemin [®] N 500) | Roche | Grenzach Wyhlen |
| NaHCO ₃ (Natriumhydrogencarbonat-Lösung 8,4%) | Fresenius Kabi | Bad Homburg |
| Metoclopramid (Paspertin [®] 10 mg / 2 ml) | Solvay Arzneimittel | Hannover |
| Caprofen (Rimadyl [®] Injektionslösung) | Pfizer | Karlsruhe |
| Vollelektrolytlösung (Ringer [®] Spüllösung 1000 ml) | Delta Pharm | Pfullingen |
| Prednisolon (Solu-Decortin [®] H 25) | Merck | Darmstadt |
| Vollelektrolytlösung (Stereofundin [®] BG-5, 1000 ml) | Braun | Melsungen |
| Epinephrin (Suprarenin [®] Ampullen) | Aventis | Frankfurt/Main |
| Buprenorphin (Temgesic [®] Ampullen 5x1ml) | Essex Pharma | München |
| Lidocain (Xylocain [®] 2 %) | Astra Zeneca | Wedel |

3.2.5 Versuchsablauf

Bei den Kaninchen werden jeweils drei Operationen unter Vollnarkose durchgeführt. In der ersten Operation wird den Tieren im Bereich des mittleren Drittels der linken Ventrikelwand der Ramus interventrikularis paraconalis mit einem Prolene 6-0 Faden abgebunden, um einen Infarkt zu erzeugen, in dessen Randzone ein Gebiet einer chronischen Ischämie entsteht. Während der ersten Operation (Abb. 1) wird zwei Mal sonomikrometrisch (Abb.7) die segmentale, myokardiale Verkürzung gemessen. Die erste Messung erfolgt unmittelbar vor dem Setzen der Okklusion (Abb. 2), die zweite Messung fünf Minuten nach Setzen der Okklusion (Abb. 3).

Sieben Tage nach der ersten Operation wird in einer zweiten Operation der regionale, myokardiale Blutfluss mit fluoreszierenden Mikrosphären bestimmt. Nach der Messung erfolgt die Therapie mit cDNA der einzelnen Wachstumsfaktoren oder mit cDNA der Wachstumsfaktoren-Kombinationen, welche direkt intramyokardial an fünf definierte Stellen, drei im Randgebiet zwischen gesunden und ischämischen Gewebe und zwei direkt im ischämischen Gebiet, injiziert werden. 14 Tage nach der ersten Operation erfolgt dann die dritte Operation, in der sowohl die segmentale, myokardiale Verkürzung, als auch der regionale, myokardiale Blutfluss ermittelt wird.

3.2.6 Prämedikation und Operationsvorbereitung für alle drei Operationen

Als Narkoseprämedikation bekommen die Tiere Medetomidin (Domitor[®], Pfizer) 0,15 mg / kg KM und Ketamin (Ketamin 10%[®], Essex) 15 mg / kg KM i.m. verabreicht. Es erfolgt das Legen eines venösen Zugangs mit einer Venenverweilkanüle (20G) mit Injektionsventil (Vasofix Braunüle Luer Lock[®], Braun) in die linke Ohrtrandvene. Ferner injiziert man ein Breitbandantibiotikum (Tardomycel[®]compIII) 0,5 ml / kg KM subkutan. Nach Scheren des Operationsfeldes und der Stellen für EKG- und Kauterelektrode intubiert man die Tiere mit einem blockbaren Tubus (I.D.2,5-3,5). Zur Intubation bekommen die Tiere, falls der Schluckreflex noch vorhanden ist, zur Vertiefung der Narkose Propofol (Disoprivan 1%[®], Astra Zeneca) in einer Dosierung von 5 mg / kg KM i.v..

Während der Narkoseeinleitung, dem Legen eines Venenkatheters und vor der Intubation werden die Tiere über eine Maske mit Sauerstoff oxigeniert.

Die Tiere werden auf einer Wärmematte in die rechte Seitenlage gebracht und der Kopf leicht nach dorsal überstreckt, um die rechte ventrale Halsregion, über die die Arteria carotis sinistra (A. carotis sin.) in der zweiten Operation und die Arteria carotis dextra (A. carotis dex.) in der dritten Operation freipräpariert werden, besser darstellen zu können.

Die Elektroden für ein Oberflächenelektrokardiogramm (bipolare Ableitung nach Einthoven) werden an den proximalen Extremitätenstellen angebracht, ebenso wird die Kauterelektrode im Bereich des rechten Oberschenkels unter die Tiere gelegt. Das OP-Feld wird mit Betaisodonna-Lösung desinfiziert und das Kaninchen wird mit sterilen Einmaltüchern (Buster OP Cover[®], 90x120 cm) bis auf den Operationsbereich abgedeckt.

3.2.7 Narkosefortführung

Die Kaninchen werden über den Tubus an die maschinelle Beatmung angeschlossen, wobei der Sensor des Kapnographen zwischengeschaltet ist. Ferner bekommen die Tiere während der gesamten Operationszeit körperwarme Vollelektrolytlösung in einer Dosierung von 10ml /kg KM / h infundiert. Zusätzlich zur Inhalationsnarkose mit Isofluran (Forene[®], Abott) werden die Tiere über eine Hahnenbank Fentanyl (Fentanyl Janssen 0,5mg[®], Janssen Cilac) und Propofol (Disoprivan 1%[®], Astra Zeneca) nach Bedarf i.v. infundiert. Während der gesamten Operationszeit werden die Tiere aufgrund der Thorakotomie mit 95-100 Vol % Sauerstoff ventiliert. Die Narkoseausleitung sollte nach Verschluss des Thorax beginnen. Zur Analgesie injiziert man den Tieren gleichzeitig mit der Narkoseausleitung Buprenophinhydrochlorid (Temgesic[®]) in einer Dosierung von 0,05 mg / kg KM i.v..

3.2.8 Erste Operation: Stenose - OP

Der Hautschnitt, der etwa vom lateralen Rand des Musculus (M.) iliocostalis thoracis bis über die Rippen-Knorpelgrenze reicht, wird bogenförmig im siebten oder achten Zwischenrippenraum geführt.

In gleicher Länge wird der M. cutaneus trunci und die im Incisionsbereich liegenden Anteile des M. latissimus dorsi, des M. serratus ventralis und des M. obliquus externus abdominis durchtrennt.

Die Musculi (Mm.) intercostales externus et internus im fünften Interkostalraum werden mit einer Metzenbaumschere vorsichtig durchtrennt. Dabei ist zu beachten, dass der Schnitt in der Mitte des Interkostalraumes zu legen ist, um die kranial und kaudal der Rippen verlaufenden Interkostalgefäße zu schonen. Nun erfolgt der Einschnitt der Pleura costalis. Durch das Einlegen eines Rippenspreizers und das Auseinanderdrücken der Rippen kann ein ausreichender Zugang geschaffen werden. Zur Schonung der Lungenanteile werden diese mit feuchten Kompressen bedeckt und so seitlich verschoben, dass der Herzbeutel sichtbar wird.

Das Perikard wird mit einer feinen Metzenbaumschere über die ganze Herzachse unter Schonung des Nervus (N.) phrenicus eröffnet (Abb. 1).

Es erfolgt die Messung der segmentalen, myokardialen Verkürzung über Ultraschallkristalle. Hierzu werden zwei 1 mm große Ultraschallkristalle in das Myokard implantiert. Hier ist das Ausstanzen von Myokard an den betreffenden Stellen notwendig. Dies erfolgt am besten mit einer Venenverweilkänüle (Vasofix Luer Lock[®], 16G 1“, Braun). Nach dem Ausstanzen wird die Blutung mit Tupfern gestillt. Erst wenn die Blutung gestillt ist, nimmt man mit einer feinen anatomischen Pinzette die Kristalle und platziert diese in den ausgestanzten Myokardbereich. Die Platzierung der Kristalle hängt von der Topographie der Herzgefäße ab. Günstig ist die Implantation im Myokard des linken Ventrikels, wobei darauf zu achten ist, dass der Abstand der Kristalle 1 cm betragen sollte. Ein Kristall sollte in Apexnähe platziert werden, der zweite Kristall sollte basal der im Anschluss an die Messung zu setzenden Stenose implantiert werden. Nach Implantation der Kristalle erfolgt nun die erste Messung (SMS1) der segmentalen, myokardialen Verkürzung (Abb. 2).

Im Anschluss an die Messung wird die Stenosierung des Ramus interventricularis paraconalis bzw. eines arteriellen Seitenastes mit Prolene 6/0 zwischen mittlerem und unterem Drittel des Ramus angelegt (Abb. 2,3). Eine weitere Messung (SMS2) der segmentalen, myokardialen Verkürzung erfolgt fünf Minuten nach Setzen der Okklusion. Nach der zweiten Messung werden die Kristalle explantiert.

Nun wird die Thoraxwunde verschlossen. Die gespreizten Rippen werden wieder aneinander gebracht und dabei die durchtrennte Interkostalmuskulatur unter mäßigem Druck adaptiert. Zur Fixaktion der Rippen werden mit einer gebogenen Nadel drei bis fünf Fäden (Vicryl® 2-0, Ethicon) als Knopfheft durch die kranial und kaudal benachbarten Zwischenrippenräume vorgelegt werden. Die Durchstechung der Interkostalmuskulatur darf wegen der Möglichkeit einer Gefäßverletzung nicht nahe am kaudalen Rippenrand erfolgen. Für die Nadelführung sollte die Exspirationsphase genutzt und gegebenenfalls die Lunge mit einem Löffel vor Nadelstichen geschützt werden.

Zur Komplettierung des Unterdruckes in der Pleurahöhle wird eine Thoraxdrainage vorgelegt. Als Thoraxdrainage kann eine Venenverweilkanüle (Vasofix Luer Lock®, Größe 14G,2) verwendet werden.

Nun werden die vorgelegten Fäden geknüpft. Nach Verschluss der Rippen wird die Lunge insuffliert und gleichzeitig über die Drainage die atmosphärische Luft aus der Pleurahöhle entfernt.

Die durchtrennten Muskeln der Thorakotomiewunde und die oberflächliche Faszie werden schichtweise mit fortlaufenden Nähten (Vicryl® 3-0, Ethicon) adaptiert. Zur Vermeidung einer Hohlraumbildung sollten bisweilen die Schichten durch tiefgreifende Fadenführung miteinander verbunden werden.

Es erfolgt dann die Hautnaht mit Einzelheften.

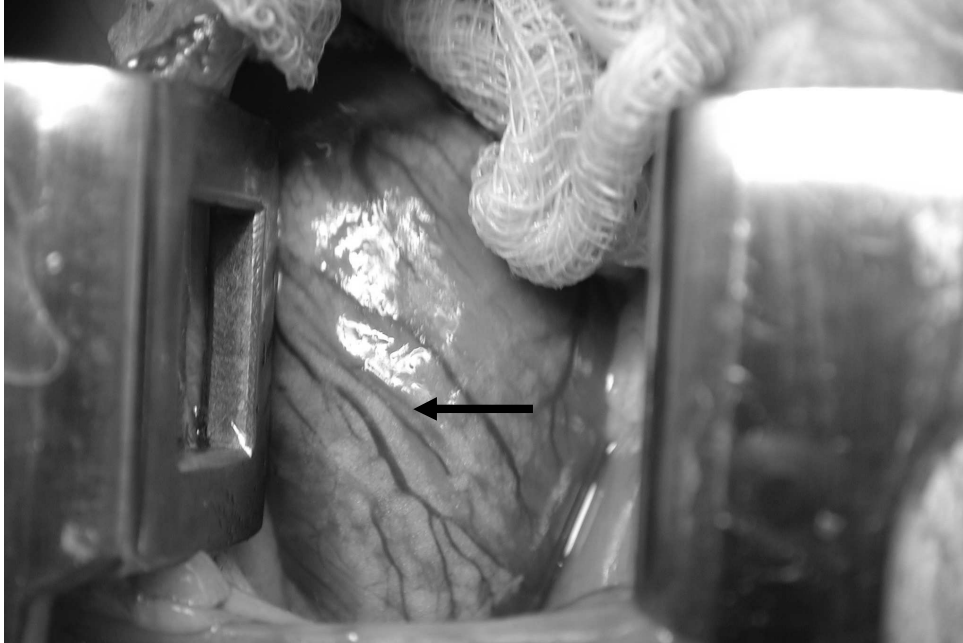


Abbildung 1:

Sicht auf den Ramus interventricularis paraconalis (Pfeil) bei eröffnetem Herzbeutel während der ersten Operation.

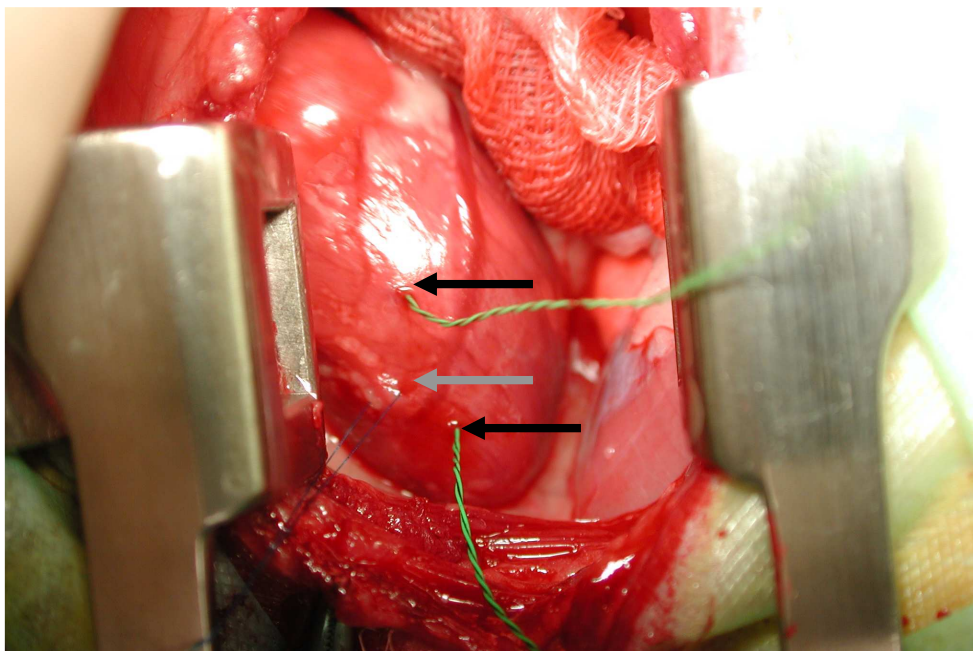


Abbildung 2:

Die Platzierung der Ultraschallkristalle (schwarze Pfeile) und die Lage des Fadens (grauer Pfeil) während der ersten Operation.

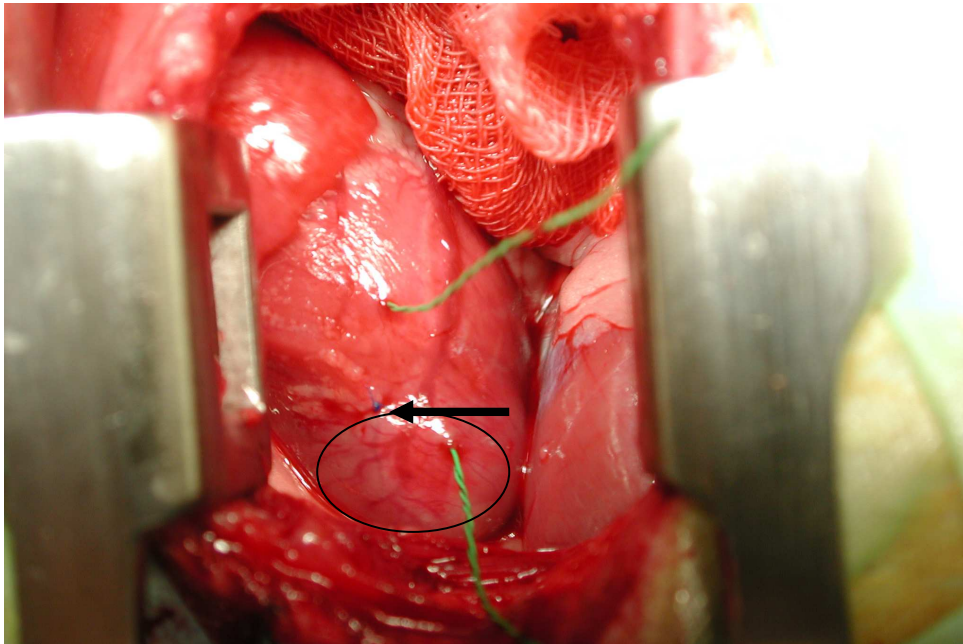


Abbildung 3:

Veränderung der Herzmuskulatur (Elipse) nach Setzen des Infarktes durch Okklusion des Gefäßes mit einem Prolenefaden (Pfeil).

3.2.9 Zweite Operation: Operation zur Therapie

Sieben Tage nach der ersten Operation erfolgt die zweite Operation.

Hier erfolgt die Messung des regionalen, myokardialen Blutflusses und die Therapie mit cDNA der einzelnen Wachstumsfaktoren.

Der Hautschnitt wird an der linken Halsseite vom Kieferwinkel bis zur Apertura thoracis gelegt und die Hautmuskulatur durchtrennt. Unter Schonung der Vena (V.) jugularis und der Halsnerven werden die Mm. omotransversarius, cleidomastoideus und cleidobasilaris freipräpariert. Durch stumpfe Präparation wird die A. carotis communis sinistra dargestellt. Mit einer feinen Metzenbaumschere wird diese vom Bindegewebe befreit und mit einem Faden (Vicryl® 3-0, Ethicon) angezügelt. Die nun durch die Haltezügel unter Spannung stehende A. carotis communis sinistra wird mit einem kleinen Skalpell inzidiert (Abb. 4). Durch die offen gehaltene Inzision wird eine arterielle Schleuse eingeführt. Als arterielle Schleuse dient ein Venenverweilkatheter (Vasofix Luer Lock® Größe 20G 1^{1/4}). Um ein Ausschwemmen dieser Schleuse zu vermeiden, wird diese mit einem Faden (Vicryl® 3-0, Ethicon) an der Arterie fixiert (Abb. 4).

Es erfolgt eine Thorakotomie wie bereits bei der ersten Operation beschrieben.

Nach Darstellung des Herzens wird nun die Injektion der Mikrosphären unter gleichzeitiger Aspiration einer Referenzprobe aus der A. carotis communis sinistra zur Messung des regionalen, myokardialen Blutflusses durchgeführt. Hierzu schließt man an die arterielle Schleuse über eine Verbindungsleitung[®] (Größe: Durchmesser 1,2-2,2mm, 30cm, Braun) die Harvard-Pumpe an, welche mit einer Fördergeschwindigkeit von 3,24 ml / min. die Blutreferenzprobe aus der A. carotis sin. aspiriert. Gleichzeitig injiziert man die Mikrosphären, welche vor der Injektion aufgezogen und mit 0,9 % NaCl-Lösung ad 10 ml aufgefüllt werden in den linken Vorhof des Herzens.

Bei den Therapiegruppen erfolgt die Injektion der Wachstumsfaktoren an fünf Stellen, drei am makroskopisch erkennbaren Grenzgebiet der Ischämie und zwei im Ischämiegebiet selbst. Die erste Kontrollgruppe bleibt unbehandelt. Bei der zweiten Kontrollgruppe wird analog zur Injektion der Wachstumsfaktoren Leerplasmid verabreicht.

Es folgt der Verschluss des Thorax wie bei der ersten Operation beschrieben.

Die arterielle Schleuse in der linken A. carotis communis wird entfernt, das Gefäß ligiert und die Hautwunde mit Einzelknopfheften verschlossen.

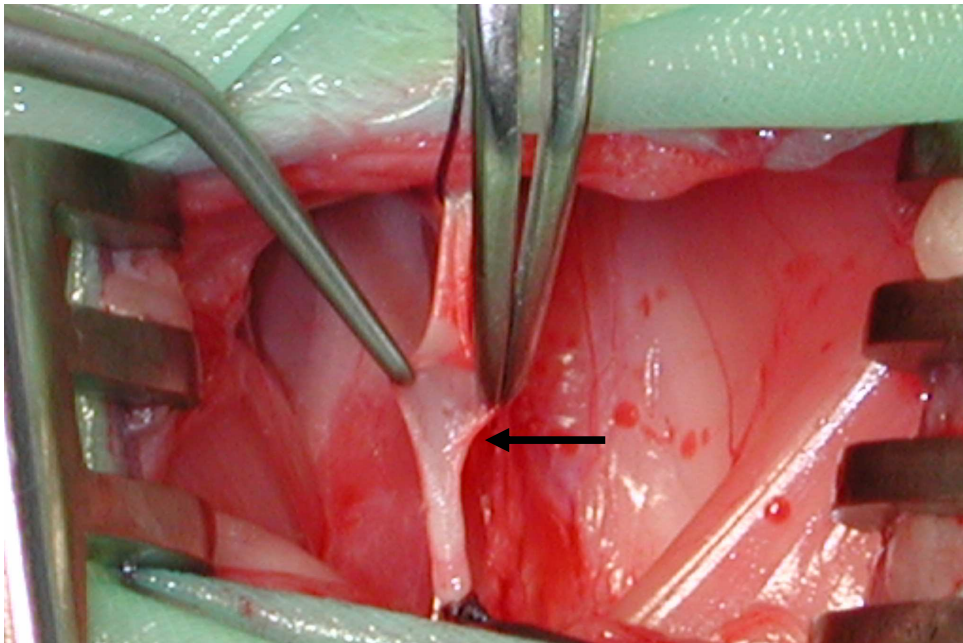


Abbildung 4:

Sicht auf die freipräparierte A. carotis sin. (Pfeil) während der zweiten Operation.

3.2.10 Versorgung nach der ersten und zweiten Operation

Zur postoperativen Analgesie bekommen die Kaninchen bei Narkoseausleitung in den ersten beiden Operationen Buprenorphin (Temgesic®) in einer Dosierung von 0,05 mg / kg KM i.v.. Die Analgesie wird je nach Befinden der Kaninchen über ein bis zwei Tage alle acht Stunden fortgesetzt. Im weiteren Verlauf erhalten die Tiere Carprofen (Rimadyl®) 0,2 ml / Tier / Tag über zwei Tage. Weiterhin wird bei Tieren, die eine lange Aufwachphase, in der Regel über 30 Minuten haben, eine Bestimmung des Säure-Basen-Status durchgeführt, um gegebenenfalls Defizite auszugleichen.

Ferner ist auf die Futter- und Wasseraufnahme der Kaninchen zu achten.

Zur Unterstützung der Darmflora erhalten die Tiere postoperativ Lactobazillen (Bird Bene Bac®).

Sollten die Kaninchen am Tag nach der Operation noch kein Futter zu sich genommen haben, so führt man eine Infusionstherapie mit Vollelektrolyt-Lösung und Aminosäuren durch. Gleichzeitig ist eine Zwangsernährung mit Karottenbrei bzw. in Wasser aufgeweichten Futterpellets durchzuführen. Weiterhin wird den Tieren, um die Motilität des Magen-Darm-Traktes zu fördern 0,25 mg / kg KM Metoclopramid (Paspertin®) s.c. injiziert. Um einer Automutilation im Nahtbereich entgegenzuwirken kann in Ausnahmefällen ein Thoraxverband angelegt werden.

3.2.11 Dritte Operation: End-OP

Die End-OP findet sieben Tage nach der Therapie-OP statt. Wie bei der Therapie-OP wird über einen Halszugang die A. carotis communis dextra freigelegt. Hierbei erfolgt eine Eröffnung der Hautschnittwunde auf der linken Halsseite. Man präpariert in Richtung der schon bei der Therapie-OP ligierten A. carotis communis sinistra. Durch stumpfe Präparation zwischen prätrachealer Muskulatur und des M. sternohyoideus gelangt man paratracheal zur A. carotis communis dextra. Diese wird wie bereits in der Therapie-OP beschrieben angezügelt und mit einer arteriellen Schleuse versehen.

Es erfolgt die zweite Rethorakotomie. Im Anschluss wird, wie bei der ersten Operation beschrieben, eine dritte Messung der segmentalen, myokardialen Verkürzung (SMS3) durchgeführt. Ferner wird ebenso wie bei der Therapie-OP die Messung des myokardialen Blutflusses durchgeführt.

Im Anschluss erfolgt unter tiefer Narkose die Explantation des Herzens, welches nun für die weiterführenden Untersuchungen aufgearbeitet wird (Abb. 5,6).

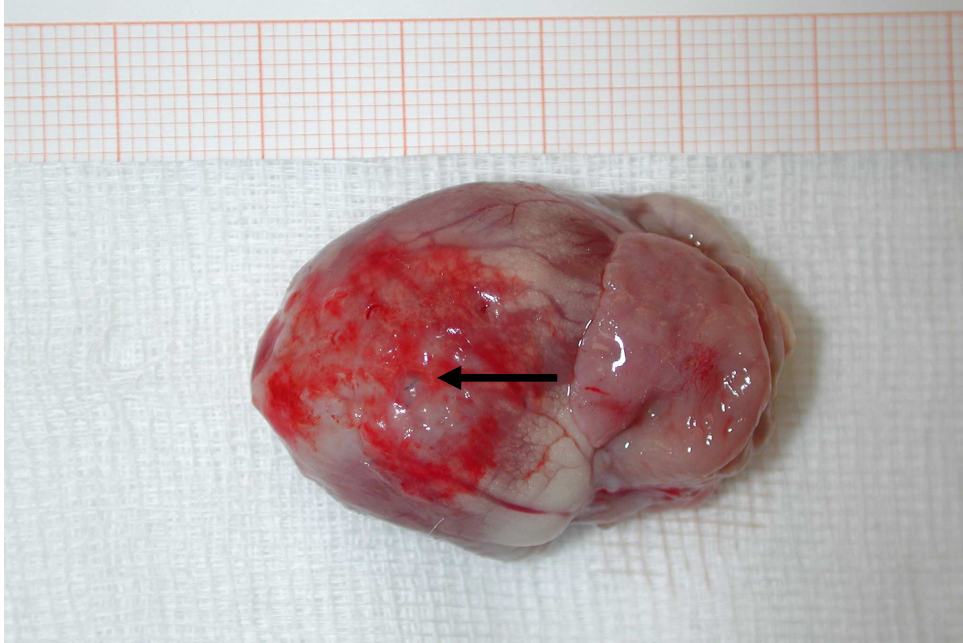


Abbildung 5:

Entnommenes Herz nach der dritten Operation. Der Pfeil zeigt auf die Gefäßligatur.

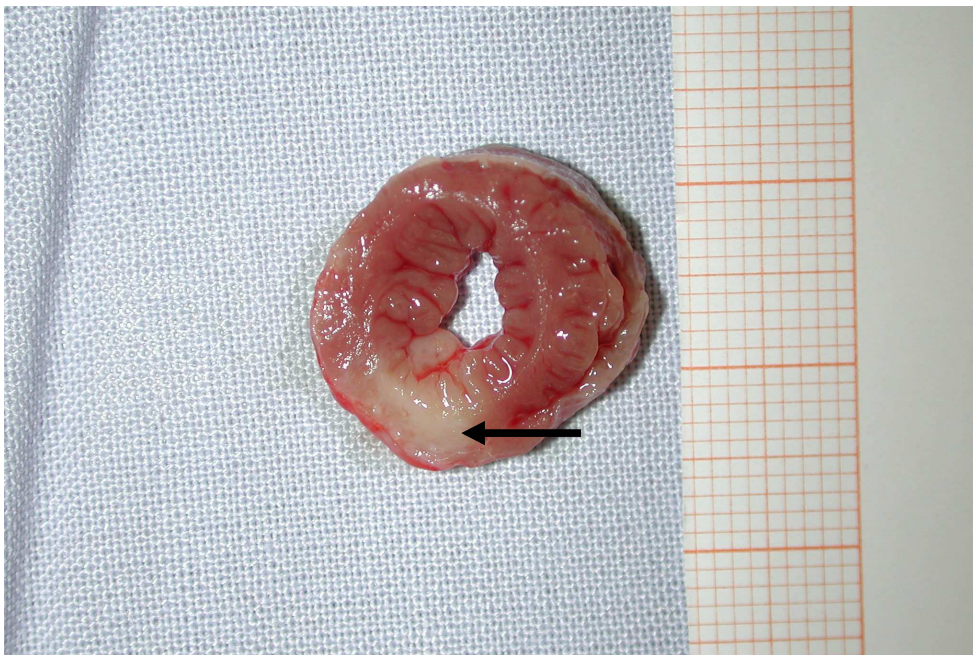


Abbildung 6:

Aufbereitetes Herz für die histologische Untersuchung mit Infarktbereich (Pfeil).

3.2.12 Messung der segmentalen, myokardialen Verkürzung

Anhand der segmentalen, myokardialen Verkürzung (SMS) kann man eine Aussage über die regionale Kontraktilität treffen. Die myokardiale, segmentale Verkürzung wird mit Hilfe der Sonomikrometrie gemessen. Sonomikrometrie ist eine Methode, welche Entfernungen über Schall misst. In der vorliegenden Studie verwendet man ein digitales System der Firma Sonometrics, London, Ontario (Abb. 7).

Ultraschallkristalle, welche aus piezoelektrischer Keramik bestehen, senden und empfangen Ultraschallwellen.

In dem Versorgungsgebiet des Ramus interventricularis paraconalis werden zwei Ultraschallkristalle im Abstand von einem Zentimeter in das Myokard implantiert. Die Kristalle werden so platziert, dass einer in Apexnähe und der zweite basal der Okklusion in dem Myokard zu liegen kommt (Abb. 2). Es ist darauf zu achten, dass die Ausrichtung der Kristalle entsprechend der Faserorientierung der Wand des linken Ventrikels verläuft, um die Kontraktilität zu messen.

Ein Kristall sendet nun kurze piezoelektrische Impulse zum zweiten Kristall. Das digitale System misst die Zeitspanne, die ein einzelner Impuls braucht, um vom ersten zum zweiten Kristall zu gelangen.

Die segmentale, myokardiale Verkürzung wird unmittelbar vor der Okklusion des Ramus interventricularis paraconalis (erste Messung, SMS1), fünf Minuten nach der Okklusion (zweite Messung, SMS2) und während der dritten Operation (dritte Messung, SMS3), 14 Tage nach Okklusion, gemessen.

Bei jeder Messung werden pro Tier 10 enddiastolische und 10 endsystolische Längen ausgemessen und daraus die jeweilige SMS errechnet. Diese Werte werden zu jeweils einem Mittelwert pro Tier zusammengefasst. Im Folgenden werden dann die einzelnen Tiere der einzelnen Gruppen zusammengefasst.

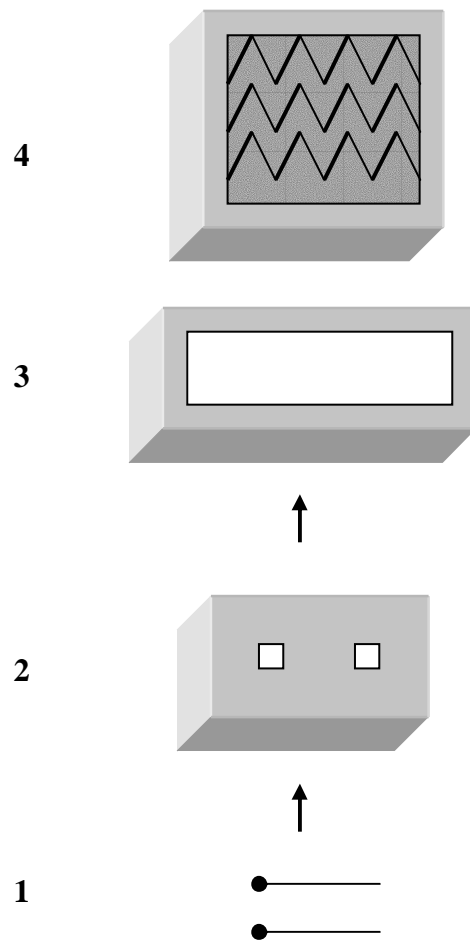


Abbildung 7:

Sonomikrometriesystem

1 Piezoelektrische Kristalle

2 Sende- und Empfangseinheit

3 IBM-kompatibler Rechner

4 Bildschirm während der SMS-Messung

Über die Formel: $\text{Weg} = \text{Geschwindigkeit} \times \text{Zeit}$ kann der Abstand der beiden Kristalle zueinander während der Diastole und Systole berechnet werden, da die Schallgeschwindigkeit im weichen Gewebe bekannt ist. Über den Abstand der beiden Kristalle während der Diastole und Systole kann somit die segmentale, myokardiale Verkürzung errechnet werden.

