

**Untersuchungen zum Einfluss von Erythropoietin  
auf die myokardiale Funktion des ischämischen Schweineherzens**

Christina Rikke Mandel

Aus der kardiologischen Abteilung  
des Allgemeinen Krankenhauses St. Georg in Hamburg  
(Direktor: Prof. Dr. med. K.-H. Kuck)  
unter der Anleitung von Dr. rer. nat. K. Jaquet und Dr. med. K. Krause  
und aus dem  
Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung  
(Direktor: Prof. Dr. med. B. Gänsbacher)  
der Technischen Universität München  
unter der Anleitung von Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt  
in Zusammenarbeit mit dem European Surgical Institute in Norderstedt  
(Direktor: Dr. med. J. Brenner)

vorgelegt über das Institut für Tierpathologie  
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie  
(Vorstand: Prof. Dr. med. vet. habil. W. Schmahl)  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Untersuchungen zum Einfluss von Erythropoietin  
auf die myokardiale Funktion des ischämischen Schweineherzens**

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

von  
Christina Rikke Mandel  
aus Hamburg

München 2005

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle  
Referent: Univ.-Prof. Dr. W. Schmahl  
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. E. Wolf

Tag der Promotion: 15. Juli 2005

*Meinen Eltern*



# Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	SCHRIFTTUM	3
2.1	Schweine als Versuchstiere in der Kardiologie	3
2.2	Anatomie des Herzens bei Schwein und Mensch	4
2.2.1	Situs des Herzens	4
2.2.2	Anatomie der Koronararterien	4
2.2.3	Mikrozirkulation des Herzens und ihre Bedeutung	6
2.3	Kollateralen am Herzen	8
2.4	Koronare Herzkrankheit beim Menschen	9
2.4.1	Definition	9
2.4.2	Epidemiologie	9
2.5	Atherosklerose	10
2.5.1	Definition der Atherosklerose	10
2.5.2	Vorkommen bei Mensch und Schwein	10
2.5.3	Ätiologie der Atherosklerose	11
2.5.4	Pathogenese der Atherosklerose	12
2.6	Hibernating und stunned myocardium	14
2.7	Diagnostik der Koronaren Herzkrankheit	15
2.7.1	Nicht-invasive Diagnostik	15
2.7.2	Invasive Diagnostik	17
2.8	Therapie der Koronaren Herzkrankheit	19
2.8.1	Konservative Therapie und Prophylaxe der stabilen Angina pectoris	19
2.8.2	Interventionelle Verfahren	20
2.8.3	Transmyokardiale Laserrevaskularisation	21
2.8.4	Chirurgische Therapie	22
2.8.4.1	Bypass-Operation	22
2.8.4.2	Herztransplantation	22
2.8.5	Therapeutische Angiogenese	22
2.8.5.1	Definitionen	22
2.8.5.2	Gen- und Proteintherapie	23
2.8.5.3	Zelltherapie	25
2.9	Erythropoietin – ein mögliches Therapeutikum	27
2.10	Ameroid Konstriktor zur Simulation einer Koronarsklerose	30

2.11	Koronarangiographie	31
2.12	Lävoventrikulographie	32
2.13	Kontrastmittel für die Koronarangiographie und die Lävoventrikulographie	32
2.14	Elektromechanisches Mapping (NOGA-Mapping)	33
2.15	Vorteile des NOGA-Mappings	34
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	36
3.1	Zielsetzung	36
3.2	Material und Methoden	36
3.2.1	Versuchstiere und deren Haltung	36
3.2.2	Versuchsplan	37
3.2.3	Phase 1: Implantation des Ameroid Konstriktors	39
3.2.3.1	Anästhesie und perioperative Versorgung der Schweine	39
3.2.3.2	Chirurgische Implantation des Konstriktors	40
3.2.4	Phase 2: Kardiologische Untersuchung/Verlaufskontrolle und intramyokardiale Injektionen	42
3.2.4.1	Anästhesie und perioperative Versorgung der Schweine	42
3.2.4.2	Chirurgische Platzierung der arteriellen Einführschleuse	43
3.2.4.3	Kardiologische Untersuchung	44
3.2.4.3.1	Koronarangiographie	44
3.2.4.3.2	Lävoventrikulographie	45
3.2.4.3.3	Elektromechanisches Mapping	47
3.2.4.3.4	Nachbearbeitung der Maps	53
3.2.4.3.5	Auswertung der Maps	54
3.2.4.4	Intramyokardiale Injektion von Epo/Placebo	59
3.2.4.5	Entfernung der Einführschleuse	61
3.2.5	Phase 3: Kardiologische Untersuchung mit Therapie-Erfolgskontrolle	61
3.2.5.1	Euthanasie, Sektion und Probenentnahme	61
3.2.5.2	Histologische Untersuchungen	62
3.3	Ergebnisse	63
3.3.1	Überlebensrate	63
3.3.2	Hämodynamische Daten	64
3.3.3	Ergebnisse der Koronarangiographie	65
3.3.4	Ergebnisse der Lävoventrikulographie	70
3.3.5	Ergebnisse des elektromechanischen Mappings	70
3.3.5.1	Unipolar Voltage	70
3.3.5.2	Linear Local Shortening	73
3.3.5.3	Ejektionsfraktion	76

3.3.5.4	Statistik	77
3.3.5.5	Größenänderungen des ischämischen Gebiets	78
3.3.6	Weitere hämodynamische Parameter	81
3.3.7	Ergebnisse der Histologie	81
4	DISKUSSION	92
4.1	Überlegungen zum Versuchsaufbau	92
4.1.1	Wahl der Versuchstiere	92
4.1.2	Implantation des Ameroid Konstriktors	94
4.1.3	Koronarangiographie	94
4.1.4	Lävoventrikulographie	94
4.1.5	Elektromechanisches Mapping	94
4.1.6	Überlegungen zu kausalen Untersuchungsmethoden	97
4.2	Epo zur Behandlung der Koronaren Herzkrankheit	98
4.2.1	Überlegungen zu Applikationsart und –ort	98
4.2.2	Dosis	99
4.2.3	Zeitpunkt, Dauer und Häufigkeit	101
4.3	Diskussion der eigenen Ergebnisse	102
4.3.1	Überlebensrate	102
4.3.2	Ergebnisse der Koronarangiographie	103
4.3.3	Ergebnisse der Lävoventrikulographie	105
4.3.4	Ergebnisse des elektromechanischen Mappings	105
4.3.5	Hämodynamische Parameter während der Untersuchungen	108
4.3.6	Ergebnisse der Histologie	109
4.4	Schlussfolgerung und Ausblick	111
5	ZUSAMMENFASSUNG	113
6	SUMMARY	115
7	LITERATURVERZEICHNIS	116
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	133
9	TABELLENVERZEICHNIS	136
10	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	137
11	DANKSAGUNG	139

# 1 Einleitung

Die häufigste Todesursache in den industrialisierten Ländern ist die Koronare Herzkrankheit (KHK) (WORLD HEALTH ORGANIZATION 2004). Im Jahr 2002 starben allein in Deutschland 94166 Menschen an den Folgen dieser Krankheit (STATISTISCHES BUNDESAMT DEUTSCHLAND 2004).

Die üblichen Therapiemöglichkeiten erstrecken sich von medikamentöser Therapie über die interventionellen Revaskularisationstherapien wie der perkutanen transluminalen koronaren Angioplastie (PTCA) oder der Stentimplantation bis hin zur Bypass-Operation. Nach wie vor gibt es jedoch viele Patienten mit hochgradigem Krankheitsbild, denen mit diesen Methoden nicht geholfen werden kann. Hieraus wird deutlich, von welcher Bedeutung die Erweiterung der Therapiemöglichkeiten ist.

In den letzten Jahren ist zunehmend festgestellt worden, dass für Menschen mit hochgradiger Koronarer Herzkrankheit, denen mit konventionellen Behandlungsmethoden nicht mehr geholfen werden kann, der Einsatz von Wachstumsfaktoren eine neue Therapiemöglichkeit darstellen kann. Erythropoietin, ein Wachstumsfaktor bei der physiologischen Angiogenese, zeigt am ischämischen Herzen neben angiogenetischen auch kardioprotektive Effekte. Eine verbesserte Durchblutung sowie ein reduziertes Ausmaß an Schädigungen des Myokards führen zu einer verbesserten myokardialen Funktion. Erythropoietin könnte daher vielversprechend für die Therapie von Patienten mit KHK sein.

In der vorliegenden Arbeit soll im Rahmen eines Tierversuchs überprüft werden, ob als gezielte Maßnahme gegenüber den bisherigen präklinischen Studien durch intramyokardiale Injektionen von Erythropoietin in das ischämische Schweineherz eine Verbesserung der myokardialen Funktionen induziert werden kann.

Die Studie ist in drei Phasen unterteilt: In Phase 1 erreicht man durch Implantation eines zuquellenden Ameroid Konstriktors um den Ramus circumflexus der linken Koronararterie einen langsamen Verschluss des Gefäßes und simuliert somit die KHK. Nach 2 Wochen versucht man in Phase 2 mit Hilfe von Koronarangiographie, Lävoventrikulographie sowie elektromechanischem Mapping des linken Ventrikels die Auswirkungen der Konstriktorimplantationen zu diagnostizieren. An diesem Versuchstag werden außerdem mit einem speziellen Injektionskatheter randomisiert

Erythropoietin bzw. Placebo intramyokardial um das ischämische Gebiet appliziert. Zum Abschluss nach vier weiteren Wochen in Phase 3 findet eine Untersuchung der Folgen der Injektionen mit den gleichen diagnostischen Methoden wie in Phase 2 statt. Nach Versuchsende erfolgt eine histologische Untersuchung. Die Ergebnisse werden verblindet ausgewertet.

## 2 Schrifttum

### 2.1 Schweine als Versuchstiere in der Kardiologie

Das Schwein ist häufig in kardiovaskulären Studien eingesetzt worden (HUGHES 1986). Es gibt viele Argumente für die Wahl des Schweines als Modell für Studien über die KHK: Die Größe des Herzens und sein Gewicht relativ zum Körpergewicht bei Tieren zwischen 25 und 30 kg stimmen weitgehend mit den Verhältnissen bei erwachsenen Menschen überein (HUGHES 1986). Die Koronaranatomie (HORNEFFER et al. 1986; BLOOR et al. 1992) und die geringgradige Ausbildung von myokardialen Kollateralen (O'KONSKI et al. 1987; BLOOR et al. 1992) ist der des Menschen ähnlich. FALLAVOLLITA et al. (2001) halten Schweine mit implantierten Ameroid Konstriktoren ideal für pharmakologische und mechanische Interventionen im hibernierenden Myokard. Die Reaktionen auf Stress sind bei Schwein und Mensch weitgehend ähnlich (BLOOR et al. 1992). Eine graduelle koronare Okklusion mit Hilfe eines Ameroid Konstriktors um den Ramus circumflexus der linken Koronararterie ruft nur eine geringgradige Kollateralenentwicklung hervor, weswegen das Schwein sich als Studientier über die Induktion von Kollateralenwachstum eignet (ROTH et al. 1987). Von Vorteil ist weiter, dass sich Schweine relativ schnell von intrathorakalen Eingriffen erholen (HORNEFFER et al. 1986). Nachteil dieser Spezies ist die Anfälligkeit, spontan oder induziert Kammerflimmern zu entwickeln (VERDOUW et al. 1983).

Die Herzphysiologie von Mensch und Schwein ist ebenfalls ähnlich: Der Mensch hat eine Ruhfrequenz von 75 Schlägen/min, das Schwein eine von 80 Schlägen/min (ENGELHARDT und BREVES 2000). Der mittlere arterielle Blutdruck des Schweines liegt bei 70 bis 90 mm Hg (SCHEUNERT und TRAUTMANN 1987). Beim Menschen liegt er zwischen 75 und 95 mm Hg (SCHMIDT und THEWS 2000).

## **2.2 Anatomie des Herzens bei Schwein und Mensch**

### **2.2.1 Situs des Herzens**

Der Situs des Herzens beim Ungulaten Schwein unterscheidet sich vom Situs des orthograden Menschen (CRICK et al. 1998). Beim Menschen liegt die Längsachse des Herzens im Thorax von rechts-dorsal-oben nach links-ventral-unten, mit einer Neigung von ca. 45° in der Horizontal-, Sagittal- und Frontalebene. Die Herzspitze liegt im Bereich des 5. Interkostalraumes in der Medioklavikularlinie (DRENCKHAHN 2004). Das Herz des Schweines ist bei vergleichender Betrachtung mit dem Menschenherzen ca. 90° um die Längsachse des Organs nach links gedreht. Die rechte Herzseite ist damit nach rechts-kranial ausgerichtet, während die linke Herzseite nach links-kaudal orientiert ist. Die Herzbasis befindet sich in Höhe der Mitte der ersten Rippe, die Herzspitze zeigt auf das Brustbein. In kraniokaudaler Richtung erstreckt sich das Herz des Schweines von der 3. bis zur 6. Rippe (NICKEL et al. 1996).

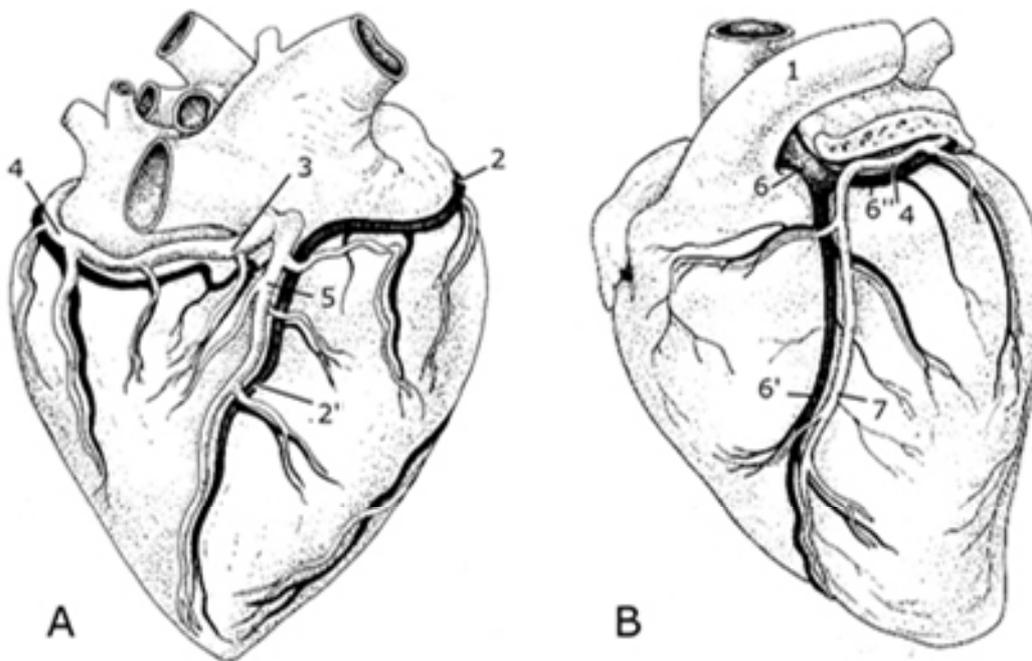
### **2.2.2 Anatomie der Koronararterien**

Die Blutversorgung des Schweineherzens wird durch die beiden Koronararterien gewährleistet. Sie entspringen unmittelbar aus der Aorta. Die Arteria coronaria sinistra (LCA) gabelt sich kurz danach in den Ramus interventricularis paraconalis, der im Sulcus interventricularis paraconalis eingebettet in Richtung Herzspitze zieht, und in den Ramus circumflexus (LCX), der im Sulcus coronarius weiterverläuft. Der Ramus circumflexus teilt sich nach Erreichen des Margo ventricularis sinister in mehrere Zweige auf. Die Arteria coronaria dextra (RCA) verläuft zunächst auf der rechten Herzseite im Sulcus coronarius, bis sie sich als Ramus interventricularis subsinuus im Sulcus interventricularis subsinuus herzsipitzenwärts fortsetzt (NICKEL et al. 1996). Von beiden Koronararterien gehen weitere Äste unterschiedlicher Größe und Lage an die Vorhof- und Kammerwände ab. Zwischen den großen Koronararterien sind keine Anastomosen ausgebildet, jedoch besteht eine Vielzahl von Anastomosen zwischen den kleinen Ästen (DYCE et al. 1991).

Der Ramus interventricularis der linken Koronararterie versorgt die freie Wand des linken Ventrikels bis zur Apex sowie die oberen Teile des Kammerseptums. Der Ramus circumflexus hat als Versorgungsgebiet den linken Vorhof, die posterolateralen Anteile der linken Herzkammer, den anterolateralen Papillarmuskel und gelegentlich auch den Sinus- und den Atrioventrikular-Knoten (AV-Knoten). Die Hinterwand des Herzens mit dem posteromedialen Papillarmuskel, der untere Teil des Kammerseptums, der rechte Vorhof sowie der Sinus- und der AV-Knoten werden von der rechten Koronararterie versorgt (MEYER 2000).

Die rechte Koronararterie und der Ramus interventricularis anterior versorgen jeweils ca. 40% des Myokards (VERDOUW et al. 1983). Dem Ramus circumflexus der linken Koronararterie mit 25,5% Beteiligung an der Versorgung des Myokards kommt somit eine geringere Bedeutung zu (WEAVER et al. 1986). Beim Schwein wird die linksventrikuläre Hinterwand sowohl vom LCX als auch von der RCA versorgt; es liegt ein beidseitiger koronarer Versorgungstyp (Pendant zum ausgeglichenen Versorgungstyp des Menschen) vor (NICKEL et al. 1996). Beim Menschen findet man zu 80% einen ausgeglichenen und zu jeweils 10% einen Links- bzw. Rechts-Versorgungstyp (MÖRL et al. 1998).

Die Nomenklatur der Koronararterien in der Humanmedizin und Veterinärmedizin sind aufgrund des unterschiedlichen Situs teilweise nicht übereinstimmend: Ramus interventricularis paraconalis der linken Koronararterie wird in der Humanmedizin als Ramus interventricularis anterior (RIVA) (MÖRL et al. 1998; SOBOTTA 2000) bzw. "left anterior descending artery" (LAD) (KRAKAU 1999) bezeichnet, und der Ramus interventricularis subsinuosus des Schweines entspricht beim Menschen dem Ramus interventricularis posterior (SOBOTTA 2000).



**Abb. 1:** Anatomie der Koronararterien des Schweines (nach DYCE et al. 1991)

A Ansicht von rechts, B Ansicht von links

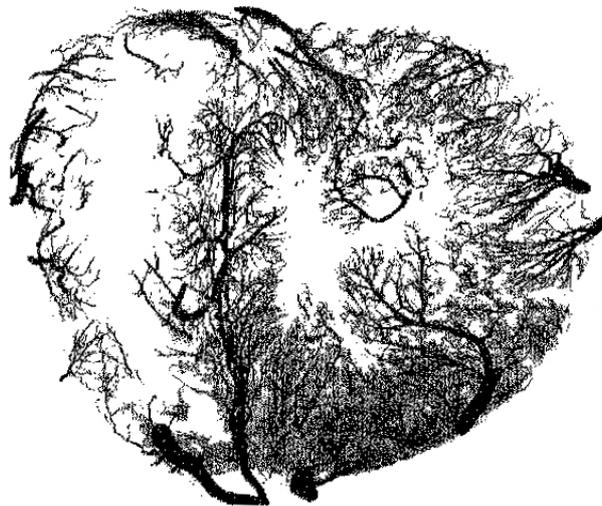
- |    |                                      |     |   |
|----|--------------------------------------|-----|---|
| 1  | Truncus pulmonalis                   | 6   | Arteria coronaria sinistra                |
| 2  | Arteria coronaria dextra             | 6'  | Ramus interventricularis paracoronalis    |
| 2' | Ramus interventricularis subsinuosus | 6'' | Ramus circumflexus                        |
| 3  | Sinus coronarius                     | 7   | Vena interventricularis paraconalis von 3 |
| 4  | Vena cordis magna                    |     |   |
| 5  | Vena cordis media                    |     |   |

### 2.2.3 Mikrozirkulation des Herzens und ihre Bedeutung

Die Äste der Koronararterien verlaufen und teilen sich zunächst auf der epikardialen Oberfläche. Ab einer Größe von 1 bis 3 mm bewegen sie sich im rechten Winkel durch das Myokard in Richtung Endokard. Diese intramuralen Gefäße lassen sich in zwei Klassen unterteilen: Klasse A sind Gefäße, die sich schnell in ein feines Netzwerk verästeln. Sie kommen in den äußeren 3/4 oder 4/5 des Myokards vor. Gefäße der Klasse B sind weniger zahlreich ausgebildet und teilen sich weniger häufig. Sie reichen - mit oder ohne Reduktion ihres Durchmessers - in die innersten Myokardschichten, wo sie sich vielfach teilen und Anastomosen ausbilden (ESTES et al. 1966). Die Herzwände werden vor allem durch die verzweigten Typ A-Gefäße, die

Papillarmuskeln und Trabeculae carneae vornehmlich durch die geraden Typ B-Gefäße versorgt. Die Mikrovaskularisation der freien Wand des rechten Ventrikels ähnelt in der Struktur der des linken Ventrikels, jedoch ist sie geringer ausgeprägt (FARRER-BROWN und WARTMAN 1966). Die anterioren 2/3 des interventrikulären Septums werden von Ästen der LAD, und das posteriore Drittel wird von Ästen der RCA versorgt. Innerhalb des Septums ist die Verästelung der Arterien zum linken Ventrikel zahlreicher ausgeprägt als zum rechten Ventrikel (RISSANEN 1973). Eine Erklärung hierfür findet man in der Theorie von KROGH, nach der die Dichte der Kapillaren eng mit den Anforderungen an das Gewebe hinsichtlich Nährstoffen und Sauerstoffbedarf zusammenhängt (LÜBBERS 1958).

Die Kapillaren verlaufen parallel zu den Muskelfasern (FARRER-BROWN und WARTMAN 1966). Durchschnittlich findet man eine Kapillare pro Muskelfaser (FARRER-BROWN 1968b). Bei den meisten Säugetieren ist eine ähnliche Kapillardichte gefunden worden (CANALE et al. 1986).



**Abb. 2:** Verästelung der Koronararterien (FARRER-BROWN 1968a)

Mittventrikulärer Querschnitt durch ein menschliches Herz. Mikroradiographische Darstellung mit Chromopaque

Bei Okklusion der Koronararterien sind die Arterien des subendokardialen Plexus stark vergrößert. In Regionen starker Vernarbung sind die Gefäße beider Klassen teilweise vollkommen obliteriert. Gefäße aus Nachbargebieten kompensieren dies

durch longitudinales Einsprießen, parallel zu der endokardialen bzw. epikardialen Oberfläche (ESTES et al. 1966).

Subepikardiale Bereiche überstehen im Gegensatz zu subendokardialen Bereichen - nach FARRER-BROWN (1968a) als die inneren 2 bis 3 mm des Myokards ohne die Trabeculae carneae definiert - Ischämien häufig ohne Schaden (RISSANEN 1973). Neben der Erkenntnis, dass das Subendokard relativ schlechter durchblutet ist als das Subepikard (SCHMAILZL und ARNTZ 2003) gibt es dazu folgende Theorien:

1. In der freien Wand der linken Herzkammer erreicht das arterielle Blut das Subendokard nur während der Diastole (SALISBURY et al. 1963).
2. Der intrakoronare Druck ist an der epikardialen Oberfläche geringer als in den subendokardialen Myokardschichten.
3. Die Kontraktionen der Myozyten führen zu Kompression der Arterien der Klasse B und folglich zu kurzzeitig verminderter Perfusion der inneren Myokardbereiche.
4. Der intraventrikuläre Druck übt auf die inneren Myokardschichten große Spannungen aus. Diese vier physiologischen Gegebenheiten können bei der KHK bedeutend werden.

### **2.3 Kollateralen am Herzen**

Der koronare Kollateralkreislauf ist ein komplexes Netzwerk von Gefäßen, die größtenteils im Durchmesser unter 200 µm liegen (SCHAPER und ITO 1996). Kollateralen am Herzen sind beim Menschen bereits zum Zeitpunkt der Geburt angelegt, jedoch nicht entwickelt. Erst nach länger andauernder oder wiederholter kurzzeitiger Ischämie entwickeln sie sich aus den bereits existierenden Gefäßen (MEYER 2000). Kollateralen werden eher bei langsam fortschreitender Stenosierung als bei plötzlichem thrombotisch bedingtem Verschluss ausgebildet. Sie übernehmen die Versorgung des Myokards distal der Stenose (KRAKAU 1999). Das Ausmaß der Kollateralenentwicklung hängt vom Grad der Stenosierung ab: Je stärker die koronarsklerotische Stenose ist, desto mehr kommt es zur Ausbildung von Kollateralen. Es wird angenommen, dass ab einer 90%igen Stenose die Kollateralenbildung induziert wird (BESTEHORN und ROSSKAMM 1996).

Es ist möglich, dass bei hochgradigem Ausbildungsgrad der Kollateralen ein kompletter Gefäßverschluss kompensiert wird und die linksventrikuläre Funktion uneingeschränkt bleiben kann (KRAKAU 1999). Kollateralen können einen Infarkt verhindern, bieten jedoch bei Zuständen mit erhöhtem Sauerstoffbedarf keine ausreichende Blutversorgung (O'KONSKI et al. 1987). Eine belastungsabhängige Angina pectoris kann eintreten.

Bei älteren Menschen kann sich im Laufe der Zeit ein gut ausgebildetes Netzwerk von Kollateralen mit Durchmessern von 1 bis 2 mm ausgebildet haben. Beim jungen Menschen ist das Netzwerk in der Regel nicht oder weniger stark ausgebildet. Dies erklärt das Phänomen, dass bei älteren Menschen im Gegensatz zu jungen Menschen Koronarsklerosen oder wiederholte Ischämien sogar asymptomatisch verlaufen können (MEYER 2000).

## **2.4 Koronare Herzkrankheit beim Menschen**

### **2.4.1 Definition**

Die Koronare Herzkrankheit (KHK) ist die Manifestation einer Atherosklerose an den Koronararterien einhergehend mit Verhärtung, Verdickung, Elastizitätsverlust und Lumeneinengung (MÖRL et al. 1998). Jahrzehntlang klinisch asymptomatisch wird sie erst klinisch manifest, wenn sich eine Myokardischämie entwickelt. Eine Myokardischämie lässt sich als Ungleichgewicht zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf des Herzens definieren (SCHÄCHINGER und ZEIHNER 2004). Sie kann in Angina pectoris, Herzrhythmusstörungen oder Herzinsuffizienz resultieren oder stumm verlaufen. Nach plötzlicher Plaqueruptur kann es akut zu einem Myokardinfarkt kommen (MEYER 2000).

### **2.4.2 Epidemiologie**

Die KHK ist nach Angaben der World Health Organization (WHO) die häufigste Todesursache in den industrialisierten Ländern. Bei Männern beginnt sie meist im Alter von 40 bis 60 Jahren (MEYER 2000). Frauen sind bis zum 50. Lebensjahr sehr viel

weniger betroffen. Mit der Senkung des Östrogenspiegels während der Menopause ändert sich diese Situation; ungefähr mit dem 75. Lebensjahr sind Frauen gleich häufig betroffen wie Männer (LEARNER und KANNEL 1986). In den letzten Jahren ist die Zahl der Erkrankten in den USA und in Deutschland durch Früherkennung, Reduktion der Risikofaktoren und Fortschritte in der Therapie zurückgegangen (MEYER 2000).

## **2.5 Atherosklerose**

### **2.5.1 Definition der Atherosklerose**

Im deutschen Sprachgebrauch werden "Atherosklerose" und "Arteriosklerose" synonym verwendet (ROESSNER et al. 2001). Mit Fokus auf die histopathologischen Veränderungen der Arteriosklerose wird bevorzugt der Fachbegriff Atherosklerose verwendet (PSCHYREMBEL 2002).

Laut WHO wird die Atherosklerose als eine variable Kombination von Veränderungen der Intima, bestehend aus einer herdförmigen Ansammlung von Fettsubstanzen, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen verbunden mit Veränderungen der Media definiert.

### **2.5.2 Vorkommen bei Mensch und Schwein**

**Mensch:** Die Atherosklerose ist die wichtigste und häufigste Arterienerkrankung. Altersabhängig werden verschiedene Gefäße in unterschiedlichem Ausmaß einbezogen (BIERMANN 1995). Studien der WHO zeigen, dass schon im Kindesalter atherosklerotische Frühläsionen weit verbreitet sind und sich unabhängig von Herkunft, Klima, Ernährungszustand, Art und Menge von Nahrung, Lebensgewohnheiten und Lebensstil entwickeln (FERNANDEZ-BRITTO et al. 1999). Bei Stichproben während Autopsien wurden bei 50% der Kinder zwischen 10 und 14 Jahren bereits fatty streaks, eine atherosklerotische Frühläsion, in den Koronararterien entdeckt (WORLD HEALTH ORGANIZATION 1985).

In den industrialisierten Ländern gehen mehr Todesfälle und physische Behinderungen auf das Konto der KHK als bei jeder anderen Erkrankung (SCHMAILZL und ARNTZ 2003). In Deutschland stellten im Jahr 2002 Krankheiten des Herz-Kreislaufsystems 46,8% der Todesursachen dar (STATISTISCHES BUNDESAMT DEUTSCHLAND, 2004). Aus dieser Patientengruppe erlitten knapp 70% einen Herzinfarkt, eine der Folgen der KHK; von diesen 70% starben 47% durch einen Herzinfarkt (AUGSBURGER HERZINFARKTREGISTER, 2003).

**Schwein:** Die Bedeutung und Ätiologie der Arteriosklerose für den Menschen lässt sich nicht ohne weiteres vom Menschen auf Tiere übertragen. Jede Tierspezies muss darüber hinaus individuell bewertet werden. Arteriosklerose mit symptomatischen Folgen spielen beim Tier nur sehr selten eine Rolle, denn in der kurzen Lebenszeit der Tiere, v.a. der Nutztiere, erreicht diese Gefäßerkrankung kaum ein Ausmaß, das Symptome erkennen lässt. Unter den Arteriosklerosen im Tierreich ist die des Schweines der humanen qualitativ am ähnlichsten (RATCLIFFE und LUGINBUHL 1971). Zum durchschnittlichen Todeszeitpunkt eines wirtschaftlich genutzten Zuchtschweines im Alter von ca. 5 Jahren findet man nur frühe Veränderungen, die sich in der Abdominalaorta und den Zerebralarterien manifestieren. Im Alter von 10 Jahren können Haus- als auch Wildschweine eine Atherosklerose entwickelt haben, die dem Krankheitsbild eines 70-jährigen Menschen entspräche (DAHME und WEISS 1999). Auch SKOLD et al. berichteten 1966 von einer spontanen Atherosklerose des Schweines. Mit Fett- und Cholesterol-reicher Diät kann beim Schwein die Atherosklerose drastisch verstärkt werden. Allgemein ist die linke Koronararterie stärker betroffen als die rechte (HUGHES 1986).

### 2.5.3 Ätiologie der Atherosklerose

Die Atherosklerose ist nicht nur eine eigenständige Erkrankung, sondern auch ein Prozess, der den Hauptanteil zur Pathogenese des Myokardinfarkts, des ischämischen Hirninfarkts und der Gangrän der Extremitäten ausmacht (ROSS 1993). Aufgrund des systemischen Charakters dieser Erkrankung sind häufig mehrere Stromgebiete, wie die koronaren, zerebralen, viszeralen und peripheren Arterien, gleich-

zeitig betroffen (HILGER und SCHAEDE 1992). Hauptrisikofaktoren der Atherosklerose und somit der KHK sind eine genetische Prädisposition, Hypercholesterinämie (hohes LDL-Cholesterin, niedriges HDL-Cholesterin), arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus sowie Zigarettenkonsum (HEROLD 2002). Weiter haben Lebensumstände, zunehmendes Lebensalter, Geschlecht und Niereninsuffizienz Einfluss auf die Entwicklung der Arteriosklerose (SCHÄCHINGER und ZEHER 2004). Nach Studien der WHO sind auch bereits im Kindesalter, unabhängig von Herkunft, Klima, Ernährungszustand und -gewohnheiten sowie Lebensstil (FERNANDEZ-BRITTO et al. 1999), atherosklerotische Frühläsionen weit verbreitet.

#### **2.5.4 Pathogenese der Atherosklerose**

Die Atherosklerose ist eine Erkrankung der mittelgroßen bis großen Gefäße (LEHR et al. 2002). Zur Pathogenese der Atherosklerose existieren verschiedene Hypothesen, wobei die "response-to-injury"-Hypothese (ROSS 1986; ROSS 1993) als die etablierteste anzusehen ist, nach der das normale Gefäß auf eine lokale Verletzung und/oder Störung der anatomischen und funktionellen Eigenschaften der Gefäßwand mit Atherosklerose reagiert (LEHR et al. 2002). Die Gefäßverletzungen werden durch beispielsweise oxidativ und/oder enzymatisch modifizierte Lipoproteine (vor allem LDL), Homocystein, mechanische, virale oder immunologische Ursachen hervorgerufen. An die Gefäßläsion lagern sich vermehrt Monozyten/Makrophagen und T-Lymphozyten an. Diese wandern durch das Endothel und akkumulieren in den subendothelialen Schichten. Durch Aufnahme von Lipid werden die Makrophagen zu Schaumzellen und formen zusammen mit den T-Zellen und glatten Muskelzellen die sogenannten "fatty streaks". Diese können sich weiter zu intermediären "fibrofatty" Läsionen und schließlich fibrösen Plaques entwickeln. Wenn der Prozess fortschreitet und sich der Plaque vergrößert, können Lipid-gefüllte Makrophagen durch Abstoßen der abdeckenden Endothelzellen in die Blutbahn gelangen. An dieser verletzten Stelle entwickeln sich Thromben. Die Thrombozyten des Thrombus, die Makrophagen und die glatten Muskelzellen setzen wachstumsregulierende Moleküle frei, mit der Folge, dass es zu einer Progression der Atherosklerose bis hin zu fibrösen Plaques mit Komplikationsmöglichkeiten wie z. B. Plaquerupturen kommt (ROSS 1993).

Nach der Klassifizierung der American Heart Association (AHA) werden die Läsionen der Atherosklerose in chronologischer Abfolge ihrer Entwicklung in acht Typen unterteilt:

Die initialen Läsionen (Typ I) sind durch Lipoprotein-Akkumulation in der Intima und Lipid-gefüllte Makrophagen charakterisiert. Die Veränderungen sind nur mikroskopisch und chemisch auszumachen. Typ II weist zusätzlich Lipid-Anreicherungen in den glatten Muskelzellen auf und stellt sich makroskopisch durch sog. "fatty streaks" dar. Typ I und II gelten als Frühläsionen, die bereits bei Kindern vorzufinden sind (STARY 1992). Typ III, die intermediären Läsionen oder auch Präatheroma, die sich kurz nach der Pubertät entwickeln, sind als Übergangsstadium zu den "advanced lesions" anzusehen. In den Koronararterien kann es zu diesem Zeitpunkt bereits zu kritischen Lumeneinengungen der Gefäße kommen. Die Makrophagen sind nicht in der Lage, die gespeicherten Fettvakuolen zu eliminieren. Dadurch kommt es zum Untergang von Zellen und zur extrazellulären Ablagerung von Lipiden in der Intima. In diesem Zusammenhang fällt auch ein Intimaödem und eine Infiltration von T-Lymphozyten auf. Die sog. advanced lesions (Typ IV-VIII) sind durch Proliferation fibromuskulärer Zellen gekennzeichnet (LEHR et al. 2002). Charakteristisch für Typ-IV-Läsionen bzw. die Atherom-Form, die bei Menschen ab dem 40. Lebensjahr vorkommt, ist der Zusammenfluss der extrazellulären Lipide zu einem Lipidkern (STARY 1992). Dieser Lipidkern ist durch die Intima von der Blutbahn abgetrennt (LEHR et al. 2002). Bei der Typ-V-Läsion, dem Fibroatherom, hat sich über dem Lipidkern eine Kappe aus Kollagen und glatten Muskelzellen gebildet. An diesen Stellen können Thromben, Hämorrhagien, Erosionen oder Fissuren entstehen (Typ VI bzw. complicated plaque). Diese instabilen Läsionen sind das morphologische Pendant zur instabilen Angina (FUSTER et al. 1992). Wenn die Kappe im Bereich der Plaqueschulter einreißt, kommt es zu einem Apositions- oder (häufig im Bereich der Koronararterien) zu einem Okklusionsthrombus mit klinischer Ischämiesymptomatik (z.B. Angina pectoris, akuter Myokardinfarkt, plötzlicher Herztod) (LEHR et al. 2002). Je nachdem, ob die Läsion schließlich kalzifiziert oder fibrosiert, spricht man von Läsion VII bzw. VIII (STARY 1992).

Koronararterieneinengungen und Myokardischämie rufen, v. a. bei langsamem Fortschreiten, die Ausbildung von Kollateralen hervor. Wenn diese gut entwickelt sind, dann können sie einen Blutfluss gewährleisten, der für die Versorgung des Myokards zumindest in Ruhe ausreichend ist (SCHMAILZL und ARNTZ 2003). Bei plötzlichem, thrombotisch bedingtem Verschluss werden weniger häufig Kollateralen ausgebildet (KRAKAU 1999).

Die verschiedenen Myokardschichten sind unterschiedlich anfällig gegenüber Ischämien: Subepikardiale Bereiche überstehen Ischämien im Gegensatz zu subendokardialen Bereichen häufig ohne Schaden (RISSANEN 1973). Hierzu gibt es mehrere Theorien (siehe Kapitel 2.2.3).

## **2.6 Hibernating und stunned myocardium**

Es gibt zwei Formen von vitalem, aber kontraktionsgestörtem Myokard: Das "hibernating myocardium" und das "stunned myocardium". Zwischen diesen beiden Funktionszuständen bestehen fließende Übergänge (HAUG 1994).

