

Aus dem
Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung
der
Technischen Universität München
Direktor Prof. Dr. med B. Gänsbacher

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. med. Karl-Ludwig Laugwitz und
PD Dr. med. M. Seyfarth

Vorgelegt über
Prof. Dr. med. vet. M. Stangassinger
Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung
Lehrstuhl für Physiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Etablierung der Magnetresonanztomographie zur Bestimmung der
Herzfunktion in der Maus**

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

von
Constanze Schroller
aus
Düsseldorf

München, 2007

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

Dekan: Univ.– Prof. Dr.E.P. Märtlbauer
Referent: Univ.– Prof. Dr. Stangassinger
Koreferent: Univ.– Prof. Dr. Gerhards

Tag der Promotion: 20. Juli 2007

Meiner Familie,
Julian,
und meinen Freunden

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Schrifttum	2
2.1	Aufbau des Sarkomers	2
2.2	Herzinsuffizienz	3
2.2.1	Therapie der Herzinsuffizienz beim Tier	5
2.3	Ursachen der Herzinsuffizienz	6
2.3.1	Myokardinfarkt	7
2.3.2	Koronare Herzkrankheit	7
2.3.2.1	Pathogenese des Myokardinfarkts und der Koronaren Herzkrankheit	7
2.3.3	Ischämie und Reperfusion	10
2.3.3.1	Reperfusionsschaden	11
2.3.4	Therapie des akuten Myokardinfarkts	13
2.3.5	Dilatative Kardiomyopathie	14
2.3.5.1	Dilatative Kardiomyopathie beim Tier	16
2.3.5.2	Therapie einer dilatativen Kardiomyopathie beim Tier	17
2.4	Der Herzinfarkt beim Tier	19
2.5	Myokardiale Ischämie im Mausmodell	20
2.5.1	Vor- und Nachteile gegenüber anderen Tieren als Modelltiere	20
2.5.2	Die Anatomie des Mäuseherzens	21
2.5.3	Die Koronargefäße der Maus	22
2.5.4	Die Koronargefäße des Menschen	23
2.6	Echokardiographie bei der Maus	24
2.6.1	Physikalisch-technische Grundlagen der Echokardiographie	24
2.7	Die Magnetresonanztomographie	25
2.7.1	Die Geschichte der Magnetresonanztomographie	25
2.7.2	Physikalische und technische Grundlagen der MRT	26
2.7.3	Die Bedeutung der MRT in der medizinischen Diagnostik	31
3	Eigene Untersuchungen	34
3.1	Zielvorstellung	34
3.2	Material und Methoden	35
3.2.1	Versuchstiere und Haltungsbedingungen	35
3.2.2	Versuchsablauf	35
3.2.3	Genotypisierung der MLP-Mäuse	36
3.2.4	Sonographische Messungen	37
3.2.4.1	Anästhesievergleich bei der sonographischen Untersuchung	40
3.2.5	Operationsdurchführung	41
3.2.5.1	Vorbereitung und Anästhesie	41
3.2.5.2	Tracheotomie	42
3.2.5.3	Thorakotomie	43
3.2.5.4	Verschluss der Thorakotomie- und Tracheotomiewunde	46
3.2.5.5	Komplikationen	47
3.2.5.6	Postoperative Phase und Analgesie	47
3.2.6	Magnetresonanztomographie (MRT)	47
3.2.7	Euthanasie und histologische Färbung des Herzgewebes	49
3.2.8	Aufarbeitung und Auswertung der Proben	50
3.2.9	Statistische Auswertung	51
3.3	Ergebnisse	52
3.3.1	Überlebensrate	52
3.3.2	Intraoperative Komplikationen	52
3.3.3	Ergebnisse der echokardiographischen Untersuchungen	53

3.3.3.1	Linksventrikuläre Verkürzungsfraction	55
3.3.3.2	Weitere echokardiographische Parameter	56
3.3.4	Ergebnisse des Anästhesievergleichs der sonographischen Untersuchung	58
3.3.5	Ergebnisse der MRT Untersuchungen.....	60
3.3.6	Ergebnisse der pathologisch-anatomischen Untersuchungen.....	63
4	<i>Diskussion</i>	66
4.1	Diskussion der Versuchsdurchführung	66
4.1.1	Die Maus als Tiermodell	66
4.1.2	Durchführung der Operation	67
4.1.3	Durchführung der Magnetresonanztomographie.....	67
4.2	Diskussion der Ergebnisse	68
4.2.1	Überlebensrate.....	68
4.2.2	Intraoperative Komplikationen.....	69
4.2.3	Ergebnisse der echokardiographischen Untersuchungen	69
4.2.4	Ergebnisse der magnetresonanztomographischen Untersuchungen	70
4.2.5	Infarktgröße.....	71
4.3	Schlussfolgerung und Ausblick	74
5	<i>Zusammenfassung</i>	75
6	<i>Summary</i>	76
7	<i>Literaturverzeichnis</i>	77
8	<i>Tabellenverzeichnis</i>	91
9	<i>Abbildungsverzeichnis</i>	92
10	<i>Abkürzungsverzeichnis</i>	94
11	<i>Danksagung</i>	96
12	<i>Lebenslauf</i>	97

1 EINLEITUNG

Die chronische Herzinsuffizienz ist wegen ihrer Häufigkeit und schlechten Prognose eine der wichtigsten internistischen Erkrankungen (MASSIE et al. 1996).

Laut dem statistischen Bundesamt starben im Jahr 2005 47.939 Menschen an einer Herzinsuffizienz, was 5,8 % der Gesamtbevölkerung entspricht und damit den Platz drei der häufigsten Todesursachen einnimmt (Statistisches Bundesamt, Gesundheitswesen 2005). Die Herzinsuffizienz entsteht durch eine Vielzahl von zusammentreffenden Faktoren. Mögliche Ursachen sind Kardiomyopathien, koronare Herzkrankheiten oder Myokardinfarkte (TOMASELLI 2004).

Die erste Antwort des Herzens auf Stress ist die Entwicklung einer Hypertrophie. Ohne Therapie geht diese schließlich in einen Zustand der Dilatation und Ausdünnung der Ventrikelwände über (KEYS 2004). Das Herz ist in Vertebraten das Organ, das sich als erstes entwickelt und funktioniert. Es nimmt schon im Embryo eine Schlüsselrolle in der Verteilung von Nährstoffen und Sauerstoff ein (BUCKINGHAM et al. 2005).

Durch eine Insuffizienz kann das Herz dieser Aufgabe nicht mehr nachkommen und es entsteht ein Zustand der Unterversorgung mit oxygeniertem Blut (KEYS 2004).

Um Veränderungen des Herzens im Rahmen einer Herzinsuffizienz näher untersuchen zu können, wird eine nicht invasive Methode benötigt, die unabhängig vom Untersucher ist und beliebig oft wiederholt werden kann (CHATHAM und BLACKBAND 2001).

Die Magnetresonanztomographie hat, aufgrund vieler Vorteile gegenüber der alt bewährten Echokardiographie, in der Humanmedizin, aber auch in vielen Teilen der Veterinärmedizin an Bedeutung gewonnen und ist mittlerweile zum Mittel der ersten Wahl geworden, wenn es um die Messung funktioneller oder metabolischer Parameter des Herzens geht (ABI-ABDALLAH et al. 2006).

Mit dieser Studie sollen Referenzdaten der Magnetresonanztomographie für verschiedene Modelle der Herzinsuffizienz der Maus erstellt und ein klinischer 1,5 Tesla Scanner etabliert werden. Diese Daten sollen als Grundlage für weitere Forschungen dienen. Um einen Myokardinfarkt der Mäuse auszulösen wird ein Ischämie/Reperfusion -bzw. Dauerokklusions-Modell verwendet. Zur Untersuchung der dilatativen Kardiomyopathie wird ein MLP-Knockoutstamm herangezogen. Das Muscle Lim Protein (MLP) wird im Herz- und Skelettmuskel expremiert und reguliert die Differenzierung von Muskelgewebe. Fehlt es bei den Tieren, so entwickeln sie nach der Geburt eine dilatative Kardiomyopathie.

2 SCHRIFTTUM

2.1 Aufbau des Sarkomers

Das Sarkomer ist die kleinste funktionelle Kontraktionseinheit der quergestreiften Muskulatur. Durch die Längenveränderung mehrerer Sarkomere kommt es zu einer Verkürzung oder Verlängerung des Muskels (MARIAN 2005). Eine Muskelfaser besteht aus ca. 1000 Myofibrillen, die wiederum aus dünnen Aktin- und dicken Myosinfilamenten zusammengesetzt sind. Die Aktinfilamente sind an der Z-Scheibe verankert. Diese ist wichtig für die Organisation des Sarkomers und begrenzt es zu beiden Seiten (HAYASHI et al. 2004; VAN DEN BOSCH et al. 2005). Die Aktinfilamente bestehen aus einer Doppelhelix globulärer Aktinmoleküle, worum sich das Tropomyosin wickelt. Troponinmoleküle lagern sich als dritte Komponente an das Tropomyosin an. Durch die Bindung von Calcium an das Troponin während einer Kontraktion wird die Bindungsstelle des Myosins freigegeben. Die Myosinmoleküle setzen sich aus dem leichten und dem schweren Meromyosin zusammen. Das schwere Meromyosin spaltet enzymatisch ATP, während das leichte Meromyosin die Kopplung des Aktins an das Myosin ermöglicht.

Erst durch Steigerung der Calciumpermeabilität wird eine Kontraktion ermöglicht. In Abwesenheit von Calciumionen hemmt das Troponin die Wechselwirkung zwischen Aktin und Myosin. Die Myosinköpfe, die sich im Bereich des schweren Meromyosins befinden, bilden Querbrücken aus, die sich wiederum an das Aktinfilament binden. Muskelkraft wird erzeugt, indem die Querbrücke das Aktinfilament in Richtung Sarkomermitte zieht und sich das Sarkomer verkürzt. Durch eine Calcium-ATPase wird Ca^{++} wieder abtransportiert und durch die Bindung eines neuen ATP-Moleküls wird die Aktin-Myosin-Querbrücke wieder gelöst, so dass der Myosinkopf in seine ursprüngliche Position zurückkehrt (MARIAN 2005).

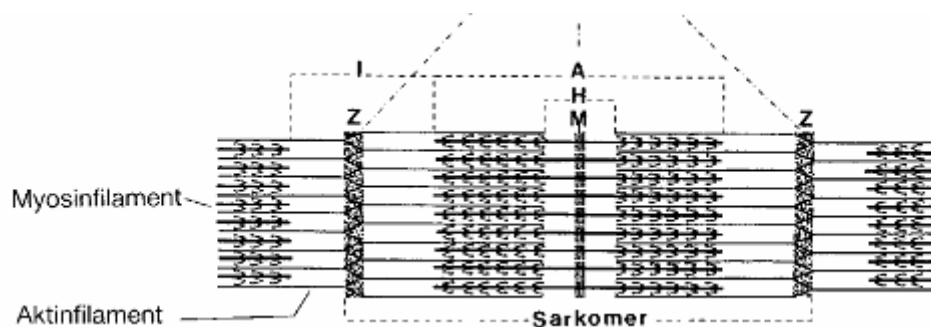


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Sarkomers (LIEBIG 1998)

I = I-Bande, A = A-Bande, Z = Z-Scheibe, H = H-Bande, M = M-Bande

2.2 Herzinsuffizienz

Die chronische Herzinsuffizienz ist gekennzeichnet durch eine inadäquate Pumpleistung des Herzens, die zu einer Sauerstoffunterversorgung des perfundierten Gewebes führt (BOHM et al. 1993). Sie ist das Ergebnis unterschiedlicher Herzerkrankungen wie Hypertonus, ischämische Herzerkrankungen, kongenitale Herzfehler, Myokarditiden oder Kardiomyopathien (BRAUNWALD und BRISTOW 2000).

Auslöser für eine Herzinsuffizienz ist biomechanischer Stress. Dieser wird durch einen Myokardschaden verursacht, der wiederum durch eine Hypoxie oder eine Erhöhung der Wandspannung ausgelöst wird. Durch den Verlust funktionellen Myokards wird das verbleibende, gesunde Myokard übermäßig belastet und durch die Stimulation des Muskelwachstums entwickelt sich eine kompensatorische Hypertrophie (CHIEN et al. 1999). Durch die Hypertrophie kommt es zunächst zu einer Zunahme der Kontraktionsfähigkeit, zu einer Verminderung der Wandspannung und zu einer Erhöhung des Schlagvolumens (GROSSMANN et al. 1975).

Auch wenn sich das Herz relativ gut an Veränderungen anpassen kann, führt dieser Zustand ohne Behandlung zu einer irreversiblen Dekompensation der Herzleistung, die mit einer Dilatation der Ventrikel und Ausdünnung der Kammerwände einhergeht (KEYS und KOCH 2004; SPANN et al. 1967). Die Hypertrophie ist zusätzlich durch strukturelle Veränderungen von Kardiomyozyten gekennzeichnet. Durch deren Strukturumbau kommt es auch zu einer Veränderung der Ventrikelgröße, was als so genanntes Remodeling bezeichnet wird (COLUCCI 1997).

Neurohumorale, autokrine und parakrine Mediatoren der kardialen Hypertrophie sind Katecholamine, Angiotensin II, Endothelin I, Fibroblasten-Wachstumsfaktor (FGF), transformierender Wachstumsfaktor β (TGF β). Proinflammatorische Cytokine wie Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF α), Interleukin-1 β (IL1 β) und Interleukin-6 (IL6) heben ebenfalls einen Einfluss auf das kardiale Remodeling (BRAUNWALD und BRISTOW 2000).

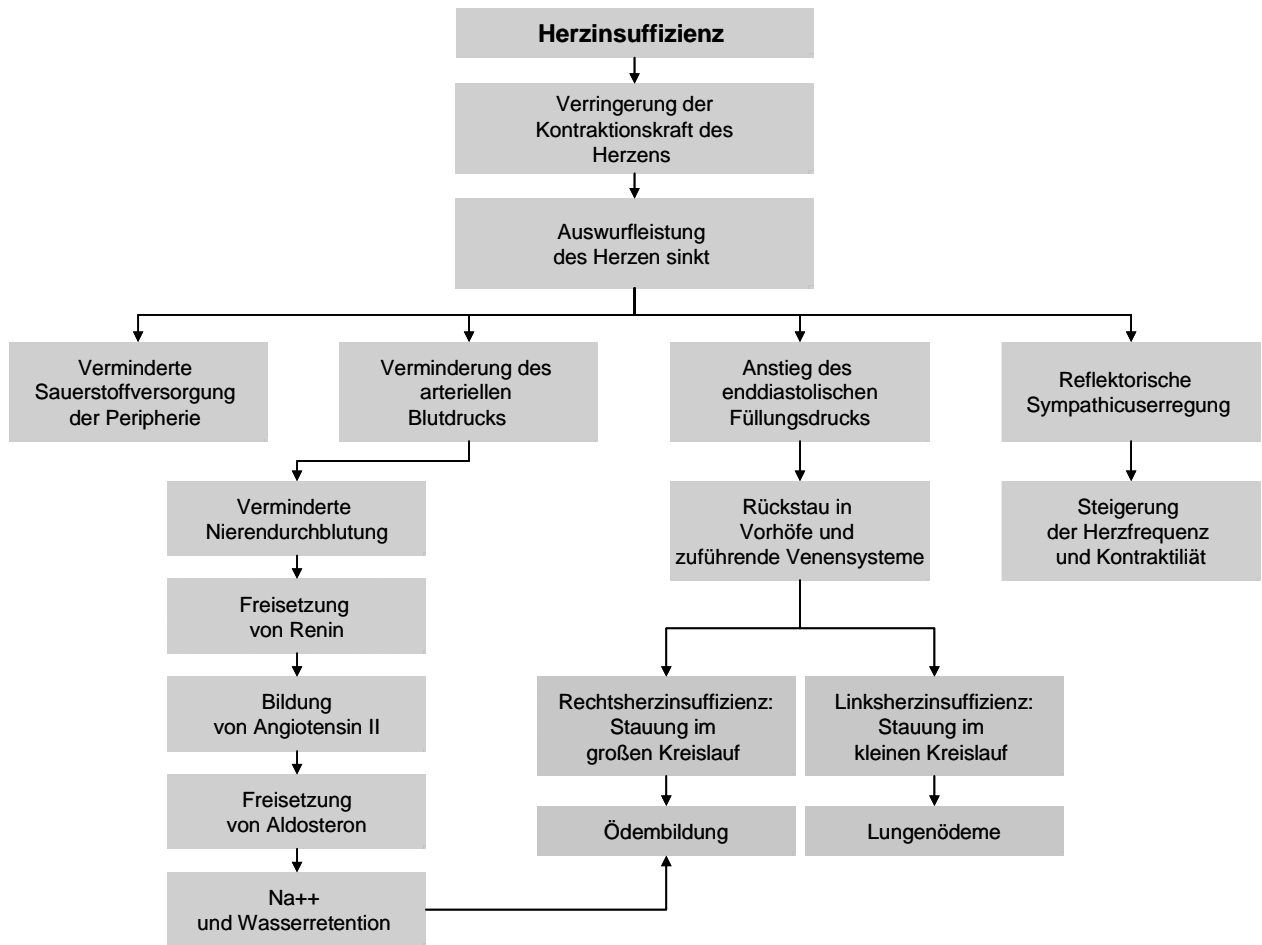


Abbildung 2: Auswirkungen der Herzinsuffizienz auf den Organismus

Aufgrund der Herzinsuffizienz kommt es zu einem verminderten arteriellen Blutdruck, was wiederum eine verminderte Nierendurchblutung zur Folge hat. Durch die renale Minderperfusion und die Aktivierung des Sympathikus wird das Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) stimuliert (TOMASELLI und ZIPES 2004).

Unter physiologischen Bedingungen wird Angiotensin I in Angiotensin II umgewandelt (siehe Kapitel 2.2.4.1). Angiotensin II hat eine vasokonstriktorische Wirkung und fördert wiederum die Aldosteronsynthese, es erhöht die Sekretion des antidiuretischen Hormons (ADH = Vasopression), stimuliert das Durstzentrum im Hypothalamus und aktiviert das alpha-adrenerge System. Die bei einer Herzinsuffizienz hervorgerufene Dauerstimulation des RAAS-Systems führt zu einer Erhöhung des Gefäßwiderstandes und zu einer erhöhten Vor- und Nachlast des Herzen. Normalerweise reagiert das Herz auf eine erhöhte Vorlast mit einer erhöhten Kontraktilität. Bei der Herzinsuffizienz kann das Blut, das während der diastolischen Füllung in die Ventrikel einströmt aber nicht in ausreichender Weise weitergepumpt werden. Die Folge der verminderten Auswurfleistung (ejektion fraction = EF) ist eine herabgesetzte

Kontraktilität und eine Stauung des Blutes in der Peripherie (MORISSE 2001; SPONER 2002).

Je nach betroffenem Herzabschnitt wird bei der Herzinsuffizienz eine Rechts- und eine Linksherzinsuffizienz unterschieden. Bei einer Rechtsherzinsuffizienz staut sich das venöse Blut in den peripheren Organen, wohingegen es bei einer Insuffizienz des linken Herzens zu Stauungen im Lungenkreislauf kommt, die mit respiratorischen Symptomen einhergehen (MORISSE 2001; SPONER 2002). Nach der New York Heart Association (NYHA) werden vier Schweregrade – wie in nachfolgender Tabelle dargestellt – unterschieden:

Tabelle 1: Einteilung der Schweregrade der Herzisuffizienz nach NYHA

Stadium I	Herzerkrankung mit normaler Belastbarkeit, keine äußeren Symptome erkennbar
Stadium II	Herzerkrankung mit Symptomen bei starker Belastung, keine Symptome in Ruhe
Stadium III	Herzerkrankung mit Symptomen bei leichter Belastung, keine Symptome in Ruhe
Stadium IV	Symptome in Ruhe

(modifiziert nach ABRAHAM und UNGEMACH 2006)

2.2.1 Therapie der Herzinsuffizienz beim Tier

Das Ziel der Herzinsuffizienztherapie ist die Progression der Erkrankung zu stoppen oder zu verlangsamen und die Belastbarkeit des Patienten wieder zu steigern. Dies ist zu erreichen über:

- die Senkung der Vor- und Nachlast des Herzens
- die Steigerung der Kontraktilität der Myokardmuskulatur und Optimierung des Sauerstoffverbrauchs
- Verringerung der neuroendokrinen Aktivierung

Anhand der Schweregradeinteilung (siehe Kapitel 2.1) werden je nach Stadium verschiedene Pharmaka eingesetzt. In den ersten drei Stadien ist eine ACE-Hemmer-Therapie angezeigt, die bei nicht ausreichender Stabilisierung mit Diuretika und Pimobendan ergänzt werden kann. Bei fehlender Verbesserung des Zustandes folgt die Gabe von positiv inotrop wirkenden Substanzen (ABRAHAM und UNGEMACH 2006; KERSTEN und MORISSE 2001).

Herzwirksame Glykoside werden eingesetzt, um die myokardiale Kontraktilität zu steigern und damit das Schlagvolumen zu erhöhen. Sie wirken positiv inotrop, negativ chronotrop und negativ dromotrop (KERSTEN und MORISSE 2001; SPONER 2002). Durch die verbesserte Pumpfunktion wird auch der Füllungsdruck gesenkt. Das wichtigste Mitglied der Glykosidfamilie ist Digitoxin mit seinen Derivaten (β -Methyldigoxin, β -Acetyldigoxin). Strophantin, ein weiteres Herzglykosid, hat in der Veterinärmedizin nur geringe Bedeutung. Ihr Wirkungsmechanismus beruht auf der Hemmung der Na^+/K^+ -ATPase, wodurch die intrazelluläre Na^+ -Konzentration erhöht wird. Das überschüssige Na^+ wird nun im Austausch gegen Ca^{++} über das Ca^{++} -Carriersystem aus der Zelle gebracht. Die gering erhöhte intrazelluläre Ca^{++} -Konzentration hat wiederum eine Triggerfunktion und bewirkt durch eine Depolarisation, dass noch mehr Ca^{++} freigesetzt wird (SPONER 2002).

Aufgrund der geringen therapeutischen Breite der herzwirksamen Glykoside fällt die Wahl der Therapeutika oft auf andere Medikamente, die allesamt eine Erhöhung des intrazellulären Ca^{++} -Gehaltes induzieren. Zu den positiv inotropen Pharmaka gehören z.B. β_1 -Sympathomimetika (Dobutamin), Phosphodiesterasehemmer oder Ca^{++} -Sensitizer (Pimobendan). Dobutamin hat neben der positiv inotropen Wirkung noch eine peripher vasodilatatorische Wirkung. Bei chronischer Herzinsuffizienz hat es allerdings nur geringen Nutzen, da die Empfindlichkeit des Herzens gegenüber Dobutamin fortschreitend abnimmt. Pimobendan hemmt das Enzym Phosphodiesterase und erhöht dadurch die intrazelluläre Cyclo-AMP-Konzentration, wodurch eine Vasodilatation hervorgerufen wird. Zusätzlich steigert es die Kontraktilität und Schlagkraft des Herzens.

Zur Behandlung einer Herzinsuffizienz werden auch Diuretika und Angiotensin-Converting-Enzym (ACE)-Hemmer eingesetzt (siehe Kapitel 2.2.4.2). β -Rezeptorblocker, wie sie in der Humanmedizin eingesetzt werden, haben eine negativ inotrope Wirkung. Sie verbessern nur bei längerer Therapie die Symptomatik, werden aber bisher in der Veterinärmedizin nur sehr begrenzt, vor allem im Rahmen von Studien, eingesetzt (SPONER 2002).

2.3 Ursachen der Herzinsuffizienz

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind die häufigste Todesursache bei Menschen, die das 65. Lebensjahr überschritten haben. Durch den Anstieg des Altersdurchschnitts ist in den nächsten Jahren auch eine Zunahme der Herzerkrankungen zu erwarten. In Nordeuropa sind 45 % aller Todesfälle auf kardiovaskuläre Erkrankungen zurückzuführen. In den USA und in Norwegen sterben 21-22 % der Bevölkerung am Myokardinfarkt, in mediterranen Ländern

wie z. B. Italien liegt die Todesrate dagegen nur bei 10 % (AZHAR et al. 1999; YTREHUS et al. 2000).

2.3.1 Myokardinfarkt

Der Myokardinfarkt ist eine der Hauptursachen der Herzinsuffizienz (FINSEN et al. 2004). Bis heute ist seine Definition immer noch umstritten. Ausgelöst wird der Myokardinfarkt durch eine Ischämie im Herzgewebe. Streng genommen kommt der Begriff der Ischämie aus dem Griechischen von ischo = zurückhalten, hindern und haima = Blut. Nach dieser Definition würde aber jede Erkrankung unter diesen Begriff fallen, die mit einem eingeschränkten Blutfluss einhergeht. Die meisten Wissenschaftler gehen daher dazu über, den Myokardinfarkt als Ungleichgewicht zwischen der Menge an Sauerstoff und Substraten die das Herz beliefern, und der Menge an Stoffen, die das Herz für seine normale Aktivität benötigt, zu definieren (VERDOUW et al. 1998).

2.3.2 Koronare Herzkrankheit

Die koronare Herzkrankheit (KHK) entsteht durch die Manifestation einer Arteriosklerose in den Herzkranzgefäßen, die in der Folge zur Abnahme der myokardialen Durchblutung und somit zu einer Myokardischämie führen kann (BOKISCH et al. 2000). Schweregrad und Dauer der hierdurch hervorgerufenen Ischämie bestimmen die Manifestation in Form von stabiler oder instabiler Angina pectoris, Myokardinfarkt, chronischer Herzinsuffizienz oder plötzlichem Herztod (HENDERSON 1996).

2.3.2.1 Pathogenese des Myokardinfarkts und der Koronaren Herzkrankheit

Die Ruptur von atherosklerotischen Plaques, Koronarthrombosen und distale Embolisierungen sind als Ursache eines Myokardinfarkts oder einer instabilen Angina pectoris zu nennen (FALK 1983; DAVIES und THOMAS 1984).

Die Atherosklerose ist eine Erkrankung der großen Arterien. Sie ist die Hauptursache für Herzinfarkte und Schlaganfälle in der westlichen Gesellschaft und Ursache von 50 % der Todesfälle in der Bevölkerung. Sie ist keine Konsequenz des Alterungsprozesses, sondern vielmehr eine chronische Entzündung, die in eine akut klinische Erscheinung übergehen kann. Beim Myokardinfarkt treten alle typischen Symptome einer Entzündung auf, wie z.B. die Reduktion von Stickstoffmonoxid, die Produktion von Cytokinen und Chemokinen, die

Freisetzung chemotaktischer Faktoren, die Infiltration von neutrophilen Granulozyten, und die Mastzellaktivierung (HANSEN 1998; LUIS 2000).

Die Atherosklerose ist eine progressive Erkrankung, charakterisiert durch Ablagerungen von Lipiden und fibrösen Bestandteilen am Endothel der Gefäßwände (LUIS 2000). Die ersten sichtbaren Veränderungen sind Einlagerungen von lipidreichen Makrophagen (= Schaumzellen) und T-Lymphozyten in die Intima, so genannte „fatty streaks“. Durch eine folgende Anlagerung von Makrophagen und glatten Muskelzellen an das Gefäßendothel entsteht Plaque. Durch weitere Anlagerung von Thrombozyten und roten Blutkörperchen kommt es zum Anwachsen des Plaques, wodurch der Blutfluss beeinträchtigt werden kann. Durch seine schwammige Konsistenz ist der Plaque verletzlich und kann bei einer plötzlichen Erhöhung des Blutdrucks Risse bekommen oder sich lösen (CONSTANTINIDES et al. 1966; DAVIES und THOMAS 1985; FUSTER et al. 1999; ROSS 1993; VAN DER WAL et al. 1994).

Bei 95 % der Patienten, die an einer plötzlichen ischämischen Herzerkrankung sterben, hat sich eine solche koronare Läsion ausgebildet (DAVIES und THOMAS 1985). Makrophagen, die sich an den Seiten der Plaques befinden, setzen Proteinkinasen frei, die zum Erweichen des Plaques führen. Der Tissue Faktor, ein Prokoagulator, der ebenfalls von Makrophagen freigesetzt wird, stimuliert zusammen mit Blutbestandteilen, die mit der subendothelialen Matrix in Berührung kommen, den Beginn der Gerinnungskaskade (EL-MARAGHI und GENLON 1980; MACH et al. 1997).

Hochgradige Stenosen begünstigen die Ausbildung von Thromben auf einer vorher intakten Endotheloberfläche. Die Freisetzung von vasoaktiven Substanzen kann darüber hinaus zu einem Vasospasmus führen. Spasmen treten vor allem in den Bereichen auf, in denen sich Plaques befinden und diese abgeschwemmt werden (DAVIES et al. 1986; FALK 1985).

Innerhalb der ersten zehn Lebensjahre eines Menschen tritt eine solche Ablagerung meist in der Aorta, in den nächsten zehn Jahren in koronaren Gefäßen und im dritten bis vierten Jahrzehnt in cerebralen Gefäßen auf. Fortgeschrittene Veränderungen können den Blutfluss behindern und zum kompletten Verschluss führen (LUIS 2000). Ein vollständiger Gefäßverschluss durch einen Thrombus ist stets lebensbedrohlich (FALK 1983).

Mäuse, die ein Defizit an Apolipoprotein E oder Low Density Lipoprotein (LDL)-Rezeptoren haben, entwickeln solche Veränderungen der Gefäßwand besonders gut und schnell und sind daher ein gutes Modell für Studien (LUIS 2000).

Die Ätiologie der Atherosklerose ist multifaktoriell. Genetische Komponenten spielen neben Lebensgewohnheiten eine wichtige Rolle. Für Mitglieder einer Familie, bei der die

Atherosklerose gehäuft auftritt, besteht ein erhöhtes Risiko (ASSMANN et al. 1999; GOLDBOURT und NEUFELD 1986; LUIS 2000).

Rauchen und eine erhöhte Menge an Lipoproteinen im Blut gehören zu den größten Risikofaktoren bei Menschen auf der ganzen Welt, gefolgt von Diabetes und Bluthochdruck (ASSMANN et al. 1999; YUSUF et al. 2004). Das Risiko, dass sich eine koronare Erkrankung entwickelt, ist auch von der Zusammensetzung des Blutes abhängig. Kommt das High Density Lipoprotein (HDL) in großen Mengen im Serum vor, wird die Gefahr für das Auftreten einer koronaren Erkrankung minimiert. Hohe Mengen von LDL hingegen erhöhen die Gefahr eines arteriellen Verschlusses (GORDEN und RIFKIND 1989; HOSTMARK et al. 1990).

Die Bildung eines Plättchenthrombus dient normalerweise der Blutstillung und schützt auf diese Weise das Lebewesen vor zu großem Blutverlust. Andererseits kann ein solcher Thrombus auch zu einer Lebensbedrohung werden, wenn durch ihn arteriosklerotische Arterien verschlossen werden (RUGERRI 2004).

Die von den Plättchen abhängige Formierung eines Thrombus ist ein Schlüsselereignis in der Pathogenese des Myokardinfarktes. Durch die Störung der Mikrovaskularisation spielen sie auch bei der Ausprägung des Reperfusionsschadens eine wichtige Rolle. Wie bereits beschrieben, heften sich die Thrombozyten an den Seiten des Plaques an die Gefäßwand an, verursachen einen Gefäßverschluss und induzieren auf diese Weise eine Ischämie. Die Adhäsion der Thrombozyten an das Endothel kann bei einem Myokardinfarkt weitere kardiale Dysfunktionen nach sich ziehen. Im Kontrast dazu steht, dass die Degranulation zur Unterstützung der Endothelintegrität führt. Abgesehen davon sezernieren die Plättchen Thromboxan A₂, welches einerseits ihren eigenen Aktivierungsprozess verstärkt und andererseits vasokonstriktorisch wirkt und somit den Blutfluss verlangsamt. Wenn nach aufgehobener Vasokonstriktion wieder Blut ins Myokard einströmt, können reversibel geschädigte Myozyten durch freie Radikale noch mehr geschädigt werden (HEINDL et al. 1998; GAWAZ 2004).