Um die regionale Kontraktilität zu bestimmen wird die segmentale, myokardiale Verkürzung in Prozent errechnet.

Diese errechnet man über die Formel: $\text{SMS (\%)} = [(\text{EDL} - \text{ESL}) / \text{EDL}] \times 100$

EDL steht für die enddiastolische Länge und ESL für die endsystolische Länge.

3.2.13 Statistische Berechnung und Dokumentation

Die Tabellenkalkulation, in der die Auswertungen der segmentalen, myokardialen Verkürzung über die enddiastolischen und endsystolischen Längen errechnet werden, wird mit Microsoft Excel 97 für Windows durchgeführt.

Die statistische Auswertung wird mit SPSS Version 10.0 für Windows erstellt.

In der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) werden die Messungen der unabhängigen Datengruppen (erste, zweite und dritte Messung) miteinander verglichen.

Die einfaktorielle ANOVA für unabhängige Messungen ist mit dem t-Test vergleichbar, jedoch können mehr als zwei Gruppen gleichzeitig verglichen werden. Die Varianz zwischen den Gruppen ergibt sich aus drei Quellen:

1. Systematische Unterschiede zwischen den Gruppen
2. Individuelle Unterschiede der Subjekte innerhalb einer Gruppe
3. Experimenteller Fehler

Die sogenannte „Intravarianz“ (Varianz innerhalb einer Gruppe) umfasst zwei Komponenten: Individuelle Unterschiede und experimentellen Fehler. Man erhält die sog. Fehlervarianz, die mit Ausnahme des systematischen Fehlers, wie die „Intervarianz“ von der gleichen Variabilität beeinflusst wird.

Nachfolgend werden mit dem Post-hoc-Test die Gruppen der dritten Messung paarweise mit der ersten und zweiten Messung mit dem Fischer's Least Difference (LSD)-Test verglichen.

Es wird ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt.

In Kapitel 3.3 Ergebnisse werden die Mittelwerte und Standardabweichungen aus den drei SMS-Messungen sowie die Signifikanzberechnungen zwischen den SMS-Messungen innerhalb einer Gruppe und die Signifikanzberechnungen zwischen den Gruppen während einer Messung dargestellt.

3.3 Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit soll ein Therapieansatz bei einer chronisch ischämischen Myokardveränderung mit Hilfe von Wachstumsfaktoren gefunden werden. Um eine Veränderung der myokardialen Kontraktilität zu erfassen, wird die segmentale, myokardiale Verkürzung (SMS) berechnet. Dazu werden jeweils die enddiastolische Länge (EDL) und die endsystolische Länge (ESL) gemessen und dann die SMS nach der Formel $SMS (\%) = [(EDL-ESL) / EDL] \times 100$ berechnet (siehe auch Kap. 3.2.12).

Bei jedem Kaninchen wird die SMS vor dem Verschluss des Ramus interventricularis paracanal, fünf Minuten nach dem Verschluss des Ramus interventricularis paracanal und in der dritten Operation, 14 Tage nach Okklusion, gemessen (Tab. 11).

Die Tiere werden in sieben Gruppen eingeteilt. Die ersten beiden Gruppen (Kontroll- und Leerplasmidgruppe) dienen hierbei als Kontrollgruppen.

Es folgen fünf weitere Gruppen (Gruppe 3-7), von denen drei mit verschiedenen Wachstumsfaktoren und zwei mit Wachstumsfaktorkombinationen therapiert werden.

Die erste und zweite Messung der segmentalen, myokardialen Verkürzung erfolgt bei allen Kaninchen unter gleichen Bedingungen. Die dritte Messung wird sieben Tage nach der Behandlung durchgeführt.

Um die SMS-Werte (Absolutwerte) der verschiedenen Gruppen besser vergleichen zu können, setzt man die Werte der SMS1 der jeweiligen Gruppe gleich 100 % und bezieht die veränderten Werte der SMS2 und der SMS3 jeweils auf diese 100 %-Werte (Relativwerte).

Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ($p = 0,397$) bei der ersten Messung (Tab. 6) und mit $p = 0,628$ bei der zweiten Messung, (Tab. 7).

Sieben Tage nach der Therapie kann in der dritten Messung (Tab. 8) ein signifikanter Unterschied zwischen der ersten Kontrollgruppe und der Leerplasmidgruppe und den 5 Therapiegruppen festgestellt werden ($p = 0,003$).

3.3.1 Kontrollgruppen

Kontrollgruppe 1:

Absolutwerte

Die erste Kontrollgruppe (Kontrolle: Gruppe 1) besteht aus 10 Tieren, bei denen lediglich die Okklusion gesetzt worden ist. Durch die Okklusion ist eine Abnahme der segmentalen, myokardialen Verkürzung von $13,42 \% \pm 3,94$ bei dem ersten Wert auf $10,42 \% \pm 3,28$ bei dem zweiten Wert und auf $3,25 \% \pm 1,64$ bei dem dritten Wert zu verzeichnen (Tab.5).

Es ist ein signifikanter Unterschied zwischen dem ersten und dritten Wert ($p = 0,000$). Zwischen den Werten von SMS1 und SMS2 besteht eine Signifikanz ($p = 0,013$). Ebenso ist zwischen dem zweiten und dritten Wert innerhalb der Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied zu verzeichnen ($p = 0,000$) (Tab. 5).

Relativwerte

Um die Veränderungen in der Kontraktilität des Herzmuskels in % der beiden Kontrollgruppen sowie der fünf Therapiegruppen besser darstellen zu können, wurden die jeweiligen Werte der segmentalen, myokardialen Verkürzung (SMS1) aus Tab. 5 gleich 100 % gesetzt.

Hieraus ergibt sich bei der zweiten Messung (SMS2) der Kontrollgruppe 1 eine Kontraktilität von 77,64 % und für die dritte Messung eine Kontraktilität von 24,21 % des Ausgangswertes. Das heißt, die Kontraktilität nimmt im Verlauf des Versuches ab.

Leerplasmidgruppe (Kontrolle 2):

Die zweite Kontrollgruppe (Leerplasmidkontrolle: Gruppe 2) besteht aus 11 Tieren. Diese Tiere bekommen bei der zweiten Operation 0,2 ml Leerplasmid, aufgeteilt auf fünf Stellen im ischämischen Gebiet injiziert.

Absolutwerte

Es erfolgt eine Abnahme der segmentalen, myokardialen Verkürzung von $16,29 \% \pm 5,00$ bei der ersten Messung auf $12,67 \% \pm 3,72$ bei der zweiten Messung und auf $6,03 \% \pm 2,35$ bei der dritten Messung. Es bestehen signifikante Unterschiede zwischen dem ersten und dritten SMS-Wert ($p=0,000$) und dem ersten und zweitem SMS-Wert ($p=0,033$), sowie dem zweiten und dritten SMS-Wert ($p=0,000$) innerhalb der Gruppe (Tab. 5).

Relativwerte

Es ist eine Abnahme der Kontraktilität auf 77,77 % bei der zweiten Messung und eine weitere Abnahme der Kontraktilität auf 37,02 % bei der dritten Messung zu verzeichnen.

Im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe (24,21 %) ist bei der Leerplasmidgruppe eine geringfügige Zunahme der Kontraktilität (37,02 %) zu verzeichnen (Tab. 5).

3.3.2 Therapiegruppen

Es werden Therapien mit unterschiedlichen Wachstumsfaktoren, bzw. Wachstumsfaktorkombinationen durchgeführt. In dem Versuch werden drei einzelne Wachstumsfaktoren und zwei Wachstumsfaktorkombinationen in Form von Plasmiden getestet (Tab. 5,9,10).

Als Einzelfaktoren werden VEGF-121 (n = 10), FGF-2 (n = 9) und GM-CSF (n = 8) in einer Dosierung von jeweils 150 µg eingesetzt.

Als Wachstumsfaktorkombinationen wird VEGF-121 + FGF-2 (n = 8) in zwei Dosierungen (jeweils 150 µg VEGF-121 und FGF-2 (n = 8), jeweils 75 µg VEGF und FGF-2(n = 8)) verwendet.

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

Absolutwerte

Bei der Therapie mit VEGF-121 konnte eine Abnahme der segmentalen, myokardialen Verkürzung von 14,6 % ± 7,52 (SMS1) auf 13,1 % ± 6,80 (SMS2) und 5,73 % ± 3,00 (SMS3) (Tab. 5) berechnet werden. Innerhalb der Gruppe ist ein signifikanter Unterschied zwischen dem ersten und dritten (p=0,001) und zwischen zweitem und dritten Wert (p = 0,001) zu verzeichnen (Tab. 5). Innerhalb der Gruppe besteht kein signifikanter Unterschied zwischen dem ersten und zweiten SMS-Wert (p = 0,335) (Tab. 5). Im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen kann keine signifikante Veränderung der segmentalen, myokardialen Verkürzung verzeichnet werden. Vergleicht man die unbehandelte Kontrollgruppe (Gruppe 1) mit der Gruppe, die mit VEGF (Gruppe 3) therapiert wurde ergibt sich ein Signifikanzniveau von p = 0,101 (Tab. 11). Im Vergleich zur zweiten Gruppe, die Leerplasmid (Gruppe 2) erhalten hat, ergibt sich ein Signifikanzniveau von p = 0,835 (Tab.11).

Relativwerte

Die Kontraktilität von VEGF nimmt ebenso wie die der Kontrollgruppen im Verlauf des Versuches ab. Sowohl bei der zweiten Messung (89,65 %), die fünf Minuten nach Okklusion erfolgt, als auch bei der dritten Messung (39,29 %) ist die Abnahme der Kontraktilität geringfügig geringer als in den beiden Kontrollgruppen (Tab. 5).

Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2)

Absolutwerte

Die segmentale, myokardiale Verkürzung beträgt 16,2 % \pm 4,77 (SMS1), 12,54 % \pm 3,54 (SMS2) und 10,21 % \pm 4,34 (SMS3). Zwischen dem ersten und dritten SMS-Wert besteht ein signifikanter Unterschied innerhalb der Gruppe ($p = 0,019$) (Tab. 5). Zwischen dem Wert von SMS1 und dem Wert von SMS2 besteht ein signifikanter Unterschied ($p = 0,016$) (Tab. 5). Ein Vergleich der Werte von SMS2 zu SMS3 zeigt keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,215$) (Tab. 5).

Eine signifikant geringere KontraktilitätseinbuÙe gegenüber beiden Kontrollgruppen in der dritten Messung zeigt die Gruppe, die mit FGF-2 therapiert wurde ($p < 0,05$). Im Vergleich zur ersten Kontrollgruppe (Gruppe 1) besteht bei den Tieren, die mit FGF-2 behandelt wurden eine Signifikanz von $p = 0,000$, die Leerplasmidgruppe (Gruppe 2) weist im Vergleich zur Gruppe 4 (FGF-2) eine Signifikanz von $p = 0,007$ auf (Tab.11).

Relativwerte

Nach Zugabe von FGF-2 kann eine deutlich geringere Abnahme der Kontraktilität im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen festgestellt werden. Bei dem zweiten SMS-Wert, fünf Minuten nach Okklusion fällt die Kontraktilität wie bei den beiden Kontrollgruppen auf 77,13 % deutlich ab. Bei dem dritten SMS-Wert, sieben Tage nach Therapie ist noch eine Kontraktilität von 62,81 % zu verzeichnen. Im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen zeigt sich bei dem dritten Wert eine deutlich geringere Verschlechterung der Kontraktilität (Tab.5).

Granulocyte Monocyte-Colony Stimulating Factor (GM-CSF)

Absolutwerte

Im ersten SMS-Wert beträgt die segmentale, myokardiale Verkürzung 12,53 % \pm 3,74.

Fünf Minuten nach Okklusion fällt die segmentale, myokardiale Verkürzung auf 9,82 % \pm 4,98 ab. Der dritte Wert zeigt eine Verkürzung von 7,04 % \pm 4,25. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen dem ersten und dritten SMS-Wert innerhalb der Gruppe ($p = 0,004$) (Tab. 5). Zwischen dem ersten und zweiten sowie zwischen dem zweiten und dritten SMS-Wert bestehen keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,189$; $p = 0,260$) (Tab. 5).

Im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe1) weist der dritte Wert einen signifikanten Unterschied ($p = 0,02$) auf. Allerdings besteht kein signifikanter Unterschied im Vergleich zur zweiten Kontrollgruppe, der Leerplasmidgruppe ($p = 0,835$) (Tab.11).

Relativwerte

Ebenso wie bei den Kontrollgruppen und FGF-2 kann ein deutlicher Kontraktilitätsverlust bei der zweiten Messung auf 78,37 % festgestellt werden. Beim dritten SMS-Wert fällt die Kontraktilität weiter auf 56,19 %. Dies ist im Vergleich zur dritten Messung der ersten Kontrollgruppe eine geringere Abnahme (Tab. 5).

Kombination Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) und Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2)

Die beiden Wachstumsfaktorkombinationen aus VEGF und FGF-2 werden in Dosierungen von jeweils 150 µg bzw. 75 µg eingesetzt.

Absolutwerte

Bei einer Dosierung von 150 µg ist eine segmentale, myokardiale Verkürzung von 16,46 % ± 4,64 (SMS1), auf 12,95 % ± 4,93 (SMS2) bis auf 6,60 % ± 1,85 (SMS3) zu verzeichnen (Tab. 5).

Die segmentale, myokardiale Verkürzung beträgt bei der Dosierung von 75 µg 12,69 % ± 4,1 (SMS1), 11,85 % ± 3,1 (SMS2) und 7,41 % ± 4,9 im dritten SMS-Wert (Tab. 5).

Innerhalb beider Kombinationsgruppen bestehen signifikante Unterschiede zwischen erstem und drittem und zwischen zweitem und drittem SMS-Wert (Tab. 5). Keine signifikanten Unterschiede bestehen bei beiden Gruppen zwischen dem ersten und zweiten SMS-Wert ($p = 0,061$; $p = 0,525$) (Tab. 5).

Beide Kombinationsgruppen weisen in der dritten Messung einen signifikanten Unterschied zur ersten Kontrollgruppe auf ($p = 0,038$; $p = 0,011$). Ebenso wie bei der mit GM-CSF behandelten Gruppe gibt es im Vergleich zu der zweiten Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,71$; $p = 0,379$) (Tab.11).

Relativwerte

Die Kontraktilität nimmt im zweiten Wert der ersten Kombinationsgruppe (Gruppe 6) ebenso stark ab wie die beiden Kontrollgruppen. Hier fällt die Kontraktilität auf 78,62 % ab. Im dritten Wert sinkt die Kontraktilität weiter auf 40,13 %. Vergleicht man den dritten Wert der ersten Kontrolle mit der ersten Kombinationsgruppe, so spiegelt sich eine deutlich geringere Abnahme der Kontraktilität bei der ersten Kombinationsgruppe auf 40,13 % wieder. Im Vergleich zu der Kontrolle, die mit Leerplasmid behandelt wurde, kann nur eine minimal geringere Abnahme der Kontraktilität im dritten Wert festgestellt werden (Tab. 5).

Die zweite Kombinationsgruppe, welche mit jeweils 75 µg Plasmid behandelt wurde, zeigt im zweiten SMS-Wert im Vergleich zu allen anderen Gruppen nur eine sehr geringe Abnahme der Kontraktilität auf 93,38 % (Tab. 5). Diese fällt weiter auf 58,39 % im dritten SMS-Wert. Vergleicht man diese Gruppe mit der ersten Kontrollgruppe, so ist bei dem zweiten SMS-Wert in der Kombinationsgruppe ein deutlich geringerer Kontraktilitätsverlust zu verzeichnen. Auch der Vergleich des dritten SMS-Wertes zeigt einen deutlich geringeren Kontraktilitätsverlust bei der Kombination im Vergleich mit der ersten Kontrollgruppe (Tab. 5).

Tabelle 5:

Absolute und relative Werte der Messungen der segmentalen, myokardialen Verkürzung.

| Therapie | | | SMS1 | SMS2 | SMS3 | Signifikanz SMS1- SMS3 | Signifikanz SMS1- SMS2 | Signifikanz SMS2- SMS3 |
|----------|---|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | | 1. Mes- sung | 2. Messung | 3. Mes- sung | | | |
| | | | vor Okklusion | 5 min nach Okklusion | nach 14 Tagen | | | |
| 1 | Kontrolle n = 10 | SMS % absolut MW ± SD | 13,4224 ± 3,93858 | 10,4199 ± 3,27978 | 3,2545 ± 1,6415 | 0,000 | 0,013 | 0,000 |
| | | SMS % relativ | 100 | 77,64 | 24,21 | | | |
| 2 | Leerplasmid Kontrolle n = 11 | SMS % absolut MW ± SD | 16,2871 ± 5,00185 | 12,6737 ± 3,71941 | 6,0347 ± 2,35458 | 0,000 | 0,033 | 0,000 |
| | | SMS % relativ | 100 | 77,77 | 37,02 | | | |
| 3 | VEGF n = 10 | SMS % absolut MW ± SD | 14,5991 ± 7,51671 | 13,0689 ± 6,7992 | 5,7311 ± 3,01112 | 0,001 | 0,335 | 0,001 |
| | | SMS % relativ | 100 | 89,65 | 39,29 | | | |
| 4 | FGF-2 n = 9 | SMS % absolut MW ± SD | 16,2705 ± 4,77355 | 12,5457 ± 3,54228 | 10,2175 ± 4,34422 | 0,019 | 0,016 | 0,215 |
| | | SMS % relativ | 100 | 77,13 | 62,81 | | | |
| 5 | GM-CSF n = 8 | SMS % absolut MW ± SD | 12,5303 ± 3,7411 | 9,8212 ± 4,97939 | 7,0412 ± 4,24893 | 0,004 | 0,189 | 0,260 |
| | | SMS % relativ | 100 | 78,37 | 56,19 | | | |
| 6 | VEGF+FGF-2 (je 150 µg) n = 8 | SMS % absolut MW ± SD | 16,4663 ± 4,64339 | 12,947 ± 4,92715 | 6,6114 ± 1,85301 | 0,001 | 0,061 | 0,020 |
| | | SMS % relativ | 100 | 78,62 | 40,13 | | | |
| 7 | VEGF+FGF-2 (je 75 µg) n = 8 | SMS % absolut MW ± SD | 12,6868 ± 4,05789 | 11,8458 ± 3,08726 | 7,4061 ± 4,89666 | 0,001 | 0,525 | 0,027 |
| | | SMS % relativ | 100 | 93,38 | 58,39 | | | |

Absolute und relative Werte der Messungen der segmentalen, myokardialen Verkürzung der zwei Kontrollgruppen (1-2) und der fünf Therapiegruppen (3-7) mit Standardabweichungen und Anzahl der Tiere bei allen 3 Messungen. Der relative Wert der SMS in % bezieht sich auf die erste Messung, dieser Wert wird gleich 100% gesetzt.

Signifikanzen innerhalb der Gruppen zwischen dem ersten SMS-Wert und dem dritten SMS Wert, zwischen dem ersten und zweiten SMS-Wert und zwischen dem zweiten und dritten SMS-Wert.

3.3.3 Gesamtergebnisse

Die Anzahl aller in den sieben Gruppen beträgt 64.

Alle Therapiegruppen weisen im dritten SMS-Wert eine geringere Abnahme der Kontraktilität im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe (Gruppe 1) auf (Tab. 5). Des Weiteren kann auch eine geringere Abnahme der Kontraktilität im Vergleich zur zweiten Kontrollgruppe, der Leerplasmidgruppe, bei allen Therapiegruppen nachgewiesen werden (Tab. 5).

Im Vergleich innerhalb einer Gruppe besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den SMS1- und den SMS3-Werten in allen Gruppen (Abnahme der SMS) (Tab. 5).

Im ersten und zweiten SMS-Wert besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Der p-Wert zwischen den Gruppen beträgt bei der ersten Messung 0,397 (Tab. 6, Tab. 12). Bei der zweiten Messung gibt es ebenfalls keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,628$) zwischen den Gruppen (Tab. 7, Tab. 13).

Sieben Tage nach der Therapie kann in dem dritten Wert ein signifikanter Unterschied zwischen allen Gruppen festgestellt werden (Tab. 8).

Signifikante Veränderungen gegenüber beiden Kontrollgruppen zeigt die Gruppe, die mit FGF-2 therapiert wurde ($p < 0,05$) (Tab. 11).

Die Gruppen, die mit GM-CSF und den beiden Kombinationen therapiert wurden, zeigen zwar einen signifikanten Unterschied zur ersten Kontrollgruppe, jedoch verglichen mit der Gruppe, in der 0,2 ml Leerplasmid injiziert wird, können keine Unterschiede festgestellt werden (Tab. 11). Vergleicht man die segmentale myokardiale Verkürzungen im dritten Wert mit denen der Kontrollgruppen, so kann von einer Tendenz zur geringeren Abnahme der SMS und somit zu einer geringeren Verschlechterung der Kontraktilität ausgegangen werden (Tab. 5). Ferner zeichnet sich bei der zweiten Kombination VEGF + FGF-2 mit einer Dosierung von je 75 μg (Gruppe 7) eine tendenzielle geringere Verschlechterung der regionalen Kontraktilität verglichen mit den Kontrollgruppen ab (Tab. 5).

Abbildung 8 zeigt die Zusammenfassung aller Ergebnisse der segmentalen, myokardialen Verkürzung und zeigt den Vergleich zwischen den ersten, zweiten und dritten SMS-Werten aller Gruppen auf.

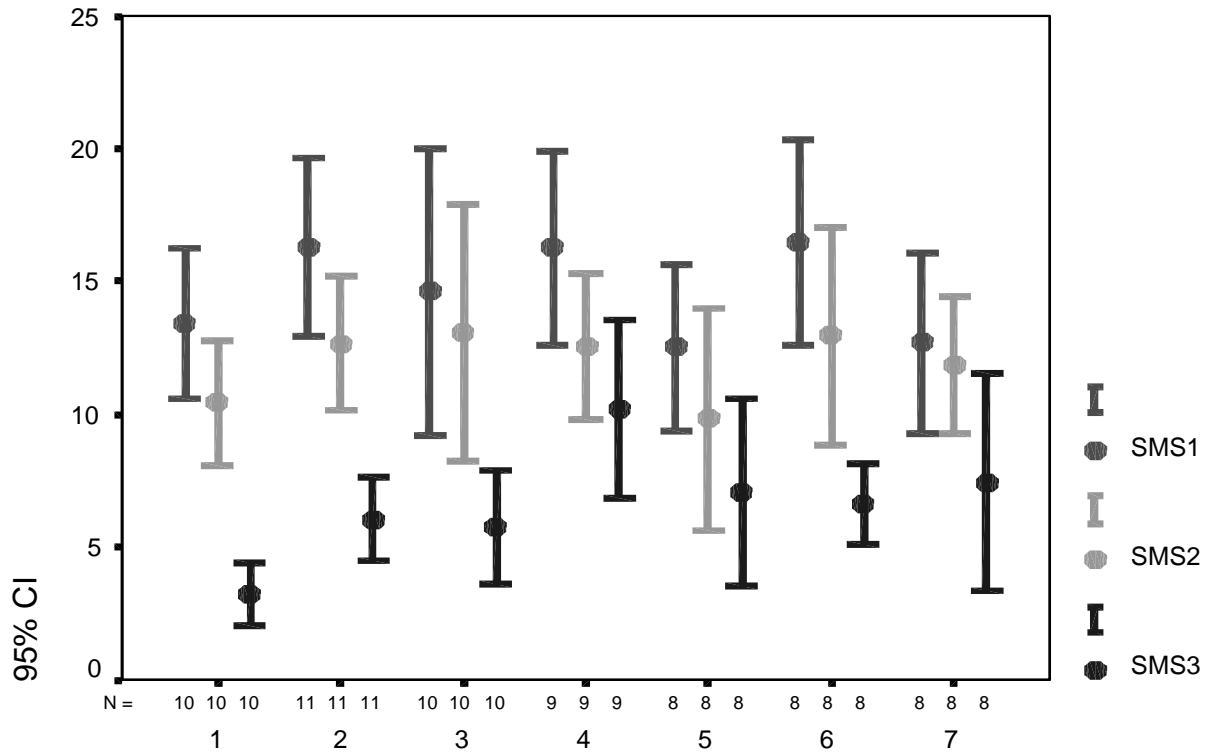


Abbildung 8:

Ergebnisse der segmentalen, myokardialen Verkürzung. Auf der x-Achse ist die Anzahl der Gruppen mit der jeweilig dazugehörigen Anzahl der Tiere (N) aufgetragen.

Auf der y-Achse ist die mittlere segmentale Verkürzung aller drei Messungen aufgetragen.

x-Achse: N = Anzahl der Tiere

1: Kontrollgruppe (Gruppe 1)

2: Leerplasmidgruppe (Gruppe 2)

3: VEGF (Gruppe 3)

4: FGF-2 (Gruppe 4)

5: GM-CSF (Gruppe 5)

6: VEGF + FGF-2 in der Dosierung von je 150 µg (Gruppe 6)

7: VEGF + FGF-2 in der Dosierung von je 75 µg (Gruppe 7)

y-Achse: segmentale, myokardiale Verkürzung in %

95 % CI= 95 % Konfidenzintervall

Varianzanalyse (ANOVA-Test)

Tabelle 6: SMS1 Anova

SMS1

| | Quadrat- summe | Freiheits- grade | Mittel der Quadrate | Varianz | Signifikanz |
|--------------------------|-------------------|---------------------|------------------------|---------|-------------|
| Zwischen den Gruppen | 161.335 | 6 | 26.889 | 1.061 | 0.397 |
| Innerhalb der Gruppen | 1444.762 | 57 | 25.347 | | |
| Gesamt | 1606.097 | 63 | | | |

Die Varianzanalyse in Tabelle 6 zeigt, dass im ersten SMS-Wert keine Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen bei einem Signifikanzniveau von 5 % bestehen.

Tabelle 7: SMS2 Anova

SMS2

| | Quadrat- summe | Freiheits- grade | Mittel der Quadrate | Varianz | Signifikanz |
|--------------------------|-------------------|---------------------|------------------------|---------|-------------|
| Zwischen den Gruppen | 89.172 | 6 | 14.862 | 0.729 | 0.628 |
| Innerhalb den Gruppen | 1161.813 | 57 | 20.383 | | |
| Gesamt | 1250.985 | 63 | | | |

Die Varianzanalyse in Tabelle 7 zeigt, dass im zweiten SMS-Wert keine Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen bei einem Signifikanzniveau von 5 % bestehen.

Varianzanalyse (ANOVA-Test)

Tabelle 8: SMS3 Anova

SMS3

| | Quadrat- summe | Freiheits- grade | Mittel der Quadrate | Varianz | Signifikanz |
|--------------------------|-------------------|---------------------|------------------------|---------|-------------|
| Zwischen den Gruppen | 247.007 | 6 | 41.168 | 3.722 | 0.003 |
| Innerhalb der Gruppen | 630.521 | 57 | 11.062 | | |
| Gesamt | 877.529 | 63 | | | |

Aus Tabelle 8 kann man bei der Varianzanalyse einen signifikanten Unterschied zwischen der Leerplasmidgruppe und den Therapiegruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe im dritten SMS-Wert bei einem Signifikanzniveau von 5 % ersehen.

4. Diskussion

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen der tierexperimentellen Studie endogener Kollateralisierung im chronisch ischämischen Myokard durch Wachstumsfaktoren und Kombinationen aus ihnen im Kaninchenmodell.

Es werden 64 weibliche Tiere der Rasse „Weiße Neuseeländer“ in zwei Kontrollgruppen und fünf Therapiegruppen untersucht.

Es wird der Parameter der regionalen Funktion durch die mittlere segmentale Verkürzungsfraction analysiert und diskutiert. Die Parameter des regionalen, myokardialen Blutflusses und der histologischen Gefäßstrukturen werden durch parallel laufende Studien bearbeitet. RENNER (in Vorbereitung) untersucht den regionalen, myokardialen Blutfluss, BREDOW (in Vorbereitung) untersucht histologisch die Gefäßstrukturen in der Randzone zwischen ischämischen und nicht ischämischem Myokard. HEILMANN et al. (in Vorbereitung) ist für die molekularbiologische Analyse der Proben verantwortlich. Durch die Ergebnisse dieser Parameter zusammen mit den eigenen Ergebnissen der segmentalen, myokardialen Verkürzung (SMS) können weitere Rückschlüsse auf die Herzfunktion gezogen werden.

4.1 Regionale Funktion

Die regionale Funktion wird in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe der SMS, sowie des regionalen, myokardialen Blutflusses (RENNER in Vorbereitung) beschrieben. Die Ausgangswerte für die mittlere segmentale Verkürzung beim ersten SMS-Wert (Tab. 6,12), ebenso wie beim zweiten SMS-Wert (Tab. 7,13) sind für alle Versuchsgruppen ähnlich, hier bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen und innerhalb der Gruppen. Dies weist darauf hin, dass sowohl der Ausgangswert, als auch die induzierte myokardiale Schädigung vergleichbar sind. Beim dritten SMS-Wert, zwei Wochen nach der Okklusion kann eine signifikant geringere Verschlechterung der segmentalen, myokardialen Verkürzung bei den Tieren, die mit FGF-2 behandelt wurden im Vergleich zu den Kontrollgruppen festgestellt werden (Tab. 8).

Alle Therapiegruppen erzielen bei der Messung der SMS bessere Ergebnisse im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen (Kontrolle und Leerplasmid). Bei VEGF konnten zwar im Vergleich zur Kontrollgruppe günstigere Kontraktilitätswerte festgestellt werden, allerdings kön-

nen in der Leerplasmidkontrolle bessere Ergebnisse im Vergleich zu der Therapiegruppe mit VEGF erzielt werden. Die nicht vorhandene Signifikanz von SMS1 zu SMS2-Wert in dieser Gruppe ist vermutlich auf die kurze Zeitspanne von fünf Minuten post occlusionem zurückzuführen. Ein längerer Zeitraum zwischen den beiden Messung hätte sich vermutlich günstig auf die Messung ausgewirkt. Dies trifft ebenso für die Werte der zweiten Messung von GM-CSF und den beiden Kombinationsgruppen VEGF + FGF-2 zu (Tab 5).

Innerhalb der Gruppen sind die SMS3-Werte signifikant niedriger als die SMS1-Werte. Dies bedeutet, dass es keinen statistisch signifikanten Therapieerfolg gibt (Tab. 5). Im Vergleich der SMS2- und der SMS3-Werte zeigt sich ein differenziertes Bild. Hier kommt es in den Gruppen Kontrolle, Leerplasmid-Kontrolle, VEGF und den beiden Kombinationsgruppen zu einer signifikanten Verschlechterung der SMS nach 14 Tagen (SMS3) im Vergleich zur SMS2 (Tab. 5). In den Therapiegruppen FGF-2 und GM-CSF bleibt die SMS nach 14 Tagen (SMS3) auf dem Niveau zum Zeitpunkt fünf Minuten nach Okklusion (SMS2). Dies kann als partieller Therapieerfolg gewertet werden, da es nicht zu einer weiteren Verschlechterung der SMS nach Okklusion unter der Behandlung von FGF-2 beziehungsweise GM-CSF gekommen ist (Tab. 5).