Der Begriff "hibernating myocardium" wurde 1978 von DIAMOND et al. eingeführt und von RAHIMTOOLA (1989) popularisiert. Unter "hibernating" (hibernation, englisch = Winterschlaf) ist der Zustand einer anhaltend verschlechterten myokardialen und linksventrikulären Funktion in Ruhe aufgrund verminderten koronaren Blutflusses zu verstehen. Es stellt eine Art Anpassungsmechanismus an die gegebenen Verhältnisse dar. Durch Revaskularisation oder Reduzierung des Sauerstoffbedarfs kann sich das Gewebe teilweise oder sogar vollkommen normalisieren. Geraten Sauerstoffangebot und -bedarf erneut aus dem Gleichgewicht, so kann dies in Ischämie und/oder Nekrose resultieren (RAHIMTOOLA 1989). Beobachtet wird hibernierendes Myokard bei Patienten mit stabiler oder instabiler Angina pectoris sowie mit einem akuten Myokardinfarkt (RAHIMTOOLA 1999). Die therapeutische Konsequenz für diesen Funktionszustand ist die Revaskularisation (NIXDORFF 2002). Die Revaskularisationstherapie ist auch bei chronischer Erkrankung indiziert, da der Zustand des hibernierenden Myokards progressiv verläuft und sich im Laufe der Zeit die

Prognose bezüglich der Reversibilität verschlechtert (VÖLLER et al. 2000). Beispielsweise kann die kontraktile Erholung nach einer Bypass-Operation bis zu 14 Monate benötigen (CORNEL et al. 1998).

Der Begriff "stunned myocardium" wurde 1975 erstmals von HENDRICKX et al. definiert und später von BRAUNWALD und KLONER (1982) weiterentwickelt. Von "stunning" wird gesprochen, wenn nach einem ischämischen Zustand die koronare Blutversorgung des betroffenen Gewebes wieder hergestellt wurde, die myokardialen funktionellen, biochemischen und ultrastrukturellen Abnormitäten jedoch noch für eine längere Zeit andauern (BRAUNWALD und KLONER 1982). Es kann sich innerhalb von maximal zwei Wochen spontan regenerieren (NIXDORFF 2002).

## 2.7 Diagnostik der Koronaren Herzkrankheit

Ziel der KHK-Diagnostik ist es, das Vorhandensein, die Lokalisation, das Ausmaß und die Natur des dysfunktionellen Myokards festzustellen (GEPSTEIN et al. 1998). Die Befunde sind ausschlaggebend für die Entscheidung, ob ein Patient von einer Revaskularisationstherapie profitieren kann (BONOW 1996).

Man beginnt mit nicht-invasiven Untersuchungsmethoden. Bei weiterem Klärungsbedarf folgen invasive Untersuchungen.

### 2.7.1 Nicht-invasive Diagnostik

Die Diagnostik der KHK sollte mit einer ausführlichen **Anamnese** und **körperlichen Untersuchung** beginnen, wobei den Risikofaktoren dieser Erkrankung (siehe Kapitel 2.5.3) besondere Aufmerksamkeit gilt (SCHMAILZL und ARNTZ 2003). Die typischen pektanginösen Brustschmerzen werden als stechend, brennend oder würgend beschrieben und dauern nur wenige Minuten an. Der Patient hat ein Gefühl der Schwere, der Enge, als ob sich ein ringförmiges Band um den Thorax legt. Es kommen Erstickungsängste vor. Meist wird der Schmerz retrosternal oder links parasternal lokalisiert, er kann aber auch bis in die Arme, das Epigastrium und die Kiefer

ausstrahlen (MEYER 2000). Die Angina pectoris wird in folgende Verlaufsformen eingeteilt:

Stabile Angina pectoris:

Die Anfälle werden regelmäßig durch bestimmte Ereignisse (z.B. körperliche Belastungen) ausgelöst, lassen sich aber durch Nitro-Präparate gut behandeln.

Instabile Angina pectoris (Präinfarktsyndrom):

Hierzu zählt jede Erst-Angina, Ruhe-Angina und jede Angina, die an Schwere, Dauer und Häufigkeit zunimmt oder einer zunehmenden Einnahme an Medikamenten bedarf.

Sonderformen:

Bei der *Prinzmetal-Angina* kommt es im Bereich der Koronarstenose zu Gefäßspasmen. Die "Walking-through-Angina" tritt am Anfang einer Belastung auf, verschwindet bei andauernder Belastung aber vollständig.

Die "*Angina decubitus*" tritt nachts aus dem Schlaf heraus auf (HEROLD 2002).

Bei der KHK sind keine besonderen **Laborbefunde** zu sehen. Bei schweren Anfällen sind jedoch Troponin T und I erhöht, selten auch CK-MB. Die üblichen labordiagnostischen Untersuchungen umfassen Cholesterin-, Blutzucker- und Harnsäurebestimmung sowie Ausschluss anderer Erkrankungen wie Anämie, Entzündungen oder Hyperthyreose (MEYER 2000).

Pathomorphologische Herzveränderungen lassen sich u. a. mit einer Röntgenaufnahme des **Thorax** abklären (SCHMAILZL und ARNTZ 2003).

Im **EKG** sind in **Ruhe** bei ca. 50% der Patienten ST-Strecken- und T-Welle-Veränderungen zu sehen; erst die ST-Streckensenkungen während des **Belastungs-EKGs** gelten jedoch als charakteristisch für die KHK (SCHMAILZL und ARNTZ 2003). Das Belastungs-EKG wird in der Regel nach einer echokardiographischen Untersuchung durchgeführt.

Besteht ein klinischer oder anamnestischer Verdacht auf KHK, so ist im Rahmen der kardiologischen Untersuchung eine **transthorakale echokardiographische Untersuchung** angezeigt (FEIGENBAUM et al. 1976). Sie hat den Vorteil, nicht-invasiv, bettseitig einsetzbar, beliebig oft wiederholbar und kostengünstig zu sein (BRENNECKE und ERBEL 1998). Da Patienten, die keinen Myokardinfarkt gehabt haben oder keine Ruheischämie aufweisen, normalerweise während der Ultraschall-Untersuchungen *in Ruhe* auch keine eindeutigen Wandbewegungsstörungen zeigen, ist eine **Stressechokardiographie** angezeigt (BARTEL und ERBEL 2002). Im Regelfall lassen sich die mit Hilfe der Echokardiographie detektierten Wandbewegungsstörungen noch vor Auftreten von Angina pectoris und EKG-Veränderungen aufdecken. Für die Stressechokardiographie wird durch physikalische Belastungen (Fahrrad- oder Laufbandergometrie) ein erhöhter Sauerstoffbedarf des Herzens mit der Folge von Ischämie hervorgerufen (HOFFMANN 2002). Kann der Patient jedoch aufgrund neurologischer, orthopädischer, muskulärer oder anderer Ursachen keine genügend hohe physikalische Belastung erreichen, wird alternativ eine pharmakologische Belastung durchgeführt (HAUG 1994). Dazu werden heutzutage Dobutamin, eventuell in Kombination mit Atropin, oder Adenosin und seltener Dipyridamol verwendet (BRAUN et al. 2003). Auch eine transösophageale elektrische Vorhofstimulation zur Steigerung der Herzfrequenz ist möglich (HOFFMANN 2002). Die myokardiale **Kontrastechokardiographie** eignet sich aufgrund hervorragender Auflösung für diese Untersuchung sehr gut, hat jedoch zur Zeit noch keinen festen Platz in der klinischen Routineuntersuchung (SIESWERDA et al. 2003).

### 2.7.2 Invasive Diagnostik

Bei der **Myokardszintigraphie** werden  $^{201}\text{TI}$  oder  $^{99\text{m}}\text{Tc-Methoxy-Isobutyl-Isonitril (MIBI)}$  verwendet (MEYER 2000). Sie haben ähnliche biologische Eigenschaften wie Kalium.  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  weist nahezu ideale Zerfallseigenschaften auf; bei einer Halbwertszeit von 6 Stunden entsteht niedrig-energetische Gammastrahlung ohne  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Emission (EICHSTÄDT 1996). Es werden Szintigramme während und nach Belastung gemacht. *Narbgewebe* nimmt dabei keine Isotope auf. *Ischämisches, aber vitales Gewebe* lagert unter Belastung nur initial Substanz an. Zu späteren Zeit-

punkten der Belastung wird jedoch keine Substanz mehr in die Zellen aufgenommen (MEYER 2000).

Mit Hilfe der **Koronarangiographie** können die Koronarstenosen entdeckt, lokalisiert und charakterisiert werden. Dabei beurteilt man die Länge, den Stenosegrad und den Gefäßerkrankungstyp (1-,2-,3-Gefäßerkrankung) (BESTEHORN und ROSKAMM 1996). Außerdem wird auch der Kollateralisierungsgrad bestimmt (HAUG 1994). Die **Lävoventrikulographie** wird durchgeführt, um die Kontraktilität und die hämodynamischen Parameter des linken Ventrikels festzustellen (KRAKAU 1999).

Koronarangiographien und Lävoventrikulographien werden kombiniert durchgeführt. So können Aussagen über die globale und regionale Funktion des linken Ventrikels gemacht werden (SCHMAILZL und ARNTZ 2003).

Auch mit der **Single Photon Emissionscomputertomographie (SPECT)** und der **Magnetresonanztomographie (MRT)** können die Gefäße dargestellt werden (MEYER 2000).

Die **positronenemissionstomographische Untersuchung (PET) mit <sup>18</sup>F-Flourodeoxyglukose (FDG)** gilt allgemein als Goldstandard in der Vitalitätsdiagnostik. FDG wird wie Glukose von den Zellen aufgenommen. Nichtvitalen Myokard nimmt deshalb kein FDG auf (ERDMANN und KIRSCH 1993). Es können mit dieser Methode nicht nur Aussagen über die myokardiale Vitalität, sondern auch über den myokardialen Blutfluss und die Flussreserve gemacht werden (MEYER 2000).

Alternativ zum oben genannten Belastungs-EKG kann eine isolierte venöse **Einschwemmkatheteruntersuchung** durchgeführt werden. Hierbei bestimmt man während ergometrischer Belastung den mittleren pulmonalen und pulmonal-kapillaren Druck. Es ist eine mit dem Belastungs-EKG gleichwertige Aussage zu erwarten, die Methode ist jedoch aufwendiger und stellt für den Patienten ein größeres Risiko dar (MEYER 2000).

Als vielversprechend für die Diagnostik der KHK gilt das **elektromechanische Mapping**, das die regionalen elektrischen und mechanischen Aktivitäten des linken Ventrikels dreidimensional darstellt (GEPSTEIN et al. 1997a).

Die Koronarangiographie, die Lävotrikulographie sowie das elektromechanische Mapping werden in den Kapiteln 2.11 - 2.15 detailliert erklärt.

## **2.8 Therapie der Koronaren Herzkrankheit**

### **2.8.1 Konservative Therapie und Prophylaxe der stabilen Angina pectoris**

Wichtig für den Verlauf der Genesung ist, dass die Risikofaktoren (siehe Kapitel 2.5.3) weitmöglichst minimiert werden. Diät, vermehrte körperliche Aktivität sowie Gewichtsabnahme sind hierbei wichtige Aspekte. Das Ausmaß und der Zeitpunkt von Belastungen jeder Art sollten auf die zirkadiane Rhythmik abgestimmt werden (SCHMAILZL und ARNTZ 2003).

Therapeutisch werden eingesetzt:

Nitrate: z.B. Isosorbindinitrat (ISDN), Isosorbid-5-Mononitrat. Bei Nitratunverträglichkeit kann auf Molsidomin ausgewichen werden. Ein Anfall kann mit Nitroglyzerin oder ISDN behandelt werden (ROSKAMM 1996).

Nitropräparate sind Vasodilatoren. Sie senken den Sauerstoffbedarf des Herzens durch Verringerung der Vorlast sowie teils auch der Nachlast und fördern die Durchblutung der Koronararterien (MEYER 2000).

Betablocker: z. B. Metoprolol, Propanolol, Pindolol, Atenolol, Bisoprolol. Betablocker führen v. a. während körperlicher Belastung zur Senkung der Herzfrequenz und des systolischen Blutdrucks. Der myokardiale Sauerstoffverbrauch wird damit vermindert.

Kalziumantagonisten: Nifedipin, Diltiazem, Verapamil, Amlodipin (ROSKAMM

1996).

Kalziumantagonisten haben ähnliche Wirkungen wie Nitrate. Sie werden bei Gefäßspasmus bevorzugt eingesetzt.

Es sind sowohl Mono- als auch Kombinationstherapien üblich. Zusätzlich können zur Thromboseprophylaxe Thrombozytenaggregationshemmer (Acetylsalicylsäure, Ticlopidin, Clopidogrel) und Glykoprotein-IIb/-IIIa-Antagonisten (Abciximab, Tirofiban, Integrilin, Lamifiban) eingesetzt werden. Fibrinolytika haben sich nicht bewährt. Es konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit Hypercholesterinämie die Anwendung von HMG-CoA-Reduktasehemmern (Simvastatin, Pravastatin) einen präventiven Effekt auf die koronarsklerotischen Prozesse nimmt: Sie verhindern die Cholesterinsynthese und regulieren die LDL-Rezeptoren in der Leber. Somit sinkt der LDL-Wert, während der HDL-Wert ansteigt (MEYER 2000).

### 2.8.2 Interventionelle Verfahren

Heutzutage werden mehr interventionelle Therapien als Bypass-Operationen durchgeführt (BAIM 2003). Unter interventioneller Kardiologie wird die Anwendung von Katheter-vermittelten Techniken zur Diagnostik und Behandlung von Krankheiten der Koronararterien oder der Herzklappen sowie angeborener Erkrankungen verstanden (LINCOFF und TOPOL 1997).

1977 wurde erstmals eine koronare Revaskularisation mit einem Katheter, eine sog. **perkutane transluminale koronare Angioplastie (PTCA)** oder auch **Ballondilatation** durchgeführt. Hierbei wird über einen flexiblen Führungsdraht ein Angioplastieballon bis oder über die Stenose hinaus in die Koronararterie gebracht und das Gefäß durch Blähen des Ballons dilatiert. Bei 3 bis 5% der operierten Patienten ruft die PTCA einen Gefäßverschluss hervor. Die Erfolgsrate der ersten PTCA liegt bei über 90%. Als erfolgreich wird definiert, wenn die Reststenose 50% oder weniger des normalen Gefäßdurchmessers ausmacht. Innerhalb des ersten halben Jahres treten bei 25 bis 30% dieser Patienten Restenosierungen auf. Eine erneute Dilatation ist erfolgversprechender und unkomplizierter als die erste PTCA (PETERSEN 1996).

In den 90er Jahren kamen die **Stentimplantation** und die **Atherektomie** hinzu, die nun 70 bis 80% der interventionellen Therapie ausmachen (BAIM 2003). Sie werden eingesetzt, wenn die Stenose ein Verschieben des Führungsdrahts nicht mehr gestattet, die Stenose verhärtet ist, sich eine Dissektion mit anschließendem Gefäßverschluss ergeben hat, sich das Lumen durch Ballondilatation nur schlecht aufweiten lässt oder sich elastisch wiederverengt (PETERSEN 1996). Ein Stent ist ein Metallgerüst, das zusammengefaltet in das Gefäß eingeführt wird und dort nach eigenständiger Entfaltung, Ballonierung oder Entfernung einer Membran das Gefäßlumen erweitert. Im Gegensatz dazu werden bei der Atherektomie die stenosierenden Plaques nicht verdrängt, sondern mit einer Fräse zu kapillargängigen Teilchen zerkleinert (*Rotationsatherektomie*). Bei der *Extraktionsatherektomie* werden diese Pulverteilchen zusätzlich aspiriert (BAIM 2003).

### **2.8.3 Transmyokardiale Laserrevaskularisation**

Für therapierefraktäre, symptomatische Patienten mit diffusem Verteilungsmuster der Koronarsklerose kann weder eine Bypass-Operation noch eine perkutane transluminale koronare Angioplastie in Betracht gezogen werden. In diesem Fall bietet sich die transmyokardiale Laserrevaskularisation (TMLR) an (SCHMUZIGER et al. 1996). Bei dieser Technik werden mit Hilfe eines Lasers künstliche transmyokardiale Kanäle Katheter-vermittelt von innen (KORNOWSKI 2002) in das Myokard gebohrt. Somit wird ein direkter Blutfluss aus dem Ventrikel in minderdurchblutete Herzmuskelbereiche geschaffen. Die Methode kann nur dauerhaft erfolgversprechend sein, wenn sich die Kanälchen endothelialisieren (MÖRL et al. 1998). Die Mortalität ist dabei mit 5 bis 20% als sehr hoch anzusehen (SCHMUZIGER et al. 1996).

Nach anfänglich vielversprechenden Ergebnissen bei Anwendung der transmyokardialen Laserrevaskularisation hat sich diese Methode mittlerweile als unwirksam herausgestellt. Lediglich als Placebo-Effekt (KORNOWSKI 2002) und in Einzelfällen (MÖRL et al. 1998) sind objektiv Therapieerfolge eingetreten.

## **2.8.4 Chirurgische Therapie**

### **2.8.4.1 Bypass-Operation**

Bis Ende der 70er Jahre war die koronare Bypass-Operation die einzige Revaskularisationstherapie. Ziel dieser Operation ist es, eine Verbindung zwischen Aorta und der stenosierten Koronararterie distal ihrer Einengung herzustellen (SCHMAILZL und ARNTZ 2003). Hierbei wird in den meisten Fällen die Vena saphena magna frei transplantiert, oder es werden Anastomosen mit den Arteriae mammae hergestellt. Die Arteria gastroepiploica, durch das Zwerchfell zum Herzen gelegt, oder freie Transplantate der A. epigastrica oder A. radialis stellen Alternativen dar. Die Operationsletalität liegt zwischen 0,5 und 3%. Bei Zweitoperationen ist sie 3- bis 5mal höher als bei der Erstoperation (SCHMUZIGER et al. 1996). 94% der Patienten berichten von einer Besserung der Symptomatik nach diesem Eingriff, 80% sind sogar frei von Beschwerden (ROSKAMM 1996).

### **2.8.4.2 Herztransplantation**

Eine Herztransplantation ist die Methode der Wahl für die Behandlung des Endstadiums der KHK. 43% der herztransplantierten Patienten sind KHK-Patienten (BRETT 1996). Leider stehen nicht immer ausreichend Spenderorgane zur Verfügung. Es können außerdem Komplikationen mit der immunsuppressiven Therapie auftreten, oder es kann gar zum Organversagen kommen (HUNT 1998). Die 5-Jahres-Überlebensrate liegt zwischen 60 und 80% (MEYER 2000).

## **2.8.5 Therapeutische Angiogenese**

### **2.8.5.1 Definitionen**

*Angiogenese* ist die Bildung von neuen Kapillaren durch Aussprossung, ausgehend von bereits existierenden Gefäßen. Stimuli für die Angiogenese sind Hypoxie, mechanische Scherkräfte und Entzündung. Physiologischerweise kommt sie bei Ovulation, plazentaler Entwicklung und Wundheilung vor. Pathologisch wird dieser Prozess bei Ischämie, Entzündung, vaskulärer Retinopathie, Tumorwachstum, rheumatoider Arthritis sowie Psoriasis beobachtet (SYED et al. 2004).

*Vaskulogenese* wird als die *de novo* Bildung eines primitiven Gefäßnetzwerks ausgehend von mesodermalen Vorläuferzellen (Angioblasten oder Endothel-Vorläuferzellen) definiert. Sie kommt v.a. während der Embryogenese, aber auch postnatal vor.

*Arteriogenese* ist die Vergrößerung von bereits vorhandenen Kollateralgefäßen zu Arterien, d.h. mit voll ausgebildeter Tunica media und einer Wand glatter Muskelzellen (SYED et al. 2004).

Die Begriffe Angiogenese und Arteriogenese können nicht eindeutig voneinander getrennt betrachtet werden (KASTRUP 2003).

Der Begriff *therapeutische Angiogenese* steht für die Induktion einer Neovaskularisation durch angiogenetische Zytokine für die Behandlung hypovaskulärer Gewebe (SCHOTT und MORROW 1993). Die Injektion von Wachstumsfaktoren und die Transplantation von Stammzellen oder Myoblasten stellen eine potentielle Verbesserung der KHK-Behandlung dar (PERIN et al. 2002).

### **2.8.5.2 Gen- und Proteintherapie**

15% der KHK-Patienten kann mit medikamentöser Therapie, PTCA oder Bypass-OP nicht geholfen werden, meistens aufgrund eines diffusen Erkrankungsbildes (MUKHERJEE et al. 1999). Therapeutische Angiogenese mit Wachstumsfaktoren oder Gentherapie sind neue potentielle Methoden zur Behandlung von KHK-Patienten mit hochgradiger, inoperabler Erkrankung (KASTRUP 2003).

Bei der therapeutischen Angiogenese können direkt Wachstumsfaktoren oder indirekt Gene (nackte Plasmid-DNA oder virale Vektoren, die das entsprechende Gen kodieren) appliziert werden (SELLKE und RUEL 2003). Plasmid-DNA ist sehr wenig effektiv; nur 1% gelangt in die Zellen. Unter den Viren kommen Retroviren, Adenoviren und Adeno-assoziierte Viren in Betracht. *Retroviren* integrieren sich in die DNA der Wirtszelle und sind daher nur in proliferierenden Zellen wirksam, die in ischämi-

schem Myokard vermindert vorzufinden sind. *Adenoviren* sind unabhängig von der Proliferation der Zellen, rufen jedoch Entzündungen und Immunreaktionen hervor, so dass sich ihre Wirksamkeit selbst limitiert. Somit stellen sich *Adeno-assoziierte Viren* trotz geringen DNA-Transfers zur Zeit als Favoriten heraus. Da Adenoviren, Adeno-assoziierte Viren und Plasmid-DNA nicht in die Wirts-DNA integriert werden, ist ihre Wirksamkeit auf 2 bis 4 Wochen beschränkt (KASTRUP 2003). *Gen*therapien haben den Vorteil, lange wirksam zu bleiben und gezielt an einem bestimmten Zelltyp zu wirken. Den Vorteilen stehen die Möglichkeit einer nicht-regulierbaren Genexpression sowie das Einbringen von Fremdgenen und viralen Vektoren entgegen. Es kann zu Antikörper- und Entzündungsreaktionen kommen, die die Wirksamkeit der applizierten Gene, vor allem bei wiederholter Verabreichung, limitieren können. *Protein*therapie dagegen wirkt ab dem Zeitpunkt der Applikation und ihre Pharmakokinetik sowie Gewebskonzentration sind eher vorhersehbar, so dass sich ein Trend Richtung Proteintherapie abzeichnet (SELLKE und RUEL 2003).

Sowohl die Protein- als auch die *Gen*therapie scheinen nach dem heutigen Stand der Wissenschaft weitgehend sicher zu sein, wobei Langzeitstudien allerdings noch ausstehen. Bisher konnten in klinischen Studien weder eine Entwicklung noch verstärktes Wachstum von Tumoren, die bedenklichste Nebenwirkung, beobachtet werden (KASTRUP 2003).

Am häufigsten sind bisher die Wachstumsfaktoren VEGF-A (VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>165</sub>) und FGF (FGF-1, FGF-2) untersucht worden (KASTRUP 2003; SELLKE und RUEL 2003).

JAQUET et al. (2002) zeigten in einer *In-vitro*-Studie, dass verschiedene Wachstumsfaktoren allein oder kombiniert im Herzgewebe angiogenetisch wirksam sind. Der Wachstumsfaktor aFGF ist in ihrer Studie mit einer 430%igen Zunahme der Angiogenese gegenüber der physiologischen Angiogenese der potenteste Wachstumsfaktor.

In Tiermodellen konnten bereits eine verbesserte myokardiale Perfusion und Funktion nach Einsatz von angiogenetischen Faktoren nachgewiesen werden. Weiter konnten in vorklinischen Studien objektive Beweise gefunden werden, die für eine deutliche Gefäßeinsprossung durch angiogenetische Faktoren sprechen (SELLKE und RUEL 2003). Diese vielversprechenden Resultate müssen jedoch nach den Ergebnissen von KASTRUP (2003) kritisch betrachtet werden: Mehrere Phase-1-Studien in bezug auf Sicherheit und Wirksamkeit sind mit bFGF, VEGF-A<sub>165</sub> und VEGF-A<sub>121</sub> zunächst erfolversprechend durchgeführt worden. Später konnten aber in zwei großangelegten Phase-2-Studien mit bFGF und VEGF-A<sub>165</sub> keine klinischen Effekte nachgewiesen werden. Die Ursachen sind ungeklärt (KASTRUP 2003).

Bei der Beleuchtung der therapeutischen Angiogenese sollte nicht außer Betracht gelassen werden, dass sich bisherige Studien meist nur auf den Einsatz eines einzelnen Wachstumsfaktors konzentriert haben, wobei die Angiogenese einen durchaus komplexen Prozess darstellt (SELLKE und RUEL 2003). Die Kombination von *mehreren* Wachstumsfaktoren oder die Kombination von *Wachstumsfaktoren mit Stammzellen* könnte eine Verbesserung der therapeutischen Angiogenese herbeiführen (BUSCHMANN und SCHAPER 2000). Studien mit Kombinationen von Wachstumsfaktoren und endothelialen Vorläuferzellen oder Stammzellen sind in Arbeit (GROSSMAN und GROSSMAN 2002).

Anzumerken ist, dass bei hohem Alter, Diabetes und Hypercholesterolämie die Effektivität von applizierten angiogenetischen Faktoren geringer zu sein scheint (SYED et al. 2004).

### **2.8.5.3 Zelltherapie**

Lange wurde angenommen, dass das Herz aus postmitotischen Zellen besteht und sich nicht regenerieren kann, doch nach dem neuesten Stand der Forschung existieren Kardiomyozyten, die proliferieren können. In einer Studie am Menschen konnten im Grenzbereich eines Myokardinfarkts sich replizierende Kardiomyozyten nachgewiesen werden (BELTRAMI 2001). Außerdem zirkulieren in der Blutbahn Stammzel-

len, die in verletzte Myokardareale eindringen und sich hier zu Kardiomyozyten differenzieren ("homing") (GROUNDS et al. 2002). Sie werden durch Zytokine (Stammzellofaktor, verschiedene Wachstumsfaktoren und andere Zytokine) des umgebenden Gewebes angelockt. Die Differenzierung scheint weiter auch durch positiv inotrope und positiv chronotrope Stimuli gefördert zu werden (STRAUER und KORNOWSKI 2003).

Für die Therapie kommen embryonale oder adulte Stammzellen in Frage. Embryonale Stammzellen weisen ein größeres Potential für die Proliferation und Differenzierung als adulte Stammzellen auf (PERIN et al. 2003). Embryonale Stammzellen können Immunreaktionen und Abstoßung hervorrufen. Im Vordergrund der Diskussion zu diesem Thema stehen jedoch ethische Bedenken (STRAUER und KORNOWSKI 2003). Den ethischen Problemen kann aus dem Weg gegangen werden, indem nach der Geburt die Nabelschnur, die viele embryonale Stammzellen enthält, als Eigenspende aufgehoben wird (PERIN et al. 2003). Neben hämatopoetischen Stammzellen (Vorläufer für Endothelzellen) und mesenchymalen Stammzellen (Vorläufer für Herzmuskelzellen) können auch viele andere Zellen an der Regeneration von Infarkten beteiligt sein: Knochenmarks-Hämangioblasten sind an der Neovaskularisation beteiligt, mesodermale Vorläuferzellen der mononukleären Knochenmarkszellen können sich zu Endothelzellen differenzieren und Endothel-Vorläuferzellen können sich zu Kardiomyozyten entwickeln (STRAUER und KORNOWSKI 2003). In Erprobung sind unter anderem auch Skelett-Myoblasten (PERIN et al. 2003). Bei Einsatz von autogenen Stammzellen ist von Vorteil, dass keine Immunreaktion eintritt (GROUNDS et al. 2002).

In klinischen Studien konnte bereits bewiesen werden, dass autologe Knochenmarks-Stammzellen infarziertes Myokard regenerieren und die myokardiale Perfusion verbessern können (STRAUER et al. 2001).

## 2.9 Erythropoietin - ein mögliches Therapeutikum

Erythropoietin (Epo) ist ein 30 kDa Glykoprotein bestehend aus 165 Aminosäuren mit 4 Carbohydrat-Seitenketten. Während es *beim Fötus* hauptsächlich in der Leber produziert wird, findet die Produktion *nach der Geburt* in den peritubulären Zellen, wahrscheinlich den Fibroblasten der Nierenrinde, und nur zu einem geringen Teil in den Hepatozyten statt (JELKMANN und METZEN 1996). Bisher konnte nicht nachgewiesen werden, dass im Herzen endogen Epo produziert wird (BOGOYEVITCH 2004).

Erythropoietin könnte eine neue Möglichkeit für die Behandlung von Myokardischämie, Reperfusionsschäden und Infarkten darstellen (PARSA et al. 2003).

Erythropoietin wird in der Klinik bei Anämie aufgrund chronischer Nierenerkrankung oder anderer chronischer Erkrankungen und als Alternative zu Bluttransfusionen bei chirurgischen Patienten eingesetzt (JELKMANN et al. 1996). Das hierfür verwendete rekombinante humane Erythropoietin (rHuEpo)/Epoetin  $\alpha$  wird meist aus Ovarzellen des chinesischen Hamsters gewonnen (JELKMANN 1994).

Der physiologische Epo-Serumspiegel in nicht-anämischen Individuen liegt zwischen 6 und 32 IE/l, durchschnittlich bei 15 IE/l (JELKMANN und METZEN 1996). Unter hypoxämischen Zuständen kann sich der Wert 1000-fach erhöhen (ESTLER 1999).

Der Erythropoietin-Rezeptor (EpoR) ist ein aus 484 Aminosäuren aufgebautes Glykoprotein, das der Klasse-1-Zytokin-Superfamilie angehört. Er wird typischerweise von erythropoietischen Progenitorzellen und hämatopoetischen Stammzellen exprimiert (ORLIC et al. 1995). Epo-Rezeptoren sind aber auch auf vielen anderen Zelltypen identifiziert worden: Kardiomyozyten, Hepatozyten, Endothelzellen, glatten Muskelzellen, Enterozyten, plazentaren Synzytiotrophoblasten, Leydigschen Zellen, Astrozyten und Neuronen des ZNS. Die überwiegende Meinung ist allerdings, dass sich die Epo-R-Expression auf die fetale Entwicklungsphase konzentriert - in welchem Ausmaß die Rezeptoren beim Adulten ausgebildet sind, ist nicht eindeutig geklärt (JUUL 2000).

Gewebshypoxie ist der vorwiegende Stimulus der Erythropoietin-Synthese. Sie wird durch die Bindung von Proteinen, im wesentlichen des hypoxia-inducible factor 1 (HIF 1) induziert (JELKMANN und METZEN 1996). Hypoxische Zustände stimulieren die Niere zur Steigerung der Produktion von Epo, das dann zum Knochenmark zirkuliert. Dort bindet es an die Epo-Rezeptoren der erythroiden Vorläuferzellen, so dass eine erhöhte Erythropoese hervorgerufen wird. Die Epo-Bindung resultiert in einer Dimerisation des Epo-Rezeptors. Daraufhin werden die "Janus Kinase 2" (JAK2) und weiter die "signal transducing and activators of transcription 5" (STAT5) phosphoryliert (JUUL 2000).

Epo wirkt auf neuronale Zellen protektiv. In der Neurologie hat dies Interesse, insbesondere für die Behandlung von Schlaganfall-Patienten, geweckt. *In vitro* und *in vivo* konnte gezeigt werden, dass Epo ein potenter direkter Inhibitor der Ischämie- und Hypoxie-bedingten neuronalen Apoptose ist (SIREN et al. 2001). Indirekt führt Epo durch seine angiogenetische Wirkung zu Neuroprotektion. Eine ähnliche Neovaskularisation findet man einige Tage nach einem Schlaganfall, wenn vom ischämischen Randbereich ausgehend Gefäße einsprossen (KRUPINSKI et al. 1994). Epo ist im Gehirngewebe zudem eine antiinflammatorische Wirkung zugesprochen worden (BRINES et al. 2000). Es wird jedoch angenommen, dass dies indirekt durch eine geringere Apoptose bedingt ist (MOON et al. 2003).

Die Erkenntnisse aus der Neurologie haben seit 2002 in der Kardiologie zu ähnlichen Überlegungen für die Behandlung des myokardialen Infarkts geführt. Es liegen bereits vielversprechende Ergebnisse von *In-vitro*- und *In-vivo*-Studien vor: So hat Epo nach den Untersuchungen von JAQUET et al. (2002) ein deutliches **angiogenetisches** Potential im Herzmuskelgewebe. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass rHuEpo im Herzgewebe *in vitro* eine 220%ige Steigerung der Angiogenese bewirkt. Damit entfaltet es eine ähnliche Wirkung wie VEGF<sub>165</sub> (230%), womit rHuEpo eine Bedeutung im vasoproliferativen Prozess zuzusprechen ist. Die natürliche Angiogenese unter ischämischen Bedingungen findet innerhalb von  $14 \pm 7$  Tagen statt. Durch Epo beschleunigt sich dieser Prozess um 12 bis 24 Stunden (MOON et al.

2003). In *In-vitro*-Kulturen von Aortenringen der Ratte (CARLINI et al. 1995), *In-vivo*-Modellen in der Chorioallantois des Huhnes sowie dem Endometrium der Maus ist die Stimulation der Angiogenese durch Epo nachgewiesen worden (RIBATTI et al. 1999). Außerdem berichten ANAGNOSTOU et al. (1990) von Epo-induzierter Angiogenese der humanen Umbilikalvenen und der bovinen adrenalen Kapillaren.

Wichtig im Hinblick auf die Wirksamkeit von Epo in bezug auf die Angiogenese ist, dass hämatopoetische und endotheliale Zelllinien sich einen gemeinsamen Progenitor, den Hämangioblasten teilen (TAVIAN et al. 2000), und dass Epo die Proliferation und Differenzierung dieses Hämangioblasten reguliert (JELKMANN 1994). An den Endothelzellen konnten durch Epo folgende Effekte entdeckt werden: Kalziummobilisierung, Endothelin-1 (ET-1)-Synthese und -Freisetzung, Angiogenese, mitogener Effekt, synergistische Wirkungen mit VEGF-Effekten (JUUL 2000) sowie Proliferation, Migration und Anti-Apoptose von reifen Endothelzellen (HEESCHEN et al. 2003). Proliferation und Migration werden dabei teilweise durch die autokrine Freisetzung von ET-1 der Endothelzellen selbst vermittelt (CARLINI et al. 1995).

Der vasoproliferative Effekt von Epo scheint nach dem neuesten Stand der Wissenschaft erstens auf der Induktion von Proliferation und Differenzierung der Endothel-Vorläuferzellen und zweitens auf der Stimulation der reifen Endothelzellen zu beruhen. Außerdem scheint Epo eine verbesserte Mobilisation der endothelialen Vorläuferzellen vom Knochenmark zu stimulieren (HEESCHEN et al. 2003).

In anderen Studien konnte gezeigt werden, dass Epo ein **kardioprotektives** Potential aufweist. Es führt zu einer gesteigerten Expressierung von antiapoptotischen Proteinen (SILVA et al. 1996). CALVILLO et al. (2003) haben anhand einer Kultur mit adulten Ratten-Kardiomyozyten gezeigt, dass Epo, 30 min. vor einem ischämischen Ereignis verabreicht, nach 28 Stunden 50% weniger Apoptose aufwies. Das Ausmaß an Nekrosen wies jedoch keine Unterschiede auf. Auch TRAMONTANO et al. (2003) haben *in vitro* nachgewiesen, dass neonatale Myozyten von Ratten nach 72 Stunden langer Hypoxie unter Epo weniger Apoptose hatten. Ähnliches konnten PARSA et al.

(2003) bei einer H9c2-Myoblasten-Kultur, die 12 oder 22 Stunden einer Hypoxie ausgesetzt wurde, beobachten. *In-vivo*-Untersuchungen sind bisher nur an Ratten- und Kaninchen-Modellen durchgeführt worden. CAI et al. (2003) haben in einem Ischämie- und Reperusionsversuch an Ratten festgestellt, dass Epo, intraperitoneal nach ischämischer Schädigung verabreicht, zwar keine Auswirkungen auf die Herzfrequenz oder den koronaren Blutfluss hatte, sich jedoch der linksventrikuläre Druck verbesserte. Die Ursache lag in weniger apoptotischen Prozessen, was mit einer geringeren Anzahl TUNEL-positiver Zellen nachgewiesen wurde. PARSA et al. (2003) haben in einem Kaninchen-Modell herausgefunden, dass Epo die globale Herzfunktion nicht vollständig wiederherstellen kann, dass aber die ventrikulären Drücke und die Relaxation des linken Ventrikels sich signifikant verbessert hatten. Auch hier war das Infarktareal von geringem Umfang und es wurden nur wenige TUNEL-positive Zellen detektiert.

Außerdem haben CHONG et al. 2002 herausgefunden, dass Epo neben der Apoptose der Kardiomyozyten auch die Apoptose von *vaskulären endothelialen Zellen* verhindert.

Nach Aussagen von STERIN-BORDA et al. (2003) scheint Epo außerdem die *Kontraktilität von Kardiomyozyten* positiv zu beeinflussen.

Epo führt zu einer erhöhten NO-Verfügbarkeit (SQUADRITO et al. 1999). Es ist möglich, dass die hierdurch hervorgerufene Vasodilatation eine gesteigerte Kollateralendurchblutung verursacht und der Infarkt weniger groß wird (MOON et al. 2003).