Die aktivierten Plättchen gehen außerdem noch eine direkte Verbindung mit Endothelzellen und Lymphozyten ein. Dadurch können sie Einfluss auf diese Zellen nehmen und sie dabei entweder aktivieren oder hemmen. Auf diese Weise sind sie in der Lage, die Entzündungsreaktion zu verstärken. Glykoprotein IIb/IIIa und P-Selektin sind die wichtigsten Rezeptoren der Thrombozyten, die diese Bindung vermitteln. Sie werden nach der Stimulation der Thrombozyten auf ihrer Oberfläche exprimiert (HEINDL et al. 1998; KLINGER und JELKMANN 2002).

Die Entzündungsreaktion hat neben der Schädigung des Myokards in gewisser Weise auch einen schützenden Effekt. Sie leitet die Reparatur des geschädigten Gewebes in die Wege und ermöglicht die Erhaltung des noch gesunden Myokards (ENTMANN et al. 2000).

Ausschlaggebend bei der Ausbildung eines Myokardinfarktes ist die Schädigung der Myozyten. Am Anfang einer myokardialen Ischämie tritt eine noch reversible Dysfunktion der Myozyten auf. Im Infarktmodell an Hunden zeigte sich, dass sie sich nach ca. 30 Minuten in eine irreversible Schädigung umwandelt. Apoptose und Nekrose führen zum Untergang der Myozyten. Die endgültige Infarktgröße tritt beim Hund nach 4-6 Stunden ein (JENNINGS et al. 1960).

Wenn in einem Koronargefäß ein verminderter Blutfluss auftritt, kommt es zu irreversiblen Schäden an den Kardiomyozyten. Diese Schädigungen bringen den Funktionsstoffwechsel im Myokard zum Stillstand (SIMPSON und LUCCHESI 1987). Durch die entstandene Hypoxie kommt es zur Umstellung auf den anaeroben Metabolismus. Die verminderte Aktivität der ATPasen und der erhöhte oxidative Stress induziert eine Depletion des zellulären ATP. Eine vermehrte Laktatproduktion führt zu einer Azidose, wodurch pH abhängige Enzyme (Endonukleasen) aktiviert werden. Es kommt zur Apoptose und Nekrose (LEE 1995; SILVERMAN et al. 1994).

Zunächst ging man davon aus, dass der Zelltod beim Myokardinfarkt allein durch Nekrose hervorgerufen wird. In den letzten Jahren konnte aber gezeigt werden, dass vor allem während der Reperfusion die Apoptose eine wichtige Rolle spielt. Durch Nekrose und Apoptose werden ganze Gewebsregionen geschädigt. Im Gegensatz zur Nekrose erfolgt die Apoptose allerdings gerichtet (BARDALES et al. 1996; SARASTE et al. 1997).

Durch den Verlust funktioneller Kardiomyozyten wird beim akuten Myokardinfarkt der Beginn der Herzinsuffizienz gefördert (MACLELLAN und SCHEIDER 1997).

2.3.3 Ischämie und Reperfusion

Während der Ischämie kann die Versorgung des Herzgewebes mit Nährstoffen und der Abtransport von Stoffwechselprodukten nicht mehr aufrechterhalten werden. Zur Kompensation des Energiemangels und aufgrund von fehlendem Sauerstoff läuft eine anaerobe Glykolyse ab, bei der Laktat gebildet wird (JENNINGS et al. 1981). Die ATP-Reserven werden aufgebraucht und durch den geringen Blutfluss häufen sich Stoffwechselprodukte wie Laktat, Protonen und anorganisches Phosphat an. Durch die Zellazidose wird der Na^+/H^+ -Austauscher des Sarkolemms aktiviert. Dies führt dazu, dass Natrium in den Zellen festgehalten wird. Das angehäuften Na^+ wird über den $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ -

Austauscher in den Extrazellularräum befördert. Dadurch wird innerhalb der ersten 15 Minuten der Ischämie viel Ca^{++} in den Zellen eingelagert, was sich aber mit Eintritt der Reperfusion wieder normalisiert. Der zu hohe Calciumspiegel in den Zellen führt zu kontraktilen Dysfunktionen (MARBAN et al. 1989; NAYLER und ELZ 1986; TESHIMA et al. 2003).

Innerhalb der ersten 5 Minuten der Ischämiezeit bleibt das Plasmalemm intakt. Eine zu dem Zeitpunkt eintretende Reperfusion ermöglicht eine vollständige Regeneration des Gewebes. Bleibt die Ischämie mehr als 30 Minuten bestehen, wird auch das Plasmalemm geschädigt. Durch die Ansammlung von Flüssigkeit bilden sich Gewebsödeme. Die Akkumulation von Superperoxiden schädigt außerdem die Zellmembran und führt zum Verlust der Membranintegrität (NAYLER und ELZ 1986).

Unter aeroben Bedingungen wird Glutathion aus NADPH im Pentosephosphatweg gewonnen. Dieser läuft aufgrund des anaeroben Metabolismus nicht mehr ab. Die Glutathion-Reserven werden aufgebraucht und die Zellen sind nicht mehr gegen oxidativen Stress geschützt (MAXWELL und LIP 1997).

In den ersten 12-24 Stunden des Myokardinfarktes kommt es zu einer Entzündungsreaktion, die mit einer Infiltration von Granulozyten einhergeht. Nach rund 24 Stunden akkumulieren Leukozyten am Randgebiet der Nekrose und wandern schließlich in dieses ein, um das gesamte Ischämiegebiet zu besiedeln. Sie beteiligen sich dort am Abbau nekrotischen Gewebes und fördern somit die Revaskularisation und Reparatur des Myokards (ENGLER et al. 1986).

Die Auswirkung der Reperfusion ist abhängig vom Zeitpunkt, an dem sie eintritt. Für bereits irreversibel geschädigte Zellen bedeutet die Reperfusion, durch das Auswaschen der Enzyme, den Tod (NAYLER und ELZ 1986).

2.3.3.1 Reperfusionsschaden

Tritt die Reperfusion ein, so kommt es wieder zur Durchflutung des Gewebes mit sauerstoffreichem Blut. Der Abtransport der Stoffwechselprodukte ist damit wieder gewährleistet, dennoch kommt es gleichzeitig zu einer Schädigung des Gewebes, zum so genannten Reperfusionsschaden. Molekularer Sauerstoff ist plötzlich verfügbar, woraus durch Reduktion hochreaktive freie Radikale, Superoxid Anionen, gebildet werden (FORMANN et al. 1990).

Neben dem Sauerstoff sind auch Entzündungszellen, wie neutrophile Granulozyten, Lieferanten für freie Radikale (VAN DEN HOEK et al. 1997).

Normalerweise besitzt das Myokard gute Schutzmechanismen, um die Zellen gegen zytotoxische Metabolite zu schützen. Erst durch den Verlust dieser Schutzmechanismen sind die Zellen den Schädigungen ausgeliefert. Neben der zytotoxischen Wirkung führen die freien Radikale noch zu einer Lipidperoxidation der Zellmembranen, sowie zur Denaturierung von Proteinen und Nukleinsäuren (FERRARI et al. 1985; FORMANN et al. 1989).

Die Superoxid Dismutase katalysiert im gesunden Gewebe die Spaltung von Superoxid Anion Radikalen zu Wasserstoffperoxid, welches dann weiter von einer Katalase zu Wasser und Sauerstoff umgewandelt wird. Die Glutathion Peroxidase und Katalase schützen, indem sie Wasserstoffperoxid zu Wasser reduzieren. Durch die verminderte Aktivität der Enzyme, bei gleichzeitig erhöhter Superoxidproduktion sind die Abwehrmechanismen im ischämischen Myokard überfordert. Es kommt zur Ansammlung freier Radikale (FERRARI et al. 1985; FORMANN et al. 1990; REIMER et al. 1989). Die freien Radikale interagieren mit Lipiden oder der Desoxyribonukleinsäure. Die Peroxidation von Lipiden führt zur Bildung von Lipid-Hydroperoxiden und Aldehyden, die wiederum mit Sulfhydrylgruppen in Wechselwirkung treten und so einen Zellschaden verursachen (FERRARI et al. 1985; FORMANN et al. 1990). Oxidantien, wie z.B. Sauerstoffperoxid, lassen die Gefäßpermeabilität ansteigen. So kommt es neben der Schädigung der Mitochondrien durch einen zu hohen Calciumspiegel und der Freisetzung der Radikale, zu einer erhöhten Permeabilität und damit zu einer Nekrose von Myozyten (LUM et al. 1992).

Klinisch manifestiert sich der Reperfusionsschaden durch eine verminderte linksventrikuläre Ejektionsfraktion, die allerdings nur zu Beginn der Reperfusionsphase beobachtet wird und in Abhängigkeit der Ischämiezeit reversibel sein kann, durch Tachykardien und kardiale Arrhythmien (MAXWELL und LIP 1997).

Auch wenn das Myokard in der Reperfusionsphase wieder mit Sauerstoff versorgt wird und damit die Ursache der Ischämie behoben ist, kommt es nach einer Ischämiezeit von über 40 Minuten durch Änderungen in der Struktur und Funktion der Endothelzellen zu einem so genannten „no-reflow“-Phänomen. Das „no-reflow“ ist durch eine Störung der Mikrozirkulation definiert und zeigt Hyperämie, Hämorrhagien und kapilläre Endstrombahnen, die mit Blutzellen gefüllt sind. Es finden sich dort neben Erythrozyten auch Plättchen und Fibrinthromben. Die mikrovaskuläre Schädigung zeigt sich in einer erhöhten vaskulären Permeabilität, einer Schädigung der vaskulären Endothelzelle und in mikrovaskulärer Hämorrhagie (FORMANN et al. 1989; HEARSE et al. 1993; KLONER et al. 1974; KRUG et al. 1966).

2.3.4 Therapie des akuten Myokardinfarkts

Ziel der Therapie beim akuten Myokardinfarkt ist die schnelle Wiedereröffnung der verschlossenen Gefäße (STRAUER 2001).

Bereits Mitte der Siebziger Jahre wurde der Myokardinfarkt mit einer Okklusion durch rupturierten Plaque in Verbindung gebracht. Es wurde versucht den koronaren Fluss wiederherzustellen, indem man einen Katheter verwendete, über den eine intrakoronare Infusion mit Streptokinase verabreicht wurde (DAVIS et al. 1976; RENTROP et al. 1979). Die PTCA (perkutane transluminale coronare Angioplastie) ist ein Verfahren zur Erweiterung verengter Koronargefäße, wobei ein Ballonkatheter an die verengte Gefäßstelle eingebracht wird. Anfangs wurde nach einem Myokardinfarkt die PTCA kombiniert mit einer intrakoronaren Lyse durchgeführt. Nach und nach entdeckte man aber einen deutlichen Vorteil der PTCA gegenüber der Lysetherapie (GRINES et al. 1993). Der entscheidende Nachteil der interventionellen Kardiologie liegt in dem hohen logistischen Aufwand der Methode und in der mangelnden Ausrüstung vieler Krankenhäuser (RUPPRECHT et al. 2003).

Der Erfolg der thrombolytischen Therapie ist unabhängig von Alter, Geschlecht, der Ätiologie des Myokardinfarktes oder gleichzeitig bestehendem Diabetes mellitus. Auch nach Wiedereröffnung der Gefäße besteht weiterhin die Gefahr, dass ein Teil der Gefäße wieder reokkludiert und es dadurch zu Reinfarkten kommt. Verabreicht man dem Patienten Thrombolytika, so entsteht als Nebenwirkung eine erhöhte Blutungsneigung. Die optimale Thrombolyse kann durch Thrombolytika der dritten Generation (Reteplase, Lanoteplase, Tenecteplase) in Kombination mit Glykoprotein (GP) IIb/IIIa-Blockern (Abciximab, Eptitibatida, Tirofiban) erreicht werden. Durch die Glykoprotein IIb/IIIa Blocker wird der Blutfluss im Infarktgebiet und auch die Mikrozirkulation in den sich anschließenden myokardialen Gefäßen verbessert. Die gleichzeitige Verabreichung von Acetylsalicylsäure dient der Thrombozytenfunktionshemmung und Heparin wird zur Antikoagulation verwendet (NORDT und BODE 2001).

GP IIb/IIIa-Blocker sind potentielle Agenzien, um das Fortschreiten des Myokardinfarktes und die Todesgefahr einzudämmen. Durch ihren Einsatz kommt es zu einer relativen Reduktion der Infarktgröße bei 34 % der Betroffenen im Vergleich zu den Patienten, bei denen ein Placebo eingesetzt wird (BOERSMA et al. 1999).

Eine andere Möglichkeit der Therapie ist der Einsatz von Acetylsalicylsäure (ASS). ASS bewirkt die Acetylierung des aktiven Zentrums der Cyclooxygenase 1 (Cox 1) und

Cyclooxygenase 2 (Cox 2). Die Cyclooxygenase ist ein Enzym, das unter physiologischen Bedingungen die Umwandlung der Arachidonsäure in Prostaglandin H₂ katalysiert. Es kommt zur irreversiblen Inaktivierung der Thromboxan-A₂-Synthese, das wiederum die Vorstufe der Prostaglandine ist. ASS wird vom Magen gut resorbiert, erreicht seinen Wirkungshöhepunkt 30-40 Minuten nach der Aufnahme und führt zu einer Minimierung des Myokardinfarkttrisikos. Dies gilt gleichermaßen für Männer und Frauen, sowie Raucher und Nichtraucher. Durch eine Plättchenresistenz kann es bei einigen Patienten jedoch dazu kommen, dass ASS keinerlei Wirkung zeigt. Als Nebenwirkungen können durch die Einnahme von ASS gastrointestinale Blutungen auftreten und es besteht ein erhöhtes Risiko für einen hämorrhagischen Schock (METHA 2002).

Im Falle einer Progredienz der Atherosklerose unter ASS-Therapie oder bei ASS-Unverträglichkeit stellt Clopidogrel, ein ADP-Rezeptor Antagonist, eine wichtige Alternative dar (TISDALE 1998).

2.3.5 Dilatative Kardiomyopathie

Die Kardiomyopathie ist eine Form der Herzmuskelerkrankung und die Hauptursache plötzlicher Todesfällen und fortschreitender Herzinsuffizienz. Man unterscheidet die hyperthrophe, die dilatative und die restriktive Kardiomyopathie. Bei der hyperthropen Kardiomyopathie (HCM) kommt es zu einer linksventrikulären Hyperthrophie mit oder ohne Obstruktion des Ausflußtraktes und einer diastolischen Funktionsstörung der Ventrikel. Sie entsteht hauptsächlich durch Mutationen in den Genen des Sarkomers, die den Kontraktionsapparat des Herzmuskels betreffen (HAYASHI et al. 2004).

Die restriktive Kardiomyopathie (RCM) kann durch periphere Amyloid- oder Kalkeinlagerungen im Rahmen einer Amyloidose entstehen (HAYASHI et al. 2004).

Die dilatative Kardiomyopathie (DCM) ist durch eine Vergrößerung (Dilatation) beider Ventrikel und Ausdünnung der Wände, verbunden mit einer eingeschränkten systolischen Pumpfunktion, charakterisiert (HAYASHI et al. 2004; MOHAPATRA et al. 2003; OMENS et al. 2002).

Sekundär können auch diastolische Dysfunktionen auftreten. Gelegentlich ist die DCM mit rechtsventrikulären Erkrankungen vergesellschaftet. Sie entsteht vorwiegend durch Mutationen des Zytoskeletts, durch die Mutation von Genen, die die Z-Scheibe kodieren und durch die Mutation von Proteinen der Kardiomyozyten (HAYASHI et al. 2004; MOHAPATRA et al. 2003).

Es wird vermutet, dass es sich bei 30 % der Fälle einer DCM um eine familiäre Erkrankung handelt, mit einem meist autosomal dominanten Erbgang. Sonst ist die Erkrankung metabolischer, toxischer oder infektiöser Genese (MOHAPATRA et al. 2003).

Bei 30 % der Patienten liegt eine Mutation der Proteine des Sarkomers, des Cytoskeletts oder der Zell- bzw. Kernmembran vor (GRZEKOWIAK et al. 2003).

Das Muscle Lim Protein (MLP) ist ein Z-Scheiben Protein, das nur im Herz- und Skelettmuskel exprimiert wird. Es verbindet die Aktinfilamente der Z-Scheibe untereinander, reguliert die Differenzierung von Muskelgewebe und gehört in die cystinreiche Proteinfamilie (CRP) (ARBER et al. 1997; ESPOSITO et al. 2000).

MLP ist in der Zelle sowohl im Zellkern als auch im Zytoplasma lokalisiert. Im Zellkern reguliert es die Myogenese und im Cytoplasma den Aufbau des Cytoskeletts. Auch als Kofaktor muskelspezifischer Genregulation im Skelett- und Herzmuskel spielt es eine Rolle (GEIER et al. 2003; LORENZEN-SCHMIDT et al. 2005; MOHAPATRA et al. 2003).

MLP hat außerdem eine zentrale Funktion bei der Organisation der Kardiomyozyten. Mäuse, bei denen das MLP-Gen inaktiviert wurde, entwickeln eine dilatative Kardiomyopathie und sterben im klinischen Bild der schweren Herzinsuffizienz. Schon bei der Geburt ist bei diesen Mäusen histomorphologisch die Zerstörung der Kardiomyozytenarchitektur auffällig. Es zeigt sich eine irreguläre Struktur der Z-Scheibe (ARBER et al. 1997; HAYASHI et al. 2004). Heterozygote Mäuse dieses Stammes haben keinen für diesen Gendefekt erkennbaren Phänotypen. Im Gegensatz dazu weisen die homozygoten Knockouts schon bei Geburt erhebliche Defekte auf. 50-70 % der Homozygoten sterben schon innerhalb der ersten 5 Tage nach der Geburt, ungefähr 10-30 Stunden nachdem die ersten Krankheitssymptome auftreten. Die Homozygoten, die diesen Zeitraum überleben, entwickeln im erwachsenen Alter einen späten Phänotyp (ARBER et al. 1997).

Das Herzgewicht ist bei den Tieren, die den frühen Phänotyp entwickeln, in Relation zum Körpergewicht deutlich erhöht. Das Körpergewicht selbst unterscheidet sich nicht von Mäusen einer Kontrollgruppe. Charakteristisch sind die strukturellen Veränderungen des Sarkomers (CONSTANDI et al. 2006; LORENZEN-SCHMIDT et al. 2005).

Durch geringe mitochondriale Aktivität in den MLP-Knockouts kommt es zu einem Energiedefizit im Myokard. Hinzu kommt, dass auch die Größe der Mitochondrien im Myokard herabgesetzt ist (VAN DEN BOSCH et al. 2005).

Die MLP-Knockout-Linie spiegelt viele morphologische und klinische Phänomene der DCM wieder, wie sie auch beim Menschen auftreten. Mithilfe der Sonographie lässt sich darstellen, dass die Herzen der homozygoten Knockout-Tiere stark verändert sind. Die linke Kammer ist

vergrößert, die Wände sind verdünnt. Die systolische und diastolische Funktion ist beeinträchtigt, die Auswurfraction und die Verkürzungsfraction sind herabgesetzt. Eine andere Möglichkeit, um den Verlauf dieser Krankheit zu untersuchen, stellt neben der sonographischen Untersuchung, die Magnetresonanztomographie dar (ANTOONS et al. 2006; ARBER et al. 1997; CONSTANDI et al. 2006; OMENS et al. 2002).

2.3.5.1 Dilatative Kardiomyopathie beim Tier

Vor allem großwüchsige Rassen wie Dobermänner, Bernhardiner, Doggen, Deutsche Schäferhunde und Irische Wolfshunde weisen eine Prädisposition für eine dilatative Kardiomyopathie auf. Innerhalb der ersten beiden Lebensjahre manifestiert sich diese Erkrankung bei den Tieren, wobei die klinischen Symptome meist plötzlich auftreten. Typische Symptome sind dabei Vorhofflimmern bei gleichzeitiger Zunahme der Vor- und Nachlast. Auskultatorisch lassen sich systolische Herzgeräusche feststellen, welche auf den mangelnden Schluss beider Atrioventrikularklappen hinweisen. Die Tiere zeigen, anfangs nur nach Belastung, später auch in Ruhephasen, Dyspnoe und neigen zur Ödembildung. Pathologisch zeigt sich ein dünnwandiges und ausgeweitetes Herz. Septumständige Endokardfibrosen können im linken Ventrikel auftreten, seltener sind Thromben im linken Vorhof zu finden. Histologisch gehören Faserdegenerationen, kleinfleckige Fibrosen der Ventrikelmuskulatur und Mitochondrienanomalien zu den Hauptbefunden.

Carnitinmangel kann in der Entwicklung einer DCM eine wichtige Rolle spielen. Carnitin ist ein Transportprotein, das für die Synthese von ATP als myozytärer Energieträger verantwortlich ist (DAHME und WEISS 1999).

Aufgrund der verminderten Auswurfleistung entstehen verminderte Flussgeschwindigkeiten in Aorta und der Pulmonalarterie. Durch die veränderten Wandstrukturen bildet sich sekundär eine Atrioventrikularklappeninsuffizienz, die mit der Vergrößerung der Atrien einhergeht. Häufig auftretende Sekundärkrankheiten sind ein Perikarderguß und ein Thoraxerguß (MORISSE 2001).

Bei der Katze zeigen sich nur in 50 % der Fälle eine Dyspnoe und ein systolisches Herzgeräusch. Pathologisch fällt ein so genanntes Kugelherz auf, bei dem alle vier Herzhöhlen stark geweitet sind, und das absolute Herzgewicht erhöht ist. Aufgrund der Herzinsuffizienz entwickeln sich auch hier Stauungssymptome in Leber und Lunge (DAHME und WEISS 1999).

Charakteristisch sind bei der Sonographie die dünnen Ventrikel- und Septumwände, erweiterte Kammern und Vorhöfe und eine verminderte FS. Früher ließen sich fast alle Fälle

bei der Katze auf Taurinmangel zurückführen, aber seit der Substitution von Taurin im Futter kommt die dilatative Kardiomyopathie bei der Katze nur noch selten vor (FLÜCKIGER 2003).

Auch beim Rind wird die DCM beobachtet. Im Vordergrund steht eine Linksherzinsuffizienz. Klinisch zeigen sich pulmonaler Hochdruck, Rechtsherzdilatation und Ödeme aufgrund venöser Stauungen (DAHME und WEISS 1999).

Die DCM kommt ebenso bei den Heimtieren vor. Sie ist die häufigste kardiale Erkrankung beim Frettchen. Auch wenn die Tiere eher dazu neigen die Symptome zu kaschieren, sind erste Anzeichen eine Gewichtsreduktion, verminderter Spieltrieb und schnelle Ermüdung. Auch Dyspnoe, Hinterhandschwäche und verlängerte kapilläre Füllungszeiten können auftreten. Seltener ist der so genannte Herzhusten, der tief und trocken klingt. Im Ultraschall ist die FS herabgesetzt und röntgenologisch fällt eine vergrößerte und abgerundete Herzsilhouette auf. Die Therapie wird mit ACE-Hemmern eingeleitet. Wird Furosemid gegen die Stauungserscheinungen dauerhaft verabreicht, muss Kalium substituiert werden. Das Meerschwein zeigt nur gelegentlich Kardiomyopathien. Treten sie dennoch auf, handelt es sich meist um hypertrophe Formen der Kardiomyopathie. Beim Chinchilla hingegen stehen dilatative Formen im Vordergrund (GÖBEL und EWRINGMANN 2005).

2.3.5.2 Therapie einer dilatativen Kardiomyopathie beim Tier

Aufgrund der Insuffizienz des linken Herzens kommt es zu Stauungen im Lungenkreislauf, was zu respiratorischen Beschwerden mit Husten führt. Der Organismus verfügt über verschiedene Kompensationsmechanismen, um den Anfangsstadien einer Herzinsuffizienz selbst entgegenzuwirken. Eine davon ist die Aktivierung des Sympathikus, wodurch sich, über eine Steigerung der Herzfrequenz und -kontraktilität, das Herzminutenvolumen erhöht. Der erhöhte Sympathikotonus wirkt zudem einem Blutdruckabfall entgegen und begünstigt den venösen Rückstrom des Blutes. Durch den erhöhten Sauerstoffbedarf und die Steigerung der Nachlast wird das Herz aber im Gegenzug auch stark belastet. Eine zweite Möglichkeit des Organismus die Herzinsuffizienz zu kompensieren, ist der Frank-Starling-Mechanismus. Bei steigender Füllung der linken Kammer, kommt es zu einer vermehrten Vordehnung des Myokards und zu einer gesteigerten Kontraktilität. Daraus resultiert eine Erhöhung des Schlagvolumens (SPONER 2002).

Reichen die Kompensationsmöglichkeiten des Organismus nicht mehr aus, ist der Einsatz von Herzmedikamenten indiziert. Das Enzym Renin, das in der Niere gebildet wird, führt dazu, dass aus dem in der Leber gebildeten Angiotensinogen Angiotensin I freigesetzt wird.

Angiotensin I wird nun vom ACE in das Angiotensin II umgewandelt. Dies ist ein potenter Vasokonstriktor und bewirkt außerdem die Freisetzung von Aldosteron aus der Nebenniere. ACE-Hemmer inhibieren nun die Freisetzung von Angiotensin II und den Abbau des endogenen Peptids Bradykinin, welches eine vasodilatatorische Wirkung hat. Es kommt zum Abfall des arteriellen Blutdrucks, zu einem verminderten Tonus arterieller und venöser Gefäße und zu einem verminderten intraglomerulären Druck in der Niere. Daraus resultiert eine Entlastung des Herzens durch die Verminderung der Vor- und Nachlast und eine verbesserte Nierenfunktion (ABRAHAM und UNGEMACH 2006; KERSTEN und MORISSE 2001; SPONER 2002).

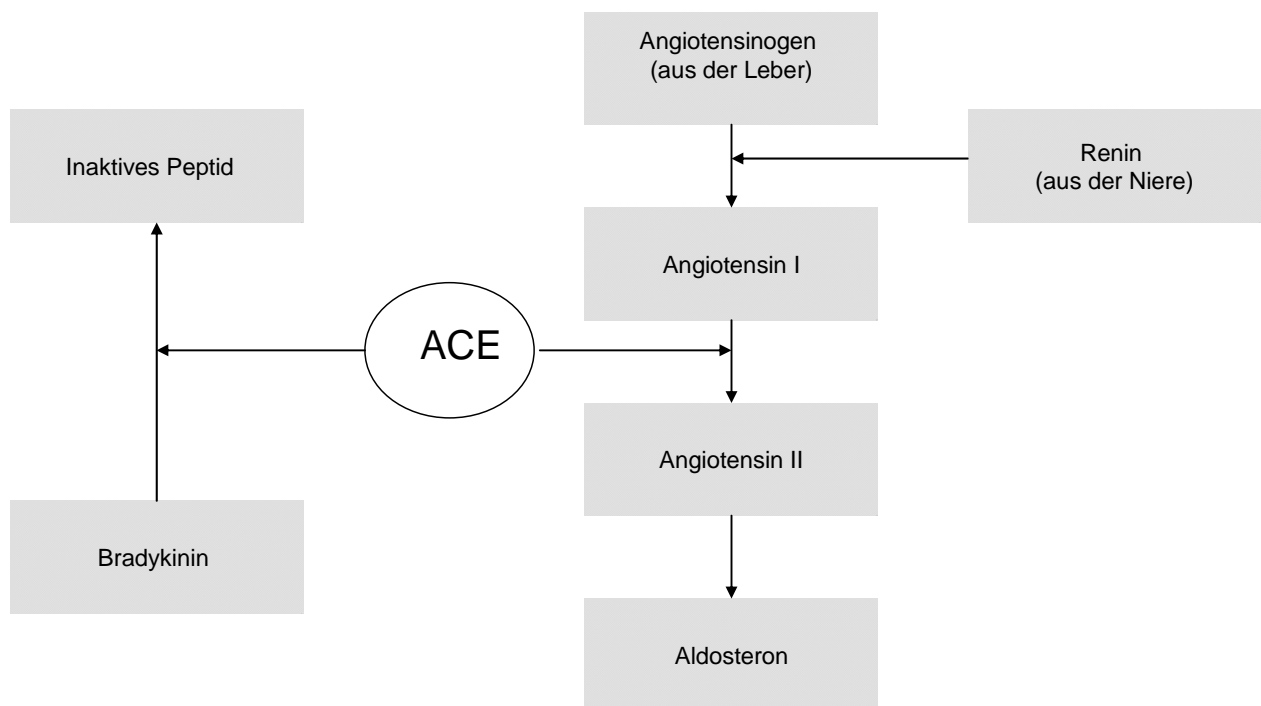


Abbildung 3: Die Rolle des Angiotensin-Converting-Enzyms

ACE-Hemmer sind bei Kardiomyopathien die Mittel der Wahl. Die beim Hund am häufigsten eingesetzte Substanz ist Captopril. Der Wirkstoff hat jedoch nur eine kurze Halbwertszeit und muss daher 3-mal täglich verabreicht werden. Die Halbwertszeiten anderer ACE-Hemmer wie Enalapril, Ramipril oder Beazepiril sind doppelt so lang (ABRAHAM und UNGEMACH 2006; KERSTEN und MORISSE 2001).

Da die dilatative Kardiomyopathie sehr schnell voranschreitet, kann auch schon bei symptomfreien Hunden ein ACE-Hemmer eingesetzt werden. Zeigt sich bereits eine Belastungsschwäche, Dyspnoe, ein schwacher Puls und ein systolisches Herzgeräusch wird ein Diuretikum gemeinsam mit einem ACE-Hemmer verabreicht. Bei schweren

Stauungserscheinungen reicht das Ausschwemmen, das durch eine verbesserte Herzleistung erreicht wird, meist nicht aus. In diesem Fall muss ein Diuretikum verabreicht werden (KERSTEN und MORISSE 2001).

Furosemid und Bumetanid sind Schleifendiuretika, die ihren Ansatzpunkt an der Henle-Schleife haben. Sie lagern sich an die Chlorid-Bindungsstellen an und hemmen den $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ -Cotransport. Kalium wird dabei vermehrt ausgeschieden. Bei einer dekompensierten Herzinsuffizienz werden auch Aldosteronantagonisten wie Spironolacton eingesetzt. Durch den Einsatz der Diuretika wird der diastolische Füllungsdruck und die Vorlast des Herzen gesenkt. Es kommt zu einer Verringerung der Dyspnoe und zu einer Verbesserung der Belastbarkeit und Leistungsfähigkeit (ABRAHAM und UNGEMACH 2006; FREY 2002).

Antiarrhythmika werden eingesetzt, wenn ausgeprägte Rhythmusstörungen vorliegen. Da viele Antiarrhythmika eine negativ inotrope Wirkung haben, würde die bestehende Herzinsuffizienz noch mehr verstärkt. In diesem Fall wird das Antiarrhythmikum gleichzeitig mit einem Herzglykosid verabreicht. Um den richtigen Therapieansatz zu erlangen unterscheidet man die abnormen Reizbildungen (Extrasystolen, Vorhofflimmern) und die Erregungsleitungsstörungen (AV-Block, SA-Block). Bei Reizbildungsstörungen werden Lokalanästhetika, Betablocker oder Ca-Antagonisten eingesetzt. Liegt eine Erregungsleitungsstörung vor, werden hingegen Sympathomimetika bzw. Parasympatholytika eingesetzt (KERSTEN und MORISSE 2001).

2.4 Der Herzinfarkt beim Tier

Der Herzinfarkt spielt beim Tier nur eine untergeordnete Rolle. Die durch Thrombosen hervorgerufene Atherosklerose des Menschen tritt beim Tier nur in Ausnahmefällen auf, hier handelt es sich vielmehr um einen Infarkt, der durch Embolien oder hypertoniebedingte Atherosklerose hervorgerufen wird. Selten kann er aufgrund einer Amyloidose intramuraler Kranzarterienäste entstehen (DAHME und WEISS 1999).

Da der Herzmuskel sehr empfindlich auf eine Hypoxie reagiert, führt der Verschluss eines Herzgefäßes schnell zu einer irreversiblen Schädigung des Gewebes. Anfangs nur histologisch zu diagnostizieren, treten schon nach wenigen Stunden auch makroskopische Veränderungen auf. Die nicht mehr durchbluteten Bereiche erscheinen zunächst grau-rot, später grau-gelb. Mit dem Einsetzen der Resorptionsprozesse entsteht ein hämodynamischer Randsaum. Durch die Bildung des Granulationsgewebes färbt sich der Infarktbereich rötlich.