Die Messung des regionalen, myokardialen Blutflusses zeigt in keiner der Gruppen eine Verbesserung der Gewebsperfusion gegenüber den Kontrollgruppen (RENNER, in Vorbereitung).

4.2 Kontrollgruppen

Im Vergleich zur SMS 3 der unbehandelten Kontrollgruppe (1) kommt es bei allen anderen Gruppen zu einer geringfügigeren Abnahme der SMS. Durch die Okklusion des Ramus intraventricularis paraconalis wird auf Grund des Fehlens eines kollateralen Netzwerkes ein myokardialer Infarkt gesetzt (OPERSCHALL et al., 2000). Durch den Infarkt kommt es zu einer entzündlichen Reaktion des Gewebes.

Die entzündliche Reaktion und die bestehende Ischämie führen zu einer vermehrten Anreicherung von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten im betreffenden Gewebe. Man nimmt an, dass diese Entzündungszellen einen fördernden Effekt auf die Angiogenese haben. Weiterhin kommt es nach einem Infarkt zu einer myokardialen Nekrose, welche chemotaktisch Lymphozyten und Makrophagen anlockt. Diese wiederum setzen eine Reihe von Zytokinen frei, welche dann die VEGF Expression stimulieren, ebenso wird FGF freigesetzt (WARE

und SIMONS, 1997). Durch das Vorhandensein endogener Zytokine im ischämischen Myokard findet dort eine neue Gefäßbildung statt.

In der zweiten Kontrollgruppe, der Leerplasmidgruppe, kommt es durch die Injektion von 0,2 ml Leerplasmid zu einer mechanischen Schädigung des Gewebes. Dies scheint im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe einen positiven Einfluss auf die segmentale, myokardiale Verkürzung zu haben.

Durch die Injektion des Plasmids wird zum Einem der Transkriptionsvorgang ausgelöst, zum Anderen ist eine geringe Kontamination mit bakteriellen Lipopolysacchariden in der Präparation des Plasmids nicht auszuschließen, die zu einer Immunreaktion führen kann, welche das Gefäßwachstum stimulieren könnte.

Des Weiteren kommt es durch die Injektion zu Druckunterschieden im Gewebe und damit zur Wirkung von Scherkräften im vaskulären Endothel. Diese entstehen, wenn der Blutfluss aus stenosierten beziehungsweise okkludierten Gefäßen in kleine präexistente Kollaterale gelenkt wird, die sich dann auf diesen Reiz hin vergrößern können. Die Scherkraftwirkung stimuliert die Expression von VEGF und FGF in endotheliale Zellen (PASSERINI et al., 2003). Durch die Wirkung von Scherkräften werden auch arteriogenetische Prozesse gefördert, welche unabhängig von Hypoxie und Ischämie ablaufen (SCHAPER und SCHOLZ, 2003). Weiterhin ist bekannt, dass durch die entstehenden Sauerstoffradikale im ischämischen Gewebe Angiogenese gefördert wird (MAULIK und DAS, 2002).

Durch den Anstieg der Scherkräfte laufen also neben den angiogenetischen Prozessen auch arteriogenetischer Prozesse ab. Die geringgradig geringere Abnahme der SMS gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe spricht für eine effektivere Muskelkontraktion. Diese Ergebnisse stimmen mit den histologischen Befunden überein. Im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe konnte BREDOW (in Vorbereitung) in der histologischen Auswertung eine Erhöhung der Kapillar- und Arteriendichte aufzeigen.

4.3 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

Über VEGF gibt es bisher über 4000 Veröffentlichungen (AUGUSTIN und BREIER, 2003). Es ist bekannt, dass VEGF bei Menschen mit einem akuten Koronarsyndrom während der Ischämie hochreguliert wird (HEESCHEN et al., 2003). Über die erfolgreiche therapeutische Angiogenese mit VEGF-Protein, bzw. Genen die VEGF kodieren, wird in mehreren vorklinischen Studien berichtet (BANAI et al., 1994; PEARLMAN et al., 1995). HEILMANN et al.

(2003) beschreiben nach der intramyokardialen Injektion von VEGF bei Schweinen ein Kapillarwachstum, und ATTMANN (2000) bestätigt eine verbesserte Kontraktilität. Diese Ergebnisse decken sich mit Studien von NIKOL et al. (2002) und VILLANUEVA et al. (2002), welche von einem erhöhten kollateralen Blutfluss nach intrakoronarer Applikation von VEGF berichten. MACK et al. (1998) erforschten die stressbedingte myokardiale Ischämie an einem porcinen Ameroidmodell. Sowohl die regionale Funktion, als auch der regionale Blutfluss verbessern sich durch die intramyokardiale Injektion von AdVEGF-121 (HAMMOND und MCKIRNAN, 2001). Von den Arbeitsgruppen SCHUMACHER et al. (2000) und ZIMMERMANN et al. (2001) stammen Ergebnisse über intramyokardiale VEGF-121-Plasmid-Injektionen bei 21 Patienten. Hier wurde das Plasmid direkt in den Bereich der reversiblen Ischämie injiziert. Bei diesen Patienten konnte nach 30 Tagen angiographisch eine vermehrte Kollateralisierung, im PET eine regionale Mehrdurchblutung, sowie klinisch eine Verminderung der Angina-Klasse und eine bessere Belastbarkeit festgestellt werden. MELILLO et al. (1997) berichten von einer Studie von TAKESHITA et al. (1994), bei der am ischämischen Hinterlauf bei Kaninchen eine signifikante Verbesserung des Blutdruckes und der Kapillardichte, verglichen mit der Kontrollgruppe, nach intraarterieller Applikation von VEGF nachgewiesen werden konnte. Ein ähnlicher Effekt wurde auch bei der intravenösen und lokal intramuskulären Injektion von VEGF nachgewiesen. Weiterhin konnte in einem Modell eines chronisch ischämischen Myokards beim Hund ein verbesserter kollateraler Blutfluss, sowie eine höhere intramyokardiale Gefäßdichte beobachtet werden. In einer anderen Studie (LAZAROUS et al., 1996) wurde VEGF mit FGF-2 verglichen. Hier injizierte man die Wachstumsfaktoren in das linke Atrium injiziert. Die Ergebnisse zeigen, dass durch die Behandlung mit FGF-2 der Blutfluss im ischämischen Myokard verbessert werden konnte, während VEGF keinen Effekt zeigte. Diese Ergebnisse decken sich mit den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen. Des Weiteren beobachtete man bei der intraarteriellen Injektion der Kombination von VEGF und FGF-2 einen synergistischen Effekt am ischämischen Hinterlauf von Kaninchen (ASAHARA et al., 1995).

Es gibt allerdings auch Studien, bei denen es zu unterschiedlichen Ergebnissen, bzw. zu Komplikationen bei der Behandlung mit VEGF kommt. LENINHAN et al. (2003) berichten über Komplikationen bei der Applikation einzelner angiogenetisch wirkender Wachstumsfaktoren. Exogen verabreichtes VEGF kann in Tiermodellen Arteriosklerose fördern. In Studien von LEE et al. (2000) und CELETTI et al. (2001) kam es zu einer unregulierten VEGF Expression im Myokard der Versuchstiere. Dies kann zu Hämangiomen führen (CAO et al., 2003.).

In der ersten klinischen Studie in der Humanmedizin, „The VIVA Trial“ von HENRY et al. (2003) zur Stimulation der vaskulären Angiogenese während einer Ischämie, konnte festgestellt werden, dass VEGF komplikationslos einzusetzen ist. Im Vergleich zu der Placebo-Gruppe kam es allerdings nach 60 Tagen auch zu keiner Verbesserung der Herzfunktion. Nach 120 Tagen konnte nur eine Verbesserung mit hochdosiertem VEGF erzielt werden (HENRY et al., 2003). Nach einer intramyokardialen Gabe von ph-VEGF-A165 konnten SARKAR et al. (2001) eine Verbesserung der myokardialen Perfusion beobachten, ebenso war eine signifikante Reduktion der Angina-pectoris-Symptomatik beim Menschen zwei Monate nach Gentransfer zu verzeichnen. DEINDL et al. (2001) stellten am ischämischen Hinterlauf bei Kaninchen keine Vermehrung der Kollateralgefäße durch die Infusion von VEGF fest. Die Autoren gehen davon aus, dass VEGF kein natürliches Agens zur Stimulation der Arteriogenese in vivo ist. SYLVEN et al. (2001) zeigten an Rattenherzen ein dosisabhängiges Gefäßwachstum durch die intramyokardiale Injektion von hVEGF-A auf. NIKOL et al. (2002) fanden bei Versuchen an Schweinen nach einer Injektion mit VEGF nach drei Wochen eine vermehrte Expression von VEGF. Im Bereich von Koronargefäßen wurde nach einer Okklusion eine verstärkte Kollateralisierung festgestellt. Im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen kann unter VEGF nur eine geringgradige, nicht signifikante Verbesserung der segmentalen, myokardialen Verkürzung und auch histologisch keine signifikante Erhöhung der Gefäßdichte festgestellt werden. In der vorliegenden Studie wurden keine Hämangiome makroskopisch und mikroskopisch nachgewiesen.

4.4 Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2)

Der zweite Wachstumsfaktor, der im vorliegenden Versuch getestet wurde, ist FGF-2. HEILMANN et al. (2002) zeigten am chronisch ischämischen Myokard bei Schweinen einen positiven Effekt auf die regionale Funktion und Kontraktilität nach Applikation von FGF-2 Plasmid auf. Mit FGF-2-Plasmid behandelte Tiere wiesen im Vergleich zu allen anderen Gruppen, mit Ausnahme von GM-CSF eine verbesserte SMS im dritten Wert auf. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Ergebnissen der eigenen Studie, wo eine signifikant geringere Verminderung der Kontraktilität festzustellen ist. Im Gegensatz hierzu stellten SHOU et al. (1997) keine Verbesserung des kollateralen Blutflusses bei Hunden fest. SATO et al. (2000) konnten nach einmaliger intrakoronarer Applikation von FGF-2 eine signifikante Verbesserung der Kollateralisierung, sowie der regionalen und globalen Funktion feststellen. Eine intravenöse Infusion von FGF-2 zeigte sich in diesem Modell als nicht effektiv. Diese Ergebnis-

se stimmen auch mit den Ergebnissen von RAJANAYAGAM et al. (2000) überein. SELLKE et al. (1998) konnten aufzeigen, dass es nach Applikation von FGF-2 zu einer Verbesserung der myokardialen Kontraktilität kam. SASAME et al. (1999) zeigten in einer Studie bei Hunden, dass FGF-2 keinen Effekt auf die Infarktgröße hat, allerdings stimuliert FGF-2 das Wachstum von Kollateralgefäßen und verbessert den kollateralen Blutfluss. Diese Ergebnisse stimmen mit den Befunden von LAZAROUS et al. (1995) überein. Bei einer koronaren Gefäßokklusion fördert FGF-2 bei systemischer Gabe den kollateralen Blutfluss. Dieser positive Effekt von FGF-2 hält 7 bis 14 Tage nach der Therapie an, dann allerdings wird eine Regression der kollateralen Entwicklung beobachtet. HASDAI et al. (1997) fanden heraus, dass FGF-2 Serumspiegel bei Patienten mit einer ischämischen Herzerkrankung erhöht waren. SCHAPER (1996) geht davon aus, dass FGF-2 eine Rolle beim Remodeling von schon existierenden Gefäßen spielt. Hierbei müssen die elastischen Komponenten und die glatten Muskelzellen umgebaut werden. LAZAROUS et al. (1996) konnten durch eine kurzzeitige Behandlung mit FGF-2 ein Kollateralwachstum fördern. In dieser Studie konnte VEGF kein Kollateralwachstum im Vergleich zu FGF-2 stimulieren. Diese Daten zeigen die klinische Bedeutung von FGF-2 bei der ischämischen Herzerkrankung. FLIER und UNDERHILL (1995) berichten, dass der Haupteffekt von FGF-2 die Stimulation der Angiogenese ist, welche in In-vivo-Studien mit Fibroblasten, glatten Muskelzellen und Endothelzellen aufgezeigt werden konnte.

IWATATE et al. (2001) führten Versuche an Kaninchenherzen durch. Die Arbeitsgruppe verwendete einen adenoviralen Vektor und injizierte FGF-2 in ein Koronargefäß. Hier konnte eine vermehrte Entwicklung von Kollateralgefäßen im Vergleich zur Kontrollgruppe gezeigt werden. DETILLIEUX et al. (2003) berichten von Studien, welche PADUA et al. (1995) durchgeführt haben. Diese Arbeitsgruppe konnte die kardioprotektive Wirkung von FGF-2 zeigen. FGF-2 verbessert die Überlebensrate der Zellen und hemmt die Schädigung an den Kardiomyozyten. LUTTER et al. (2002) konnten eine Verbesserung der regionalen Kontraktilität in Versuchen an Schweineherzen feststellen. ZHANG et al. (2002) führten Versuche an Kaninchen mit akutem myokardialen Infarkt durch. Nach intravenöser Gabe von FGF-2 konnte eine erhöhte Gefäßdichte in der Infarktregion festgestellt werden.

Die Versuche von HEILMANN et al. (2002) können als direkter Vergleich zur vorliegenden Studie hinzugezogen werden, da die Kontraktilität in dieser Studie ebenfalls mit Mikrosonometrie gemessen wurde und die Applikationsart des Wachstumsfaktors, die intramyokardiale Injektion, durchgeführt worden ist.

Im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen kann in der eigenen Studie eine signifikant geringerer Kontraktilitätsverlust anhand der segmentalen, myokardialen Verkürzung aufgezeigt werden.

Hier kann von einem partiellen Therapieerfolg ausgegangen werden, da sich die Werte von SMS3 nicht signifikant von den Werten von SMS2 unterscheiden.

Histologisch kann ein Kapillarwachstum nachgewiesen werden, jedoch keine vermehrte Arteriendichte (BREDOW, in Vorbereitung). Dies spricht für den angiogenetischen Effekt von FGF-2.

4.5 Granulocyte Macrophage-Colony Stimulation Factor (GM-CSF)

Neben den beiden Wachstumsfaktoren FGF-2 und VEGF, auf welche die Forschung ein großes Augenmerk legt, existieren weitere angiogenetisch bzw. arteriogenetisch wirkende Faktoren wie GM-CSF. BUSCHMANN et al. (2001) führten Versuche an Hinterläufen von Kaninchen durch. Hier war nach sieben-tägiger intraarterieller Gabe von GM-CSF ein vermehrtes Kollateralwachstum nachzuweisen. Ferner konnte diese Gruppe eine Verlängerung des Lebenszyklusses von Makrophagen und Monozyten feststellen, welche bei der Gefäßneubildung bzw. der Umstrukturierung von Gefäßen eine entscheidende Rolle spielen.

Die erste klinische Studie mit GM-CSF wurde von SEILER et al. (2001) durchgeführt. Diese Studie lässt vermuten, dass GM-CSF ein Potential zur Verbesserung des kollateralen Blutflusses besitzt.

Die SMS bei den Tieren, die mit GM-CSF behandelt wurden, zeigen eine tendenzielle Verbesserung im Vergleich zu den Kontrollgruppen auf.

Auch hier kann von einem partiellen Therapieerfolg ausgegangen werden, da sich die Werte von SMS2 und SMS3 innerhalb der Gruppe nicht signifikant unterscheiden.

Die histologische Auswertung ergab, dass dieser Wachstumsfaktor sowohl die Angiogenese als auch die Arteriogenese positiv beeinflusst (BREDOW, in Vorbereitung).

4.6 Kombination Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) und Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2)

PEPPER et al. (1992) und GOTO et al. (1993) zeigten in zwei unabhängigen In-vitro-Studien, dass FGF-2 und VEGF einen synergistischen Effekt auf Zellkulturen von Endothelzellen haben.

ASAHARA et al. (1995) testeten den synergistischen Effekt von FGF-2 und VEGF am ischämischen Hinterlauf von Kaninchen. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass FGF-2 und VEGF nach intraarterieller Injektion in Kombination im Gegensatz zu den einzelnen getesteten Faktoren eine hämodynamische Verbesserung hervorrufen. In der eigenen Studie konnte unter der niedrigen Dosierung zwar keine signifikante, aber eine tendenziell geringgradigere Verschlechterung der regionalen Funktion festgestellt werden. Diese Ergebnisse decken sich mit den histologischen Ergebnissen der eigenen Arbeitsgruppe, wo eine signifikant erhöhte Gefäßdichte zu finden ist (BREDOW, in Vorbereitung).

4.7 Histologie

Bei den noch nicht veröffentlichten histologischen Ergebnissen (BREDOW, in Vorbereitung) werden 2 Färbungen angewendet. Die CD 31 Färbung (Abb. 9) wurde zur Identifizierung der endothelialen Zellen verwendet. Um Arterien darzustellen wurde die SMA Färbung (smooth muscle actin antibody) verwendet (Abb. 10). Die Gefäße werden im gesunden Gewebe am Randbereich des Infarktes ausgezählt. Bei der niedrig dosierten Kombinationsgruppe (Gruppe 7: VEGF + FGF-2 mit jeweils 75 µg) konnte im Vergleich zu VEGF eine signifikant erhöhte Gefäßdichte festgestellt werden, weiterhin konnte eine tendenzielle Erhöhung der Gefäßdichte im Vergleich zu FGF-2 beobachtet werden. VEGF + FGF-2 als höherdosierte Kombinationsgruppe mit jeweils 150 µg (Gruppe 6) bringt keinen weiteren Vorteil im Vergleich zu der niedrig dosierten Kombinationsgruppe.

VEGF + FGF-2 in der niedrigeren Dosierung zeigt eine ausgeprägtere Angiogenese als GM-CSF. Im Vergleich zu unbehandelten Ischämien konnten arteriogenetische Prozesse nur bei GM-CSF verzeichnet werden.

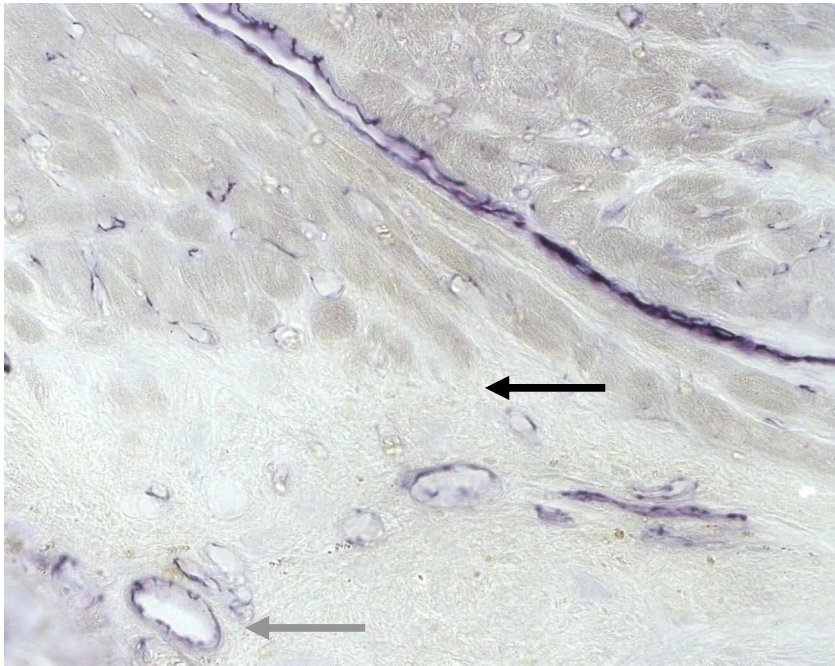


Abbildung 9:

CD31-Färbung: Grenzgebiet intaktes Myokard / Infarktgebiet (schwarzer Pfeil) mit Gefäßen (grauer Pfeil), 40-fach vergrößert, (Bredow, in Vorbereitung).

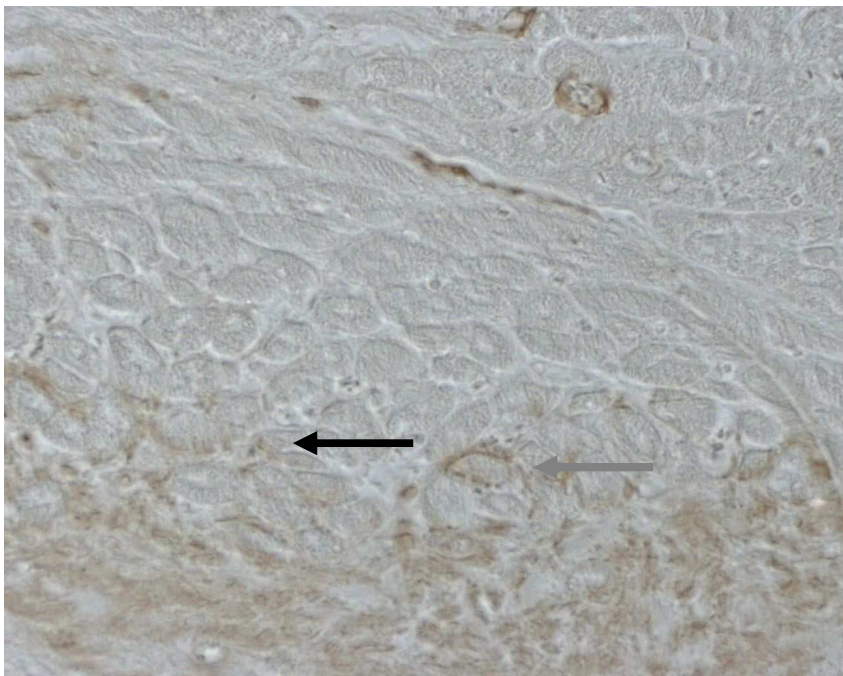


Abbildung 10:

SMA-Färbung: Grenzgebiet intaktes Myokard / Infarktgebiet (schwarzer Pfeil) mit Gefäßen (grauer Pfeil), 40-fach vergrößert, (Bredow, in Vorbereitung).

4.8 Molekularbiologische Analyse

Bei drei Kaninchen wird fünf Stunden nach der Behandlung mit VEGF + FGF-2 (mit jeweils 150 µg und jeweils 75 µg) und nach der Behandlung von FGF-2 die Anwesenheit von plasmid-spezifischer Wachstumsfaktor-mRNA nachgewiesen. Es zeigt sich eine effektive Transfektion von nackter Plasmid-DNA im Myokard durch direkte Injektion von nackter Plasmid-DNA in unserem Modell, somit kann davon ausgegangen werden, dass durch die Injektion Wachstumsfaktoren im Myokard gebildet werden. (HEILMANN et al., in Vorbereitung).

4.9 Ausblick

Die unterschiedlichen Ergebnisse von der regionalen Funktion und der Auswertung der Histologie lassen auf ein „hibernating myocardium“ schließen.

Die in der eigenen Studie angewandten Therapieansätze zielten auf den Grenzbereich des Infarktes, da dort ein Hinweis für das Vorhandensein eines „hibernating myocardium“ besteht (ANDO et al., 1998). Diese Bedingungen sind durch eine reduzierte Kontraktilität, einen reduzierten myokardialen Blutfluss und ein Wiederherstellen der Funktion nach Revaskularisation gekennzeichnet.

Aufbauend auf die eigene Studie wäre es sinnvoll weitere Untersuchungen mit unterschiedlichen zeitlichen Abfolgen und Dosierungen durchzuführen.

5. Zusammenfassung

Stimulation der endogenen Kollateralisierung im chronisch ischämischen Myokard durch die Therapie mit Wachstumsfaktoren.

Studien zur segmentalen, myokardialen Verkürzung (SMS).

In der vorliegenden Studie wurden zur Stimulation des Gefäßwachstums im chronisch ischämischen Myokard des Kaninchens die Wachstumsfaktoren VEGF, FGF-2, GM-CSF und VEGF + FGF-2 in Kombination eingesetzt. Die Applikation erfolgte intramyokardial an fünf festgelegten Stellen im Randbereich des ischämischen Myokards.

In dieser Arbeit wurde der Parameter der SMS diskutiert. Die Studie wurde mit zwei Kontrollgruppen durchgeführt. Die erste Kontrolle (ohne Therapie) zeigte eine deutliche ischämie bedingte Reduktion der SMS auf. In der Kontrollgruppe mit Leerplasmidapplikation zeigte sich eine geringere Abnahme der segmentalen, myokardialen Verkürzung. Dies spricht für eine von Wachstumsfaktoren unabhängige, positive Wirkung des Plasmids auf die Kontraktilität.

Der Einsatz von VEGF zur Verbesserung der SMS und damit zur Verbesserung der Kontraktilität erwies sich in dieser Studie als nicht effektiv. Zwar konnte im Vergleich zur ersten Kontrolle eine geringere Abnahme der Kontraktilität erzielt werden, jedoch spricht der Vergleich zur Leerplasmidgruppe nicht für einen positiven Effekt.

Die Stimulation der therapeutischen Angiogenese mit FGF-2 erzielte bei der SMS₃ die besten Ergebnisse. Die Kontraktilität nahm im Vergleich zu allen Gruppen mit Ausnahme von GM-CSF und der niedrig dosierten Kombinationsgruppe nach Therapie signifikant weniger ab.

Die Wirkung von GM-CSF scheint einen positiven Effekt auf die regionale Funktion des Myokards zu haben. Man kann tendenziell von einer geringeren Abnahme der Kontraktilität im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen ausgehen.

Neben FGF-2 zeigte die niedrig dosierte Kombinationsgruppe (VEGF + FGF-2) eine geringere Abnahme der Kontraktilität im Vergleich zu allen anderen Gruppen.

Die höher dosierte Kombinationsgruppe wies im Vergleich zu FGF-2, GM-CSF und der niedrig dosierten Kombinationsgruppe die größte Abnahme der Kontraktilität auf. Der Vergleich der Werte innerhalb einer jeden Gruppe zwischen SMS₁ und SMS₂ zeigte für die Kontrolle (1), die Leerplasmidkontrolle (2) und FGF-2 eine Signifikanz auf. Die nicht vorhandene Signifikanz der anderen Gruppen ist vermutlich auf die kurze Zeitspanne von fünf Minuten post occlusionem zurückzuführen.

6. Summary

Stimulation of endogenous collateralisation in chronic ischemic myocardium by therapy of growth factors.

Studies about the segmental myocardial shortening (SMS).

In this experimental study the growth factors VEGF, FGF-2, GM-CSF as well as VEGF + FGF-2 in combination were used for stimulation of growth in ischemic myocardium of rabbit. These factors were applied intramyocardially at five determined places in the border zone of ischemic myocardium.

In this study the parameter of the SMS has been discussed. This study has been made by two control-groups. The control-group (without therapy) demonstrated a clear ischemic reduction of segmental myocardial shortening. It could be observed a lower reduction of segmental myocardial shortening in the plasmid control-group.

This pleads for a positive effect of this substance on contractility, independent of growth factors.

The use of VEGF to improve the SMS and the improvement of the contractility showed no effective results in this study. Although there could be observed a lower reduction of contractility in comparison to the first control group, however, the comparison to the plasmid without an insert did not plead for a positive effect.

The stimulation of therapeutic angiogenesis with FGF-2 by the SMS3 showed the best results. The contractility increased significantly after therapy in comparison to all other groups without GM-CSF and the low dosed combination group.

The impact of GM-CSF seems to have a positive effect on regional function in the myocardium.

A change in direction can possibly originate an improvement of contractility in comparison to both other control groups.

Besides FGF-2 the low dosed combination-group (VEGF + FGF-2) showed a lower reduction of contractility in comparison with all other groups. The higher dosed combination-group showed in comparison to FGF-2, GM-CSF and the lower dosed combination-group the highest reduction of contractility. The comparison of values within each group between SMS1 and SMS2 showed significance to control-group (1), the plasmid-control (2) and FGF-2. There is no significance of the other groups probably led back to the short time of five minutes post occlusion.

7. Anhang

Tabelle 9:

Enddiastolische (EDL1-3) und endsystolische Längen (ESL1-3) aller gemessenen Tiere mit den dazugehörigen segmentalen, myokardialen Verkürzungen (SMS1-3).