## **2.10 Ameroid Konstriktor zur Simulation einer Koronarsklerose**

Ameroid Konstriktoren bestehen aus Kasein und einem Stahlring, der dieses hygroskopische Material umgibt. Bei Implantation des Konstriktors um eine Arterie kommt es zu Wasseraufnahme durch das Kasein, so dass der Konstriktor an- und zuschwillt. (ELZINGA 1969). Außerdem wird durch die Implantation ein mechanisches Trauma verursacht, das eine Schädigung des Endothels, eine Thrombozytenaggre-

gation sowie eine Fremdkörperreaktion mit fokalen Fibrosierungen hervorruft (UNGER 2001). Diese Vorgänge führen dazu, dass das Gefäß innerhalb von 14 bis 30 Tagen (selten länger) zunächst graduell und schließlich vollständig verschlossen wird (ELZINGA 1969). Die dadurch hervorgerufene Ischämie kann bis zu 16 Wochen andauern (BLOOR et al. 1992). Üblicherweise wird im Schweinemodell eher eine chronische Ischämie als ein Infarkt hervorgerufen (KORNOWSKI et al. 2000). Der graduelle Verschluss der Koronararterien durch einen Ameroid Konstriktor induziert im Versorgungsgebiet der Arterie hibernierendes Myokard, besonders in Tieren mit reduzierter Kollateralenbildung (BOLUKOGLU et al. 1992). Durch den ischämischen Zustand wird die Ausbildung von Kollateralen induziert (BLOOR et al. 1992).

## **2.11 Koronarangiographie**

Mit der Koronarangiographie können alle epikardialen Herzkranzgefäße und deren Kollateralen bildlich dargestellt werden (KRAKAU 1999). Sie ermöglicht als einzige Methode, Stenosen und andere Koronaranomalien sicher, detailliert und reproduzierbar festzustellen (HÖFLING 1991). Im klinischen Alltag wird diese Untersuchung im Zusammenhang mit den kardiologischen Funktionsprüfungen und der klinischen Symptomatik zur Entscheidung über den einzuschlagenden Therapieweg herangezogen. Bei Verdacht auf KHK oder diagnostizierter KHK ist in den allermeisten Fällen eine Koronarangiographie indiziert. Nach Koronarangioplastie wird aufgrund der hohen Rezidivrate häufig nach 3 bis 5 Monaten eine Kontroll-Koronarangiographie durchgeführt (KRAKAU 1999).

Beim herzgesunden Patienten sind üblicherweise in der Koronarangiographie keine Kollateralen auszumachen (BESTEHORN und ROSKAMM 1996).

(Auch im Rahmen der vorliegenden Studie wird die Koronarangiographie wie in der Studie von KONG et al. (1966) für die Dokumentation des Verschlusses des Ameroid Konstriktors und der Ausbildung von Kollateralen am Schweinemodell genutzt.)

## 2.12 Lävoventrikulographie

Im Rahmen fast jeder Herzkatheteruntersuchung des linken Ventrikels wird eine Ventrikulographie durchgeführt. Sie kann Aussagen zu folgenden Punkten geben: regionale und globale Ventrikelfunktion, Ejektionsfraktion, Volumenbestimmungen, Wanddickenbestimmung, Ventrikelgeometrie, murale Thromben, Mitralklappeninsuffizienz, Regurgitationsfraktion bei Aortenklappeninsuffizienz und Ventrikelseptumdefekt (KRAKAU 1999).

Bei der KHK kommt es je nach Stenosierungsgrad und Kollateralenbildung zu regionalen und globalen Wandbewegungsstörungen des linksventrikulären Myokards, die in der Lävoventrikulographie detektiert werden können. Ist die LCX verschlossen - wie es in der vorliegenden Studie simuliert wird - ist mit Kontraktionsstörungen der posterolateralen Wand zu rechnen (KRAKAU 1999).

## 2.13 Kontrastmittel für die Koronarangiographie und die Lävoventrikulographie

Es stehen zwei Arten von Kontrastmitteln für die Koronarangiographie und die Lävoventrikulographie zur Verfügung: Ionische und nicht-ionische. *Ionische* Kontrastmittel haben fast ausnahmslos eine hohe Osmolalität. *Nicht-ionische* Kontrastmittel haben keine elektrische Ladung, sind hydrophiler und haben eine sehr viel geringere Osmolalität als ionische Kontrastmittel. Somit sind auch nicht-ionische Kontrastmittel im Vergleich zu Blut hyperton. Heutzutage werden in Deutschland hauptsächlich nicht-ionische Kontrastmittel verwendet. Sie sind allgemein besser verträglich und verursachen nur geringe Nebenwirkungen, wie allergische Reaktionen, hämodynamische Effekte, rheologische Veränderungen mit thrombotischen Komplikationen sowie Nierenfunktionsstörungen. Die möglichen thrombotischen Komplikationen sind auf die geringere antikoagulatorische Eigenschaft der nicht-ionischen Kontrastmittel zurückzuführen. Daher ist eine gleichzeitige, prophylaktische Applikation von Heparin indiziert (KRAKAU 1999).

(Auch in der vorliegenden Studie kommt ein nicht-ionisches Kontrastmittel (Imeron® 350) zum Einsatz.)

## **2.14 Elektromechanisches Mapping (NOGA-Mapping)**

Das von BEN-HAIM et al. entwickelte NOGA-Mapping-System ist 1996 erstmalig dem internationalen Fachpublikum vorgestellt worden (KORNOWSKI 2002). Elektromechanisches Mapping hat Eingang in die interventionelle Kardiologie und die Neurochirurgie gefunden (BEN-HAIM et al. 1996). In der Kardiologie sind Diagnostik und Therapiekontrolle bei Arrhythmien (Katheterablation, chirurgisch, pharmakologisch) (GEPSTEIN et al. 1997a) sowie die Beurteilung von Größe und Ausmaß von Infarkten (GEPSTEIN et al. 1998) Indikationen für den Einsatz dieser Technologie. Elektromechanisches Mapping ermöglicht Aussagen über die mechanischen, hämodynamischen und elektrophysiologischen kardialen Funktionen (GEPSTEIN et al. 1997b). Das NOGA-Mapping hat sich zu einer diagnostischen Methode zur Charakterisierung von ischämischem und beschädigtem Myokard entwickelt (ODENSTEDT et al. 2003).

Minderperfusion des Myokards im Rahmen der KHK kann mechanische und elektrische Störungen des Herzmuskels verursachen (SCHMAILZL und ARNTZ 2003). Elektromechanisches Mapping macht eine Unterscheidung von gesundem und infarziertem oder ischämischem Myokard aufgrund reduzierter elektrischer und mechanischer Aktivität möglich (KORNOWSKI et al. 1998a).

Beim NOGA-System wird ein Katheter (Mapping-Katheter) eingesetzt, der mit einem endokardialen Kartierungs- und Navigationssystem verbunden ist. Das System nutzt magnetische Technologie, um die Lokalisation und Orientierung des Katheters genau zu bestimmen. Die Mapping-Prozedur basiert auf dem Sammeln von Lokalisationspunkten des Katheters. Hierbei werden von der Katheterspitze registrierte lokale endokardiale Elektrogramme aufgenommen. Aus diesen gesammelten Punkten wird die Herzkammer dreidimensional und in Echtzeit rekonstruiert. Die elektrische Information, die an der Katheterspitze registriert wird, wird farbkodiert auf eine graphische

dreidimensionale Rekonstruktion des linken Ventrikels, ein sogenanntes Map übertragen (GEPSTEIN et al. 1997b). Daraus werden zwei Arten elektrischer Maps aufgebaut: Ein unipolares und ein bipolares Map. In der vorliegenden Studie wird das bipolare Map nicht in die Auswertung einbezogen, da es allgemein eine hohe Fehleranfälligkeit aufweist. Ferner wird ein mechanisches Map erstellt, das die regionale Kontraktion zum Zeitpunkt der Endsystole darstellt (Linear Local Shortening) (GEPSTEIN et al. 1998).

Ein modifizierter Katheter mit einer einziehbaren Nadel (Injektionskatheter) ermöglicht zudem die lokale Applikation von Therapeutika (LESSICK et al. 2001). Bei einer Injektionsmenge von 0,1 ml und einer Nadellänge von 3 bis 4 mm (Bedingungen wie in der vorliegenden Studie) ist eine Diffusion der Lösung in  $7,1 \pm 2,1$  mm Tiefe und  $2,3 \pm 1,8$  mm Weite nachgewiesen worden (KORNOWSKI et al. 2000).

## 2.15 Vorteile des NOGA-Mappings

Dieses bildgebende Verfahren hat gegenüber anderen diagnostischen Methoden diverse Vorteile:

- Der Ventrikel wird dreidimensional und in Echtzeit dargestellt.
- NOGA kommt, abgesehen von der röntgenologischen Kontrolle bei der Registrierung der drei ersten Punkte, ohne Röntgenstrahlung aus. Röntgenbelastung für Patient und Arzt sind damit gering.
- Kontrastmittelapplikationen werden nicht benötigt (GEPSTEIN et al. 1997b; KORNOWSKI 1998b). Nebenwirkungen des Kontrastmittels wie Nierenversagen, Herzversagen bedingt durch die Applikation einer hyperosmotischen Lösung oder allergische Reaktionen können somit vermieden werden.
- Regionale und globale Herzuntersuchungen können in *einem* Arbeitsgang stattfinden. Eine eventuelle interventionelle Therapie kann in der gleichen Sitzung vorgenommen werden; sie gewährleistet somit eine schnelle Behandlung des Patienten (KECK et al. 2002). Intramyokardiale Injektionen können ohne Allgemeinanästhesie oder chirurgische Handlungen angeschlossen werden (KORNOWSKI et al. 2000).

- Das elektromechanische Mapping gilt als außerordentlich genau. Die Bestimmung der Katheterposition mit einer Abweichung von 0,16 mm bzw. 0,73 mm ist bei *In-vitro*- bzw. *In-vivo*-Studien als sehr gut zu beurteilen (GEPSTEIN 1997a).
- Das Mapping ist gut reproduzierbar (GEPSTEIN 1997a). Das Wiederauffinden bestimmter Herzregionen bei späteren Untersuchungen und Therapien kann gewährleistet werden.

## **3 Eigene Untersuchungen**

### **3.1 Zielsetzung**

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, im Modell am Schwein zu untersuchen, ob Erythropoietin (Epo) intramyokardial appliziert, eine positive Wirkung auf die myokardialen Funktionen des ischämischen Herzens hat.

Zwei Wochen nach Implantation eines Ameroid Konstriktors um den Ramus circumflexus der linken Koronararterie (LCX) werden Untersuchungen zur Kollateralisierung, zur Wandbewegung, zur Ejektionsfraktion sowie zur endokardialen elektrischen und mechanischen Funktion des linken Ventrikels durchgeführt. Am selben Tage erfolgen um das ischämische Gebiet Katheter-vermittelt intramyokardiale Injektionen von Epo oder an den Kontrolltieren mit Placebo. Nach vier Wochen findet eine Untersuchung und Beurteilung der Auswirkungen der Injektionen mit denselben kardiologischen Untersuchungen statt. Nach Euthanasie der Tiere am letzten Versuchstag führt man histologische Untersuchungen des Herzmuskels durch.

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß § 8 Abs. 1 des Deutschen Tierschutzgesetzes vom 25.05.1998 durch das Ministerium für Umwelt, Natur und Forsten des Landes Schleswig-Holstein genehmigt.

### **3.2 Material und Methoden**

#### **3.2.1 Versuchstiere und deren Haltung**

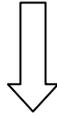
Die Untersuchungen werden an 18 klinisch gesunden, weiblichen Hybridschweinen durchgeführt. Bei Ankunft im Institut einige Tage vor Studienbeginn beträgt ihr Gewicht durchschnittlich 32,6 kg (Schwankungsbreite: 26,8-39,2 kg). Die Tiere stammen aus einem Ferkelaufzuchtbetrieb. Zweimal pro Tag erhalten die Schweine pelletiertes Alleinfutter 1 für Mastschweine (Fa. ATR Landhandel GmbH & Co KG, Solterupmühle). Wasser steht über eine Nippeltränke ad libitum zur Verfügung. 24 Stunden vor und einen Tag nach der Operation bekommen die Tiere kein Futter verabreicht. In jeden Versuchsdurchlauf sind drei Tiere einbezogen. Die drei Tiere werden

vor der Phase 1 zusammen in einer 3,00 m x 2,06 m großen Gruppenbox untergebracht. Nach den beiden folgenden Phasen werden die Tiere zunächst für einige Tage in 1,00 m x 2,06 m großen Einzelboxen gehalten, bevor sie wieder zusammengestellt werden. Zu jedem Zeitpunkt ist Sicht- und Schnüffelkontakt zu den Artgenossen gewährleistet. Die einstreulosen Boxen sind mit Fußbodenheizung, Gummimatten und Rotlichtlampen ausgestattet. Zur Beschäftigung ist in jeder Box ein Spielzeug angebracht, und im Hintergrund läuft ein Radio. Der Stall wird automatisch im geregelten Tag-Nacht-Rhythmus beleuchtet (11 h Beleuchtung, 13 h Dunkelheit). Die Lufttemperatur liegt bei durchschnittlich 18°C, die relative Luftfeuchtigkeit beträgt ca. 40%.

### **3.2.2 Versuchsplan**

Der Versuch ist in drei Abschnitte untergliedert, wie aus dem Fließschema in Abbildung 3 ersichtlich. In Phase 1 wird durch Minithorakotomie im 3. Interkostalraum ein Ameroid Konstriktor um den Ramus circumflexus der linken Koronararterie (LCX) implantiert. Zwei Wochen später (Phase 2) überprüft man durch Koronarangiographie den Verschluss des Gefäßes sowie eine mögliche Kollateralisierung. Im Anschluss daran erfolgt eine Untersuchung der Auswirkungen des Gefäßverschlusses auf die Herzfunktion: Mit Hilfe der Lävoventrikulographie werden die Wandbewegungen beurteilt und Bewegungsstörungen lokalisiert; das elektromechanische Mapping dokumentiert die lokalen endokardialen elektrischen sowie mechanischen Funktionen und die Ejektionsfraktion. An diesem Versuchstag erfolgen mit einem Injektionskatheter intramyokardiale Injektionen von Erythropoietin bzw. Placebo. Nach vier weiteren Wochen (Phase 3) führt man mit den gleichen Untersuchungen wie am Injektionstag eine Kontrolle der Auswirkungen der Injektionen durch. Nach Euthanasie der Tiere werden die Herzen entnommen und histologisch untersucht. Der Fokus ist hierbei auf Fibrosierungen, Rundzellinfiltrate und weitere degenerative Veränderungen gerichtet mit der Fragestellung, wie sich die Veränderungen der beiden Gruppen unterscheiden und ob es sich um aktive, abgeschlossene bzw. progressive Prozesse handelt.

**18 Hybridschweine**



**PHASE 1**

**Implantation eines Ameroid Konstriktors**

1. Narkose

um den Ramus circumflexus der linken Koronararterie durch eine Mini-Thorakotomie zur Simulation einer Koronarsklerose

nach 2 Wochen



**PHASE 2**

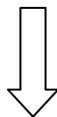
**Kardiologische Untersuchungen  
des linken Ventrikels**

2. Narkose

Koronarangiographie: Überprüfung des Gefäßverschlusses und Beurteilung der Kollateralisierung  
Lävoventrikulographie: Semiquantitative Wandbewegungsanalyse  
NOGA-Mapping: Elektromechanische Funktionsprüfung

Perkutane, intramyokardiale Injektionen von Epo/Placebo

nach 4 Wochen



**PHASE 3**

**Therapiekontrolle/kardiologische Untersuchungen  
des linken Ventrikels**

3. Narkose

Koronarangiographie: Überprüfung des Gefäßverschlusses und Beurteilung der Kollateralisierung  
Lävoventrikulographie: Semiquantitative Wandbewegungsanalyse  
NOGA-Mapping: Elektromechanische Funktionsprüfung

**Euthanasie** des Tieres in Narkose

**Herzentnahme**

**Histologische Untersuchung:** Überprüfung der Gewebeschnitte auf Rundzellinfiltrate, Fibrosierungen und weitere degenerative Veränderungen

**Abb. 3:** Fließschema zum Versuchsplan

### **3.2.3 Phase 1: Implantation des Ameroid Konstriktors**

#### **3.2.3.1 Anästhesie und perioperative Versorgung der Schweine**

Für die Prämedikation verwendet man Ketaminhydrochlorid (20 mg/kg KGW, Keta-  
vet®, Fa. Pharmacia GmbH, Erlangen), Xylazinhydrochlorid (2 mg/kg KGW, Xylazin  
2% Bernburg, Fa. Medistar Arzneimittel Vertrieb GmbH, Holzwickede) und Atropin-  
sulfat (1 mg/kg KGW, Fa. Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Alsbach-Hähnlein), die in  
einer Mischspritze aufgezogen und dem Tier intramuskulär in die laterale Nacken-  
muskulatur appliziert werden. Nach Verlust des Stellreflexes werden die Tiere rasiert,  
gewaschen, abgetrocknet und intubiert (Trachealtubus, Innendurchmesser 7,5 mm,  
Fa. Portex, Kent, United Kingdom). In den Ösophagus plaziert man für die Dauer der  
Operation eine Temperatursonde. In die Vena auricularis magna wird ein Verweil-  
katheter (Größe 20 G, Protectiv™Acuvance™ 2 I.V. Sicherheits-Katheter, Fa. John-  
son & Johnson Medical) gelegt. Die Schweine werden in rechts-dorsolateraler Lage  
auf einem Operationstisch ausgebunden. Im OP-Raum erfolgt der Anschluss an ein  
Narkosegerät (Modell Julian mit Isoflurane-Vapor, beides Fa. Dräger Medizintechnik  
GmbH, Lübeck). Die Beatmung erfolgt mit 2,0 Vol% Isofluran (Isofluran-Baxter, Fa.  
Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim), 35% Sauerstoff und 63% Lachgas.  
Für das Monitoring während der OP (Dinamap™ Plus Vital Signs Monitor, Fa. Criti-  
kon, Tampa, Florida, USA) kommen EKG, Pulsoximeter, Kapnometer und Blut-  
druckmanschette zur Anwendung. Über den Venenverweilkatheter erhält das Tier zur  
Flüssigkeitsversorgung Infusionen isotoner Kochsalzlösung (Viaflo Isotone Koch-  
salzlösung pfrimmer, Fa. Baxter, Unterschleißheim). Zur Prophylaxe von Schmerzen  
und Infektionen bekommen die Schweine bereits vor der Operation Carprofen (125  
mg/Tier i.v., Rimadyl®, Fa. Pfizer GmbH, Karlsruhe) und Florfenicol (15 mg/kg KGW  
i.v., Nufloor® Schwein, Fa. Essex Pharma GmbH, München) verabreicht. Die Antibi-  
ose wird durchgehend eine halbe Woche über die Phase 2 hinaus fortgesetzt.

Nach Schluss der Operation beendet man die Narkosegaszufuhr, beatmet zunächst  
manuell weiter und verabreicht zur Schmerzprophylaxe Buprenorphinhydrochlorid  
(0,162 mg/30 kg i.m., Temgesic®, Fa. Essex Pharma GmbH, München). Die Tiere  
bleiben bis zum Einsetzen der Spontanatmung im OP-Raum unter Beobachtung. Im

Stall werden die Tiere in Einzelboxen untergebracht und unter eine Rotlichtlampe gelegt. Nach Einsetzen des Schluckreflexes wird extubiert, und der Venenverweilkatheter entfernt. Die Tiere wachen unter Aufsicht auf.

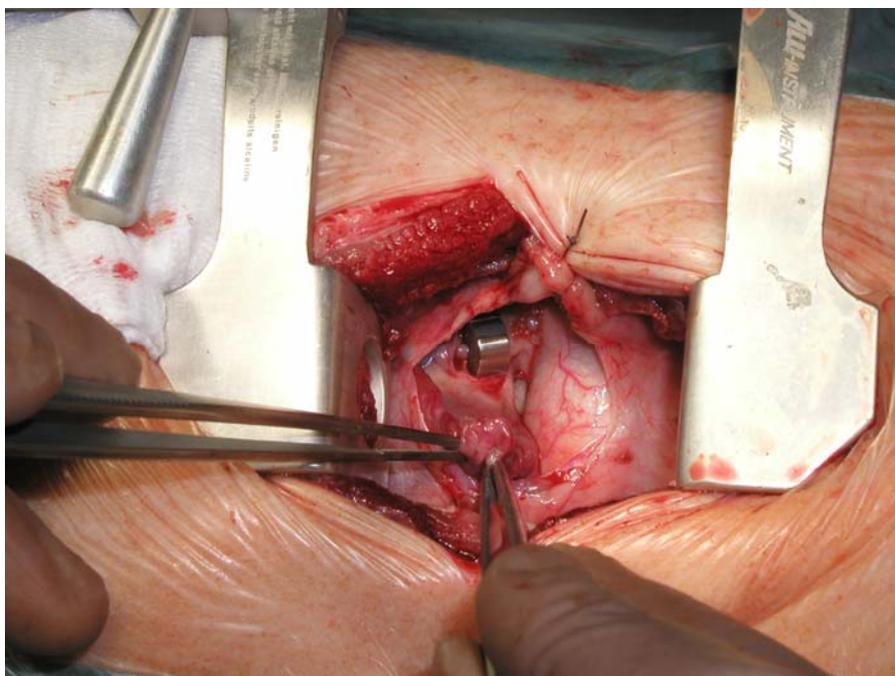
### **3.2.3.2 Chirurgische Implantation des Konstriktors**

Das Operationsfeld wird großflächig mit alkoholischem Hautantiseptikum (Kodan® Tinktur Forte gefärbt, Fa. Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt) desinfiziert. Anschließend deckt man das Tier mit sterilen Einmal-Tüchern (Barrier®, Fa. Mölnlycke Health Care AB, Göteborg, Schweden) so ab, dass lediglich das Operationsfeld frei liegt. Dieses klebt man mit einer transparenten Folie ab (Barrier® Inzisionsfolie, Fa. Mölnlycke Health Care AB, Göteborg, Schweden). Mit einem Einmalskalpell (Aesculap® Sterilskalpell, Fa. Aesculap, Malaysia) wird auf der linken Thoraxseite, 2 bis 3 cm lateral des Sternums, etwa 15 cm kaudal des kranialen Sternumendes im 3. Interkostalraum ein 7 bis 8 cm langer Hautschnitt angebracht. In gleicher Länge wird der Schnitt mit einem Ultraschall-Skalpell (UltraCision® Harmonic Scalpel®, Fa. Ethicon Endo-Surgery, Cincinnati, Ohio, USA) durch die Pectoralis- und Zwischenrippenmuskulatur fortgesetzt und schließlich mit dem Skalpell die Pleuralhöhle eröffnet. Ein eingesetzter Thoraxspreizer hält das Operationsfeld auf. 4 cm kaudal des dorsalen Wundwinkels perforiert man die Thoraxwand und führt von innen einen Drainageschlauch (Blake™ Silikon Drainageröhrchen, Fa. Ethicon, Sommerville, New Jersey, USA) durch das Loch, der im Anschluss daran mit einem Faden festgenäht wird (PDS™II, 3-0, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt). Nach Eröffnung des Perikards wird auf einer Länge von 5 cm die linke Koronararterie im Bereich des Ramus circumflexus freipräpariert. Zur Prophylaxe von Thrombenbildung bekommt das Tier zu diesem Zeitpunkt intravenös Heparin (5000 IE/10 kg KGW, Heparin-Natrium Braun 25000 IE/5ml, Fa. B. Braun Melsungen, Melsungen) verabreicht. Um den Ramus circumflexus legt man einen Ameroid Konstriktor (je nach Länge des frei präparierbaren Gefäßabschnitts Größe 2,0 mm, 2,75 mm oder 4,0 mm, Typ Pie-Shaped, Fa. Research Instruments SW, Escondido, California, USA) (Abb. 4 und 5).



**Kasein-Inlay    Edelstahlring**

**Abb. 4:** Ameroid Konstriktor (Aufnahme aus vorliegender Studie)



**Abb. 5:** Implantierter Ameroid Konstriktor um den Ramus circumflexus (Aufnahme aus vorliegender Studie)

Der Zugang wird wie folgt verschlossen: Das Perikard lässt man zur Vermeidung von Perikardtampnaden offen. Mit Einzelheften aus resorbierbarem Faden (Vicryl® 2-0 USP, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt) adaptiert man Muskelfaszie, einen Teil der Rippen sowie die Pectoralis- und Zwischenrippenmuskulatur. Im nächsten Schritt werden auf gleiche Weise die Pectoralismuskulatur und die Subkutis genäht. Für die subkutane als auch intrakutane fortlaufende Naht verwendet man resorbierbaren Faden (PDS™II, 3-0, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt). Mit einer 50 ml-Spritze (Platik-

pak®, Fa. Becton Dickinson®, Irland) wird durch die Drainage, unterstützt durch manuelle Beatmung, Wundsekret abgesogen, und der Unterdruck im Thorax wiederhergestellt. Im Anschluss daran verschließt man das Drainageloch mit einem Faden (PDS™II, 3-0, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt). Zur Unterstützung der Adaptation wird ein topischer Hautkleber (Dermabond™, Fa. Ethicon, Sommerville, New Jersey, USA) auf die Wunde aufgetragen und kurzfristig ein Kompressenverband angelegt.

### **3.2.4 Phase 2: Kardiologische Untersuchung/Verlaufskontrolle und intramyokardiale Injektionen**

#### **3.2.4.1 Anästhesie und perioperative Versorgung der Schweine**

Für die Phase 2 wird im Vergleich zu Phase 1 eine herz- und kreislaufschonendere Injektionsnarkose gewählt, um die Belastung des Tieres während und nach der kardiologischen Untersuchung weitmöglichst zu minimieren.

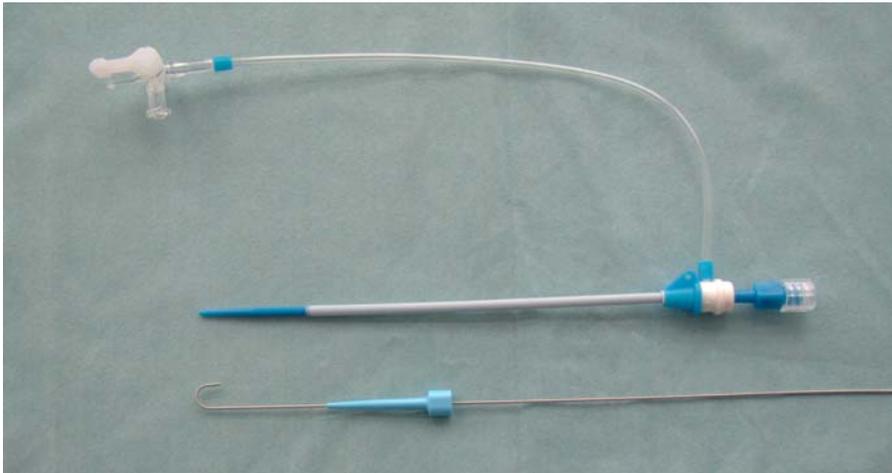
Die Anästhesie und die perioperative Versorgung der Tiere verlaufen größtenteils wie in Phase 1. Bei der Prämedikation ersetzt man Xylazin durch Azaperon (4 mg/kg KGW, Stresnil®, Fa. Janssen-Cilag GmbH, Neuss). Für die Fortführung der Injektionsnarkose ist ein zusätzlicher venöser Zugang in eine Ohrtrandvene notwendig. Die Injektionsnarkose besteht aus 1000 mg Propofol (Disoprivan® 2%, Fa. AstraZeneca GmbH, Wedel), 0,5 mg Fentanyl (Fentanyl Janssen 0,5 mg, Fa. Janssen-Cilag GmbH, Neuss) und 500 ml isotoner Kochsalzlösung (Viaflo Isotone Kochsalzlösung pfrimmer, Fa. Baxter, Unterschleißheim). Mit Hilfe eines Infusomaten (IVAC® Modell 598 Volumetrische Pumpe, IVAC® Corporation, San Diego, Kalifornien, USA) erfolgt eine Dosierung von 110 bis 180 ml pro Stunde.

Die bereits zum Zeitpunkt der Phase 1 begonnene Antibiose wird noch eine halbe Woche fortgesetzt.

### **3.2.4.2 Chirurgische Platzierung der arteriellen Einführschleuse**

Die Haut des Innenschenkels einer Beckengliedmaße wird großflächig mit alkoholischem Hautantiseptikum (Kodan® Tinktur Forte gefärbt, Fa. Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt) desinfiziert. Mit Einmaltüchern deckt man das Tier so ab, dass nur noch der Innenschenkel frei liegt. Proximal im Schenkelkanal wird mit einem Einmalskalpell (Aesculap® Sterilskalpell, Fa. Aesculap, Malaysia) ein ca. 6 cm langer Hautschnitt gemacht. Zwischen den Muskelbäuchen der Musculi sartorius und gracilis präpariert man stumpf in die Tiefe und stellt die Arteria femoralis dar. Es werden zwei Fadenschlingen (Vicryl® 2-0 USP, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt) um das Gefäß gelegt. Mit einem der beiden Fäden wird das Gefäß distal ligiert, mit einer Gefäßschere proximal dieser Ligatur angeschnitten und eine 8-French-Einführschleuse (Avanti®+ Introducer, Fa. Cordis, Roden, Niederlande) (Abb. 6) herzwärts in dem Gefäß plaziert. Nach Entfernung des Dilators aus der Schleuse legt man einen Führungsdraht in das Gefäß vor, über den man dann die Schleuse kontrolliert vorschiebt. Überprüfung des Sitzes und der Durchgängigkeit der Schleuse erfolgen durch Spülen mit wenigen Millilitern Heparin-Kochsalzlösung (Verdünnung 5000 IE auf 200 ml). Der Dilator wird kurzfristig wieder eingeführt, um den zweiten Faden zur Fixierung der Schleuse proximal um das Gefäß zu knoten, ohne dabei die Schleuse zu komprimieren. Nach erneuter Entfernung des Dilators fixiert man beide Fäden an der Öse der Schleuse und deckt den Zugang erneut steril ab.

Um Embolien durch die Manipulation des Katheters in der Blutbahn zu vermeiden erhält das Tier einen Bolus Heparin (5000 IE/10 kg KGW i. v., Heparin-Natrium Braun 25000 IE/5ml, Fa. B. Braun Melsungen, Melsungen).



**Abb. 6:** Arterielle Einführschleuse mit Dilatator in der Schleuse und Führungsdraht (Aufnahme aus vorliegender Studie)

### 3.2.4.3 Kardiologische Untersuchung

#### 3.2.4.3.1 Koronarangiographie

Mit Hilfe der Koronarangiographie soll der Verschluss des Ameroid Konstriktors und eine eventuelle Kollateralenbildung dokumentiert werden.

Man führt mit Hilfe eines Führungsdrahts (Introguide, Fa. Angiokard Medizintechnik GmbH & Co. KG, Friedeburg) einen Angiographie-Katheter (Impulse™ Flextrusion™ Shaft Angiographiekatheter, Größe 5 F, Biegung FR 3,5, Länge 100 cm, Fa. Boston Scientific Scimed, USA) durch die Schleuse in die Arteria iliaca ein und plaziert ihn in den Anfangsteil der linken Koronararterie. In die Koronararterie wird über diesen Katheter ein Kontrastmittel injiziert (Imeron® 350, Fa. Bracco Altana, Konstanz), so dass sich das Gefäß mit seinen Aufzweigungen röntgenologisch darstellt. Zusätzlich führt man mit dem gleichen Katheter eine Koronarangiographie der rechten Koronararterie durch, um eine mögliche Kollateralenbildung ausgehend von diesem Gefäß feststellen zu können. Um die Gefäßverläufe überlagerungsfrei und in ihrem gesamten Verlauf gut darstellen zu können, macht man Aufnahmen in verschiedenen Projektionsebenen:

- linke Koronararterie: LAO (left anterior oblique) 30°,  
RAO (right anterior oblique) 30°,  
AP (anterior-posterior)

- rechte Koronararterie: LAO 30°,  
RAO 30°.

Die Bewertung der Kollateralenbildung erfolgt gemäß einer modifizierten Klassifikation nach RENTROP et al. (1985):

Kollateralisierung Grad 0: Es sind keine Kollateralgefäße sichtbar.

Kollateralisierung Grad 1: Nebenäste der stenosierten oder okkludierten A. coronaria sind nach Kontrastmittelinjektion sichtbar, epikardiale Anteile sind nicht auszumachen.

Kollateralisierung Grad 2: Teilweise können mit Kontrastmittel retrograd epikardiale Anteile der stenosierten oder okkludierten A. coronaria dargestellt werden.

Kollateralisierung Grad 3: Die retrograde Kontrastierung ist komplett vom Ursprung der Kollaterale bis zur Verschlussstelle der Koronararterie sichtbar.

Eine Modifikation dieser Beurteilung nach RENTROP et al. (1985) erlaubt zusätzlich zur *retrograden* Kollateralisierung das Einbeziehen von *antegrader* Kollateralisierung.

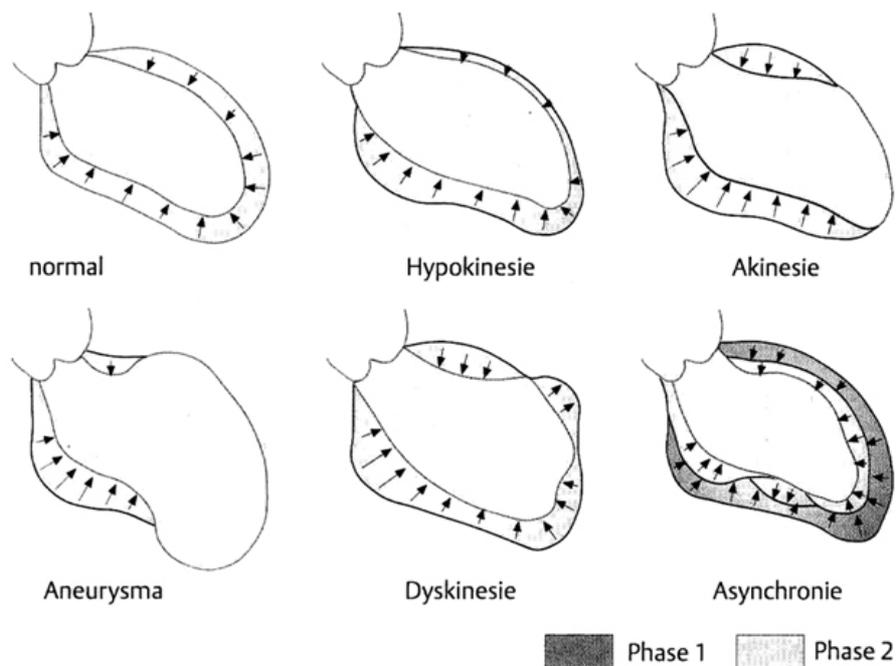
### 3.2.4.3.2 Lävoventrikulographie

Die linksventrikulären Funktionen, insbesondere die Wandbewegungsstörungen, lassen sich mit der Lävoventrikulographie dokumentieren. Dazu wird ein nach rechts gebogener Pigtail-Katheter (Impulse™ Flextrusion™ Shaft Angiographiekatheter, 5 F, Länge 110 cm, mit 6 Seitenlöchern, Fa. Boston Scientific Scimed, USA) mit einem Führungsdraht in die Schleuse eingeführt und retrograd durch die Aortenklappe im linken Ventrikel plaziert. Bei röntgenkinematographischer Aufzeichnung (Mobile C-Arm, Series 9800™, Fa. OEC Medical Systems, Salt Lake City, Utah, USA) werden mit Hilfe einer Hochdruck-Injektionspumpe (Angiomat 3000, Fa. Liebel Flarsheim, Cincinnati, Ohio, USA) mehrfach 30 ml Iomeprol-Kontrastmittel (Imeron® 350, Fa. Bracco Altana, Konstanz) mit einer Geschwindigkeit von 120 ml pro Minute appliziert. Das Kontrastmittel füllt den linken Ventrikel und ermöglicht während der Kontraktion die Beurteilung der Wandbewegungen. Die Injektionsphase wird am Monitor verfolgt

und auf einem DVD-Medium gespeichert. Man dokumentiert Aufnahmen in der LAO-30°- sowie der AP-Projektionsebene.

Die Bewertung der regionalen Wandbewegungen (siehe Abb. 7) erfolgt qualitativ nach der Nomenklatur von HERMAN et al. (1967):

- Normokinesie: Normale Wandbeweglichkeit
- Hypokinesie: Eingeschränkte, aber nicht aufgehobene Wandbeweglichkeit
- Akinesie: Das betreffende Areal bleibt in der Systole und Diastole unbeweglich
- Aneurysma: Der dyskinetische Abschnitt ist sowohl in der Systole als auch in der Diastole deutlich von den übrigen Wandabschnitten abgegrenzt
- Dyskinesie: Systolische Auswärtsbewegung des Myokards
- Asynchronie: Zeitlich gegeneinander verschobener Kontraktionsablauf einzelner Wandabschnitte, wobei die systolische Kontraktion bei alleiniger Betrachtung uneingeschränkt sein kann.