Im weiteren Verlauf entsteht schließlich ein narbiges Gewebe. Als weitere Komplikationen kann es zu einer Aneurysmenbildung kommen, was zu einer Ruptur der linken Kammerwand führen kann. Die Überlebenschancen eines Tieres hängen von der Lokalisation und Größe des Infarktes ab (DAHME und WEISS 1999).

Zwar kommt es beim Hund verhältnismäßig häufig zu einer Atherosklerose, doch aufgrund des milden Verlaufs selten zu einer klinischen Manifestation. Wenn auch selten diagnostiziert, kommen Herzinfarkte, die durch einen Arterienverschluss der extramuralen Koronararterien entstehen, viel häufiger vor, als vermutet. Eine erhöhte Prävalenz für eine spontane Atherosklerose gibt es bei Zwergschnauzern, Dobermännern, Pinschern, Labradoren, Retrievern, insbesondere bei alten, obesen Rüden (FALK und JONSSON 2000; SUTER 2001).

Beim Pferd tritt eine Lumeneinengung der intramuralen Koronararterien relativ häufig auf. Sie wird meist durch Atherosklerose hervorgerufen und entwickelt sich aufgrund von Stoffwechselstörungen oder auch als Komplikation anderer Krankheiten, die mit einer Intoxikation einhergehen. Begünstigend dafür ist eine übermäßige körperliche Belastung oder voluminöses Futter in großen Mengen. Doch auch hier ist die klinische Relevanz eher gering. Nur in fortgeschrittenen Fällen kommt es zum Anstieg des arteriellen Blutdrucks und zu einer schnellen Ermüdung des Tieres bei körperlicher Belastung (DIEZ und HUSKAMP 1999).

2.5 Myokardiale Ischämie im Mausmodell

2.5.1 Vor- und Nachteile gegenüber anderen Tieren als Modelltiere

Damit sich ein Tier als Versuchstier eignet, muss es technisch erprobt, kostengünstig und transportabel sein (PAIGEN et al. 1995).

Die ersten Versuche, die sich mit einer myokardialen Ischämie beschäftigten, fanden an Hunden statt. Die Versuche dienten dazu, die minimal benötigte Ischämiezeit herauszufinden, in der es am Herzen zu einer Nekrose kommt (JENNINGS et al. 1960), und um die Vergrößerung der Kollateralgefäße bei einem Verschluss zu verdeutlichen (SCHARPER et al. 1971).

HARKEN et al. führten 1981 Versuche am Herzen von Kaninchen, Hunden, Schweinen und Affen durch. Dabei zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Spezies hinsichtlich der Blutversorgung durch Kollateralgefäße. Beim Hund wird trotz Unterbrechung des Blutflusses der Koronararterie eine Blutversorgung bis ins Zentrum des Ischämiegebietes

aufrechterhalten. Die Versorgung durch Kollateralgefäße ist auch beim Kaninchen gut ausgeprägt, allerdings bestehen hier tierartige Unterschiede. Beim Schwein ist die Ausbildung von Kollateralgefäßen eher spärlich. Ratten und Mäuse besitzen hingegen keine Blutversorgung durch Kollateralgefäße nach einer Ischämie (YTREHUS 2000).

Durch die hohen Kosten und den gesellschaftlichen Druck wird der Hund als Versuchstier, an dem auch SHARMA et al. 1992 Versuche durchführten, allmählich immer mehr vom Schwein, der Ratte und dem Kaninchen abgelöst. Aufgrund der einfachen und kostengünstigen Haltung, der schnellen Reproduktion, der Isolation muriner ES Zellen und der genetischen Manipulation des Mäusegenoms, steigt die Bedeutung des Nagers als Versuchstier beständig (VERDOUW et al. 1998; AHN et al. 2004; LIN et al. 1995; DOEVENDANS et al. 1998).

Es stehen viele hundert Inzuchtstämme und Mutanten von Mäusen zur Verfügung und durch Einschleusung bestimmter Gene sind transgene Tiere einfach zu erzeugen (PAIGEN et al. 1995).

Weitere Vorteile der Maus als Versuchstier liegen darin, dass Operationen von einem Operateur durchgeführt werden können, die postischämische Mortalität sehr gering ist, und Mäuse relativ anspruchslos in der postoperativen Pflege sind (ZOLOTAREVA und KOGAN 1978). Die Größe der Maus stellt aber im Gegenzug auch hohe Anforderungen an die Technik und erfordert ein hohes operatives Geschick der durchführenden Person (PATTEN et al. 1998; SALTO-TELLEZ et al. 2004).

2.5.2 Die Anatomie des Mäuseherzens

Das Herz, lateinisch: Cor, ist das Zentralorgan des Körpers. Wie eine Druck- und Saugpumpe befördert es das Blut durch rhythmische Kontraktionen über die Blutgefäße zu seinem Bestimmungsort. Die Wand des Herzens gliedert sich in drei Schichten: in einen äußeren Perikardsack, das Arbeitsmyokard und das Endokard. Man unterscheidet einen rechten venösen und einen linken arteriellen Teil. Beide bestehen aus einem Vorhof, Atrium cordis, und einer Kammer, Ventriculus cordis. Aus dem rechten Ventrikel wird das Blut über den Truncus pulmonalis in das Niederdrucksystem der Pulmonalstrombahn und aus dem linken Ventrikel über die Aorta in das Hochdrucksystem des Organismus gepumpt. Über die V. cava cranialis/caudalis, die V. azygos dextra/sinistra und den Sinus coronarius gelangt das venöse Blut in den rechten Vorhof. Nach Arterialisierung in der Lunge wird sauerstoffreiches Blut über die Vv. Pulmonales dem linken Vorhof zugeführt. Das Herz der Säugetiere passt sich seiner Stellung im Brustkorb an. Im Gegensatz zum Menschen, der einen tonnenförmigen

Brustkorb besitzt, ist das Herz der Säugetiere 90 ° um seine Längsachse nach links gedreht (SCHUMMER und HABERMEHL 1984).

2.5.3 Die Koronargefäße der Maus

Das Mäuseherz wird von zwei Koronararterien versorgt, die als erste Gefäße aus der Aorta entspringen. Die linke Koronararterie der Maus entspringt im Aortensinus und läuft entlang der linken Herzseite bis zur Herzspitze. Ihre Länge ist variabel und beträgt mehrere Millimeter. Ihr Durchmesser beträgt im Schnitt 0,16 mm. Sie kann alleine verlaufen oder auf ihrem Weg bis zu vier Äste abgeben. Die rechte Koronararterie teilt sich kurz nach ihrem Ursprung in zwei Äste. Der eine Ast folgt der rechten Seite des Herzens, um den rechten Ventrikel zu versorgen. Der zweite Seitenast ist eine kräftige Septalarterie, die das Kammerseptum vaskularisiert. Bei den meisten Mäusen wird die Herzspitze von der linken Koronararterie versorgt, bei einem kleinen Anteil übernimmt die rechte Koronararterie diese Aufgabe oder unterstützt die Linke (ICARDO et al. 2001).

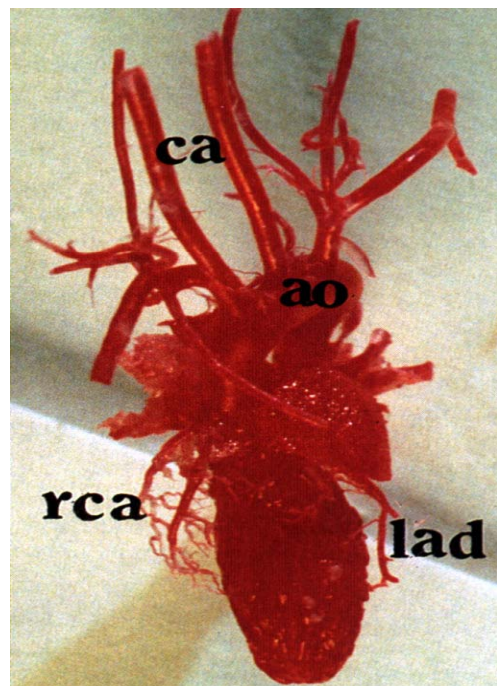
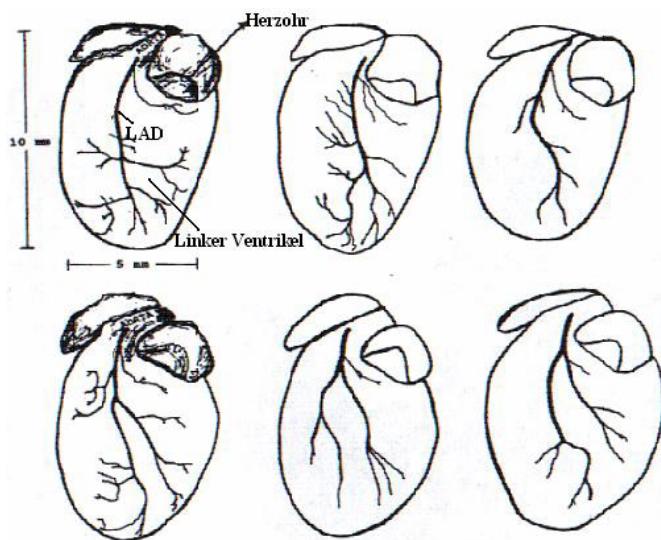


Abbildung 4: Links: Verlauf der linken Koronararterie (LAD, left anterior descendens) mit unterschiedlichen Bifurkationstypen am Mäuseherzen, Aufsicht aus chirurgischer Sicht auf den linken Ventrikel mit Herzohren; Rechts: Photographie eines Herzausgusses des arteriellen Systems und der Koronararterien der Maus; rca: rechte Koronararterie, die sich in zwei Gefäße aufteilt nach dem Verlassen der Aortenwurzel; lad: linke Koronararterie; ao: Aortenbogen; ca: A.carotis (nach Michael et al. 1995)

Im Gegensatz zur Maus existiert beim Menschen kein gesonderter Seitenast, der aus dem rechten Koronarsystem entspringt. Die Versorgung des Septums wird von der linken Koronararterie übernommen. Auch laufen die Gefäße der Maus intramyokardial und die des Menschen subepicardial. Im Myokard bilden die Gefäße ein Netzwerk, das mit dem venösen System über kardiale Kapillaren in Verbindung steht (ICARDO et al. 2001; AHN et al. 2004; DOEVENDANS et al. 1998).

SALTO-TELLEZ et al. fanden 2004 in einer Studie an Mäusen (C57BL/6) heraus, dass sich bei unterschiedlichen Mausstämmen eine variable Koronaranatomie zeigt. Die Septalarterie entspringt bei 55 % aus der Arteria coronaria dextra, bei 30 % aus der Arteria coronaria sinistra und bei 10 % der Mäuse aus den beiden Arterien.

Verschiedene Aufteilungsmuster der linken Koronararterie werden auch von MICHAEL et al. 1995 dokumentiert. Sie beschreiben zudem einen kleinen oder rudimentären Ramus circumflexus, der bei dem Großteil der Mäuse zu finden ist und aus der linken Koronararterie abzweigt. Aus dieser divergenten Koronaranatomie zwischen Maus und Mensch ergeben sich auch funktionelle Unterschiede für die Versorgungsgebiete (SALTO-TELLEZ et al. 2004).

2.5.4 Die Koronargefäße des Menschen

Die linke Koronararterie des Menschen teilt sich in einen Ramus interventricularis anterior (englisch: left anterior descending coronary artery = LAD) und in einen Ramus circumflexus (left circumflex coronary artery = LCX). Der Ramus interventricularis anterior zieht im gleichnamigen Sulcus bis zur Herzspitze und versorgt die tiefen Muskelschichten beider Ventrikel, die Pappilarmuskeln und apikale Teile des Septums. Der Ramus circumflexus verläuft im Sulcus coronarius und gibt dabei Äste zur Versorgung an den linken Vorhof und den linken Ventrikel ab (McALPINE 1975; TÖNDURI 1981).

Aus dem linken Koronarsystem entspringen zusätzlich die Septaläste zur Versorgung des interventrikulären Systems und die Diagonaläste, die die Vorderseitenwand des linken Ventrikels versorgen (BAPTISTA et al. 1991).

Aus der rechten Koronararterie (englisch: right coronary artery = RCA) entspringen auf der dorsalen Herzfläche 2 Äste. Der Hauptast zieht in den Sulcus interventricularis posterior und gelangt als Ramus interventricularis posterior fast bis zur Herzspitze, der kleinere Ramus posterolateralis dexter folgt weiter dem Sulcus coronarius (McALPINE 1975; TÖNDURI 1981).

2.6 Echokardiographie bei der Maus

Die Ligation der linken Koronararterie ist eine der am meist verbreiteten Methoden, um einen myokardialen Infarkt im Mäuseherzen zu induzieren. Die Echokardiographie dient anschließend dazu, den gesetzten Infarkt zu untersuchen und zu beurteilen. Sie nutzt die Interaktion der Schallwellen mit lebenden Geweben und erzeugt Bilder von diesen. Die diagnostischen Ultraschallwellen bewegen sich in einem Frequenzbereich von 2-15 MHz. Die Vorteile des Ultraschalls liegen in der Nichtinvasivität der Untersuchungsmethode, der Transportabilität des Gerätes, der Sicherheit und der ökonomischen Durchführbarkeit (COATNEY 2001).

Die Echokardiographie dient dazu, Herzanatomie, -größe und -funktion zu beurteilen (GARDIN et al. 1995; SUEHIRO et al. 2001). Sie bietet eine valide, nichtinvasive Möglichkeit, reproduzierbare Werte zu erlangen und die Veränderung der Verkürzungsfraction des linken Ventrikels zu bestimmen. Diese liegt bei einer gesunden Maus bei ca 57 % (GARDIN et al. 1995; SCHERER-CROSBIE et al. 1999).

Aufgrund der kleinen Größe des Mäuseherzens, mit einem Gewicht von 150-180 mg, und der hohen Herzfrequenz von durchschnittlich 600 Schlägen pro Minute, stoßen die Messungen jedoch an ihre Grenzen (GARDIN et al. 1995; SUEHIRO et al. 2001; DOEVENDANS et al. 1998).

Um verlässliche Werte zu erhalten, sollte der Untersucher gut trainiert sein. Ein weiterer Nachteil besteht darin, dass, im Gegensatz zum Menschen, die Mäuse für diesen Eingriff in Narkose gelegt werden müssen, was einen deutlichen Effekt auf die Herzfrequenz besitzt (COATNEY 2001). Durch die Verwendung einer Ketamin-Xylazin Narkose kann dieser Einfluss allerdings gering gehalten werden. Die Herzfrequenz wird durch eine Narkose von Werten im Wachzustand zwischen 450-600 auf 258-264 Schläge pro Minute gesenkt (TANAKA et al. 1996).

Das verwendete Equipment bei der Echokardiographie von Mäusen bringt häufig auch Limitationen mit sich. Das Herz liegt ungefähr 10 mm unterhalb der Körperoberfläche – für viele Schalköpfe eine zu geringe Distanz (FINSEN et al. 2004).

2.6.1 Physikalisch-technische Grundlagen der Echokardiographie

Die Ultraschallwellen, die in der Medizin eingesetzt werden, liegen zwischen einem und 10 MHz. Ultraschallwellen des Sonographie-Gerätes werden mit so genannten piezoelektrischen Kristallen erzeugt. Piezoelektrische Kristalle schwingen unter Anlage einer entsprechenden Wechselspannung und geben damit die Ultraschallwellen ab. Diese werden schematisch als

Sinusschwingungen dargestellt. Beim Anlegen des Schallkopfes an eine Körperoberfläche breiten sich die ausgesendeten Schallwellen im Körper aus. Dabei können sie verschiedene Gewebe unterschiedlich gut durchdringen, was als akustische Impedanz bezeichnet wird. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Schallwellen beträgt im Durchschnitt im Knochen 4.000 m/s, im Weichteilgewebe 1.540 m/s und in der Luft 330 m/s. Treffen Schallwellen auf eine Grenzfläche zwischen zwei Geweben mit unterschiedlicher akustischer Impedanz, so wird ein Teil des Schalls reflektiert. Je nach Impedanzunterschied werden mehr oder weniger Schallwellen reflektiert und somit dringen mehr oder weniger Wellen in das Gewebe ein. Bei der Grenzfläche zwischen Weichteil und Knochen oder Weichteil und Luft werden die meisten Wellen reflektiert und nur noch vereinzelte Schallwellen dringen in die Tiefe. Die Stärke eines Echos ist also abhängig von der Größe des Impedanzwechsels an der Grenzfläche. Je tiefer die Schallwelle in ein Gewebe eindringt, umso mehr wird sie durch Reflektion, Streuung und Absorption abgeschwächt. Der Schallkopf, der die Wellen aussendet, empfängt sie schließlich auch wieder. Er dient somit als Sender und Empfänger. Die Echos werden in elektrische Signale umgewandelt und auf dem angeschlossenen Bildschirm sichtbar (BARR 1992).

Der B-Mode ist ein zweidimensionales Bildgebungsverfahren. Schwache Echos aus dem Inneren eines Organs und starke Echos von dessen Abgrenzungen werden durch unterschiedliche Helligkeitsstufen wiedergegeben (KÖHLER 2001; POULSEN NAUTRUP 2001).

Im M-Mode trifft ein einzelner Ultraschallstrahl auf einen ausgewählten Bereich eines Gewebes. Er eignet sich besonders gut für die Kardiologie um die Bewegung der Herzklappen und der Herzmuskelwände darzustellen und um Kammerdiameter zu messen (BARR 2001; KÖHLER 2001).

2.7 Die Magnetresonanztomographie

2.7.1 Die Geschichte der Magnetresonanztomographie

Das Prinzip der Magnetresonanztomographie (MRT), auch Kernspintomographie, nuklearmagnetische Resonanz (NMR) oder englisch Magnet Resonance Imaging (MRI) genannt, ist schon seit vielen Jahren bekannt. Im Jahre 1946 fanden Felix Bloch und Edward Purcell unabhängig voneinander heraus, dass Atomkerne, die sich in einem externen Magnetfeld befinden, bei der Einstrahlung elektromagnetischer Energie geeigneter

Wellenlänge diese absorbieren und ein Resonanzsignal aussenden können. Beide Forscher erhielten dafür 1952 den Nobelpreis für Physik. Johns gelang es als erstes 1967 MRT-Signale von lebenden Tieren zu messen. Diese Signale wandelte Laubur 1973 in Bilder um. 1976 konnte Damadian erstmals ein Malignom bei einer lebenden Maus darstellen und 1977 die erste in vivo Thoraxuntersuchung am Menschen durchführen. Seit 1983 werden MR-Tomographen industriell vertrieben (SEIDERER 1990, DENNIS 1996).

2.7.2 Physikalische und technische Grundlagen der MRT

Im folgenden Kapitel werden die Grundlagen der MRT erläutert. Die Informationen dazu sind aus HOMBACH; GREBE; BOTNAR (2004) entnommen.

Zur Magnetresonanz-Bildgebung wird in der Medizin das Resonanzsignal des Wasserstoffkerns genutzt, welcher in Gewebwasser und Fett reichlich enthalten ist. Sein Kern besteht aus nur einem Teilchen, dem positiv geladenen Proton, das durch Eigenrotation (dem so genannten Spin) ein Magnetfeld erzeugt.

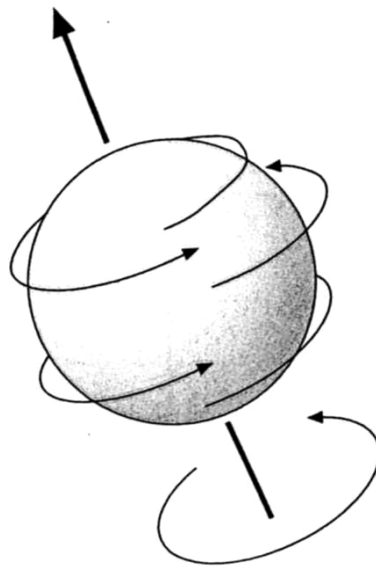


Abbildung 5: Der Kernspin als Drehimpuls des Atomkerns um seine Achse

(HOMBACH; GREBE; BOTNAR 2004)

In biologischem Gewebe sind die magnetischen Momente isotrop verteilt. Wird ein äußeres Magnetfeld angelegt, rotieren die Spins (magnetisches Moment) um die Achse des äußeren Magnetfeldes, was als Präzessionsbewegung bezeichnet wird (CHATHAM und BLACKBAND 2001; HOMBACH; GREBE; BOTNAR 2004; KRISHNA et al. 2001).

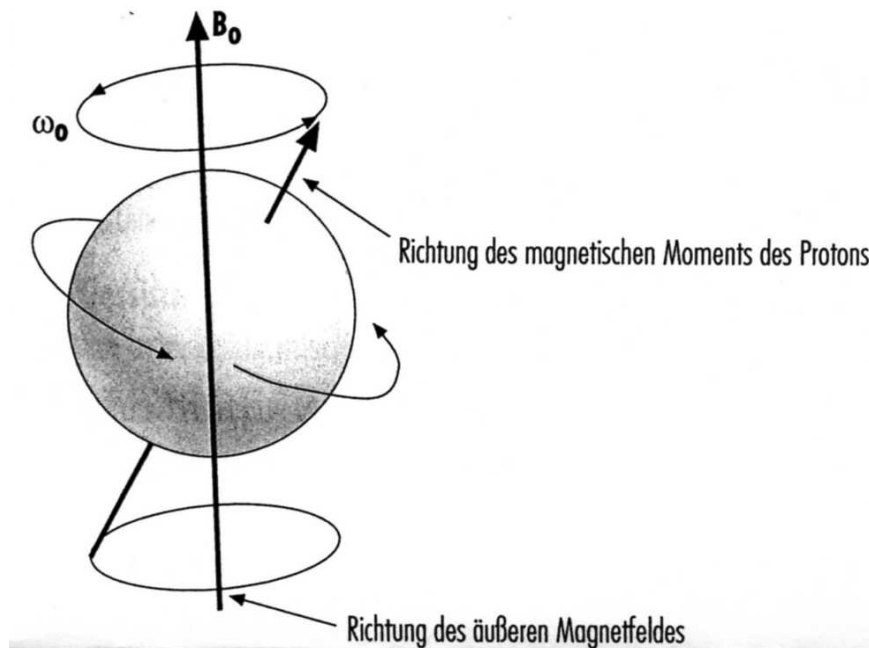


Abbildung 6: Die Präzession des Spins im äusseren Magnetfeld
(HOMBACH; GREBE; BOTNAR 2004)

Die Kreisfrequenz der Präzessionsbewegung wird als Larmorfrequenz bezeichnet. Sie ist proportional zur Stärke B_0 des Magnetfeldes. Die Magnetfelder der Protonenspins sind in der Mehrzahl parallel zum Hauptmagnetfeld B_0 ausgerichtet und addieren sich somit zur Nettomagnetisierung M_z (longitudinale Magnetisierung). Diese rotiert, wie jedes einzelne magnetische Moment, um die Achse des Hauptmagnetfeldes. Die Größe der Nettomagnetisierung hängt von der Stärke des Magnetfeldes und von der Spindichte des jeweiligen Gewebes ab. Das äußere Magnetfeld wird durch einen supraleitenden Magneten erzeugt, in dessen Öffnung ($\varnothing \sim 60\text{cm}$) ein Patient gelegt werden kann. Die Magnetfeldstärke eines klinischen MRTs ist typischerweise 1.5 T und bei Hochfeldgeräten 3 T. Durch Einstrahlung eines Hochfrequenz (HF)-Pulses wird die Magnetisierung um einen bestimmten Winkel ausgelenkt. Die Einstrahlung der Hochfrequenz erfolgt z.B. über eine einfache Drahtschleife oder die Ganzkörper Sende- und Empfangshochfrequenzspule. Auf diese Weise wird dem Körper, d.h. den Protonen, Energie zugefügt. Je nach Dauer bzw. Amplitude des HF-Impulses wird die Magnetisierung um einen bestimmten Winkel aus ihrer ursprünglichen Lage gedreht. Die Transversalmagnetisierung, die durch den HF-Impuls hervorgerufen wird, erzeugt durch die Präzessionsbewegung um das Hauptmagnetfeld ein magnetisches Wechselfeld, das in der Empfangsspule, die senkrecht zur Hauptmagnetfeldachse angeordnet ist, ein messbares Signal erzeugt. Dies ist das MR-Signal.

Direkt auf die Anregung der Wasserstoffkerne folgt die Relaxation. Hier kehrt die Magnetisierung wieder in ihre Ausgangslage zurück. Der Zerfall des Signals wird durch die T1 (Spin-Gitter Wechselwirkung) und T2 (Spin-Spin-Wechselwirkung) Relaxationszeiten bestimmt. Die longitudinale Relaxationszeit T1 und die transversale Relaxationszeit T2 sind voneinander unabhängig und laufen gleichzeitig ab. Durch kleine Inhomogenitäten des Magnetfeldes, die durch Wechselwirkungen der Spins untereinander (T2) während der Resonanz- und Relaxationsvorgänge entstehen, nimmt das Signal ab. Da die Larmor-Frequenz proportional zum Magnetfeld ist, ist diese durch die Inhomogenitäten nicht mehr überall gleich groß. Durch diese Unterschiede kommt es zu einer Auffächerung der Transversalkomponente, der so genannten Dephasierung. Zusätzlich zur T2-Relaxation wird das Magnetfeld durch jede kleinste Inhomogenität dephasiert, was zu einer zusätzlichen Dephasierung der Transversalmagnetisierung führt. Wird dies mitberücksichtigt, spricht man von der T2*-Relaxationszeit. Vor allem an Grenzflächen, wie z.B. zwischen Gewebe und Luft, treten solche Inhomogenitäten auf, da verschiedene Gewebe eine unterschiedliche Magnetisierbarkeit besitzen.

Durch eingestrahlte Energie werden die Kerne in einen energiereicheren Zustand versetzt. Um nun wieder in einen energieärmeren, dafür aber stabileren Zustand zu gelangen, muss die aufgenommene Energie wieder abgegeben werden. Diese Energieabgabe wird als Relaxation bezeichnet. Bei der T1-Relaxation, auch Spin-Gitter-Relaxation genannt, richten sich die Spins wieder in Longitudinalrichtung, d.h. parallel zum äußeren Magnetfeld, aus. Die freiwerdende Energie wird an die Umgebung abgegeben.

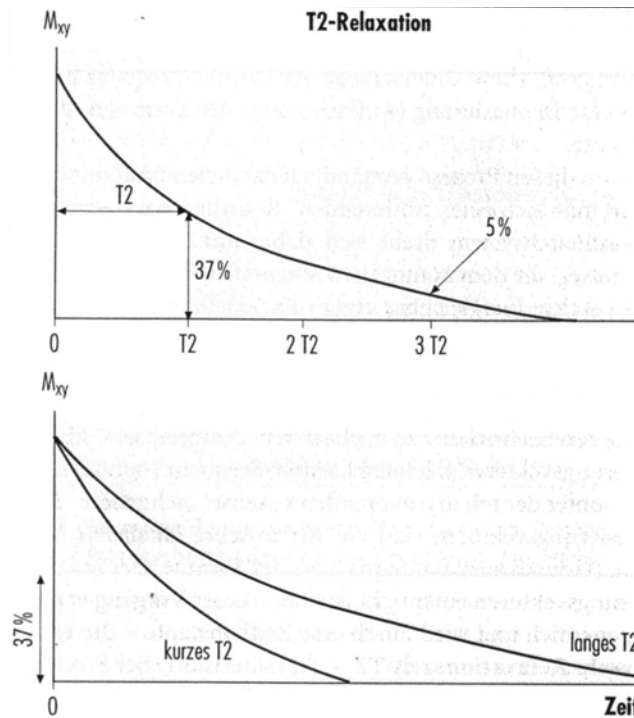


Abbildung 7: Die transversale oder T2-Relaxation eines Gewebes ist definiert als der Zeitpunkt, an dem 63 % aller Spins in der Transversalebene dephasiert sind.

(HOMBACH; GREBE; BOTNAR 2004)

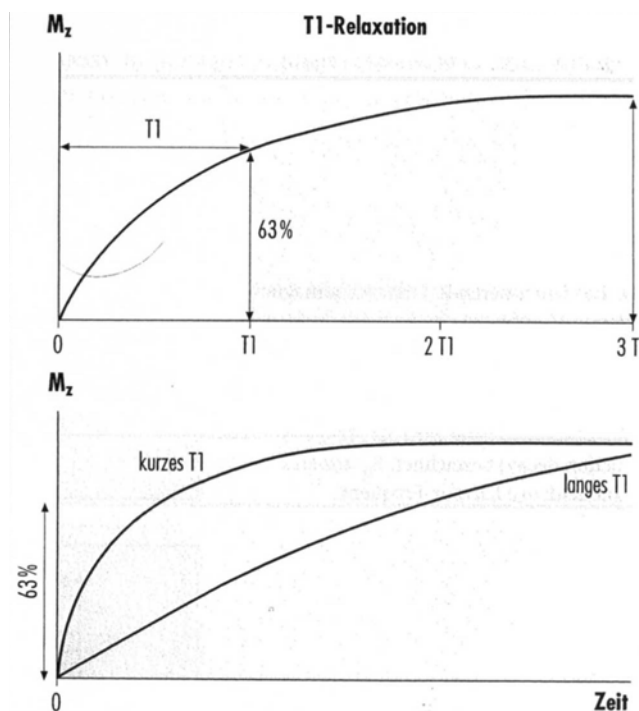


Abbildung 8: Die longitudinale oder T1-Relaxation eines Gewebes definiert sich als die Zeit, in der 63 % der T1-Relaxation des Gewebes abgelaufen sind.

(HOMBACH; GREBE; BOTNAR 2004)

Mithilfe der Spinechos kann die entstandene T2*-Dephasierung der Transversalmagnetisierung wieder rückgängig gemacht werden. In einem definierten zeitlichen Abstand T wird dazu nach der Anregung ein 180° Impuls eingestrahlt. Die Magnetisierungsvektoren laufen nach der Zeit $2 \times T$ wieder zusammen und bilden das Spinechosignal (HOMBACH; GREBE; BOTNAR 2004).

Um ein Bild erzeugen zu können, müssen die MRT-Signale räumlich zugeordnet werden.

Zusätzlich zum statischen Magnetfeld werden räumlich und zeitlich variable Magnetfelder angelegt. Diese Gradientenfelder werden durch die Gradientenspulen erzeugt, die in drei Richtungen senkrecht aufeinander stehen. Dadurch kann eine kurzzeitige, lineare Änderung des Magnetfeldes in eine beliebige Richtung erreicht werden. Während der HF-Impuls mit einer bestimmten Trägerfrequenz und Bandbreite gesendet wird, schaltet man gleichzeitig einen Gradienten ein. Dadurch wird es möglich, eine Schicht (Trägerfrequenz) mit einer wohl definierten Schichtdicke (Bandbreite) zu selektieren. Zum Kopf des Patienten hin wird dadurch das Gesamtmagnetfeld, und damit auch die Larmor-Frequenz, z.B. größer und zu den Füßen hin kleiner. Der HF-Impuls hat allerdings nur dort eine Wirkung, wo die Trägerfrequenz des HF-Pulses der nun ortsabhängigen Larmor-Frequenz entspricht. Für die 3D-Berechnung eines Bildes benötigt man zusätzliche Messungen mit unterschiedlicher Stärke des Gradienten in Schichtrichtung. Die zusätzliche Anzahl der Messungen entspricht der Anzahl der Schichten (CHATHAM und BLACKBAND 2001; HOMBACH; GREBE; BOTNAR 2004; KRISHNA et al. 2001).

Neben dem Signal der angeregten Wasserstoffkerne empfängt man auch Störsignale, das Rauschen. Die Hauptursache des Rauschens sind die bewegten Ladungsträger im Körper. Sie erzeugen elektromagnetische Felder, die das Signal überlagern. Aber auch in den Empfangsspulen und der Empfangselektronik werden Störsignale erzeugt. Das Verhältnis vom Signal zum Rauschen wird als Signal-zu-Rausch-Verhältnis (signal-to-noise-ratio = SNR) bezeichnet. Die Vergrößerung der Schichtdicke führt z.B. zur Verbesserung der SNR, allerdings verschlechtert sich gleichzeitig die Auflösung (SCHNACKENBURG 2004).