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|------|----------|---------|--------|---------|--------|---------|---------|------------|------------|------------|
| K1.1 | 1 | 11,2785 | 8,9878 | 9,4113 | 8,6027 | 7,544 | 7,159 | 20,310325 | 8,59179922 | 5,10339343 |
| | 1 | 11,086 | 9,007 | 9,315 | 8,6412 | 7,5633 | 7,159 | 18,7533826 | 7,23349436 | 5,34555022 |
| | 1 | 11,1823 | 9,026 | 9,392 | 8,6027 | 7,5825 | 7,159 | 19,2831528 | 8,40396082 | 5,58522915 |
| | 1 | 11,1245 | 9,647 | 9,2957 | 8,6027 | 7,5633 | 7,159 | 13,2814958 | 7,45505987 | 5,34555022 |
| | 1 | 11,0667 | 9,0647 | 9,392 | 8,6412 | 7,5633 | 7,159 | 18,090307 | 7,99403748 | 5,34555022 |
| | 1 | 11,1438 | 9,007 | 9,3728 | 8,622 | 7,5633 | 7,159 | 19,1747878 | 8,01041311 | 5,34555022 |
| | 1 | 11,1823 | 8,9878 | 9,3343 | 8,6605 | 7,5633 | 7,159 | 19,6247641 | 7,21853808 | 5,34555022 |
| | 1 | 11,0282 | 8,9878 | 9,3728 | 8,6412 | 7,5633 | | 18,5016594 | 7,80556504 | 5,34555022 |
| | 1 | 11,0282 | 8,9685 | 9,3535 | 8,622 | 7,5823 | 7,159 | 18,6766653 | 7,82060191 | 5,58273875 |
| | 1 | 11,163 | 9,0262 | 9,3535 | 8,6412 | 7,5633 | 7,1398 | 19,1418078 | 7,61533116 | 5,59940767 |
| K1.2 | 1 | 6,5623 | 5,7153 | 6,8895 | 6,0425 | 11,259 | 10,9128 | 12,90706 | 12,2940707 | 3,07487343 |
| | 1 | 6,5623 | 5,7345 | 6,8895 | 6,0815 | 11,2785 | 10,8935 | 12,6144797 | 11,7279919 | 3,4135745 |
| | 1 | 6,5815 | 5,7153 | 6,8895 | 6,1772 | 11,2785 | 10,9128 | 13,1611335 | 10,3389215 | 3,24245245 |
| | 1 | 6,5623 | 5,696 | 6,8895 | 6,1003 | 11,2592 | 10,855 | 13,2011642 | 11,4551129 | 3,58995311 |
| | 1 | 6,543 | 5,696 | 6,8895 | 6,1388 | 11,317 | 10,8743 | 12,9451322 | 10,8962915 | 3,91181409 |
| | 1 | 6,5623 | 5,696 | 6,8895 | 6,1003 | 11,2977 | 10,8935 | 13,2011642 | 11,4551129 | 3,57771936 |
| | 1 | 6,5623 | 5,7535 | 6,8895 | 6,081 | 11,2785 | 10,8743 | 12,324947 | 11,7352493 | 3,5838099 |
| | 1 | 6,5815 | 5,696 | 6,8895 | 6,0617 | 11,2785 | 10,855 | 13,4543797 | 12,0153857 | 3,75493195 |
| | 1 | 6,6007 | 5,7345 | 6,8895 | 6,1195 | 11,2592 | 10,8743 | 13,1228506 | 11,1764279 | 3,41853773 |
| | 1 | 6,6007 | 5,7153 | 6,885 | 6,0425 | 11,2785 | 10,8935 | 13,4137288 | 12,2367466 | 3,4135745 |
| K1.3 | 1 | 10,2198 | 9,623 | 10,2005 | 9,623 | 6,928 | 6,5623 | 5,83964461 | 5,66148718 | 5,27857968 |
| | 1 | 10,1812 | 9,6615 | 10,2005 | 9,623 | 6,928 | 6,5815 | 5,10450635 | 5,66148718 | 5,00144342 |
| | 1 | 10,2005 | 9,6807 | 10,162 | 9,623 | 6,9472 | 6,5623 | 5,09582864 | 5,304074 | 5,54036158 |
| | 1 | 10,2775 | 9,6615 | 10,1812 | 9,6038 | 6,928 | 6,5623 | 5,9936755 | 5,67123718 | 5,27857968 |
| | 1 | 10,2005 | 9,6615 | 10,1812 | 9,623 | 6,928 | 6,5815 | 5,2840547 | 5,4826543 | 5,00144342 |
| | 1 | 10,2965 | 9,6423 | 10,1427 | 9,623 | 6,928 | 6,543 | 6,35361531 | 5,1238822 | 5,55715935 |
| | 1 | 10,2005 | 9,6807 | 10,1812 | 9,6038 | 6,9472 | 6,5815 | 5,09582864 | 5,67123718 | 5,26399125 |
| | 1 | 10,2198 | 9,6615 | 10,2005 | 9,5845 | 6,928 | 6,543 | 5,46292491 | 6,03891966 | 5,55715935 |
| | 1 | 10,1812 | 9,6615 | 10,1812 | 9,5267 | 6,928 | 6,5237 | 5,10450635 | 6,4285153 | 5,83573903 |
| | 1 | 10,2775 | 9,6615 | 10,2005 | 9,5845 | 6,928 | 6,5623 | 5,9936755 | 6,03891966 | 5,27857968 |
| K1.4 | 1 | 8,314 | 6,9088 | 8,6605 | 7,3323 | 5,8692 | 5,696 | 16,9016117 | 15,336297 | 2,95099843 |
| | 1 | 8,314 | 6,9088 | 8,6605 | 7,3515 | 5,8692 | 5,696 | 16,9016117 | 15,1146008 | 2,95099843 |
| | 1 | 8,3525 | 6,9088 | 8,6605 | 7,3323 | 5,8692 | 5,696 | 17,2846453 | 15,336297 | 2,95099843 |
| | 1 | 8,314 | 6,8895 | 8,6412 | 7,3323 | 5,8692 | 5,696 | 17,1337503 | 15,1472018 | 2,95099843 |
| | 1 | 8,3525 | 6,8895 | 8,6605 | 7,3705 | 5,8692 | 5,696 | 17,5157139 | 14,8952139 | 2,95099843 |
| | 1 | 8,314 | 6,8895 | 8,6412 | 7,3705 | 5,8692 | 5,696 | 17,1337503 | 14,7051335 | 2,95099843 |
| | 1 | 8,3717 | 6,8895 | 8,6605 | 7,3323 | 5,8692 | 5,696 | 17,7048867 | 15,336297 | 2,95099843 |
| | 1 | 8,314 | 6,928 | 8,6412 | 7,3515 | 5,8692 | 5,696 | 16,670676 | 14,9250104 | 2,95099843 |
| | 1 | 8,333 | 6,8895 | 8,6412 | 7,3323 | 5,8692 | 5,696 | 17,3226929 | 15,1472018 | 2,95099843 |
| | 1 | 8,333 | 6,8895 | 8,6605 | 7,3323 | 5,8692 | 5,696 | 17,3226929 | 15,336297 | 2,95099843 |
| K1.5 | 1 | 8,083 | 7,2168 | 8,4487 | 7,6403 | 7,698 | 7,5825 | 10,7163182 | 9,56833596 | 1,50038971 |
| | 1 | 8,083 | 7,236 | 8,4487 | 7,621 | 7,7172 | 7,5633 | 10,4787826 | 9,79677347 | 1,99424662 |
| | 1 | 8,0638 | 7,1975 | 8,468 | 7,7365 | 7,698 | 7,5633 | 10,743074 | 8,6384034 | 1,74980514 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|-------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|------------|------------|
| | 1 | 8,0445 | 7,1975 | 8,4487 | 7,6595 | 7,698 | 7,5825 | 10,5289328 | 9,34108206 | 1,50038971 |
| | 1 | 8,083 | 7,1975 | 8,468 | 7,6595 | 7,698 | 7,5825 | 10,9550909 | 9,54770902 | 1,50038971 |
| | 1 | 8,1012 | 7,2552 | 8,468 | 7,7558 | 7,698 | 7,5633 | 10,4428973 | 8,41048654 | 1,74980514 |
| | 1 | 8,083 | 7,1975 | 8,4487 | 7,6788 | 7,698 | 7,5633 | 10,9550909 | 9,11264455 | 1,74980514 |
| | 1 | 8,0638 | 7,2168 | 8,4487 | 7,698 | 7,698 | 7,5825 | 10,5037327 | 8,88539065 | 1,50038971 |
| | 1 | 8,083 | 7,1975 | 8,4295 | 7,6595 | 7,698 | 7,5825 | 10,9550909 | 9,13458687 | 1,50038971 |
| | 1 | 8,1215 | 7,236 | 8,4295 | 7,6403 | 7,698 | 7,5825 | 10,9031583 | 9,36235838 | 1,50038971 |
| K1.6 | 1 | 16,1295 | 14,628 | 12,4913 | 11,5865 | 5,9655 | 5,8885 | 9,30903004 | 7,24344144 | 1,29075518 |
| | 1 | 16,1295 | 14,6088 | 12,4913 | 11,5865 | 5,9655 | 5,9078 | 9,42806659 | 7,24344144 | 0,96722823 |
| | 1 | 16,2835 | 14,859 | 12,4913 | 11,6058 | 5,9655 | 5,9078 | 8,74811926 | 7,0889339 | 0,96722823 |
| | 1 | 16,3412 | 14,782 | 12,318 | 11,5865 | 5,9655 | 5,8885 | 9,54152694 | 5,93846404 | 1,29075518 |
| | 1 | 16,1295 | 14,5895 | 12,395 | 11,5865 | 5,9655 | 5,8885 | 9,54772312 | 6,52279145 | 1,29075518 |
| | 1 | 16,1103 | 14,6088 | 12,4913 | 11,5673 | 5,9655 | 5,8885 | 9,32012439 | 7,39714842 | 1,29075518 |
| | 1 | 16,3797 | 14,8205 | 12,4528 | 11,5673 | 5,9655 | 5,9078 | 9,51909986 | 7,11085057 | 0,96722823 |
| | 1 | 16,168 | 14,5895 | 12,549 | 11,548 | 5,9655 | 5,8885 | 9,76311232 | 7,97673121 | 1,29075518 |
| | 1 | 16,1295 | 14,6473 | 12,5105 | 11,5673 | 5,9655 | 5,8885 | 9,18937351 | 7,53926702 | 1,29075518 |
| | 1 | 16,322 | 14,8025 | 12,4913 | 11,5673 | 5,9655 | 5,9078 | 9,30952089 | 7,39714842 | 0,96722823 |
| K1.7 | 1 | 10,1427 | 9,007 | 12,1255 | 11,5673 | 10,2775 | 10,162 | 11,1972157 | 4,6035215 | 1,12381416 |
| | 1 | 10,47 | 8,8722 | 12,549 | 11,6442 | 10,2775 | 10,162 | 15,260745 | 7,21013627 | 1,12381416 |
| | 1 | 10,2583 | 9,007 | 12,626 | 11,163 | 10,2775 | 10,162 | 12,1979275 | 11,587201 | 1,12381416 |
| | 1 | 10,2198 | 8,853 | 12,087 | 11,1823 | 10,2968 | 10,1812 | 13,3740386 | 7,48490113 | 1,12267889 |
| | 1 | 10,4315 | 8,622 | 12,3372 | 11,5673 | 10,2775 | 10,1235 | 17,3464986 | 6,24047596 | 1,49841888 |
| | 1 | 10,1235 | 9,0455 | 12,5105 | 11,5673 | 10,2198 | 10,162 | 10,6484911 | 7,53926702 | 0,5655688 |
| | 1 | 10,1812 | 9,1032 | 12,6453 | 11,3363 | 10,2583 | 10,162 | 10,5881429 | 10,3516722 | 0,93875203 |
| | 1 | 10,1042 | 8,6412 | 12,2025 | 11,1438 | 10,239 | 10,1427 | 14,4791275 | 8,67609096 | 0,94052154 |
| | 1 | 10,162 | 8,93 | 12,2603 | 11,5095 | 10,2583 | 10,1427 | 12,1235977 | 6,12383058 | 1,12689237 |
| | 1 | 10,4122 | 8,8145 | 12,626 | 11,4517 | 10,2775 | 10,162 | 15,3444997 | 9,30064945 | 1,12381416 |
| K1.8 | 1 | 8,314 | 7,0435 | 9,0445 | 7,8713 | 10,4508 | 10,162 | 15,281453 | 12,9714191 | 2,76342481 |
| | 1 | 8,3333 | 7,159 | 9,0445 | 7,8713 | 10,4508 | 10,162 | 14,0916564 | 12,9714191 | 2,76342481 |
| | 1 | 8,4487 | 7,0435 | 9,0262 | 7,929 | 10,4508 | 10,162 | 16,6321446 | 12,1557244 | 2,76342481 |
| | 1 | 8,4873 | 7,0435 | 9,0647 | 7,8905 | 10,4508 | 10,162 | 17,0112992 | 12,9535451 | 2,76342481 |
| | 1 | 8,3528 | 7,0435 | 9,007 | 7,929 | 10,4508 | 10,162 | 15,6749832 | 11,968469 | 2,76342481 |
| | 1 | 8,3525 | 7,0435 | 9,0647 | 7,8905 | 10,4508 | 10,162 | 15,6719545 | 12,9535451 | 2,76342481 |
| | 1 | 8,3717 | 7,0435 | 9,0455 | 7,929 | 10,4508 | 10,162 | 15,8653559 | 12,3431541 | 2,76342481 |
| | 1 | 8,391 | 7,0435 | 9,007 | 7,929 | 10,4508 | 10,162 | 16,0588726 | 11,968469 | 2,76342481 |
| | 1 | 8,3333 | 7,0243 | 9,007 | 7,9482 | 10,4508 | 10,162 | 15,7080628 | 11,7553014 | 2,76342481 |
| | 1 | 8,3525 | 7,0435 | 9,0262 | 7,852 | 10,4508 | 10,162 | 15,6719545 | 13,0087966 | 2,76342481 |
| K1.9 | 1 | 9,623 | 8,0445 | 10,1235 | 8,6412 | 8,239 | 7,8348 | 16,4034085 | 14,6421692 | 4,90593519 |
| | 1 | 9,5845 | 8,083 | 10,0465 | 8,622 | 8,2583 | 7,854 | 15,6659189 | 14,1790673 | 4,89568071 |
| | 1 | 9,6038 | 8,314 | 10,0658 | 8,6798 | 8,2583 | 7,8348 | 13,4301006 | 13,7693974 | 5,12817408 |
| | 1 | 9,931 | 8,2755 | 10,085 | 8,6798 | 8,239 | 7,8348 | 16,6700232 | 13,9335647 | 4,90593519 |
| | 1 | 9,7192 | 8,0445 | 10,1235 | 8,622 | 8,239 | 7,8348 | 17,230842 | 14,8318269 | 4,90593519 |
| | 1 | 9,5845 | 8,1407 | 10,1235 | 8,622 | 8,2583 | 7,854 | 15,0639053 | 14,8318269 | 4,89568071 |
| | 1 | 9,5845 | 8,3525 | 10,0658 | 8,622 | 8,2583 | 7,8733 | 12,8540873 | 14,343619 | 4,66197644 |
| | 1 | 9,9117 | 8,3333 | 10,0658 | 8,6605 | 8,2583 | 7,8348 | 15,9246143 | 13,9611357 | 5,12817408 |
| | 1 | 9,8733 | 8,1985 | 10,1042 | 8,662 | 8,239 | 7,8348 | 16,9629202 | 14,2732725 | 4,90593519 |
| | 1 | 9,5653 | 8,1407 | 10,1235 | 8,699 | 8,239 | 7,854 | 14,8934168 | 14,0712204 | 4,6728972 |
| K1.10 | 1 | 13,475 | 11,4537 | 13,013 | 11,2035 | 7,558 | 7,2572 | 15,0003711 | 13,9053254 | 3,97988886 |
| | 1 | 13,5135 | 11,4152 | 13,013 | 11,2035 | 7,5652 | 7,2572 | 15,5274355 | 13,9053254 | 4,07127373 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|------------|------------|------------|
| | 1 | 13,475 | 11,4152 | 13,1285 | 11,7329 | 7,5203 | 7,2572 | 15,2860853 | 10,6303081 | 3,49853064 |
| | 1 | 13,4943 | 11,4152 | 13,1285 | 11,3383 | 7,5717 | 7,2572 | 15,407246 | 13,6359828 | 4,15362468 |
| | 1 | 13,4943 | 11,4152 | 13,0515 | 11,242 | 7,546 | 7,2637 | 15,407246 | 13,8643068 | 3,74105486 |
| | 1 | 13,6482 | 11,5308 | 13,09 | 11,2227 | 7,5332 | 7,2701 | 15,5141337 | 14,2650879 | 3,49253969 |
| | 1 | 13,475 | 11,4152 | 13,1285 | 11,7329 | 7,5717 | 7,2572 | 15,2860853 | 10,6303081 | 4,15362468 |
| | 1 | 13,5135 | 11,396 | 13,1477 | 11,6655 | 7,5268 | 7,2637 | 15,6695157 | 11,2734547 | 3,49550938 |
| | 1 | 13,4943 | 11,396 | 13,1477 | 11,319 | 7,5717 | 7,2572 | 15,5495283 | 13,9088966 | 4,15362468 |
| | 1 | 13,475 | 11,4537 | 13,0515 | 11,242 | 7,5268 | 7,2637 | 15,0003711 | 13,8643068 | 3,49550938 |
| K2.1 | 2 | 10,1235 | 8,6412 | 6,6585 | 5,9462 | 10,2795 | 9,5673 | 14,6421692 | 10,6976046 | 6,92835255 |
| | 2 | 10,0465 | 8,622 | 6,6585 | 5,9655 | 10,241 | 9,5673 | 14,1790673 | 10,4077495 | 6,57845913 |
| | 2 | 10,0658 | 8,6798 | 6,6585 | 5,9462 | 10,2795 | 9,6058 | 13,7693974 | 10,6976046 | 6,55382071 |
| | 2 | 10,085 | 8,6798 | 6,6592 | 5,9655 | 10,2987 | 9,5673 | 13,9335647 | 10,4171672 | 7,10186723 |
| | 2 | 10,1235 | 8,622 | 6,6585 | 5,9847 | 10,2795 | 9,5673 | 14,8318269 | 10,1193963 | 6,92835255 |
| | 2 | 10,1235 | 8,622 | 6,6585 | 5,9655 | 10,2987 | 9,5673 | 14,8318269 | 10,4077495 | 7,10186723 |
| | 2 | 10,0658 | 8,622 | 6,6392 | 5,9655 | 10,2603 | 9,625 | 14,343619 | 10,1473069 | 6,19182675 |
| | 2 | 10,0658 | 8,6605 | 6,6585 | 5,9462 | 10,2987 | 9,5865 | 13,9611357 | 10,6976046 | 6,91543593 |
| | 2 | 10,1042 | 8,622 | 6,6585 | 5,9462 | 10,241 | 9,5865 | 14,6691475 | 10,6976046 | 6,39097744 |
| | 2 | 10,1235 | 8,699 | 6,6585 | 5,9655 | 10,2603 | 9,6058 | 14,0712204 | 10,4077495 | 6,37895578 |
| K2.2 | 2 | 5,0672 | 4,2555 | 5,5035 | 4,772 | 7,9887 | 7,854 | 16,0187086 | 13,2915417 | 1,68613166 |
| | 2 | 5,2869 | 4,2715 | 5,4072 | 4,7143 | 7,9887 | 7,854 | 19,2059619 | 12,8143956 | 1,68613166 |
| | 2 | 5,064 | 3,694 | 5,388 | 4,7335 | 7,9887 | 7,854 | 27,0537125 | 12,1473645 | 1,68613166 |
| | 2 | 4,8439 | 3,694 | 5,388 | 4,7527 | 7,9887 | 7,854 | 23,7391358 | 11,7910171 | 1,68613166 |
| | 2 | 5,0688 | 3,694 | 5,465 | 4,8298 | 7,9887 | 7,854 | 27,1227904 | 11,6230558 | 1,68613166 |
| | 2 | 5,3784 | 4,387 | 5,4458 | 4,7335 | 7,9887 | 7,854 | 18,4329912 | 13,0798046 | 1,68613166 |
| | 2 | 5,0928 | 4,2908 | 5,338 | 4,7335 | 7,9887 | 7,854 | 15,7477223 | 11,3244661 | 1,68613166 |
| | 2 | 4,8105 | 3,694 | 5,4072 | 4,8105 | 7,9887 | 7,854 | 23,2096456 | 11,0352863 | 1,68613166 |
| | 2 | 5,0511 | 4,2691 | 5,5035 | 4,8105 | 7,9887 | 7,854 | 15,4817762 | 12,5919869 | 1,68613166 |
| | 2 | 5,2436 | 3,694 | 5,4072 | 4,7335 | 7,9887 | 7,854 | 29,552216 | 12,4593135 | 1,68613166 |
| K2.3 | 2 | 4,5623 | 3,7922 | 5,544 | 5,2552 | 3,113 | 3,1032 | 16,879644 | 5,20923521 | 0,31480887 |
| | 2 | 4,62 | 3,8115 | 5,5247 | 5,1782 | 3,325 | 3,0802 | 17,5 | 6,27183376 | 7,36240602 |
| | 2 | 4,62 | 3,7922 | 5,5247 | 5,1782 | 3,3134 | 3,0933 | 17,9177489 | 6,27183376 | 6,64272349 |
| | 2 | 4,5623 | 3,8885 | 5,5247 | 5,2168 | 3,3147 | 3,0834 | 14,7688666 | 5,57315329 | 6,97800706 |
| | 2 | 4,5815 | 3,7922 | 5,544 | 5,1975 | 3,2636 | 3,1014 | 17,2279821 | 6,25 | 4,96997181 |
| | 2 | 4,6007 | 3,8115 | 5,5247 | 5,1975 | 3,3147 | 3,0968 | 17,1539114 | 5,92249353 | 6,57374725 |
| | 2 | 4,6007 | 3,773 | 5,5247 | 5,1782 | 3,3094 | 3,0761 | 17,9907405 | 6,27183376 | 7,04961624 |
| | 2 | 4,543 | 3,8115 | 5,544 | 5,2552 | 3,295 | 3,085 | 16,1016949 | 5,20923521 | 6,37329287 |
| | 2 | 4,6007 | 3,8115 | 5,5055 | 5,1782 | 3,3112 | 3,0866 | 17,1539114 | 5,94496413 | 6,78303938 |
| | 2 | 4,62 | 3,773 | 5,5247 | 5,1782 | 3,3068 | 3,0776 | 18,3333333 | 6,27183376 | 6,93117213 |
| K2.4 | 2 | 5,236 | 4,2157 | 5,0243 | 4,1965 | 4,5623 | 4,081 | 19,486249 | 16,475927 | 10,5495035 |
| | 2 | 5,236 | 4,2157 | 5,005 | 4,1965 | 4,5623 | 4,081 | 19,486249 | 16,1538462 | 10,5495035 |
| | 2 | 5,236 | 4,2157 | 5,005 | 4,235 | 4,5815 | 4,081 | 19,486249 | 15,3846154 | 10,9243697 |
| | 2 | 5,3707 | 4,2543 | 4,9858 | 4,2735 | 4,543 | 4,081 | 20,786862 | 14,2865739 | 10,1694915 |
| | 2 | 5,313 | 4,2543 | 5,1013 | 4,3313 | 4,5623 | 4,081 | 19,9265951 | 15,0941917 | 10,5495035 |
| | 2 | 5,39 | 4,2543 | 5,1013 | 4,1965 | 4,5815 | 4,1002 | 21,0705009 | 17,7366554 | 10,505293 |
| | 2 | 5,1975 | 4,2157 | 5,0243 | 4,2735 | 4,6007 | 4,081 | 18,8898509 | 14,9433752 | 11,2961071 |
| | 2 | 5,2552 | 4,2157 | 5,0627 | 4,2735 | 4,5815 | 4,081 | 19,780408 | 15,58852 | 10,9243697 |
| | 2 | 5,2552 | 4,2157 | 5,0627 | 4,3313 | 4,5623 | 4,081 | 19,780408 | 14,4468367 | 10,5495035 |
| | 2 | 5,236 | 4,2157 | 5,0435 | 4,1772 | 4,5623 | 4,081 | 19,486249 | 17,1765639 | 10,5495035 |
| K2.5 | 2 | 11,665 | 9,1438 | 11,6462 | 9,8945 | 8,239 | 7,7192 | 21,6133733 | 15,0409576 | 6,30901808 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|------|----------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|------------|------------|------------|
| | 2 | 11,7425 | 9,1245 | 11,6462 | 9,933 | 8,239 | 7,7385 | 22,295082 | 14,7103776 | 6,07476636 |
| | 2 | 11,781 | 9,24 | 11,6462 | 9,856 | 8,2198 | 7,7385 | 21,5686275 | 15,3715375 | 5,85537361 |
| | 2 | 11,5308 | 8,855 | 11,6462 | 9,856 | 8,239 | 7,7385 | 23,2056752 | 15,3715375 | 6,07476636 |
| | 2 | 11,5885 | 9,1245 | 11,6462 | 9,933 | 8,2198 | 7,7385 | 21,2624585 | 14,7103776 | 5,85537361 |
| | 2 | 11,7618 | 9,163 | 11,6462 | 9,856 | 8,239 | 7,7385 | 22,0952575 | 15,3715375 | 6,07476636 |
| | 2 | 11,781 | 9,24 | 11,6462 | 9,8945 | 8,2198 | 7,7385 | 21,5686275 | 15,0409576 | 5,85537361 |
| | 2 | 11,5693 | 8,855 | 11,6462 | 9,8945 | 8,2198 | 7,7385 | 23,4612293 | 15,0409576 | 5,85537361 |
| | 2 | 11,319 | 9,163 | 11,6462 | 9,8945 | 8,239 | 7,7385 | 19,047619 | 15,0409576 | 6,07476636 |
| | 2 | 11,7618 | 9,163 | 11,6462 | 9,8945 | 8,2198 | 7,7385 | 22,0952575 | 15,0409576 | 5,85537361 |
| K2.6 | 2 | 17,3635 | 15,939 | 18,7147 | 17,5661 | 8,7203 | 8,162 | 8,20399113 | 6,13742139 | 6,40230267 |
| | 2 | 17,3635 | 15,9583 | 18,8765 | 17,6766 | 8,7587 | 8,0465 | 8,09283843 | 6,35658093 | 8,13134369 |
| | 2 | 17,402 | 15,7465 | 18,9179 | 17,6738 | 8,7395 | 8,085 | 9,51327434 | 6,57631132 | 7,48898678 |
| | 2 | 17,402 | 15,785 | 18,9179 | 17,6738 | 8,7203 | 8,1812 | 9,2920354 | 6,57631132 | 6,18212676 |
| | 2 | 17,3442 | 15,9983 | 18,786 | 17,6232 | 8,7395 | 8,1427 | 7,75994281 | 6,18971575 | 6,82876595 |
| | 2 | 17,325 | 15,9583 | 18,9079 | 17,7387 | 8,7395 | 8,0658 | 7,88860029 | 6,18365868 | 7,70867899 |
| | 2 | 17,3442 | 15,9967 | 18,9443 | 17,7486 | 8,7203 | 8,0658 | 7,76916779 | 6,31166103 | 7,50547573 |
| | 2 | 17,4597 | 15,9967 | 19,0334 | 17,7472 | 8,7587 | 8,1427 | 8,37929632 | 6,75759454 | 7,03300718 |
| | 2 | 17,325 | 15,9583 | 19,0334 | 17,7722 | 8,7587 | 8,0273 | 7,88860029 | 6,62624649 | 8,35055431 |
| | 2 | 17,325 | 15,9775 | 19,1603 | 17,7265 | 8,7395 | 8,085 | 7,77777778 | 7,48318137 | 7,48898678 |
| K2.7 | 2 | 8,5278 | 6,2947 | 6,3717 | 5,3515 | 8,4315 | 7,7192 | 26,1861207 | 16,0114255 | 8,4480816 |
| | 2 | 8,5662 | 6,6413 | 6,3333 | 5,3707 | 8,4122 | 7,7192 | 22,4708739 | 15,1990274 | 8,23803523 |
| | 2 | 8,239 | 6,6413 | 6,4103 | 5,5055 | 8,4122 | 7,7 | 19,3919165 | 14,114784 | 8,46627517 |
| | 2 | 8,4893 | 6,391 | 6,4103 | 5,39 | 8,4508 | 7,7192 | 24,7169967 | 15,9165718 | 8,65716855 |
| | 2 | 8,6432 | 6,2755 | 6,3717 | 5,3323 | 8,4315 | 7,7192 | 27,3937893 | 16,312758 | 8,4480816 |
| | 2 | 8,6432 | 6,4103 | 6,3717 | 5,4478 | 8,4315 | 7,7 | 25,8341818 | 14,5000549 | 8,67579909 |
| | 2 | 8,2775 | 6,6605 | 6,3717 | 5,4862 | 8,4122 | 7,7 | 19,5348837 | 13,89739 | 8,46627517 |
| | 2 | 8,2775 | 6,468 | 6,391 | 5,3515 | 8,4508 | 7,7192 | 21,8604651 | 16,2650602 | 8,65716855 |
| | 2 | 8,547 | 6,314 | 6,314 | 5,3323 | 8,4315 | 7,7385 | 26,1261261 | 15,5479886 | 8,21917808 |
| | 2 | 8,5278 | 6,314 | 6,4103 | 5,4285 | 8,4508 | 7,7192 | 25,9598021 | 15,3159759 | 8,65716855 |
| K2.8 | 2 | 6,6194 | 5,6608 | 7,1225 | 6,1043 | 9,2015 | 8,7074 | 14,4816751 | 14,2955423 | 5,36977667 |
| | 2 | 6,5315 | 5,6364 | 7,1225 | 6,1043 | 9,2079 | 8,7331 | 13,7043558 | 14,2955423 | 5,15644175 |
| | 2 | 6,6475 | 5,7472 | 7,0659 | 6,1336 | 9,2143 | 8,7395 | 13,5434374 | 13,194356 | 5,15286023 |
| | 2 | 6,7341 | 5,7105 | 7,1435 | 6,0975 | 9,1951 | 8,7074 | 15,2002495 | 14,6426822 | 5,30391187 |
| | 2 | 6,5598 | 5,7037 | 7,1435 | 6,0701 | 9,2079 | 8,7203 | 13,0507028 | 15,0262476 | 5,29545282 |
| | 2 | 6,7341 | 5,7218 | 7,068 | 6,0833 | 9,2015 | 8,7331 | 15,0324468 | 13,9318053 | 5,09047438 |
| | 2 | 6,5873 | 5,6512 | 7,068 | 6,1138 | 9,2143 | 8,7267 | 14,2106781 | 13,500283 | 5,29177474 |
| | 2 | 6,5486 | 5,6435 | 7,0553 | 6,103 | 9,2143 | 8,7395 | 13,8212748 | 13,4976542 | 5,15286023 |
| | 2 | 6,6929 | 5,7494 | 7,0875 | 6,1223 | 9,2015 | 8,7138 | 14,0970282 | 13,6183422 | 5,30022279 |
| | 2 | 6,6124 | 5,71 | 7,0875 | 6,0694 | 9,2207 | 8,7331 | 13,6470873 | 14,3647266 | 5,28810177 |
| K2.9 | 2 | 5,8327 | 5,236 | 6,9878 | 6,1023 | 9,491 | 8,9833 | 10,2302536 | 12,6720856 | 5,34927826 |
| | 2 | 5,8327 | 5,2168 | 7,007 | 6,1407 | 9,491 | 8,9349 | 10,5594322 | 12,3633509 | 5,85923506 |
| | 2 | 5,8327 | 5,236 | 7,007 | 6,1215 | 9,491 | 8,9234 | 10,2302536 | 12,6373626 | 5,98040249 |
| | 2 | 5,7943 | 5,2168 | 6,9685 | 6,1215 | 9,4746 | 8,9477 | 9,9666914 | 12,1546961 | 5,56118464 |
| | 2 | 5,852 | 5,1975 | 7,007 | 6,0445 | 9,4681 | 9,0325 | 11,1842105 | 13,7362637 | 4,60071186 |
| | 2 | 5,852 | 5,2168 | 6,9678 | 6,1407 | 9,4681 | 8,9356 | 10,8544087 | 11,8703177 | 5,62414846 |
| | 2 | 5,8327 | 5,1975 | 6,9878 | 6,1215 | 9,4788 | 8,9391 | 10,8903252 | 12,397321 | 5,6937587 |
| | 2 | 5,8135 | 5,1975 | 6,9878 | 6,083 | 9,4788 | 8,9334 | 10,5960265 | 12,9482813 | 5,7538929 |
| | 2 | 5,8135 | 5,1975 | 6,9878 | 6,083 | 9,5009 | 8,9334 | 10,5960265 | 12,9482813 | 5,97311834 |
| | 2 | 5,8327 | 5,1975 | 6,9878 | 6,083 | 9,481 | 8,9491 | 10,8903252 | 12,9482813 | 5,6101677 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|-------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|------------|------------|
| K2.10 | 2 | 10,0151 | 8,6712 | 13,1265 | 11,317 | 9,6241 | 9,3107 | 13,4187377 | 13,7850912 | 3,25640839 |
| | 2 | 9,8835 | 8,6195 | 13,1265 | 11,2785 | 9,5931 | 9,2018 | 12,7889918 | 14,078391 | 4,07897343 |
| | 2 | 9,8321 | 8,6061 | 13,1073 | 11,2207 | 9,5955 | 9,2046 | 12,4693606 | 14,3935059 | 4,07378459 |
| | 2 | 9,8413 | 8,6192 | 13,0688 | 11,2015 | 9,5949 | 9,2021 | 12,4180748 | 14,2882285 | 4,09384152 |
| | 2 | 9,8688 | 8,6682 | 13,0688 | 11,2785 | 9,629 | 9,3116 | 12,1656128 | 13,6990389 | 3,29629245 |
| | 2 | 10,0045 | 8,6795 | 13,088 | 11,4132 | 9,5968 | 9,1981 | 13,2440402 | 12,7964548 | 4,15450984 |
| | 2 | 9,9305 | 8,607 | 13,1073 | 11,2785 | 9,5968 | 9,1981 | 13,327627 | 13,9525303 | 4,15450984 |
| | 2 | 9,8387 | 8,614 | 13,088 | 11,24 | 9,5968 | 9,2027 | 12,4477827 | 14,1198044 | 4,10657719 |
| | 2 | 9,8601 | 8,6533 | 13,088 | 11,317 | 9,6215 | 9,3149 | 12,2392268 | 13,5314792 | 3,18661331 |
| | 2 | 9,9705 | 8,6721 | 13,0399 | 11,24 | 9,5733 | 9,1985 | 13,0224161 | 13,80302 | 3,91505541 |
| K2.11 | 2 | 10,7222 | 9,163 | 10,703 | 8,8165 | 10,9725 | 10,1882 | 14,5417918 | 17,6258993 | 7,14786967 |
| | 2 | 10,7222 | 9,086 | 10,703 | 8,8165 | 10,9051 | 10,4335 | 15,259928 | 17,6258993 | 4,32458208 |
| | 2 | 10,7222 | 9,009 | 10,703 | 8,8165 | 10,8825 | 10,4143 | 15,9780642 | 17,6258993 | 4,30232024 |
| | 2 | 10,7222 | 9,3363 | 10,703 | 8,8165 | 10,9725 | 10,5105 | 12,925519 | 17,6258993 | 4,21052632 |
| | 2 | 10,7222 | 9,086 | 10,703 | 8,8165 | 10,934 | 10,4528 | 15,259928 | 17,6258993 | 4,40095116 |
| | 2 | 10,7222 | 9,086 | 10,703 | 8,8165 | 11,0495 | 10,5105 | 15,259928 | 17,6258993 | 4,87804878 |
| | 2 | 10,7222 | 9,0282 | 10,7222 | 8,8165 | 10,9725 | 10,5105 | 15,7989965 | 17,7734047 | 4,21052632 |
| | 2 | 10,6838 | 9,009 | 10,7222 | 8,8165 | 10,9725 | 10,383 | 15,6760703 | 17,7734047 | 5,37252221 |
| | 2 | 10,6838 | 9,3363 | 10,703 | 8,8165 | 10,9436 | 10,395 | 12,6125536 | 17,6258993 | 5,01297562 |
| | 2 | 10,6838 | 9,009 | 10,6645 | 8,8165 | 10,934 | 10,4076 | 15,6760703 | 17,3285199 | 4,81434059 |
| K3.1 | 3 | 8,6197 | 7,7391 | 7,6807 | 6,7952 | 6,7568 | 6,545 | 10,2161328 | 11,5288971 | 3,13461994 |
| | 3 | 8,5617 | 7,7406 | 7,6807 | 6,776 | 6,776 | 6,545 | 9,59038509 | 11,7788743 | 3,40909091 |
| | 3 | 8,6509 | 7,8346 | 7,6807 | 6,8915 | 6,7568 | 6,545 | 9,43601244 | 10,2751051 | 3,13461994 |
| | 3 | 8,6845 | 7,7344 | 7,6807 | 6,8915 | 6,7568 | 6,545 | 10,9401808 | 10,2751051 | 3,13461994 |
| | 3 | 8,6087 | 7,8456 | 7,7 | 6,7952 | 6,776 | 6,545 | 8,86428845 | 11,7506494 | 3,40909091 |
| | 3 | 8,6231 | 7,7687 | 7,6807 | 6,776 | 6,7568 | 6,545 | 9,90826965 | 11,7788743 | 3,13461994 |
| | 3 | 8,6463 | 7,8252 | 7,6807 | 6,853 | 6,7568 | 6,545 | 9,49654766 | 10,7763615 | 3,13461994 |
| | 3 | 8,6463 | 7,7585 | 7,6807 | 6,7952 | 6,7568 | 6,545 | 10,2679759 | 11,5288971 | 3,13461994 |
| | 3 | 8,5627 | 7,7585 | 7,7 | 6,699 | 6,776 | 6,545 | 9,39189742 | 13 | 3,40909091 |
| | 3 | 8,6523 | 7,8108 | 7,6615 | 6,776 | 6,776 | 6,545 | 9,72573767 | 11,5577889 | 3,40909091 |
| K3.2 | 3 | 11,5936 | 9,9059 | 11,1791 | 9,7674 | 7,5652 | 6,9963 | 14,5571695 | 12,6280291 | 7,51995982 |
| | 3 | 11,3287 | 9,938 | 10,9939 | 9,9448 | 7,5075 | 7,0113 | 12,275901 | 9,54256451 | 6,60939061 |
| | 3 | 11,5453 | 10,1015 | 10,5155 | 9,9692 | 7,4562 | 7,0113 | 12,5055217 | 5,19518806 | 5,96684638 |
| | 3 | 12,0174 | 10,3599 | 11,3471 | 9,5801 | 7,5054 | 6,992 | 13,7925009 | 15,5722608 | 6,84040824 |
| | 3 | 12,4877 | 10,4522 | 11,2612 | 9,3853 | 7,5567 | 7,0134 | 16,3000392 | 16,6580826 | 7,18964627 |
| | 3 | 12,0291 | 10,0728 | 10,9781 | 9,7168 | 7,446 | 6,9835 | 16,2630621 | 11,4892377 | 6,21138867 |
| | 3 | 11,5095 | 10,1491 | 11,5356 | 9,9684 | 7,4947 | 6,9899 | 11,819801 | 13,5857693 | 6,73542637 |
| | 3 | 11,7761 | 10,3162 | 11,5356 | 9,7084 | 7,5652 | 6,9942 | 12,3971434 | 15,8396616 | 7,5477185 |
| | 3 | 12,4877 | 10,391 | 11,1243 | 9,5392 | 7,5075 | 7,0027 | 16,7901215 | 14,2489865 | 6,72394272 |
| | 3 | 12,2037 | 10,3104 | 11,2159 | 9,8093 | 7,5096 | 6,9364 | 15,5141473 | 12,5411247 | 7,63289656 |
| K3.3 | 3 | 5,0627 | 4,2992 | 5,4363 | 4,4443 | 8,7338 | 8,3345 | 15,0808857 | 18,2477052 | 4,5718931 |
| | 3 | 5,1013 | 4,2927 | 5,3966 | 4,4443 | 8,7338 | 8,3338 | 15,8508615 | 17,6462958 | 4,57990794 |
| | 3 | 5,1013 | 3,5163 | 5,4218 | 4,2088 | 8,7217 | 8,3531 | 31,0705114 | 22,3726438 | 4,2262403 |
| | 3 | 4,851 | 4,2863 | 5,1423 | 4,4856 | 8,716 | 8,3638 | 11,6408988 | 12,7705501 | 4,04084442 |
| | 3 | 5,0756 | 4,2992 | 5,4264 | 4,4897 | 8,7309 | 8,3467 | 15,2967137 | 17,2619048 | 4,40046272 |
| | 3 | 5,0756 | 4,2543 | 5,4001 | 4,489 | 8,7381 | 8,3331 | 16,1813382 | 16,8719098 | 4,63487486 |
| | 3 | 5,0756 | 3,6382 | 5,4034 | 4,121 | 8,706 | 8,3816 | 28,3198046 | 23,733205 | 3,72616586 |
| | 3 | 4,8895 | 4,2414 | 5,1742 | 4,521 | 8,7409 | 8,3338 | 13,254934 | 12,6241738 | 4,65741514 |
| | 3 | 5,1205 | 4,0617 | 5,4097 | 4,4943 | 8,7452 | 8,3374 | 20,6776682 | 16,9214559 | 4,66312949 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|------|----------|---------|--------|---------|--------|---------|---------|------------|------------|------------|
| | 3 | 5,082 | 4,3377 | 5,4054 | 4,5031 | 8,7295 | 8,3402 | 14,6458087 | 16,6925667 | 4,45959104 |
| K3.4 | 3 | 6,3293 | 5,6346 | 7,9962 | 7,3285 | 9,317 | 8,8486 | 10,9759373 | 8,35021635 | 5,02736932 |
| | 3 | 6,3222 | 5,662 | 7,7806 | 7,2857 | 9,3106 | 8,855 | 10,4425675 | 6,36069198 | 4,89334737 |
| | 3 | 6,342 | 5,6035 | 7,783 | 7,2954 | 9,3106 | 8,8743 | 11,6445916 | 6,2649364 | 4,68605675 |
| | 3 | 6,3194 | 5,7029 | 7,7796 | 7,4997 | 9,2977 | 8,8357 | 9,75567301 | 3,59787136 | 4,96897082 |
| | 3 | 6,3194 | 5,6641 | 8,0815 | 7,331 | 9,317 | 8,8422 | 10,3696553 | 9,28664233 | 5,09606096 |
| | 3 | 6,342 | 5,665 | 7,7775 | 7,3272 | 9,3106 | 8,855 | 10,674866 | 5,78977821 | 4,89334737 |
| | 3 | 6,3418 | 5,6173 | 7,7759 | 7,2916 | 9,3042 | 8,855 | 11,4242013 | 6,22821796 | 4,82792717 |
| | 3 | 6,304 | 5,6392 | 7,7901 | 7,5412 | 9,317 | 8,8807 | 10,5456853 | 3,19508094 | 4,68283782 |
| | 3 | 6,309 | 5,6879 | 8,0296 | 7,479 | 9,2977 | 8,8357 | 9,84466635 | 6,85712862 | 4,96897082 |
| | 3 | 6,309 | 5,6392 | 7,7759 | 7,29 | 9,3234 | 8,8486 | 10,6165795 | 6,24879435 | 5,0925628 |
| K3.5 | 3 | 5,0392 | 3,4457 | 6,5642 | 5,929 | 5,7921 | 5,3871 | 31,6220829 | 9,67673136 | 6,99228259 |
| | 3 | 4,8843 | 3,7578 | 6,391 | 5,082 | 5,8437 | 5,4854 | 23,0636939 | 20,4819277 | 6,13138936 |
| | 3 | 4,9549 | 3,7091 | 6,3333 | 5,5825 | 5,8486 | 5,4477 | 25,1427879 | 11,8547992 | 6,85463188 |
| | 3 | 5,0105 | 3,6637 | 6,853 | 6,1215 | 5,8373 | 5,4281 | 26,8795529 | 10,6741573 | 7,01009028 |
| | 3 | 5,0371 | 3,5173 | 6,699 | 5,9675 | 5,7766 | 5,407 | 30,1721228 | 10,9195402 | 6,39822733 |
| | 3 | 4,8294 | 3,629 | 6,4872 | 5,1975 | 5,8371 | 5,4475 | 24,8560898 | 19,8806881 | 6,67454729 |
| | 3 | 4,9815 | 3,7587 | 6,2755 | 5,3515 | 5,851 | 5,4886 | 24,5468232 | 14,7239264 | 6,19381302 |
| | 3 | 4,9667 | 3,6478 | 6,6605 | 6,1215 | 5,8501 | 5,5194 | 26,5548553 | 8,09248555 | 5,65289482 |
| | 3 | 5,0373 | 3,4695 | 6,8337 | 6,0252 | 5,8261 | 5,5003 | 31,1238163 | 11,8310725 | 5,59207703 |
| | 3 | 4,8859 | 3,749 | 6,545 | 5,9097 | 5,8238 | 5,4268 | 23,2689985 | 9,70664629 | 6,81685497 |
| K3.6 | 3 | 11,2502 | 8,5077 | 10,0485 | 7,7578 | 16,4134 | 15,4364 | 24,3773444 | 22,7964373 | 5,95245348 |
| | 3 | 10,5518 | 8,4599 | 9,9137 | 7,854 | 16,4422 | 15,3678 | 19,8250535 | 20,7762995 | 6,53440537 |
| | 3 | 10,6105 | 8,5006 | 10,1255 | 7,854 | 16,4017 | 15,377 | 19,8850196 | 22,4334601 | 6,24752312 |
| | 3 | 10,6852 | 8,5377 | 10,5682 | 7,8733 | 16,6172 | 15,4967 | 20,0978924 | 25,5000852 | 6,74301326 |
| | 3 | 11,3363 | 8,5738 | 10,0485 | 7,7962 | 16,5838 | 15,4855 | 24,3686212 | 22,4142907 | 6,6227282 |
| | 3 | 10,6095 | 8,4979 | 9,933 | 7,8348 | 16,3943 | 15,3736 | 19,9029172 | 21,1235276 | 6,22594438 |
| | 3 | 10,613 | 8,4473 | 10,1447 | 7,854 | 16,529 | 15,4506 | 20,4061057 | 22,5802636 | 6,52429064 |
| | 3 | 10,6097 | 8,5455 | 10,5875 | 7,854 | 16,7245 | 15,4286 | 19,455781 | 25,8181818 | 7,74851266 |
| | 3 | 11,2041 | 8,7296 | 10,0677 | 7,8348 | 16,4717 | 15,3825 | 22,0856651 | 22,1788492 | 6,61255365 |
| | 3 | 10,6399 | 8,7439 | 10,1255 | 7,8348 | 16,381 | 15,3925 | 17,8197164 | 22,6230803 | 6,03443013 |
| K3.7 | 3 | 7,2691 | 5,5935 | 7,3899 | 5,6973 | 18,0455 | 15,7859 | 23,0509967 | 22,9042342 | 12,5216813 |
| | 3 | 7,2432 | 5,5651 | 7,5289 | 5,708 | 18,1971 | 15,7849 | 23,1679368 | 24,185472 | 13,2559584 |
| | 3 | 7,2997 | 5,5799 | 7,4469 | 5,7066 | 17,9496 | 15,7539 | 23,5598723 | 23,3694557 | 12,2325846 |
| | 3 | 7,3679 | 5,5634 | 7,4305 | 5,6902 | 17,5928 | 15,7589 | 24,4913747 | 23,4210349 | 10,4241508 |
| | 3 | 7,2614 | 5,5539 | 7,6258 | 5,7044 | 17,6832 | 15,7388 | 23,5147492 | 25,196045 | 10,9957474 |
| | 3 | 7,2517 | 5,5564 | 7,5096 | 5,6959 | 18,1724 | 15,8069 | 23,3779665 | 24,1517524 | 13,0169928 |
| | 3 | 7,2886 | 5,5695 | 7,4968 | 5,7137 | 18,0862 | 15,7879 | 23,5861482 | 23,7848149 | 12,7074786 |
| | 3 | 7,3203 | 5,5635 | 7,3578 | 5,7158 | 17,7695 | 15,7635 | 23,9990164 | 22,3164533 | 11,2890064 |
| | 3 | 7,2489 | 5,553 | 7,5317 | 5,7044 | 17,9985 | 15,8094 | 23,3952738 | 24,2614549 | 12,1626802 |
| | 3 | 7,3048 | 5,5746 | 7,5489 | 5,7023 | 17,6603 | 15,7703 | 23,6857956 | 24,4618421 | 10,70197 |
| K3.8 | 3 | 8,1399 | 7,325 | 8,1166 | 7,1788 | 5,544 | 5,159 | 10,0111795 | 11,554099 | 6,94444444 |
| | 3 | 8,002 | 7,2216 | 8,1572 | 7,127 | 5,621 | 5,159 | 9,75256186 | 12,6293336 | 8,21917808 |
| | 3 | 8,0515 | 7,2159 | 8,1114 | 7,1315 | 5,6595 | 5,1595 | 10,3781904 | 12,0805286 | 8,83470271 |
| | 3 | 8,3652 | 7,2123 | 8,2889 | 6,9699 | 5,6017 | 5,159 | 13,7820973 | 15,9128473 | 7,90295803 |
| | 3 | 8,0793 | 7,3157 | 8,1397 | 7,122 | 5,698 | 5,1975 | 9,45131385 | 12,5029178 | 8,78378378 |
| | 3 | 8,0101 | 7,2416 | 8,1397 | 7,0845 | 5,6788 | 5,1975 | 9,5941374 | 12,9636227 | 8,47538212 |
| | 3 | 7,9467 | 7,2266 | 8,1311 | 7,1173 | 5,7365 | 5,1205 | 9,06162306 | 12,4681777 | 10,738255 |
| | 3 | 8,5121 | 7,2009 | 8,2095 | 7,022 | 5,6017 | 5,159 | 15,4039544 | 14,4649491 | 7,90295803 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|-------|----------|---------|--------|---------|--------|--------|--------|------------|------------|------------|
| | 3 | 8,3153 | 7,2294 | 8,1285 | 7,0726 | 5,621 | 5,159 | 13,0590598 | 12,9900966 | 8,21917808 |
| | 3 | 8,3238 | 7,1867 | 8,11 | 7,1306 | 5,6595 | 5,159 | 13,660828 | 12,0764488 | 8,84353741 |
| K3.9 | 3 | 9,0497 | 8,9336 | 8,9579 | 8,7055 | 9,9304 | 9,7577 | 1,28291546 | 2,81762467 | 1,73910416 |
| | 3 | 9,0696 | 8,7462 | 8,9576 | 8,7003 | 9,895 | 9,7164 | 3,56575814 | 2,87242118 | 1,804952 |
| | 3 | 9,0054 | 8,6749 | 9,0028 | 8,8318 | 9,8978 | 9,6765 | 3,67002021 | 1,89940907 | 2,23585039 |
| | 3 | 8,9988 | 8,6558 | 8,9422 | 8,6733 | 9,9066 | 9,6771 | 3,81161933 | 3,00708998 | 2,31663739 |
| | 3 | 9,0019 | 8,7578 | 8,9474 | 8,7078 | 9,9257 | 9,759 | 2,71164976 | 2,6778729 | 1,67947853 |
| | 3 | 9,1104 | 8,8308 | 8,9581 | 8,6907 | 9,9148 | 9,7394 | 3,06902002 | 2,98500798 | 1,7690725 |
| | 3 | 9,0332 | 8,6745 | 8,9613 | 8,6907 | 9,8868 | 9,6878 | 3,97090732 | 3,01965117 | 2,01278472 |
| | 3 | 9,0039 | 8,6665 | 8,9577 | 8,7875 | 9,8962 | 9,6725 | 3,74726507 | 1,90004131 | 2,26046361 |
| | 3 | 8,9989 | 8,6762 | 9,0034 | 8,7392 | 9,9065 | 9,7471 | 3,58599384 | 2,93444699 | 1,60904457 |
| | 3 | 9,082 | 8,6482 | 8,9506 | 8,6858 | 9,9294 | 9,6788 | 4,77648095 | 2,95846089 | 2,52381816 |
| K3.10 | 3 | 9,5673 | 8,8165 | 9,5288 | 8,8165 | 9,0475 | 8,8165 | 7,8475641 | 7,47523298 | 2,55319149 |
| | 3 | 9,5095 | 8,8165 | 9,5288 | 8,8165 | 9,0475 | 8,8165 | 7,28744939 | 7,47523298 | 2,55319149 |
| | 3 | 9,4902 | 8,8165 | 9,5865 | 8,8165 | 9,0475 | 8,8165 | 7,09890203 | 8,03212851 | 2,55319149 |
| | 3 | 9,5095 | 8,8165 | 9,471 | 8,8165 | 9,0475 | 8,8165 | 7,28744939 | 6,91056911 | 2,55319149 |
| | 3 | 9,5095 | 8,8165 | 9,548 | 8,8165 | 9,0475 | 8,8165 | 7,28744939 | 7,66129032 | 2,55319149 |
| | 3 | 9,3555 | 8,8165 | 9,5673 | 8,8165 | 9,0475 | 8,8165 | 5,76131687 | 7,8475641 | 2,55319149 |
| | 3 | 9,5095 | 8,8165 | 9,5673 | 8,8165 | 9,0282 | 8,8165 | 7,28744939 | 7,8475641 | 2,34487495 |
| | 3 | 9,5095 | 8,8165 | 9,5673 | 8,8165 | 9,009 | 8,8165 | 7,28744939 | 7,8475641 | 2,13675214 |
| | 3 | 9,5095 | 8,8165 | 9,6058 | 8,8165 | 9,0475 | 8,8165 | 7,28744939 | 8,21691062 | 2,55319149 |
| | 3 | 9,5288 | 8,8165 | 9,5673 | 8,8165 | 9,0475 | 8,8165 | 7,47523298 | 7,8475641 | 2,55319149 |
| K4.1 | 4 | 11,9317 | 9,1468 | 10,4942 | 8,3703 | 9,009 | 8,0465 | 23,3403455 | 20,2387986 | 10,6837607 |
| | 4 | 11,5799 | 8,9886 | 10,4079 | 8,2164 | 9,0475 | 8,0465 | 22,377568 | 21,0561208 | 11,0638298 |
| | 4 | 11,3423 | 8,9108 | 10,2346 | 8,2664 | 9,0475 | 8,0465 | 21,437451 | 19,2308444 | 11,0638298 |
| | 4 | 11,5048 | 9,0259 | 10,2276 | 8,4466 | 9,1053 | 8,0465 | 21,5466588 | 17,413665 | 11,6283923 |
| | 4 | 11,8689 | 9,1599 | 10,499 | 8,5082 | 9,0475 | 8,0465 | 22,8243561 | 18,9618059 | 11,0638298 |
| | 4 | 11,7579 | 9,1889 | 10,4917 | 8,3097 | 9,0475 | 8,0464 | 21,8491397 | 20,7973922 | 11,0649351 |
| | 4 | 11,5486 | 8,9729 | 10,2917 | 8,2552 | 9,0475 | 8,0465 | 22,3031363 | 19,7877902 | 11,0638298 |
| | 4 | 11,2855 | 8,9185 | 10,2634 | 8,3433 | 9,0475 | 8,162 | 20,973816 | 18,7082253 | 9,78723404 |
| | 4 | 11,5255 | 9,0016 | 10,5121 | 8,4814 | 9,1832 | 8,0273 | 21,8983992 | 19,3177386 | 12,5871156 |
| | 4 | 11,7102 | 9,1385 | 10,4894 | 8,2935 | 9,009 | 8,0273 | 21,9611962 | 20,9344672 | 10,8968809 |
| K4.2 | 4 | 9,8175 | 8,6818 | 10,1255 | 9,009 | 9,3491 | 9,086 | 11,5681182 | 11,026616 | 2,81417463 |
| | 4 | 9,8752 | 8,624 | 10,1062 | 8,9705 | 9,3491 | 9,086 | 12,6701231 | 11,2376561 | 2,81417463 |
| | 4 | 9,8368 | 8,6432 | 10,087 | 9,0282 | 9,3427 | 9,0796 | 12,1340273 | 10,4966789 | 2,81610241 |
| | 4 | 9,856 | 8,7203 | 10,1255 | 9,0475 | 9,3491 | 9,086 | 11,5229302 | 10,6463878 | 2,81417463 |
| | 4 | 9,933 | 8,7972 | 10,1255 | 9,0475 | 9,3491 | 9,086 | 11,4346119 | 10,6463878 | 2,81417463 |
| | 4 | 9,8368 | 8,6818 | 10,164 | 8,9705 | 9,3555 | 9,086 | 11,7416233 | 11,7424242 | 2,88065844 |
| | 4 | 9,8752 | 8,6432 | 10,164 | 9,0667 | 9,3555 | 9,0796 | 12,4756967 | 10,7959465 | 2,94906739 |
| | 4 | 9,856 | 8,6432 | 10,1832 | 9,0282 | 9,3491 | 9,086 | 12,3051948 | 11,3422107 | 2,81417463 |
| | 4 | 9,8945 | 8,778 | 10,1832 | 9,1053 | 9,3555 | 9,086 | 11,2840467 | 10,5850813 | 2,88065844 |
| | 4 | 9,8175 | 8,701 | 10,1832 | 9,0282 | 9,3555 | 9,086 | 11,372549 | 11,3422107 | 2,88065844 |
| K4.3 | 4 | 10,548 | 8,8153 | 10,1447 | 8,5278 | 9,4004 | 8,5342 | 16,4268108 | 15,9383718 | 9,21450151 |
| | 4 | 10,5338 | 8,8659 | 10,0742 | 8,6304 | 9,4143 | 8,5491 | 15,8337922 | 14,3316591 | 9,19027437 |
| | 4 | 10,6001 | 8,8916 | 10,1383 | 8,5278 | 9,394 | 8,5299 | 16,1177725 | 15,8853062 | 9,19842453 |
| | 4 | 10,7158 | 8,9783 | 10,1383 | 8,5278 | 9,4047 | 8,5363 | 16,214375 | 15,8853062 | 9,23368103 |
| | 4 | 10,51 | 8,8006 | 10,2025 | 8,6882 | 9,4004 | 8,5192 | 16,26451 | 14,8424406 | 9,37406919 |
| | 4 | 10,5036 | 8,8322 | 10,2153 | 8,5855 | 9,4197 | 8,5427 | 15,9126395 | 15,9544996 | 9,31027527 |
| | 4 | 10,4542 | 9,0361 | 10,1191 | 8,6304 | 9,4047 | 8,5342 | 13,564883 | 14,7117827 | 9,25601029 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|------------|------------|------------|
| | 4 | 10,7776 | 8,8322 | 10,1191 | 8,5085 | 9,394 | 8,532 | 18,0504008 | 15,9164353 | 9,17606983 |
| | 4 | 10,5005 | 8,8284 | 10,1704 | 8,5406 | 9,4068 | 8,532 | 15,9240036 | 16,0249351 | 9,29965557 |
| | 4 | 10,5243 | 8,7787 | 10,1319 | 8,5085 | 9,4068 | 8,5235 | 16,5863763 | 16,0226611 | 9,39001573 |
| K4.4 | 4 | 11,2976 | 9,4132 | 13,1148 | 11,4495 | 11,2912 | 9,4282 | 16,6796488 | 12,6978681 | 16,4995749 |
| | 4 | 11,7468 | 9,8731 | 13,0968 | 11,4343 | 11,4987 | 9,4731 | 15,950727 | 12,6939405 | 17,6159044 |
| | 4 | 11,8666 | 9,7811 | 13,2869 | 11,9126 | 11,2848 | 9,379 | 17,5745369 | 10,3432704 | 16,8882036 |
| | 4 | 11,458 | 9,4432 | 13,2446 | 11,7326 | 11,2848 | 9,3833 | 17,5842206 | 11,4159733 | 16,8500992 |
| | 4 | 11,2506 | 9,4325 | 13,1369 | 11,6321 | 11,3297 | 9,5245 | 16,160027 | 11,4547572 | 15,9333433 |
| | 4 | 11,3318 | 9,4047 | 13,1192 | 11,42 | 11,7489 | 9,471 | 17,0061244 | 12,9520093 | 19,388198 |
| | 4 | 11,9992 | 9,9587 | 13,1122 | 11,7216 | 11,2719 | 9,3897 | 17,0053004 | 10,6053904 | 16,6981609 |
| | 4 | 11,95 | 9,7769 | 13,2833 | 11,9557 | 11,2506 | 9,4026 | 18,1849372 | 9,99450438 | 16,4257906 |
| | 4 | 11,3147 | 9,4111 | 13,2074 | 11,7521 | 11,2976 | 9,4902 | 16,8241314 | 11,0188228 | 15,9980881 |
| | 4 | 11,2078 | 9,3683 | 13,1353 | 11,5413 | 11,3767 | 9,4646 | 16,4126769 | 12,1352386 | 16,8071585 |
| K4.5 | 4 | 11,9136 | 10,5704 | 12,499 | 11,3171 | 9,0812 | 8,3782 | 11,2745098 | 9,45595648 | 7,74126767 |
| | 4 | 12,1853 | 10,5875 | 12,499 | 11,4761 | 9,0335 | 8,3585 | 13,1125208 | 8,18385471 | 7,47218686 |
| | 4 | 11,9243 | 10,5661 | 12,493 | 11,3554 | 9,0419 | 8,425 | 11,3901864 | 9,1058993 | 6,82268107 |
| | 4 | 11,9521 | 10,4827 | 12,6831 | 11,3497 | 9,1869 | 8,4455 | 12,2940738 | 10,5132026 | 8,0701869 |
| | 4 | 11,7553 | 10,5126 | 12,7354 | 11,3497 | 9,09 | 8,4008 | 10,5714018 | 10,8806948 | 7,5819582 |
| | 4 | 12,1596 | 10,5768 | 12,7212 | 11,5135 | 9,0465 | 8,3514 | 13,0168756 | 9,49360123 | 7,68363455 |
| | 4 | 11,9136 | 10,5704 | 12,6152 | 11,4114 | 9,0339 | 8,3708 | 11,2745098 | 9,54245672 | 7,34012995 |
| | 4 | 12,0077 | 10,534 | 12,5745 | 11,3822 | 9,112 | 8,4595 | 12,2729582 | 9,48188795 | 7,16088674 |
| | 4 | 11,8623 | 10,4741 | 12,7283 | 11,4699 | 9,1401 | 8,4146 | 11,7026209 | 9,88663058 | 7,93754992 |
| | 4 | 11,9264 | 10,4677 | 12,7007 | 11,338 | 9,0592 | 8,371 | 12,2308492 | 10,7293299 | 7,59669728 |
| K4.6 | 4 | 6,4552 | 5,8584 | 6,8886 | 6,1522 | 8,572 | 7,2287 | 9,24525964 | 10,6901257 | 15,6707886 |
| | 4 | 6,5129 | 5,8648 | 6,9129 | 6,0908 | 8,9059 | 7,2713 | 9,95102028 | 11,8922594 | 18,3541248 |
| | 4 | 6,5322 | 5,8969 | 6,8986 | 6,1557 | 8,5534 | 7,2321 | 9,7256667 | 10,7688517 | 15,4476582 |
| | 4 | 6,4872 | 5,8905 | 6,9072 | 6,155 | 8,5734 | 7,2254 | 9,19811321 | 10,8900857 | 15,7230504 |
| | 4 | 6,468 | 5,8713 | 6,8951 | 6,1457 | 8,5672 | 7,2095 | 9,22541744 | 10,8685878 | 15,8476515 |
| | 4 | 6,4872 | 5,8199 | 6,8958 | 6,0994 | 8,6941 | 7,2492 | 10,2864102 | 11,5490588 | 16,6193165 |
| | 4 | 6,5129 | 5,8969 | 6,9072 | 6,1514 | 8,8163 | 7,2287 | 9,45815228 | 10,9422052 | 18,0075542 |
| | 4 | 6,4103 | 5,8777 | 6,9243 | 6,1407 | 8,546 | 7,2207 | 8,3085035 | 11,3166674 | 15,5078399 |
| | 4 | 6,5001 | 5,8584 | 6,9015 | 6,1422 | 8,5558 | 7,2047 | 9,87215581 | 11,0019561 | 15,7916267 |
| | 4 | 6,5065 | 5,9675 | 6,9008 | 6,1429 | 8,5539 | 7,2047 | 8,28402367 | 10,9827846 | 15,7729223 |
| K4.7 | 4 | 9,5659 | 8,0952 | 10,9139 | 10,0581 | 8,0337 | 7,4241 | 15,3744028 | 7,84137659 | 7,5880354 |
| | 4 | 9,5659 | 8,0896 | 10,9139 | 10,0054 | 8,1556 | 7,4433 | 15,4329441 | 8,32424706 | 8,73387611 |
| | 4 | 9,5934 | 8,0939 | 10,9139 | 10,0054 | 8,0208 | 7,4113 | 15,6305377 | 8,32424706 | 7,59899262 |
| | 4 | 9,6018 | 8,0973 | 10,8782 | 10,0474 | 8,008 | 7,4113 | 15,6689371 | 7,63729293 | 7,4512987 |
| | 4 | 9,6793 | 8,103 | 10,9405 | 10,0377 | 8,0273 | 7,4241 | 16,2852686 | 8,25190805 | 7,51435726 |
| | 4 | 9,6209 | 8,0994 | 10,8813 | 9,9836 | 8,0337 | 7,4177 | 15,8145288 | 8,24993337 | 7,66769981 |
| | 4 | 9,4472 | 8,0952 | 10,9061 | 9,9983 | 8,0337 | 7,4048 | 14,3111186 | 8,3237821 | 7,8282734 |
| | 4 | 9,5782 | 8,0981 | 10,9061 | 9,9983 | 8,0208 | 7,4369 | 15,4527991 | 8,3237821 | 7,27982246 |
| | 4 | 9,5833 | 8,1022 | 10,9061 | 10,0507 | 8,0337 | 7,4177 | 15,4550103 | 7,84331704 | 7,66769981 |
| | 4 | 9,7124 | 8,121 | 10,9368 | 10,0345 | 8,0273 | 7,4113 | 16,3852395 | 8,25012801 | 7,67381311 |
| K4.8 | 4 | 14,7284 | 11,18 | 13,4087 | 11,4174 | 10,703 | 9,548 | 24,09223 | 14,8508058 | 10,7913669 |
| | 4 | 14,6685 | 11,1308 | 13,4643 | 11,3767 | 10,6067 | 9,5673 | 24,1176671 | 15,504705 | 9,79946638 |
| | 4 | 14,7284 | 11,1308 | 13,4515 | 11,3575 | 10,6067 | 9,548 | 24,4262785 | 15,5670371 | 9,98142683 |
| | 4 | 14,6364 | 11,0709 | 13,2889 | 11,3703 | 10,626 | 9,5673 | 24,3604985 | 14,4376133 | 9,96329757 |
| | 4 | 14,6856 | 11,3896 | 13,4493 | 11,5072 | 10,7607 | 9,625 | 22,4437544 | 14,4401567 | 10,5541461 |
| | 4 | 14,7198 | 11,7789 | 13,4172 | 11,4067 | 10,626 | 9,548 | 19,9792117 | 14,9844975 | 10,1449275 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|------------|------------|
| | 4 | 14,6578 | 11,227 | 13,3403 | 11,3425 | 10,6067 | 9,5673 | 23,4059682 | 14,9756752 | 9,79946638 |
| | 4 | 14,6942 | 11,0581 | 13,4344 | 11,3104 | 10,626 | 9,5673 | 24,7451375 | 15,810159 | 9,96329757 |
| | 4 | 14,5594 | 11,0474 | 13,4729 | 11,4751 | 10,626 | 9,5673 | 24,1218732 | 14,8282849 | 9,96329757 |
| | 4 | 14,769 | 11,1586 | 13,4515 | 11,4388 | 10,857 | 9,625 | 24,4457986 | 14,9626436 | 11,3475177 |
| K4.9 | 4 | 8,4122 | 6,853 | 8,778 | 7,854 | 10,1702 | 9,1372 | 18,5349849 | 10,5263158 | 10,1571257 |
| | 4 | 8,4508 | 6,8337 | 8,8165 | 7,854 | 10,163 | 9,2784 | 19,1354665 | 10,9170306 | 8,7041228 |
| | 4 | 8,3737 | 6,7568 | 8,7972 | 7,8925 | 10,3669 | 9,1704 | 19,3092659 | 10,283954 | 11,5415409 |
| | 4 | 8,4315 | 6,8337 | 8,778 | 7,7192 | 10,1704 | 9,1187 | 18,9503647 | 12,0619731 | 10,3407929 |
| | 4 | 8,4315 | 6,776 | 8,7395 | 7,7192 | 10,1654 | 9,1187 | 19,6347032 | 11,6745809 | 10,2966927 |
| | 4 | 8,4315 | 6,8337 | 8,7972 | 7,9117 | 10,1542 | 9,2667 | 18,9503647 | 10,0657027 | 8,74022572 |
| | 4 | 8,4315 | 6,8145 | 8,7972 | 7,854 | 10,3695 | 9,1788 | 19,1780822 | 10,7215932 | 11,4827137 |
| | 4 | 8,4315 | 6,8145 | 8,778 | 7,777 | 10,173 | 9,1148 | 19,1780822 | 11,4035088 | 10,4020446 |
| | 4 | 8,4315 | 6,8337 | 8,7587 | 7,623 | 10,1629 | 9,1148 | 18,9503647 | 12,9665361 | 10,3130012 |
| | 4 | 8,393 | 6,8337 | 8,7395 | 7,7385 | 10,1629 | 9,2477 | 18,5785774 | 11,4537445 | 9,0053036 |
| K5.1 | 5 | 8,0273 | 7,3727 | 8,1427 | 7,4048 | 8,5278 | 8,1042 | 8,15467218 | 9,06210471 | 4,96728347 |
| | 5 | 8,1235 | 7,4305 | 8,1492 | 7,392 | 8,5085 | 8,1235 | 8,53080569 | 9,29170962 | 4,52488688 |
| | 5 | 8,1427 | 7,3727 | 8,1427 | 7,4113 | 8,5278 | 8,162 | 9,45632284 | 8,98227861 | 4,28950022 |
| | 5 | 8,008 | 7,3727 | 8,1492 | 7,4177 | 8,5278 | 8,1235 | 7,93331668 | 8,97634124 | 4,74096484 |
| | 5 | 8,008 | 7,3727 | 8,1941 | 7,4241 | 8,547 | 8,1427 | 7,93331668 | 9,39700516 | 4,73031473 |
| | 5 | 8,0273 | 7,392 | 8,1363 | 7,3984 | 8,5085 | 8,1235 | 7,91424265 | 9,06923294 | 4,52488688 |
| | 5 | 8,3352 | 7,392 | 8,1235 | 7,3984 | 8,5278 | 8,1235 | 11,3158652 | 8,92595556 | 4,74096484 |
| | 5 | 8,008 | 7,3727 | 8,1363 | 7,4113 | 8,5278 | 8,1427 | 7,93331668 | 8,91068422 | 4,51581885 |
| | 5 | 8,008 | 7,3727 | 8,1556 | 7,4626 | 8,547 | 8,1427 | 7,93331668 | 8,4972289 | 4,73031473 |
| | 5 | 7,9887 | 7,3535 | 8,1684 | 7,4113 | 8,5662 | 8,1235 | 7,95123111 | 9,26864502 | 5,1679858 |
| K5.2 | 5 | 11,1265 | 9,2785 | 11,7649 | 9,2682 | 10,5875 | 9,7405 | 16,6089965 | 21,2215998 | 8 |
| | 5 | 10,9532 | 9,2207 | 11,8122 | 9,3068 | 10,3244 | 9,7212 | 15,8172954 | 21,2102741 | 5,84247026 |
| | 5 | 10,857 | 9,2592 | 11,7649 | 9,2246 | 10,3244 | 9,7148 | 14,7167726 | 21,5921937 | 5,90445934 |
| | 5 | 10,8763 | 9,24 | 11,7649 | 9,2051 | 10,4977 | 9,9587 | 15,0446383 | 21,757941 | 5,13445802 |
| | 5 | 11,0688 | 9,24 | 11,8122 | 9,2368 | 10,5618 | 9,7341 | 16,5221162 | 21,8028818 | 7,83673238 |
| | 5 | 10,9148 | 9,2785 | 11,8094 | 9,2788 | 10,2538 | 9,7341 | 14,9915711 | 21,4286924 | 5,0683649 |
| | 5 | 10,934 | 9,2592 | 11,7657 | 9,2281 | 10,3372 | 9,7726 | 15,3173587 | 21,5677775 | 5,46182719 |
| | 5 | 10,8634 | 9,2015 | 11,7606 | 9,2366 | 10,6196 | 9,856 | 15,2981571 | 21,4614901 | 7,19047798 |
| | 5 | 11,0367 | 9,2528 | 11,7706 | 9,2082 | 10,2795 | 9,7469 | 16,1633459 | 21,7694935 | 5,18118586 |
| | 5 | 10,9661 | 9,3042 | 11,7899 | 9,2068 | 10,3372 | 9,8368 | 15,1548864 | 21,909431 | 4,84076926 |
| K5.3 | 5 | 8,7652 | 7,2188 | 9,0974 | 8,4172 | 8,4893 | 7,8925 | 17,6424953 | 7,47686152 | 7,03002603 |
| | 5 | 8,7652 | 7,2059 | 9,086 | 8,4151 | 8,5278 | 7,8925 | 17,7896682 | 7,3838873 | 7,44975257 |
| | 5 | 8,7652 | 7,1995 | 9,0853 | 8,4586 | 8,5278 | 8,1427 | 17,8626843 | 6,89795604 | 4,51581885 |
| | 5 | 8,7652 | 7,2637 | 9,0974 | 8,4586 | 8,4893 | 7,8733 | 17,1302423 | 7,02178644 | 7,25619309 |
| | 5 | 8,9256 | 7,2123 | 9,0846 | 8,4087 | 8,4893 | 7,8925 | 19,1953482 | 7,4400634 | 7,03002603 |
| | 5 | 8,8101 | 7,2123 | 9,0839 | 8,4671 | 8,4893 | 7,8925 | 18,136003 | 6,79003512 | 7,03002603 |
| | 5 | 8,778 | 7,2059 | 9,096 | 8,6832 | 8,4893 | 7,8925 | 17,9095466 | 4,53825858 | 7,03002603 |
| | 5 | 8,7908 | 7,2059 | 9,0967 | 8,4265 | 8,5085 | 8,1235 | 18,0290759 | 7,3675069 | 4,52488688 |
| | 5 | 8,7908 | 7,238 | 9,0903 | 8,4144 | 8,4893 | 7,9695 | 17,6639214 | 7,43539817 | 6,1230019 |
| | 5 | 8,9256 | 7,238 | 9,0953 | 8,445 | 8,4893 | 7,8925 | 18,9074124 | 7,14984662 | 7,03002603 |
| K5.4 | 5 | 8,7972 | 7,8925 | 8,624 | 8,008 | 10,472 | 10,1447 | 10,283954 | 7,14285714 | 3,12547746 |
| | 5 | 8,701 | 7,8665 | 8,6432 | 8,162 | 10,472 | 10,1447 | 9,59085163 | 5,56738245 | 3,12547746 |
| | 5 | 8,6753 | 7,9887 | 8,7203 | 7,9695 | 10,472 | 10,1447 | 7,91442371 | 8,60979553 | 3,12547746 |
| | 5 | 8,7459 | 7,9053 | 8,701 | 8,008 | 10,472 | 10,1447 | 9,61136075 | 7,96460177 | 3,12547746 |
| | 5 | 8,7459 | 7,8027 | 8,6047 | 8,0273 | 10,4913 | 10,1255 | 10,7844819 | 6,71028624 | 3,4866985 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|------------|------------|
| | 5 | 8,6818 | 7,8733 | 8,6047 | 8,1427 | 10,472 | 10,164 | 9,31258495 | 5,36915872 | 2,94117647 |
| | 5 | 8,6689 | 7,8733 | 8,7395 | 7,9503 | 10,4528 | 10,1447 | 9,17763499 | 9,03026489 | 2,94753559 |
| | 5 | 8,701 | 8,0593 | 8,624 | 8,008 | 10,472 | 10,1447 | 7,37501437 | 7,14285714 | 3,12547746 |
| | 5 | 8,7908 | 7,8925 | 8,6818 | 7,9695 | 10,472 | 10,1447 | 10,2186377 | 8,2045198 | 3,12547746 |
| | 5 | 8,7587 | 7,8668 | 8,701 | 7,9695 | 10,472 | 10,1447 | 10,183018 | 8,40707965 | 3,12547746 |
| K5.5 | 5 | 8,2005 | 6,776 | 8,5662 | 7,7385 | 8,239 | 6,776 | 17,370892 | 9,66239406 | 17,7570093 |
| | 5 | 8,239 | 6,853 | 8,4893 | 7,6807 | 8,239 | 6,853 | 16,8224299 | 9,52493138 | 16,8224299 |
| | 5 | 8,2775 | 6,8145 | 8,4893 | 7,6807 | 8,2775 | 6,8145 | 17,6744186 | 9,52493138 | 17,6744186 |
| | 5 | 8,2005 | 6,853 | 8,6432 | 7,7 | 8,2005 | 6,853 | 16,4319249 | 10,912625 | 16,4319249 |
| | 5 | 8,1427 | 6,8337 | 8,6432 | 7,7 | 8,1235 | 6,8337 | 16,0757488 | 10,912625 | 15,8773927 |
| | 5 | 8,1427 | 6,8337 | 8,6047 | 7,7578 | 8,1427 | 6,8337 | 16,0757488 | 9,84229549 | 16,0757488 |
| | 5 | 8,239 | 6,776 | 8,5662 | 7,7385 | 8,239 | 6,776 | 17,7570093 | 9,66239406 | 17,7570093 |
| | 5 | 8,239 | 6,8337 | 8,5085 | 7,6615 | 8,239 | 6,8337 | 17,0566816 | 9,95475113 | 17,0566816 |
| | 5 | 8,2775 | 6,7952 | 8,4893 | 7,6615 | 8,2775 | 6,7952 | 17,9075808 | 9,75109844 | 17,9075808 |
| | 5 | 8,2195 | 6,853 | 8,5085 | 7,7 | 8,2198 | 6,853 | 16,6250989 | 9,50226244 | 16,6281418 |
| K5.6 | 5 | 8,8357 | 7,931 | 8,6818 | 8,1427 | 7,238 | 6,99 | 10,2391435 | 6,2095418 | 3,42636087 |
| | 5 | 8,9128 | 7,8733 | 8,6818 | 8,2275 | 7,238 | 6,853 | 11,6630015 | 5,23278583 | 5,31914894 |
| | 5 | 8,7972 | 7,8925 | 8,701 | 8,2775 | 7,315 | 6,853 | 10,283954 | 4,86725664 | 6,31578947 |
| | 5 | 9,009 | 8,008 | 8,701 | 8,2198 | 7,315 | 6,8915 | 11,1111111 | 5,5303988 | 5,78947368 |
| | 5 | 8,7972 | 7,8925 | 8,701 | 8,2583 | 7,315 | 6,8337 | 10,283954 | 5,08792093 | 6,5796309 |
| | 5 | 8,9128 | 7,8925 | 8,701 | 8,2198 | 7,238 | 6,7182 | 11,447581 | 5,5303988 | 7,18154186 |
| | 5 | 8,9128 | 7,9117 | 8,701 | 8,1042 | 7,315 | 6,8915 | 11,2321605 | 6,85898173 | 5,78947368 |
| | 5 | 9,009 | 7,8733 | 8,701 | 8,1427 | 7,3342 | 6,8915 | 12,6062826 | 6,41650385 | 6,03610482 |
| | 5 | 8,8935 | 7,8733 | 8,6625 | 8,2775 | 7,3342 | 6,8915 | 11,4712993 | 4,44444444 | 6,03610482 |
| | 5 | 9,009 | 7,931 | 8,701 | 8,2775 | 7,238 | 6,776 | 11,965812 | 4,86725664 | 6,38297872 |
| K5.7 | 5 | 13,09 | 11,6655 | 13,013 | 11,935 | 10,587 | 9,856 | 10,8823529 | 8,28402367 | 6,90469444 |
| | 5 | 13,0515 | 11,6655 | 13,013 | 11,935 | 10,8575 | 9,856 | 10,619469 | 8,28402367 | 9,22403868 |
| | 5 | 13,0708 | 11,6847 | 13,013 | 11,8916 | 10,587 | 9,8945 | 10,6045537 | 8,61753631 | 6,5410409 |
| | 5 | 13,244 | 11,7233 | 13,013 | 11,9543 | 10,8575 | 9,8175 | 11,4821806 | 8,13571044 | 9,57863228 |
| | 5 | 13,0515 | 11,6847 | 13,013 | 11,9157 | 10,5682 | 9,9522 | 10,4723595 | 8,43233689 | 5,82880718 |
| | 5 | 13,09 | 11,6655 | 13,0323 | 11,858 | 10,5875 | 9,8945 | 10,8823529 | 9,01068883 | 6,54545455 |
| | 5 | 13,09 | 11,6655 | 13,0323 | 11,9928 | 10,8575 | 9,8752 | 10,8823529 | 7,97633572 | 9,04720239 |
| | 5 | 13,244 | 11,6847 | 13,0323 | 11,9735 | 10,8575 | 9,856 | 11,7736333 | 8,1244293 | 9,22403868 |
| | 5 | 13,0708 | 11,6655 | 13,013 | 11,9735 | 10,8575 | 9,9137 | 10,751446 | 7,98816568 | 8,6926088 |
| | 5 | 13,09 | 11,6655 | 13,013 | 11,8965 | 10,5685 | 9,8752 | 10,8823529 | 8,57988166 | 6,56006056 |
| K5.8 | 5 | 9,8368 | 9,0475 | 9,933 | 8,8935 | 9,8368 | 9,317 | 8,02395088 | 10,4651163 | 5,28423878 |
| | 5 | 10,1062 | 9,086 | 9,8752 | 8,9128 | 9,8368 | 9,394 | 10,0947933 | 9,74562541 | 4,50146389 |
| | 5 | 9,9715 | 8,932 | 9,8945 | 9,1053 | 9,8368 | 9,317 | 10,4247104 | 7,97614837 | 5,28423878 |
| | 5 | 10,1832 | 9,1053 | 10,087 | 9,0667 | 9,8368 | 9,2977 | 10,5850813 | 10,1149995 | 5,48044079 |
| | 5 | 10,1062 | 9,009 | 10,0485 | 9,1053 | 9,8368 | 9,3363 | 10,8567018 | 9,38647559 | 5,08803676 |
| | 5 | 9,856 | 9,009 | 9,933 | 8,8935 | 9,8157 | 9,2977 | 8,59375 | 10,4651163 | 5,2772599 |
| | 5 | 9,856 | 9,0667 | 9,8752 | 8,8935 | 9,8368 | 9,3363 | 8,00831981 | 9,94106448 | 5,08803676 |
| | 5 | 10,1255 | 9,1245 | 10,087 | 9,0475 | 9,8368 | 9,2785 | 9,88593156 | 10,3053435 | 5,67562622 |
| | 5 | 9,8945 | 9,0475 | 10,087 | 9,1438 | 9,8368 | 9,2785 | 8,56031128 | 9,35064935 | 5,67562622 |
| | 5 | 10,1255 | 9,0475 | 9,933 | 8,8935 | 9,8368 | 9,317 | 10,6463878 | 10,4651163 | 5,28423878 |
| K6.1 | 6 | 11,1265 | 9,2592 | 11,4992 | 10,01 | 11,7618 | 11,1265 | 16,7824563 | 12,9504661 | 5,40138414 |
| | 6 | 11,0688 | 9,2592 | 11,473 | 9,9137 | 11,7425 | 11,0495 | 16,3486557 | 13,5910398 | 5,90163934 |
| | 6 | 11,0495 | 9,2785 | 11,4345 | 9,8752 | 11,7425 | 11,1265 | 16,0278746 | 13,6368009 | 5,24590164 |
| | 6 | 11,2805 | 9,317 | 11,4345 | 9,8752 | 11,7425 | 11,1265 | 17,4061433 | 13,6368009 | 5,24590164 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|------|----------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|------------|------------|
| | 6 | 11,165 | 9,2592 | 11,4537 | 9,8945 | 11,781 | 11,088 | 17,0694133 | 13,6130683 | 5,88235294 |
| | 6 | 11,088 | 9,2785 | 11,4345 | 9,856 | 11,781 | 11,1073 | 16,3194444 | 13,8047138 | 5,71852984 |
| | 6 | 11,01495 | 9,2592 | 11,4345 | 9,8752 | 11,7425 | 11,1265 | 15,9397001 | 13,6368009 | 5,24590164 |
| | 6 | 11,1265 | 9,3555 | 11,5115 | 9,933 | 11,7425 | 11,1265 | 15,916955 | 13,7123746 | 5,24590164 |
| | 6 | 11,2035 | 9,2785 | 11,4345 | 9,8752 | 11,781 | 11,1265 | 17,1821306 | 13,6368009 | 5,55555556 |
| | 6 | 11,0688 | 9,2785 | 11,4922 | 9,9137 | 11,781 | 10,9917 | 16,1742917 | 13,7354031 | 6,69977082 |
| K6.2 | 6 | 10,9276 | 9,6892 | 11,8772 | 10,472 | 9,5095 | 9,1053 | 11,3327721 | 11,8310713 | 4,25048636 |
| | 6 | 10,9276 | 9,6827 | 11,8772 | 10,472 | 9,394 | 9,0667 | 11,3922545 | 11,8310713 | 3,48413881 |
| | 6 | 10,9276 | 9,6678 | 11,8772 | 10,5105 | 9,4132 | 9,0667 | 11,5286065 | 11,5069208 | 3,68100115 |
| | 6 | 11,0131 | 9,6785 | 11,858 | 10,6067 | 9,4132 | 9,0667 | 12,1182955 | 10,5523697 | 3,68100115 |
| | 6 | 11,0645 | 9,7041 | 11,8965 | 10,4528 | 9,394 | 9,086 | 12,2951783 | 12,135502 | 3,27868852 |
| | 6 | 10,9276 | 9,6806 | 11,8965 | 10,4528 | 9,4132 | 9,0667 | 11,4114719 | 12,135502 | 3,68100115 |
| | 6 | 10,8998 | 9,7255 | 11,8772 | 10,6645 | 9,4132 | 9,0667 | 10,7735922 | 10,2103189 | 3,68100115 |
| | 6 | 10,9212 | 9,702 | 11,8965 | 10,472 | 9,5288 | 9,0667 | 11,1636084 | 11,97411 | 4,84950886 |
| | 6 | 11,0131 | 9,625 | 11,8965 | 10,472 | 9,394 | 9,0667 | 12,6040806 | 11,97411 | 3,48413881 |
| | 6 | 10,9896 | 9,7127 | 11,9157 | 10,6838 | 9,4515 | 9,0667 | 11,6191672 | 10,338461 | 4,07131143 |
| K6.3 | 6 | 10,7287 | 9,3448 | 11,0495 | 9,625 | 9,5288 | 8,778 | 12,8990465 | 12,8919861 | 7,87927126 |
| | 6 | 10,7287 | 9,3084 | 11,0495 | 9,625 | 9,4517 | 8,7972 | 13,2383234 | 12,8919861 | 6,92468022 |
| | 6 | 10,7287 | 9,2892 | 11,0739 | 9,7405 | 9,471 | 8,8165 | 13,4172826 | 12,0409251 | 6,91056911 |
| | 6 | 10,7287 | 9,4624 | 11,0495 | 9,856 | 9,4902 | 8,8165 | 11,8029211 | 10,8013937 | 7,09890203 |
| | 6 | 10,7565 | 9,4261 | 11,0495 | 9,7405 | 9,4325 | 8,8165 | 12,3683354 | 11,8466899 | 6,53061224 |
| | 6 | 10,7565 | 9,3448 | 11,0302 | 9,625 | 9,4517 | 8,8165 | 13,1241575 | 12,7395695 | 6,72048415 |
| | 6 | 10,6866 | 9,3555 | 11,0688 | 9,779 | 9,548 | 8,7972 | 12,4557858 | 11,652573 | 7,8634269 |
| | 6 | 10,7415 | 9,317 | 11,0688 | 9,779 | 9,4517 | 8,8165 | 13,2616487 | 11,652573 | 6,72048415 |
| | 6 | 10,7415 | 9,2977 | 11,0302 | 9,8175 | 9,4517 | 8,7972 | 13,4413257 | 10,9943609 | 6,92468022 |
| | 6 | 10,78 | 9,24 | 11,0688 | 9,7212 | 9,4902 | 8,8357 | 14,2857143 | 12,1747615 | 6,89658806 |
| K6.4 | 6 | 11,9928 | 10,6645 | 11,781 | 10,8185 | 7,007 | 6,391 | 11,0758122 | 8,16993464 | 8,79120879 |
| | 6 | 11,9928 | 10,6453 | 12,1082 | 10,8955 | 6,9107 | 6,4295 | 11,2359082 | 10,0155267 | 6,96311517 |
| | 6 | 12,012 | 10,6453 | 12,2622 | 10,9532 | 6,9107 | 6,4103 | 11,3777889 | 10,6750828 | 7,2409452 |
| | 6 | 12,474 | 10,6645 | 12,089 | 10,703 | 6,8915 | 6,4103 | 14,5061728 | 11,4649682 | 6,98251469 |
| | 6 | 12,3778 | 10,6645 | 11,8195 | 10,703 | 6,9685 | 6,4103 | 13,8417166 | 9,44625407 | 8,01033221 |
| | 6 | 12,166 | 10,7415 | 11,8583 | 10,8377 | 6,8915 | 6,4103 | 11,7088608 | 8,60662996 | 6,98251469 |
| | 6 | 11,9735 | 10,6453 | 12,2045 | 10,9148 | 6,8915 | 6,4103 | 11,09283 | 10,5674137 | 6,98251469 |
| | 6 | 12,2045 | 10,6645 | 12,2238 | 10,8925 | 6,9107 | 6,391 | 12,6182965 | 10,8910486 | 7,52022226 |
| | 6 | 12,4163 | 10,7222 | 12,0505 | 10,703 | 7,007 | 6,4103 | 13,6441613 | 11,1821086 | 8,51576994 |
| | 6 | 12,32 | 10,78 | 11,8195 | 10,7607 | 6,93 | 6,4295 | 12,5 | 8,95807775 | 7,22222222 |
| K6.5 | 6 | 6,8915 | 5,9868 | 8,4583 | 7,5767 | 6,5835 | 5,9675 | 13,1277661 | 10,4228982 | 9,35672515 |
| | 6 | 6,8658 | 5,929 | 8,4507 | 7,5598 | 6,5835 | 5,9675 | 13,6444406 | 10,5423219 | 9,35672515 |
| | 6 | 6,7952 | 6,0766 | 8,5363 | 7,667 | 6,5258 | 5,8135 | 10,5751118 | 10,183569 | 10,9151368 |
| | 6 | 6,853 | 5,5568 | 8,8842 | 7,5354 | 6,5258 | 5,7943 | 18,9143441 | 15,1820085 | 11,2093536 |
| | 6 | 6,8466 | 5,9675 | 8,4384 | 7,5641 | 6,4488 | 5,7943 | 12,8399498 | 10,3609689 | 10,149175 |
| | 6 | 6,9364 | 5,9547 | 8,4588 | 7,5682 | 6,4488 | 5,775 | 14,1528747 | 10,5286802 | 10,4484555 |
| | 6 | 6,8081 | 5,8199 | 8,4911 | 7,641 | 6,468 | 5,9675 | 14,5150629 | 10,0116593 | 7,73809524 |
| | 6 | 6,8723 | 5,8263 | 8,6727 | 7,6653 | 6,5835 | 5,9675 | 15,220523 | 11,6157598 | 9,35672515 |
| | 6 | 6,853 | 5,9739 | 8,4776 | 7,5568 | 6,5835 | 5,9675 | 12,8279586 | 10,8615646 | 9,35672515 |
| | 6 | 6,8915 | 5,9611 | 8,4739 | 7,5293 | 6,6027 | 6,006 | 13,5006893 | 11,1471695 | 9,03721205 |
| K6.6 | 6 | 7,7192 | 6,0637 | 7,9117 | 7,3535 | 9,548 | 8,7395 | 21,446523 | 7,05537369 | 8,46774194 |
| | 6 | 7,7192 | 6,083 | 7,9695 | 7,315 | 9,548 | 8,7395 | 21,196497 | 8,21256039 | 8,46774194 |
| | 6 | 7,6807 | 6,0637 | 7,8925 | 7,315 | 9,4902 | 8,7395 | 21,0527686 | 7,31707317 | 7,91026533 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|------|----------|---------|--------|---------|--------|---------|---------|------------|------------|------------|
| | 6 | 7,6807 | 6,0445 | 7,8925 | 7,3535 | 9,5865 | 8,7395 | 21,3027458 | 6,82926829 | 8,83534137 |
| | 6 | 7,7 | 6,0445 | 7,9117 | 7,3535 | 9,5288 | 8,778 | 21,5 | 7,05537369 | 7,87927126 |
| | 6 | 7,7 | 6,083 | 7,8925 | 7,315 | 9,5095 | 8,778 | 21 | 7,31707317 | 7,69230769 |
| | 6 | 7,6807 | 6,083 | 7,9117 | 7,3727 | 9,4902 | 8,7587 | 20,8014894 | 6,81269512 | 7,70795136 |
| | 6 | 7,6807 | 6,0637 | 7,9117 | 7,3727 | 9,5288 | 8,7972 | 21,0527686 | 6,81269512 | 7,67777684 |
| | 6 | 7,7385 | 6,0252 | 7,9117 | 7,315 | 9,5673 | 8,778 | 22,1399496 | 7,54199477 | 8,24997648 |
| | 6 | 7,7385 | 6,083 | 7,8925 | 7,315 | 9,5865 | 8,778 | 21,3930348 | 7,31707317 | 8,43373494 |
| K6.7 | 6 | 9,702 | 7,931 | 10,5297 | 9,009 | 9,7983 | 9,2015 | 18,2539683 | 14,4420069 | 6,09085249 |
| | 6 | 9,625 | 7,854 | 10,5297 | 9,086 | 9,779 | 9,2207 | 18,4 | 13,710742 | 5,70917272 |
| | 6 | 9,625 | 7,8348 | 10,6067 | 9,0667 | 9,779 | 9,2207 | 18,5994805 | 14,5191247 | 5,70917272 |
| | 6 | 9,6827 | 7,8348 | 10,5105 | 9,009 | 9,7598 | 9,2207 | 19,0845529 | 14,2857143 | 5,52367876 |
| | 6 | 9,6827 | 7,931 | 10,5105 | 9,009 | 9,7598 | 9,2015 | 18,0910283 | 14,2857143 | 5,72040411 |
| | 6 | 9,702 | 8,0465 | 10,6067 | 9,009 | 9,779 | 9,2207 | 17,0634921 | 15,0631205 | 5,70917272 |
| | 6 | 9,6442 | 7,854 | 10,5297 | 9,0475 | 9,779 | 9,2207 | 18,562452 | 14,0763744 | 5,70917272 |
| | 6 | 9,6827 | 7,8348 | 10,6067 | 9,086 | 9,779 | 9,2207 | 19,0845529 | 14,3371642 | 5,70917272 |
| | 6 | 9,6827 | 7,9117 | 10,5297 | 9,009 | 9,779 | 9,2207 | 18,2903529 | 14,4420069 | 5,70917272 |
| | 6 | 9,6635 | 7,8348 | 10,5297 | 8,9897 | 9,779 | 9,2207 | 18,9237854 | 14,625298 | 5,70917272 |
| K6.8 | 6 | 10,9725 | 8,1235 | 11,9157 | 9,009 | 9,5095 | 8,9897 | 25,9649123 | 24,3938669 | 5,46611283 |
| | 6 | 10,5682 | 8,0273 | 11,8195 | 8,9705 | 9,5095 | 9,1245 | 24,0428834 | 24,1042345 | 4,048583 |
| | 6 | 10,8922 | 8,2005 | 11,781 | 8,9513 | 9,5288 | 8,9897 | 24,7121794 | 24,0191834 | 5,65758543 |
| | 6 | 10,8377 | 8,2005 | 11,8003 | 9,009 | 9,5095 | 8,9705 | 24,3335763 | 23,6544834 | 5,66801619 |
| | 6 | 10,9532 | 8,316 | 11,8195 | 9,0667 | 9,5095 | 9,086 | 24,0769821 | 23,2903253 | 4,4534413 |
| | 6 | 10,703 | 7,9695 | 11,858 | 8,9897 | 9,5095 | 8,9513 | 25,5395683 | 24,1887333 | 5,86991955 |
| | 6 | 10,8955 | 8,2198 | 11,858 | 8,9897 | 9,5288 | 8,9705 | 24,557845 | 24,1887333 | 5,85907984 |
| | 6 | 10,8955 | 8,239 | 11,8387 | 9,009 | 9,5288 | 8,9513 | 24,3816254 | 23,9021176 | 6,06057426 |
| | 6 | 10,5105 | 8,008 | 11,858 | 9,0667 | 9,5095 | 8,9513 | 23,8095238 | 23,5393827 | 5,86991955 |
| | 6 | 10,8185 | 8,2198 | 11,8195 | 9,0475 | 9,5288 | 9,1053 | 24,0208901 | 23,4527687 | 4,44442112 |
| K7.1 | 7 | 10,164 | 8,932 | 8,7587 | 7,623 | 10,0677 | 9,7598 | 12,1212121 | 12,9665361 | 3,05829534 |
| | 7 | 10,2218 | 8,9897 | 8,7587 | 7,6423 | 10,1062 | 9,8368 | 12,05365 | 12,7461838 | 2,66569037 |
| | 7 | 10,1255 | 9,0475 | 8,7587 | 7,623 | 10,0485 | 9,8079 | 10,6463878 | 12,9665361 | 2,39438722 |
| | 7 | 10,164 | 8,9705 | 8,7587 | 7,623 | 10,1062 | 9,8368 | 11,7424242 | 12,9665361 | 2,66569037 |
| | 7 | 10,1832 | 8,9513 | 8,7203 | 7,6615 | 10,0485 | 9,7983 | 12,0973761 | 12,1417841 | 2,48992387 |
| | 7 | 10,2025 | 8,9705 | 8,7203 | 7,623 | 10,1062 | 9,8175 | 12,0754717 | 12,5832827 | 2,85666225 |
| | 7 | 10,1255 | 9,0475 | 8,701 | 7,5845 | 10,1255 | 9,8368 | 10,6463878 | 12,8318584 | 2,85121722 |
| | 7 | 10,1447 | 8,9897 | 8,701 | 7,623 | 10,0485 | 9,7886 | 11,3852554 | 12,3893805 | 2,58645569 |
| | 7 | 10,1062 | 9,009 | 8,7203 | 7,623 | 10,1255 | 9,8368 | 10,8567018 | 12,5832827 | 2,85121722 |
| | 7 | 10,1447 | 9,009 | 8,7395 | 7,623 | 10,1062 | 9,856 | 11,1950082 | 12,7753304 | 2,47570798 |
| K7.2 | 7 | 8,6432 | 6,8337 | 8,8743 | 7,6423 | 10,8185 | 8,9897 | 20,9355331 | 13,8827851 | 16,9043768 |
| | 7 | 8,547 | 6,7952 | 8,8743 | 7,469 | 10,8185 | 8,9705 | 20,4960805 | 15,8356152 | 17,0818505 |
| | 7 | 8,547 | 6,7952 | 8,8743 | 7,469 | 10,7992 | 8,9513 | 20,4960805 | 15,8356152 | 17,1114527 |
| | 7 | 8,547 | 6,7952 | 8,8743 | 7,4307 | 10,78 | 8,932 | 20,4960805 | 16,2671985 | 17,1428571 |
| | 7 | 8,6625 | 6,853 | 8,8743 | 7,5268 | 10,7992 | 8,932 | 20,8888889 | 15,1842962 | 17,2901696 |
| | 7 | 8,5855 | 6,853 | 8,8743 | 7,623 | 10,8185 | 8,9705 | 20,1793722 | 14,1002671 | 17,0818505 |
| | 7 | 8,547 | 6,853 | 8,8743 | 7,4497 | 10,78 | 8,932 | 19,8198198 | 16,0530971 | 17,1428571 |
| | 7 | 8,4893 | 6,8145 | 8,855 | 7,4497 | 10,78 | 8,932 | 19,7283639 | 15,8701299 | 17,1428571 |
| | 7 | 8,5278 | 6,8337 | 8,855 | 7,5075 | 10,7415 | 8,932 | 19,865616 | 15,2173913 | 16,8458781 |
| | 7 | 8,701 | 6,8915 | 8,8743 | 7,4882 | 10,7415 | 8,9513 | 20,7964602 | 15,6192601 | 16,6662012 |
| K7.3 | 7 | 8,393 | 7,3727 | 8,3737 | 7,8733 | 13,5135 | 12,4548 | 12,156559 | 5,97585297 | 7,83438783 |
| | 7 | 8,393 | 7,392 | 8,3737 | 7,854 | 13,629 | 12,4163 | 11,9266055 | 6,20633651 | 8,89793822 |