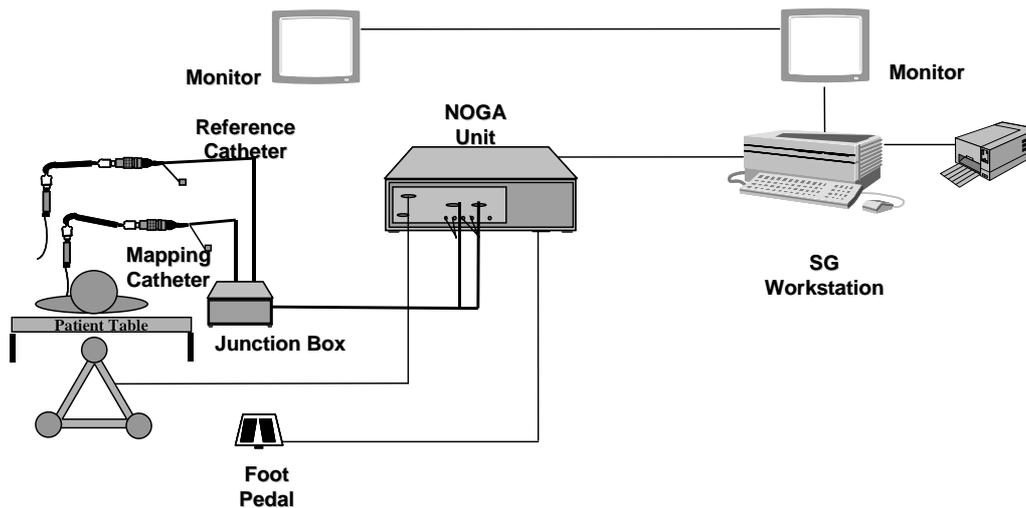


**Abb. 7:** Schematische Darstellung von Wandbewegungsstörungen (nach HERMAN et al. 1967)

### 3.2.4.3.3 Elektromechanisches Mapping

- **Aufbau des Systems und Funktion seiner Komponenten**

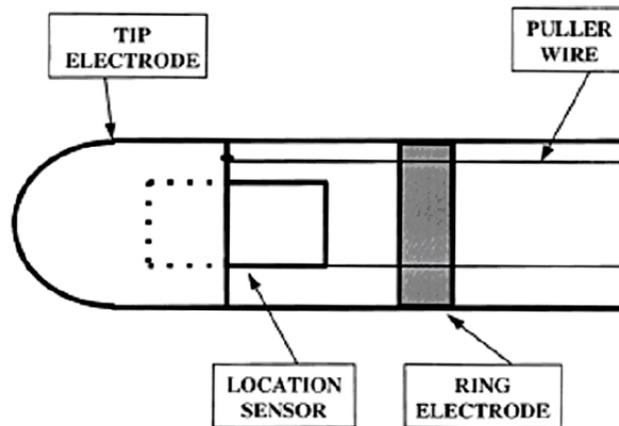
Das System für das elektromechanische Mapping (NOGA-Mapping) besteht aus folgenden Komponenten (siehe Abb. 8):



**Abb. 8:** Komponenten des NOGA-Systems (NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis)

1. Mappingkatheter (NOGA-STAR™ Diagnostic Deflectable Tip Catheter, 7F, Länge 115 cm, Kurventyp B oder D; Biosense Webster Inc., Diamond Bar, California, USA) (Abb. 9)

Am distalen Ende des Katheters befindet sich eine Spitzenelektrode. Proximal von ihr sind ein Lokalisationssensor sowie eine weitere, ringförmige Elektrode in den Katheterschaft integriert. Die Signale werden in der NOGA Unit verarbeitet. Die Spitze des Katheters lässt sich durch Verschieben des Daumenknopfs biegen.



**Abb. 9:** Spitzenbereich des Mappingkatheters (nach GEPSTEIN et al. 1997a)

2. Reference Patch (REF-STAR™ External Reference Patch, Cordis Webster Inc., Diamond Bar, California, USA) (Abb. 10)



**Abb. 10:** Reference Patch (NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis)

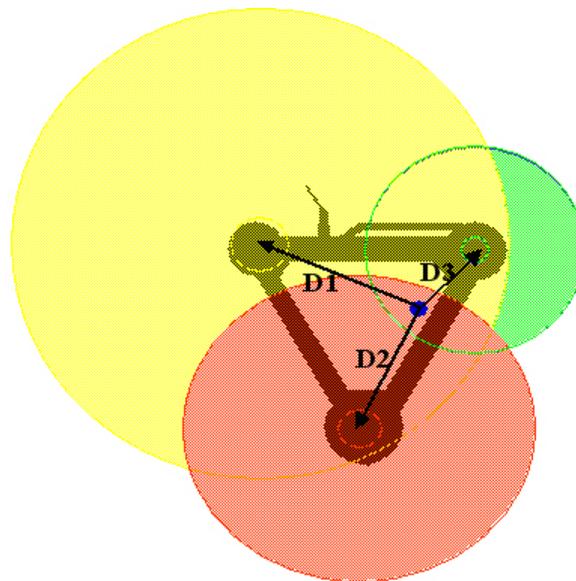
Dieser Referenzkatheter wird unter Röntgenkontrolle unterhalb der Herzsilhouette auf den Rücken geklebt und ist wie der Mappingkatheter mit einem kleinen Spitzensensor ausgestattet. Dies ermöglicht die Korrektur der Katheterlokalisierung; Bewegungsartefakte beispielsweise durch die Atmung können korrigiert werden, da das Reference Patch diesen Bewegungen entsprechend folgt und so eine Berechnung der Abweichung von der eigentlichen Lokalisation des Katheters möglich macht.

3. Junction Box (Biosense Webster Israel Ltd., Haifa)

Der Mappingkatheter und das Reference Patch werden über die Junction Box mit dem NOGA-Unit verbunden.

4. Location Pad (Biosense Webster Israel Ltd., Haifa)

Das Location Pad wird in Höhe des Herzens unter dem OP-Tisch angebracht. Es besteht aus drei Spulen (D1, D2, D3) mit 1, 2 bzw. 3 kHz, die jeweils ein schwaches, unterschiedlich großes magnetisches Energiefeld von  $5 \times 10^{-6}$  bis  $5 \times 10^{-5}$  Tesla emittieren (Abb. 11).



**Abb. 11:** Elektromagnetische Felder des Location Pad (NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis)

Der Lokalisationssensor an der Katheterspitze mißt die Stärke der magnetischen Felder und somit die Distanz zu jeder Spule (Abb. 12). Hierdurch wird die Lokalisation der Katheterspitze bestimmt.

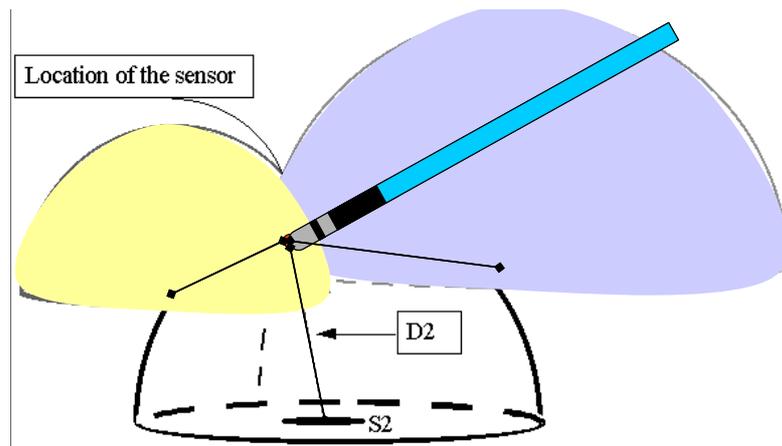


Abb. 12: Lokalisation des Katheters (NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis)

#### 5. NOGA Unit (Biosense Webster Israel Ltd., Haifa)

Die vom Katheter aufgenommenen Signale werden hier gespeichert, verarbeitet, und mit ihnen Berechnungen für die Erstellung von Maps durchgeführt.

#### 6. Workstation (Silicon Graphics Workstation, Silicon Graphics Inc., Mountain View, California, USA)

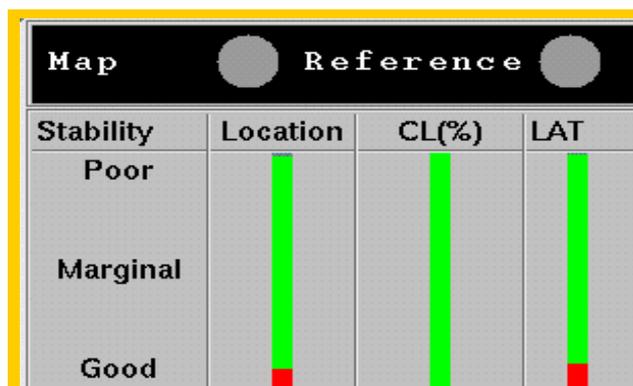
Mit der Workstation erfolgt die Darstellung eines dreidimensionalen Bildes (Map) und der Position des Katheters im Ventrikel über zwei Monitore. Am Monitor verfolgt man die Mapping-Prozeduren mit und eliminiert gegebenenfalls fehlerhafte Signalregistrierungen.

- **Die Kartierungsprozedur (Mapping)**

Der Mappingkatheter wird perkutan durch die Schleuse in die Arteria femoralis eingeführt. Unter röntgenologischer Kontrolle schiebt man ihn in der Aorta herzwärts durch den Aortenbogen und die Aortenklappe bis zum Apex des linken Ventrikels vor. Dort relaxiert man die Katheterspitze und zieht sie gleichzeitig zurück bis sie in gestreckter Form in die Herzspitze fällt. Unter Röntgenkontrolle wird hier der erste von drei initialen Punkten vom NOGA-System registriert. Um den zweiten initialen Punkt aufzusuchen, biegt man die Katheterspitze wieder und rotiert den Katheter während des Zurückziehens im Uhrzeigersinn. Im Bereich der Austreibungsbahn unterhalb der Aortenklappe kann nun der zweite initiale Punkt vom Computer ge-

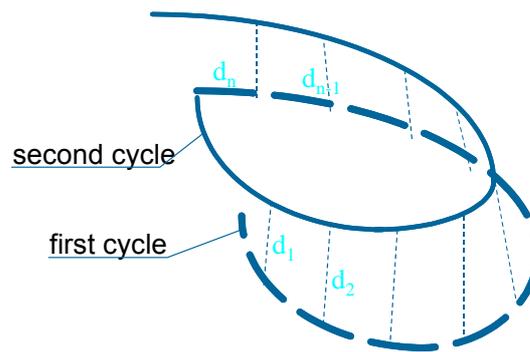
speichert werden. Der Katheter wird gegen den Uhrzeigersinn gedreht und in der Einströmungsbahn unterhalb des Mitral-Anulus der dritte Initialpunkt definiert. Damit sind die Grenzen der linken Herzkammer markiert. Für das Hinzufügen weiterer Punkte benötigt man keine röntgenologische Kontrolle mehr, da ein Abbild des Katheters und ein Strichmännchen auf dem Computerbildschirm eine ausreichende Orientierung gestatten. Um den linken Ventrikel möglichst gleichmäßig zu erfassen, wird der Mappingkatheter zur Herzspitze geführt, von dort Richtung Herzbasis zurückgezogen und dabei in kleinen Abständen Signale gemessen. Danach kehrt man wieder zum Apex zurück, rotiert den Katheter ein kleines Stück und untersucht wiederum entlang der Ventrikelwand in Richtung Herzbasis.

Die Registrierungen der elektrischen und mechanischen Funktionen (lokales endokardiales EKG und Katheterspitzenlokalisierung) sind an einen bestimmten Zeitpunkt des Herzzyklus, die R-Zacke, also an das Ende der Diastole gebunden. Die Punkte werden nur in das Map aufgenommen, wenn die Katheterspitze stabil am Endokard liegt und dies aus der Stabilität der lokalen Aktivierungszeit, Lokalisationsstabilität, Zykluslängenstabilität (Abb. 13), Schleifenstabilität (Abb. 14) und Übereinstimmung des endokardialen mit dem Körperoberflächen-EKG (Abb. 15) ableitbar ist. Sind die Kriterien erfüllt, so bestätigt man den Punkt per Fußpedal und damit die Integration ins Map.

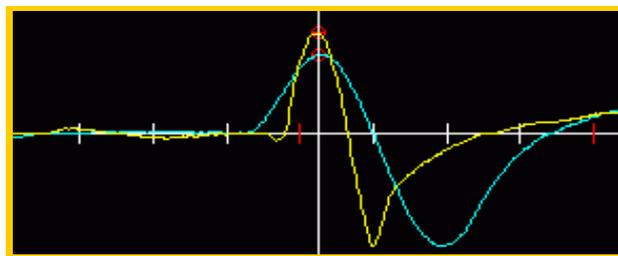


**Abb. 13:** Stabilitätskriterien Lokalisation, Zykluslänge und lokale Aktivierungszeit, Ausschnitt des Monitorbildes (NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis)

Die Balken sollen möglichst grün sein, d.h. den Bereich guter Stabilität anzeigen



**Abb. 14:** Stabilitätskriterium Schleifenstabilität (NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis)



**Abb. 15:** Stabilitätskriterium EKG-Übereinstimmung, Ausschnitt des Monitorbildes (NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis)

Mit Hilfe der registrierten Signale werden von der NOGA-Unit dreidimensionale Maps erstellt: Das Unipolar Voltage (UV) Map und das Linear Local Shortening (LLS) Map. Auch globale mechanische Funktionen, wie das enddiastolische Volumen, das endsystolische Volumen und die Ejektionsfraktion berechnet das NOGA-System automatisch.

Alle Maps sind mit einer regenbogenfarbenen Skala kodiert: Von Rot für die niedrigsten Werte über Grün und Gelb zu Violett mit den höchsten Werten. Folglich stehen in den Voltage Maps und den Linear Local Shortening Maps die "kalten" Farben für gesundes Myokard und die "warmen" Farben für verändertes Myokard. Die Skalen der Maps sind wie folgt eingestellt:

- Unipolar Voltage (UV) Map:  
Von Rot für  $UV \leq 6$  mV bis Violett für  $UV \geq 14$  mV
- Linear Local Shortening (LLS) Map:  
Von Rot für  $LLS \leq 2\%$  bis Violett für  $LLS \geq 11\%$ .

#### **3.2.4.3.4 Nachbearbeitung der Maps**

Die Maps werden manuell nachbearbeitet: Zunächst korrigiert man den Apex des Herzens. Obwohl man ihn normalerweise bereits automatisch bestimmt, muss der Apex aber aufgrund des zum Menschen unterschiedlichen Situs des Herzens für das Schwein neu gesetzt werden. Die lange Achse des Ventrikels wird als Linie zwischen Apex und Zentrum der LV-Rekonstruktion definiert.

Ist die Distanz zwischen benachbarten Punkten, die die Punktdichte widerspiegelt, größer als die automatisch eingestellte maximale Distanz (fill threshold 15 mm), so können die Punkte im Map nicht miteinander verbunden werden. Die Kartierung weist in diesem Fall Löcher auf. Durch Erhöhung der maximalen Distanz zwischen den Nachbarpunkten werden die Löcher beseitigt.

Um das Map möglichst originalgetreu an die Form des Ventrikels anzupassen, eliminiert man sogenannte pyramidale Punkte aus dem Map. Pyramidale Punkte ragen ins Map herein oder stechen aus der Außenfläche des Maps hervor. Durch die Verbindung dieser Punkte mit ihren Nachbarpunkten entstehen im Map stachel- bzw. pyramidenartige Areale, die zum Pyramidenpunkt hinführen. Sie repräsentieren meistens weder die endokardiale Wand, den Papillarmuskel noch eine andere Struktur im Herzen. Aus diesem Grunde werden sie aus dem Map händisch entfernt.

Zu den 3D-Maps erstellt das NOGA-System automatisch sogenannte Bull's Eye View Maps (Abb. 18). Hierin ist die Herzkammer entlang der Längsachse in drei Abschnitte unterteilt, wobei der Apex 20% und der mittventrikuläre sowie basale Abschnitt jeweils 40% der Kammer ausmachen. Der mittventrikuläre und der basale Bereich werden weiter in vier Regionen unterteilt (anterior (80°), septal (120°), posterior/inferior (80°) und lateral (80°)), so dass insgesamt eine Einteilung in neun Segmente vorliegt. Für die einzelnen Segmente werden Mittelwerte erstellt.

In den basalen Segmenten des Maps, selten auch in mittleren Segmenten, sind zum Teil Bereiche des mitralen Anulus fibrosus zu erkennen, die anatomisch-physiolo-

gisch bedingt niedrige Werte aufweisen. Deshalb ist eine Unterscheidung zwischen normalem und elektromechanisch verändertem Myokard hier nicht möglich. Um falsch-negativen Ergebnissen bestmöglich vorzubeugen, werden die basalen Segmente daher nicht in die Auswertung einbezogen. Nur das laterobasale Segment, das im LCX-Versorgungsgebiet liegt, wird immer dann in die Auswertung aufgenommen, wenn es erstens im Map visuell als betroffen beurteilt wird und zweitens zudem deutlich niedrigere Werte als die anderen Basalsegmente, d.h. eine elektromechanische Funktionsverschlechterung aufzeigt.

#### **3.2.4.3.5 Auswertung der Maps**

- **Vergleich der "area of interest"**
  - **Definition der „area of interest“**

Das Versorgungsgebiet des Ramus circumflexus der linken Koronararterie zeigt im NOGA-Map sehr unterschiedliche Ausdehnungen: Versorgungstyp oder Kollateralausbildung spielen hierbei eine Rolle. Deshalb muss für jedes Tier eine individuelle „area of interest“ erstellt werden. Man kann dabei nicht ausschließen, dass das LCX-Gebiet aufgrund technischer Ursachen (Katheter, NOGA-System, Unterteilung des linken Ventrikels für das Bull's Eye View Map) mit geringen Ungenauigkeiten dargestellt wird.

Während der Phase 2 wird die induzierte Ischämie (siehe Phase 1) anhand der Maps lokalisiert und festgelegt, die betroffenen Segmente werden als „area of interest“ bezeichnet und als Grundlage für den Vergleich der Befunde in Phase 2 und Phase 3 verwendet.

- **Analyse der elektrischen und mechanischen Daten**

Die regionale Kontraktilität (LLS) wird von der NOGA-Unit aus den mechanischen Daten nach folgender Formel berechnet:

$$LLS(p) = \Sigma [Li_{(ED)} - Li_{(ES)} / Li_{(ED)}] \times W_{(Li)} \times 100.$$

$LLS(p)$  = durchschnittliche lokale Verkürzung (local shortening) des Abstandes eines Punktes  $p$  auf der endokardialen Oberfläche relativ zu all seinen Nachbarpunkten.

Bei Annäherung von Nachbarpunkten wird der Wert größer, bei gegenseitiger Entfernung nimmt er ab oder kann bei paradoxer Bewegung sogar negativ ausfallen. Mit dem LLS lässt sich nicht zwischen aktiver und passiver Bewegung unterscheiden.

$Li_{(ED)}, Li_{(ES)}$  = Entfernung zwischen einem Indexpunkt und seinen Nachbarpunkten während der Enddiastole bzw. Endsystole.

$W_{(Li)}$  = "weight function": Mit dieser Funktion werden folgende Punkte von der Berechnung des durchschnittlichen LLS-Wertes ausgenommen: Punkte, die zu eng aneinander liegen (ihre relative Bewegung ist so gering, dass das NOGA-System die Lokalisation der Punkte nicht akkurat erfassen kann) oder zu weit voneinander entfernt sind (die relative Bewegung scheint nicht nur durch die regionale Kontraktion zwischen den Punkten beeinflusst zu sein).

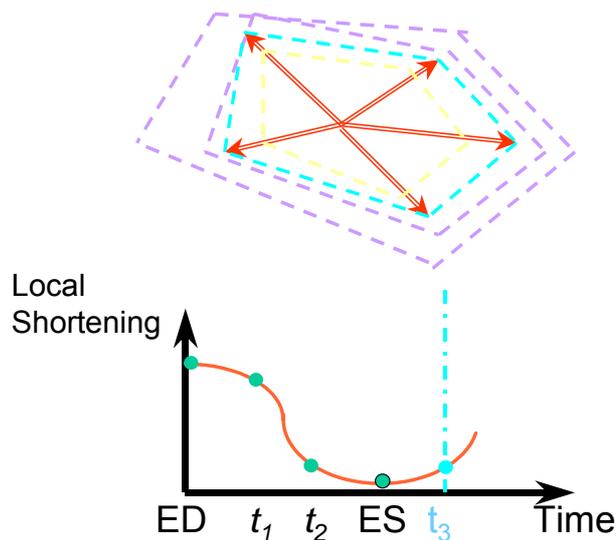


Abb. 16: Linear Local Shortening (NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis)

Als Referenzwerte verwendet man die Werte von CHAMPAGNE et al. (2003). Hier-nach zeichnet sich ischämisches Myokard durch UV-Werte von  $9,1 \pm 1,8$  mV und LLS-Werte von  $6,4 \pm 5,4\%$  aus. Nicht-ischämisches Gewebe zeigt Werte von  $11,3 \pm 3,6$  mV bzw.  $17,9 \pm 3,0\%$ .

Allgemein gilt für die Interpretation:

Normale UV-Werte und normale LLS-Werte

⇒ normale myokardiale Funktion

Normale UV-Werte und verschlechterte LLS-Werte

⇒ hibernierendes Myokard

Verschlechterte UV-Werte und verschlechterte LLS-Werte

⇒ abnormale Funktion wie in Infarktarealen.

Hinsichtlich der Interpretation der Maps interessieren folgende Fragen:

Wie haben sich die UV- und LLS-Werte der "area of interest" nach intramyokardialer Injektion von Epo bzw. Placebo verändert?

Bestehen Unterschiede bei den Veränderungen zwischen den Tieren der Epo- und Placebo-Gruppe?

Darüberhinaus werden die Mittelwerte für das nicht-ischämische Gebiet berechnet. Sie sollen einer deutlicheren Darstellung der Ischämie-bedingten Veränderungen in der „area of interest“ dienen.

- **Ejektionsfraktion**

Anhand der Maps werden vom NOGA-Unit das enddiastolische Volumen, das end-systolische Volumen und die Ejektionsfraktion berechnet.

In der vorliegenden Studie sind nur die Ejektionsfraktionen berücksichtigt worden, da die Tiere im Verlauf der Studie gewachsen sind.

$$EF = (EDV-ESV)/EDV$$

EF	Ejektionsfraktion [%]
EDV	enddiastolisches Volumen [ml]
ESV	endsystolisches Volumen [ml]

Es wird festgestellt, ob die Ejektionsfraktion zugenommen hat, gleich geblieben ist oder abgenommen hat.

- **Statistik**

Alle UV- und LLS-Werte sowie die Ejektionsfraktionen werden statistisch ausgewertet. Die deskriptive Statistik beinhaltet die Ermittlung der Mittelwerte jedes Tieres, der Standardabweichungen, der Mediane sowie der Konfidenzintervalle der Mittelwerte. Die Daten werden graphisch als Boxplots präsentiert. Anhand allgemeiner linearer Modelle spezifiziert für Varianzanalysen für Messwiederholungen werden die UV- und LLS-Werte sowie die Ejektionsfraktionen zwischen den beiden Zeitphasen als auch den Therapiegruppen verglichen. Die Auswertung erfolgt explorativ. Ergebnisse werden nominal als statistisch signifikant beurteilt, wenn der p-Wert  $< 0,05$  ist. Die statistischen Berechnungen werden mit der Software SPSS für Windows 11.5.2.1., SPSS Inc. durchgeführt.

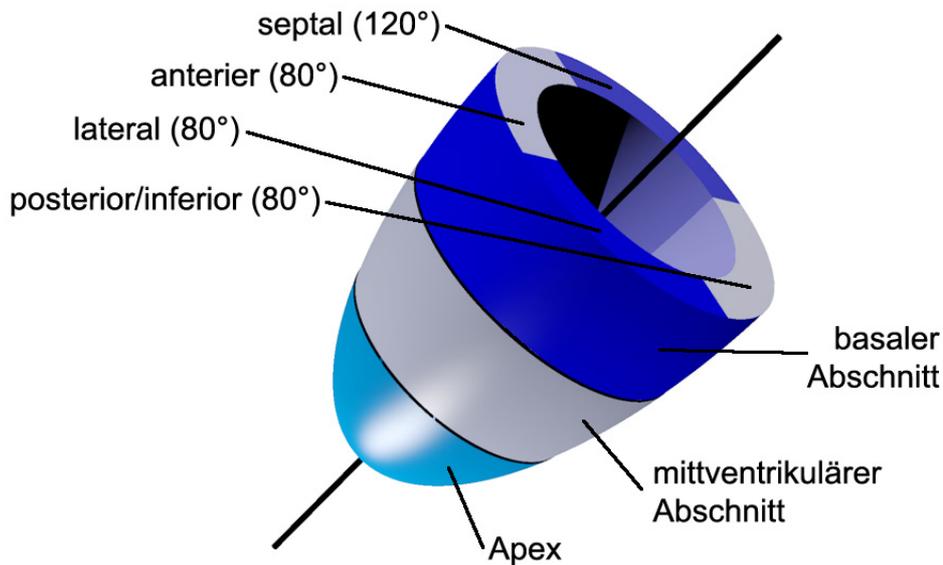
- **Größenänderungen des ischämischen Gebiets**

Anhand der UV-Maps wird die Anzahl der ischämischen Segmente ("area of interest") in Phase 2 und in Phase 3 gezählt. Darauf basiert die Feststellung, ob sich das ischämische Gebiet verkleinert hat, gleich groß geblieben ist oder sich auf benachbarte Segmente ausgeweitet hat.

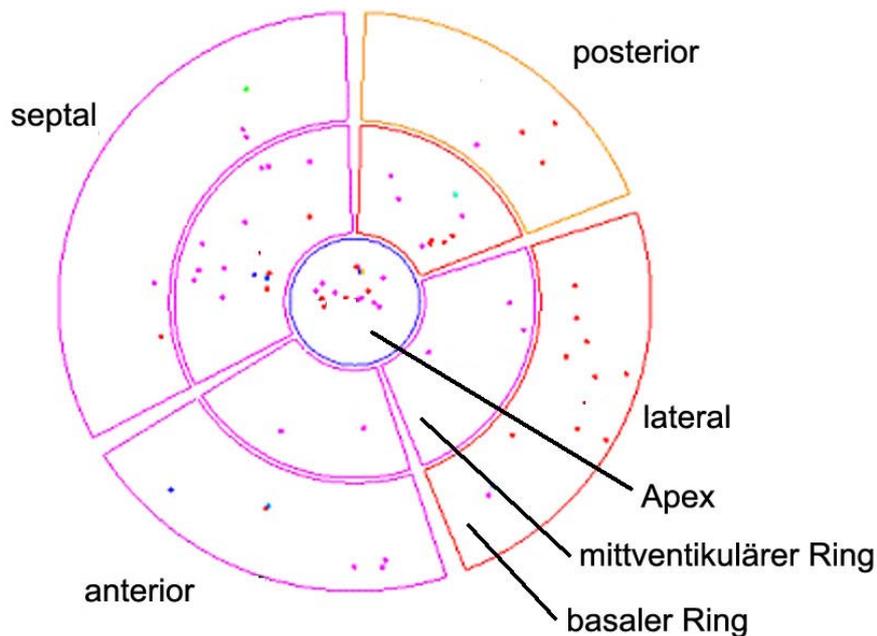
Die Bewertung basiert nicht nur auf der Bewertung des eigentlichen dreidimensionalen NOGA-Maps; auch das entsprechende Bull's Eye View Map sowie die Segmentmittelwerte werden für diese Beurteilung herangezogen.

Da die dreidimensionalen UV-Maps im Rahmen der vorliegenden Arbeit nur zweidimensional dargestellt werden können (siehe Abb. 30 bis 33), sind die Größenände-

rungen des ischämischen Gebiets für den Betrachter nicht immer eindeutig nachzuziehen. Die folgenden Abbildungen (Abb. 17 bis 19) sollen daher das Verständnis der räumlichen Verhältnisse sowie der Segmenteinteilung erleichtern und somit die Beurteilungsmethodik der Größenänderungen erklären:

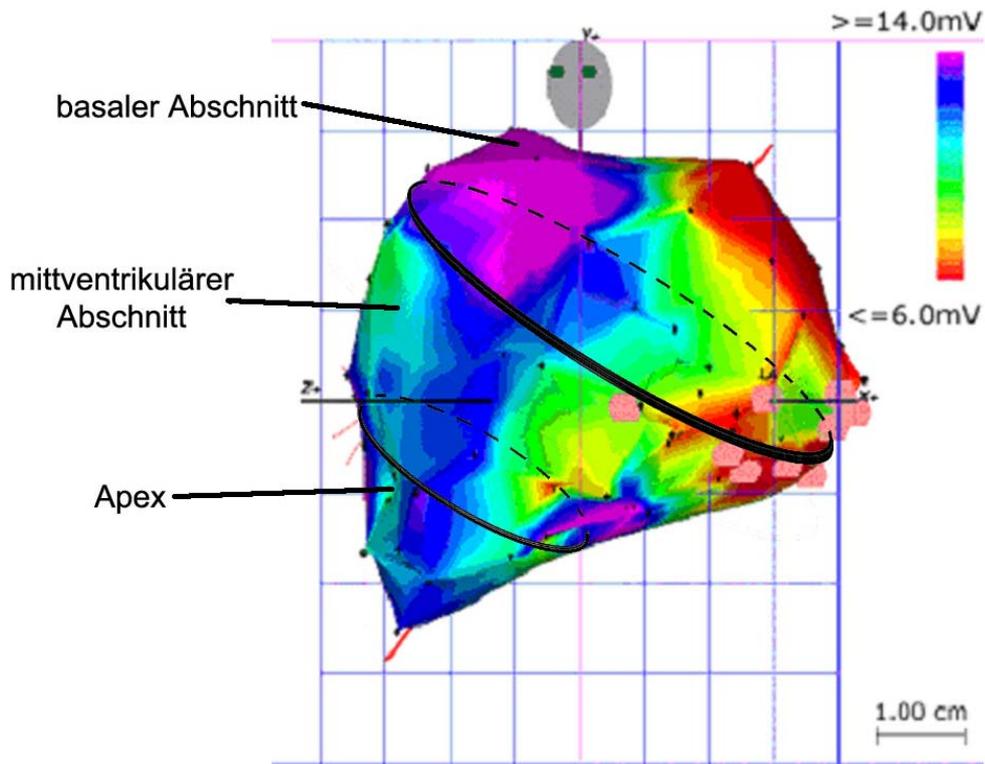


**Abb. 17:** Schematische dreidimensionale Darstellung des 9-Segment-Modells des linken Ventrikels



**Abb. 18:** Bull's Eye View Map (Beispiel aus vorliegender Studie)

Diese Kartierung entspricht dem Querschnitt durch den linken Ventrikel. Die Punkte stellen die Lokalisationen dar, an denen die elektromechanischen Daten registriert worden sind.



**Abb. 19:** Die Unterteilung des linken Ventrikels am dreidimensionalen NOGA-Map (anhand eines Beispiels aus vorliegender Studie)

(Der Übersicht halber ist die Unterteilung der einzelnen Ringe in die anterioren, lateralen, posterioren und septalen Abschnitte nicht eingezeichnet.)

### 3.2.4.4 Intramyokardiale Injektion von Epo/Placebo

Die Injektionen erfolgen unmittelbar nach dem Mapping der Phase 2. Für die Injektionsprozedur verwendet man einen modifizierten Mappingkatheter (Injection Cardiology Catheter, 8 F, Länge 115 cm, Kurventyp B oder D, 27G-Nadel, Volumen 0,1 ml, Biosense Webster Inc., Diamond Bar, California, USA) (Abb. 20, 21). Um eine ausreichende Einstichtiefe zu gewährleisten und der Gefahr von Perforationen zu begegnen, wird vor der Injektionsprozedur die Länge der ausgefahrenen Kanüle sowohl bei geradem Katheterschaft als auch in gebogener Stellung gemessen. Durch Drehen einer Rändelschraube stellt man die Länge der Kanüle auf ca. 4 mm ein. Auf das Ende des Katheterhandgriffs schraubt man zuerst eine 2-ml-Luer-Spritze (Omnifix®, Fa. B. Braun Melsungen AG, Melsungen) auf (Abb. 20). Anschließend wird das Kanülenlumen mit Epo (Epoetin alfa, ERYPO®, Fa. Janssen-Cilag, Neuss) bzw. Placebo gefüllt. Der Katheter wird - wie vorher der Mappingkatheter - im linken Ventrikel

plaziert. Im Randbereich der "area of interest" appliziert man intramyokardial 10 Injektionen von jeweils 100 µl Epo (entsprechen insgesamt 10000 IE) bzw. 100 µl Placebo: Für die Injektion muss die Katheterspitze im rechten Winkel auf das Endokard gerichtet sein. Der Sitz der Katheterspitze wird unter Röntgendurchleuchtung und anhand der Stabilitätskriterien (siehe Kapitel 3.2.4.3.3) kontrolliert. Stimmt die Katheterposition, so sticht man die Nadel durch Betätigung eines Daumenknaufs am Katheterhandgriff schnell ins Myokard ein. In diesem Augenblick soll im EKG eine Extrasystole und eine Unterbrechung der ST-Strecken-Hebung sichtbar sein. Der korrekte Sitz des Katheters ist außerdem noch einmal unter Röntgendurchleuchtung zu kontrollieren. Nun wird über einen Zeitraum von 15 Sekunden die Injektion vorgenommen. Die Injektionsstellen erscheinen im NOGA-Map als rosafarbene Markierung.



**Abb. 20:** Injektionskatheter mit aufgeschraubter Luer-Spritze (NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis)



**Abb. 21:** Spitze des Injektionskatheters mit ausgefahrener Nadel (NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis)

### 3.2.4.5 Entfernung der Einführschleuse

Die Einführschleuse wird aus der Arteria femoralis gezogen und das Gefäß sofort mit einem Faden (Vicryl® 2-0 USP, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt) ligiert. Die Muskeln mit der dazugehörigen Faszie sowie das subkutane Gewebe werden jeweils mit Einzelheften (Vicryl® 2-0 USP, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt) adaptiert. Die Haut verschließt man mit einer intrakutanen, fortlaufenden Naht (PDS™II 3-0, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt) und trägt zur Unterstützung der Adaptation einen topischen Hautkleber (Dermabond™, Fa. Ethicon, Sommerville, New Jersey, USA) auf die Wunde auf.

### 3.2.5 Phase 3: Kardiologische Untersuchung mit Therapie-Erfolgskontrolle

Anästhesie, prä- und intraoperative Tierversorgung, die chirurgische Plazierung der arteriellen Einführschleuse sowie die kardiologische Untersuchung werden wie in Phase 2 durchgeführt (siehe Kapitel 3.2.4.1, 3.2.4.2 und 3.2.4.3).

#### 3.2.5.1 Euthanasie, Sektion und Probenentnahme

Nach Beendigung der kardiologischen Untersuchungen euthanasiert man die Tiere in Narkose mit 20 ml Kaliumchlorid (1M-Kaliumchlorid-Lösung pfrimmer, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim). Der Thorax wird beidseits im Bereich der Rippenknorpelgrenze eröffnet und das Herz nach Durchtrennung der Gefäße entnommen. Nach dem Spülen des Herzens mit Kochsalzlösung werden die Konstriktoren aus dem Herzgewebe herauspräpariert, um deren vollständigen Verschluss noch einmal zu überprüfen (Abb. 22). Anschließend legt man das Herz zur Fixierung für die histologischen Untersuchungen in 3,5%ige Formalinlösung.



**Abb. 22:** Explantierte Konstriktoren (Aufnahme aus der vorliegenden Studie)

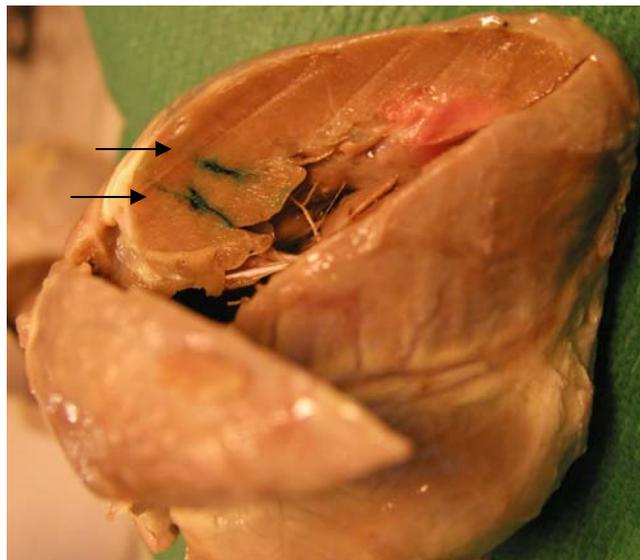
### 3.2.5.2 Histologische Untersuchungen

Aus dem Myokardgewebe schneidet man zwei Blöcke (jeweils 1,5 cm x 1,5 cm):

- einen aus dem ischämischen Gebiet (LCX-Versorgungsgebiet, posterolateral proximal) und
- einen aus einem nicht-ischämischen Gebiet (linker Ventrikel septumnah, LAD- oder RCA-Versorgungsgebiet) als Kontrollschnitt.

Formalinfixierte, 4 µm dicke Paraffinschnitte werden nach Giemsa bzw. van Gieson gefärbt, mit einem Lichtmikroskop (Modell BX40, Fa. Olympus Deutschland GmbH, Hamburg) untersucht und geblindet semiquantitativ ausgewertet. Es soll festgestellt werden, ob sich das Ausmaß von Veränderungen der beiden Tiergruppen (Epo, Placebo) unterscheidet und ob es sich um akute oder abgeschlossene Prozesse handelt (Rundzellinfiltrate, Fibrosen, weitere degenerative Veränderungen). Für die Dokumentation macht man digitale Photographien.

Um das betroffene Gebiet post mortem besser aufzufinden, ist bei den letzten Versuchstieren unmittelbar vor der Euthanasie mit einem Injektionskatheter intramyokardial grüne Tusche um den betroffenen Bereich injiziert worden (Abb. 23).



**Abb. 23:** Intramyokardiale Injektion von grüner Tusche (Pfeile) (Aufnahme aus vorliegender Studie)

### **3.3 Ergebnisse**

#### **3.3.1 Überlebensrate**

Für die vorliegende Studie sind 18 Hybridschweine eingesetzt worden. Davon sind 5 Tiere (28%) vor Versuchsende gestorben. Für die Auswertung der Ergebnisse stehen somit insgesamt 13 Tiere, davon 7 aus der Epo-Gruppe und 6 aus der Placebo-Gruppe zur Verfügung.