Um die Bewegungsartefakte zu unterdrücken, muss die EKG-Triggerung optimal sein. Sie dient der Synchronisierung der Datenaufnahme mit dem Herzschlag. Durch variable Frequenzfilter kann jedes Gerät für verschiedene Spezies mit unterschiedlichster Herzfrequenz modifiziert werden. Entscheidend ist es, aus dem EKG-Signal einen ausreichend großen QRS-Komplex herauszufiltern, auf den verlässlich getriggert werden kann. Artefakte, die aufgrund der Atembewegung oder Gradienteneinkopplung entstehen müssen dabei so gut wie möglich eliminiert werden (HOMBACH; GREBE; BOTNAR 2004).

Bei der Untersuchung von Mäusen im MRT werden aufgrund der geringen Herzgröße und hohen Herzfrequenz hohe technische Anforderungen an das Gerät gestellt (WIESMANN und HASE 2004).

2.7.3 Die Bedeutung der MRT in der medizinischen Diagnostik

Die Magnetresonanztomographie dient der Darstellung innerer Organe und Gewebe und darüber hinaus der Differenzierung zwischen normalem und pathologisch verändertem Gewebe. Wie auch beim Ultraschall oder der Positronen Emissions Tomographie verschafft die MRT eine detaillierte anatomische Darstellung auch von kleineren Tieren, wie z.B. der Maus. Nicht nur einfache Gewebe, sondern auch funktionelle und physiologische Prozesse, wie z.B. der Herzschlag oder der Blutfluss, sind mit räumlichen Bildern darstellbar. Diese Untersuchungsmethode ist nicht invasiv und nicht destruktiv (CHATHAM und BLACKBAND 2001; KRISHNA et al. 2001).

Vorteile, die das MRT bietet, sind die fehlende Strahlenbelastung, die freie Wahl der Schnittbildebene und somit eine große Flexibilität der Untersuchungsregionen, Organen oder Geweben und eine Vermeidung der Nierenbelastung durch nephrotoxische Kontrastmittel. Die Untersuchungen lassen sich daher beliebig oft wiederholen. Nachteile liegen in der intrinsischen Limitierung der Auflösung durch die Stärke des Hauptmagnetfelds und der Gradienten und die Komplexität der Methode. Ebenso stellen Gegenstände, die durch das Gerät angezogen werden, eine potentielle Gefahr dar (CHATHAM und BLACKBAND 2001).

Mittlerweile ist das MRT für die Messung von funktionalen und metabolischen Parametern des Herzens zum Mittel der Wahl geworden. Bei der Darstellung muss der Herzzyklus und die Bewegung des Herzens berücksichtigt werden. Die Kardio-MRT ist daher auf eine zuverlässige Detektion der R-Zacke des EKGs angewiesen. Nur so kann garantiert werden, dass die einzelnen Herzphasen exakt synchronisiert und die Daten anschließend miteinander vergleichbar sind. Die Schwierigkeit der Synchronisation der MRT mit dem EKG entsteht durch die Physiologie der Maus. Sie hat eine schwach ausgeprägte EKG-Amplitude, eine schnelle Herzfrequenz und zusätzlich treten durch die Atmung Artefakte auf (ABI-ABDALLAH et al. 2006; FRANCO et al. 1998; HIBA et al. 2006).

Treten Arrhythmien im Herzzyklus auf, kann es zu Problemen bei der Synchronisation der diastolischen Herzphasen kommen. Dies kann durch einen Arrhythmieunterdrückungsmechanismus minimiert werden. Werden retrospektiv getriggerte Aufnahmen durchgeführt,

kann die gesamte Diastole gemessen werden. Bei prospektiver Triggerung kann die Diastole nur unvollständig (nur ~90 % des Herzzyklus) aufgenommen werden (ROSS et al. 2002).

Im Gegensatz zum Menschen hat die Maus kürzere kardiale Zyklen und eine kleinere Herzdimension. Anästhesierte Mäuse haben aber im Gegensatz zu wachen weniger als 30 Atemzüge pro Minute, was den Einfluss der Atmung auf die Messungen reduziert (BISHOP et al. 2006).

KOBER et al. fanden 2004 heraus, dass eine Narkose durch Ketamin und Xylazin, verglichen mit einer Isoflurannarkose, die Herzfrequenz, die Auswurfleistung und die Wanddicke des Herzens der Maus reduziert. Im Gegensatz dazu steigen bei dieser Anästhesie das Schlagvolumen und das enddiastolische Volumen an. Keine Unterschiede gibt es bezüglich der Auswurffraktion und der systolischen Wanddicke im Vergleich der beiden Anästhesieformen. Die Herzfrequenz wird hingegen nicht von dem Narkosemittel, sondern vielmehr von der Körpertemperatur des Tieres, beeinflusst (HEIJMANN et al. 2004; KOBER et al. 2004; ZHOU et al. 2003).

Aufgrund des ventrikulären Blutflusses kann der Kontrast zwischen Blut und Myokard angehoben werden und sorgt für eine gute Abgrenzung zwischen Endokard und dem Ventrikel. Ein schlechtes EKG erschwert die Abgrenzung des Endokards und damit auch die Auswertung (ARAI et al. 2005).

Im Gegensatz zum Ultraschall ist die Magnetresonanztomographie nicht untersucherabhängig. Auch durch anatomische Besonderheiten oder Größenverhältnisse entstehen keinerlei Probleme. Häufig werden bei myokardialen Erkrankungen die Ejektionsfraktion und die Verkürzungsfraktion des Herzens mittels Ultraschall gemessen. Im Gegensatz zum MRT können mit dieser Untersuchungsmethode kleinste Dysfunktionen des Herzens nicht detektiert werden (GREVE et al. 2006; NAHRENDORF et al. 2006; ZHOU et al. 2003).

Mit dem MRT ist es möglich, myokardiale Abmessungen, Wanddicken, enddiastolische und systolische Volumina und die Auswurffraktion zu messen (HEIJMANN et al. 2004; ROSS et al. 2002).

In einer Untersuchung an Mäusen mit einem Myokardinfarkt zeigten ROSS et al. im MRT, dass die Auswurffraktion dieser Tiere einen Tag nach der OP um die Hälfte herabgesetzt ist. Endsystolisches und enddiastolisches Volumen steigen im Gegenzug um ein Dreifaches an. Die Veränderungen der Herzfunktion bleiben über einen Zeitraum von 6 Monaten bestehen. Zwischen dem infarzierten Anteil des Myokards und der Auswurffraktion besteht eine negative Korrelation (HU et al. 2004; ROSS et al. 2002).

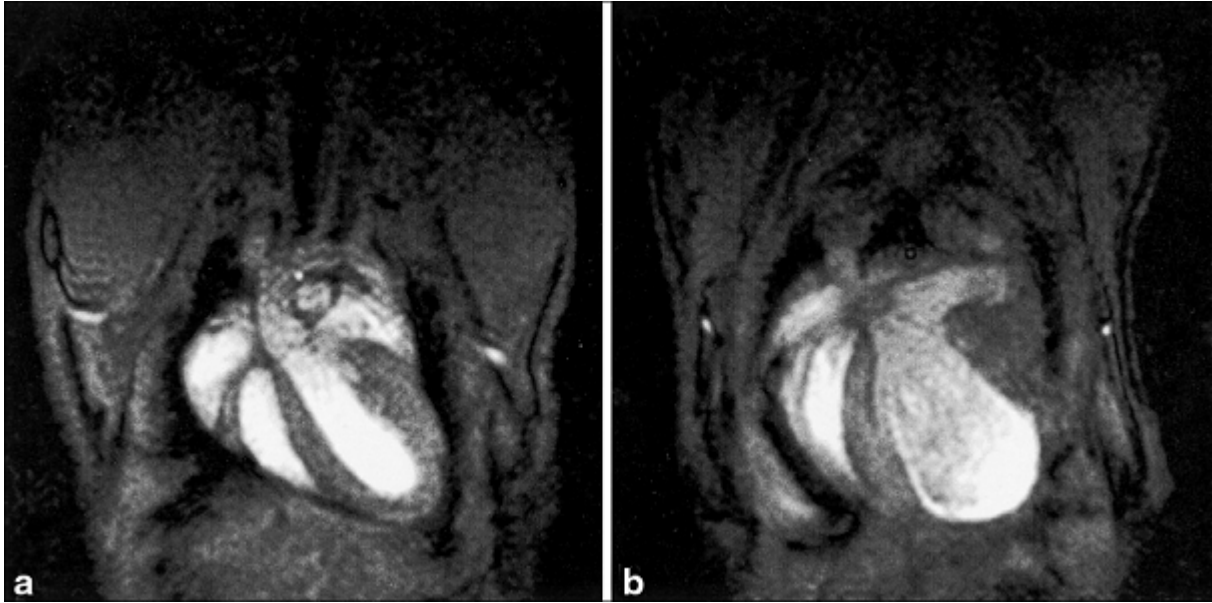


Abbildung 9: Längsachsenaufnahme von Mäuseherzen im MRT (a) vor und (b) 28 Tage nach einem Myokardinfarkt

(ROSS et al. 2002)

Auch Yang et al. zeigten 2004, dass das MRT in der Lage ist, die Infarktgröße bei Mäusen zu bestimmen.

Mit Hilfe der MRT-Technik sind sowohl der Myokardinfarkt als auch transplantierten Zellen, nach spezifischer Markierung, darstellbar. So können z.B. transplantierte embryonale Stammzellen, die das Potential haben verletztes Myokard zu regenerieren, nachgewiesen werden (ARAI et al. 2005; KUSTERMANN et al. 2005).

Um den Krankheitsverlauf von MLP-Knockout-Mäusen zu untersuchen eignet sich die MRT besonders gut, da die Messungen wesentlich genauer sind, als es die Sonographie ermöglicht (CONSTANDI et al. 2006; WILDING et al. 2004).

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Zielvorstellung

Das Ziel der Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit ist es, die Ejektionsfraktion (EF) mittels MRT in unterschiedlichen Modellen der Herzinsuffizienz in der Maus zu quantifizieren. Die erhobenen Daten werden zu den Ergebnissen der Echokardiographie, die als Standardmethode angesetzt wird, in Vergleich gesetzt.

Als erstes Modell dient das Ischämie/Reperusionsmodell. Zur Induzierung des Myokardinfarktes wird die linke Koronararterie für einen Zeitraum von 30 Minuten ligiert und anschließend reperfundiert. In einer zweiten Gruppe wird eine Dauerokklusion vorgenommen, die über einen Zeitraum von 10 Tagen bestehen bleibt. Die dritte Gruppe besteht aus gesunden Mäusen, die zur Kontrolle im MRT untersucht werden. Eine weitere Gruppe setzt sich aus MLP-Knockout-Mäusen zusammen. Diese MLP-Mäuse zeigen Krankheitssymptome der dilatativen Kardiomyopathie.

Zur magnetresonanztomographischen Untersuchung wird ein klinischer 1,5 Tesla Scanner verwendet. Um die linksventrikuläre Funktion in vivo beurteilen und mit den MRT Ergebnissen vergleichen zu können, wird eine Echokardiographie vor und nach der Operation durchgeführt.

3.2 Material und Methoden

3.2.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Die Versuche werden an weiblichen Mäusen des Stammes CD-1 durchgeführt. Die Mäuse werden zur Eingewöhnung eine Woche vor dem ersten Eingriff eingestallt und in der präoperativen Phase in Gruppen von bis zu sechs Tieren in Makrolonkäfigen (Typ 3) gehalten. Die Raumtemperaturen liegen zwischen 20 und 23 °C und die relative Luftfeuchtigkeit beträgt 50 bis 60 %. Die Einstreu der Käfige besteht aus entstaubtem und entkeimtem Weichholzgranulat (Faser, Fa. Altromin, Lage). Wasser (autoklaviertes Trinkwasser, Wechsel der Tränkeflaschen 2-mal wöchentlich) und Futter (autoklaviertes Mäusefutter, Fa. Altromin, Lage) stehen den Tieren ad libitum zu Verfügung. Die Lichtanlagen sind einem künstlichen Tag-Nacht-Rhythmus im zwölfstündigen Intervall unterworfen, mit einer Beleuchtungsstärke von 50 bis 100 Lux im Käfig in der Lichtphase. Die Unterbringung, Operation und Organentnahme erfolgt in Räumen des Instituts für experimentelle Onkologie und Therapieforschung der Technischen Universität München.

Die tierexperimentelle Studie wurde gemäß § 8 Absatz 1 des Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Oberbayern genehmigt.

3.2.2 Versuchsablauf

Der einzelne Versuch dauert 10 Tage. Die Mäuse werden dazu in zwei Gruppen von jeweils 12 Tieren (Gruppe A und B) und eine Kontrollgruppe (Gruppe C) von 20 Tieren eingeteilt. Am Tag -1 werden die kardiologischen Ausgangswerte der Mäuse durch sonographische Messungen ermittelt. Bei der am Tag 0 folgenden Operation wird die Koronararterie des linken Ventrikels für einen Zeitraum von 30 Minuten ligiert und bei der ersten Gruppe wieder reperfundiert. Bei der zweiten Gruppe bleibt die Okklusion bestehen. Der Tag 9 dient zur Durchführung der zweiten sonographischen Messung und am 10. Tag werden Abschlussdaten im MRT ermittelt. Die Mäuse werden anschließend getötet, die Herzen entnommen und histologisch ausgewertet.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 2: Übersicht Versuchsplan

	<u>Gruppe A</u>	<u>Gruppe B</u>	<u>Gruppe C</u>	<u>Gruppe D</u>
Anzahl	12	12	20	10
Stamm	CD-1	CD-1	CD-1	MLP
Alter	8 Wochen	8 Wochen	8 Wochen	> 8 Wochen
Gewicht	> 25 g	> 25 g	> 25 g	> 25 g
Operation	Tag 0	Tag 0	/	/
Nachsorge	3d Temgesic	3d Temgesic	/	/
Echo 1	Tag -1	Tag -1	Tag 9	Tag 9
Echo 2	Tag 9	Tag 9	/	/
MRT	Tag 10	Tag 10	Tag 10	Tag 10
Euthanasie	Tag 10	Tag 10	Tag 10	Tag 10

Ein anderer Teil dieser Arbeit besteht darin Mäuse vom MLP-Knockoutstamm (Gruppe D) mit der MRT Technik zu untersuchen. Um vergleichend die linksventrikuläre Verkürzungsfraction zu bestimmen werden MLP-Mäuse (n = 10) am Tag 9 echokardiographisch untersucht.

Zeit		Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	Gruppe D
Tag -1	+	Echo 1	Echo 1	—	—
Tag 0	+	OP: Ischämie/ Reperfusion	OP: Dauer okklusion	—	—
Tag 9	+	Echo 2	Echo 2	Echo 1	Echo 1
Tag 10	↓	MRT	MRT	MRT	MRT

Abbildung 10: Schema zum Versuchsablauf

3.2.3 Genotypisierung der MLP-Mäuse

Um unterscheiden zu können welche der MLP-Mäuse eine Doppel-Knockout-Maus ist, wird bei allen 4-6 Wochen alten Tieren eine Genotypisierung durchgeführt. Unter einer Isofluran Kurznaarkose wird den Mäusen dazu ein kleines Stück der Schwanzspitze entnommen. Die Aufbereitung wird nach folgendem Protokoll (REDEExtract-N-AmpTM-N-AMP-Tissue PCR Kit, Sigma, Sant Luis) durchgeführt:

1.) DNA Extraktion

Ein Master Mix wird durch die Zugabe von n (Anzahl der Probanden) Schwanzspitzen, 50 µl Extraktions-Lösung (pro Schwanzstück) und 12,5 µl Gewebe Präparations-Lösung (pro Schwanzstück) hergestellt. 65,5 µl des Master Mix werden zu jedem Schwanzstück zugegeben und bei Raumtemperatur für 10 Minuten inkubiert. Es folgt eine Inkubation von 3

Minuten bei 95 °C. Nun werden 50 µl Neutralisationslösung zugegeben und vermischt. Als Ergebnis erhält man das Schwanzextrakt.

2.) PCR Amplifikation

10 µl des REDEExtract-N-Amp PCR Reaktionsgemisches werden mit 5 µl Schwanzextrakt, 0,5 µl MLP-A Primer (5`-gac cca ggg ctg ttt gc), 0,5 µl MLP-B Primer (5`-gtt caa tgg ccg atc cc) oder MLP-C Primer (5`-aca ata ttg acc tgt ccc c) und 9 µl Aqua dest. ad 25 µl gemischt. Es wird je ein Ansatz mit den Primern A und B und ein Ansatz mit den Primern A und C hergestellt. Es folgt eine Inkubation bei 94 °C für 2 Minuten um eine Auftrennung der beiden DNA Stränge zu erreichen. Anschließend folgen 35 Zyklen aus jeweils 3 Schritten:

- 30 Sekunden bei 94 °C
- 1 Minute bei 54 °C
- 2 Minuten bei 72 °C

Eine abschließende Inkubation erfolgt bei 72 °C für 10 Minuten.

3.) Gelelektrophorese

Die DNA Fragmente werden in einem 1 %-igem Agarosegel aufgetrennt. Diesem Gel ist Ethidiumbromid zugefügt, damit die Nukleotidstränge angefärbt werden. In der Elektrophoresekammer herrscht eine Spannung von 40 V. Zur Überprüfung läuft je eine Positiv- und eine Negativ-Kontrolle mit, die aus definierten DNA Fragmenten bestehen. Das Ergebnis kann schließlich auf einem UV Tisch (MWG Biotech, Ebersberg) abgelesen werden.

Wurde der Primer A + B verwendet:

- Bande bei 1,5-1,6 kb = heterozygot (+/-) oder homozygot (-/-)
- Keine Bande = Wildtyp (+/+)

Wurde der Primer A + C verwendet:

- Bande bei 1,5-1,6 kb = heterozygot (+/-) oder Wildtyp (+/+)
- Keine Bande = homozygot (-/-)

3.2.4 Sonographische Messungen

Einen Tag vor der Operation wird die erste sonographische Messung durchgeführt. Die zweite erfolgt am neunten Tag nach der Operation.

Mittels einer Isofluran-Inhalationsnarkose werden die Mäuse anästhesiert. Eingeleitet wird die Narkose in einer dafür angefertigten Plexiglasröhre, in der eine Isoflurankonzentration

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

(Forene[®], Abbott) von 5 Volumen % über einen Verdampfer (Ohmeda Isotec 3, Eickemeyer, Tuttlingen) bei 0,8 Liter 100 prozentiger Sauerstoffzufuhr pro Minute eingeleitet wird. Nach Verlust des Stellreflexes wird die Anästhesie auf den Erhaltungsbedarf von 1,0 % Isofluran abgesenkt und über eine Inhalationsmaske zugeführt. Der Sauerstoffflow von 0,8 Liter wird über den Durchflussmesser (UNO, Zevenaar, Holland) gewährleistet.

Zum Schutz vor Austrocknung wird auf die Cornea eine Augensalbe (Bepanthen[®] Augen- und Nasensalbe, Roche, Grenzach) aufgetragen. Danach werden mithilfe einer Enthaarungscreme (VEET[®], Rechitt Benckler, Mannheim) die Haare an der rechten Thoraxseite und am Sternum entfernt. Während der gesamten Untersuchung wird die Körpertemperatur rektal kontrolliert (Temperature Control, FHC, Browdoingham, ME, USA) und durch eine Wärmelampe (100 W, 240 V) auf 37 °C ± 0,5 °C gehalten. Das Ultraschallgerät stammt aus der Humanmedizin (Vivid Five, REF: FC000080, SN: 2941 VM, GE Vingmed Ultrasound, Horten, Norwegen) und hat einen 10 MHz Schallkopf mit einer Eindringtiefe von 3,5 cm (REF: KW100002, SN: 11122, GE Vingmed Ultrasound, Horten, Norwegen).

In Brustlage wird die Maus auf eine Vorlaufstrecke von 10 mm (Sonopad, Sonotec, Halle) gelegt, die wiederum auf einem speziell angefertigten Plexiglasgestell (eigene Herstellung) liegt. Das Gestell besitzt eine 8 x 4,5 cm² große rechteckige Aussparung, der die Vorlaufstrecke aufliegt. Dadurch ist es möglich den Schallkopf von unten auf die Vorlaufstrecke aufzusetzen und von rechts parasternal mit einer Eindringtiefe von 3 cm den linken Ventrikel in einem Kurzachsenschnitt zwischen den Papillarmuskeln im B-Mode darzustellen. Im M-Mode misst man anschließend den enddiastolischen (LVDD) und endsystolischen (LVDs) Durchmesser des linken Ventrikels über 10 Herzzyklen pro Untersuchung. Aus diesen Werten errechnet sich die linksventrikuläre Verkürzungsfraction oder „fractional shortening“ (FS) in Prozent. Die FS beschreibt die fraktionelle Querdurchmesserverkürzung des linken Ventrikels. Sie ergibt sich, indem der Durchmesser des Ventrikels am Ende der Systole von dem am Ende der Diastole subtrahiert und das Ergebnis durch Letzteren dividiert wird. Multipliziert mit 100 ergibt diese Formel die FS in Prozent:

$$FS = \frac{LVDD - LVDs}{LVDD} \times 100\%$$

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Sie dient dazu die linksventrikuläre Kontraktilität der Versuchstiere vor der Operation und danach zu vergleichen.



Abbildung 11: Brustlage der Maus auf der Vorlaufstrecke während der Echokardiographie

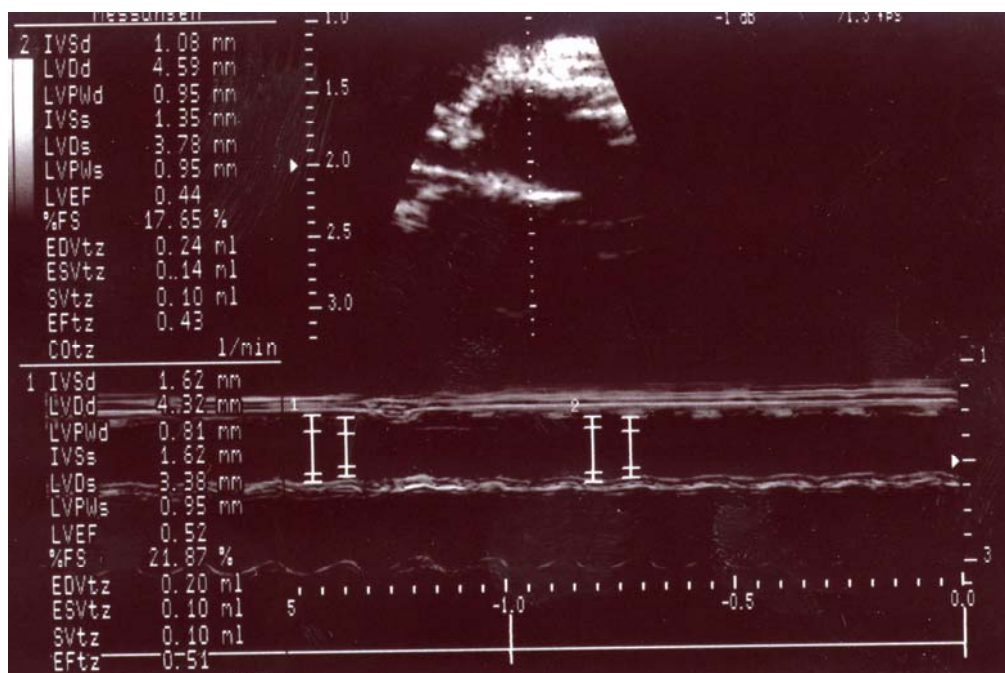
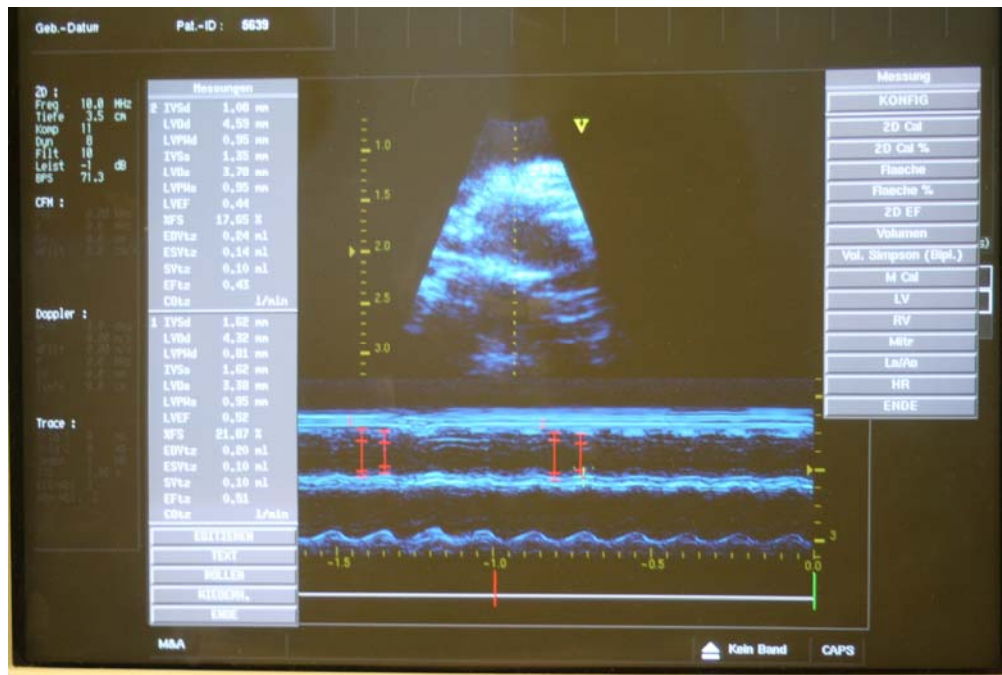


Abbildung 12: Echokardiographische Darstellung des linken Ventrikels eines Mäuseherzens im M-Mode, Kurzachsenschnitt

3.2.4.1 Anästhesievergleich bei der sonographischen Untersuchung

Um sicher zu gehen, dass durch die Isofluranästhesie kein Unterschied zur Narkose im MRT (Injektionsnarkose) entsteht, werden 10 gesunde Mäuse in 2 Gruppen mit jeweils 5 Tieren unterteilt. Die erste Gruppe (Gruppe 1) wird mit Isofluran in Narkose gelegt, die zweite Gruppe (Gruppe 2) wird mit der Injektionsnarkose anästhesiert, die sowohl für die Operation als auch für die Untersuchung im MRT verwendet wird (siehe Kapitel 3.2.5.1).

Wie bereits in Kapitel 3.2.4 beschrieben werden die Mäuse vorbereitet und echokardiographisch untersucht. Auch hier werden 10 Messungen pro Tier durchgeführt.

3.2.5 Operationsdurchführung

3.2.5.1 Vorbereitung und Anästhesie

Die Anästhesie der Maus erfolgt durch eine intraperitoneale Injektion mit einer Kombination aus Midazolam (Midazolam-Ratiopharm[®], Ratiopharm, Ulm), in einer Dosierung von 5,0 mg/kg, Medetomidin (Dormitor[®], Pfizer, Karlsruhe), in einer Dosierung von 0,5 mg/kg und Fentanyl (Fentanyl-Janssen[®], Janssen-Cilag GmbH, Neuss), in einer Dosierung von 0,05 mg/kg (nach HENKE und ERHARDT 2004). Bei Bedarf wird ein Drittel der Narkoseausgangsdosis nachinjiziert. Nach Verlust des Stellreflexes wird der Maus über eine Nasenmaske (eigene Anfertigung) reiner Sauerstoff mit einem Fluss von 0,8 Liter pro Minute zugeführt. Um die Cornea vor dem Austrocknen zu schützen wird Augensalbe (Bepanthen[®] Augen- und Nasensalbe, Roche, Grenzach) aufgetragen und rektal die Temperatursonde eingeführt. Die Temperatur des Tieres wird mithilfe einer an die Temperatursonde gekoppelten Wärmematte (temperature control, FHC, Browdoingham, ME, USA) konstant auf $37\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ gehalten. Die Feineinstellung der Temperatur dieser Wärmematte erfolgt manuell. Sowohl die linke Thoraxwand als auch die ventrale Halsregion müssen durch Enthaarungscreme (VEET[®] Rechitt Benckler, Mannheim) vollständig von Fell befreit werden.



Abbildung 13: Vorbereitung des Operationsfeldes

In Rückenlage wird die Maus mithilfe von Klebestreifen (1,25 cm breit, Leucoplast, Beiersdorf AG, Hamburg) auf einer Wärmematte fixiert. Die Tracheotomie und die Thorakotomie werden unter dem Mikroskop (fibermatic JKH®, Edward Weck Company, North Carolina, USA) mit einer 12-fachen Vergrößerung vorgenommen.



Abbildung 14: Fixation der Maus auf der Wärmematte, Einführen der Temperatursonde und Sauerstoffzufuhr über die Nasenkammer

3.2.5.2 Tracheotomie

Der Hautschnitt wird an der ventralen Halsseite median in Höhe des Larynx mit einer Länge von 5 mm gesetzt. Nach stumpfem Präparieren in die Tiefe wird die paarige Glandula mandibularis durchtrennt und die Sicht auf den darunter liegenden Musculus sternohyoideus wird frei. Nach vorsichtigem Spreizen der beiden Muskelbäuche werden Haltefäden (6-0, Vicryl®, Ethicon, Norderstedt) durch jeden dieser Bäuche gezogen, mit deren Hilfe die Trachea freigelegt wird. Zwischen der zweiten und dritten Trachealspange wird die Trachea, unter Schonung der parallel verlaufenden Vena thyreoidea caudalis, eröffnet und um den dritten Trachealring ein weiterer Haltefaden (monofil, 7-0 Prolene®, Ethicon, Norderstedt) gelegt. Mithilfe des dritten Haltefadens kann die zur Intubation notwendige Metallkanüle (Intubation Cannula for mouse OD 1,1 mm, L 28 mm, Hugo Sachs, Medical Research, March-Hugstetten) als Tubus in die Trachea eingeführt werden. Diese Metallkanüle ist ein Teil des Beatmungsgerätes (Mini Vent Type 845, Hugo Sachs, March-Hugstetten) an das die Maus nun angeschlossen ist und mit 120 Atemzügen pro Minute bei einem Tidalvolumen von

180 μ l und einer Zufuhr von 1,0 Volumen % Isofluran bei einem Sauerstoffflow von 0,8 l/min beatmet wird.



Abbildung 15: Oben: Intubation und Anschluss an das Beatmungsgerät; Unten: vergrößerte Darstellung der Intubation (12-fache Vergrößerung)

3.2.5.3 Thorakotomie

Für die Thorakotomie wird ein lateraler Zugang benötigt und die Maus muss in die rechte, gestreckte Seitenlage umgelagert werden. Die Vordergliedmaßen werden zu diesem Zweck mit Klebestreifen nach vorne und die rechte Hintergliedmaße nach hinten gestreckt an der Unterlage fixiert.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Der Hautschnitt erfolgt auf Höhe des vierten Intercostalraums in dorso-ventraler Richtung auf Höhe der Rippen-Knorpel-Grenze. Nach Durchtrennung des Musculus cutaneus trunci wird der Musculus serratus ventralis entlang seines Faserverlaufes geteilt. Die Musculi intercostales externi und interni werden zusammen mit der Pleura des vierten Intercostalraumes eröffnet. Dabei auftretende kapilläre Blutungen werden durch Kompression mit Saugtupfern (Ethikeil[®], Ethicon, Norderstedt) gestillt. Anhaltende Blutungen werden mit einem Mikrokoagulator (small vessel cauterizer, FST, Heidelberg) verödet.

Um den Blick auf das Herz frei zu haben, wird der Intercostalraum mit einem Rippenspreizer (17008-07, FST, Heidelberg) geweitet und offen gehalten. Das nun freiliegende Perikard wird, unter Schonung der Lunge, vom Herzen abgehoben und gefenstert. Ein auf die Länge von 1 mm zugeschnittener Saugtupfer wird unter das linke Herzohr geschoben, um die Arteria coronaria sinistra besser darstellen zu können. Die Arterie wird 1 mm apikal des linken Vorhofes mit Vicryl[®] (8-0, Ethicon, Norderstedt) umstochen. Ein etwa zwei Millimeter langes Stück Polyethylen-Schlauch (Polyethylen tubing, ID 0,28 mm, OD 0,61 mm, SIMS, Portex, UK) wird auf das Gefäß gelegt und zusammen mit der Arterie ligiert. Es erleichtert das Lösen der Ligatur nach der Ischämiezeit.