| Tier | Therapie | EDL1 | ESL1 | EDL2 | ESL2 | EDL3 | ESL3 | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|------------|------------|
| | 7 | 8,3352 | 7,392 | 8,393 | 7,8733 | 13,4172 | 12,3778 | 11,3158652 | 6,19206482 | 7,7467728 |
| | 7 | 8,4893 | 7,392 | 8,3737 | 7,931 | 13,4172 | 12,3778 | 12,9256829 | 5,28679079 | 7,7467728 |
| | 7 | 8,2968 | 7,392 | 8,393 | 7,8348 | 13,4172 | 12,397 | 10,9054093 | 6,65078041 | 7,6036729 |
| | 7 | 8,4893 | 7,392 | 8,393 | 7,8925 | 13,629 | 12,3778 | 12,9256829 | 5,96330275 | 9,1804241 |
| | 7 | 8,316 | 7,3727 | 8,393 | 7,8733 | 13,244 | 12,3585 | 11,3431938 | 6,19206482 | 6,68604651 |
| | 7 | 8,4893 | 7,315 | 8,3545 | 7,9503 | 13,244 | 12,3778 | 13,8327071 | 4,8381112 | 6,54032014 |
| | 7 | 8,4508 | 7,238 | 8,393 | 7,8733 | 13,2825 | 12,3585 | 14,351304 | 6,19206482 | 6,95652174 |
| | 7 | 8,3352 | 7,3727 | 8,393 | 7,8733 | 13,1862 | 12,3585 | 11,5474134 | 6,19206482 | 6,27701688 |
| K7.4 | 7 | 6,0445 | 5,621 | 6,776 | 6,0445 | 10,087 | 9,8175 | 7,00636943 | 10,7954545 | 2,67175573 |
| | 7 | 6,083 | 5,5825 | 6,8337 | 5,9868 | 10,2025 | 9,8175 | 8,2278481 | 12,3929935 | 3,77358491 |
| | 7 | 6,083 | 5,6017 | 6,8337 | 5,9868 | 10,087 | 9,8175 | 7,91221437 | 12,3929935 | 2,67175573 |
| | 7 | 6,1407 | 5,6017 | 6,7568 | 6,0252 | 10,0677 | 9,8111 | 8,77750094 | 10,8276107 | 2,548745 |
| | 7 | 6,1407 | 5,621 | 6,776 | 5,9868 | 10,0934 | 9,8368 | 8,46320452 | 11,6469894 | 2,54225534 |
| | 7 | 6,0637 | 5,5825 | 6,8145 | 6,0445 | 10,1383 | 9,8175 | 7,9357488 | 11,299435 | 3,16423858 |
| | 7 | 6,083 | 5,5633 | 6,7568 | 6,0637 | 10,087 | 9,8175 | 8,54348183 | 10,2578143 | 2,67175573 |
| | 7 | 6,1215 | 5,5825 | 6,7375 | 6,0637 | 10,087 | 9,8239 | 8,80503145 | 10,0007421 | 2,60830772 |
| | 7 | 6,1215 | 5,6017 | 6,7375 | 6,0252 | 10,1127 | 9,8175 | 8,49138283 | 10,5721707 | 2,91910172 |
| | 7 | 6,1215 | 5,5055 | 6,7375 | 6,006 | 10,1127 | 9,8175 | 10,0628931 | 10,8571429 | 2,91910172 |
| K7.5 | 7 | 10,2987 | 9,2592 | 10,5682 | 9,3363 | 11,319 | 10,472 | 10,0935069 | 11,6566681 | 7,4829932 |
| | 7 | 10,241 | 9,2015 | 10,5682 | 9,24 | 11,2998 | 10,3565 | 10,1503759 | 12,5678924 | 8,34793536 |
| | 7 | 10,2603 | 9,3459 | 10,549 | 9,1438 | 11,319 | 10,7222 | 8,91202012 | 13,3206939 | 5,27255058 |
| | 7 | 10,318 | 9,548 | 10,549 | 9,1438 | 11,319 | 10,472 | 7,46268657 | 13,3206939 | 7,4829932 |
| | 7 | 10,3757 | 9,5673 | 10,549 | 9,1438 | 11,319 | 10,4143 | 7,79128155 | 13,3206939 | 7,99275554 |
| | 7 | 10,2987 | 9,317 | 10,5875 | 9,317 | 11,3575 | 10,7415 | 9,53227106 | 12 | 5,42372881 |
| | 7 | 10,2795 | 9,2015 | 10,5875 | 9,24 | 11,5115 | 10,549 | 10,4868914 | 12,7272727 | 8,36120401 |
| | 7 | 10,0485 | 9,2015 | 10,549 | 9,163 | 11,319 | 10,4913 | 8,42911877 | 13,1386861 | 7,31248343 |
| | 7 | 10,2987 | 9,4325 | 10,5875 | 9,1438 | 11,3383 | 10,3565 | 8,41077029 | 13,6358914 | 8,65914643 |
| | 7 | 10,3372 | 9,5095 | 10,5875 | 9,1438 | 11,5115 | 10,549 | 8,00700383 | 13,6358914 | 8,36120401 |
| K7.6 | 7 | 12,5991 | 10,7054 | 12,7146 | 10,78 | 12,2558 | 10,8955 | 15,0304387 | 15,2155789 | 11,0992346 |
| | 7 | 12,3702 | 10,2603 | 12,7339 | 10,7222 | 12,2366 | 10,8891 | 17,0563128 | 15,797988 | 11,0120458 |
| | 7 | 12,7772 | 10,3974 | 12,7242 | 10,7415 | 12,2366 | 10,8955 | 18,6253639 | 15,5821191 | 10,9597437 |
| | 7 | 12,7772 | 10,7427 | 12,5702 | 10,78 | 12,2173 | 10,8955 | 15,9228939 | 14,2416191 | 10,8190844 |
| | 7 | 12,6858 | 10,703 | 12,7242 | 10,7992 | 12,2366 | 10,8891 | 15,6300746 | 15,1286525 | 11,0120458 |
| | 7 | 12,7755 | 10,4876 | 12,7627 | 10,7415 | 12,2366 | 10,8827 | 17,9084967 | 15,8367744 | 11,0643479 |
| | 7 | 12,7755 | 10,6645 | 12,6858 | 10,7704 | 12,2558 | 10,8891 | 16,5238151 | 15,0987719 | 11,1514548 |
| | 7 | 12,782 | 10,6453 | 12,6858 | 10,6453 | 12,243 | 10,8891 | 16,7164763 | 16,0849138 | 11,0585641 |
| | 7 | 12,705 | 10,2266 | 12,6665 | 10,78 | 12,243 | 10,8891 | 19,5072806 | 14,893617 | 11,0585641 |
| | 7 | 12,8205 | 10,6838 | 12,7627 | 10,7222 | 12,2494 | 10,8955 | 16,6662767 | 15,9879963 | 11,0527863 |
| K7.7 | 7 | 9,856 | 8,8165 | 10,2025 | 9,2015 | 12,551 | 11,627 | 10,546875 | 9,81132075 | 7,36196319 |
| | 7 | 9,856 | 8,8165 | 10,2218 | 9,2015 | 12,5702 | 11,6462 | 10,546875 | 9,98160794 | 7,35071837 |
| | 7 | 9,9137 | 8,8165 | 10,241 | 9,2015 | 12,6665 | 11,627 | 11,0675126 | 10,1503759 | 8,20668693 |
| | 7 | 9,8368 | 8,8165 | 10,2218 | 9,24 | 12,5702 | 11,627 | 10,3722755 | 9,60496194 | 7,50346057 |
| | 7 | 9,8368 | 8,8165 | 10,2025 | 9,2592 | 12,5702 | 11,627 | 10,3722755 | 9,24577309 | 7,50346057 |
| | 7 | 9,8945 | 8,8165 | 10,2025 | 9,2207 | 12,551 | 11,627 | 10,8949416 | 9,62313159 | 7,36196319 |
| | 7 | 9,9715 | 8,8165 | 10,164 | 9,2015 | 12,6858 | 11,627 | 11,5830116 | 9,46969697 | 8,34634 |
| | 7 | 9,856 | 8,8165 | 10,2218 | 9,24 | 12,551 | 11,6462 | 10,546875 | 9,60496194 | 7,20898733 |
| | 7 | 9,856 | 8,8165 | 10,241 | 9,24 | 12,551 | 11,627 | 10,546875 | 9,77443609 | 7,36196319 |
| | 7 | 9,856 | 8,8165 | 10,241 | 9,24 | 12,551 | 11,627 | 10,546875 | 9,77443609 | 7,36196319 |
| K7.8 | 7 | 11,4104 | 10,087 | 11,2805 | 9,8752 | 9,1181 | 8,8165 | 11,5981911 | 12,4577811 | 3,30770665 |