**Schwein 941** hat ab dem dritten Tag nach Phase 1 leichten Husten. 6 Tage nach Phase 1 wird Diarrhoe beobachtet. Das Tier liegt vermehrt, frisst weniger und hat Fieber. Die Symptome verschwinden aber einige Tage vor Phase 2 und das Tier zeigt ein gutes Allgemeinbefinden. In Phase 2 erleidet das Schwein nach der Koronarangiographie einen Herzfrequenz- und Blutdruckabfall, der in akutem Herzstillstand resultiert. Nach Reanimation scheint sich das Tier erholt zu haben, so dass mit den Untersuchungen fortgefahren werden kann und die Injektionen (Placebo) durchgeführt werden. In der Aufwachphase treten jedoch erneut Herzfrequenz- und Blutdruckabfall auf. Die Reanimationsversuche sind erfolglos. Makroskopisch werden proximal im linken Ventrikel subendokardiale Mikroinfarkte entdeckt. Das geringgradige Ausmaß der Mikroinfarkte sowie die Störungen des Allgemeinbefindens vor den Untersuchungen werden jedoch nicht für die Todesursache gehalten. Es besteht Verdacht auf eine Thrombembolie als Todesursache.

**Schwein 289** bekommt direkt nach der Lävoventrikulographie in Phase 2 Kammerflimmern und einen Herzstillstand. Trotz eingeleiteter Reanimationsversuche verstirbt das Tier.

**Schwein 293** zeigt in der Zeit nach der Implantation des Konstriktors verminderte Fresslust, gepresste Bauchatmung und leichten Husten und nimmt zeitweise Hundesitzhaltung ein. In Phase 2 tritt nach der Narkoseeinleitung ein akuter Herzstillstand ein. Das Tier kann nicht reanimiert werden. Bei der makropathologischen Untersuchung wird eine hochgradige eitrige Perikarditis diagnostiziert.

**Schwein 345** entwickelt in der Aufwachphase nach Phase 1 eine maligne Hyperthermie. Das Tier erholt sich und zeigt bis Phase 2 keine Störungen des Allgemeinbefindens. Die Aufwachphase nach Phase 2 ist ungewöhnlich lang, es tritt aber keine maligne Hyperthermie auf. Am 20. Tag nach Phase 2 bekommt das Tier im Stall plötzlich rot-weiß gefleckte Haut. Es zeigt Maulatmung und Tachykardie. Im Verenden wird das Tier euthanasiert. Es besteht Verdacht auf Infarkt. Eine pathologische Untersuchung konnte zu diesem Zeitpunkt aus organisatorischen Gründen nicht durchgeführt werden.

**Schwein 499** weist bereits zum Zeitpunkt von Phase 1 eine trübe Perikardflüssigkeit auf. Am Tag der Phase 2 zeigt das Tier epileptoide Anfälle. Es läuft rückwärts und fällt nach hinten über. Nach den Injektionen (Placebo) kommt es zum akuten Herzstillstand. Versuche der Reanimation scheitern. Die pathologische Untersuchung ergibt eine hochgradige seröse Polyserositis, die sich besonders prominent mit gelblichen Bauchhöhlen- und Perikardergüssen darstellt. In den kardialen Lymphknoten bestehen hochgradige hämorrhagische Lymphadenitiden. Die Polyserositis im Zusammenhang mit den vor den Untersuchungen beobachteten zentralnervösen Störungen (Verdacht auf Meningitis) deuten auf eine Infektion mit *Hämophilus parasuis*, d.h. die Glässersche Krankheit hin. Zusammenfassend ist die Todesursache des Schweins 499 durch eine schwere Allgemeininfektion, und nicht primär kardial bedingt.

### 3.3.2 Hämodynamische Daten

Während der Phase 1 weisen die Schweine in Narkose durchschnittlich eine Herzfrequenz von 85 Schlägen/min und einen mittleren Blutdruck von 55 mm Hg auf. Während bei Phase 1 nach Prämedikation mit Ketamin-Xylazin-Atropin eine Erhaltungsnarkose mit Isofluran angewandt wird, bekommen die Tiere für Phase 2 und 3 eine kreislaufschonendere Narkose, die sich auch in den hämodynamischen Parametern widerspiegelt. Dazu wird die Narkose zunächst mit Ketamin-Azaparon-Atropin eingeleitet und dann mit Propofol-Fentanyl aufrechterhalten. Die Tiere haben

während der Phasen 2 und 3 im Durchschnitt eine Herzfrequenz von 103 Schlägen/min und einen mittleren Blutdruck von 59 mm Hg.

Nach ENGELHARDT und BREVES (2000) liegt die Ruhe-Herzfrequenz des Schweines im Wachzustand bei 80 Schlägen/min. Der mittlere arterielle Blutdruck ist beim nicht-narkotisierten Schwein physiologischerweise 70 bis 90 mm Hg (SCHEUNERT und TRAUTMANN 1987). Nimmt man diese Werte zur Orientierung, so liegt die Herzfrequenz in Phase 1 im physiologischen Bereich, während sie in Phase 2 und 3 etwas erhöht ist. In allen drei Phasen liegt der mittlere arterielle Blutdruck unterhalb des Referenzbereichs.

### 3.3.3 Ergebnisse der Koronarangiographie

Im Rahmen der koronarangiographischen Untersuchung soll der Verschluss des Konstriktors und damit des Gefäßes nachgeprüft werden sowie eine Aussage über den Kollateralisierungsgrad nach RENTROP et al. (1985) gemacht werden.

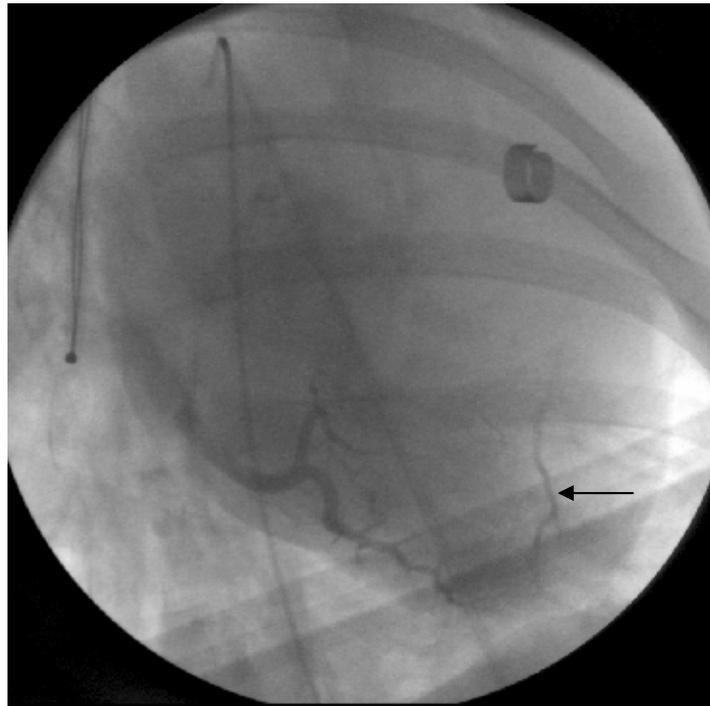
Die Koronarangiographie bestätigt bei allen Tieren sowohl in Phase 2 als auch in Phase 3 den totalen Verschluss des Ramus circumflexus.

In der **Epo-Gruppe** wird in *Phase 2* bei 3 von 7 Tieren (Schwein 111, 292, 359) ein Kollateralisierungsgrad von 1 festgestellt. Bei Schwein 111 geht die Kollateralisierung retrograd vom Ramus descendens posterior (RDP), bei den Schweinen 292 und 359 antegrad vom proximalen Stumpf der LCX aus. Die übrigen vier Tiere der Epo-Gruppe (107, 108, 354, 412) zeigen keine Kollateralenbildung. In *Phase 3* weisen drei Tiere (354, 359, 412) ausgehend von der LCX antegrade Kollateralisierung von Grad 1 auf. Schwein 107, 108, 111 und 292 haben bei verschlossener LCX keine sichtbaren Kollateralen gebildet.

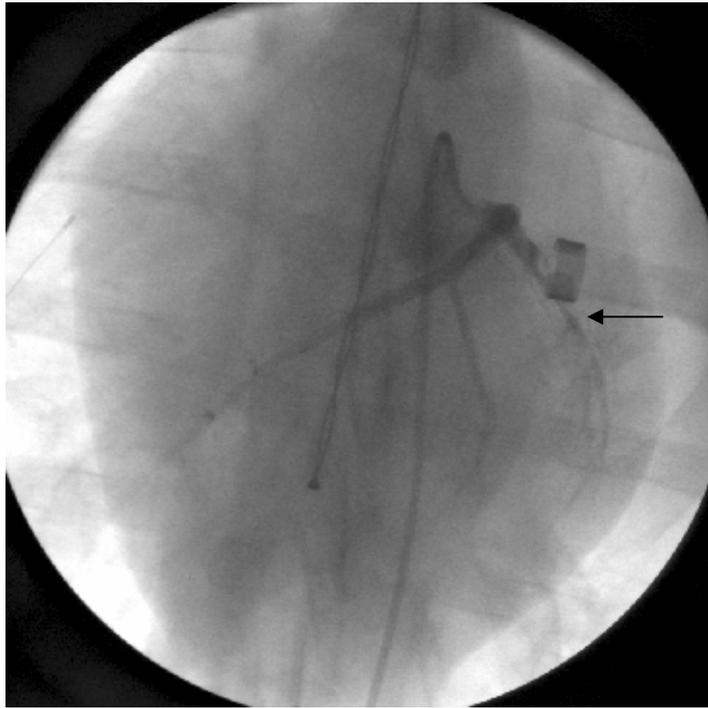
Bei der **Placebo-Gruppe** sprießen bei den Schweinen 411 und 500 von retrograd (RDP) Kollateralen in das ischämische LCX-Gebiet ein. Das Ausmaß ist als Kollateralisierungsgrad 1 einzustufen. Vier der sechs Tiere in der Placebo-Gruppe zeigen in

*Phase 2* keine sichtbaren Kollateralen. In *Phase 3* kann lediglich bei einem der sechs Tiere eine Kollateralisierung von Grad 1 nachgewiesen werden. Die Kollateralen gehen antegrad von der LCX sowie retrograd vom RDP aus. Die anderen Tiere (939, 410, 411, 498, 500) haben keine sichtbaren Kollateralen ausgebildet.

Beispielhaft sind im folgenden einige der Röntgenaufnahmen dokumentiert (Abb. 24 und 25):



**Abb. 24:** Koronarangiographie der rechten Koronararterie, RAO 30°-Projektion  
Schwein 412, Phase 2. Es ist eine retrograde Kollateralisierung von Grad 1 zu sehen (Pfeil).



**Abb. 25:** Koronarangiographie der linken Koronararterie, LAO 30°-Projektion

Schwein 412, Phase 3. Die LCX ist durch den Konstriktor verschlossen. Von antegrad ist eine Kollateralisierung von Grad 1 sichtbar (Pfeil).

**Tab. 1:** Koronarangiographie-Daten, **Phase 2**

Schwein	Beurteilung des LCX-Verschlusses	Kollateralisierungsgrad nach RENTROP et al. (1985) (modifiziert)	Kollateralisierung ausgehend von
<b>Epo-Tiere</b>			
107	LCX verschlossen	0	
108	LCX verschlossen	0	
111	LCX verschlossen	1 von retrograd	RDP**
292	LCX verschlossen	1 von antegrad	LCX*
354	LCX verschlossen	0	
359	LCX verschlossen	1 von antegrad	LCX*
412	LCX verschlossen	0	
<b>Placebo-Tiere</b>			
939	LCX verschlossen	0	
940	LCX verschlossen	0	
410	LCX verschlossen	0	
411	LCX verschlossen	1 von retrograd	RDP**
498	LCX verschlossen	0	
500	LCX verschlossen	1 von retrograd	RDP**

\* Ramus circumflexus der linken Koronararterie, proximal des Konstriktors

\*\* Ramus descendens posterior der rechten Koronararterie

**Tab. 2:** Koronarangiographie-Daten, **Phase 3**

Schwein	Beurteilung des LCX-Verschlusses	Kollateralisierungsgrad nach RENTROP et al. 1985 (modifiziert)	Kollateralisierung ausgehend von
<b>Epo-Tiere</b>			
107	LCX verschlossen	0	
108	LCX verschlossen	0	
111	LCX verschlossen	0	
292	LCX verschlossen	0	
354	LCX verschlossen	1 von antegrad	LCX*
359	LCX verschlossen	1 von antegrad	LCX*
412	LCX verschlossen	1 von antegrad	LCX*
<b>Placebo-Tiere</b>			
939	LCX verschlossen	0	
940	LCX verschlossen	1 von ante- und retrograd	LCX*, RDP**
410	LCX verschlossen	0	
411	LCX verschlossen	0	
498	LCX verschlossen	0	
500	LCX verschlossen	0	

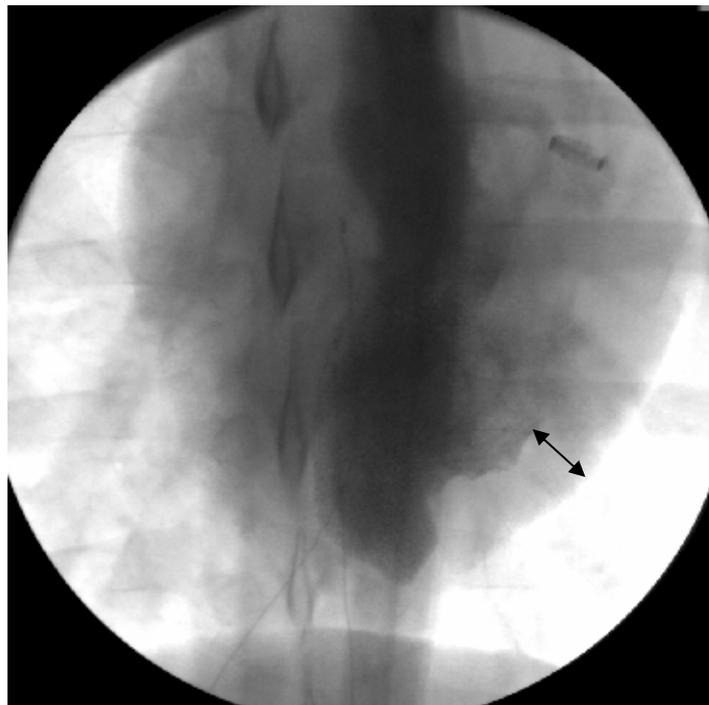
\* Ramus circumflexus der linken Koronararterie, proximal des Konstriktors

\*\* Ramus descendens posterior der rechten Koronararterie

### 3.3.4 Ergebnisse der Lävoventrikulographie

Anhand der Lävoventrikulographie werden Wandbewegungsstörungen des linken Ventrikels festgestellt und lokalisiert.

Bei **allen Tieren** wird sowohl in *Phase 2* als auch in *Phase 3* eine Hypokinesie im posterolateralen Bereich des linken Ventrikels detektiert (siehe Momentaufnahme Abb. 26).



**Abb. 26:** Momentaufnahme einer Lävoventrikulographie, AP-Projektion  
Schwein 108, Phase 2. Hypokinesie posterolateral (Pfeile).

### 3.3.5 Ergebnisse des elektromechanischen Mappings

#### 3.3.5.1 Unipolar Voltage

- „Area of interest“

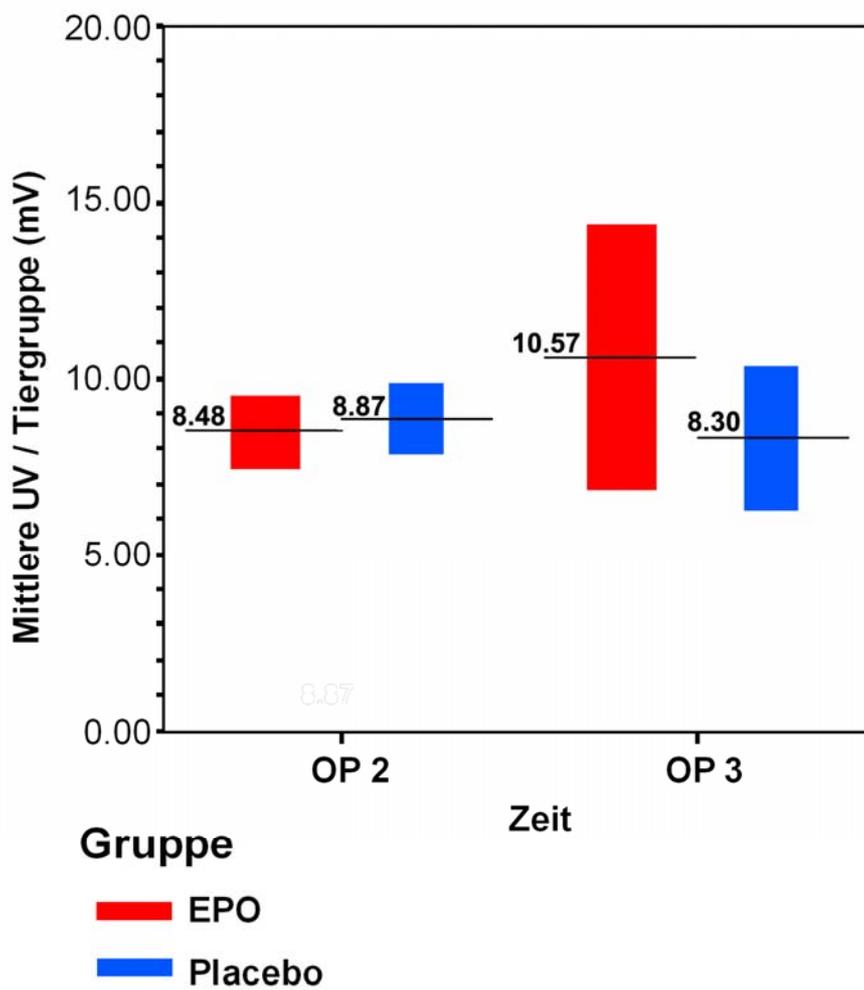
In der „area of interest“ weisen die **Epo-Tiere** in *Phase 2* durchschnittlich einen UV-Wert von 8,48 mV auf. In *Phase 3* wird ein mittlerer UV-Wert von 10,57 mV gemessen. Fünf von sieben Tieren zeigen eine Zunahme, zwei Tiere eine Abnahme der elektrischen Aktivität. Die Epo-behandelten Tiere zeigen durchschnittlich eine Zunahme an elektrischer Aktivität von 2,09 mV.

Bei den **Placebo-Tieren** sind in der *zweiten Phase* 8,87 mV und in der *dritten Phase* im Durchschnitt 8,30 mV aufgenommen worden. Vier von sechs Tieren weisen eine Abnahme der elektrischen Aktivität auf, während zwei Tiere eine Zunahme zeigen. Durchschnittlich ist bei den Placebo-Tieren eine Abnahme der Unipolar-Voltage-Werte von -0,57 mV zu verzeichnen.

- **Nicht-ischämisches Gebiet**

Alle nicht-ischämische Segmente der 13 Tiere aus Phase 2 und Phase 3 werden zusammengefasst und gemittelt. Das nicht-ischämische Gebiet weist Werte von durchschnittlich 14,29 mV auf.

Da der Fokus auf der Beurteilung des ischämischen Gebiets liegt, werden die einzelnen Werte des nicht-ischämischen Gebiets nicht ausführlicher beschrieben. An dieser Stelle wird auf die Tabelle 3 verwiesen.



Fehlerbalken zeigen 95.0% Konfidenzintervall(e) des Mittelwerts  
 Schwarze Linien zeigen Mittelwerte

Abb. 27: Unipolar Voltage-Werte der "area of interest" von Phase 2 und Phase 3

Tab. 3: Werte des Unipolar Voltage (mV)

Schwein	Area of interest/ischämisches Gebiet		Verlauf	nicht-ischämisches Gebiet	
	Phase 2	Phase 3		Phase 2	Phase 3
<b>Epo-Tiere</b>					
107	8,81	17,38	+ 8,57	13,02	20,48
108	9,55	12,38	+ 2,83	14,81	14,24
111	9,90	7,42	- 2,48	15,05	12,56
292	7,38	12,27	+ 4,89	14,27	16,33
354	8,44	11,01	+ 2,57	12,90	17,19
359	8,47	8,57	+ 0,10	13,67	13,00
412	6,81	4,95	- 1,86	12,45	12,49
<b>Mittelwert</b>	8,48 ± 1,10	10,57 ± 4,05	+ 2,09	13,74 ± 1,00	15,19 ± 2,98
<b>Konfidenzintervall:</b>					
- Untergrenze	7,63	7,86		11,78	13,12
- Obergrenze	9,33	13,27		15,69	17,25
<b>Median</b>	8,47	11,01		13,10	13,67
<b>Signifikanz</b>	n. s.			n. s.	
<b>Placebo-Tiere</b>					
939	9,58	9,99	+ 0,41	19,83	15,72
940	10,27	8,67	- 1,60	10,44	13,14
410	8,12	7,14	- 0,98	16,39	11,73
411	8,40	10,86	+ 2,46	16,33	13,95
498	9,03	5,82	- 3,21	14,30	10,97
500	7,85	7,31	- 0,54	12,49	14,06
<b>Mittelwert</b>	8,87 ± 0,93	8,30 ± 1,90	- 0,57	14,96 ± 3,30	13,26 ± 1,72
<b>Konfidenzintervall:</b>					
- Untergrenze	7,95	5,38		12,85	11,03
- Obergrenze	9,80	11,22		17,07	15,50
<b>Median</b>	8,72	7,99		15,32	13,55
<b>Signifikanz</b>	n. s.			n. s.	

n. s. = nicht signifikant

### 3.3.5.2 Linear Local Shortening

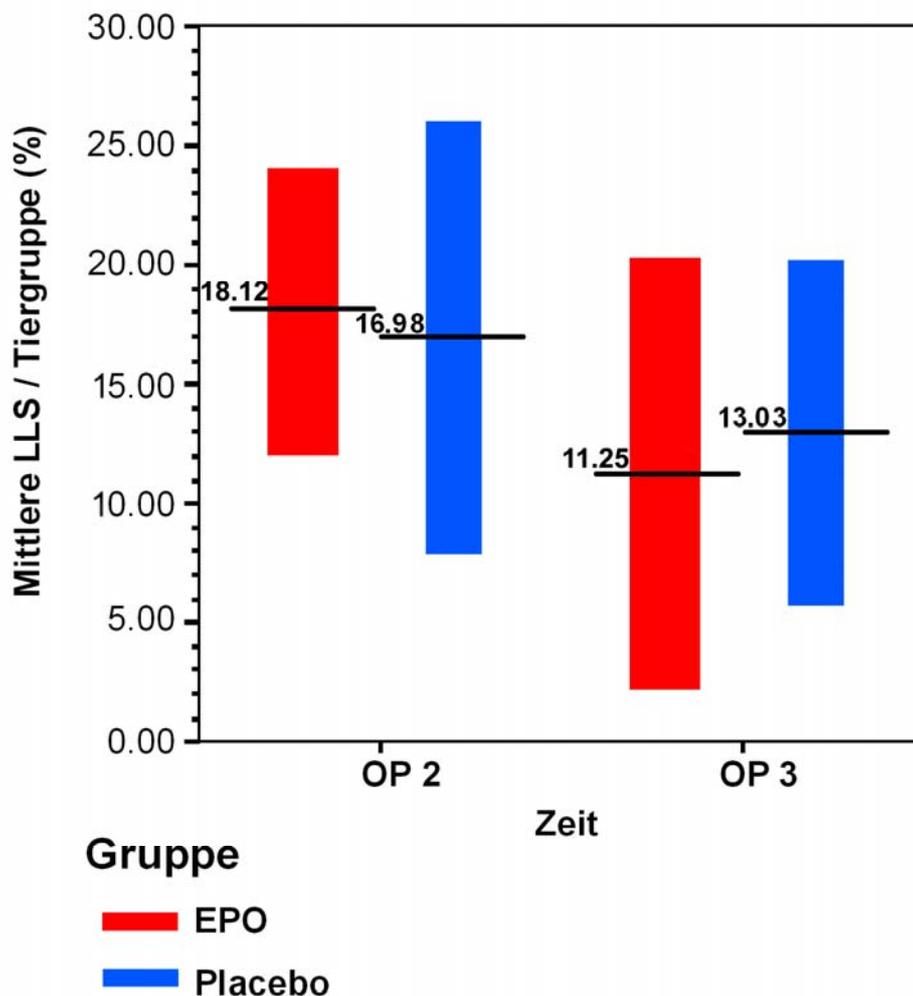
- „Area of interest“

Die durchschnittlichen LLS-Werte der „area of interest“ während *Phase 2* liegen bei der **Epo-Gruppe** bei 18,12%, in der *dritten Phase* im Mittel bei 11,25%. Nur eins der sieben Tiere zeigt eine Verbesserung der LLS-Werte.

Bei den **Placebo-Tieren** liegen die mittleren LLS-Werte bei 16,98% (*Phase 2*) bzw. 13,03% (*Phase 3*). Während bei zwei Tieren eine Zunahme zu verzeichnen ist, kann man bei vier Tieren eine Abnahme der lokalen Kontraktilität ausmachen.

- **Nicht-ischämisches Gebiet**

Das **nicht-ischämische Gebiet** weist durchschnittlich eine LLS von 19,53% auf. Einzelwerte sind aus den Tabellen ersichtlich.



Fehlerbalken zeigen 95.0% Konfidenzintervall(e) des Mittelwerts  
Schwarze Linien zeigen Mittelwerte

**Abb. 28:** Linear Local Shortening-Werte der "area of interest" von Phase 2 und Phase 3

Die mittleren LLS-Werte nehmen in **beiden Tiergruppen** von Phase 2 zu Phase 3 ab (Epo-Tiere -6,87%; Placebo-Tiere -3,95%).

**Tab. 4:** Werte des Linear Local Shortening (%)

Schwein	Area of interest/ischämisches Gebiet		Verlauf	nicht-ischämisches Gebiet	
	Phase 2	Phase 3		Phase 2	Phase 3
<b>Epo-Tiere</b>					
107	18,97	0,44	-18,53	22,29	25,16
108	24,40	27,02	+ 2,62	23,58	30,96
111	19,70	13,72	- 5,98	18,62	25,48
292	14,75	3,65	-11,10	21,48	15,21
354	26,19	20,44	- 5,75	20,60	28,06
359	6,82	3,43	- 3,39	19,31	12,96
412	16,00	10,06	- 5,94	19,54	26,55
<b>Mittelwert</b>	18,12 ± 6,47	11,25 ± 9,80	- 6,87	20,77 ± 1,78	23,48 ± 6,74
<b>Konfidenzintervall:</b>					
- Untergrenze	11,85	4,10		17,80	18,45
- Obergrenze	24,39	18,40		23,75	28,52
<b>Median</b>	18,97	10,06		20,51	25,48
<b>Signifikanz</b>	n. s.			n. s.	
<b>Placebo-Tiere</b>					
939	18,28	23,55	+ 5,27	19,11	19,16
940	19,84	1,99	-17,85	17,78	27,59
410	25,31	14,36	-10,95	6,25	14,97
411	18,23	12,95	- 5,28	17,21	13,18
498	0,17	11,61	+11,44	18,09	16,80
500	20,06	13,70	- 6,36	12,50	20,52
<b>Mittelwert</b>	16,98 ± 8,64	13,03 ± 6,88	- 3,95	15,16 ± 4,93	18,70 ± 5,11
<b>Konfidenzintervall:</b>					
- Untergrenze	10,21	5,30		11,94	13,26
- Obergrenze	23,75	20,75		18,37	24,14
<b>Median</b>	19,06	13,33		17,78	17,98
<b>Signifikanz</b>	n. s.			n. s.	

n. s. = nicht signifikant

### 3.3.5.3 Ejektionsfraktion

Die Ejektionsfraktionen der **Epo-Tiere** liegen im Mittel bei 64% (*Phase 2*) bzw. 66% (*Phase 3*). Generell sind in dieser Gruppe im Verlauf Zunahmen der Ejektionsfraktionen zwischen 1% und 7% beobachtet worden. Nur ein einziges Tier (Schwein 107) hat eine Abnahme von 11% gezeigt.

Die **Placebo-Tiere** weisen im Durchschnitt eine Ejektionsfraktion von 60% (*Phase 2*) bzw. 57% auf (*Phase 3*). In der Placebo-Gruppe sind bei der Hälfte der Tiere deutliche Abnahmen (ca. 14%) gemessen worden. Bei zwei Tieren ist eine Zunahme von 12% bzw. 15% auszumachen, während bei einem Tier eine gleichbleibende Ejektionsfraktion registriert wurde.

Einzelwerte sind aus Tabelle 5 ersichtlich.

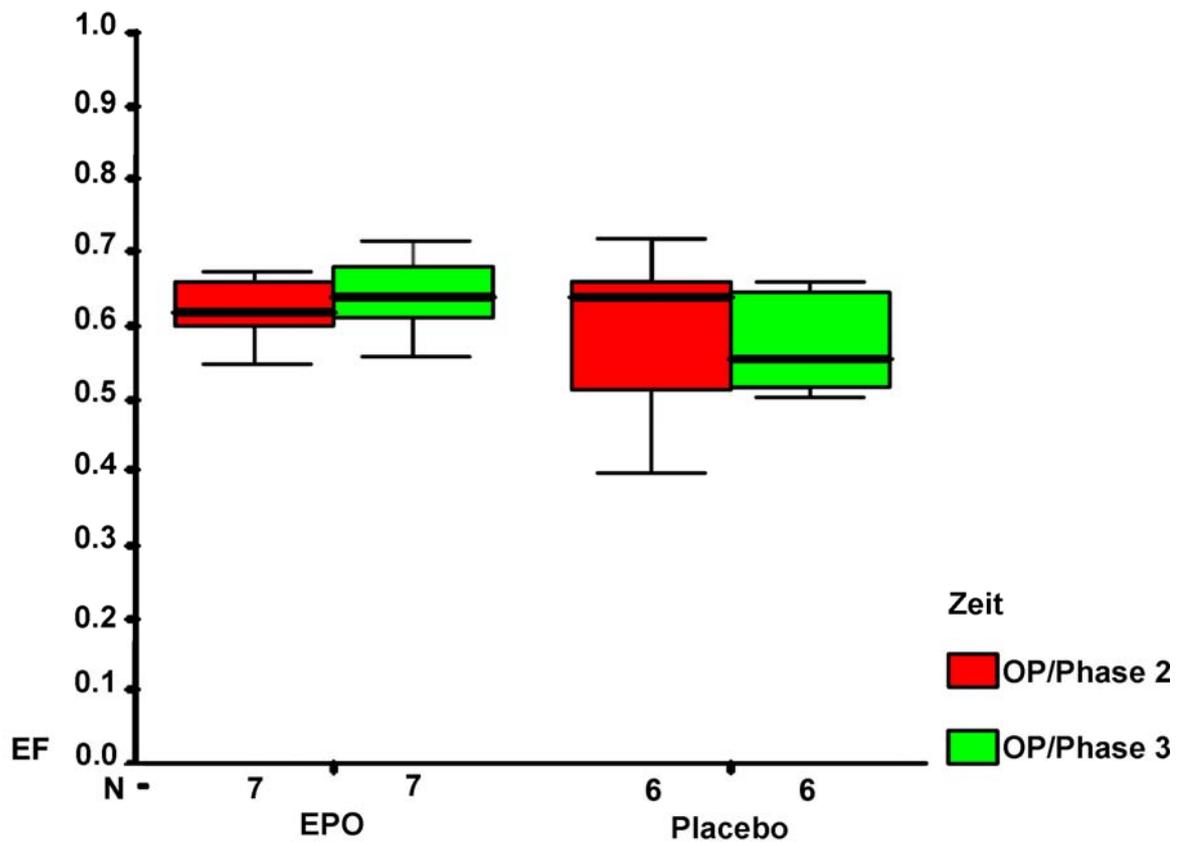


Abb. 29: Ejektionsfraktionen der Epo- und Placebo-Gruppe von Phase 2 und Phase 3

Tab. 5: Ejektionsfraktionen

Schwein	Ejektionsfraktion (%)		Verlauf
	Phase 2	Phase 3	
<b>Epo-Tiere</b>			
107	67	56	- 11%
108	79	84	+ 5%
111	62	64	+ 2%
292	64	71	+ 7%
354	61	64	+ 3%
359	55	62	+ 7%
412	59	60	+ 1%
<b>Mittelwert</b>	64 ± 0,04	66 ± 0,03	+ 2%
<b>Konfidenzintervall:</b>			
- Untergrenze	56	59	
- Obergrenze	72	73	
<b>Median</b>	62	64	
<b>Signifikanz</b>	n. s.		
<b>Placebo-Tiere</b>			
939	51	66	+ 15%
940	64	64	gleichbleibend
410	40	52	+ 12%
411	66	53	- 13%
498	72	58	- 14%
500	64	50	- 14%
<b>Mittelwert</b>	60 ± 0,04	57 ± 0,03	- 3%
<b>Konfidenzintervall:</b>			
- Untergrenze	51	50	
- Obergrenze	68	65	
<b>Median</b>	64	55,5	
<b>Signifikanz</b>	n. s.		

### 3.3.5.4 Statistik

Statistisch können keine wesentlichen Unterschiede zwischen der Epo- und Placebo-Gruppe sowie zwischen den Phasen 2 und 3 festgestellt werden.

### 3.3.5.5 Größenänderungen des ischämischen Gebiets

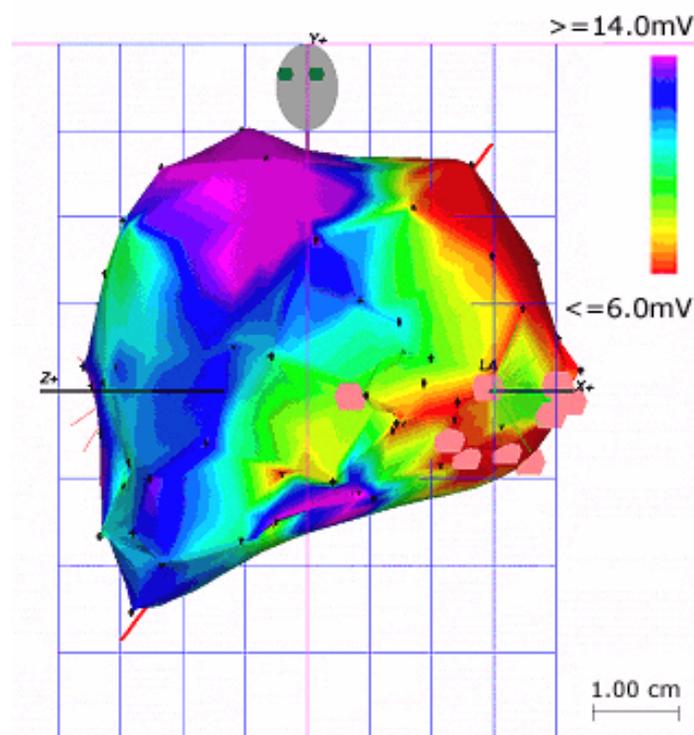
Das ischämische Gebiet hat sich bei den **Epo-Tieren** von durchschnittlich 3,4 Segmenten auf 2,6 Segmente verkleinert (siehe Tab. 6). Drei Schweine (107, 108, 292) weisen in Phase 3 ein verkleinertes ischämisches Gebiet auf, während es bei den restlichen vier Tieren (Schwein 111, 354, 359, 412) gleich groß geblieben ist. Bei der **Placebo-Gruppe** hat sich das ischämische Gebiet von im Mittel 3,5 Segmenten auf 4,0 Segmente vergrößert. Bei jeweils der Hälfte der Tiere hat sich die Ischämie auf die angrenzenden Segmente ausgeweitet (Schwein 939, 410, 498) bzw. ist gleich groß geblieben (Schwein 940, 411, 500).