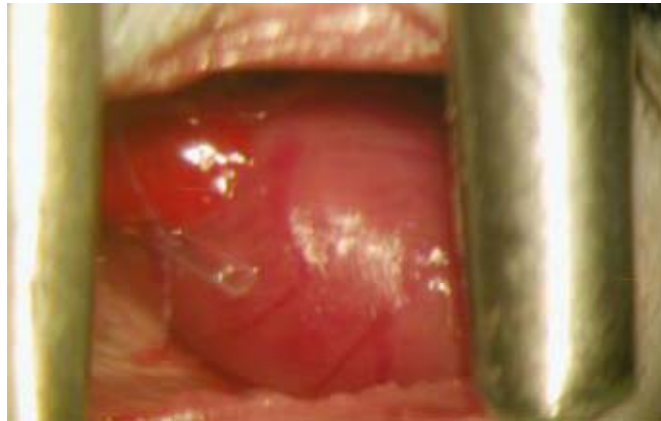


Abbildung 16: Oben: Eingeführter Rippenspreizer in den Intercostalraum, Blick in die linke Herzkammer; Unten: Ligierte linke Koronararterie, unterlegt mit einem Polyethylen Schlauch (12-fache Vergrößerung)

Der richtige und ausreichend feste Sitz der Ligatur zeigt sich durch eine deutliche Blassfärbung des Gewebes distal der Ligatur oder auch durch eine Arrhythmie. Die linksventrikuläre Ischämie wird für die Gruppe A für die folgenden 30 Minuten aufrechterhalten. Währenddessen wird die Temperatur weiterhin konstant auf 37 °C gehalten. Um ein Austrocknen der freiliegenden Organe des Thorax zu verhindern, wird der Rippenspreizer für die Dauer der Ischämie geschlossen und die Wundränder mit Elektrolytlösung (Ringer-Spüllösung, DeltaSelect, Pfullingen) feucht gehalten. Nach genau 30 Minuten wird der Polyethylen-Schlauch aus der Ligatur gezogen, der Knoten durchgeschnitten und entfernt. Die Reperfusion des Myokards lässt sich durch die erneute Farbveränderung ins rötliche und die nun wieder sichtbare Arteria coronaria sinistra erkennen. Bei den Tieren der Gruppe B bleibt die Ligatur bestehen.

3.2.5.4 Verschluss der Thorakotomie- und Tracheotomiewunde

Zum Verschluss des Thorax werden zunächst 3 Einzelhefte (6-0, Vicryl[®], Ethicon, Norderstedt) um die cranial und caudal der Inzision gelegene Rippe vorgelegt. 2 der 3 Hefte werden zugeknotet. Mit Hilfe eines Katheters (eigene Herstellung), der in den Thorax eingeführt wird, kann die noch darin befindliche Luft abgesaugt werden. Dazu ist der Katheter über einen Dreiwegehahn mit einer 1-ml-Spritze verbunden. Mit dem Festziehen des letzten Heftes und Entfernen des Katheters ist ein ausreichender Unterdruck wiederhergestellt. Muskel- und Fasziennaht erfolgen fortlaufend mit einem 6-0 Vicryl[®]-Faden. Als Abschluss wird die Haut noch mit U-Heften verschlossen. 30 Minuten vor dem Ende der OP erhalten die Tiere zur Analgesie Buprenorphin (Temgesic[®], ESSEX PHARMA, München) in einer Dosierung von 0,1 mg/kg subkutan. Die Isoflurankonzentration wird auf 0,5 % gesenkt und nach vollständigem Verschluss der Haut völlig abgesetzt.



Abbildung 17: Verschluss des Thorax

Die Sauerstoffzufuhr bleibt bestehen. Nach Einsetzen der Spontanatmung wird die Maus extubiert und die Trachea mit einem Einzelheft (8-0, Vicryl[®], Ethicon, Norderstedt) locker verschlossen. Die Sauerstoffversorgung wird wie zu Anfang über die Nasenmaske gewährleistet. Zum Verschluss der Haut werden 2-3 U-Hefte mit 6-0[®] Vicryl gesetzt. Die Maus wird in Bauchlage gebracht und erhält zur Antagonisierung der Injektionsnarkose eine Kombination aus Atipamezol (Antisedan[®], Pfizer, Karlsruhe) in einer Dosis von 2,5 mg/kg

und Flumazenil (Anexate[®] 0,5, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach Whylen), in einer Dosis von 0,5 mg/kg subkutan (nach HENKE und ERHARDT 2004).

3.2.5.5 Komplikationen

Durch Blutungen während der Operation können Komplikationen auftreten. Der Blutverlust wird eingeteilt in keine, geringgradige, mittelgradige und hochgradige Blutungen. Durch Verletzungen kleinster Gefäße oder Kapillaren können geringgradige Blutungen entstehen. Mittelgradige Blutungen können durch die Verletzung größerer Gefäße und hochgradige Blutungen durch die Perforation der LAD selber oder Verletzung des Herzohres entstehen.

3.2.5.6 Postoperative Phase und Analgesie

Sind die Tiere aus der Narkose erwacht werden sie in einen Käfig gesetzt der zur Hälfte von einer Wärmelampe bestrahlt wird um ein Auskühlen der Mäuse zu verhindern. Sie haben freien Zugang zu Futter und Wasser. Postoperativ werden sie mit Buprenorphin in gleicher Dosierung, wie 30 Minuten vor dem Ende der Operation, alle acht Stunden versorgt.

3.2.6 Magnetresonanztomographie (MRT)

Ebenso wie bei der Operation werden die Mäuse zur MRT durch eine intraperitoneale Injektion einer Mischung aus Midazolam (Midazolam-Ratiopharm[®], Ratiopharm, Ulm), in einer Dosierung von 5,0 mg/kg, Medetomidin (Dormitor[®], Pfizer, Karlsruhe), in einer Dosierung von 0,5 mg/kg und Fentanyl (Fentanyl-Janssen[®], Janssen-Cilag GmbH, Neuss) und in einer Dosierung von 0,05 mg/kg (nach HENKE und ERHARDT 2004) in Narkose gelegt. Die Sauerstoffzufuhr wird durch eine Nasenmaske (eigene Anfertigung) gewährleistet. Nachdem die Augensalbe (Bepanthen[®] Augen- und Nasensalbe, Roche, Grenzach) auf die Cornea aufgebracht ist, wird die Maus auf der Oberflächenspule (D = 2,3 mm) des Tomographen platziert und mit Klebestreifen (1,25 cm breit, Leucoplast, Beiersdorf AG, Hamburg) fixiert. Die EKG-Nadeln (Philips Medical Systems, Best, NL) werden zuvor am Thorax rechts und links vom Sternum subcutan angebracht und mit einem externen EKG (SA Instruments Inc., Stony Brook, NY) verbunden. Alle Messungen werden retrospektiv getriggert. Zwei Wärmehandschuhe (eigene Herstellung), die vor der Auskühlung schützen, werden rechts und links am Mäusekörper platziert und ebenfalls mit Klebestreifen fixiert. Alle Messungen erfolgen mit einem klinischen 1,5 Tesla Scanner (Achieva, Philips Medical

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Systems, Best, NL). Pro Tier werden 8 Messungen (Übersichtsaufnahme, Referenzscan, 2-Kammer Blick, 4-Kammer Blick, Kurzachsenschnitt) durchgeführt.

Gemessen werden unter anderem ESD (Endsystolischer Diameter), EDD (Enddiastolischer Diameter), EF (Ejektion fraction = Auswurffraktion), Volumen und Wanddicke. Die Bildanalyse erfolgt auf einer View Forum Workstation (Philips Medical Systems, Best, NL), auf der die Ejektionsfraktion für jede Maus berechnet wird.



Abbildung 18: Aufbau der MRT
(rechts vergrößerte Aufnahme)

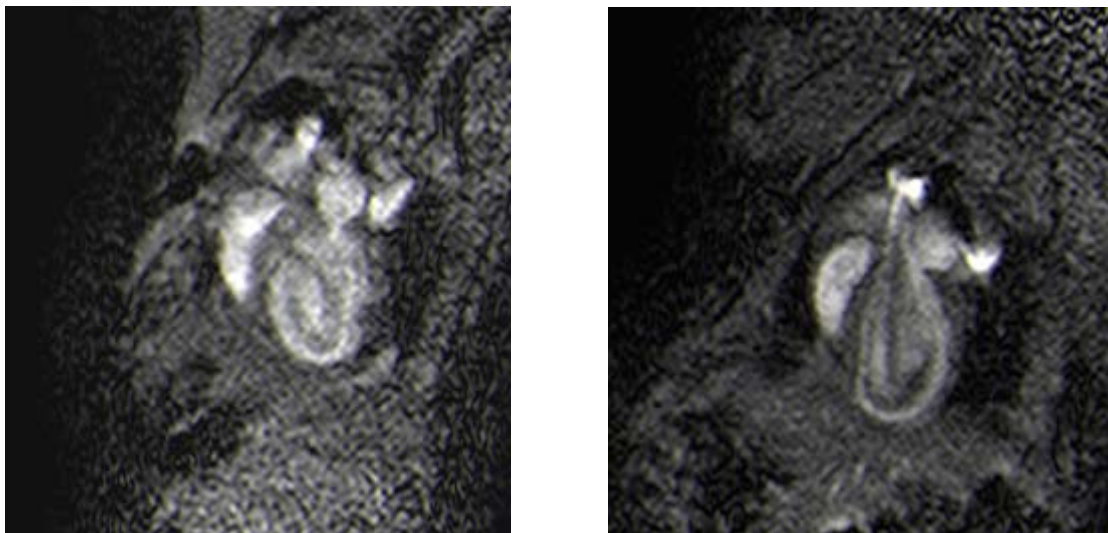


Abbildung 19: MRT-Bilder der Ischämie/Reperfusion Gruppe (A) (links) und der Dauerokklusionsgruppe (B) (rechts)

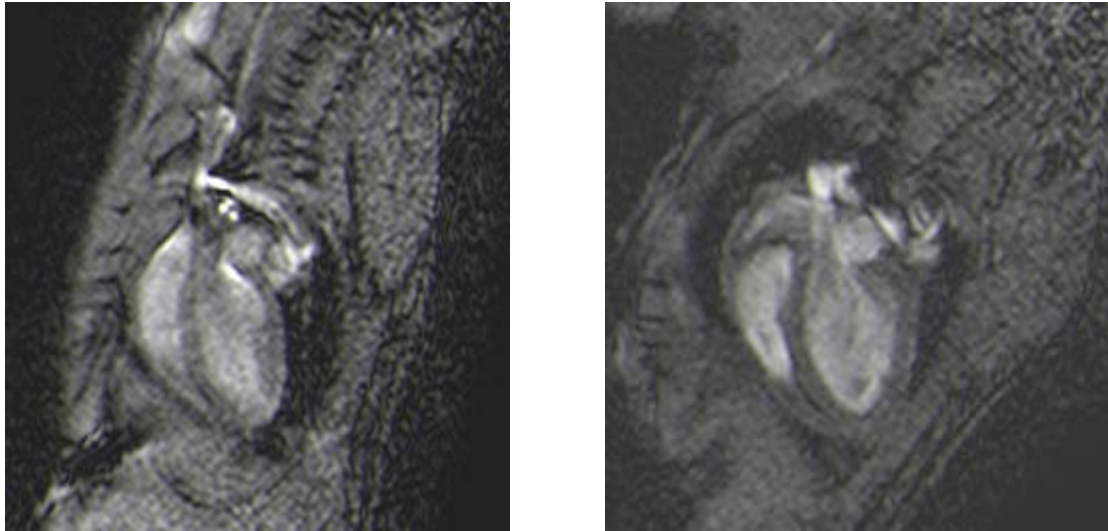


Abbildung 20: MRT-Bilder der kontrollgruppe (C) (links) und der MLP - Gruppe (D) (rechts)

3.2.7 Euthanasie und histologische Färbung des Herzgewebes

Nach einer Reperfusionphase von 10 Tagen bei der Gruppe A und einer Dauerokklusion bei der Versuchsgruppe B werden die Mäuse nach erfolgter MRT anschließend euthanasiert. Wieder erfolgt eine intraperitoneale Injektion der bisher verwendeten Narkose (siehe Kapitel 3.2.5). Die Maus wird in Rückenlage mittels Klebestreifen an der Wärmematte fixiert. Sauerstoff wird über die Nasenmaske zugeführt. Mit einer anatomischen Pinzette wird das Sternum angehoben und der Thorax mit einer Schere eröffnet. Das Herz wird durch einen Scherenschlag herausgetrennt und durch die nun eröffnete Aorta wird ein kleiner Schlauch (Polyethylen tubing, ID 0,28 mm, OD 0,61 mm, SIMS, Portex, UK) in die linke Kammer eingeführt, an dem eine Kanüle (BD Microlance, 0,4 x 19 mm) befestigt ist. Über die Kanülen-Schlauch-Konstruktion werden 50 ml 1-prozentiges 2,3,5-Triphenyltetrazolium-Chlorid (TTC) (SIGMA, Taufkirchen) in das Herz gespült. TTC wird verwendet, um die Zellen darzustellen, die von der Ischämie geschädigt sind. Durch oxidative Phosphorylierung wandelt sich TTC in gesundem Gewebe in einen unlöslichen roten Farbstoff um und färbt somit vitales Gewebe rot. Das abgestorbene Gewebe hingegen bleibt weiß. Das Herz wird anschließend bei -70 °C bis zur weiteren Auswertung eingefroren.

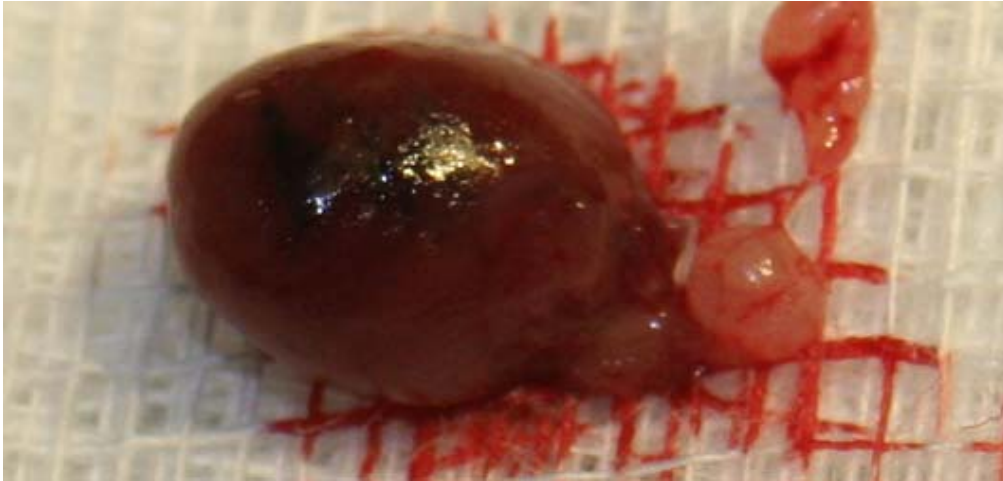


Abbildung 21: Entnommenes Mäuseherz nach Euthanasie

3.2.8 Aufarbeitung und Auswertung der Proben

Das leicht angetaute Herz wird mit einem speziell angefertigten Gewebeschneider (eigene Herstellung) in einzelne Scheiben zerteilt. Die fünf parallel angeordneten Klingen schneiden in einem Abstand von einem Millimeter, wodurch man sechs, bei sehr kleinen Herzen fünf, Scheiben erhält. Die Schnitte des apikalen Bereichs enthalten die Ebenen, in der die Ligaturen gesetzt wurden. Von der Basis an werden die Schnitte unter ein Mikroskop (Leica DMI 6000 B) gelegt und durch eine daran angeschlossene Kamera (Leica DFC 320) fotografiert. Im JPG Format werden die Aufnahmen gespeichert und bearbeitet.



Abbildung 22: Links: Schematische Darstellung der Zerteilung des Herzens durch den Gewebeschneider; Rechts: Herzscheiben von Apex (links) bis Basis (rechts)

Am Computer lässt sich der gesunde, rot gefärbte Bereich des Herzens von dem infarzierten, helleren oder weißen Bereich gut unterscheiden. Mit dem Programm Sigma Scan Pro 5 (Image Scan Version 5.0.0, USA) kann durch manuelles Umfahren der Konturen die Infarktgröße planimetrisch bestimmt werden. Die ermittelte Infarktgröße gibt einen prozentualen Anteil des Infarktes am linken Ventrikel wieder.

3.2.9 Statistische Auswertung

Mit Hilfe des Programms SPSS 11.5 (SPSS Inc., Chicago, USA) wird die statistische Berechnung durchgeführt. Dabei werden die EF und die FS, vor und nach der Operation berücksichtigt. Um die verschiedenen Gruppen miteinander vergleichen zu können werden für jede Gruppe aus den Einzeldaten jeweils der arithmetische Mittelwert (MW), die Standardabweichung (SD) und der Standardfehler (Standard Error of Mean, SEM) berechnet. Als statistischer Test werden der Kruskal-Wallis Test und der Mann-Whitney Test verwendet. Für die Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeit (p) wird ein Wert von $p < 0,05$ als statistisch signifikant beurteilt.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Überlebensrate

Aus der Gruppe A können von insgesamt 12 Tieren nur 11 Tiere ausgewertet werden, da ein Tier postoperativ verstorben ist.

Von den 12 Tieren der Gruppe B sterben innerhalb der ersten 24 Stunden post operationem 2 Mäuse. 3 Mäuse sind aufgrund zu hoher Herzfrequenz während der MRT nicht auswertbar. Vier Mäuse der Gruppe C sind ebenfalls aufgrund zu hoher Herzfrequenz nicht auswertbar und aufgrund technischer Probleme während der magnetresonanztomographischen Messungen können weitere sechs Tiere der Gruppe C nicht ausgewertet werden. Von der Gruppen D gehen alle Mäuse in die Auswertung mit ein.

3.3.2 Intraoperative Komplikationen

Die Blutungen, die während der Operation auftreten werden in vier Abstufungen unterteilt: Kein Blutverlust, geringgradiger, mittelgradiger und hochgradiger Blutverlust (siehe Abschnitt 3.2.5.5).

Tabelle 3: Blutverlust der Mäuse

Blutverlust (BV)	Gruppe A (n=12)	Gruppe B (n=12)
kein BV	25,02%	33,35%
geringgradiger BV	49,99%	33,33%
mittelgradiger BV	16,66%	16,66%
hochgradiger BV	8,33%	16,66%
MW	25,00%	25,00%
SD	0,16	0,08
SEM	0,09	0,05

BV = Blutverlust; MW= Mittelwert, SD = Standardabweichung, SEM = Standardfehler

3.3.3 Ergebnisse der echokardiographischen Untersuchungen

Tabelle 4: Übersicht der Einzelergebnisse der Gruppe A

Maus Gruppe A	M1 FS (%)	M2 FS (%)	M1 LVDd (mm)	M2 LVDd (mm)	M1 LVDs (mm)	M2 LVDs (mm)	M1 LVPWd (mm)	M2 LVPWd (mm)	M1 IVSs (mm)	M2 IVSs (mm)
Maus 1	39,48	16,07	4,15	4,01	2,35	3,36	1,05	0,76	1,47	1,05
Maus 2	36,73	17,76	4,65	3,80	2,64	3,15	0,88	0,80	1,31	1,69
Maus 3	37,25	14,63	3,75	4,07	2,35	3,47	1,02	0,68	1,52	0,76
Maus 4	39,66	13,69	4,25	3,35	2,41	2,89	0,98	0,71	1,47	0,74
Maus 5	39,73	14,49	4,16	4,22	2,51	3,61	0,98	0,78	1,40	1,52
Maus 6	38,05	15,01	4,04	4,31	2,50	3,67	1,02	0,73	1,49	0,89
Maus 7	40,03	10,67	3,61	3,56	2,17	3,22	1,12	0,70	1,67	0,53
Maus 8	39,12	28,92	3,69	3,54	2,25	2,45	0,93	1,06	1,58	1,66
Maus 9	38,17	12,67	3,97	3,06	2,46	2,68	1,00	0,87	1,37	0,82
Maus 10	39,63	29,90	3,85	4,02	2,33	2,83	1,14	0,86	1,38	1,42
Maus 11	39,98	17,48	3,42	4,03	2,06	3,30	0,92	0,87	1,68	1,57
MW	38,89	17,39	3,96	3,82	2,37	3,15	1,00	0,80	1,48	1,15
SD	1,15	6,28	0,34	0,39	0,16	0,39	0,08	0,11	0,12	0,43
SEM	0,35	1,89	0,10	0,12	0,05	0,12	0,02	0,03	0,04	0,13

FS = fractional shortening, LVDd = Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVDs = Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, LVPWd = Linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke, IVSs = Dicke des linksventrikulären Septums in der Systole, M1 = sonographische Messung vor Myokardinfarkt, M2 = sonographische Messung nach Myokardinfarkt, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, SEM = Standardfehler

Tabelle 5: Übersicht der Einzelergebnisse der Gruppe B

Maus Gruppe B	M1 FS (%)	M2 FS (%)	M1 LVDd (mm)	M2 LVDd (mm)	M1 LVDs (mm)	M2 LVDs (mm)	M1 LVPWd (mm)	M2 LVPWd (mm)	M1 IVSs (mm)	M2 IVSs (mm)
Maus 12	37,65	15,96	3,92	3,62	2,44	2,76	1,25	0,68	1,51	0,89
Maus 13	40,07	11,75	3,16	5,05	1,89	4,50	0,73	0,63	1,08	1,11
Maus 14	38,09	10,41	3,44	5,16	2,16	4,62	0,70	0,75	1,16	0,98
Maus 15	40,58	10,19	2,99	3,83	1,78	3,44	0,87	0,87	1,78	0,85
Maus 16	38,87	8,86	3,70	4,76	2,26	4,31	0,96	1,16	1,39	0,91
Maus 17	38,11	13,30	3,37	4,02	2,08	3,45	0,98	0,84	1,25	1,01
Maus 18	37,31	8,70	3,58	4,31	2,24	3,93	0,90	0,74	1,17	0,73
MW	38,67	11,31	3,45	4,39	2,12	3,86	0,91	0,81	1,33	0,93
SD	1,24	2,60	0,32	0,61	0,23	0,68	0,18	0,18	0,24	0,12
SEM	0,47	0,98	0,12	0,23	0,09	0,26	0,07	0,07	0,09	0,05

FS = fractional shortening, LVDd = Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVDs = Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, LVPWd = Linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke, IVSs = Dicke des linksventrikulären Septums in der Systole, M1 = sonographische Messung vor Myokardinfarkt, M2 = sonographische Messung nach Myokardinfarkt, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, SEM = Standardfehler

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 6: Übersicht der Einzelergebnisse der Gruppe C

Maus Gruppe C	M1 FS	M1 LVDd	M1 LVDs	M1 LVPWd	M1 IVSs
	(%)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
Maus 19	38,65	3,66	2,24	1,23	1,55
Maus 20	38,03	4,06	2,52	1,22	1,61
Maus 21	36,14	3,50	2,05	0,66	1,04
Maus 22	35,67	2,93	1,88	0,90	1,03
Maus 23	38,77	3,57	2,18	0,98	1,40
Maus 24	39,20	3,65	2,22	1,11	1,34
Maus 25	37,61	3,62	2,26	1,02	1,44
Maus 26	38,34	3,75	2,32	0,97	1,30
Maus 27	38,30	3,67	2,26	1,10	1,32
Maus 28	37,44	3,60	2,25	0,96	1,41
Maus 29	39,41	3,59	2,18	0,91	1,33
Maus 30	37,26	3,63	2,27	0,89	1,27
Maus 31	38,02	3,24	2,01	0,91	1,14
Maus 32	39,08	3,79	2,31	0,97	1,36
MW	38,00	3,59	2,21	0,99	1,32
SD	1,10	0,26	0,15	0,15	0,17
SEM	0,29	0,07	0,04	0,04	0,04

FS = fractional shortening, LVDd = Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVDs = Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, LVPWD = Linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke, IVSs = Dicke des linksventrikulären Septums in der Systole, M1 = sonographische Messung vor Myokardinfarkt, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, SEM = Standardfehler

Tabelle 7: Übersicht der Einzelergebnisse der Gruppe D

Maus Gruppe D	M1 FS	M1 LVDd	M1 LVDs	M1 LVPWd	M1 IVSs
	(%)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
MLP 1	14,68	5,38	4,57	0,89	0,91
MLP 2	22,08	4,58	3,56	0,83	1,18
MLP 3	19,05	5,19	4,20	0,89	0,95
MLP 4	17,96	4,66	3,81	0,85	0,82
MLP 5	15,27	4,35	3,69	0,84	0,91
MLP 6	14,25	4,75	4,08	0,85	1,08
MLP 7	17,96	4,93	4,04	0,87	0,96
MLP 8	13,55	5,77	4,99	0,90	1,06
MLP 9	13,19	5,42	4,70	0,96	1,23
MLP 10	14,23	5,28	4,53	0,91	1,17
MW	16,22	5,03	4,22	0,88	1,03
SD	2,90	0,45	0,47	0,04	0,14
SEM	0,92	0,14	0,15	0,01	0,04

FS = fractional shortening, LVDd = Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVDs = Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, LVPWD = Linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke, IVSs = Dicke des linksventrikulären Septums in der Systole, M1 = sonographische Messung vor Myokardinfarkt, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, SEM = Standardfehler

Tabelle 8: Übersicht der Ergebnisse der Verkürzungsfractionen der Gruppen A, B, C und D

FS M1	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	Gruppe D
MW	38,89%	38,67%	38,00%	16,22%
SD	1,15	1,24	1,10	2,90
SEM	0,35	0,47	0,29	0,92
FS M2	Gruppe A	Gruppe B		
MW	17,39%	11,31%		
SD	6,28	2,60		
SEM	1,89	0,98		

FS = fractional shortening, M1 = sonographische Messung vor Myokardinfarkt, M2 = sonographische Messung nach Myokardinfarkt, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, SEM = Standardfehler

3.3.3.1 Linksventrikuläre Verkürzungsfraction

Bei allen 25 Mäusen wird zur Erstellung eines Ausgangswertes der prozentualen Durchmesser Verkürzung (fractional shortening, FS) eine sonographische Untersuchung (M1) durchgeführt. Der Mittelwert für die Versuchsgruppe A beträgt für die erste Messung $38,89 \pm 1,15$ %. Die Versuchsgruppe B hat einen Mittelwert von $38,67 \pm 1,24$ %. Für die Versuchsgruppe C erhält man $38 \pm 1,10$ % als Mittelwert für die FS. Unter diesen 3 Gruppen lässt sich bei der ersten Messung kein signifikanter Unterschied feststellen. Die Gruppe D hat einen Mittelwert der linksventrikulären Verkürzungsfraction von $16,22 \pm 2,90$ %.

Die zweite Ultraschalluntersuchung (M2) erfolgt neun Tage nach der Operation für die Versuchsgruppen A und B. Für die Kontrollgruppe (Gruppe C) und die Gruppe D, die keinem chirurgischen Eingriff unterzogen wird, ist eine zweite Ultraschallmessung nicht erforderlich.

Bei der zweiten Messung ergibt sich für die Versuchsgruppe A ein Mittelwert von $17,39 \pm 6,28$ % und für die Versuchsgruppe B ein Mittelwert von $11,31 \pm 2,60$ %. Der Abfall der Verkürzungsfraction, der durch den Infarkt hervorgerufen wird, ist sowohl bei der Gruppe A als auch bei der Gruppe B signifikant ($p < 0,015$).

Vergleicht man die Auswurffraction der zweiten Ultraschallmessung der Gruppe A mit der FS der Gruppe B, so zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p < 0,006$). Die FS der zweiten Messung bei der Gruppe B ($11,31$ %) zeigt im Vergleich zu der FS der Gruppe D ($16,22$ %) einen signifikanten Unterschied ($p < 0,005$). Im Gegensatz dazu ergibt sich für die zweite Messung der Gruppe A im Vergleich zu der Ausgangsmessung der Gruppe D kein signifikanter Unterschied ($p < 0,918$).

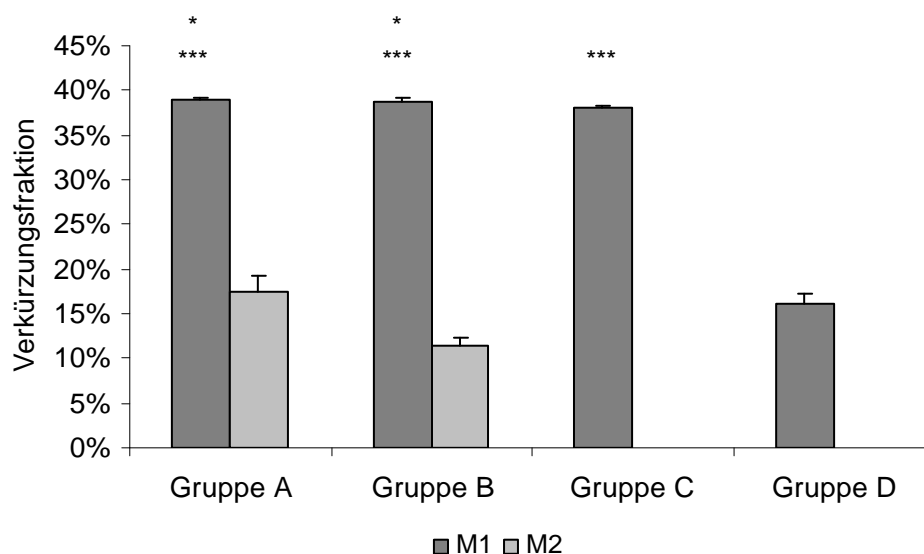


Abbildung 23: Mittelwerte der Verkürzungsfraction der Gruppen A, B, C und D

M1 = sonographische Messung vor Myokardinfarkt, M2 = sonographische Messung nach Myokardinfarkt, * $p < 0,05$: Verkürzungsfraction vor OP vs nach OP, ** $p < 0,05$: Verkürzungsfraction vor OP vs herzinsuffiziente Gruppe *** $p < 0,05$: Verkürzungsfraction vor OP vs herzinsuffiziente Gruppe

3.3.3.2 Weitere echokardiographische Parameter

Der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVDd) liegt bei der Versuchsgruppe A vor der Operation im Mittel bei $3,96 \pm 0,34$ mm und nach der Operation bei $3,82 \pm 0,39$ mm.

Die Versuchsgruppe B hat im Mittelwert einen enddiastolischen Durchmesser vor der Operation von $3,41 \pm 0,32$ mm und nach der Operation von $4,39 \pm 0,61$ mm. Der Mittelwert der Versuchsgruppe C beträgt $3,59 \pm 0,2$ mm. Der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser der Gruppe D beträgt im Mittel $5,03 \pm 0,45$ mm.

Der Mittelwert des linksventrikulären endsystolischen Durchmessers (LVDs) beträgt vor der Operation bei der Versuchsgruppe A $2,37 \pm 0,16$ mm. Bei der Versuchsgruppe B liegt der Mittelwert des linksventrikulären endsystolischen Durchmessers vor der Operation bei $2,12 \pm 0,61$ mm. Bei der Versuchsgruppe C liegt der Mittelwert des LVDs bei $2,21 \pm 0,15$ mm.

Nach der Operation ergibt sich für die Mäuse der Versuchsgruppe A ein Mittelwert von $3,15 \pm 0,39$ mm. Für die Mäuse der Versuchsgruppe B beträgt der Mittelwert $3,86 \pm 0,23$ mm. Der linksventrikuläre endsystolische Durchmesser der Gruppe D hat einen Mittelwert von $4,22 \pm 0,47$ mm.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke (LVPWd) für die Gruppe A ergibt einen Mittelwert der M1 von $1,00 \pm 0,08$ mm. Für die Gruppe B ergibt sich ein Ausgangswert von $0,91 \pm 0,18$ mm und die Gruppe C hat bei der Ausgangsmessung eine gemittelte linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke von $0,91 \pm 0,15$ mm. Bei der zweiten Messung hat die Gruppe A nach Induktion des Infarktes einen Mittelwert von $0,80 \pm 0,11$ mm und die Gruppe B hat nach dem Infarkt einen Mittelwert von $0,81 \pm 0,18$ mm. Für die Gruppe D ergibt sich in der Messung der linksventrikulären diastolischen Hinterwanddicke ein Mittelwert von $0,88 \pm 0,04$ mm.