| | | | | | | | | | |
|---|---------|---------|---------|--------|--------|--------|------------|------------|------------|
| 7 | 11,4104 | 10,087 | 11,1458 | 9,8945 | 9,0732 | 8,8165 | 11,5981911 | 11,2266504 | 2,8292113 |
| 7 | 11,4104 | 9,9715 | 11,1458 | 9,8752 | 9,0732 | 8,8165 | 12,6104256 | 11,3998098 | 2,8292113 |
| 7 | 11,4345 | 10,087 | 11,242 | 9,9522 | 9,0667 | 8,8165 | 11,7845118 | 11,4730475 | 2,75954868 |
| 7 | 11,4345 | 9,8897 | 11,165 | 9,8945 | 9,1566 | 8,8165 | 13,5099917 | 11,3793103 | 3,71426075 |
| 7 | 11,3767 | 10,1111 | 11,1265 | 9,9715 | 9,0732 | 8,8165 | 11,1244913 | 10,3806228 | 2,8292113 |
| 7 | 11,3767 | 10,01 | 11,2035 | 9,933 | 9,0732 | 8,8165 | 12,0131497 | 11,3402062 | 2,8292113 |
| 7 | 11,396 | 10,1111 | 11,1842 | 9,856 | 9,0732 | 8,8165 | 11,2750088 | 11,8756818 | 2,8292113 |
| 7 | 11,4537 | 9,8752 | 11,2805 | 9,856 | 9,0732 | 8,8165 | 13,7815728 | 12,6279863 | 2,8292113 |
| 7 | 11,4537 | 9,8752 | 11,165 | 9,856 | 9,1758 | 8,8165 | 13,7815728 | 11,7241379 | 3,91573487 |