**Tab. 6:** Größenänderungen des ischämischen Gebiets

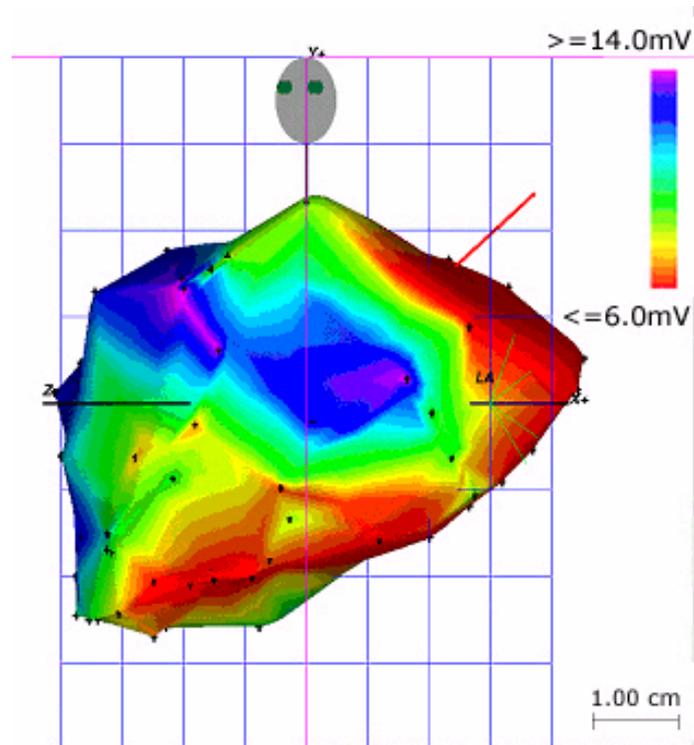
Schwein	Anzahl der ischämischen Segmente		Verlauf
	Phase 2	Phase 3	
<b>Epo-Tiere</b>			
107	4	2	verkleinernd
108	4	2	verkleinernd
111	4	4	gleichbleibend
292	3	1	verkleinernd
354	3	3	gleichbleibend
359	3	3	gleichbleibend
412	3	3	gleichbleibend
<b>Mittelwert</b>	3,4	2,6	verkleinernd
<b>Signifikanz</b>	n. s.		
<b>Placebo-Tiere</b>			
939	2	3	vergrößernd
940	5	5	gleichbleibend
410	3	4	vergrößernd
411	4	4	gleichbleibend
498	3	4	vergrößernd
500	4	4	gleichbleibend
<b>Mittelwert</b>	3,5	4,0	vergrößernd
<b>Signifikanz</b>	n. s.		

n. s. = nicht signifikant

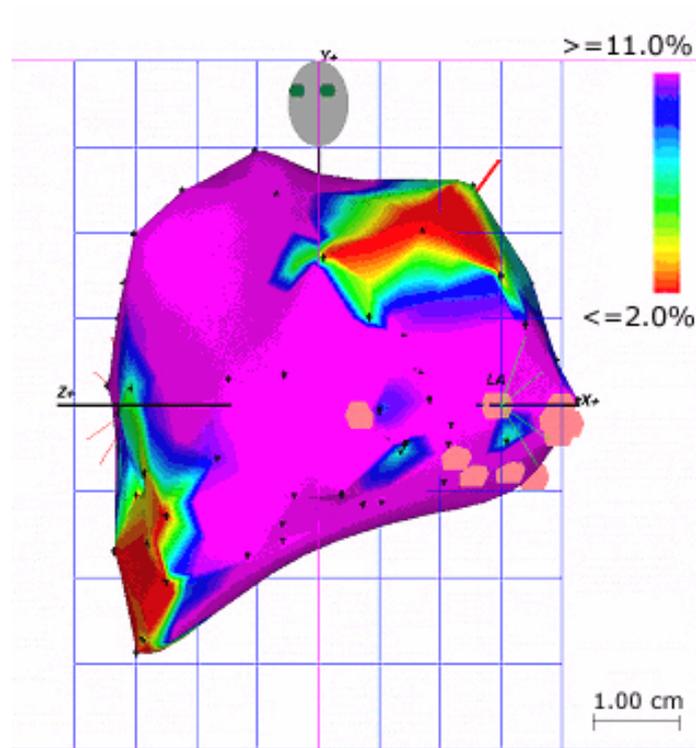
Auf den folgenden Seiten sind beispielhaft die Maps eines Tieres (Schwein 111, Epo) in der LAO-Ansicht (left anterior oblique) dargestellt (Abb. 30 bis 33).



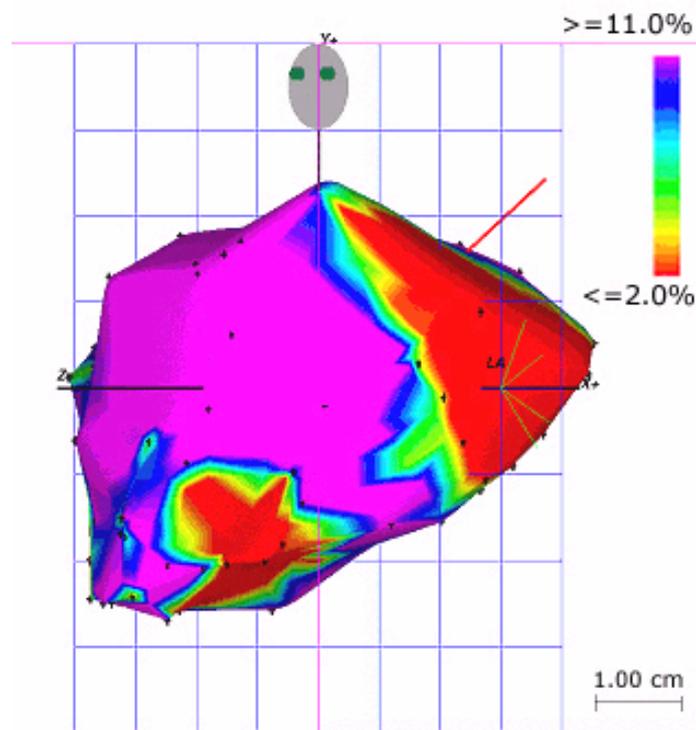
**Abb. 30:** Unipolar Voltage Map, LAO-Ansicht. Schwein 111 (Epo), Phase 2  
Die Injektionen sind im Map durch rosafarbene Bereiche markiert.



**Abb. 31:** Unipolar Voltage Map, LAO-Ansicht. Schwein 111(Epo), Phase 3



**Abb. 32:** Linear Local Shortening Map, LAO-Ansicht. Schwein 111 (Epo), Phase 2  
Die Injektionen sind im Map durch rosafarbene Bereiche markiert.



**Abb. 33:** Linear Local Shortening Map, LAO-Ansicht. Schwein 111 (Epo), Phase 3

### 3.3.6 Weitere hämodynamische Parameter

Während der Phase 1 weisen die Schweine durchschnittlich eine Herzfrequenz von 85 Schlägen/min und einen mittleren Blutdruck von 55 mm Hg auf. Während Phase 2 und 3 zeigen die Tiere im Durchschnitt eine Herzfrequenz von 106 bzw. 99 Schlägen/min und einen mittleren Blutdruck von 53 bzw. 65 mm Hg.

### 3.3.7 Ergebnisse der Histologie

- **Fibrosierungen (siehe auch Tab. 7)**

Bei **allen Tieren** der Epo- als auch der Placebo-Gruppe, mit Ausnahme von Schwein 359 (Epo), sind Fibrosen und damit Hinweise auf abgeschlossene Prozesse in den histologischen Schnitten zu sehen. Es sind disseminierte Veränderungen, die subendokardial am stärksten ausgeprägt sind und sich teilweise bis zur Myokardmitte erstrecken. Bei den Tieren der **Epo-Gruppe** sind die Fibrosen in den meisten Fällen weniger stark ausgeprägt als bei den Placebo-Tieren. In der Epo-Gruppe sind zweimal hochgradige (Schwein 107, 412), viermal geringgradige (Schwein 108, 111, 292, 354) und in einem Fall gar keine (Schwein 359) Fibrosierungen auszumachen. Die **Placebo-Tiere** weisen in fünf Fällen hochgradige Veränderungen auf (Schwein 939, 940, 410, 498, 500). Bei einem Tier sind die Veränderungen nur mittelgradig ausgebildet (Schwein 411).

- **Rundzellinfiltrate (siehe auch Tab. 7)**

In den Schnitten **beider Gruppen** sind bis auf bei Schwein 359 Rundzellinfiltrate sichtbar. Im Zusammenhang mit den Fibrosen und weiteren degenerativen Veränderungen (s.u.) geben sie Hinweise auf ein progressives oder abgeschlossenes Geschehen. Die Schnitte der **Epo-Tiere** sind einmal hochgradig, zweimal mittelgradig, dreimal geringgradig und einmal gar nicht mit Rundzellen infiltriert. In der **Placebo-Gruppe** sind in vier Fällen mittelgradige und in zwei Fällen hochgradige Infiltrationen erkennbar.

**Tab. 7:** Ergebnisse der histologischen Untersuchungen (Fibrosen, Rundzellinfiltrate)

Schwein	Fibrosen	Rundzellinfiltrate
<b>Epo-Tiere</b>		
107	+++	+++
108	+	+
111	+	+
292	+	+
354	+	++
359	-	-
412	+++	++
<b>Placebo-Tiere</b>		
939	+++	++
940	+++	++
410	+++	++
411	++	++
498	+++	+++
500	+++	+++

- + geringgradig
- ++ mittelgradig
- +++ hochgradig
- keine Veränderungen

- **Weitere histopathologische Veränderungen des Myokards**

Insgesamt sind bei den Placebo-Tieren häufiger und in größerem Umfang degenerative Veränderungen wie Vakuolen, Nekrosen und interstitielle Ödeme ausgeprägt. Auch Hämorrhagien sind häufiger zu finden als bei den Epo-Tieren.

Die Einzelbefunde sind aus der Tabelle 8 ersichtlich.

**Keiner der Kontrollschnitte** aus dem nicht-ischämischen Gebiet weist histopathologische Veränderungen auf.

Tab. 8: Weitere histopathologische Veränderungen des Myokards

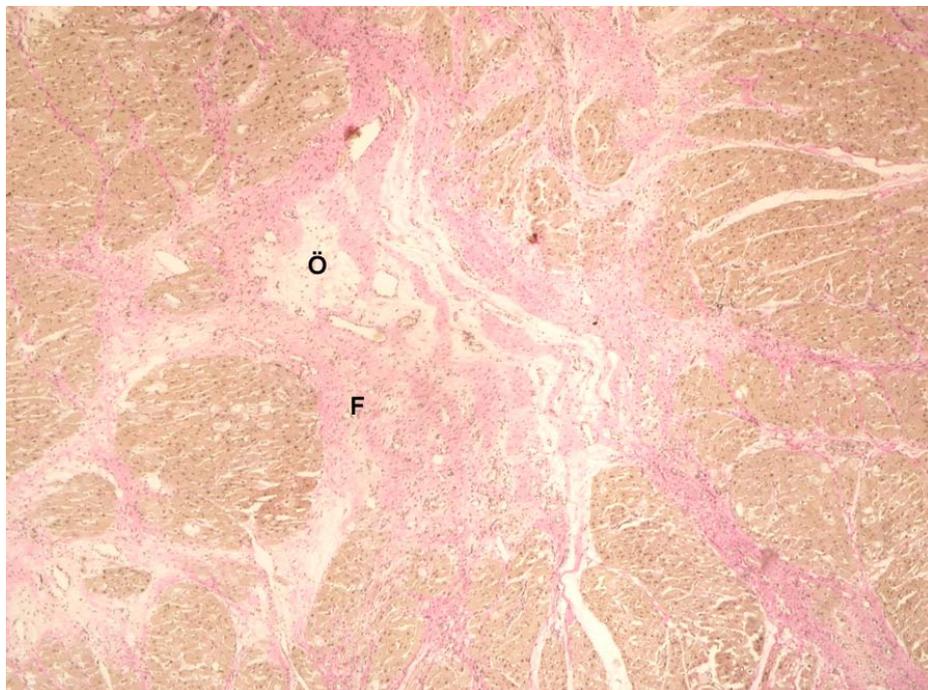
Schwein	Vakuolige Degeneration	Nekrosen	Interstitielle Ödeme	Hämorrhagien
<b>Epo-Tiere</b>				
107	+	+	+++	++
108	+	-	+	-
111	+	+	+	-
292	+	+	+	-
354	+	-	-	-
359	-	-	-	-
412	+++	++	++	++
<b>Placebo-Tiere</b>				
939	+++	++	+++	+
940	+++	++	++	++
410	+	+++	+++	-
411	++	++	++	+
498	+++	+++	+++	++
500	+++	++	++	++

- + geringgradig
- ++ mittelgradig
- +++ hochgradig
- keine Veränderungen

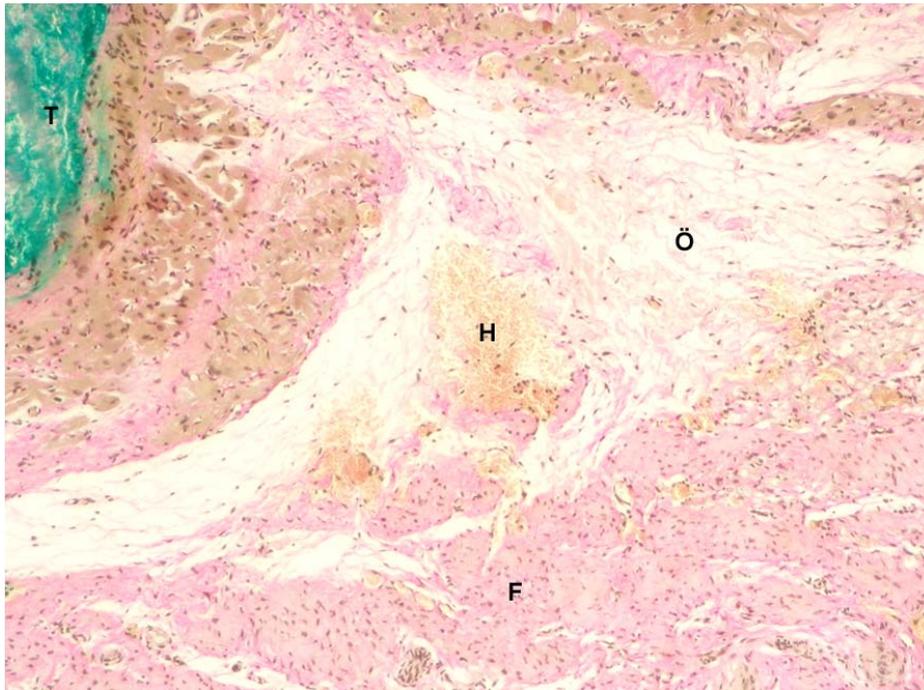
Auf den folgenden Seiten sind die histologischen Veränderungen aus den Photographien (Abb. 34 bis 49) ersichtlich. Da Photographien eines histologischen Schnitts aus technischen Gründen nicht den gesamten Schnitt erfassen können, ist es möglich, dass für den Betrachter die Beurteilung der Bilder (vor allem stark vergrößerter Bilder) nicht eindeutig nachzuvollziehen ist. Dazu trägt bei, dass sich die Beurteilung aus der Betrachtung des gesamten Schnitts sowie fokaler Befunde zusammensetzt.



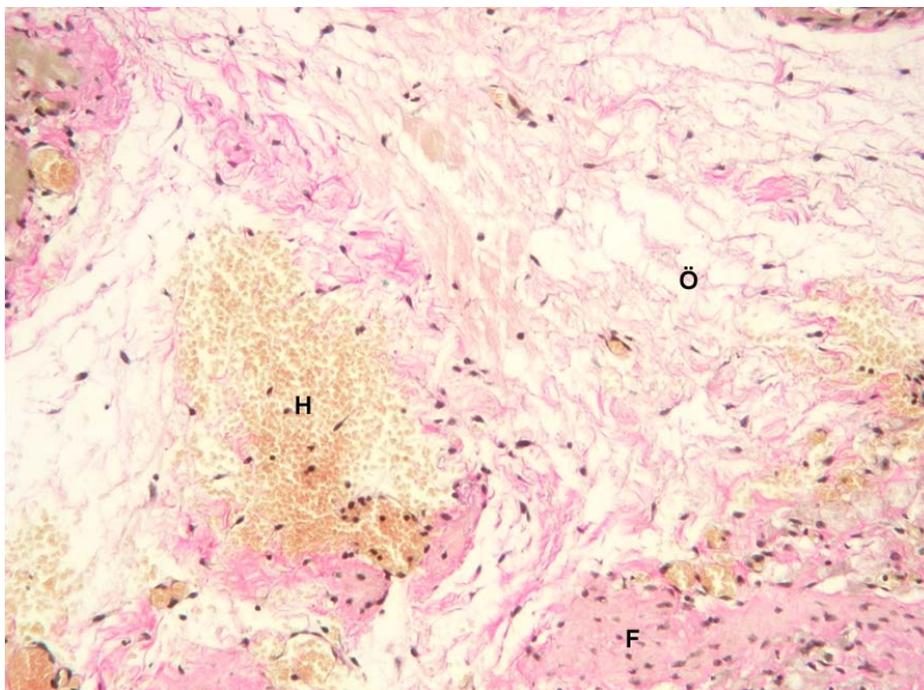
**Abb. 34:** Hochgradige Fibrosierung (F), interstitielles Ödem (Ö), gelegentliche Vakuffett-Einlagerungen (VF) und entzündliche Infiltrate (I)  
Schwein 410 (Placebo-Gruppe). 40fache Vergrößerung, Färbung nach van Gieson.



**Abb. 35:** Hochgradige Fibrosierungen (F) und mittelgradige interstitielle Ödeme (Ö)  
Schwein 940 (Placebo-Gruppe). 40fache Vergrößerung, Färbung nach van Gieson.



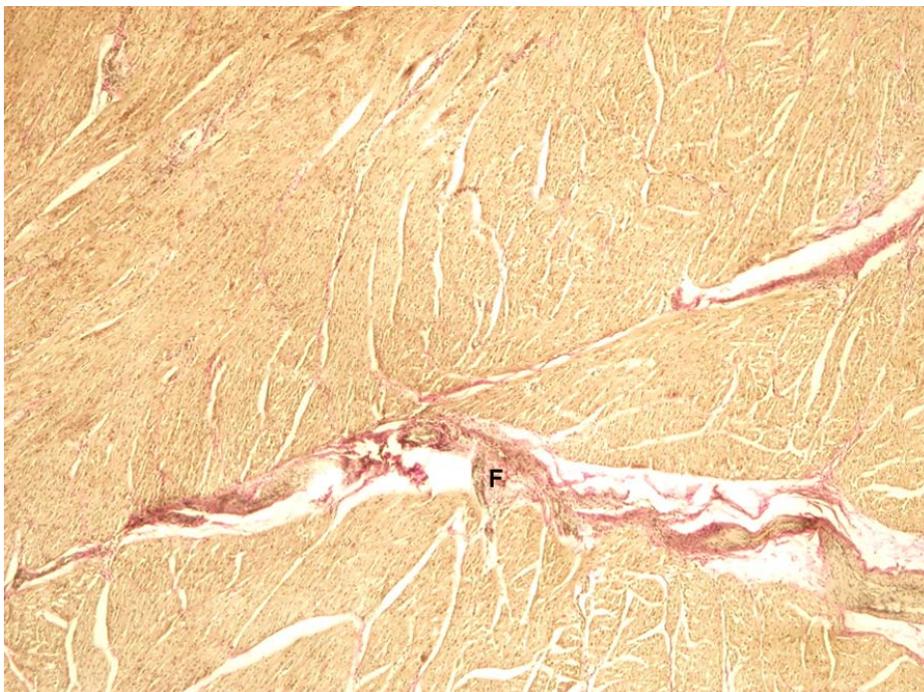
**Abb. 36:** Hochgradige Fibrosierungen (F) und interstitielle Ödeme (Ö) sowie mittelgradige Hämorrhagien (H) neben einem Bereich mit grüner Tusche-Injektion (T)  
Schwein 498 (Placebo-Gruppe). 100fache Vergrößerung, Färbung nach van Gieson.



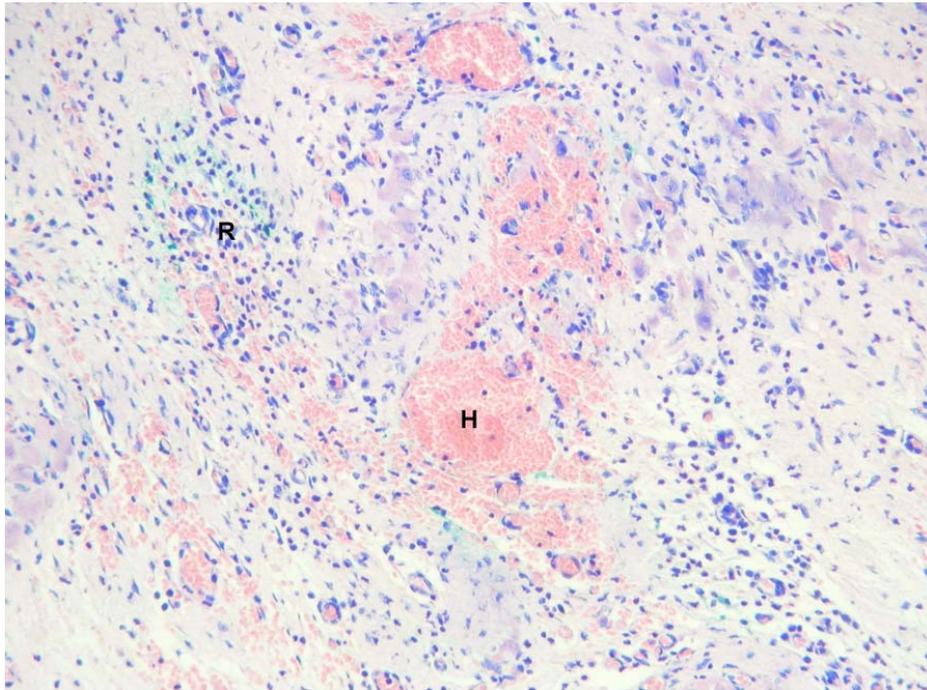
**Abb. 37:** Hochgradige Fibrosierungen (F) und interstitielle Ödeme (Ö) sowie mittelgradige Hämorrhagien (H)  
Schwein 498 (Placebo-Gruppe). 200fache Vergrößerung, Färbung nach van Gieson.



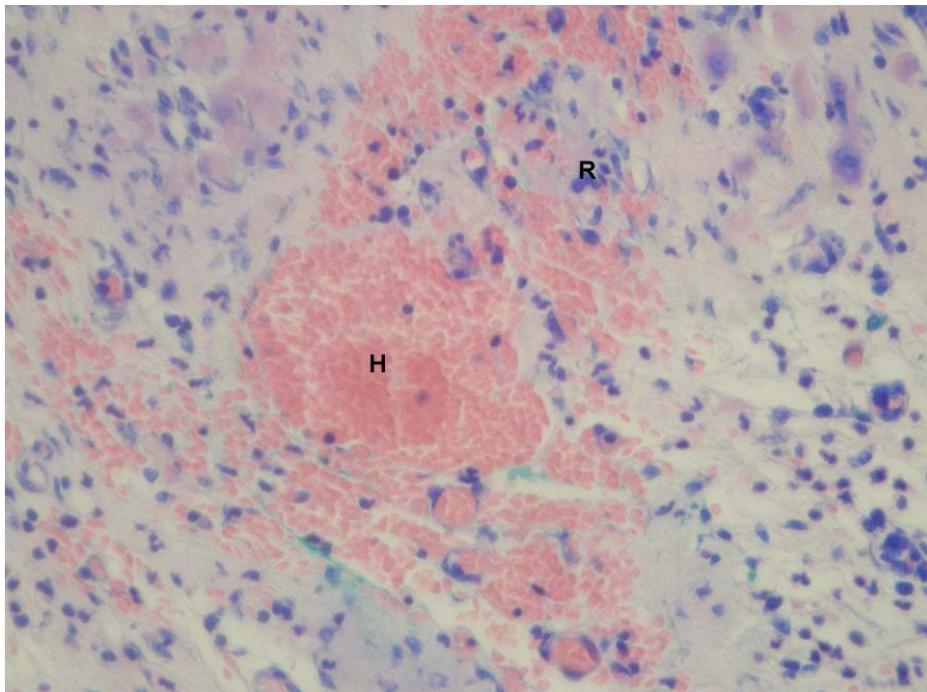
**Abb. 38:** Geringgradige Fibrosierungen (F)  
Schwein 108 (Epo-Gruppe). 40fache Vergrößerung, Färbung nach van Gieson.



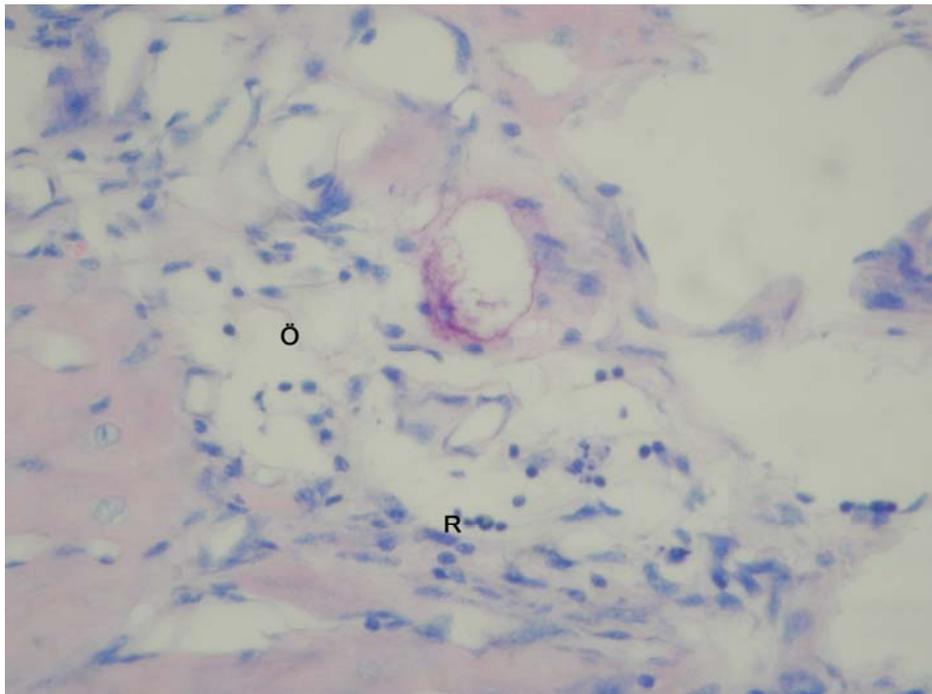
**Abb. 39:** Geringgradige Fibrosierungen (F)  
Schwein 111 (Epo-Gruppe). 40fache Vergrößerung, Färbung nach van Gieson.



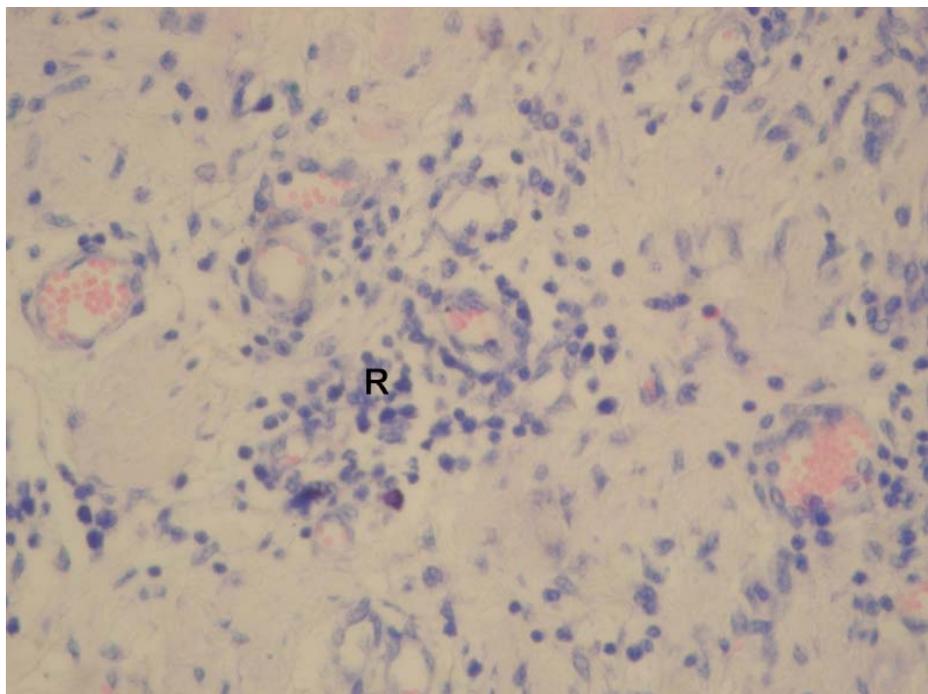
**Abb. 40:** Mittelgradige Hämorrhagien (H) und hochgradige Rundzellinfiltrationen (R)  
Schwein 498 (Placebo-Gruppe). 200fache Vergrößerung, Färbung nach van Gieson.



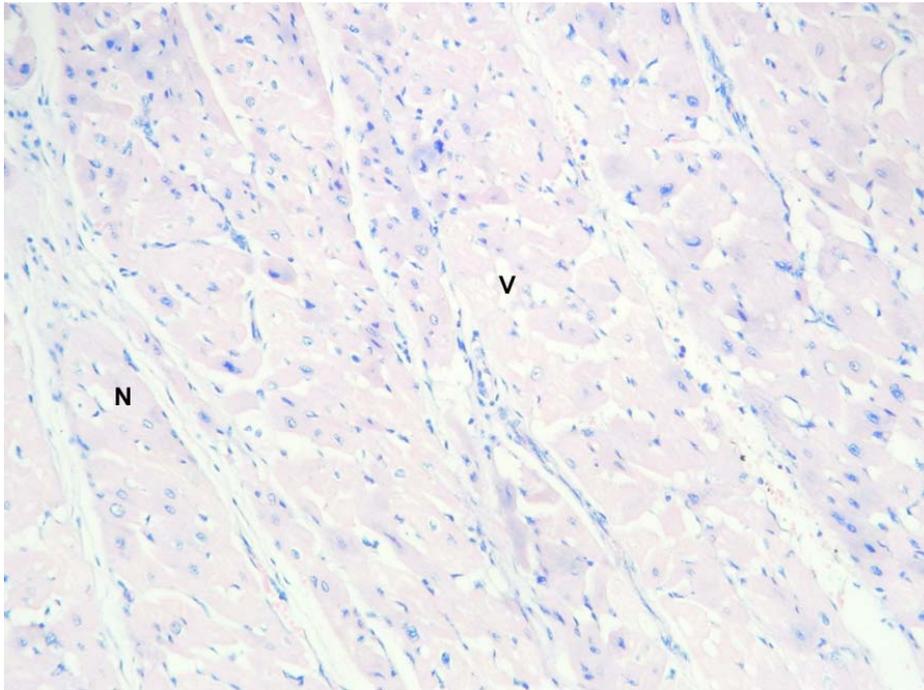
**Abb. 41:** Mittelgradige Hämorrhagien (H) und hochgradige Rundzellinfiltrationen (R)  
Schwein 498 (Placebo-Gruppe). 400fache Vergrößerung, Färbung nach van Gieson.



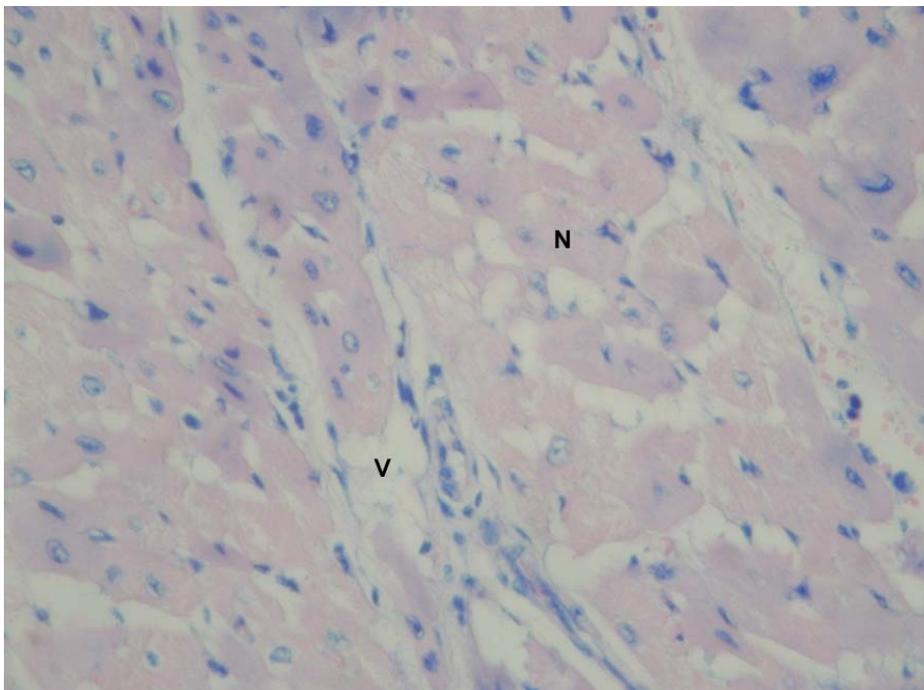
**Abb. 42:** Geringgradige Rundzellinfiltrate (R) und ödematöse Auflockerung des Gewebes (Ö)  
Schwein 292 (Epo-Gruppe). 400fache Vergrößerung, Färbung nach Giemsa.



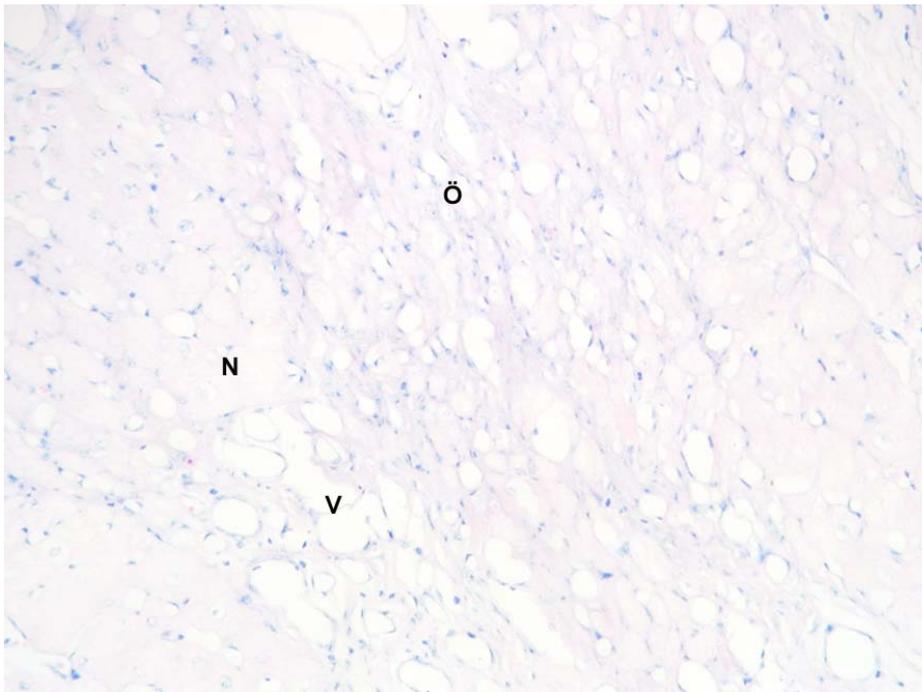
**Abb. 43:** Hochgradige Rundzellinfiltrate (R)  
Schwein 500 (Placebo-Gruppe). 400fache Vergrößerung, Färbung nach Giemsa.



**Abb. 43:** Hochgradige vakuolige Degenerationen (V) und mittelgradige Nekrosen (N)  
Schwein 940 (Placebo-Gruppe). 200fache Vergrößerung, Färbung nach Giemsa.

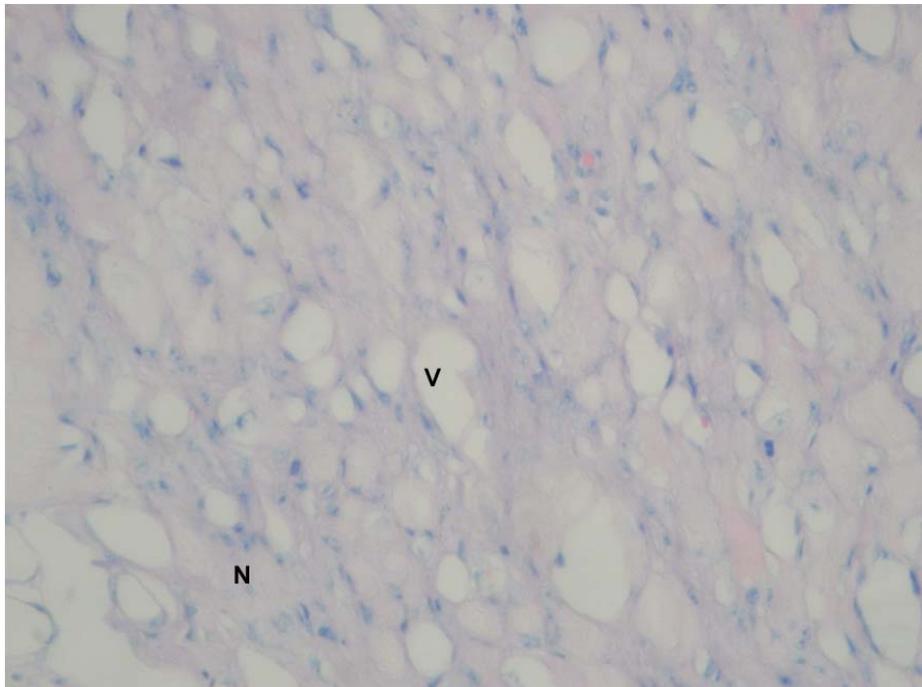


**Abb. 44:** Hochgradige vakuolige Degenerationen (V) und mittelgradige Nekrosen (N)  
Schwein 940 (Placebo-Gruppe). 400fache Vergrößerung, Färbung nach Giemsa.



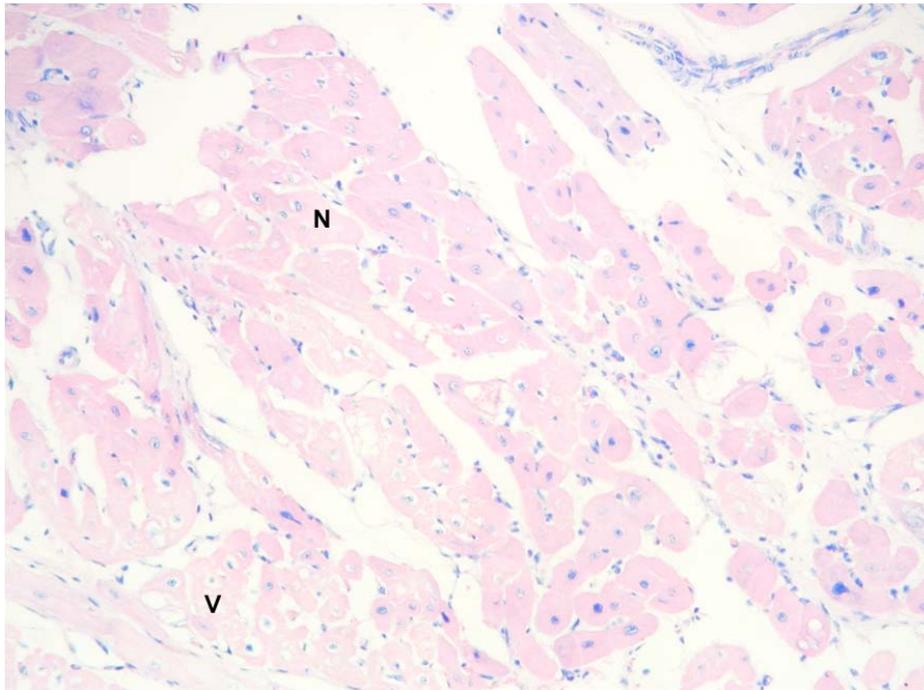
**Abb. 45:** Hochgradige vakuolige Degenerationen (V), interstitielle Ödeme (Ö) und mittelgradige Nekrosen (N)

Schwein 939 (Placebo-Gruppe). 200fache Vergrößerung, Färbung nach Giemsa.