Die Dicke des linksventrikulären Septums beträgt in der Systole bei der Gruppe A im Mittel $1,48 \pm 0,12$ mm. Bei der Gruppe B liegt der Mittelwert bei $1,33 \pm 0,24$ mm. Die Gruppe C hat einen gemittelten Wert von $1,32 \pm 0,17$ mm.

Gruppe A hat nach dem chirurgischen Eingriff einen Mittelwert von $1,15 \pm 0,43$ mm. Der Mittelwert der Gruppe B beträgt $0,93 \pm 0,12$ mm. Die Dicke des linksventrikulären Septums in der Systole hat bei der Gruppe D einen Mittelwert von $1,03 \pm 0,14$ mm.

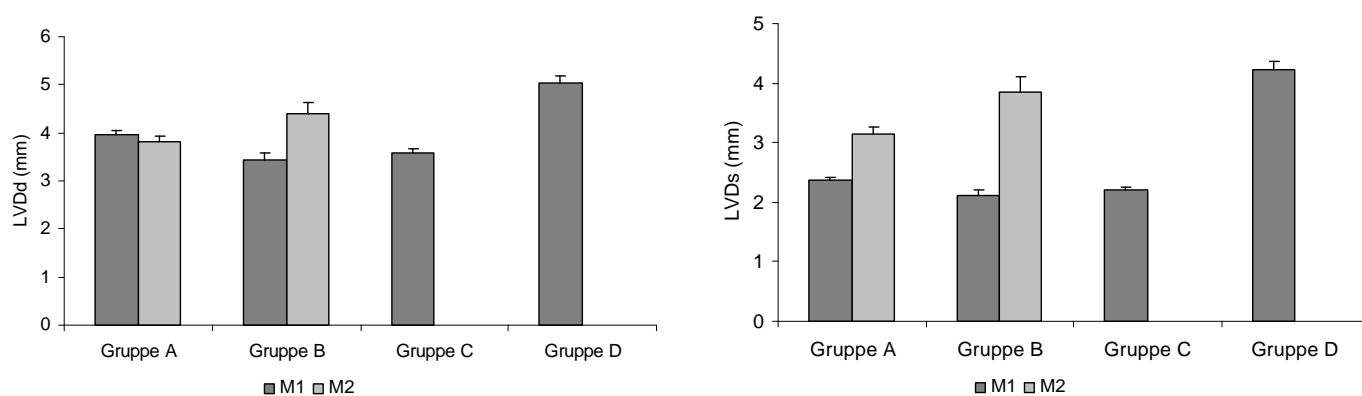


Abbildung 24: Links: Mittelwerte des Linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers der Gruppen A, B, C und D; Rechts: Mittelwerte des Linksventrikulären endsystolischen Durchmessers der Gruppen A, B, C und D

M1 = sonographische Messung vor Myokardinfarkt, M2 = sonographische Messung nach Myokardinfarkt

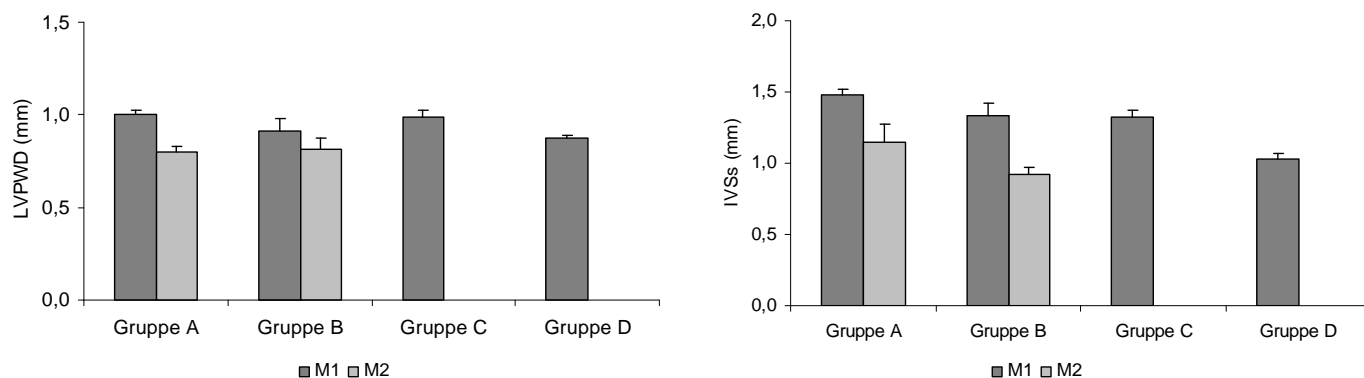


Abbildung 25: Links: Mittelwerte der linksventrikulären diastolischen Hinterwanddicke der Gruppen A, B und C; Rechts: Mittelwerte der Dicke des linksventrikulären Septums in der Systole der Gruppen A, B, C und D

M1 = sonographische Messung vor Myokardinfarkt, M2 = sonographische Messung nach Myokardinfarkt

3.3.4 Ergebnisse des Anästhesievergleichs der sonographischen Untersuchung

Um sicherzustellen, dass durch eine andere Anästhesie, wie sie bei Ultraschall und Operation bzw. MRT verwendet wird, die Ergebnisse nicht verändert werden, wird ein Vergleich beider verwendeter Anästhesievarianten anhand von Ultraschalluntersuchungen gesunder Mäuse durchgeführt.

Für die Mäuse der Gruppe 1 (Isoflurannarkose) ergibt sich dabei für die linksventrikuläre Verkürzungsfraction (FS) ein Mittelwert von $38,28 \pm 1,50$ %. Der Mittelwert der Mäuse der Gruppe 2 (MMF Narkose) liegt bei $38,20 \pm 0,82$ %.

Der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVDd) der Gruppe 1 hat einen Mittelwert von $4,02 \pm 0,41$ mm. Der Mittelwert der Gruppe 2 liegt bei $3,86 \pm 0,47$ mm.

Für den linksventrikulären endsystolischen Durchmesser (LVDs) der Gruppe 1 ergibt sich ein Mittelwert von $2,42 \pm 0,18$ mm, im Vergleich zu $2,37 \pm 0,08$ mm der Gruppe 2.

Der Mittelwert der linksventrikulären diastolischen Hinterwanddicke ergibt für die Gruppe 1 $1,05 \pm 0,14$ mm. Für die Gruppe 2 beträgt der Mittelwert $1,09 \pm 0,09$ mm.

Die Dicke des linksventrikulären Septums liegt bei der Gruppe 1 im Mittelwert bei $1,48 \pm 0,14$ mm. Die Gruppe 2 hat im Vergleich dazu eine gemittelte Dicke des linksventrikulären Septums von $1,52 \pm 0,19$ mm. Im Vergleich der beiden Gruppen zeigt sich kein signifikanter Unterschied.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 9: Übersicht der Ergebnisse des Anästhesievergleichs

Maus	FS	LVDd	LVDs	LVPWd	IVSs
	(%)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
Gruppe 1:					
Maus 1	36,73	4,65	2,64	0,88	1,31
Maus 2	39,73	4,16	2,51	0,98	1,40
Maus 3	40,03	3,61	2,17	1,12	1,67
Maus 4	37,65	3,92	2,44	1,25	1,51
Maus 5	37,25	3,75	2,35	1,02	1,52
Gruppe 2:					
Maus 6	39,58	3,03	1,84	1,06	1,40
Maus 7	37,38	3,00	1,89	0,90	1,14
Maus 8	37,96	3,62	2,25	0,95	1,21
Maus 9	38,00	3,69	2,29	0,92	1,17
Maus 10	38,08	4,11	2,54	0,90	1,59

Mittelwerte (n = 5)					
	FS	LVDd	LVDs	LVPWd	IVSs
	(%)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
GR 1 (Iso)	38,28	4,02	2,42	1,05	1,48
GR 2 (MMF)	38,20	3,86	2,37	1,09	1,52

Standardabweichung (n = 5)					
	FS	LVDd	LVDs	LVPWd	IVSs
	(%)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
GR 1 (Iso)	1,50	0,41	0,18	0,14	0,14
GR 2 (MMF)	0,82	0,47	0,30	0,07	0,19

Standardfehler (n = 5)					
	FS	LVDd	LVDs	LVPWd	IVSs
	(%)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
GR 1 (Iso)	0,67	0,18	0,08	0,06	0,06
GR 2 (MMF)	0,37	0,21	0,13	0,03	0,09

FS = fractional shortening, LVDd = Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVDs = Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, LVPWd = Linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke, IVSs = Dicke des linksventrikulären Septums in der Systole, ISO = Isofluran; MMF = Medetomidin-Midazolam-Fentanyl

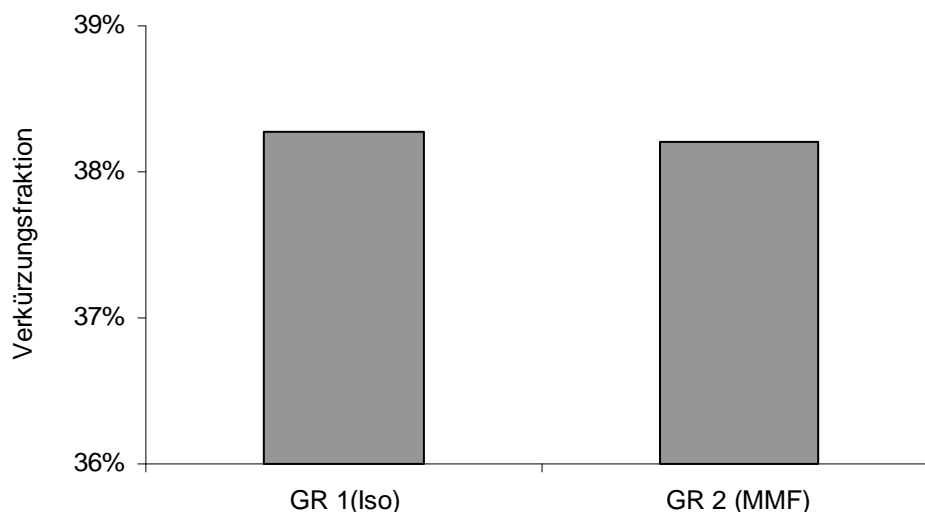


Abbildung 26: Vergleich der Verkürzungsfraction der Gruppe, die mit Isofluran (Gruppe 1) und der Gruppe, die mit MMF (Gruppe 2) anästhesiert wird

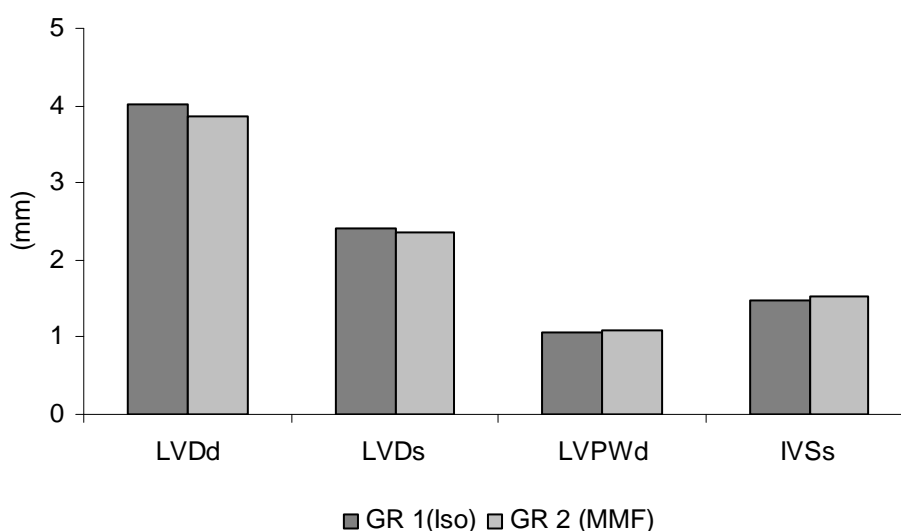


Abbildung 27: Vergleich der Anästhesiegruppen 1 und 2

LVDd = Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVDs = Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, LVPWd = Linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke, IVSs = Dicke des linksventrikulären Septums in der Systole

3.3.5 Ergebnisse der MRT Untersuchungen

Die Untersuchung in der MRT findet 10 Tage nach der Operation statt. Für die Versuchsgruppe A ergibt sich bei den Messungen ein Mittelwert von $54,06 \pm 3,09$ % für die Auswurfraction bei einer durchschnittlichen Herzfrequenz von $193 \pm 55,82$ Schlägen pro Minute.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die Versuchsgruppe B zeigt bei der Auswurfleistung einen Mittelwert von $23,35 \pm 9,86$ % und eine Herzfrequenz von $288,14 \pm 34,23$ Schlägen pro Minute.

Bei der Versuchsgruppe C beträgt die Auswurfleistung des Herzens im Mittelwert $56,86 \pm 8,62$ % und die Herzfrequenz $201,14 \pm 58,05$ Schläge pro Minute. Bei den MLP-Mäusen der Gruppe D ergibt sich für die Auswurfleistung ein Mittelwert von $29,95 \pm 5,28$ %. Die Herzfrequenz liegt dabei bei $232,9 \pm 56,48$ Schlägen pro Minute.

Die Auswurfleistung der Gruppe D ist zum Zeitpunkt der Untersuchung signifikant niedriger als die der Gruppe C ($p < 0,0001$).

Ebenso ist die EF der Gruppe D im Vergleich zur Gruppe A signifikant herabgesetzt ($p < 0,0001$). Als signifikant stellt sich auch das Ergebnis der EF von der Gruppe A im Vergleich mit der Gruppe B dar ($p < 0,0001$).

Zwischen den Gruppen A und C ($p < 0,317$), sowie den Gruppen B und D ($p < 0,193$) besteht im Bezug auf die EF kein signifikanter Unterschied.

Die Herzfrequenz der vier Gruppen (A, B, C und D) weist untereinander keinen signifikanten Unterschied auf ($p < 0,180$).

Tabelle 10: Übersicht der Einzelergebnisse der MRT Untersuchungen der Gruppen A und C

Maus	EF	HF	Maus	EF	HF
Gruppe A	(%)	(pro Minute)	Gruppe B	(%)	(pro Minute)
Maus 1	55,80	316,00	Maus 12	36,50	170,01
Maus 2	57,40	202,01	Maus 13	35,00	225,00
Maus 3	52,30	216,01	Maus 14	10,50	204,00
Maus 4	51,30	240,00	Maus 15	16,80	234,00
Maus 5	52,00	150,01	Maus 16	27,30	230,00
Maus 6	46,80	189,00	Maus 17	17,10	268,00
Maus 7	55,70	110,00	Maus 18	19,90	266,00
Maus 8	56,00	203,00	MW	23,30	228,14
Maus 9	55,30	189,00	SD	9,86	34,23
Maus 10	54,10	201,00	SEM	3,73	12,94
Maus 11	58,00	107,00			
MW	54,06	193,00			
SD	3,09	55,82			
SEM	0,98	17,65			

EF = Auswurfleistung, HF = Herzfrequenz, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, SEM = Standardfehler

Tabelle 11: Übersicht der Einzelergebnisse der MRT Untersuchungen der Gruppen B und D

Maus	EF	HF	Maus	EF	HF
Gruppe C	(%)	(pro Minute)	Gruppe D	(%)	(pro Minute)
Maus 19	61,50	304,00	MLP 1	39,80	157,00
Maus 20	72,90	256,00	MLP 2	36,30	172,00
Maus 21	55,90	127,00	MLP 3	25,80	295,00
Maus 22	70,80	138,00	MLP 4	34,30	208,00
Maus 23	60,60	175,00	MLP 5	29,30	209,00
Maus 24	48,80	154,00	MLP 6	28,20	343,00
Maus 25	44,70	199,00	MLP 7	25,80	248,00
Maus 26	60,00	154,00	MLP 8	30,50	227,00
Maus 27	45,20	274,00	MLP 9	25,90	205,00
Maus 28	56,40	247,00	MLP 10	23,60	265,00
Maus 29	62,00	152,00	MW	29,95	232,90
Maus 30	49,00	224,00	SD	5,28	56,48
Maus 31	51,30	155,00	SEM	1,67	17,86
Maus 32	56,90	257,00			
MW	56,86	201,14			
SD	8,62	58,05			
SEM	2,30	15,51			

EF = Auswurfleistung, HF = Herzfrequenz, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, SEM = Standardfehler

Tabelle 12: Übersicht der Ergebnisse der Auswurfaktion der Gruppen A, B, C und D

EF	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	Gruppe D
MW	54,06%	23,30%	56,86%	29,95%
SD	3,09	9,86	8,62	5,28
SEM	0,98	3,73	2,30	1,67

EF = Auswurfleistung, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, SEM = Standardfehler

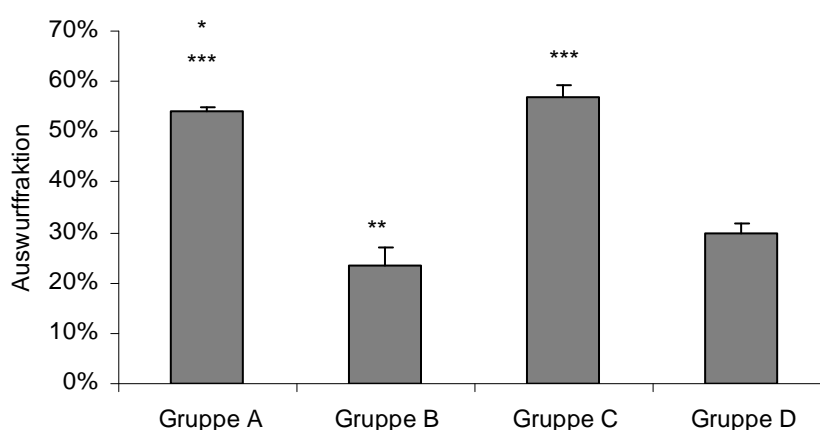


Abbildung 28: Vergleich der Mittelwerte der EF der Gruppen A, B, C und D

* $p < 0,05$: Auswurfaktion der Gruppe nach 30 Minuten Ischämie vs Dauerokklusion; ** $p < 0,05$: Dauerokklusion vs Kontrollgruppe, *** $p < 0,05$: Gruppe mit kurzer Ischämiezeit bzw. Dauerokklusion vs herzinsuffiziente Gruppe

3.3.6 Ergebnisse der pathologisch-anatomischen Untersuchungen

Nach der Euthanasie werden die Herzen entnommen, die lebenden Zellen im Herzen mit TTC angefärbt, geschnitten, fotografiert und anschließend ausgewertet. Hierbei zeigt die Gruppe A, dass der Infarkt im Mittelwert $15,86 \pm 2,40$ % der Gesamtfläche des linken Ventrikels einnimmt. Bei der Gruppe B hingegen sind es im Mittelwert $23,74 \pm 5,45$ % des linken Ventrikels, die vom Infarkt betroffen sind. Die Ergebnisse der beiden Gruppen zeigen einen signifikanten Unterschied gegeneinander ($p < 0,05$).

Tabelle 13: Ergebnisse der Infarktgröße der Gruppen A und B

Maus	Infarktgröße	Maus	Infarktgröße
Gruppe A	(%)	Gruppe B	(%)
Maus 1	14,32	Maus 12	16,24
Maus 2	15,83	Maus 13	23,78
Maus 3	10,1	Maus 14	28,97
Maus 4	17,55	Maus 15	32,88
Maus 5	17,92	Maus 16	25,47
Maus 6	19,92	Maus 17	19,95
Maus 7	14,85	Maus 18	18,91
Maus 8	16,91	MW	23,74
Maus 9	16,76	SD	5,45
Maus 10	15,63	SEM	2,22
Maus 11	14,72		
MW	15,86		
SD	2,40		
SEM	0,76		

MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, SEM = Standardfehler

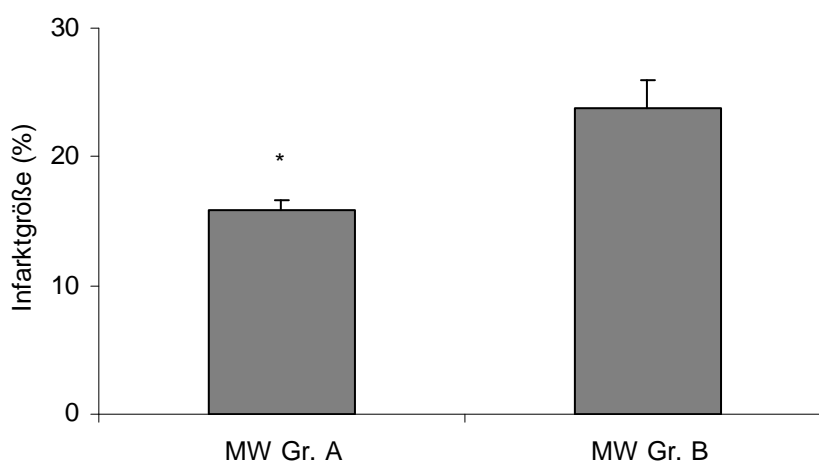


Abbildung 29: Vergleich der Mittelwerte der Infarktgröße von den Gruppen A und B

MW = Mittelwert, * = $p < 0,05$: Infarktgröße nach 30 Minuten Ischämie vs Dauerokklusionsgruppe

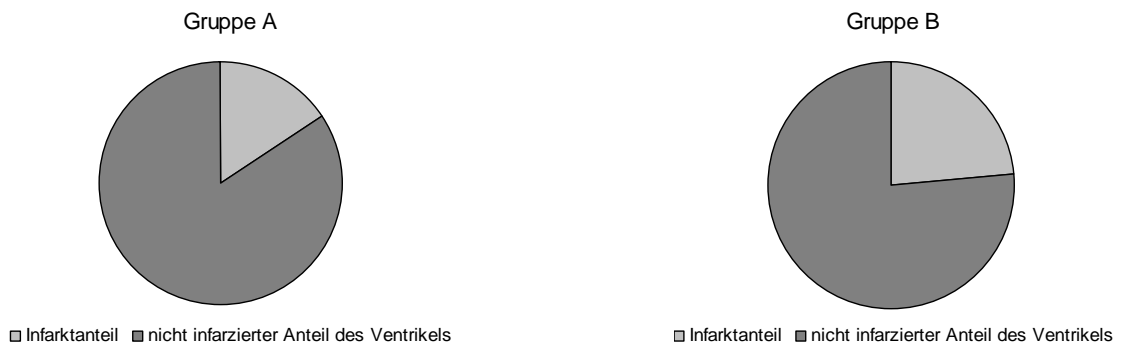


Abbildung 30: Darstellung der Infarktgröße der Gruppe A (rechts) und B (links)

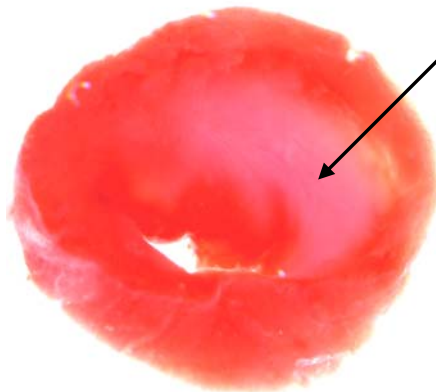


Abbildung 31: Herzscheibe einer Maus der Gruppe A, Infarkt mit Pfeil gekennzeichnet

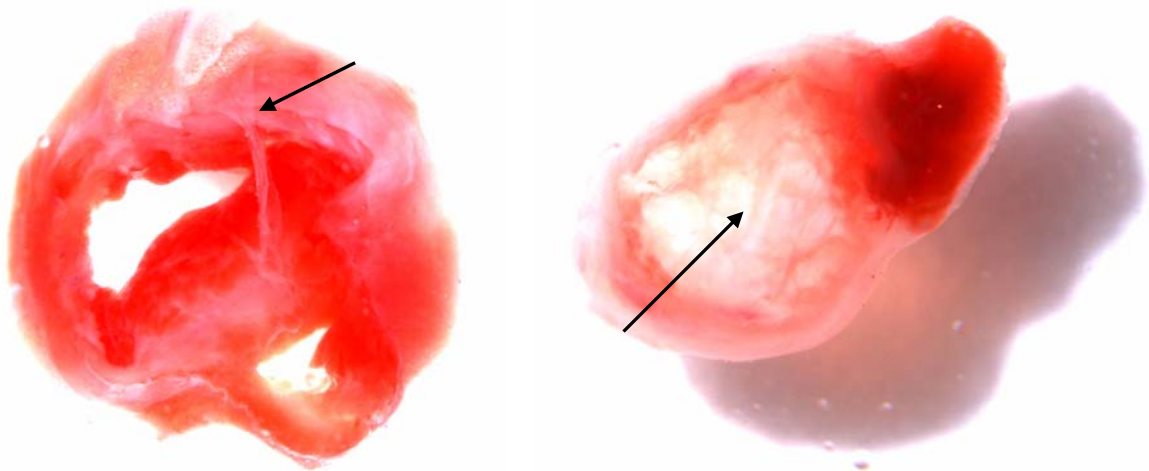


Abbildung 32: Herzscheibe einer Maus der Gruppe B, links: Infarkt mit Pfeil gekennzeichnet, rechts: ausgedünnte Apex des Herzens



Abbildung 33: Herzscheibe einer Maus der Gruppe C



Abbildung 34: Herzscheiben einer Maus der Gruppe D, links: Basisnaher Schnitt, rechts: Apexnaher Schnitt

4 DISKUSSION

4.1 Diskussion der Versuchsdurchführung

4.1.1 Die Maus als Tiermodell

Bei der Versuchsplanung stellte sich die Frage, ob das Mausmodell nicht durch In-vitro Modelle hätte ersetzt werden können. Unter Berücksichtigung ethischer und moralischer Grundsätze fiel schließlich die Entscheidung auf das Mausmodell, denn Untersuchungen an isolierten Herzen können die Komplexität des Myokardinfarktes nicht widerspiegeln. Für die Wahl der Maus als Tiermodell gegenüber anderen Tierarten spricht die Möglichkeit, die Blutgefäßversorgung am Herzens mit der des Menschen vergleichen zu können (HARKEN et al. 1981; VERDOUW et al. 1998). Weitere Vorteile liegen in der einfachen Handhabung, der schnellen Nachzucht, genetischen Manipulierbarkeit und Verfügbarkeit der Maus. Darüber hinaus ermöglicht es den Vergleich mit schon zuvor gelaufenen Studien an Mäuseherzen. ZOLOTAVERA und KOGAN verfassten 1978 eine Studie über den induzierten Myokardinfarkt an der Maus. Dabei fanden sie heraus, dass die morphologischen Veränderungen im Myokard der Maus nach einem Verschluss der Koronararterie, mit denen von anderen Versuchstieren und vom Mensch zu vergleichen sind.

Trotz dieser Vorteile ist es von entscheidendem Nachteil, dass dieses gewählte Modell nicht genau mit einem Myokardinfarkt beim Menschen verglichen werden kann. Hier wird die Koronararterie von außen verschlossen und es handelt sich nicht wie in der Praxis um einen schleichenden Prozess, der durch atherosklerotische Verengungen hervorgerufen wird. Bei einem experimentellen Myokardinfarkt hat der Körper keine Zeit, sich auf die Veränderungen einzustellen, er ist mit der sich plötzlich ändernden Situation regelrecht überfordert. Auch Einflüsse, die durch die Entzündungszellen bei Gefäßwandläsionen aktiviert werden entfallen (FALK 1985; KLINGER und JELKMANN 2002).

Bei der induzierten Herzinsuffizienz einer Maus werden die Untersuchungszeitpunkte meist schon im Anfangsstadium der Erkrankung angesetzt. Dies entspricht allerdings in der Regel nicht dem Zeitpunkt, an dem ein Mensch sich einer Untersuchung aufgrund einer Herzinsuffizienz unterzieht und ist ein weiterer kritischer Punkt, wenn man Maus und Mensch in direkten Vergleich setzt (DORN und MOLKENTIN 2004).

4.1.2 Durchführung der Operation

In der vorliegenden Arbeit erweist sich das Ischämie/Reperfusionsmodell an der Maus als geeignetes Tiermodell, um einen Myokardinfarkt zu erzeugen und die Abnahme der FS und EF mittels Echokardiographie und Magnetresonanztomographie zu untersuchen.

Da jede Abweichung in der Operationsdurchführung zur Veränderung der Ergebnisse führen kann, ist es wichtig, standardisiert vorzugehen. Ein Herunterkühlen der Körpertemperatur minimiert die Infarktgröße und eine zu hohe Temperatur während der Operation führt zur Produktion von Hitzeschockproteinen (MIKI et al. 1998; YTREHUS 2000). Um die Ergebnisse schlussendlich miteinander vergleichen zu können, müssen alle Tiere während der Operation bei gleicher Temperatur gehalten werden. Auch die Dauer der Ischämie, die Anästhesie oder die Überlebenszeit der Tiere dürfen nicht voneinander abweichen. Das Alter der Mäuse hat zusätzlich zu den genannten äußeren Faktoren einen großen Einfluss auf die Ergebnisse der Studie. Bei den Herzen alter Mäuse, d.h. zwischen 22 und 24 Lebensmonaten, ist ein größerer Infarkt zu erwarten als bei denen junger Mäuse, d.h. zwischen 6 und 8 Lebensmonaten. Ebenso besteht bei den alten Mäusen ein höheres Mortalitätsrisiko nach der Operation, da sie eine geringere Toleranz für freie Radikale und den Schaden, den diese anrichten, besitzen (AZHAR et al. 1999). Damit altersbedingte Unterschiede das Ergebnis nicht beeinflussen, müssen alle Mäuse gleich alt sein.

4.1.3 Durchführung der Magnetresonanztomographie

Die MRT dient der Darstellung innerer Organe. Neben Geweben werden auch funktionelle Prozesse, wie der Blutfluss oder der Herzschlag als räumliches Bild wiedergegeben (KRISHNA et al. 2001). Die Untersuchung der Mäuse im MRT liefert in der Diagnostik des Myokardinfarktes aufschlussreiche Ergebnisse und ermöglicht die Darstellung kleinster Unterschiede in der Ausprägung und Intensität des Infarktes, die mittels Echokardiographie nicht zu unterscheiden sind (NAHRENDORF et al. 2006). Um den Herzzyklus korrekt darstellen zu können, muss die Bewegung des Herzens berücksichtigt und mithilfe der R-Welle korrekt getriggert werden. Fällt das EKG Signal aus, hat auch der Scanner keinen Ansatzpunkt mehr an dem er seine Messung starten kann. Würde dennoch gemessen, könnte man die Ergebnisse nicht miteinander vergleichen (ABI-ABDALLAH et al. 2006; HIBA et al. 2006). Da es sich bei dem verwendeten Scanner um einen klinischen 1,5 Tesla Scanner handelt, der für größere Individuen als Mäuse konstruiert wurde, kann das integrierte EKG nicht verwendet werden. Um eine Triggerung zu ermöglichen wird stattdessen ein externes

EKG angeschlossen, was allerdings zu einer höheren Fehlerquote führt. Auf diese Weise entstehen Messschwierigkeiten und Ausfälle des Scanners. Auch die zeitliche Auflösung ist auf größere Individuen mit weniger Herzschlägen in der Minute angepasst und führt daher zu Schwierigkeiten bei der Abgrenzung des Myokards bei der Auswertung und zu Problemen bei der Auswahl der Systole (ARAI et al. 2005).

Durch die hohe Herzfrequenz der Maus ist es schwierig, das EKG mit dem MRT zu synchronisieren. Arrhythmien, die im Anschluss an einen Myokardinfarkt bevorzugt auftreten, können zum Ausfall des Scanners führen. Um dies zu minimieren, wird eine retrospektive Triggerung durchgeführt (ABI-ABDALLAH et al. 2006; ROSS et al. 2002). Die Atmung führt zusätzlich zu Artefakten in den Messergebnissen. Durch die Anästhesie wird dieser Einfluss zwar minimiert, kann aber nicht gänzlich ausgeschaltet werden (BISHOP und FEINTUCH 2006). Eine weitere Limitation ist die vom Gerät vorgegebene Herzfrequenz. Diese darf nicht höher als 250 Schläge pro Minute sein.