Tier: Tiernummer zu jeder Messung

Therapie:

1: Kontrollgruppe (Gruppe 1)

2: Leerplasmidgruppe (Gruppe 2)

3: VEGF (Gruppe 3)

4: FGF-2 (Gruppe 4)

5: GM-CSF (Gruppe 5)

6: VEGF + FGF-2 in der Dosierung von je 150 µg (Gruppe 6)

7: VEGF + FGF-2 in der Dosierung von je 75 µg (Gruppe 7)

EDL1: Enddiastolische Länge bei der ersten Messung

ESL1: Endsystolische Länge bei der ersten Messung

EDL2: Enddiastolische Länge bei der zweiten Messung

ESL2: Endsystolische Länge bei der zweiten Messung

EDL3: Enddiastolische Länge bei der dritten Messung

ESL3: Endsystolische Länge bei der dritten Messung

SMS1: errechnete segmentale, myokardiale Verkürzung bei der ersten Messung

SMS2: errechnete segmentale, myokardiale Verkürzung bei der zweiten Messung

SMS3: errechnete segmentale, myokardiale Verkürzung bei der dritten Messung

Beispiel zur Berechnung der segmentalen, myokardialen Verkürzung (SMS) von der ersten Messung (EDL1 und ESL1) des ersten Tieres (K1.1):

$$\text{SMS (\%)} = (\text{EDL} - \text{ESL}) / \text{EDL} \times 100$$

$$\text{SMS (\%)} = (11,2785 - 8,9878) / 11,2785 \times 100 = 20,3103 \%$$

Tabelle 10:

Mittelwerte der segmentalen myokardialen Verkürzung der einzelnen Tiere in den zwei Kontrollgruppen (1-2) und den fünf verschiedenen Therapiegruppen (3-7).

| Therapie | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|----------|------------|------------|------------|
| 1 | 18,4838348 | 7,8148801 | 5,39440703 |
| 1 | 13,034604 | 11,5331311 | 3,4981241 |
| 1 | 5,53282605 | 5,70824139 | 5,35930364 |
| 1 | 17,1892032 | 15,127955 | 2,95099843 |
| 1 | 10,7182169 | 9,17977709 | 1,62460003 |
| 1 | 9,36756969 | 7,14582179 | 1,1613444 |
| 1 | 13,2560284 | 7,9117746 | 1,06880891 |
| 1 | 15,7667737 | 12,5049843 | 2,76342481 |
| 1 | 15,5099237 | 14,28371 | 4,9006324 |
| 1 | 15,3648018 | 12,9883303 | 3,82351806 |
| 2 | 14,3232975 | 10,4697537 | 6,70699153 |
| 2 | 21,5564661 | 12,2158232 | 1,68613166 |
| 2 | 17,1027833 | 5,91964164 | 5,99787851 |
| 2 | 19,8179621 | 15,7287105 | 10,6567149 |
| 2 | 21,8213207 | 15,0740156 | 5,98849516 |
| 2 | 8,25655246 | 6,51986828 | 7,31202288 |
| 2 | 23,9475156 | 15,3081036 | 8,49332316 |
| 2 | 14,0788936 | 14,0367182 | 5,24018772 |
| 2 | 10,5997953 | 12,6676242 | 5,60058984 |
| 2 | 12,7541871 | 13,8447544 | 3,8316566 |
| 2 | 14,898885 | 17,6256624 | 4,8674663 |
| 3 | 9,78374279 | 11,4250553 | 3,24440833 |
| 3 | 14,2215408 | 12,7300905 | 6,89776241 |
| 3 | 18,2019425 | 17,5142411 | 4,39605249 |
| 3 | 10,6294423 | 6,21793585 | 4,91374512 |
| 3 | 26,7230824 | 12,7841975 | 6,43168086 |
| 3 | 20,8224116 | 22,8244475 | 6,52458549 |
| 3 | 23,582913 | 23,8052559 | 11,930825 |
| 3 | 11,4154945 | 12,9643021 | 8,48643777 |
| 3 | 3,41916301 | 2,70720261 | 1,9951206 |
| 3 | 7,19077123 | 7,71616209 | 2,4907159 |
| 4 | 22,0512067 | 19,6446848 | 11,0903638 |
| 4 | 11,8508921 | 10,98616 | 2,84780182 |
| 4 | 16,0895564 | 15,5513398 | 9,26429773 |
| 4 | 16,9382331 | 11,5311775 | 16,9104522 |
| 4 | 11,9140506 | 9,72735142 | 7,54071791 |
| 4 | 9,35547227 | 11,0902582 | 16,2742533 |
| 4 | 15,5810786 | 8,13700143 | 7,70038687 |
| 4 | 23,6138418 | 15,0361578 | 10,2308211 |
| 4 | 19,0400256 | 11,207494 | 10,0983564 |
| 5 | 8,50564065 | 9,0381186 | 4,69329213 |
| 5 | 15,5635138 | 21,5721775 | 6,04607452 |
| 5 | 18,0266398 | 6,95016001 | 6,50197835 |
| 5 | 9,44519619 | 7,41488033 | 3,12537528 |
| 5 | 16,9797534 | 9,92503083 | 16,9988338 |
| 5 | 11,2304299 | 5,50454895 | 5,88566078 |
| 5 | 10,9233054 | 8,34331322 | 7,81465785 |

| Therapie | SMS1 | SMS2 | SMS3 |
|----------|------------|------------|------------|
| 5 | 9,56799382 | 9,82156551 | 5,26392069 |
| 6 | 16,5167065 | 13,5954269 | 5,61428392 |
| 6 | 11,6239027 | 11,4489437 | 3,81422774 |
| 6 | 13,0294541 | 11,9686819 | 7,04696983 |
| 6 | 12,3601547 | 9,99770449 | 7,52113599 |
| 6 | 13,9318721 | 11,08566 | 9,69243289 |
| 6 | 21,2885777 | 7,22711806 | 8,13221091 |
| 6 | 18,4353665 | 14,3787266 | 5,72991444 |
| 6 | 24,5439986 | 23,8733829 | 5,33976531 |
| 7 | 11,4819875 | 12,6950711 | 2,68952475 |
| 7 | 20,3702296 | 15,3865656 | 17,0410351 |
| 7 | 12,3230423 | 5,96894339 | 7,54698739 |
| 7 | 8,42256753 | 11,1043347 | 2,84906022 |
| 7 | 8,92759265 | 12,9324384 | 7,46969946 |
| 7 | 16,9587429 | 15,3868031 | 11,0287872 |
| 7 | 10,7024392 | 9,70407023 | 7,55675065 |
| 7 | 12,3077107 | 11,5885234 | 3,06725188 |

Mehrfachvergleiche

Tabelle 11:

Vergleich der Kontrollgruppen und Therapiegruppen untereinander bei SMS3.

Abhängige Variable: SMS3

LSD (Fischer`s Least Difference Test)

| Gruppen | Gruppen | Mittlere Diffe- renz | Standard- fehler | Signifikanz | 95% Konfidenzintervall | |
|---------|---------|-------------------------|---------------------|--------------|------------------------|------------|
| | | | | | Untergrenze | Obergrenze |
| 1 | 2 | -2.7802 | 1.45320 | 0.061 | -5.6901 | 0.1298 |
| | 3 | -2.4766 | 1.48740 | 0.101 | -5.4551 | 0.5018 |
| | 4 | -6.9630(*) | 1.52816 | 0.000 | -10.0231 | -3.9029 |
| | 5 | -3.7867(*) | 1.57762 | 0.020 | -6.9458 | -0.6276 |
| | 6 | -3.3569(*) | 1.57762 | 0.038 | -6.5160 | -0.1977 |
| | 7 | -4.1516(*) | 1.57762 | 0.011 | -7.3108 | -0.9925 |
| | 2 | 1 | 2.7802 | 1.45320 | 0.061 | -0.1298 |
| 3 | | 0.3035 | 1.45320 | 0.835 | -2.6064 | 3.2135 |
| 4 | | -4.1828(*) | 1.49489 | 0.007 | -7.1763 | -1.1893 |
| 5 | | -1.0065 | 1.54542 | 0.517 | -4.1012 | 2.0881 |
| 6 | | -0.5767 | 1.54542 | 0.710 | -3.6713 | 2.5180 |

| | | | | | | |
|---|---|------------|---------|--------------|---------|---------|
| | 7 | -1.3715 | 1.54542 | 0.379 | -4.4661 | 1.7232 |
| 3 | 1 | 2.4766 | 1.48740 | 0.101 | -0.5018 | 5.4551 |
| | 2 | -0.3035 | 1.45320 | 0.835 | -3.2135 | 2.6064 |
| | 4 | -4.4864(*) | 1.52816 | 0.005 | -7.5464 | -1.4263 |
| | 5 | -1.3101 | 1.57762 | 0.410 | -4.4692 | 1.8490 |
| | 6 | -0.8802 | 1.57762 | 0.579 | -4.0394 | 2.2789 |
| | 7 | -1.6750 | 1.57762 | 0.293 | -4.8341 | 1.4841 |
| 4 | 1 | 6.9630(*) | 1.52816 | 0.000 | 3.9029 | 10.0231 |
| | 2 | 4.1828(*) | 1.49489 | 0.007 | 1.1893 | 7.1763 |
| | 3 | 4.4864(*) | 1.52816 | 0.005 | 1.4263 | 7.5464 |
| | 5 | 3.1763 | 1.61611 | 0.054 | -0.0599 | 6.4125 |
| | 6 | 3.6061(*) | 1.61611 | 0.030 | 0.3699 | 6.8423 |
| | 7 | 2.8114 | 1.61611 | 0.087 | -0.4248 | 6.0476 |
| 5 | 1 | 3.7867(*) | 1.57762 | 0.020 | 0.6276 | 6.9458 |
| | 2 | 1.0065 | 1.54542 | 0.517 | -2.0881 | 4.1012 |
| | 3 | 1.3101 | 1.57762 | 0.410 | -1.8490 | 4.4692 |
| | 4 | -3.1763 | 1.61611 | 0.054 | -6.4125 | 0.0599 |
| | 6 | 0.4299 | 1.66296 | 0.797 | -2.9002 | 3.7599 |
| | 7 | -0.3649 | 1.66296 | 0.827 | -3.6949 | 2.9651 |
| 6 | 1 | 3.3569(*) | 1.57762 | 0.038 | 0.1977 | 6.5160 |
| | 2 | 0.5767 | 1.54542 | 0.710 | -2.5180 | 3.6713 |
| | 3 | 0.8802 | 1.57762 | 0.579 | -2.2789 | 4.0394 |
| | 4 | -3.6061(*) | 1.61611 | 0.030 | -6.8423 | -0.3699 |
| | 5 | -0.4299 | 1.66296 | 0.797 | -3.7599 | 2.9002 |
| | 7 | -0.7948 | 1.66296 | 0.635 | -4.1248 | 2.5353 |
| 7 | 1 | 4.1516(*) | 1.57762 | 0.011 | 0.9925 | 7.3108 |
| | 2 | 1.3715 | 1.54542 | 0.379 | -1.7232 | 4.4661 |
| | 3 | 1.6750 | 1.57762 | 0.293 | -1.4841 | 4.8341 |
| | 4 | -2.8114 | 1.61611 | 0.087 | -6.0476 | 0.4248 |
| | 5 | 0.3649 | 1.66296 | 0.827 | -2.9651 | 3.6949 |
| | 6 | 0.7948 | 1.66296 | 0.635 | -2.5353 | 4.1248 |

1: Kontrollgruppe (Gruppe 1)

2: Leerplasmidgruppe (Gruppe 2)

3: VEGF (Gruppe 3)

4: FGF-2 (Gruppe 4)

5: GM-CSF (Gruppe 5)

6: VEGF + FGF-2 in der Dosierung von je 150 µg (Gruppe 6)

7: VEGF + FGF-2 in der Dosierung von je 75 µg (Gruppe 7)

Tabelle 12:

Vergleich der Kontrollgruppen und Therapiegruppen untereinander bei SMS1.

Abhängige Variable: SMS1. LSD (Fischer`s Least Difference Test).

| Gruppen | Gruppen | Mittlere Diffe- renz | Standard- fehler | Signifikanz | 95% Konfidenzintervall | |
|---------|---------|-------------------------|---------------------|-------------|------------------------|------------|
| | | | | | Untergrenze | Obergrenze |
| 1 | 2 | -2.8647 | 2.19975 | 0.198 | -7.2696 | 1.5402 |
| | 3 | -1.1767 | 2.25152 | 0.603 | -5.6853 | 3.3319 |
| | 4 | -2.8481 | 2.31322 | 0.223 | -7.4802 | 1.7840 |
| | 5 | .8921 | 2.38810 | 0.710 | -3.8900 | 5.6742 |
| | 6 | -3.0439 | 2.38810 | 0.208 | -7.8260 | 1.7382 |
| 2 | 7 | .7356 | 2.38810 | 0.759 | -4.0465 | 5.5177 |
| | 1 | 2.8647 | 2.19975 | 0.198 | -1.5402 | 7.2696 |
| | 3 | 1.6880 | 2.19975 | 0.446 | -2.7169 | 6.0929 |
| | 4 | .0166 | 2.26286 | 0.994 | -4.5147 | 4.5479 |
| | 5 | 3.7568 | 2.33936 | 0.114 | -.9277 | 8.4412 |
| 3 | 6 | -.1792 | 2.33936 | 0.939 | -4.8637 | 4.5053 |
| | 7 | 3.6003 | 2.33936 | 0.129 | -1.0842 | 8.2847 |
| | 1 | 1.1767 | 2.25152 | 0.603 | -3.3319 | 5.6853 |
| | 2 | -1.6880 | 2.19975 | 0.446 | -6.0929 | 2.7169 |
| | 4 | -1.6714 | 2.31322 | 0.473 | -6.3036 | 2.9607 |
| 4 | 5 | 2.0687 | 2.38810 | 0.390 | -2.7133 | 6.8508 |
| | 6 | -1.8672 | 2.38810 | 0.438 | -6.6493 | 2.9149 |
| | 7 | 1.9123 | 2.38810 | 0.427 | -2.8698 | 6.6943 |
| | 1 | 2.8481 | 2.31322 | 0.223 | -1.7840 | 7.4802 |
| | 2 | -.0166 | 2.26286 | 0.994 | -4.5479 | 4.5147 |
| 5 | 3 | 1.6714 | 2.31322 | 0.473 | -2.9607 | 6.3036 |
| | 5 | 3.7402 | 2.44635 | 0.132 | -1.1586 | 8.6389 |
| | 6 | -.1958 | 2.44635 | 0.936 | -5.0945 | 4.7030 |
| | 7 | 3.5837 | 2.44635 | 0.148 | -1.3150 | 8.4824 |
| | 1 | -.8921 | 2.38810 | 0.710 | -5.6742 | 3.8900 |
| 6 | 2 | -3.7568 | 2.33936 | 0.114 | -8.4412 | .9277 |
| | 3 | -2.0687 | 2.38810 | 0.390 | -6.8508 | 2.7133 |
| | 4 | -3.7402 | 2.44635 | 0.132 | -8.6389 | 1.1586 |
| | 6 | -3.9359 | 2.51728 | 0.123 | -8.9767 | 1.1048 |
| | 7 | -.1565 | 2.51728 | 0.951 | -5.1972 | 4.8843 |
| 7 | 1 | 3.0439 | 2.38810 | 0.208 | -1.7382 | 7.8260 |
| | 2 | .1792 | 2.33936 | 0.939 | -4.5053 | 4.8637 |
| | 3 | 1.8672 | 2.38810 | 0.438 | -2.9149 | 6.6493 |
| | 4 | .1958 | 2.44635 | 0.936 | -4.7030 | 5.0945 |
| | 5 | 3.9359 | 2.51728 | 0.123 | -1.1048 | 8.9767 |
| 7 | 7 | 3.7795 | 2.51728 | 0.139 | -1.2613 | 8.8202 |
| | 1 | -.7356 | 2.38810 | 0.759 | -5.5177 | 4.0465 |
| | 2 | -3.6003 | 2.33936 | 0.129 | -8.2847 | 1.0842 |
| | 3 | -1.9123 | 2.38810 | 0.427 | -6.6943 | 2.8698 |
| | 4 | -3.5837 | 2.44635 | 0.148 | -8.4824 | 1.3150 |
| | 5 | .1565 | 2.51728 | 0.951 | -4.8843 | 5.1972 |
| | 6 | -3.7795 | 2.51728 | 0.139 | -8.8202 | 1.2613 |

1: Kontrollgruppe (Gruppe 1)

2: Leerplasmidgruppe (Gruppe 2)

3: VEGF (Gruppe 3)

4: FGF-2 (Gruppe 4)

5: GM-CSF (Gruppe 5)

6: VEGF + FGF-2 in der Dosierung von je 150 µg (Gruppe 6)

7: VEGF + FGF-2 in der Dosierung von je 75 µg (Gruppe 7)

Tabelle 13:

Vergleich der Kontrollgruppen und Therapiegruppen untereinander bei SMS2.