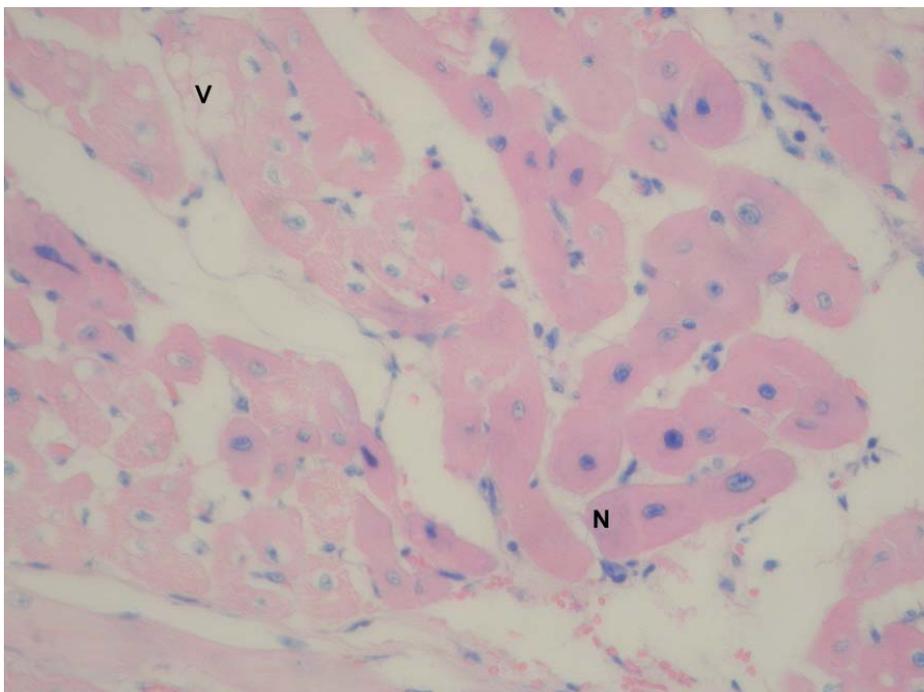


**Abb. 46:** Hochgradige vakuolige Degenerationen (V) und mittelgradige Nekrosen (N)

Schwein 939 (Placebo-Gruppe). 400fache Vergrößerung, Färbung nach Giemsa.



**Abb. 47:** Mittelgradige Nekrosen (N) und hochgradige vakuolige Degenerationen (V) des Myokards Schwein 412 (Epo-Gruppe). 200fache Vergrößerung, Färbung nach Giemsa.



**Abb. 48:** Mittelgradige Nekrosen (N) und hochgradige vakuolige Degenerationen (V) des Myokards Schwein 412 (Epo-Gruppe). 400fache Vergrößerung, Färbung nach Giemsa.

## 4 Diskussion

### 4.1 Überlegungen zum Versuchsaufbau

#### 4.1.1 Wahl der Versuchstiere

Für die Wahl der Tierspezies zu kardiologischen Untersuchungen ist ausschlaggebend, dass die anatomischen und physiologischen Gegebenheiten den Verhältnissen beim Menschen möglichst ähnlich sind, so dass die Ergebnisse mit großer Wahrscheinlichkeit auf den Menschen übertragen werden können. Außerdem sind ethische, wirtschaftliche sowie geräte- und arbeitstechnische Aspekte von entscheidendem Einfluss auf die Festlegung der geeigneten Tierspezies.

Für kardiovaskuläre Studien sind bisher Ratten, Kaninchen, Hunde und Schweine eingesetzt worden.

*Primaten*, die als Versuchstiere die denkbar beste Übertragbarkeit der Ergebnisse gewährleisten würden, kommen aus ethischen Gründen für die vorliegende Studie nicht in Betracht.

Auch *Ratten* und *Kaninchen* kommen für diese Studie nicht in Frage. Aufgrund der anatomischen Größenverhältnisse können die hier geplanten perkutanen Herzkatheteruntersuchungen und intramyokardialen Injektionen mit Katheterkalibern, die für den Menschen ausgelegt sind, nicht durchgeführt werden.

In den letzten Jahrzehnten wurde für Untersuchungen von Myokardischämien häufig der *Hund* als Modelltier gewählt. Hunde haben allerdings ein sehr gut ausgebildetes Netzwerk von Kollateralen und unterscheiden sich so deutlich vom Herzen des Menschen, der nur eine geringgradige Kollateralenausbildung aufweist (BLOOR et al. 1992). Der Hund ist deshalb für Fragestellungen zur Angiogenese beim Menschen nicht geeignet.

Das *Schwein* mit seiner ähnlich wie beim Menschen geringen Kollateralisierung (O'KONSKI et al. 1987; BLOOR et al. 1992) dagegen eignet sich für Untersuchungen über die Entwicklung und das Wachstum von Kollateralen besser (LONGHURST und SYMONS 1993) und eignet sich gut für die Forschung über die koronare Herzkrankheit (KHK) (WHITE et al. 1986). Die Koronaranatomie des Schweines zeigt

starke Parallelen zum Menschen (BLOOR et al. 1992). Das relative Herzgewicht sowie die Größenverhältnisse bei Schweinen von 25 bis 30 kg stimmen außerdem weitgehend mit den Verhältnissen beim Menschen überein (HUGHES 1986).

In der vorliegenden Studie sind weibliche Hybridschweine als Versuchstiere gewählt worden. Zu Studienbeginn haben die Tiere ein Gewicht von durchschnittlich 32,6 kg (Schwankungsbreite: 26,8 bis 39,2 kg). Die dem Menschen sehr ähnlichen kardialen Größenverhältnisse bei Tieren dieser Altersklasse erlaubt eine problemlose Durchführung von Herzkatheteruntersuchungen. Juvenile Schweine zeigen natürlicherweise noch keine Atherosklerose, doch wird die KHK in dieser Studie durch die Implantation eines Ameroid Konstriktors simuliert. FALLAVOLLITA et al. (2001) halten Schweine mit implantierten Ameroid Konstriktoren für ideal zu pharmakologischen und mechanischen Interventionen in hibernierendem Myokard. Wie aus den Ergebnissen der Überlebensrate der Tiere ersichtlich wird, zeigen sich die Tiere als sehr viel sensibler gegenüber interventionellen Eingriffen als Menschen. Die Tierverluste sollen Anreiz geben, noch präziser zu arbeiten, um bei Anwendung der Methoden und der Medikamente beim Menschen das Risiko von Komplikationen zu minimieren.

Nicht jede Schweinerasse ist für angiogenetische Untersuchungen geeignet: Wie aus der Studie von SCHIELE (2005) hervorgeht, weisen *Minipigs* eine sehr starke Auto-kollateralisierung auf, weswegen *Hybridschweine* als Versuchstiere für die vorliegende Arbeit gewählt worden sind.

Landwirtschaftliche Nutztiere, wie die hier verwendeten Hybridschweine, sind im Gegensatz zu *Minipigs* jederzeit und zu wirtschaftlich günstigen Konditionen erhältlich. Trotz sehr guter Auswahlkriterien der Versuchstiere dürfen die Ergebnisse nicht unkritisch auf den Menschen übertragen werden und sollten letztendlich in humanmedizinisch-klinischen Studien überprüft werden.

#### **4.1.2 Implantation des Ameroid Konstriktors**

In früheren Studien ist der Ameroid Konstriktor zu einem großen Teil an der LAD implantiert worden. Da dessen Versorgungsgebiet groß ist, kommt es zu umfangreichen Infarktarealen, was die Mortalitätsrate dementsprechend erhöht (LUMB und HARDY 1963, 1964). Das Versorgungsgebiet des Ramus circumflexus ist verglichen mit dem der rechten Koronararterie und der LAD kleiner (VERDOUW et al. 1983; WEAVER et al. 1986). Die Verkleinerung des ischämischen Gebietes nach Verschluss der LCX verringert die Zahl von Komplikationen.

#### **4.1.3 Koronarangiographie**

Die Koronarangiographie lässt keine direkten Aussagen über die myokardiale Funktion zu. Sie ist jedoch eine der üblichen Untersuchungen in der Praxis bei Untersuchungen der KHK und gehört insofern in den Versuchsaufbau. Werden bei dieser Methode Kollateralen im ischämischen Gebiet detektiert, so ist die Wahrscheinlichkeit groß, dass das Gebiet ausreichend versorgt wird. Eine verbesserte myokardiale Funktion ist die Folge.

#### **4.1.4 Lävoventrikulographie**

Die Lävoventrikulographie soll in dieser Studie Aufschluss über Lage und Grad von Wandbewegungsstörungen geben. Anzumerken ist, dass diese Methode nicht besonders genau ist und kleine Abweichungen und Unterschiede kaum erkennen lässt. Eine Kontrast-Ultraschalluntersuchung wäre für diese Fragestellung besser geeignet.

#### **4.1.5 Elektromechanisches Mapping**

Für die Auswertung des elektromechanischen Kartierens, des Mappings, gibt es zwei Möglichkeiten. Man kann sich einerseits anhand der Segment-Mittelwerte orientieren und Schwellenwerte festlegen oder aus anderen Studien übernehmen; andererseits orientiert man sich visuell am Map.

Die Auswertung anhand der gemessenen *Werte* durchzuführen, ist zwar genauer als die visuelle Auswertung, doch hat sie bedeutende Nachteile. Dem Patienten, der sich einer Herzkatheteruntersuchung unterzieht, sollte schnellstmöglich geholfen werden, am besten schon während der Untersuchung. Gerade dies ermöglicht das NOGA-Mapping-System bei visueller Arbeit am Map Therapeutische Maßnahmen können im gleichen Raum und während derselben Untersuchung durchgeführt werden. In der Praxis bleibt im Gegensatz zur Forschung kaum Zeit für die Analyse von Zahlen. Daher ist die Auswertung von Zahlen klinisch weniger relevant. Hinzu kommt, dass es viele Veröffentlichungen gibt, die behaupten, einen Schwellenwert festlegen zu können, der zwischen ischämischem und nicht-ischämischem oder sogar infarziertem, hibernierendem und gesundem Myokard unterscheiden lässt. Die Werte der verschiedenen Studien stimmen jedoch nicht überein und die Überlappungen variieren stark. Für die Beurteilung der Werte ist in der vorliegenden Arbeit eine Studie von CHAMPAGNE et al. (2003) herangezogen worden. Bei dieser wurden ebenfalls Schweine von 25 bis 32 kg KGW mit einem Ameroid Konstriktor um die LCX mit der NOGA-Methode untersucht. Hiernach liegen die Werte für ischämisches Myokard bei  $9,1 \pm 1,8$  mV bzw.  $6,4 \pm 5,4\%$  LLS und für nicht-ischämisches Myokard bei  $11,3 \pm 3,6$  mV bzw.  $17,9 \pm 3,0\%$  LLS; sie korrelieren relativ gut mit den Werten der vorliegenden Studie.

Eine *visuelle* Orientierung am Map ist sofort präsent, und es kann schnell gehandelt werden. Die Werte werden indirekt, jedoch übersichtlich durch Farbdarstellung wiedergegeben, wobei langwierige Analysen von Werten entfallen. In dieser Studie, die vor allem auf die Praxis ausgerichtet ist, sind nicht nur die klinisch üblichen bzw. möglichen Methoden angewendet, sondern auch die Injektionen zur Therapie anhand des visuellen Befunds vorgenommen worden.

Wie in der Studie von GEPSTEIN et al. (1998) beschrieben, wies der Bereich des mitralen Anulus fibrosus auch in den vorliegenden Untersuchungen verringerte elektrische Werte auf. Um falsch-negativen Ergebnissen bestmöglich vorzubeugen, sind die Basalsegmente in der vorliegenden Studie von der Beurteilung ausgeschlossen.

Nur das laterobasale Segment, das im Versorgungsgebiet der LCX liegt, ist in die Auswertung einbezogen worden, wenn es zwei Bedingungen erfüllt:

- Es wird im Map visuell als betroffen beurteilt.
- Im Vergleich zu den anderen Basalsegmenten weist es zudem deutlich niedrigere Werte auf. Es ist davon auszugehen, dass diese erniedrigten Werte nicht nur durch den Anulus fibrosus, sondern zusätzlich durch verschlechterte elektromechanische Funktionen in diesem Bereich zustande kommen.

Die Beurteilung der Größenänderung des ischämischen Gebietes ist anhand der UV-Maps durchgeführt worden. Die Ausdehnung des elektrisch und mechanisch veränderten Areals ist in den UV- und LLS-Maps nicht immer einheitlich und flächendeckend (siehe auch Abb. 30 bis 33), da es sich hier um ein biologisches Modell handelt. Vielmehr wird hieraus deutlich, um welche Art der Funktionseinschränkung es sich handelt (hibernierendes oder infarziertes Myokard). Bei hibernierendem Myokard ist im Gegensatz zu infarziertem Myokard eine normale elektrische Aktivität ausgeprägt, jedoch ist die kontraktile Funktion vermindert. Da hibernierendes Myokard prognostisch als besser einzustufen ist, zog man die Detektion des ischämischen Myokards anhand der UV-Maps vor.

Ein Vergleich des linken Ventrikels in Phase 2 und 3 durch schablonenartiges Übereinanderlegen der Maps ist nicht möglich. Der linke Ventrikel kann aus technischen Gründen nicht in der absolut gleichen Position kartiert werden, da ein Tier nicht in der exakt gleichen Lage auf dem OP-Tisch fixiert werden kann.

Der Mapping-Katheter des NOGA-Systems registriert bei Kontakt mit dem Endokard die elektrischen und mechanischen Aktivitäten des Myokards. Ob damit Aussagen über die Transmuralität der Ischämie gemacht werden können ist umstritten. Während GEPSTEIN et al. (1998) keine signifikanten elektromechanischen Veränderungen in Verbindung mit der Infarkttiefe herausfinden konnten, vertreten PERIN et al. (2002) sowie WOLF et al. (2000) die Meinung, dass mit elektromechanischem Mapping das transmurale Ausmaß eines Infarktes festgestellt werden kann.

#### 4.1.6 Überlegungen zu kausalen Untersuchungsmethoden

Mit den Methoden dieser Studie, sind die Auswirkungen von Epo auf die myokardiale Funktion untersucht worden. Der Fokus ist hierbei auf die genannten Methoden gelegt worden, da sie im klinischen Alltag angewandt werden. Die ermittelten Parameter sind für die Prognose der Erkrankten entscheidend. Wodurch die Verbesserung der myokardialen Funktion nach Anwendung von Epo hervorgerufen wird, ist mit diesen Methoden nicht feststellbar. Laut der hierzu aktuellen Literatur kommen eine angiogenetische (JAQUET et al. 2002, MOON et al. 2003) und kardioprotektive (SILVA et al. 1996, CAI et al. 2003) Wirkung als Ursache in Frage.

Die histologische Untersuchung in der vorliegenden Arbeit ist durchgeführt worden, um zwischen abgeschlossenen und aktiven Prozessen zu unterscheiden und sowohl Art als auch Ausmaß degenerativer Veränderungen zu beschreiben. Geringgradige degenerative Veränderungen sind mit geringeren myokardialen Funktionsbeeinträchtigungen assoziiert. Überlegungen bezüglich des Nachweises von Apoptose und Angiogenese sind angestellt worden. Diese werden im Folgenden kurz beleuchtet. Das Thema dieser Arbeit ist jedoch die Betrachtung der myokardialen Funktionen nach Epo-Behandlung.

Apoptose-Inhibition lässt sich histologisch nicht nachweisen. Nur durch Vergleiche mit Kontrollschnitten lässt sich auf eine Apoptose rückschließen. In der Literatur werden gelegentlich Nachweise Terminal-Deoxynucleotidyl-Transferase-mediated deoxy-Uridintri-phosphat-nick-end-labelling (TUNEL)-positiver Zellen als Zeichen für Apoptose beschrieben (CAI et al. 2003, PARSA et al. 2003). Die Methode wäre sicherlich gut geeignet, wenn es in dieser Arbeit um die Identifikation von Apoptose-Inhibition als Ursache für die verbesserte myokardiale Funktion des Herzens nach Epo-Behandlung gegangen wäre. Nachweise der Angiogenese sind histologisch schwer zu führen und zu validieren. Um eine Aussage über Neoangiogenese machen zu können, müssten der Zustand vor und nach der Therapie festgehalten werden. Dazu müsste die gesamte "area of interest" in allen Ebenen histologisch erfasst werden. Dies ist bei der Größe eines Schweineherzens nicht möglich. Antikörperfär-

bungen, wie beispielsweise die  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA)-Färbung, werden für Gefäßdarstellungen angeboten, sollten aber kritisch betrachtet werden. Die Antikörper sind teilweise unspezifisch und funktionieren nicht unbedingt am tierischen Gewebe. Hinzu kommt, dass Epitope wie das  $\alpha$ -SMA nicht zu jedem Zeitpunkt von der Zelle exprimiert werden, so dass nicht jedes Gefäß angefärbt wird. Bei der Auszählung der Gefäße, egal ob mit Spezial- oder Standardfärbungen, kann außerdem nicht beurteilt werden, ob ein Gefäß mehrfach angeschnitten wurde, so dass es hierdurch zu falsch-positiven Ergebnissen kommen kann.

Alternativ zu den histologischen Methoden kann die Vaskularisation durch mikroradiographische Darstellung mit Chromopaque dargestellt werden. Diese Untersuchung wird post-mortem durchgeführt; sie gibt keinen Aufschluss darüber, ob die Gefäße vor oder nach Epo-Applikation bestanden haben oder erst nach Epo-Applikation entstanden sind.

Bei allen genannten Möglichkeiten kann trotzdem keine Aussage getroffen werden, ob die dargestellten Gefäße neu gewachsen sind, durch die Epo-Behandlung induziert wurden oder bereits vor Therapie bestanden haben. Nur Untersuchungen mit Mikrosphären, vor und nach der Epo-Applikation verabreicht, hätten darüber Aufschluss geben können.

## **4.2 Epo zur Behandlung der Koronaren Herzkrankheit**

### **4.2.1 Überlegungen zu Applikationsart und -ort**

Es bestehen verschiedene Möglichkeiten, wie Epo appliziert werden kann: In Frage kommen die intravenöse, intrakoronare, intraperikardiale und intramyokardiale Applikation. Die ideale Applikationsmethode sollte bei einer gegebenen hohen lokalen Gewebekonzentration eine adequate Expositionszeit, minimale systemische Wirkungen sowie geringe Nebenwirkungen gewährleisten. Zudem sollte sie eine Nachdosierung gestatten, minimal invasiv und sicher sein.

Die einfachste Methode ist eine intravenöse Verabreichung. Die Aufnahme des Medikaments durch das Myokard ist hierbei jedoch gering, v. a. durch den "first pass-uptake" der Lungen (SYED et al. 2004). Systemisch verabreichtes Epo verteilt sich auch in alle anderen Organe, so dass letztlich nur ein kleiner Anteil im Koronarkreislauf und somit im ischämischen Myokard ankommt. Wie aus Studien von KASTRUP (2003) ersichtlich wird, erreichen nach intravenöser Applikation nur 0,5% und nach intrakoronarer Applikation nur 3 bis 5% eines Wachstumsfaktors das Myokard. Intra-perikardiale Applikationen bringen eine relativ lange Zeit der Exposition mit sich, wobei eine hohe Aufnahmemenge zu erwarten ist. Von Nachteil ist, dass eine Thorakotomie oder zumindest eine Thorakoskopie erforderlich ist. Die intramyokardiale Injektion gewährleistet die höchste Spezifität bezüglich der Verteilung im Zielgewebe (LOSORDO et al. 2002). Es kann somit eine hohe Gewebekonzentration sichergestellt werden. Die Wirkdauer ist im Gegensatz zu den anderen Applikationsarten verlängert (SYED et al. 2004). Zudem hat die direkte intramyokardiale Injektion nur geringe systemische Nebenwirkungen (KASTRUP 2003). Aus diesen Gründen ist für diese Studie die intramyokardiale Injektion gewählt worden. Nebenwirkungen der intramyokardialen Injektion von Wachstumsfaktoren sind eine ggf. fokale Entzündung, Fibrosierung und potentiell eine Angiom-Bildung (EPSTEIN et al. 2001). Es ist nicht auszuschließen, dass allein der Reiz des Nadeleinstichs oder des Wachstumsfaktors als Antigen ein Entzündungsgeschehen verursacht, das die Angiogenese in diesem Gebiet induziert.

Für die Überlegungen, wo der beste Ort der Applikation ist (im ischämischen Gebiet, im Grenzgebiet zum gesunden Gewebe oder möglicherweise im umgebenden gesunden Gewebe), ist ausschlaggebend, dass die Angiogenese in minderdurchbluteten Geweben von Gefäßen des angrenzenden Gewebes ausgeht. Aus diesem Grund ist für die vorliegende Studie die Injektion in das Grenzgebiet ausgewählt worden ist.

### **4.2.2 Dosis**

Welche Dosis für die intramyokardialen Injektionen optimal ist, kann zur Zeit nur spekuliert werden.

Epo erhöht die Anzahl an reifen Erythrozyten. Das wirkt sich auch günstig auf die Kapazität für den Sauerstofftransport aus (JELKMANN 1994), was wiederum für KHK-Patienten sehr vorteilhaft ist. Die Erhöhung des Hämatokrit führt aber auch zu einer erhöhten NO-Freisetzung. Damit sind einerseits Veränderungen des Blutflusses assoziiert, die erhöhten Blutdruck und Thromboseneigung hervorrufen können (RAO und STAMLER 2002), andererseits ist es möglich, dass durch eine NO-bedingte Vasodilatation und folglich eine effektivere kollaterale Durchblutung die Größe des früheren Infarkts reduziert werden kann (MOON et al. 2003). Eine höhere Viskosität des Blutes bringt das Risiko eines Herzinfarkts oder eines Hirnschlags mit sich (EICHNER 1992). So überrascht es nicht, dass bei KHK-Patienten im Zusammenhang mit erhöhten Hämatokritwerten höhere Mortalitätsraten assoziiert worden sind (BESARAB et al. 1998). 3000 IE Epo/kg KGW intraperitoneal haben nach Aussage von MOON et al. (2003) genauso wenig den Hämatokrit verändert wie die Injektion von Kochsalzlösung. Auch PARSA et al. (2003) haben hierbei festgestellt, dass eine einmalige systemische Applikation von Epo bis zu 5000 IE/kg KGW keine Veränderung des Hämatokrits herbeiführt. In vorliegender Studie sind 10 intramyokardiale Injektionen à 1000 IE vorgenommen worden. Es gab keine Hinweise darauf, dass dies überdosiert war. Es sind weder maligne Veränderungen makroskopisch noch in histologischen Untersuchungen aufgefallen. Zwar bestand bei einem Tier der Verdacht, dass es aufgrund einer Thrombembolie verstorben ist, doch nachgewiesen werden konnte dies nicht. Überdosierungen können zu Verlusten des körpereigenen Eisendepots und zu epileptiformen Anfällen führen (ESTLER 1999). Nach einer einmaligen Dosis von 1000 IE/kg KGW sind keine Antikörper entwickelt worden (FLAHARTY et al. 1990). Nach MOON et al. (2003) ist von einer LD<sub>50</sub> für rHuEpo noch nie berichtet worden.

Zur Behandlung von Anämie werden normalerweise dreimal wöchentlich Dosen von 150 bis 300 IE/ kg KGW s.c. empfohlen (ESTLER 1999).

Die experimentellen Dosierungen in der Neurologie zur Behandlung von Schlaganfällen sind hoch, da die Blut-Hirnschranke überwunden werden muss. Sicherlich sind

diese Dosen für den Einsatz in der Kardiologie unnötig hoch in bezug auf Effektivität (BOGOYEVITCH 2004).

CAI et al. (2003), CALVILLO et al. (2003), MOON et al. (2003) und PARSA et al. (2003) haben in ihren kardiologischen Studien beispielsweise Dosierungen von 5000 IE/kg KGW intraperitoneal verabreicht.

Bei der Dosierung von 10 x 1000 IE sind durchaus positive Effekte auf die Herzfunktion festgestellt worden, so dass sich eher die Frage stellt, ob eine Dosiserhöhung zu noch besseren Ergebnissen geführt hätte, oder ob dann eine Grenze überschritten worden wäre und mit eindeutigen Nebenwirkungen gerechnet werden müsste.

### **4.2.3 Zeitpunkt, Dauer und Häufigkeit der Anwendung**

Es stellt sich gerade auch nach den neusten Veröffentlichungen (CAI et al. 2003; CALVILLO et al. 2003; MOON et al. 2003; PARSA et al. 2003; TRAMONTANO et al. 2003) die Frage, wann der bestmögliche Zeitpunkt für die Applikation von Epo ist: Vor, während oder nach einem ischämischen Ereignis? CALVILLO et al. (2003) und MOON et al. (2003) haben die Auswirkungen von Applikationen eine halbe Stunde vor und unmittelbar nach Ende des ischämischen Ereignisses verglichen. In beiden Fällen kam es zu geringerem Verlust von Myozyten, einer geringeren Infarktausdehnung und ausreichender bis normaler Herzfunktion. Die Studie von CAI et al. (2003) sagt bereits aus, dass eine Applikation auch *nach* Schädigung des Myokards kardioprotektiv ist.

MOON et al. (2003) haben bezüglich der Wirkungsdauer von Epo feststellen können, dass 24 Stunden nach einer einzelnen intraperitonealen Epo-Applikation eine 50%ige Reduktion der Apoptose im Myokardbereich auszumachen ist. Nach acht Wochen war die Infarktgröße bei Epo-behandelten Tieren 15 bis 25% kleiner als bei einer Kontrollgruppe. Sie zeigten geringere Veränderungen in der Größe des Ventrikels (Herzdilatation im Rahmen des Remodellings) sowie der kardialen Funktion. Es

kann hiernach vermutet werden, dass mit Epo bei längerer Anwendung gute Ergebnisse erzielt werden können.

Wie häufig Epo verabreicht werden muss, um eine positive Wirkung am Herzen zu zeigen, ist bisher nicht untersucht worden. Dass wiederholte Anwendungen positive Auswirkungen haben können, ist denkbar. In diesem Fall sollte die Anzahl der Injektionsprozeduren trotzdem idealerweise so gering wie möglich gehalten werden, um Nebenwirkungen zu vermeiden oder zu minimieren. Retard-Präparate könnten eingesetzt werden. EDELMAN et al. (1991) haben bereits eine vielversprechende Studie mit einem FGF-Retard-Präparat durchgeführt, das eine kontinuierliche Abgabe des Wachstumsfaktors über 4 bis 5 Wochen ermöglicht.

### 4.3 Diskussion der eigenen Ergebnisse

#### 4.3.1 Überlebensrate

In die vorliegende Studie sind 18 Versuchstiere einbezogen worden. 5 Tiere (28%) sind vor dem Versuchsende gestorben. Von den 13 Tieren, die überlebt haben, sind 7 aus der Epo-Gruppe und 6 aus der Placebo-Gruppe.

Bei **Schwein 941** besteht Verdacht auf eine Thrombembolie. Sie kann durch die mechanischen Reizungen der Katheter hervorgerufen werden. Das Tier ist zwar vor der Operation heparinisiert und mit nicht-steroidalen Antiphlogistika behandelt worden, doch können Thrombosierungen trotzdem nicht ausgeschlossen werden.

Die Sektion von **Schwein 293** ergab eine hochgradige eitrige Perikarditis. Allein die Einflüsse der Narkose auf das Herz- und Kreislaufsystem unter diesen Gegebenheiten stellen eine derart hohe Belastung dar, dass es zum Exitus letalis gekommen ist. Die Infektion kann bei diesem Tier - trotz steriler Operationsbedingungen und Antibiose - während der Konstriktor-Implantation oder post operationem durch eine dochtartig aufgestiegene Infektion bedingt gewesen sein.

**Schwein 499** zeigte sowohl klinisch als auch in der Sektion Anzeichen der Glässer-schen Krankheit. Das Tier ist somit an den Folgen einer hochgradigen Infektion, und nicht primär aufgrund kardialer Dysfunktion gestorben.

Bevor **Schwein 345** an akutem Herz-Kreislaufversagen verstarb, gab es bereits verschiedene Hinweise wie Auftreten einer malignen Hyperthermie während des Aufwachens sowie eine ungewöhnlich lange Aufwachphase, die vermuten ließen, dass das Tier anfällig für Herz-Kreislaufstörungen ist.

Der nach Kammerflimmern plötzlich eingetretene Exitus letalis des **Schweines 289** unmittelbar nach der Lävoventrikulographie zeigt wiederholt, wie sensibel Schweine auf Manipulationen am Herzen reagieren.

Das Schwein als Versuchstier stellt einerseits eins der besten Tiermodelle für kardiologische Studien dar (siehe Kapitel 2.1 und 4.1.1), andererseits ist bekannt, dass mit Verwendung dieser Versuchstierspezies eine hohe Komplikationsrate verbunden ist (NÄSLUND et al. 1992). Schweine sind äußerst Herz-Kreislauf-sensible Tiere. Sie sind anfällig, spontan oder induziert durch Manipulationen am Herzen (wie durch die Lävoventrikulographie bei Schwein 289), Kammerflimmern zu bekommen (VERDOUW et al. 1983). Die Tiere dieser Studie sind darüber hinaus besonders anfällig, weil der Gefäßverschluß durch den Konstriktor eine Myokardischämie verursacht hat. Schweine sind prädisponiert, maligne Hyperthermien wie bei Schwein 345 zu entwickeln (HORNEFFER et al. 1986).

### 4.3.2 Ergebnisse der Koronarangiographie

Durch die Koronarangiographie kann man Neovaskularisationen nicht eindeutig feststellen, da die Kollateralen mindestens einen Durchmesser von 200  $\mu\text{m}$  haben müssen, um angiographisch darstellbar zu sein (WHITE et al. 1992; KRAKAU 1999). Sind Kollateralen sichtbar, so können diese von Geburt an bestehende Gefäße sein, die sich zur Kompensation der ischämischen Umstände dilatiert haben. Es kann sich

aber auch um neu gebildete Gefäße handeln, die sich auf den ischämischen Reiz hin entwickelt haben (MEYER 2000).

Insgesamt sind drei verschiedene Kombinationen an Befunden beobachtet worden: Bei zwei Tieren der Epo-Gruppe und bei einem Tier der Placebo-Gruppe haben sich anscheinend zwischen Phase 2 und 3 Kollateralen ausgebildet. Hierbei könnte Epo einen positiven Einfluss auf die Vaskularisation gehabt haben. Ob Epo nach einmaliger Applikation innerhalb von vier Wochen eine Angiogenese von Gefäßen, die mindestens einen Durchmesser von 200 µm haben, hervorrufen kann, ist nicht geklärt. Wahrscheinlicher ist, dass die Gefäße auf den ischämischen Reiz hin gewachsen sind, was auch erklärt, dass ein Placebo-Tier Kollateralen ausgebildet hat. Epo könnte die angiogenetischen Prozesse beschleunigt und unterstützt haben.

Diesen Tieren stehen jedoch zwei Tiere der Epo-Gruppe und drei Tiere der Placebo-Gruppe gegenüber, die weder in Phase 2 noch Phase 3 sichtbare Kollateralen zeigen. Zumindest eine Dilatation der bereits seit Geburt existierenden Kollateralen aufgrund der ischämischen Bedingungen wäre zu erwarten. Das bedeutet, dass bei diesen Tieren keine Gefäße vorhanden sind, die sich dilatieren könnten, oder sie sind von so kleinem Kaliber, das sie angiographisch nicht darstellbar sind. Epo scheint hier, wie bereits angenommen, Gefäße von mindestens 200 µm nicht zu induzieren.

Eine weitere Kombination von Befunden kommt jeweils bei zwei Tieren aus beiden Gruppen vor: Während sie in Phase 2 Kollateralen in der Koronarangiographie aufgewiesen haben, waren diese in Phase 3 nicht mehr zu sehen. Die in Phase 2 sichtbaren Gefäße sind Gefäße, die offensichtlich auf den ischämischen Reiz dilatiert sind. Sie sind sicherlich keine neu ausgebildeten Gefäße, da diese dann in Phase 3 sichtbar wären. Wenn sich nach der Therapie mit Epo *neue* Gefäße entwickelt haben, dann ist die Versorgung des Myokards möglicherweise ausreichend, und die Dilatation der *bereits existierenden* Kollateralen muss nicht mehr aufrechterhalten werden, so dass sich die Kollateralen zurückbilden. Bei den Tieren (Placebo- und Epo-Tiere) mit zurückgebildeter Kollateralisierung ist jedoch kein einheitliches Ver-

halten der myokardialen elektromechanischen Funktionen, der Ausdehnung des ischämischen Gebietes, der Ejektionsfraktion sowie der histologischen Ergebnisse nachzuweisen, so dass kein Hinweis auf eine verbesserte myokardiale Funktion als Erklärung für Kollateralen-Rückbildung vorliegt. Anzumerken ist außerdem, dass durch Epo neu entwickelte Gefäße nur dann in der Koronarangiographie zu detektieren sind, wenn ihr Durchmesser mindestens 200 µm beträgt.

Ob Epo angiogenetische Effekte hervorgerufen hat oder zumindest an ihnen beteiligt gewesen ist, kann man anhand der Koronarangiographie nicht beweisen, aber auch nicht ausschließen.

### **4.3.3 Ergebnisse der Lävoventrikulographie**

Alle Tiere zeigen sowohl in Phase 2 und 3 eine Hypokinesie posterolateral. Dies ist mit der Hypoxie bzw. Ischämie durch die verschlossene LCX zu erklären. Trotz positiver Einflüsse von Epo, die anhand anderer Parameter dieser Studie diagnostiziert werden konnten, bleibt dieser induzierte pathologische Zustand bestehen. Die Hypokinesien können nicht so detailliert definiert werden, dass Unterschiede zwischen Epo- bzw. Placebo-behandelten Tieren herauskristallisiert werden können.

### **4.3.4 Ergebnisse des elektromechanischen Mappings**

Als Referenzwerte sind die Werte aus der Studie von CHAMPAGNE et al. (2003) mit  $9,1 \pm 1,8$  mV bzw.  $6,4 \pm 5,4\%$  für ischämisches Myokard und  $11,3 \pm 3,6$  mV bzw.  $17,9 \pm 3,0\%$  für nicht-ischämisches Myokard verwendet worden.

Betrachtet man die Werte von Phase 2, kann festgestellt werden, dass sich in beiden Tiergruppen ähnliche elektromechanische Veränderungen entwickelt haben. Somit sind die Ausgangsbedingungen für beide Tiergruppen nahezu gleich.

Das nicht-ischämische Gebiet mit einer elektrischen Aktivität von durchschnittlich 14,29 mV und einer lokalen Kontraktilität von 19,53% zeigt normale Werte. Der Ver-

gleich dieser Werte mit den Werten der "area of interest" verdeutlicht den Unterschied zwischen dem ischämischen LCX-Gebiet und dem nicht-ischämischen restlichen Myokard.

Die UV-Werte der „area of interest“ in Phase 2 deuten bei **beiden Tiergruppen** auf ischämische Verhältnisse verursacht durch den Gefäßverschluss hin.

Die LLS-Werte **beider Tiergruppen** in Phase 2 sind als normal zu beurteilen; sie haben sich im Verlauf von Phase 2 zu Phase 3 jedoch verschlechtert, was einen Hinweis darauf gibt, dass der Reiz des Gefäßverschlusses weiterhin besteht und eine fortschreitende Verschlechterung der kontraktiven Funktion hervorruft.

Die UV-Werte der **Epo-Tiere** haben sich in Phase 3 deutlich verbessert; während es in Phase 2 anhand der UV-Werte noch als ischämisch einzustufen war, lässt es sich in Phase 3 als nicht-ischämisch bewerten. Hinzu kommt, dass sich das ischämische Areal tendenziell verkleinert oder zumindest nicht vergrößert und die Ejektionsfraktion sich im Mittel geringgradig (+ 2%) verbessert hat. Die LLS-Werte haben sich allerdings verschlechtert und sprechen für eine Ischämie von geringem Ausprägungsgrad. Zusammenfassend lässt sich für die Epo-Tiere sagen, dass in der "area of interest" hibernierendes Myokard besteht, das sich nach den elektrischen Aktivitäten zu urteilen positiv entwickelt. Das LLS verdeutlicht, dass das Myokard zur Zeit eine verminderte Kontraktilität aufweist ("hibernating"), bis sich die Versorgung des Myokards weiter bessert.

Die elektrische Aktivität des Myokards der **Placebo-Tiere** in Phase 3 hat im Vergleich zu Phase 2 etwas abgenommen. Das Gebiet gilt jedoch nach wie vor als ischämisch. Generell ist in der Placebo-Gruppe ein Trend zur Vergrößerung des ischämischen Gebiets zu beobachten. Die Ejektionsfraktion hat sich in dieser Gruppe wie bei den Epo-Tieren geringgradig (+ 3%) verbessert. Die lokale Kontraktilität (LLS) hat sich allerdings verschlechtert. Die LLS-Werte sind jedoch noch nicht als ischä-

misch einzustufen. Letzteres ist vor allem im Vergleich mit den Epo-Tieren nicht erklärbar, da die Placebo-Tiere tendenziell eine Verschlechterung aufweisen.