Die Körpertemperatur nimmt Einfluss auf die Herzfrequenz der Maus (HEIJMANN et al. 2004). Um eine Messung überhaupt zu ermöglichen, ist es daher wichtig, die Tiere nicht zu stark zu wärmen. NAHRENDORF et al. führten 2006 Untersuchungen an Mäusen mit einem 7 Tesla Scanner durch und auch BISHOP und FEINTUCH verwendeten 2006 einen 7 Tesla Scanner für die Untersuchung von Mäusen. Im Gegensatz zu den meisten bisher gelaufenen Untersuchungen, wurde die vorliegende mit einem Scanner sehr geringer Teslazahl durchgeführt. Trotz der geringeren zeitlichen Auflösung und der genannten Limitationen war es dennoch möglich, aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten und diese auszuwerten. Ein großer Vorteil ist zudem die etablierte Auswertungssoftware (Philips Medical Systems, Best, NL), die zum Scanner gehört. So konnten an dieser Stelle Kompatibilitätsprobleme vermieden werden.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Überlebensrate

Die beiden Todesfälle der Mäuse aus der Gruppe B und der eine aus der Gruppe A, die innerhalb der ersten 24 Stunden post operationem auftraten, lassen sich auf einen schweren Blutverlust durch die Verletzung eines oder mehrerer Gefäße während der Operation zurückführen. Die übrigen Mäuse überlebten den chirurgischen Eingriff ohne weitere Komplikationen.

4.2.2 Intraoperative Komplikationen

Durch die Verletzung kleinster Gefäße und Kapillaren während der Operation können Sickerblutungen entstehen, die nach einer kurzen Zeit von allein zum Stillstand kommen. Durch die Verletzung größerer Gefäße wie z.B. eines Seitenastes der LAD können mittelgradige Blutungen auftreten, die durch Abklemmen der Gefäße mit einer Arterienklemme zu stillen sind. Hochgradige Blutungen als Folge der Verletzung der LAD selber oder einer Verletzung des Herzohres haben meist einen letalen Ausgang. Da ein dauerhafter Verschluss der LAD eine größere Belastung für das Herz-Kreislaufsystem bedeutet, zeigten die reperfundierte Mäuse der Gruppe A einen geringeren Blutverlust während der Operation und auch eine höhere Überlebensrate als die Mäuse der Gruppe B, bei denen eine Dauerokklusion durchgeführt wurde.

Arrhythmien, die bevorzugt nach einem Myokardinfarkt auftreten, sind häufig zu beobachtende Komplikationen. Sie sind auf Überleitungsstörungen des Reizleitungssystems des Herzens zurückzuführen und können die Messergebnisse im MRT beeinflussen und dazu führen, dass der Scanner im MRT ausfällt.

4.2.3 Ergebnisse der echokardiographischen Untersuchungen

Alle operierten Mäuse wurden sowohl vor der Operation, als auch danach unter standardisierten Bedingungen untersucht. Durch die Bestimmung der Verkürzungsfraktion (FS) wurden anatomische und physiologische Veränderungen, die durch den Myokardinfarkt hervorgerufen wurden, beurteilt (GARDIN et al. 1995; SUEHIRO et al. 2001). Die Ergebnisse der echokardiographischen Untersuchungen zeigten, dass die Verkürzungsfraktion nach der Operation bei beiden Gruppen signifikant herabgesetzt war.

Neun Tage nach der Operation war die FS der Tiere, bei denen eine Reperfusion durchgeführt wurde, von 38,89 % auf 17,93 % gesunken. Die FS der Mäuse, bei denen eine Dauerokklusion vorgenommen wurde, sank von 38,67 % auf 11,31 %. Dies war ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Die FS der Gruppe A (17,39 %), die im Vergleich zur Gruppe B (11,31 %) weniger stark herabgesetzt war, lässt sich durch die Schwere des Eingriffs erklären. Eine Ischämiezeit von neun Tagen führte demnach zu einem deutlich größeren Infarkt als eine Ischämiezeit von nur 30 Minuten. Dieser Unterschied in den Ergebnissen der Gruppen A und B war aber deutlich geringer als der, den die MRT Ergebnisse aufwiesen (Gruppe A: 54,06 %, Gruppe B: 23,30 %).

Der linksventrikuläre endsystolische Durchmesser stieg sowohl bei der Gruppe A, als auch bei Gruppe B post operationem an. Die linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke nahm bei Gruppe A und B nach der Operation ab und die Dicke des linksventrikulären Septums nahm bei beiden Gruppen nach dem chirurgischen Eingriff ab. Diese Werte sind auf die Umbauprozesse und die damit einhergehenden Funktionseinschränkungen und Kompensationsversuche nach einem Myokardinfarkt zurückzuführen.

Der Anästhesievergleich zwischen der Gruppe, die mit Isofluran und der Gruppe, die mit MMF anästhesiert wurde, zeigte keinen signifikanten Unterschied in der Auswurfaktion. Dies bedeutet, dass trotz der verschiedenen Medikamente, die für die Echokardiographie und für die MRT verwendet wurden, diese keinen Einfluss auf die Herzaktion haben und die Ergebnisse daher miteinander verglichen werden können.

Die Ultraschalluntersuchung der MLP-Knockout-Mäuse zeigte, mit 16,22 % FS im Mittelwert, im Gegensatz zur Kontrollgruppe (Gruppe C) einen signifikanten Unterschied. Durch die dilatative Kardiomyopathie, an der diese Tiere litten, waren ihre Herzen stark verändert. Die ausgedünnte Kammerwand spiegelte sich in den größeren Werten der Kammerdurchmesser im Vergleich zu der Kontrollgruppe wieder. Die Dilatation und Ausdünnung zieht eine Funktionseinschränkung nach sich, die typisch für eine dilatative Kardiomyopathie ist (ARBER et al. 1997; CONSTANDI et al. 2006). Schon 1997 fanden ARBER et al. heraus, dass Knockout-Mäuse des MLP-Stammes dilatierte Kammern, ausgedünnte Wände, reduzierte systolische und diastolische Funktionen und erniedrigte Verkürzungsfractionen zeigen.

4.2.4 Ergebnisse der magnetresonanztomographischen Untersuchungen

Zwischen der Kontrollgruppe (Gruppe C), der Gruppe der reperfundierten Mäuse (Gruppe A) und der Gruppe der Dauerokklusionen (Gruppe B) sind nur teilweise deutliche Unterschiede in den Ergebnissen zu erkennen. Während die gesunden Mäuse der Kontrollgruppe im Mittelwert bei 56,86 % lagen, zeigten die Tiere mit den 30-minütigen-Ischämiezeiten eine Auswurfleistung von 54,06 % und die Mäuse, bei denen eine Dauerokklusion durchgeführt wurde, hatten im Durchschnitt eine Auswurfleistung von 23,30 %. Die Ergebnisse der Gruppe mit der kurzen Ischämiezeit und der Kontrollgruppe zeigten keinen signifikanten Unterschied. Die Ergebnisdifferenz zwischen den Mäusen mit der kurzen und denen mit der langen Ischämiezeit ist auf die unterschiedliche Schwere des zugeführten Infarktes zurückzuführen. Eine Ischämiezeit von 30 Minuten mit anschließender Reperfusion führt zu Umbauprozessen im Herzen, die schließlich in einem narbigen Gewebe enden. Trotz des zugeführten Infarktes

zeigten diese Mäuse aber kaum Auffälligkeiten im Vergleich mit den Ergebnissen gesunder Mäuse. Dies lässt vermuten, dass 30 Minuten Ischämiezeit zuwenig sein könnten, um die Herzleistung so deutlich herabzusetzen, dass sie vom MRT detektiert werden könnte und um damit einen sichtbaren Unterschied zu den gesunden Tieren zu erhalten. Durch eine Dauerokklusion wird dem Herzen ein größerer Schaden zugefügt. Durch den nicht mehr gewährleisteten Blutfluss kommt es zu einem großen Infarktgebiet. Der Schaden am Herzen kann im Gegensatz zu den Mäusen, die eine Reperfusion haben, nur noch unzureichend kompensiert werden. Die Größe des Infarktes und die damit verbundene Herzleistungsfähigkeit spiegeln sich in den Ergebnissen wieder.

Obwohl die Mäuse nach dem Infarkt stark herabgesetzte Auswurfleistungen zeigten, pumpte das Septum dieser Tiere aber verhältnismäßig gut. Da bei der Maus aus der rechten Koronararterie ein septaler Ast zur Versorgung des Kammerseptums entspringt, fällt dies nicht, wie beim Menschen, in das Aufgabengebiet der linken Koronararterie (AHN et al. 2004).

ROSS et al. zeigten 2002 in einer Untersuchung mit Mäusen im MRT, dass die Auswurfraction dieser Tiere nach einem experimentellen Myokardinfarkt um die Hälfte herabgesetzt war.

Die Auswurfractionen der MLP-Knockout-Mäuse waren im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant herabgesetzt (29,95 %). Die linken Kammern der Knockout-Mäuse waren vergrößert und die Wände dilatiert. Es kommt dadurch zu einem starken Verlust der Pumpleistung, was die erniedrigte Auswurfleistung der Herzen erklärt (ARBER et al. 1997; OMENS et al. 2002). Schon bei Geburt haben die MLP-Mäuse Defekte am Herzen ausgebildet. Auffällig sind die weichen Herzen und die zerstörte Kardiomyozytenstruktur, die durch die Nichtanwesenheit des MLP hervorgerufen werden (ARBER et al. 1997).

4.2.5 Infarktgröße

Nach einer 30-minütigen-Ischämiezeit entwickelten die Mäuse der Gruppe A einen Infarkt, der 15,86 % des linken Ventrikels einnahm. Im Gegensatz dazu nahm der Infarkt bei den Mäusen nach einer Dauerokklusion 23,74 % des linken Ventrikels ein. Dieser Unterschied zwischen den beiden Gruppen verdeutlicht, dass bereits 30 Minuten Ischämiezeit einen Infarkt hervorruft, eine Dauerokklusion aber einen wesentlich größeren Infarkt induziert.

Vergleicht man die Ergebnisse der Echokardiographie, der Magnetresonanztomographie und der Pathologie, so gelangt man zu dem Erkenntnis, dass die Ergebnisse zwar miteinander

DISKUSSION

korrelieren, aber dennoch große Unterschiede aufweisen. Die Gruppe der reperfundierten Mäuse zeigte im Ultraschall eine herabgesetzte Verkürzungsfraction, im MRT eine kaum verminderte Auswurfleistung und bei der histologischen Untersuchung eine Infarktgröße, die 15,86 % des linken Ventrikels einnahm. Trotz des gesetzten Infarktes waren die Mäuse in der Lage, diesen soweit zu kompensieren, dass die im MRT messbare Herzleistung kaum verändert war. Im Ultraschall ließ sich ein Unterschied vor und nach der Operation darstellen. Die Ergebnisse der MRT hingegen zeigten nach der kurzen Ischämiezeit kaum eine veränderte EF.

Dies könnte darauf hindeuten, dass der 1,5 Tesla Scanner für solch kleine Infarkte, wie sie nach 30 Minuten Ischämie entstehen, nicht sensitiv genug ist. Eine andere Möglichkeit wäre eine Überschätzung der Infarktgrößen auf Seiten des Ultraschallgerätes. Für diese Möglichkeit spricht, dass es zunächst bei den Ergebnissen des Ultraschalls zu einem großen Sprung innerhalb der Verkürzungsfraction kam, die Sensitivität innerhalb der Infarkte jedoch geringer war, verglichen mit der MRT. Die einzelnen Tiere wiesen innerhalb einer Gruppe nur geringe Unterschiede in der FS auf, ganz im Gegensatz zur Magnetresonanztomographie, wo deutliche Unterschiede zwischen den Tieren einer Gruppe auftraten.

Anhand der pathologisch-anatomischen Untersuchung lässt sich aber feststellen, dass eine 30-minütige Ischämiezeit 15,86 % des Ventrikels infarziert. Dies verdeutlicht, dass eine solche Infarktgröße aufgrund mangelnder Sensitivität auf Seiten der MRT nicht detektiert werden kann.

Vergleicht man die Ergebnisse der Dauerokklusionen mit den Ergebnissen nach der kurzen Ischämiezeit, so sind Auswurfleistung und Verkürzungsfraction der Dauerokklusionstiere im direkten Vergleich mit den reperfundierten Mäusen und der Kontrollgruppe nach der Operation beide stark herabgesetzt und die Infarktgröße nimmt einen großen Teil des linken Ventrikels ein.

Auch die erhobenen Daten der Echokardiographie und der MRT von der Kontrollgruppe und von den Mäusen mit dilatativer Kardiomyopathie korrelieren miteinander.

So widersprechen sich die Ergebnisse von Echokardiographie und MRT zwar nicht, aber sie zeigen, dass die Magnetresonanztomographie vor allem im Bereich kleinerer Infarkte keine Sensitivität besitzt. Sie erkennt den Infarkt erst, wenn dieser schon einen großen Teil des linken Ventrikels geschädigt hat. Dies trat bei der vorliegenden Untersuchung erst nach einem Zeitraum von 9 Tagen ein. Eine 30-minütige Ischämiezeit reichte nicht aus, um zwischen den operierten Mäusen und denen der Kontrollgruppe im MRT einen deutlichen Unterschied in den Ergebnissen zu erkennen.

DISKUSSION

Anhand der Ergebnisse lässt sich bei der Echokardiographie eine hohe Messungengenauigkeit feststellen. Sie ist nicht in der Lage feine Unterschiede zwischen den Gruppen zu machen, was vor allem post operationem deutlich wird. Im Gegensatz zu der Magnetresonanztomographie, die kleinere Infarkte nicht wahrnimmt, werden diese von der Echokardiographie hingegen überschätzt.

NAHRENDORF et al. fanden bereits 2006 heraus, dass man mithilfe der Echokardiographie keine kleinen pathologischen Prozesse voneinander unterscheiden kann. Darüber hinaus lassen sich aufgrund der kleinen Größe des Mäuseherzens Kontraktilitätsunterschiede der Gruppen im M-Mode nicht zuverlässig darstellen (SCHERER-CROSBIE 1999). Eine Möglichkeit um die Ergebnisse der Echokardiographie zu verifizieren, wäre der Einsatz von Kontrastmittel zur Berechnung der fractional area change (FAC) (SUEHIRO et al. 2001).

4.3 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Quantifizierung der Auswurfleistung des Herzens konnte in der vorliegenden Arbeit an verschiedenen Modellen der Herzinsuffizienz an der Maus gezeigt werden. Darüber hinaus wird deutlich, dass ein Myokardinfarkt am Mäuseherzen erzeugt und mit Hilfe von Ultraschall und MRT untersucht werden kann.

Durch die genaue Darstellung der Mäuseherzen und vor allem durch die Darstellung des Myokardinfarktes wird die MRT in der Forschung immer mehr an Bedeutung gewinnen und die Echokardiographie langsam verdrängen. Die hier beschriebene Methode kann als Grundlage für weitere Studien mit Mäusen genutzt werden. Es zeigte sich hierbei allerdings, dass sich nur das Dauerokklusionsmodell für weitere Studien eignet, da die MRT für kleine Infarkte nicht sensitiv ist.

Im Anschluss an diese Arbeit soll den Mäusen, denen zuvor ein Myokardinfarkt zugeführt wurde, ebenso wie den MLP-Mäusen, embryonale Progenitorzellen in den Randbereich des Infarktes injiziert werden. Mit diesem Ansatz soll untersucht werden, ob diese Zellen in der Lage sind, den zuvor gesetzten Infarkt zu verkleinern bzw. die von Geburt an schlechte Herzleistung der MLP-Knockout-Mäuse zu verbessern. Um den Erfolg dieses Versuches zu kontrollieren, sollen die Mäuse ebenfalls im MRT untersucht werden. In dieser Studie hat sich gezeigt, dass sich nur das Dauerokklusionsmodell für die Magnetresonanztomographie als geeignet erweist, da die Mäuse mit einer 30-minütigen-Ischämiezeit im Vergleich zu den Kontrolltieren keinen deutlich abgrenzbaren Unterschied im MRT zeigten.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Da die Magnetresonanztomographie (MRT) in der Forschung und Diagnostik immer mehr an Bedeutung gewinnt, war es das Ziel dieser Arbeit, die MRT an verschiedenen Herzinsuffizienzmodellen einer Maus mittels klinischem Scanner zu etablieren und Referenzwerte zu erstellen. Es wurden gesunde Wildtyp-Mäuse untersucht und solche, bei denen zuvor ein Myokardinfarkt durch ein Ischämie/Reperusionsmodell bzw. Dauerokklusionsmodell erzeugt wurde. Durch Ligierung der linken Koronararterie wurde der Myokardinfarkt hervorgerufen. Bei einer Gruppe schloss sich der Ischämie von 30 Minuten eine Reperusionsphase von neun Tagen an, bei der anderen Gruppe wurde eine Dauerokklusion vorgenommen, die über einen Zeitraum von neun Tagen bestehen blieb. Vor und nach dem chirurgischen Eingriff wurden alle Tiere mittels Ultraschall untersucht. Ein 1,5 Tesla Scanner diente nachfolgend zur Untersuchung der Mäuse. Abschließend wurden die Herzen der Mäuse entnommen, mit 2,3,5-Triphenyltertrazolium-Chlorid (TTC) gefärbt, in ca 1 mm dicke Scheiben geschnitten und fotografiert. Die Infarktgröße wurde durch ein Computerprogramm ermittelt. Ein anderer Teil dieser Arbeit bestand in der Untersuchung von Mäusen, bei denen das Muscle LIM Protein (MLP) ausgeknockt war. MLP spielt eine wichtige Rolle bei der Organisation der Kardiomyozyten. Homozygote Knockouts entwickeln bei Geburt eine dilatative Kardiomyopathie, die mittels Ultraschall und MRT untersucht werden sollte. Sowohl die Werte der Echokardiographie, als auch die der MRT waren post operationem deutlich herabgesetzt, und korrelierten miteinander. Die Kontrollgruppe zeigte eine Verkürzungsfraction (FS) von $38 \pm 1,10$ % und eine Auswurfraction (EF) von $56,86 \pm 8,62$ %. Die Gruppe der reperfundierten Mäuse zeigte eine FS von $38,89 \pm 1,15$ % vor und $17,39 \pm 6,28$ % nach der Operation. Im MRT ergab sich für diese Gruppe eine Auswurfraction von $54,06 \pm 3,09$ %. Für die Gruppe der Mäuse, bei der eine Dauerokklusion vorgenommen wurde, ergab sich bei der FS ein Wert von $38,67 \pm 1,24$ % vor und $11,31 \pm 2,60$ % nach der Operation und eine EF von $23,3 \pm 9,86$ %. Für die Mäuse des MLP-Stammes ergaben sich eine FS von $16,22 \pm 2,90$ % und eine EF von $29,95 \pm 5,28$ %. Sie wiesen vergrößerte Herzkammern bei gleichzeitiger Ausdünnung der Kammerwände auf. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass eine 30-minütige-Ischämiezeit einen zu kleinen Infarkt erzeugt, als dass dieser von einem 1,5 Tesla MRT erkannt werden könnte. Veränderungen am Herzen, die durch eine Dauerokklusion hervorgerufen werden oder bei MLP-Knockouts bestehen, sind hingegen durch die MRT deutlich darstellbar. Diese beiden Modelle bieten sind demnach für weitere Forschungen an.

6 SUMMARY

Establishing the magnetic resonance imaging for defining heart functions of mice

Magnetic resonance imaging (MRI) is gaining more and more importance in research and diagnostics. The aim of this study was to establish the MRI for different mice models of cardiac insufficiency through clinical scanner and to develop reference values. In the first part healthy wild-type mice as well as mice who have suffered a myocardial infarction artificially induced through an ischemic reperfusion model / permanent occlusion model have been examined. The myocardial infarction was induced through ligation of the left coronary artery. In one group of mice an ischemia of 30 minutes was followed by a reperfusion time of nine days. In the other group a permanent occlusion lasting for a total of nine days was done. Before and after the surgical procedure all mice were examined via echocardiography followed by an MRI scan with a clinical 1.5 Tesla scanner. Finally, the hearts were excised, dyed with 2,3,5-Triphenyltetrazolium-chloride (TTC), cut into 1mm thick slices and photographs were taken. To determine the size of the infarction a software program was used. In the second part of this study we examined MLP-deficient mice, a knock out mouse lacking the muscle LIM protein (MLP). MLP is very important for organising the cardiomyocyte. Homozygous MLP-mice develop a dilated cardiomyopathy after birth. It was the intention of this study to examine the dilated cardiomyopathy using echocardiography and MRI. Both, the results of the echocardiography as well as the results of the MRI were significantly lower after the surgery and were also correlated to each other. The reference group showed a fractional shortening (FS) of 38 ± 1.10 % and an ejection fraction (EF) of 56.86 ± 8.62 %. The FS value for the group of mice with short ligation time was 38.89 ± 1.15 % before the surgery and 17.39 ± 6.28 % after the surgery. However, the results of the MRI showed an EF of 54.06 ± 3.09 % for this group of mice. For the group of mice with a permanent occlusion the FS was 38.67 ± 1.24 % before the surgery and 11.31 ± 2.60 % after the surgery. The EF value was 23.3 ± 9.86 %. The MLP-mice showed a FS value of 16.22 ± 2.90 % and an EF value of 29.95 ± 5.28 %. This group had dilated cardiac chambers with thinned cardiac walls. The conclusion of this study is, that after a 30 minute ischemia the infarction is much too small to be seen with an 1.5 Tesla scanner, where as the MRI can clearly show the changes caused by permanent occlusion and of MLP-mice. These changes can be evaluated. Hence, these models can be used for further research.

7 LITERATURVERZEICHNIS

ABI-ABDALLAH D, CHAUVET E, BOUCHET-FAKRI L, BATAILLARD A, BRIGUET A, FOKAPU O (2006)

Reference signal extraction from corrupted ECG using wavelet decomposition for MRI sequence triggering: application to small animals.

Biomed Eng Online; 20:5:11

ABRAHAM G, UNGEMACH F R (2006)

Pharmakotherapie der chronischen Herzinsuffizienz bei Hund und Katze.

Tierärztliche Praxis; 34(K): 283-96

AHN D, CHENG L, MOON C, SPURGEON H, LAKATTA EG, TALA MI (2004)

Induction of myocardial infarcts of a predictable size and location by branch pattern probability-assisted coronary ligation in C57BL/6 mice.

Am J Physiol Heart Circ Physiol; 286: H1201-1207

ANTOONS G, VANGHELUWE P, VOLDERS PG, BITO V, HOLEMANS P, CECI M, WUYTACK F, CARONI P, MUBAGWA K, SIPIDO KR (2006)

Increased phospholamban phosphorylation limits the force-frequency response in the MLP^{-/-} mouse with heart failure.

J Mol Cell Cardiol; 40(3): 350-60

ARAI T, KOFIDIS T, BULTE JW, DE BRUIN J, VENOOK RD, BERRY GJ, MCCONNELL MV, QUERTERMOUS T, ROBBINS RC, YANG PC (2005)

Dual in vivo magnetic resonance evaluation of magnetically labeled mouse embryonic stem cells and cardiac function at 1.5 t.

Magn Reson Med; 55(1): 203-9

ARBER S, HUNTER JJ, ROSS J JR, HONGO M, SANSIG G, BORG J, PERRIARD JC, CHIEN KR, CARONI P (1999)

MLP-deficient mice exhibit a disruption of cardiac cytoarchitectural organization, dilated cardiomyopathy, and heart failure.

Cell.; 88(3): 393-403

ASSMANN G, CARMENA R, CULLEN P, FRUCHART JC, JOSSA F, LEWIS B, MANCINI M, PAOLETTI R (1999)

Coronary heart disease: reducing the risk: a worldwide view. International Task Force for the Prevention of Coronary Heart Disease.

Circulation; 2;100(18): 1930-8

AZHAR G, GAO W, LIU L, WEI JY (1999)

Ischemia-reperfusion in the adult mouse heart influence of age.

Exp Gerontol; 34(5): 699-714

BAPTISTA CA, DiDIO LJ, PRATES JC (1991)

Types of division of the left coronary artery and the ramus diagonalis of the human heart.

Jpn Heart J; 32: 323-335

LITERATURVERZEICHNIS

- BARDALES, R. H., HAILEY, L. S., XIE, S. S., SCHAEFER, R. F., HSU, S.-M (1996)
In situ apoptosis assay for the detection of early acute myocardial infarction.
Am J Pathol; 149, 821-829
- BARR, F (1992)
Grundlagen des diagnostischen Ultraschalls.
In: Barr, F (Hrsg.)
Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York: 1-19
- BISHOP J, FEINTUCH A (2006)
Retrospective gating for mouse cardiac MRI.
Magn Reson Med; 55(3): 472-7
- BOERSMA E, AKKERHUIS KM, THÉROUX P, CALIFF RM, TOPOL EJ, SIMOONS ML (1999)
Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibition in non-ST-elevation acute coronary Syndromes.
Circulation; 100: 2045-2048
- BOHM M, BEUCKELMANN DJ, SCHWINGER RH, ERDMANN E (1993)
Current pathophysiologic aspects of heart failure.
Internist (Berl); 34 (10): 886-901
- BOKISCH A, DARIUS H, HEUSCH G, HORT W, MEYER J, MOHR-KAHALY S, RUPPRECHT HJ, VOIGTLÄNDER T (2000)
Koronare Herzkrankheit und Herzinfarkt.
In: ERDMANN E
Klinische Kardiologie: Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße.
5. Auflage, Springer Verlag, Berlin: 295-296, 370-283
- BRAUNWALD E, BRISTOW MR (2000)
Congestive heart failure: fifty years of progress.
Circulation; 14;102(20 Suppl 4): IV14-23
- BUCKINGHAM M, MEILHAC S, ZAFFRAN S (2005)
Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells.
Nat Rev Genet; 6(11): 826-35
- CHATHAM JC, BLACKBAND SJ (2001)
Nuclear magnetic resonance spectroscopy and imaging in animal research.
ILAR J; 42(3): 189-208.
- COATNEY R W. (2001)
Ultrasound imaging: principles and applications in rodent research.
ILAR J.; 42(3): 233-47.
- COLUCCI WS (1997)
Molecular and cellular mechanisms of myocardial failure.
Am J Cardiol; 4; 80(11A): 15L-25L

LITERATURVERZEICHNIS

CONSTANTINIDES P (1966)

Plaque fissuring in human coronary thrombosis.
J Atheroscler Res; 6: 1-17

COSTANDI PN, FRANK LR, MCCULLOCH AD, OMENS JH (2006)

Role of Diastolic Properties in the Transition to Failure in a Mouse Model of Cardiac Dilatation.
Am J Physiol Heart Circ Physiol; 291(6): H2971-9

DAHME E, WEISS E (1999)

Kreislauforgane, Herz und Herzbeutel.
In: DAHME E, WEISS E (Hrsg)
Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere
5. Auflage, Enke Verlag Stuttgart: 13-14

DAVIES MJ, THOMAS A (1984)

Thrombosis and acute coronary-artery lesions in sudden cardiac ischemic death.
N Engl J Med; 310: 1137-1140

DAVIES MJ, THOMAS AC (1985)

Plaque fissuring--the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina.
Br Heart J; 53(4): 363-73

DAVIES MJ, THOMAS AC, KNAPMAN PA, HANGARTNER JR (1986)

Intramyocardial platelet aggregation in patients with unstable angina suffering sudden ischemic cardiac death.
Circulation; 73: 418-427

DAVIS MJ, WOOLF N, ROBERTSON WB (1976)

Pathology of acute myocardial infarction with particular reference to occlusive coronary thrombi.
Br. Heart J; 38: 659-64.

DENNIS, R. (1996):

An introduction to veterinary CT and MR scanning.
Vet. Ann: 36, 16-39

DIEZ O, HUSKAMP B (1999)

Gefäßkrankheiten, Arterien.
In: DIEZ O, HUSKAMP B (HRSG)
Handbuch der Pferdepraxis
2. Auflage, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart: 295

DOEVENDANS PA, DAEMEN MJ, DE MUINCK ED, SMITS JF (1998)

Cardiovascular phenotyping in mice.
Cardiovasc Res; 39(1): 34-49.

DORN GW 2ND, MOLKENTIN JD (2004)

LITERATURVERZEICHNIS

Manipulating cardiac contractility in heart failure: data from mice and men.
Circulation; 20;109(2): 150-8

EI-MARAGHI N, GENTON E (1980)

The relevance of platelet and fibrin thromboembolism of the coronary microcirculation, with special reference to sudden cardiac death.

Circulation; 62: 936-944

ENGLER RL, DAHLGREN MD, MORRIS DD, PETERSON MA,
SCHMID-SCHONBEIN GW (1986)

Role of leucocytes in response to acute myocardial ischemia and reflow in dogs.

Am J Physiol; 251: H314-323

ENTMANN ML, YOUKER KA, FRANGOIANNIS N, LAKSHMINARAYANAN V,
NOSSULI T, EVANS A, KURRELMAYER K, MANN DL, SMITH CW (2000)

Is inflammation good for the ischemic heart-perspectives beyond the ordinary.

Z Kardiol; 89 Suppl 9: IX/82-87

ESPOSITO G, SANTANA LF, DILLY K, CRUZ JD, MAO L, LEDERER WJ, ROCKMAN
HA (2000)

Cellular and functional defects in a mouse model of heart failure.

Am J Physiol Heart Circ Physiol; 279(6): H3101-12

FALK E (1983)

Plaque rupture with severe pre-existing stenosis precipitating coronary thrombosis.

Characteristics of coronary atherosclerotic plaques underlying fatal occlusive thrombi.

Br Heart J; 50: 127-134

FALK E (1985)

Unstable angina with fatal outcome: dynamic coronary thrombosis leading to infarction and/or sudden death. Autopsy evidence of recurrent mural thrombosis with peripheral embolization culminating in total vascular occlusion.

Circulation; 71: 699-708

FALK T, JONSSON L (2000)

Ischaemic heart disease in the dog: a review of 65 cases.

J Small Anim Pract; 41(3): 97-103

FERRARI R, CECONI C, CURELLO S, GUARNIERI C, CALDARERA CM,
ALBERTINI A, VISIOLI O (1985)

Oxygen-mediated myocardial damage during ischaemia and reperfusion: role of the cellular defences against oxygen toxicity.

J Mol Cell Cardiol; 17: 937-945

FINSEN AV, CHRISTENSEN G, SJAASTAD I. (2004)

Echocardiographic parameters discriminating myocardial infarction with pulmonary congestion from myocardial infarction without congestion in the mouse.

J Appl Physiol; 98(2): 680-9

FLÜCKINGER M (2003)

Ultraschalldiagnostik, Herz.

LITERATURVERZEICHNIS

In: HORZINEK M C, SCHMIDT V, LUTZ H (Hrsg)

Krankheiten der Katze

3.Aufl., Enke Verlag, Stuttgart: 91

FORMAN MB, PUETT DW, VIRMANI R. (1989)

Endothelial and myocardial injury during ischemia and reperfusion: pathogenesis and therapeutic implications.

J Am Coll Cardiol; 13(2): 450-9.

FORMAN MB, VIRMANI R, PUETT DW (1990)

Mechanism and therapy of myocardial reperfusion injury.

Circulation; 81(3 Suppl): IV 69-78

FRANCO F, DUBOIS SK, PESHOCK RM, SHOHET RV (1998)

Magnetic resonance imaging accurately estimates LV mass in a transgenic mouse model of cardiac hypertrophy.

Am J Physiol; 274(2 Pt 2): H679-83.

FREY H-H (2002)

Pharmakologie der Niere, Diuretika.

In: FREY H-H, LÖSCHER W (Hrsg)

Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin

2. Aufl., Enke Verlag, Stuttgart: 194,195

FUSTER V, FAYAD ZA, BADIMON JJ (1999)

Acute coronary syndromes: biology.

Lancet; 353 Suppl 2: SII5-9

GARDIN JM, SIRI FM, KITSIS RN, EDWARDS JG, LEINWAND LA (1995)

Echocardiographic assessment of left ventricular mass and systolic funktion in mice.

Circulation; 76: 907-914

GAWAZ M (2004)

Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium.