Abhängige Variable: SMS2

LSD (Fischer`s Least Difference Test)

| Gruppen | Gruppen | Mittlere Differenz | Standardfehler | Signifikanz | 95% Konfidenzintervall | |
|---------|---------|--------------------|----------------|-------------|------------------------|------------|
| | | | | | Untergrenze | Obergrenze |
| 1 | 2 | -2.2538 | 1.97262 | 0.258 | -6.2039 | 1.6963 |
| | 3 | -2.6490 | 2.01904 | 0.195 | -6.6921 | 1.3940 |
| | 4 | -2.1259 | 2.07437 | 0.310 | -6.2797 | 2.0280 |
| | 5 | .5986 | 2.14152 | 0.781 | -3.6897 | 4.8870 |
| | 6 | -2.5271 | 2.14152 | 0.243 | -6.8154 | 1.7612 |
| | 7 | -1.4260 | 2.14152 | 0.508 | -5.7143 | 2.8623 |
| | 1 | 2.2538 | 1.97262 | 0.258 | -1.6963 | 6.2039 |
| 2 | 3 | -.3952 | 1.97262 | 0.842 | -4.3453 | 3.5549 |
| | 4 | .1280 | 2.02921 | 0.950 | -3.9355 | 4.1914 |
| | 5 | 2.8525 | 2.09781 | 0.179 | -1.3483 | 7.0533 |
| | 6 | -.2733 | 2.09781 | 0.897 | -4.4740 | 3.9275 |
| | 7 | .8279 | 2.09781 | 0.695 | -3.3729 | 5.0286 |
| | 1 | 2.6490 | 2.01904 | 0.195 | -1.3940 | 6.6921 |
| | 2 | .3952 | 1.97262 | 0.842 | -3.5549 | 4.3453 |
| 3 | 4 | .5232 | 2.07437 | 0.802 | -3.6307 | 4.6770 |
| | 5 | 3.2477 | 2.14152 | 0.135 | -1.0407 | 7.5360 |
| | 6 | .1219 | 2.14152 | 0.955 | -4.1664 | 4.4103 |
| | 7 | 1.2230 | 2.14152 | 0.570 | -3.0653 | 5.5114 |
| | 1 | 2.1259 | 2.07437 | 0.310 | -2.0280 | 6.2797 |
| | 2 | -.1280 | 2.02921 | 0.950 | -4.1914 | 3.9355 |
| | 3 | -.5232 | 2.07437 | 0.802 | -4.6770 | 3.6307 |
| 4 | 5 | 2.7245 | 2.19376 | 0.219 | -1.6684 | 7.1174 |
| | 6 | -.4012 | 2.19376 | 0.856 | -4.7941 | 3.9917 |
| | 7 | .6999 | 2.19376 | 0.751 | -3.6930 | 5.0928 |
| | 1 | -.5986 | 2.14152 | 0.781 | -4.8870 | 3.6897 |
| | 2 | -2.8525 | 2.09781 | 0.179 | -7.0533 | 1.3483 |
| | 3 | -3.2477 | 2.14152 | 0.135 | -7.5360 | 1.0407 |
| | 4 | -2.7245 | 2.19376 | 0.219 | -7.1174 | 1.6684 |
| 5 | 6 | -3.1257 | 2.25736 | 0.172 | -7.6460 | 1.3946 |
| | 7 | -2.0246 | 2.25736 | 0.374 | -6.5449 | 2.4957 |
| | 1 | 2.5271 | 2.14152 | 0.243 | -1.7612 | 6.8154 |
| | 2 | .2733 | 2.09781 | 0.897 | -3.9275 | 4.4740 |
| | 3 | -.1219 | 2.14152 | 0.955 | -4.4103 | 4.1664 |
| | 4 | .4012 | 2.19376 | 0.856 | -3.9917 | 4.7941 |
| | 5 | 3.1257 | 2.25736 | 0.172 | -1.3946 | 7.6460 |
| 6 | 7 | 1.1011 | 2.25736 | 0.628 | -3.4192 | 5.6214 |
| | 1 | 1.4260 | 2.14152 | 0.508 | -2.8623 | 5.7143 |
| | 2 | -.8279 | 2.09781 | 0.695 | -5.0286 | 3.3729 |

| | | | | | |
|---|---------|---------|-------|---------|--------|
| 3 | -1.2230 | 2.14152 | 0.570 | -5.5114 | 3.0653 |
| 4 | -.6999 | 2.19376 | 0.751 | -5.0928 | 3.6930 |
| 5 | 2.0246 | 2.25736 | 0.374 | -2.4957 | 6.5449 |
| 6 | -1.1011 | 2.25736 | 0.628 | -5.6214 | 3.4192 |

1: Kontrollgruppe (Gruppe 1)

2: Leerplasmidgruppe (Gruppe 2)

3: VEGF (Gruppe 3)

4: FGF-2 (Gruppe 4)

5: GM-CSF (Gruppe 5)

6: VEGF + FGF-2 in der Dosierung von je 150 μg (Gruppe 6)

7: VEGF + FGF-2 in der Dosierung von je 75 μg (Gruppe 7)

8. Literaturverzeichnis

1. Ando H, Tanaka J, Hisahara M, Umesue M, Shirota T:
Effect of coronary bypass grafting onto the site of old myocardial infarction and the recovery of cardiac function.
Cardiovasc Surg 6, 1998, 511-519.
2. Asahara T, Bauters Ch, Zheng Lu P, Takeshita S, Bunting S, Ferrara N, Symes J, Isner, J:
Synergistic effect of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on angiogenesis in vivo.
Circulation 92, 1995, II-365-II-371.
3. Attman T:
Evaluation transgener und transmuraler Myokardrevaskularisation am chronisch ischämischen Modell anhand objektiver Parameter der regionalen und globalen Funktion.
Med.-Diss., Freiburg/Br., 2002
4. Augustin H, Breier G:
Angiogenesis: molecular mechanisms and functional interactions.
Thromb Haemost 89, 2003, 190-197.
5. Azrin M:
Angiogenesis, protein and gene delivery.
Br Med Bull 59, 2001, 211-225.
6. Banai S, Jaklitsch M, Shou M, Lazarous D, Scheinowitz M, Biro S, Epstein S, Unger E:
Angiogenic-induced enhancement of collateral blood flow to ischemic myocardium by vascular endothelial growth factor in dogs.
Circulation 89, 1994, 2183-2189.

7. Baumgartner I, Isner JM:
Somatic gene therapy in the cardiovascular system.
Annu Rev Physiol 63, 2001, 427-450.
8. Behzadian M, Windsor L, Ghaly N, Liou G, Tsai N, Caldwell B:
VEGF-induced paracellular permeability in cultured endothelial cells involves urokinase and its receptor.
Faseb J 17, 2003, 752-754.
9. Bestehorn H:
Interventionelle Kardiologie.
Thieme Verlag Stuttgart, 1998, 119-145.
10. Bredow L:
Histologische Untersuchungen zur Verwendung von VEGF, FGF-2 und GM-CSF am chronisch ischämischen Myokard
Med.-Diss., Freiburg/Br, (in Vorbereitung)
11. Brizzi M, Formato L, Bonamini R:
The molecular mechanisms of angiogenesis: a new approach to cardiovascular diseases.
Ital Heart J 2, 2001, 81-92.
12. Buschmann I, Hoefler I, van Royen N, Katzer E, Braun-Dulleaus R, Heil M, Kostin S, Bode C, Schaper W:
GM-CSF: a strong arteriogenetic factor acting by amplification of monocyte function.
Artherosclerosis 159, 2001, 343-356.
13. Cai W-J, Koltei S, Kocsis E, Scholz D, Kostin S, Luo X, Schaper W, Schaper J:
Remodeling of the adventitia during coronary arteriogenesis.
Am J Physiol Heart Circ Physiol 284, 2003, H31-H40.

14. Cao R, Brakenhielm E, Pawliuk R, Wariaro D, Post M, Wahlberg E, Leboulch P, Cao Y:
Angiogenic synergism, vascular stability and improvement of hind-limb ischemia by a combination of PDGF-BB and FGF-2
Nat Med 9, 2003, 604-613.
15. Carmeliet P:
Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis.
Nat Med 6, 2000, 389-394.
16. Celletti F, Waugh J, Amabile P, Brendolan A, Hilfiker P, Dake M:
Vascular endothelial growth factor enhance atherosclerotic plaque progression.
Nat Med 7, 2001, 425-429.
17. Conway E, Collen D, Carmeliet P:
Molecular mechanism of blood vessels growth.
Cardiovasc Res 49, 2001, 507-521.
18. Deindl E, Buschmann I, Hoefler I, Podzuweit T, Boengler K, Vogel S, van Royen N, Fernandez B, Schaper W:
Role of ischemia and of hypoxia-inducible genes in arteriogenesis after femoral artery occlusion in the rabbit.
Circ Res 89, 2001, 779-786.
19. Detillieux K, Sheikh F, Kardami E, Cattini P:
Biological activities of fibroblast growth factor-2 in the adult myocardium.
Cardiovasc Res 57, 2003, 8-19.
20. Dietz R, Rauch B:
Leitlinien zur Diagnose und Behandlung der chronischen koronaren Herzerkrankung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie- Herz- und Kreislaufforschung.
Z Kardiol 92, 2003, 501-521.

21. El-Gendi H, Violaris A, Foale R, Sharma H, Sheridan D:
Endogenous, local, vascular endothelial growth factor production in patients with chronic total coronary artery occlusions: further evidence for its role in angiogenesis.
Heart 87, 2002, 158-159.
22. Epstein S, Fuchs S, Zhou Y, Baffour R, Kornowski R:
Therapeutic interventions for enhancing collateral development by administration of growth factors: basic principles, early results and potential hazards.
Cardiovasc Res 49, 2001, 532-542.
23. Ferrara N, Hillian K, Gerber H, Novotny W:
Case history: Discovery and development of bevacizumab, an VEGF antibody for treating cancer.
Nat Rev Drug Discov 3, 2004, 391-400.
24. Flier J, Underhill L:
Clinical Applications of Research on Angiogenesis.
Sem in Med Beth Israel Hosp, Boston 333, 26, 1995, 1757-1763.
25. Folkman J:
Angiogenic therapy of the human heart.
Circulation 97, 1998, 628-629.
26. Frangogiannis N, Smith C, Entman M:
The inflammatory response in myocardial infarction.
Cardiovasc Res 53, 2002, 31-47.
27. Freedman S, Isner J:
Therapeutic angiogenesis for coronary artery disease.
Ann Intern Med 136, 2002, 54-71.

28. Goto F, Goto K, Weindel K, Folkman J:
Synergistic effects of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on the proliferation and cord formation of bovine capillary endothelial cells within collagen gels.
Lab Invest 69, 1993, 508-517.
29. Hamawy A, Lee L, Crystal R, Rosengart T:
Cardiac angiogenesis and gene therapy: a strategy for myocardial revascularization.
Curr Opin Cardiol 14, 1999, 515-528.
30. Hammond H, McKirnan M:
Angiogenic gene therapy for heart disease: a review of animal studies and clinical trials.
Cardiovasc Res 49, 2001, 561-567.
31. Hasdai D, Barak V, Leibovitz E, Herz I, Sclarovsky S, Eldar M, Scheinowitz M:
Serum basic fibroblast factor levels in patients with ischemic heart disease.
Inter J Cardiol 59, 1997, 133-138.
32. Heeschen C, Dimmler S, Hamm C, Boersma E, Zeiher A, Simoons M:
Prognostic significance of angiogenic growth factor serum levels in patients with acute coronary syndromes.
Circulation 107, 2003, 524-530.
33. Heilmann C, von Samson P, Schlegel K, Attmann T, von Specht B, Beyersdorf F, Lutter G:
Comparison of protein with DNA therapy for chronic myocardial ischemia using fibroblast growth factor-2.
Eur J Cardiothorac Surg 22, 2002, 957-964.

34. Heilmann C, Attmann T, von Samson P, Göbel H, Marmé D, Beyersdorf F, Lutter G:
Transmyocardial laser revascularization combined with vascular endothelial growth factor₁₂₁ (VEGF₁₂₁) gene therapy for chronic myocardial ischemia - do the effects really add up?
Europ J Cardiothorac Surg 23, 2003, 74-80.

35. Heilmann C, Bredow L, Renner T, Förster K, Geist A, Göbel H, Müller M, von Samson P, Attmann T, Marmé D, Lutter G, Beyersdorf F:
Combiened VEGF and FGF-2 or GM-CSF Gene therapies promote vessel growth and function in chronic Myocardial ischemia (in Vorbereitung).

36. Helisch A, Schaper W:
Angiogenesis and arteriogenesis - not yet for prescription.
Z Kardiol 89, 2000, 239-244.

37. Helisch A, Ware A:
Therapeutic angiogenesis in the ischemic heart disease.
Thromb Haemost 82, 1999, 772-780.

38. Henry T, Annex B, McKendall G, Azrin M, Lopez J, Giordano F, Shah P, Willerson J, Benza R, Berman D, Gibson M, Bajamonde A, Rundel A, Fine J, McCluskey E:
The viva trial, vascular endothelial growth factor in ischemia for vascular angiogenesis.
Circulation 107, 2003,1359-1365.

39. Hoppe U, Erdmann E:
Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz.
Z Kardiol 90, 2001, 218-237.

40. Iwatate M, Miura T, Ikeda Y, Kawamura S, Dairaku Y, Okamura T, Kimura M, Yamaguchi K, Ueno H, Matsuzaki M:
Effects of in vivo gene transfer of fibroblast growth factor-2 on cardiac function and collateral vessel formation in microembolized rabbit heart.
Jap Circ J 65, 2001, 226-231.
41. Katinioti A, Tousoulis D, Economou E, Stefanadis C, Trikas A, Tentolouris C, Pitsavos C, Androulakis A, Toutouzas P :
Basic fibroblast growth factor changes in response to coronary angioplasty in patients with stable angina.
Internat J Cardiol 84, 2002, 195-199.
42. Khan T, Sellke F, Laham R:
Therapeutic angiogenesis: protein-based therapy for coronary artery disease.
Expert Opin Pharmacother 4, 2003 a, 219-226.
43. Khan T, Sellke F, Laham R:
Gene therapy progress and prospects: therapeutic angiogenesis for limb and myocardial ischemia.
Gene Ther 10, 2003 b, 285-291.
44. Kornowski R, Fuchs S, Leon M, Epstein S:
Delivery strategies to achieve therapeutic myocardial angiogenesis.
Circulation 101, 2000, 454-458.
45. Kreuzer J, Tiefenbacher C:
Atherosklerose.
Thieme Verlag, Stuttgart, 2003, 2-4.
46. Laham R:
Angiogenesis (clinical trials).
Can J Cardiol 17, 2001, 29A-32A.

47. Lazarous D, Scheinowitz M, Shou M, Hodge E, Rajanayagam S, Hunsberger S, Robison G, Stiber J, Correa R, Epstein S, Unger E:
Effects of chronic systemic administration of basic fibroblast growth factor on collateral development in the canine heart.
Circulation 91, 1995, 145-153.
48. Lazarous D, Shou M, Scheinowitz M, Hodge E, Thirumurti V, Kitsiou A, Stiber J, Lobo A, Hunsberger S, Guetta E, Epstein S, Unger E:
Comparative effects of basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor on coronary collateral development and arterial response to injury.
Circulation 94, 1996, 1074-1082.
49. Lee R, Springer M, Blanco-Bose W, Shaw R, Ursell P, Blau H:
VEGF Gene delivery to myocardium.
Circulation 102, 2000, 898-901.
50. Lenihan D, Osman A, Sriram V, Atisebaomo J, Patterson C:
Evidence for association of coronary sinus levels of hepatocyte growth factor and collateralisation in human coronary disease.
Am J Physiol Heart Circ Physiol 284, 2003, H1507-H1512.
51. Lutter G, Attmann T, von Samson P, von Specht B, Beyersdorf F:
The combined use of transmyocardial laser revascularization (TMLR) and fibroblastic growth factor (FGF-2) enhances perfusion and regional contractility in chronically ischemic porcine hearts.
Europ J Cardiothorac Surg 22, 2002, 753-761.
52. Mack C, Patel S, Schwarz E, Zanzonico P, Hahn P, Ilercil A, Devereux R, Goldsmith S, Christian T, Sanborn T, Kovesdi I, Hackett N, Isom O, Crystal R, Rosengart T:
Biologic bypass with the use of adenovirus-mediated gene transfer of the complementary deoxyribonucleic acid for vascular endothelial growth factor 121 improves myocardial perfusion and function in the ischemic porcine heart.
J Thorac Cardiovasc Surg 115, 1998, 168-176.

53. Maulik N, Das D:
Redox signaling in vascular angiogenesis.
Free Rad Biol Med 33, 2002, 1047-1060.
54. Melillo G, Scoccianti M, Kovesdi I, Safi J, Riccioni T, Capogrossi M:
Gene therapy for collateral vessel development.
Cardiovasc Res 35, 1997, 480-489.
55. Morishita R:
Recent progress in gene therapy for cardiovascular disease.
Circ J 66, 2002, 1077-1086.
56. Nikol S, Engelmann M, Pelisek J, Fuchs A, Golda A, Shimizu M, Mekkaoui C, Rolland P:
Local perivascular application of low amounts of a plasmid encoding for vascular endothelial growth factor (VEGF₁₆₅) is efficient for therapeutic angiogenesis in pigs.
Acta Physiol Scand 176, 2002, 151-159.
57. Operschall C, Falivene L, Clozel J-P, Roux S:
A new model of chronic cardiac ischemia in rabbits.
J Appl Physiol 88, 2000, 1438-1445.
58. Padua R, Sethi R, Dhalla Ns, Kardami E:
Basic fibroblast growth factor is cardioprotective in ischemia-reperfusion injury.
Mol Cell Biochem 143, 1995, 129-135.
59. Passerini A, Milstred A, Rittgers S:
Shear stress magnitude and directionality modulate growth factor gene expression in preconditioned vascular endothelial cells.
J Vasc Surg 37, 2003, 182-190.

60. Pearlman J, Hibberd M, Chuang M, Harada K, Lopez J, Gladstone S, Friedman M, Sellke F, Simons M:
Magnetic resonance mapping demonstrates benefits of VEGF-induced myocardial angiogenesis.
Nat Med 1, 1995, 1085-1089.
61. Peirce S, Skalak T :
Mikrovascular remodeling: a complex continuum spanning angiogenesis to arteriogenesis.
Microcirculation 10, 2003, 99-111.
62. Pepper M, Ferrara N, Orci L, Montesano R:
Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro.
Biochem Biophys Res Commun 189, 1992, 824-831.
63. Pipp F, Heil M, Issbrücker K, Ziegelhoeffer T, Martin S, van den Heuvel J, Weich H, Fernandez B, Golomb G, Carmeliet P, Schaper W, Clauss M:
VEGFR-1-selective VEGF homologue PIGF is arteriogenic: evidence for a monocyte-mediated mechanism.
Circ Res 92, 2003, 378-385.
64. Poltorak Z, Cohen T, Neufeld G:
The VEGF splice variants: properties, receptors, and the usage for treatment of ischemic disease.
Herz 25, 2000, 126-129.
65. Rajanayagam S, Shou M, Thirumurti V, Lazarous D, Quyyumi A, Goncalves L, Stiber J, Epstein S, Unger E:
Intracoronary basic fibroblast growth factor enhances myocardial collateral perfusion in dogs.
Am Coll Cardiol 35, 2000, 519-526.

66. Renner T:
Der regional myokardiale Blutfluß bei Stimulation der endogenen Kollateralisierung im chronisch ischämischen Myokard nach Wachstumsfaktor-Therapie
Med. Diss, Freiburg/Br, (in Vorbereitung).
67. Risau W:
Mechanisms of angiogenesis.
Nature 386, 1997, 671-674.
68. Rissanen T, Markkanen J, Arve K, Rutanen J, Kettunen M, Vajanto I, Jauhiainen S, Cashion L, Gruchala M, Närvänen O, Taipale P, Kauppinen R, Rubanyi G, Ylä-Herttua S:
Fibroblast growth factor-4 induces vascular permeability, angiogenesis, and arteriogenesis in a rabbit hind limb ischemia model.
Faseb J 17, 2003, 100-102.
69. Sarkar N, Rück A, Källner G, Y-Hassan S, Blomberg P, Bin Islam K, van der Linden J, Lindblom D, Nygren A, Lind B, Brodin L-A, Drvota V, Sylvén C:
Effects of intramyocardial injection of phVEGF-A165 as sole therapy in patients with refractory coronary artery disease- 12-month follow up: angiogenic gene therapy.
Inter Med 250, 2001, 373-381.
70. Sasame A, Nakajima H, Tamura K, Miyagi M, Rakue H, Usui M, Katoh T, Naitoh Y, Ibukiyama C:
A study to determine if basic fibroblast growth factor (bFGF) reduces myocardial infarct size in acute arterial occlusion.
Jpn Heart J 40, 1999, 165-178.
71. Sato K, Laham R, Pearlman J, Novicki D, Sellke F, Simons M, Post M:
Efficacy of intracoronary versus intravenous FGF-2 in a pig model of chronic myocardial ischemia.
Ann Thorac Surg 70, 2000, 2113-2118.

72. Schaper W:
Collateral vessel growth in the human heart.
Circulation 94, 1996, 600-601.
73. Schaper W, Scholz D:
Factors regulating arteriogenesis.
Arterioscler Thromb Vasc Biol 23, 2003, 1143-1151.
74. Scholz D, Cai W, Schaper W:
Arteriogenesis, a new concept of vascular adaption in occlusive disease.
Angiogenesis 4, 2001, 247-257.
75. Schumacher B, Pecher P, von Specht BU, Stegmann Th:
Induction of neoangiogenesis in ischemic myocardium by human growth factors.
Circulation 97, 1998, 645-650.
76. Schumacher B, Hannekum A, Pecher P:
Neoangiogenese durch lokale Gentherapie: Ein neues therapeutisches Konzept in der
Behandlung der koronaren Herzkrankheit.
Z Kardiol 89, 2000, Suppl 7 VII23-VII30.
77. Seiler C, Pohl T, Wustmann K, Hutter D, Nicolet P-A, Windecker S, Eberli F, Meier
B:
Promotion of collateral growth by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
in patients with coronary artery disease.
Circulation 104, 2001, 2012-2017.
78. Sellke F, Laham R, Edelman E, Pearlman J, Simonis M:
Therapeutic angiogenesis with basic fibroblast growth factor: technique and early re-
sults.
Ann Thorac Surg 65, 1998, 1540-1544.

79. Sellke F, Ruel M:
Vascular growth factors and angiogenesis in cardiac surgery.
Ann Thorac Surg 75, 2003, 685-690.
80. Shou M, Thirumurti V, Rajanayagam S, Lazarous D, Hodge E, Stiber J, Pettiford M, Elliott E, Shah S, Unger E:
Effect of basic fibroblast factor on myocardial angiogenesis in dogs with mature col-lateral vessels.
J Am Coll Cardiol 29, 1997, 1102-1106.
81. Smith S, Dove J, Jacobs A, Kennedy J, Kereiakes D, Kern J, Kuntz R, Popma J, Schaff H, Williams D:
ACC/AHA Guidelines for percutaneous coronary interventions (Revision of the 1993 PTCA Guidelines)- Executive Summary.
Circulation 103, 2001, 3019-3041.
82. Stegmann Th, Hoppert Th:
Gentherapie bei kardiovaskulären Erkrankungen.
J Kardiol 7, 2000, 292-295.
83. Stunzi H, Weiß E:
Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin.
Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg, 1990, 124-134.
84. Sylvén C, Sarkar N, Wärdell E, Jämsä A, Drvota V, Blomberg P, Bin Islam K:
Protein and angiogenic dose-response expression of phVEGF-A₁₆₅ gene in rat myo-cardium.
J Thromb Thrombolysis 12, 2001, 151-156.
85. Takeshita S, Zheng Lp, Brogi E:
Therapeutic angiogenesis: a single intraarteriel bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model.
J Clin Invest, 63, 1994, 662-670.

86. Thurston H:
Klinisches Handbuch über kardiovaskuläre Risikofaktoren.
Science Press, London, 2. Auflage, 1997, 1-20.
87. Villanueva F, Abraham J, Schreiner G, Csikari M, Fischer D, Mills J, Schellenberger U, Koci B, Lee J:
Myocardial contrast echocardiography can be used to assess the microvascular response to vascular endothelial growth factor-121.
Circulation 105, 2002, 759-756.
88. Waltenberger J:
Modulation of growth factor action.
Circulation 96, 1997, 4083-4094.
89. Waltenberger J:
Gentechnologie und Molekularbiologie in der Kardiologie: Update 2000.
J Kardiol 7, 2000, 246-251.
90. Ware J, Simons M:
Angiogenesis in ischemic heart disease.
Nat Med 3, 1997, 158-167.
91. Zachary I:
Signaling mechanisms mediating vascular protective actions of vascular endothelial growth factor.
Am J Physiol Cell Physiol 280, 2001, C1375-C1386.
92. Zhang C, Yang J, Feng J, Jennings L:
Short-term administration of basic fibroblast growth factor enhances coronary collateral development without exacerbating atherosclerosis and balloon injury-induced vasoproliferation in atherosclerotic rabbits with acute myocardial infarction.
J Lab Clin Med 140, 2002, 119-125.

93. Zimmermann M, Selzman C, Raeburn C, Calkins C, Brasness K, Harken A:
Clinical applications of cardiovascular angiogenesis.
J Card Surg 16, 2001, 490-497.

9. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------|--|
| A. | Arteria |
| Abb. | Abbildung |
| cm | Zentimeter |
| dex. | dextra |
| EDL | Enddiastolische Länge |
| EKG | Elektrokardiographie |
| ESL | Endsystolische Länge |
| et al. | und andere |
| FGF-2 | Fibroblast Growth Factor-2 |
| GM-CSF | Granulocyte-Monocyte-Colony Stimulating Factor |
| I.D. | Durchmesser |
| i.v. | intravenös |
| kD | Kilodalton |
| Kg | Kilogramm |
| KHK | Koronare Herzkrankheit |
| KM | Körpermasse |
| LSD | Fischer`s Least Difference Test |
| M. | Musculus |
| mg | Milligramm |
| MHz | Megahertz |
| min. | Minute |
| ml | Milliliter |
| mm | Millimeter |
| Mm. | Musculi |
| mRNA | messenger Ribonucleinsäure |
| N | Anzahl |
| N. | Nervus |
| OP | Operation |
| PTCA | perkutane transluminale Koronarangioplastie |
| s.c. | subcutan |
| sin. | sinistra |
| SMS | segmentale, myokardiale Verkürzung |
| Tab. | Tabelle |
| V. | Vena |
| VEGF | Vascular Endothelial Growth Factor |
| Vol% | Volumenprozent |
| % | Prozent |
| µm | Mikrometer |
| ® | eingetragenes Warenzeichen |

10. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

| | |
|---------|---|
| Tabelle | 1: Gruppeneinteilung der Kaninchen. |
| Tabelle | 2: Hersteller und Herkunft der Geräte. |
| Tabelle | 3: Herkunft und Hersteller der Verbrauchsmaterialien. |
| Tabelle | 4: Herkunft und Hersteller der Pharmaka. |
| Tabelle | 5: Absolute und relative Werte der Messungen der segmentalen, myokardialen Verkürzung der zwei Kontrollgruppen (1-2) und der fünf Therapiegruppen (3-7) mit Standardabweichungen und Anzahl der Tiere bei allen 3 Messungen. Der relative Wert der SMS in % bezieht sich auf die erste Messung, dieser Wert wird gleich 100% gesetzt. |
| Tabelle | 6: SMS 1 Anova, Varianzanalyse. |
| Tabelle | 7: SMS 2 Anova, Varianzanalyse. |
| Tabelle | 8: SMS 3 Anova, Varianzanalyse. |
| Tabelle | 9: Enddiastolische (EDL1-3) und endsystolische Längen (ESL1-3) aller gemessenen Tiere mit den dazugehörigen segmentalen, myokardialen Verkürzungen (SMS1-3). |
| Tabelle | 10: Mittelwerte der segmentalen, myokardialen Verkürzung der einzelnen Tiere in den zwei Kontrollgruppen (1-2) und den fünf verschiedenen Therapiegruppen (3-7). |
| Tabelle | 11: Vergleich der Kontroll- und Therapiegruppen untereinander bei SMS3. |
| Tabelle | 12: Vergleich der Kontroll- und Therapiegruppen untereinander bei SMS1. |
| Tabelle | 13: Vergleich der Kontroll- und Therapiegruppen untereinander bei SMS2. |

- Abbildung 1: Sicht auf den Ramus interventricularis paraconalis bei eröffnetem Herzbeutel während der ersten Operation.
- Abbildung 2: Die Platzierung der Ultraschallkristalle und die Lage des Fadens während der ersten Operation.
- Abbildung 3: Veränderung der Herzmuskulatur nach Setzen des Infarktes durch Okklusion des Gefäßes mit einem Prolenefaden.
- Abbildung 4: Sicht auf die freipräparierte A. carotis sin. Während der zweiten Operation.
- Abbildung 5: Entnommenes Herz nach der dritten Operation.
- Abbildung 6: Aufbereitetes Herz für die histologische Untersuchung mit Infarktbereich.
- Abbildung 7: Sonomikrometriesystem.
- Abbildung 8: Zusammenfassung der Ergebnisse der segmentalen, myokardialen Verkürzung. Auf der x-Achse ist die Anzahl der Gruppen mit den jeweilig dazugehörigen Anzahl der Tiere (N) aufgetragen. Auf der y-Achse ist die mittlere segmentale, Verkürzung aller drei Messungen aufgetragen.
- Abbildung 9: CD31- Färbung
- Abbildung 10: SMA-Färbung

11. Danksagung

Für die Vergabe meines Dissertationsthemas möchte ich mich bei der Abteilung für Herz- und Gefäßchirurgie des Universitätsklinikums Freiburg bedanken.

Ein herzlicher Dank gilt Prof. Dr. Hirschberger am Lehrstuhl für Innere Medizin der kleinen Haustiere und Heimtiere der Tierärztlichen Fakultät der LMU München für die spontane Bereitschaft meine Dissertation von Seiten des veterinärmedizinischen Bereiches zu betreuen.

Mein ausdrücklicher Dank gilt Prof. Dr. Erhardt. Er war stets ein hilfreicher Ansprechpartner für sämtliche Probleme, welche beim Verfassen einer Dissertation auftreten können und auch bei mir aufgetreten sind. Lieber Prof. Erhardt ich kann nur vielen, vielen Dank sagen und Ihnen für Ihren wohlverdienten Ruhestand von ganzem Herzen alles erdenklich Gute wünschen. Prof. Dr. Haberstroh verdient einen ganz großen Dank für die Durchsicht meiner Daten und hilfreichen Tipps.

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe von Frau R. Bush aus dem Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie der Technischen Universität München erstellt.

Einen herzlichen Dank gilt Frau Bush, welche mir eine große Hilfe bei der statistischen Auswertung war.

Ich möchte mich bei meinen Mitdoktoranden Laura Bredow und Tobias Renner bedanken, welche mir eine große Hilfe bei der Durchführung der Operationen und bei der Nachsorge der Operationstiere waren.

Herzlichen Dank an die Tierpfleger der Chirurgischen Forschung, an dieser Stelle vor allem Jürgen Tittel und Linda für die stets verantwortungsvolle Betreuung meiner Kaninchen.

Bei meinen Projektleitern Dr. Lutter und Dr. Heilmann möchte ich mich für die Zusammenarbeit bedanken.

Ein besonderer Dank gilt all denen, die mir in der Zeit, wo meine Motivation nachgelassen hat, wieder Mut gemacht haben.

Meinen Eltern einen besonderen Dank. Nicht nur für die seelische Unterstützung, sondern auch für die Finanzspritzen, ohne die dies alles nicht möglich gewesen wäre.

Meinen beiden kleinen Schwestern Dodo und Kätchen, die in dieser Zeit für mein seelisches Wohlbefinden gesorgt haben und mir bei vielen Fragen zur Seite standen, einen ganz großen Dank.

Für die zahlreichen Stunden, welche mein Freund mit Korrektur lesen verbracht geopfert hat, ebenso wie für die technische Unterstützung am Computer möchte ich mich ganz herzlich bedanken.

Curriculum vitae

Persönliche Daten:

| | |
|----------------|---|
| Name: | Tascher |
| Vorname: | Stefanie Emilie |
| Wohnort: | 66787 Wadgassen |
| Straße: | Am Berenbach 19-21 |
| Geburtsort: | Saarbrücken |
| Geburtsdatum: | 06. September 1973 |
| Familienstand: | ledig, keine Kinder |
| Konfession: | römisch-katholisch |
| Eltern: | Michael Georg Tascher Apotheker Hildegard Maria Tascher geb. Seilner Apothekerin |
| Geschwister: | Dorothea Barbara Tascher Katharina Viktoria Tascher |

Schulbildung:

| | |
|-------------|---------------------------------------|
| 1979 – 1983 | Grundschule Wadgassen |
| 1983 – 1986 | Max-Planck-Gymnasium, Saarlouis |
| 1986 – 1994 | Heimschule Kloster Wald, Wald |
| 1993 | Erwerb der allgemeinen Hochschulreife |

Berufliche Ausbildung:

| | |
|-------------|---|
| 1989 – 1994 | neben meiner schulischen Ausbildung, Lehre als Damenschneiderin |
| 1994 | Abschluss der Lehre mit Erwerb des Gesellenbriefes |

Hochschulausbildung:

| | |
|---------------------------------|--|
| September 1994 – September 1995 | Studium an der Universität der Veterinärmedizin Budapest, Ungarn |
| Oktober 1995 – Januar 2001 | Studium an der Universität Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät |
| Januar 2001 | Abschluß des Hochschulstudiums mit Bestehen des „Dritten Abschnittes der Tierärztlichen Prüfung“ |

Beruflicher Werdegang:

| | |
|--------------------------|--|
| Mai 2001 | Anfangsassistentin in der Kleintierpraxis Brüse, Höhr-Grenzhausen |
| Juli 2001 - Juli 2002 | Anfangsassistentin in der Kleintierklinik Dr. Schall, Ludwigshafen |
| Juli 2002 - Juli 2003 | Wissenschaftliche Mitarbeiterin an dem Universitätsklinikum Freiburg |
| Oktober 2003 – März 2004 | Kleintierklinik in Stommeln, Prof. Bali |
| März 2004 - heute | Praxisvertretung |

Wadgassen, den 12.02.05