Cardiovasc Res; 61: 498-511

GEIER C, PERROT A, OZCELIK C, BINNER P, COUNSELL D, HOFFMANN K, PILZ B, MARTINIAK Y, GEHMLICH K, VAN DER VEN PF, FURST DO, VORNWALD A, VON HODENBERG E, NURNBERG P, SCHEFFOLD T, DIETZ R, OSTERZIEL KJ (2003)

Mutations in the human muscle LIM protein gene in families with hypertrophic cardiomyopathy.

Circulation; 18; 107(10): 1390-5

GÖBEL T, EWRINGMANN A (2005)

Meerschweinchen, Herz und Kreislaufsystem, Kardiomyopathie.

In: GÖBEL T, EWRINGMANN A,

Heimtierkrankheiten

1.Auflage, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart: 87, 112, 241-243

GOLDBOURT U, NEUFELD HN (1986)

LITERATURVERZEICHNIS

Genetic aspects of arteriosclerosis.
Arteriosclerosis; 6: 357-377

GORDON DJ, RIFKIND BM (1989)
High-density lipoprotein – the clinical implications of recent studies.
N Engl J Med; 321: 1311-1616

GREVE JM, LES AS, TANG BT, DRANEY BLOMME MT, WILSON NM, DALMAN RL, PELC NJ, TAYLOR CA (2006)
Allometric Scaling of Wall Shear Stress from Mouse to Man: Quantification Using Cine Phase-Contrast MRI and Computational Fluid Dynamics.
Am J Physiol Heart Circ Physiol; 291(4): H1700-8

GRINES CL, BROWNE KF, MARCO J, ROTHBAUM D, STONE GW, O'KEEFE J, OVERLIE P, DONOHUE B, CHELLIAH N, TIMMIS GC, VLIETSTRA RE, STRZELECKI M, PUCHROWICZ-OCOCKI S, O'NEILL WW (1993)
A comparison of immediate angioplasty with thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. The Primary Angioplasty in Myocardial Infarction Study Group.
N Engl J Med; 11;328(10): 673-9

GROSSMAN W, JONES D, MCLAURIN LP. (1975)
Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle.
J Clin Invest; 56(1): 56-64

GRZESKOWIAK R, WITT H, DRUNGOWSKI M, THERMANN R, HENNIG S, PERROT A, OSTERZIEL KJ, KLINGBIEL D, SCHEID S, SPANG R, LEHRACH H, RUIZ P (2003)
Expression profiling of human idiopathic dilated cardiomyopathy.
Cardiovasc Res; 1; 59(2): 400-11

HANSEN PR (1998)
Inflammatory alterations in the myocardial microcirculation.
J Mol Cell Cardiol; 30: 2555-2559

HARKEN AH, SIMSON MB, HASELGROVE J, WETSTEIN L, HARDEN WR 3rd, BARLOW CH (1981)
Early ischemia after complete coronary ligation in the rabbit, dog, pig and monkey.
Am J Physiol; 241: H202-210

HAYASHI T, ARIMURA T, ITOH-SATOH M, UEDA K, HOHDA S, INAGAKI N, TAKAHASHI M, HORI H, YASUNAMI M, NISHI H, KOGA Y, NAKAMURA H, MATSUZAKI M, CHOI BY, BAE SW, YOU CW, HAN KH, PARK JE, KNOLL R, HOSHIIJIMA M, CHIEN KR, KIMURA A (2004)
Tcap gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy.
J Am Coll Cardiol; 7;44(11): 2192-201

HEARSE DJ, MAXWELL L, SALDANHA C, GAVIN JB (1993)
The myocardial vasculature during ischemia and reperfusion: a target for injury and protection.
J Mol Cell Cardiol; 25: 759-800

HEIJMAN E, STRIJKERS GJ, HABETS J, JANSSEN B, NICOLAY K (2004)

LITERATURVERZEICHNIS

- Magnetic resonance imaging of regional cardiac function in the mouse.
MAGMA; 17(3-6): 170-8
- HEINDL B, ZÄHLER S, WELSCH U, BECKER BF (1998)
Disparate effects of adhesion and degranulation of platelets on myocardial and coronary function in postischaemic hearts.
Cardiovasc Res; 38(2): 383-94
- HENDERSON A (1996)
Coronary heart disease: overview.
Lancet; 348: 1-4
- HIBA B, RICHARD N, JANIER M, CROISILLE P (2006)
Cardiac and respiratory double self-gated cine MRI in the mouse at 7 T.
Magn Reson Med; 55(3): 506-13
- HOMBACH V, GREBE O, BOTNAR R (2004)
In: Kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie
Schattauer Verlag, Stuttgart: 1-16
- HOSTMARK AT, OSLAND A, SIMONSEN S, LEVORSTAD K (1990)
Lipoprotein-related coronary risk factors in patients with angiographically defined coronary artery disease: relation to number of stenosed arteries.
J Intern Med; 228: 317-321
- HU TC, BAO W, LENHARD SC, SCHAEFFER TR, YUE TL, WILLETTE RN, JUCKER BM (2004)
Simultaneous assessment of left-ventricular infarction size, function and tissue viability in a murine model of myocardial infarction by cardiac manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI).
NMR Biomed; 17(8): 620-6
- ICARDO JM, COLVEE E (2001)
Origin and course of the coronary arteries in normal mice and in iv/iv mice.
J Anat; 199: 473-482
- JENNINGS RB, SOMMERS HM, SMYTH GA, FLACK HA, LINN H (1960)
Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog.
Arch Pathol; 70: 68-78
- JENNINGS RB, REIMER KA, HILL ML, MAYER SE (1981)
Total ischemia in dog hearts, in vitro. 1. Comparison of high energy phosphate production, utilization, and depletion, and adenine nucleotide catabolism in total ischemia in vitro vs. severe ischemia in vivo.
Circ Res; 49: 892-900
- KERSTEN U, MORISSE B (2001)
Herzkrankheiten, Therapie der Herzinsuffizienz.
In: NIEMAND H G, SUTER P F (Hrsg)
Praktikum der Hundeklinik
9. Aufl, Paul Parey Verlag, Berlin: 598-602

LITERATURVERZEICHNIS

- KEYS JR, KOCH WJ (2004)
The adrenergic pathway and heart failure.
Recent Prog Horm Res; 59: 13-30
- KLINGER MH, JELKMANN W (2002)
Role of blood platelets in infection and inflammation.
J Interferon Cytokine Res; 22: 913-922
- KLONER RA, GANOTE CE, JENNINGS RB (1974)
The "no-reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog.
J Clin Invest; 54: 1496-1508
- KOBER F, ILTIS I, COZZONE PJ, BERNARD M (2004)
Cine-MRI assessment of cardiac function in mice anesthetized with ketamine/xylazine and isoflurane.
MAGMA; 17(3-6): 157-61
- KÖHLER, E (2001)
Physikalisch technische Grundlagen der Echokardiographie.
In: Köhler E, Tataru M.-C (Hrsg.)
Klinische Echokardiographie
5. Auflage, Enke im Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York: 1-35
- KRISHNA MC, DEVASAHAYAM N, COOK JA, SUBRAMANIAN S, KUPPUSAMY P, MITCHELL JB (2001)
Electron paramagnetic resonance for small animal imaging applications.
ILAR J; 42(3): 209-18
- KRUG A, Du MESNIL De ROCHEMONT, KORB G (1966)
Blood supply of the myocardium after temporary coronary occlusion.
Circ Res; 19: 57-62
- KUSTERMANN E, ROELL W, BREITBACH M, WECKER S, WIEDERMANN D, BUEHRLE C, WELZ A, HESCHELER J, FLEISCHMANN BK, HOEHN M (2005)
Stem cell implantation in ischemic mouse heart: a high-resolution magnetic resonance imaging investigation.
NMR Biomed; 18(6): 362-70
- LEE J. A (1995)
The pathology of cardiac ischemia: cellular and molecular aspects.
J Pathol; 175(2): 167-174.
- LIN MC, ROCKMAN HA, CHIEN KR (1995)
Heart and lung disease in engineerd mice.
Nat Med; 1: 749-751
- LIEBIG H. G (1998)
Muskelgewebe.
In: Liebig H.G (Hrsg)
Funktionelle Histologie der Haussäugetiere
3.Aufl. Schattauer Verlag Stuttgart: 91

LORENZEN-SCHMIDT I, STUYVERS BD, TER KEURS HE, DATE MO, HOSHIJIMA M, CHIEN KR, MCCULLOCH AD, OMENS JH (2005)

Young MLP deficient mice show diastolic dysfunction before the onset of dilated cardiomyopathy.

J Mol Cell Cardiol; 39(2): 241-50

LUM H, BARR DA, SHAFFER JR, GORDON RJ, EZRIN AM, MALIK AB (1992)

Reoxygenation of endothelial cells increases permeability by oxidant-dependent mechanisms. Circ Res; 70: 991-998

LUSIS AJ (2000)

Atherosclerosis.

Nature; 407: 233-241

MACH F, SCHONBECK U, BONNEFOY JY, POBER JS, LIBBY P (1997)

Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin, and tissue factor.

Circulation; 96: 396-399

MACLELLAN WR, SCHNEIDER MD (1997)

Death by design. Programmed cell death in cardiovascular biology and disease.

Circ Res; 81(2): 137-44

MARBAN E, KORETSUNE Y, CORRETTI M, CHACKO VP, KUSUOKA H. (1989)

Calcium and its role in myocardial cell injury during ischemia and reperfusion.

Circulation; 80(6 Suppl): IV17-22

MARIAN AJ (2005)

On mice, rabbits, and human heart failure.

Circulation; 111(18): 2276-9

MASSIE BM, SHAH NB (1996)

The heart failure epidemic: Magnitude of the problem and potential mitigating approaches.

Curr. Opin. Cardiol; 11(3): 221-6

MAXWELL SR, LIP GY (1997)

Reperfusion injury. A review of the pathophysiology, clinical manifestation and therapeutic options.

Int J Cardiol; 58: 95-117

McALPINE WA (1975)

The branches of the coronary arteries.

In: MC ALPINE WA (Hrsg)

Heart and coronary arteries

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg: 163-178

MEHTA P (2002)

Aspirin in the prophylaxis of coronary artery disease.

Curr Opin Cardiol; 17: 552-558

LITERATURVERZEICHNIS

- MICHAEL LH, ENTMAN ML, HARTLEY GJ, YOUKER KA, ZHU J, HALL SR, HAWKINS HK, BERENS K, ALLANTYNE CM (1995)
Myocardial ischemia and reperfusion: a murine model.
Am J Physiol; 269: H2147-2154
- MIKI T, LIU GS, COHEN MV, DOWNEY JM (1998)
Mild hypothermia reduces infarct size in the beating rabbit heart: A practical intervention for acute myocardial infarction?
Basic Res Cardiol; 93: 372-383
- MOHAPATRA B, JIMENEZ S, LIN JH, BOWLES KR, COVELER KJ, MARX JG, CHRISCO MA, MURPHY RT, LURIE PR, SCHWARTZ RJ, ELLIOTT PM, VATTA M, MCKENNA W, TOWBIN JA, BOWLES NE (2003)
Mutations in the muscle LIM protein and alpha-actinin-2 genes in dilated cardiomyopathy and endocardial fibroelastosis.
Mol Genet Metab; 80(1-2): 207-15
- MORISSE B (2001)
Herzkrankheiten, Echokardiographie.
In: NIEMAND H G, SUTER P F (Hrsg)
Praktikum der Hundeklinik
9. Aufl, Paul Parey Verlag, Berlin: 574, 586, 587
- NAHRENDORF M, STREIF JU, HILLER KH, HU K, NORDBECK P, RITTER O, SOSNOVIK D, BAUER L, NEUBAUER S, JAKOB PM, ERTL G, SPINDLER M, BAUER WR (2006)
Multimodal functional cardiac MRI in creatine kinase-deficient mice reveals subtle abnormalities in myocardial perfusion and mechanics.
Am J Physiol Heart Circ Physiol; 290(6): H2516-21
- NAYLER WG, ELZ JS (1986)
Reperfusion injury: laboratory artifact or clinical dilemma?
Circulation; 74: 215-221
- NORDT TK, BODE C (2001)
[Optimal thrombolysis]
Z Kardiol; 90(8): 591-5
- OMENS JH, USYK TP, LI Z, MCCULLOCH AD (2002)
Muscle LIM protein deficiency leads to alterations in passive ventricular mechanics.
Am J Physiol Heart Circ Physiol; 282(2): H680-7
- PAIGEN K (1995)
A miracle enough: the power of mice.
Nat Med; 1: 215-220
- PATTEN RD, ARONOVITZ MJ, DERAS-MEJIA L, PANDIAN NG, HANAK GG, SMITH JJ, MENDELSON ME, KONSTAM MA (1998)
Ventricular remodeling in a mouse model of myocardial infarction.
Am J Physiol; 274: H1812-1820

LITERATURVERZEICHNIS

POULSEN NAUTRUP,C (2001)

Physikalische Grundlagen.

In : POULSEN NAUTRUP C, TOBIAS R (Hrsg)

Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze

3. Auflage, Schlütersche, Hannover:21-30 ;31-59

REIMER KA, MURRY CE, RICHARD VJ (1989)

The role of neutrophils and free radicals in the ischemic-reperfused heart: why the confusion and controversy?

J Mol Cell Cardiol; 21(12): 1225-39

RENTROP KP, BLANKE H, KARSCH KR, WIEGAND V, KOSTERING H, OSTER H, LEITZ K (1979)

Acute myocardial infarction: intracoronary application of nitroglycerin and streptokinase.

Clin Cardiol; 2(5): 354-63

ROSS AJ, YANG Z, BERR SS, GILSON WD, PETERSEN WC, OSHINSKI JN, FRENCH BA (2002)

Serial MRI evaluation of cardiac structure and function in mice after reperfused myocardial infarction.

Magn Reson Med; 47(6): 1158-68

ROSS R (1993)

The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s.

Nature; 362: 801-809

RUGGERI ZM (2004)

Platelet and von Willebrand factor interactions at the vessel wall.

Hämostaseologie; 24: 1-11

RUPPRECHT HJ, MEYER J (2003)

Historische Entwicklung und Technik der mechanischen Reperfusionstherapie.

Verlag Medtronic GmbH, PTC Aktuell; Nr. 22. 1-6

SALTO-TELLEZ M, YUNG LIM S, EL-OAKLEY RM, TANG TP, ALMSHERQI ZA, LIM SK (2004)

Myocardial infarction in the C57BL/6J mouse. A quantifiable and highly reproducible experimental model.

Cardiovasc Pathol; 13: 91-97

SARASTE A, PULKKI K, KALLAJOKI M, HENRIKSEN K, PARVINEN M, VOIPIO-PULKKI LM (1997)

Apoptosis in human acute myocardial infarction.

Circulation; 21;95(2): 320-3

SCHAPER W, De BRABANDER M, LEWI P (1971)

DNA synthesis and mitoses in coronary collateral vessels of the dog.

Circ Res; 28: 671-679

LITERATURVERZEICHNIS

SCHERRER-CROSBIE M, STEUDEL W, HUNZIKER PR, LIEL-COHEN N, ULLRICH R, ZAPOL WM, PICARD MH (1999)

Three-dimensional echocardiographic assessment of left ventricular wall motion abnormalities in mouse myocardial infarction.

J Am Soc Echocardiogr; 12: 834-840

SCHNACKENBURG B (2004)

In: HOMBERG, GROBE, BOTNAR (Hrsg)

Kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie, Physikalische Grundlagen der MR-Bildgebung.

1. Auflage, Schattauer Verlag Stuttgart, New York: 1-27

SCHUMMER A, HABERMEHL K H (1984)

Organe des Kreislaufes, Herz

In: NICKEL R, SCHUMMER A, SEIFERLE E (Hrsg.)

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.

2. Aufl., Paul Parey, Berlin: 17-75

SEIDERER, M (1990)

In: LISSNER J, SEIDERER M (Hrsg)

Klinische Kernspintomographie.

2. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart: 1

SHARMA HS, WUNSCH M, BRAND T, VERDUOW PD, SCHAPER W (1992)

Molecular biology of the coronary vascular and myocardial responses to ischemia.

J Cardiovasc Pharmacol; 20 Suppl 1: S23-31

SILVERMAN H. S, STERN M. D (1994)

Ionic basis of ischemic cardiac injury: insights from cellular studies.

Cardiovasc Res; 28(5): 581-97

SIMPSON PJ, LUCCHESI BR (1987)

Free radicals and myocardial ischemia and reperfusion injury.

J Lab Clin Med; 110(1): 13-30

SPANN JF JR, BUCCINO RA, SONNENBLICK EH, BRAUNWALD E (1967)

Contractile state of cardiac muscle obtained from cats with experimentally produced ventricular hypertrophy and heart failure.

Circ Res; 21(3): 341-54

SPONER G (2002)

Pharmakologie des Herz-Kreislauf-Systems, Herz.

In: FREY H-H, LÖSCHER W (Hrsg)

Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin

2. Aufl., Enke Verlag, Stuttgart: 147-157, 167-169

STRAUER BE (2001)

Akuter Myokardinfarkt.

Internist; 42: 629-630

LITERATURVERZEICHNIS

SUEHIRO K, TAKUMA S, SHIMIZU J, HOZUMI T, YANO H, CARDINALE C, DiTULLIO MR, WANG J, SMITH CR, BURKHOFF D, HOMMA S (2001)
Assessment of left ventricular systolic function using contrast two-dimensional echocardiography with a high-frequency transducer in the awake murine model of myocardial infarction.

Jpn Circ J; 65: 979-83

SUTER PF (2001)

Obliterierende Arterienerkrankungen, Stenosen, Arterienverschlüßerkrankungen
Arteriosklerose

In: NIEMAND HG, SUTER PF (Hrsg)

Praktikum der Hundeklinik

9. Auflage, Paray Buchverlag, Berlin: 614

TANAKA N, DALTON N, MAO L, ROCKMAN HA, PETERSON KL, GOTTSALL KR, HUNTER JJ, CHIEN KR, ROSS J (1996)

Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse.

Circulation; 94: 1109-1117

TESHIMA Y, AKAO M, JONES SP, MARBAN E (2003)

Cariporide (HOE642), a selective Na⁺-H⁺ exchange inhibitor, inhibits the mitochondrial death pathway.

Circulation; 108: 2275-2281

TISDALE JE (1998)

Antiplatelet therapy in coronary artery disease: review and update of efficacy studies.

J Health Syst Pharm; 55 (19 Suppl 1): 8-16

TÖNDURY G (1981)

Herz und Herzbeutel.

In: TÖNDURY G (Hrsg)

Angewandte und topographische Anatomie,

5. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York: 51-78

TOMASELLI GF, ZIPES DP 2004

What causes sudden death in heart failure?

Circ Res; 15;95(8): 754-63

VAN DEN BOSCH BJ, VAN DEN BURG CM, SCHOONDERWOERD K, LINDSEY PJ, SCHOLTE HR, DE COO RF, VAN ROOIJ E, ROCKMAN HA, DOEVENDANS PA, SMEETS HJ (2005)

Regional absence of mitochondria causing energy depletion in the myocardium of muscle LIM protein knockout mice.

Cardiovasc Res; 1; 65(2): 411-8

VAN DEN HOEG TL, SHAO Z, LI C, SCHUMACKER PT, BECKER LB (1997)

Mitochondrial electron transport can become a significant source of oxidative injury in cardiomyocytes.

J Mol Cell Cardiol; 29: 2441-2450

VAN DER WAL AC, BECKER AE, VAN DER LOOS CM, DAS PK (1994)

LITERATURVERZEICHNIS

Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterised by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation*; 89: 36-44

VERDOUW PD, Van den DOEL M, De ZEEUW S, DUNCKER DJ (1998)
Animal models in the study of myocardial ischaemia and ischaemic syndromes. *Cardiovasc Res*; 39: 121-135

WIESMANN F, HASE A (2004)
In: HOMBERG, GROBE, BOTNAR (Hrsg)
Kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie, Physikalische Grundlagen der MR-Bildgebung.
1. Auflage, Schattauer Verlag Stuttgart, New York: 119-129

WILDING JR, SCHNEIDER JE, SANG AE, DAVIES KE, NEUBAUER S, CLARKE K (2005)
Dystrophin- and MLP-deficient mouse hearts: marked differences in morphology and function, but similar accumulation of cytoskeletal proteins. *FASEB J*; 19(1): 79-81

YANG Z, BERR SS, GILSON WD, TOUFEKTSIAN MC, FRENCH BA (2004)
Simultaneous evaluation of infarct size and cardiac function in intact mice by contrast-enhanced cardiac magnetic resonance imaging reveals contractile dysfunction in noninfarcted regions early after myocardial infarction. *Circulation*; 9; 109(9): 1161-7

YTREHUS K (2000)
The ischemic heart-experimental models. *Pharmacol Res*; 42: 193-203

YUSUF S, HAWKEN S, OUNPUU S, DANS T, AVEZUM A, LANAS F, McQUEEN M, BUDAJ A, PAIS P, VARIGOS J, LISHENG L (2004)
Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*; 364: 937-952

ZHOU R, PICKUP S, GLICKSON JD, SCOTT CH, FERRARI VA (2003)
Assessment of global and regional myocardial function in the mouse using cine and tagged MRI. *Magn Reson Med*; 49(4): 760-4

ZOLOTAREVA AG, KOGAN ME (1978)
Production of experimental occlusive myocardial infarction in mice. *Cor Vasa*; 20: 308-314

8 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Einteilung der Schweregrade der Herzisuffizienz nach NYHA.....	5
Tabelle 2: Übersicht Versuchsplan.....	36
Tabelle 3: Blutverlust der Mäuse.....	52
Tabelle 4: Übersicht der Einzelergebnisse der Gruppe A	53
Tabelle 5: Übersicht der Einzelergebnisse der Gruppe B	53
Tabelle 6: Übersicht der Einzelergebnisse der Gruppe C	54
Tabelle 7: Übersicht der Einzelergebnisse der Gruppe D	54
Tabelle 8: Übersicht der Ergebnisse der Verkürzungsfractionen der Gruppen A, B, C und D.....	55
Tabelle 9: Übersicht der Ergebnisse des Anästhesievergleichs.....	59
Tabelle 10: Übersicht der Einzelergebnisse der MRT Untersuchungen der Gruppen A und C.....	61
Tabelle 11: Übersicht der Einzelergebnisse der MRT Untersuchungen der Gruppen B und D.....	62
Tabelle 12: Übersicht der Ergebnisse der Auswurfraction der Gruppen A, B, C und D	62
Tabelle 13: Ergebnisse der Infarktgröße der Gruppen A und B.....	63

9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Sarkomers (LIEBIG 1998) 2

Abbildung 2: Auswirkugen der Herzinsuffizienz auf den Organismus 4

Abbildung 3: Die Rolle des Angiotensin-Converting-Enzyms 18

Abbildung 4: Links: Verlauf der linken Koronararterie (LAD, left anterior descendens) mit unterschiedlichen Bifurkationstypen am Mäuseherzen, Aufsicht aus chirurgischer Sicht auf den linken Ventrikel mit Herzohren; Rechts: Photographie eines Herzausgusses des arteriellen Systems und der Koronararterien der Maus; rca: rechte Koronararterie, die sich in zwei Gefäße aufteilt nach dem Verlassen der Aortenwurzel; lad: linke Koronararterie; ao: Aortenbogen; ca: A.carotis (nach Michael et al. 1995) 22

Abbildung 5: Der Kernspin als Drehimpuls des Atomkerns um seine Achse 26

Abbildung 6: Die Präzession des Spins im äusseren Magnetfeld..... 27

Abbildung 7: Die transversale oder T2-Relaxation eines Gewebes ist definiert als der Zeitpunkt, an dem 63 % aller Spins in der Transversalebene dephasiert sind. 29

Abbildung 8: Die longitudinale oder T1-Relaxation eines Gewebes definiert sich als die Zeit, in der 63 % der T1-Relaxation des Gewebes abgelaufen sind..... 29

Abbildung 9: Längsachsenaufnahme von Mäuseherzen im MRT (a) vor und (b) 28 Tage nach einem Myokardinfarkt..... 33

Abbildung 10: Schema zum Versuchsablauf 36

Abbildung 11: Brustlage der Maus auf der Vorlaufstrecke während der Echokardiographie 39

Abbildung 12: Echokardiographische Darstellung des linken Ventrikels eines Mäuseherzens im M-Mode, Kurzachsenschnitt 40

Abbildung 13: Vorbereitung des Operationsfeldes..... 41

Abbildung 14: Fixation der Maus auf der Wärmematte, Einführen der Temperatursonde und Sauerstoffzufuhr über die Nasenkammer 42

Abbildung 15: Oben: Intubation und Anschluss an das Beatmungsgerät; Unten: vergrößerte Darstellung der Intubation (12-fache Vergrößerung) 43

Abbildung 16: Oben: Eingeführter Rippenspreizer in den Intercostalraum, Blick in die linke Herzkammer; Unten: Ligierte linke Koronararterie, unterlegt mit einem Polyethylen Schlauch (12-fache Vergrößerung) 45

Abbildung 17: Verschluss des Thorax..... 46

Abbildung 18: Aufbau der MRT 48

Abbildung 19: MRT-Bilder der Ischämie/Reperfusions Gruppe (A) (links) und der Dauerokklusionsgruppe (B) (rechts)..... 48

Abbildung 20: MRT-Bilder der kontrollgruppe (C) (links) und der MLP - Gruppe (D) (rechts) 49

Abbildung 21: Entnommenes Mäuseherz nach Euthanasie..... 50

Abbildung 22: Links: Schematische Darstellung der Zerteilung des Herzens durch den Gewebeschnneider; Rechts: Herzscheiben von Apex (links) bis Basis (rechts) 50

Abbildung 23: Mittelwerte der Verkürzungsfraktion der Gruppen A, B, C und D..... 56

Abbildung 24: Links: Mittelwerte des Linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers der Gruppen A, B, C und D; Rechts: Mittelwerte des Linksventrikulären endsystolischen Durchmessers der Gruppen A, B, C und D..... 57

Abbildung 25: Links: Mittelwerte der Linksventrikulären diastolischen Hinterwanddicke der Gruppen A, B und C; Rechts: Mittelwerte der Dicke des linksventrikulären Septums in der Systole der Gruppen A, B, C und D 58

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 26: Vergleich der Verkürzungsfraction der Gruppe, die mit Isofluran (Gruppe 1) und der Gruppe, die mit MMF (Gruppe 2) anästhesiert wird.....	60
Abbildung 27: Vergleich der Anästhesiegruppen 1 und 2.....	60
Abbildung 28: Vergleich der Mittelwerte der EF der Gruppen A, B, C und D.....	62
Abbildung 29: Vergleich der Mittelwerte der Infarktgröße von den Gruppen A und B	63
Abbildung 30: Darstellung der Infarktgröße der Gruppe A (rechts) und B (links).....	64
Abbildung 31: Herzscheibe einer Maus der Gruppe A, Infarkt mit Pfeil gekennzeichnet	64
Abbildung 32: Herzscheibe einer Maus der Gruppe B, links: Infarkt mit Pfeil gekennzeichnet, rechts: ausgedünnte Apex des Herzens	64
Abbildung 33: Herzscheibe einer Maus der Gruppe C	65
Abbildung 34: Herzscheiben einer Maus der Gruppe D, links: Basisnaher Schnitt, rechts: Apexnaher Schnitt	65

10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
3D	Dreidimensional
ACE	Angiotensin-Converting-Enzym
ADH	Vasopression; antidiuretisches Hormon
AMP	Adenosinmonophosphat
Aqua dest.	Destilliertes Wasser
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
AV-Block	Atrioventrikularblock
Ca⁺⁺	Calcium
Cl⁻	Chlorid
cm	Zentimeter
cm²	Quadratcentimeter
Cox1	Cyclooxygenase 1
Cox2	Cyclooxygenase 2
CRP	Cystinreiche Proteinfamilie
d	englisch: days, Tage
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Echo	Echokardiographie
EDD	Enddiastolischer Diameter
EF	Ejektion fraction = Auswurffraktion
EKG	Elektrokardiogramm
ES Zellen	Embryonale Stammzellen
ESD	Endsystolischer Diameter
et al.	et altera
Fa	Firma
FGF	Fibroblasten-Wachstumsfaktor
FS	Fractional shortening = Verkürzungsfraktion
g	Gramm
GP	Glykoprotein
GPVI Fc	löslichen Form des GPVI
HCM	hyperthrophen Kardiomyopathie
HDL	High Density Lipoprotein
HF	Hochfrequenz
HF-Impuls	Herzfrequenz-Impuls
I/R	Ischämie/Reperfusion
IL1β	Interleukin-1β
IL6	Interleukin-6

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

IVSs	Dicke des linksventrikulären Septums in der Systole
K⁺	Kalium
KHK	Koronare Herzkrankheit
l/min	Liter pro Minute
LAD	Left Anterior Descending Coronary Artery
LCX	Left Circumflex Coronary Artery
LDL	Low Density Lipoprotein
LVDd	Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
LVDs	Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser
LVPWD	Linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke
m/s	Meter pro Sekunde
M1	erste sonographische Messung,
M2	zweite sonographische Messung
mg	Milligramm
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
MHz	Megahertz
MLP	Muscle Lim Protein
mm	Millimeter
MMF	Midazolam-Medetomidin-Fentanyl Narkose
M-Mode	Motion Mode
MRI	Magnet Resonance Imaging
MRT	Magnetresonanztomografie
MW	arithmetischer Mittelwert
n	Anzahl der Probanden
Na⁺	Natrium
NADP	Nicotinsäureamid-Adenosin-Dinucleotid-Phosphat
NMR	Nuklearmagnetische Resonanz
NYHA	New York Heart Association
OP	Operation
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PCR	Polmerase Ketten Reaktion
PTCA	perkutane transluminale coronare Angioplastie
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems
RCA	Right Coronary Artery
RCM	restriktive Kardiomyopathie
SA-Block	Sinualtrialer-Block
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler (Standard Error of Mean,)
SNR	signal-to-noise-ratio
T1	Spin-Gitter-Relaxation
T2	Spin-Spin-Relaxation
T2*-	Dephasierung der Transversalmagnetisierung
TGFβ	transformierender Wachstumsfaktor β
TNFα	Tumor-Nekrose-Faktor-α
TTC	2,3,5-Triphenyltetrazolium-Chlorid
V	Volt
V. , Vv.	Vena, Venae
vs	versus

11 DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. med. vet. M. Stangassinger danke ich herzlich für die Übernahme der Arbeit an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwigs-Maximilians-Universität München.

Herrn Prof. Dr. med. B. Gänsbacher, Direktor des Institutes für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der Technischen Universität München, möchte ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes danken.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. med. Karl-Ludwig Laugwitz für die Unterstützung bei der Erstellungen der Doktorarbeit.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. René Botnar und Alexandra Keithan für die Unterstützung im MRT.

Bei der Arbeitsgruppe Laugwitz/Seyfarth möchte ich mich für die Unterstützung während des gemeinsamen Projektes bedanken. Ganz besonders Dr. med. L. Bottflügel sei herzlich gedankt für die Hilfestellung bei der Statistik und für die Durchsicht des Manuskriptes. Mein Dank gilt auch Herrn Dr.med vet. Chr. Städele, der mir mit viel Geduld die Operationstechnik beigebracht hat.

Ein herzliches Dankeschön gilt auch allen anderen Mitarbeitern des Instituts für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung, insbesondere Frau Dr. med. vet. J. Henke, Frau Hertel, Frau Pohlheimer, sowie allen Tierpflegern.

Meinen Freunden, insbesondere Marlene, danke ich für die Geduld und den Beistand. Meinem Vater danke ich für die finanzielle Unterstützung, ohne ihn wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

12 LEBENS LAUF

Persönliche Daten:

Name:	Constanze Marie-Henriette Schroller
Geburtsdatum:	02.08.1980
Geburtsort:	Düsseldorf
Staatsangehörigkeit:	deutsch

Schulbildung

Ludgerusschule, Städt. Kath. Grundschule Velbert	1986 bis 1990
Geschwister-Scholl-Gymnasium Velbert	1990 bis Mai 1999
Allgemeine Hochschulreife	19.05.1999

Hochschulbildung

Tierärztliche Hochschule Hannover	Oktober 1999 bis Februar 2005
III. Staatsexamen	27.01.2005
Approbation zur Tierärztin	17.02.2005
Experimentelle Promotionsarbeit im Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der Technischen Universität München	Oktober 2005 bis Oktober 2006