Die verbesserten UV-Werte und die Tendenz zur Verkleinerung der Ischämie im Zusammenhang mit verschlechterter Kontraktilität bei den Epo-Tieren geben Hinweis darauf, dass das Myokard teilweise in einen hibernierenden Zustand übergeht oder übergegangen ist. Ursächlich kommt dafür die verminderte Blutversorgung durch den implantierten Konstriktor in Betracht. Obwohl die Änderungen der Ejektionsfraktionen beider Tiergruppen als geringgradig und nicht signifikant zu beurteilen sind sowie bei alleiniger Betrachtung als physiologische Schwankungen interpretiert werden könnten, spiegeln sie im Zusammenhang mit den anderen Parametern und im Vergleich der Tiergruppen den Trend der gesamten Untersuchung wider. Aus den UV- und LLS-Werten wird keine statistische Signifikanz im Vergleich der Tiergruppen erkennbar; die Fallzahl ist in dieser Studie zu gering, um bereits signifikante Ergebnisse zu bekommen. Es wird aber im Vergleich zu den Placebo-Tieren, die im Allgemeinen eine Verschlechterung der „area of interest“ aufweisen, deutlich, dass Epo-behandelte Tiere im Trend eine bessere Prognose haben.

Eine beeinträchtigte regionale Kontraktilität kann möglicherweise durch den Druck des Katheters auf das Endokard verursacht werden (LESSICK et al. 2002). Hierbei wird das Myokard durch den Katheter nach außen gedrückt und in seinen Kontraktionsbewegungen gestört. Obwohl hierin eine weitere Erklärung für niedrige LLS-Werte liegen könnte, sollte von diesem Aspekt eher abgesehen werden, weil die durchführende Person in Herzkatheteruntersuchungen routiniert ist.

Die Statistik ergab teilweise sehr hohe Standardabweichungen. Die breite Streuung der Werte lässt sich dadurch erklären, dass in jedem betroffenen Myokardareal eine variable Menge von vitalen und nicht-vitalen Zellen vorzufinden ist (GYÖNGYÖSI et al. 2001). Dysfunktionelles Gewebe besteht meistens aus fibrösen und vitalen Anteilen (MAES et al. 1994). Typischerweise entstehen daher keine großflächigen

homogenen Veränderungen. Dies hat sich auch bei den histologischen Untersuchungen durch ein disseminiertes Muster von histologischen Veränderungen dargestellt.

#### 4.3.5 Hämodynamische Parameter während der Untersuchungen

Nach ENGELHARDT und BREVES (2000) liegt die Ruhe-Herzfrequenz des Schweines im Wachzustand bei 80 Schlägen/min. Der mittlere arterielle Blutdruck nicht-narkotisierter Schweine ist physiologischerweise 70 bis 90 mm Hg (SCHEUNERT und TRAUTMANN 1987). Anzumerken ist, dass die Werte in der vorliegenden Studie unter Anästhesie-Bedingungen gemessen wurden, so dass eine Vergleichbarkeit mit den aufgeführten Referenzwerten nicht vollständig gegeben ist. Die durchschnittliche Herzfrequenz von 85 Schlägen/min in Phase 1 liegt im physiologischen Bereich. Während Phase 2 und 3 ist sie etwas erhöht (106 bzw. 99 Schläge/min). In allen drei Phasen liegt der mittlere arterielle Blutdruck (55, 53 bzw. 65 mm Hg) unterhalb des Referenzbereichs.

Dem niedrigen *Blutdruck* könnte ein Messfehler zugrunde liegen, da dieser mit einer Kinder-Blutdruckmanschette gemessen wurde, die nicht ideal für die Anwendung beim Schwein ist. Eine invasive Blutdruckmessung wäre zuverlässiger gewesen. Eine Hypovolämie der Tiere ist auszuschließen, da die Infusionsmengen groß genug waren. Bei Phase 1 ist nach Prämedikation mit Ketamin-Xylazin-Atropin eine Erhaltungsnarkose mit Isofluran angewandt worden. Isofluran wirkt in der Peripherie vasodilatatorisch (ERHARDT et al. 2004) und kann somit in diesem Fall den niedrigen Blutdruck erklären. Die Dauer der Phase 1 ist wesentlich kürzer als die anderen beiden Phasen gewesen, so dass die kreislaufdepressive Wirkung der Narkose weniger stark ausgeprägt ist. Für die Phase 2 und 3 erhielten die Tiere eine kreislaufschonendere Narkose mit Ketamin-Azaperon-Atropin als Einleitung und dann mit Propofol-Fentanyl zum Aufrechterhalten.

Die *Herzfrequenzen* sind höher als in Phase 1; dies ist nicht nur durch die kreislaufschonendere Narkose bedingt, sondern auch im Zusammenhang mit den mechanischen Reizen der Herzkatheter zu sehen.

Dass jede Art von Narkose depressiv auf den Kreislauf wirkt, spiegelt sich hier u.a. in den Werten des mittleren arteriellen Blutdrucks wider. Ist bei einem vorgeschädigten Herzmuskel das Sauerstoffangebot zusätzlich durch eine Hypotonie vermindert, so gerät die Sauerstoffbilanz schnell aus dem Gleichgewicht (SILBERNAGEL und LANG 1998). Dies hat vermutlich dazu beigetragen, dass das Schwein 293 während Phase 2 verstorben ist. Zu beachten ist außerdem, dass trotz einer Kollateralisierung, wie sie teilweise beobachtet worden ist, die funktionell eingeschränkten Herzmuskelbereiche bei Hypoxämie, Blutdruckabfall oder erhöhtem Sauerstoffbedarf stärker gefährdet sind als gesunde Bereiche (SILBERNAGEL und LANG 1998).

### **4.3.6 Ergebnisse der Histologie**

Die histologischen Ergebnisse lassen eindeutig einen Trend erkennen, dass Epo-behandelte Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe weniger ausgeprägte degenerative Veränderungen aufweisen. Die Fibrosierungen im Zusammenhang mit den degenerativen Veränderungen deuten auf progressive oder abgeschlossene Prozesse hin. Die Funktion der Rundzellen unter diesen Verhältnissen ist die Resorption und der Abtransport des Zelldetritus; sie spricht weniger für eine Funktion im Sinne eines aktiven entzündlichen Geschehens.

Das Ausmaß an Fibrosierungen ist bei den Epo-Tieren reduziert. Dafür gibt es zwei Erklärungen: Es hat weniger Apoptose stattgefunden und das Gewebe ist durch die angiogenetische Wirkung von Epo möglicherweise besser versorgt worden.

Typisch für Koronarinsuffizienzen im Vergleich zum Infarkt ist das disseminierte Verteilungsmuster der Veränderungen (SANDRITTER und THOMAS 1986).

Das Ausmaß von Fibrosen und anderen degenerativen Veränderungen korreliert mit dem Ausmaß der Rundzellinfiltrationen. Je mehr Zellen geschädigt worden sind, desto mehr Zellmaterial muss durch die Rundzellen resorbiert werden. Dass sechs Wochen nach der Implantation des Konstriktors immer noch Zellen degenerieren (vakuolige Degenerationen, Ödeme, Nekrosen) und entsprechend Rundzellinfiltrate

vorhanden sind, deutet auf ein chronisches Geschehen hin. Die histologischen Befunde bei den Epo-Tieren sind deutlich besser als die bei den Placebo-Tieren; histologische Veränderungen sind jedoch auch bei den Epo-Tieren als Folge des Dauerreizes des LCX-Verschlusses eingetreten. Bei den Epo-behandelten Tieren kann dem Reiz jedoch offensichtlich besser und effektiver begegnet werden.

Die fokalen Hämorrhagien, die bei Tieren beider Gruppen, vermehrt jedoch bei den Placebo-Tieren auftreten, sind ein Zeichen für die funktionelle Beeinträchtigung des Myokards. Durch die Ischämie ist es zum Verlust von kontraktilem Gewebe gekommen. Die verminderte fokale Beweglichkeit bedingt stärkere Scherkräfte auf die Gefäßwände, so dass es hier zu Zerreißen mit Austritt von Blut kommt.

In der Epo-Gruppe weisen zwei Tiere (Schwein 107 und 412) *deutliche* histopathologische Veränderungen auf. Möglich ist, dass Epo nicht in unmittelbarer Nähe dieser histologischen Probe injiziert worden ist und nicht bis in dieses Gewebestück diffundiert ist. Bei einer Injektionsmenge von 0,1 ml und einer Nadellänge von 3 bis 4 mm ist eine Diffusion der Lösung in  $7,1 \pm 2,1$  mm Tiefe und  $2,3 \pm 1,8$  mm Weite zu erwarten (KORNOWSKI et al. 2000). Eine weitere, jedoch weniger wahrscheinliche Ursache könnte sein, dass diese Tiere zu den Ausnahmen einer Population gehören, die auf ein spezielles Medikament, in diesem Fall Epo, nicht ansprechen.

Der individuelle koronare Versorgungstyp der Einzeltiere ist nicht bestimmt worden. Daher kann kein Urteil gefällt werden, ob das LCX-Versorgungsgebiet bei allen Tieren ungefähr gleichmäßig ausgeprägt ist. Da die histologischen Proben jedoch proximal und distal vom Konstriktor, der soweit wie möglich proximal um die LCX platziert worden ist, entnommen wurden, ist das LCX-Versorgungsgebiet mit großer Wahrscheinlichkeit erfasst worden. Das betroffene LCX-Gebiet ist darüber hinaus nach Identifikation im NOGA-Map mit grüner Tusche markiert worden.

#### 4.4 Schlussfolgerung und Ausblick

Aus den Resultaten dieser Studie wird der Trend deutlich, dass Epo einen positiven Einfluss auf die myokardiale Funktion des ischämischen Schweineherzens zu haben scheint. Dies äußert sich in besseren elektrischen Aktivitäten und Ejektionsfraktionen sowie einer geringeren Ausdehnung des ischämischen Gebiets mit histologisch nachweisbar weniger degenerativen Veränderungen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe. Die geringe Anzahl von Tieren lässt eine allgemeingültige Aussage über die positiven Effekte von Epo nicht zu. Allerdings ist ein positiver Trend sowohl bei der Infarktgröße als auch bei der Kontraktilität zu verzeichnen.

In zukünftigen Studien wäre zu klären, welche Dosierung von Epo, auf welche Art und wie häufig appliziert, optimal wäre und gleichzeitig möglichst wenige Nebenwirkungen hervorruft. Da es bisher keine Untersuchungen gibt, die belegen, wie schnell Epo aus dem Gewebe abtransportiert und metabolisiert wird, kann keine Aussage gemacht werden, ob eine einmalige Injektion auch nach vier Wochen noch Effekte hervorrufen oder über vier Wochen hinaus wirken könnte. Hinzu kommt, dass verbesserte metabolische Bedingungen nicht unmittelbar eine Funktionsverbesserung zur Folge haben müssen. BISWAS et al. (2004) haben beobachtet, dass intramyokardiale Injektionen von basic fibroblast growth factor 2 (bFGF-2) in porzines hibernierendes Myokard nach drei Monaten zwar die regionale Blutversorgung verbessert hatte, nicht jedoch die kardiale Funktion. CORNEL et al. (1998) konnten aufzeigen, dass die kontraktile Erholung nach chirurgischer Revaskularisation bis zu 14 Monate benötigt. Bei den Tieren, die in der eigenen Studie keine oder nicht eindeutige Funktionsverbesserungen gezeigt haben, wäre insofern denkbar, dass das Myokard sich zu einem späteren Zeitpunkt als nach dem vorgegebenen Zeitpunkt von vier Wochen post applicationem verbessern könnte.

Bei bisherigen Studien, in denen Wachstumsfaktoren eingesetzt worden sind, sollte nicht außer Betracht gelassen werden, dass man sich meist nur auf die Anwendung eines einzelnen Wachstumsfaktors konzentriert hat. Man weiß heute, dass Angiogenese als nur eine der möglichen Ursachen für myokardiale Funktionsverbesserungen

steht. Es handelt sich aber um ein sehr komplexes Geschehen, bei dem wahrscheinlich viele Wachstumsfaktoren beteiligt sind. Es ist also zu fragen, ob die Applikation nur eines einzelnen Wachstumsfaktors ausreichend für einen umfassenden und dauerhaften Therapieerfolg sein kann. Eine Kombination von Epo mit anderen Wachstumsfaktoren oder Stammzellen sollte daher ebenfalls untersucht werden.

Bevor Epo zur Therapie der KHK klinisch eingesetzt wird, stehen noch viele Untersuchungen bezüglich Effektivität und Sicherheit aus. Wenn die Ergebnisse auf den Menschen übertragbar wären, dann könnte Epo eine neue therapeutische Möglichkeit darstellen, das Ausmaß eines myokardialen Schadens zu vermindern und die kontraktile Funktion zu verbessern.

## 5 Zusammenfassung

### **Untersuchungen zum Einfluss von Erythropoietin auf die myokardiale Funktion des ischämischen Schweineherzens**

**Ziel:** Ziel dieser Studie ist es, die Auswirkungen von intramyokardialen Injektionen von Erythropoietin (Epo) auf die myokardialen Funktionen des ischämischen Herzens zu untersuchen. Am Modell des Schweines soll untersucht werden, ob Epo zur Therapie der Koronaren Herzkrankheit (KHK) beim Menschen eingesetzt werden könnte.

**Methoden:** Die Studie lässt sich in drei Phasen einteilen und wird an insgesamt 18 Hybridschweinen durchgeführt. In der Phase 1 implantiert man jedem Tier um den Ramus circumflexus der linken Koronararterie einen Ameroid Konstriktor. Durch Quellung des Ameroids kommt es zu einem langsamen, vollständigen Verschluss des Gefäßes. Hiermit ruft man ischämische Zustände im Myokard hervor, wie sie bei der KHK des Menschen auftreten. Nach zwei Wochen (Phase 2) findet eine Überprüfung der verschiedenen kardialen Funktionen des linken Ventrikels durch Koronarangiographie, Lävoventrikulographie und elektromechanisches Mapping (NOGA-Mapping) statt. Im Anschluss an diese Untersuchungen nimmt man mit einem speziellen Injektionskatheter intramyokardiale Injektionen einer Epo- bzw. Placebo-Lösung in der Peripherie des ischämischen Gebietes vor. Nach weiteren vier Wochen werden die Schweine wieder kardiologisch untersucht, um die Effekte von Epo im Vergleich zur Kontrollgruppe festzustellen (Phase 3). Nach Euthanasie der Tiere entnimmt man die Herzen für histologische Untersuchungen. Man vergleicht zwischen der Epo- und Placebo-Gruppe hinsichtlich der Parameter Kollateralisierung, Wandbewegungen, elektrische Aktivität, Kontraktilität, Ejektionsfraktion des linken Ventrikels, morphologische Ausdehnung sowie histopathologische Veränderungen des ischämischen Gebietes.

**Ergebnisse:** Aus den Ergebnissen dieser Studie wird der Trend ersichtlich, dass Epo-behandelte Tiere im Vergleich zur Placebo-Gruppe überwiegend positive Effekte auf die myokardialen Funktionen am ischämischen Herzen aufweisen. Dies geht aus den Untersuchungen des elektromechanischen Mappings hervor. Histologische Veränderungen sind bei den Epo-behandelten Tieren weniger stark ausgeprägt.

**Schlussfolgerung:** Die Anwendung von Epo zur Therapie von Patienten mit KHK ist nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit am ischämischen Schweineherzen vielversprechend. Weitere Untersuchungen sind noch erforderlich.

## 6 Summary

### **Investigation of the influence of erythropoietin on the myocardial function of the ischemic pig heart**

**Aim:** The aim of this study is to evaluate the effects of intramyocardial injections of erythropoietin (epo) on the myocardial functions of the ischemic heart. By means of a pig model it should be investigated whether epo could be used in the therapy of human coronary artery disease (CAD).

**Methods:** The study is subdivided in three phases. It is carried out on a total of 18 female hybrid pigs. In phase 1 an ameroid constrictor is implanted in every animal around the ramus circumflexus of the left coronary artery. Due to swelling of the ameroid the vessel is closed slowly and completely. This leads to ischemic conditions as found in the human CAD. Two weeks later various cardiac functions of the left ventricle are tested (phase 2) including coronary angiography, ventriculography and electromechanical mapping (NOGA-Mapping). Afterwards intramyocardial injections of epo respectively placebo are performed with a special injection catheter. After another four weeks each animal is checked in a cardiological examination again in order to determine the effects of epo compared with the control group (phase 3). After euthanasia the hearts are examined histologically. The evaluation includes comparisons of the epo and the placebo group concerning the parameters collateralisation, wall motions, electrical activity, contractility, ejection fraction of the left ventricle, morphological size and histopathological changes of the ischemic area.

**Results:** Epo-medicated animals show mainly positive effects on the myocardial functions of the ischemic heart compared to placebo-medicated animals. This follows from evaluations of the electromechanical mapping. Histological alterations are less distinct in erythropoietin-treated animals.

**Conclusions:** The results of this study on the ischemic pig heart are promising with respect to the application of epo in the therapy of human patients affected by CAD. Further investigations are still necessary.

## 7 Literaturverzeichnis

**ANAGNOSTOU, A., LEE, E. S., KESSIMIAN, N., LEVINSON, R., STEINER, M.**  
Erythropoietin has a mitogenic and positive chemotactic effect on endothelial cells.  
Proc Natl Acad Sci. 1990; 87: 5978-82.

**AUGSBURGER HERZINFARKTREGISTER**  
2003  
www.destatis.de

**BAIM, D. S.**  
Perkutane koronare Revaskularisation.  
In: M. DIETEL, J. DUDENHAUSEN, N. SUTTORP (Hrsg.): Harrisons Innere Medizin.  
ABW Wissenschaftsverlag, Berlin. 2003: 1551-4.

**BARTEL, T. und ERBEL, R.**  
Regionale und globale Funktion des linken Ventrikels bei koronarer Herzkrankheit.  
In: F. A. FLACHSKAMPF (Hrsg.): Praxis der Echokardiographie.  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. 2002: 170-3.

**BELTRAMI, A. P.**  
Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction.  
N Engl J Med. 2001; 344: 1750-7.

**BEN-HAIM, S. A., OSADCHY, D., SCHUSTER, I., GEPSTEIN, L., HAYAM, G., JOSEPHSON, M. E.**  
Nonfluoroscopic, in vivo navigation and mapping technology.  
Nat Med. 1996; 2: 1393-5.

**BESARAB, A., BOLTON, W. K., BROWNE, J. K., EGRIE, J. C., NISSENSON, A. R., OKAMOTO, D. M., SCHWAB, S. J., GOODKIN, D. A.**  
The effects of normal as compared with low hematocrit values in patients with cardiac disease who are receiving hemodialysis and epoetin.  
N Engl J Med. 1998; 339: 584-90.

**BESTEHRN, H. P. und ROSKAMM, H.**  
Koronarangiographie.  
In: H. ROSKAMM, H. REINDELL (Hrsg.): Herzkrankheiten.  
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hongkong, London, Mailand, Paris, Santa Clara, Singapur, Tokio. 1996: 375-400.

**BIERMANN, E. L.**  
Atherosklerose und andere Formen der Arteriosklerose.  
In: A. S. FAUCI, E. BRAUNWALD, K. J. ISSELBACHER, J. D. WILSON, J. B. MARTIN, D. L. KASPER, S. L. HAUSER, D. L. LONGO (Hrsg.): Harrisons Innere Medizin.  
Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin. 1995: 1297-309.

**BISWAS, S. S., HUGHES, G. C., SCARBOROUGH, J. E., DOMKOWSKI, P. W., DIODATO, L. L., SMITH, M., LANDOLFO, C., LOWE, J. E., ANNEX, B. H., LANDOLFO, K. P.**

Intramyocardial and intracoronary basic fibroblast growth factor in porcine hibernating myocardium: a comparative study.

J Thorac Cardiovasc Surg. 2004; 127: 34-43.

**BLOOR, C. M., WHITE, D., ROTH, D. M.**

The pig as a model of myocardial ischemia and gradual coronary artery occlusion.

In: M. M. SWINDLE (Hrsg.): Swine as models in biomedical research.

Iowa State University Press, Ames. 1992: 163-75.

**BOGOYEVITCH, M. A.**

An update on the cardiac effects of erythropoietin cardioprotection by erythropoietin and the lessons learnt from studies in neuroprotection.

Cardiovasc Res. 2004; 63: 208-16.

**BOLUKOGLU, H., LIEDTKE, A. J., NELLIS, S. H., EGGLESTON, A. M., SUBRAMANIAN, R., RENTSTROM, M.**

An animal model of chronic coronary stenosis resulting in hibernating myocardium.

Am J Physiol. 1992; 263: H20-9.

**BONOW, R. O.**

Identification of viable myocardium.

Circulation. 1996; 94: 2674-80.

**BRAUN, B., GÜNTHER, R., SCHWERK, W.**

Spezielle Diagnostik - Echokardiographie.

In: Ultraschalldiagnostik.

Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg. 2003: 9-28, 52-77.

**BRAUNWALD, E., KLONER, R. A.**

The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction.

Circulation. 1982; 66: 1146-9.

**BRENNECKE, R., ERBEL, R.**

Stand der echokardiographischen Bildgebung.

Z Kardiologie. 1998; 87: 75-80.

**BRETT, W.**

Herz- und Herz-Lungentransplantation.

In: H. ROSKAMM, H. REINDELL (Hrsg.): Herzkrankheiten.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hongkong, London, Mailand, Paris, Santa Clara, Singapur, Tokio. 1996: 1453-65.

**BRINES, M. L., GHEZZI, P., KEENAN, S., AGNELLO, D., DE LANEROLLE, N., CERAMI, C., ITRI, L. M., CERAMI, A.**

Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury.

Proc Natl Acad Sci. 2000; 97: 10526-31.

**BUSCHMANN, I. und SCHAPER, W.**

The pathophysiology of the collateral circulation (arteriogenesis).

J Pathol. 2000; 190: 338-42.

**CAI, Z., MANALO, D. J., WEI, G., RODRIGUEZ, E. R., FOX-TALBOT, K., LU, H., ZWEIER, J. L., SEMENZA, G. L.**

Hearts from rodents exposed to intermittent hypoxia or erythropoietin are protected against ischemia-reperfusion injury.

Circulation. 2003; 108: 79-85.

**CALVILLO, L., LATINI, R., KAJSTURA, J., LERI, A., ANVERSA, P., GHEZZI, P., SALIO, M., CERAMI, A., BRINES, M.**

Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling.

Proc Natl Acad Sci. 2003; 100: 4802-6.

**CANALE, E. D., CAMPBELL, G. R., SMIOLICH, J. J., CAMPBELL, J. H.**

Handbook of microscopic anatomy II/7: Cardiac muscle.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo. 1986: 1-7.

**CARLINI, R. G., REYES, A., ROTHSTEIN, M.**

Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis in vitro.

Kidney Int. 1995; 47: 740-5.

**CHAMPAGNE, S., SU, J.-B., UNTERSEEH, T., ELAMINE, S., ELBAZ, N., GAROT, P., DUBOIS-RANDÉ, J. L., MERLET, P., HITTINGER, L., TEIGER, E.**

Electromechanical mapping of ischaemic myocardium in a model of progressive coronary occlusion in the pig.

Arch Mal Cœur 2003; 96:332-8.

**CHONG, Z. Z., KANG, J. Q., MAISES, K.**

Angiogenesis and plasticity: role of erythropoietin in vascular system.

J Hematother Stem Cell Res. 2002; 11: 863-71

**CORNEL, J. H., BAX, J. J., ELHENDY, A., MAAT, A. P., KIMMAN, G. J., GELEIJNSE, M. L., RAMBALDI, R., BOERSMA, E., FIORETTI, P. M.**

Biphasic response to dobutamine predicts improvement of global left ventricular function after surgical revascularization in patients with stable coronary artery disease: implications of time course of recovery on diagnostic accuracy.

J Am Coll Cardiol. 1998; 31: 1002-10.

**CRICK, S. J., SHEPPARD, M. N., HO, S. Y., GEBSTEIN, L., ANDERSON, R. H.**

Anatomy of the pig heart: comparisons with normal human cardiac structure.

J Anat. 1998; 193: 105-19.

**DAHME, E., WEISS, E.**

Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere.

Enke Verlag, Stuttgart. 1999: 34.

**DIAMOND, G. A., FORRESTER, J. S., DE LUZ, P. L., WYATT, H. L., SWAN, H. J.**

Postextrasystolic potentiation of ischemic myocardium by atrial stimulation.

Am Heart J 1978; 95: 204-9.

**DRENCKHAHN, D.**

Herz-Kreislauf-System.

In: D. DRENCKHAHN (Hrsg.): Anatomie.

Elsevier GmbH: Urban & Fischer Verlag, München. 2004: 43-5.

**DYCE, K. M., SACK, W. O., WENSING, C. J. G.**

Anatomie der Haustiere.

Enke Verlag, Stuttgart. 1991: 248-9.

**EDELMAN, E. R., MATHIOWITZ, E., LANGER, R., KLAGSBURN, M.**

Controlled and modulated release of basic fibroblast growth factor.

Biomaterials. 1991; 12: 619-26.

**EICHNER, E. R.**

Better dead than second.

J Lab Clin Med. 1992; 120: 359-60.

**EICHSTÄDT, H.**

Nuklearkardiologie.

In: H. ROSKAMM, H. REINDELL (Hrsg.): Herzkrankheiten.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hongkong, London, Mailand, Paris, Santa Clara, Singapur, Tokio. 1996: 349-57.

**ELZINGA, W. E.**

Ameroid constrictor: uniform closure rates and a calibration procedure.

J Appl Physiol. 1969; 27: 419-21.

**ENGELHARDT, V. W., BREVES, G.**

Physiologie der Haustiere.

Enke Verlag, Stuttgart. 2000: 137, 283.

**EPSTEIN, S. E., KORNOWSKI, R., FUCHS, S., DVORAK, H. F.**

Angiogenesis therapy.

Circulation. 2001; 104: 115-9.

**ERDMANN, E. und KIRSCH, C. M.**

"Stunned" und "Hibernating Myocardium" - Diagnostik und klinische Implikationen.  
Z Kardiol. 1993; 82: 143-7.

**ERHARDT, W., HENKE, J., KROKER, R.**

Pharmaka im Rahmen der Anästhesie und der perioperativen Schmerzlinderung.  
In: W. ERHARDT, J. HENKE, J. HABERSTROH (Hrsg.): Anästhesie und Analgesie  
beim Klein- und Heimtier.  
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York. 2004: 16-87.

**ESTES, E. H., ENTMAN, M. L., DIXON, H. B., HACKEL, D. B.**

The vascular supply of the left ventricular wall.  
Am Heart J. 1966; 71: 58-67.

**ESTLER, C. J.**

Pharmakologie und Toxikologie.  
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York. 1999: 344-6, 364.

**FALLAVOLLITA, J. A., LOGUE, M., CANTY, J. M. Jr.**

Stability of hibernating myocardium in pigs with a chronic left anterior descending  
coronary artery stenosis: absence of progressive fibrosis in the setting of stable re-  
ductions in flow, function and coronary flow reserve.  
J Am Coll Cardiol. 2001; 37: 1989-95.

**FARRER-BROWN, G.**

The injection of capillaries, arterioles, and arteries in the ventricles of the human  
heart by a radio-opaque medium.  
Cardiovasc Res. 1968a; 2: 179-86.

**FARRER-BROWN, G.**

Normal and diseased vascular pattern of myocardium of human heart - I. Normal  
pattern in the left ventricular free wall.  
Brit Heart J. 1968b; 30: 527-36.

**FARRER-BROWN, G. und WARTMAN, W. B.**

The microvasculature of the cardiac ventricles.  
Path Microbiol. 1966; 30: 695-708.

**FEIGENBAUM, H., CORYA, B. C., DILLON, J. C., WEYMANN, A. E.,  
RASMUSSEN, S., BLACK, M. J., CHANG, S.**

Role of echocardiography in patients with coronary artery disease.  
Am J Cardiol. 1976; 37: 775-86.

**FERNANDEZ-BRITTO, J. E., WONG, R., CONTRERAS, D., NORDET, P., STERNBY, N. H.**

Pathomorphometrical characteristics of atherosclerosis in youth. A multinational investigation of WHO/World Health Federation (1986-1996), using atherometric system.

Nutr Metab Cardiovasc Dis. 1999; 9: 210-9.

**FLAHARTY, K. K., CARO, J., ERSLEV, A., WHALEN, J. J., MORRIS, E. M., BJORNSSON, T. D., VLASSES, P. H.**

Pharmakokinetics and erythropoietic response to human recombinant erythropoietin in healthy men.

Clin Pharmacol Ther. 1990; 47: 557-64.

**FUSTER, V., BADIMON, L., BADIMON, J. J., CHESEBRO, J. H.**

The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). N Engl J Med. 1992; 326: 242-50.

**GEPSTEIN, L., GOLDIN, A., LESSICK, J., HAYAM, G., SHPUN, S., SCHWARTZ, Y., HAKIM, G., SHOFTY, R., TURGEMAN, A., KIRSHENBAUM, D., BEN-HAIM, S. A.**

Electromechanical characterization of chronic myocardial infarction in the canine coronary occlusion model.

Circulation. 1998; 98: 2055-64.

**GEPSTEIN, L., HAYAM, G., BEN-HAIM, S. A.**

A novel method for nonfluoroscopic catheter-based electroanatomical mapping of the heart.

Circulation. 1997a; 95: 1611-22.

**GEPSTEIN, L., HAYAM, G., SHPUN, S., BEN-HAIM, S. A.**

Hemodynamic evaluation of the heart with a nonfluoroscopic electroanatomical mapping technique.

Circulation. 1997b; 96: 3672-80.

**GROSSMAN, J. D. und GROSSMAN, W.**

Angiogenesis.

Rev Cardioasc Med. 2002; 3: 138-44.

**GROUND, M. D., WHITE, J. D., ROSENTHAL, N., BOGOYEVITCH, M. A.**

The role of stem cells in skeletal and cardiac muscle repair.

J Histochem Cytochem. 2002; 50: 589-610.

**GYÖNGYÖSI, M., SOCHOR, H., KHORSAND, A., GEPSTEIN, L. und GLOGAR, D.**  
Online myocardial viability assessment in the catheterization laboratory via NOGA electroanatomic mapping.

Circulation. 2001; 104: 1005-11.

**HAUG, G.**

Stressechokardiographie.

Steinkopff Verlag, Darmstadt. 1994: 9-11, 49, 69, 94, 102, 103, 127, 152-154.

**HEESCHEN, C., AICHER, A., LEHMANN, R., FICHTLSCHERER, S., VASA, M.,  
URBICH, C., MULDNER-RIHM, C., MARTIN, H., ZEHER, A. M.,  
DIMMELER, S.**

Erythropoietin is a potent physiologic stimulus for endothelial progenitor cell mobilization.

Blood. 2003; 102: 1340-6.

**HENDRICKX, G. R., MILLARD, R. W., McRITCHIE, R. J., MAROKO, P. R., VATER, S. F.**

Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs.

J Clin Invest. 1975; 56: 978-85.

**HERMAN, M. V., HEINLE, R. A., KLEIN, M. D., GORLIN, R.**

Localized disorders in myocardial contraction. Asynergy and its role in congestive heart failure.

N Engl J Med. 1967; 277: 222-32.

**HEROLD, G.**

Innere Medizin.

Dr. med. Gerd Herold (Selbstverlag), Köln. 2002: 196.

**HILGER, H. H., SCHAEDE, A.**

Koronarinsuffizienz.

In: H. HORNBORSTEL, W. KAUFMANN, W. SIEGENTHALER (Hrsg.): Innere Medizin in Praxis und Klinik.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. 1992: 1.44-1.72.

**HOFFMANN, R.**

Stressechokardiographie zur Ischämiediagnostik.

In: F. A. FLACHSKAMPF (Hrsg.): Praxis der Echokardiographie.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. 2002: 183-203.

**HÖFLING, R.**

Sondierung und Angiographie des Herzens und der herznahen Gefäße.

In: G. RIEKER (Hrsg.): Klinische Kardiologie.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hongkong, Barcelona, Budapest. 1991: 104-19.

**HORNEFFER, P. J., GOTT, V. L., GARDNER, T. J.**

Swine as a cardiac surgical model.

In: M. E. TUMBLESON (Hrsg.): Swine in biomedical research.

Plenum Press, New York, London. 1986: 321-5.

**HUGHES, H. C.**

Swine in cardiovascular research.  
Lab Anim Sci. 1986; 36: 348-50.

**HUNT, S. A.**

Current status of cardiac transplantation.  
J Med Assoc. 1998; 280: 1692-8.

**JAQUET, K., KRAUSE, K., TAWAKOL-KHODAI, M., GEIDEL, S., KUCK, K.-H.**

Erythropoietin and VEGF exhibit equal angiogenic potential.  
Microvasc Res. 2002; 64: 326-33.

**JELKMANN, W.**

Biology of erythropoietin.  
Clin Investig. 1994; 72: 3-10.

**JELKMANN, W., METZEN, E.**

Erythropoietin in the control of red cell production.  
Ann Anat. 1996; 178: 391-403.

**JUUL, S. E.**

Nonerythropoietic roles of erythropoietin in the fetus and neonate.  
Neonat Haematol. 2000; 27: 527-41.

**KASTRUP, J.**

Therapeutic angiogenesis in ischemic heart disease: gene or recombinant vascular growth factor protein therapy?  
Curr Gene Ther. 2003; 3: 197-206.

**KECK, A., HERTTING, K., SCHWARTZ, Y., KITZING, R., WEBER, M., LEISNER, B., FRANKE, C., BAHLMANN, E., SCHNEIDER, C., TWISSELMANN, T., WEISBACH, M., KÜCHLER, R., KUCK, K.-H.**

Electroanatomical mapping for determination of myocardial contractility and viability.  
J Am Coll Cardiol. 2002; 40: 1075-8.

**KONG, Y., CHEN, J. T., ZEFT, H. J., WHALEN, R. E., McINTOSH, H. D.**

Natural history of experimental coronary occlusion in pigs: A serial cineangiographic study.  
Am Heart J 1969; 77: 45-54.

**KORNOWSKI, R.**

Left ventricular electro-mechanical mapping (LVEMM): Scope of clinical activities and future directions.  
In: FA. CORDIS, Belgien (Hrsg.): The NOGA letter..  
2002: 1-7.

**KORNOWSKI, R., HONG, M. K., GEPSTEIN, L., GOLDSTEIN, S., ELLAHAM, S., BEN-HAIM, S. A., LEON, M. B.**

Preliminary animal and clinical experiences using an electromechanical endocardial mapping procedure to distinguish infarcted from healthy myocardium. *Circulation*. 1998a; 98: 1116-24.

**KORNOWSKI, R., HONG, M. K., LEON, M. B.**

Comparison between left ventricular electromechanical mapping and radionuclide perfusion imaging for detection of myocardial viability. *Circulation*. 1998b; 98: 1837-41.

**KORNOWSKI, R., LEON, M. B., FUCHS, S., VODOVOTZ, Y., FLYNN, M. A., GORDON, D. A., PIERRE, A., KOVESDI, I., KEISER, J. A., EPSTEIN, S. E.**

Electromagnetic guidance for catheter-based transendocardial injection: A platform for intramyocardial angiogenesis therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 35: 1031-9.

**KRAKAU, I.**

Das Herzkatheterbuch.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. 1999: 19-23, 50, 67-8, 73, 174, 179.

**KRUPINSKI, M., KALUZA, J., KUMAR, P., WANG, J. M.**

Role of angiogenesis in patients with cerebral ischemic stroke. *Stroke*. 1994; 25: 1794-8.

**LEARNER, D. J., KANNEL, W. B.**

Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population. *Am Heart J*. 1986; 111: 383-90.

**LEHR, H. A., SAGBAN, T. A., KIRKPATRICK, C. J.**

Atherosklerose - Progression durch unspezifische Aktivierung des Immunsystems. *Med Klin*. 2002; 97: 229-35.

**LESSICK, J., HAYAM, G., ZARETZKY, A., REISNER, S. A., SCHWARTZ, Y., BEN-HAIM, S. A.**

Evaluation of inotropic changes in ventricular function by NOGA mapping: comparison with echocardiography. *J Appl Physiol*. 2002; 93: 418-26.

**LESSICK, J., KORNOWSKI, R., FUCHS, S., BEN-HAIM, S. A.**

Assessment of NOGA catheter stability during the entire cardiac cycle by means of a special needle-tipped catheter. *Cath Cardiovasc Interv*. 2001; 52: 400-6.

**LINCOFF, A. M., TOPOL, E. J.**

Interventional catheterization techniques.

In: E. BRAUNWALD (Hrsg.): Heart Disease.

W. B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo.  
1997: 1366.

**LONGHURST, J. C., SYMONS, D. J.**

Function and development of coronary collateral vessels.

In: W. SCHAPER, J. SCHAPER (Hrsg.): Collateral circulation.

Kluwer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London. 1993: 195-214.

**LOSORDO, D. W., VALE, P. R., HENDEL, R. C., MILLIKEN, C. E., FORTUIN, F. D.,  
CUMMINGS, N., SCHATZ, R. A., ASHARA, T., ISNER, J. M., KUNTZ, R. E.**

Phase 1/2 placebo-controlled, double-blinded, dose-escalating trial of myocardial  
vascular endothelial growth factor gene transfer by catheter delivery in patients with  
chronic myocardial ischemia.

Circulation. 2002; 105: 2012-18.

**LÜBBERS, D.**

Die Gewebsatmung der Herzmuskelfaser.

In: Bad Oeynhausener Gespräche II.

Springer Verlag, Göttingen, Berlin, Heidelberg. 1958: 32-43.

**LUMB, G. D., HARDY, L. B.**

Collateral circulation and survival related to gradual occlusion of the right coronary  
artery in the pig.

Circulation. 1963; 27: 717-21.

**LUMB, G., HARDY, L. B.**

Collaterals and coronary artery narrowing - I. The effect of coronary artery narrowing  
on collateral channels in swine.

Lab Invest. 1964; 13: 1530-40.

**MAES, A., FLAMENG, W., NUYTS, J., BORGERS, M., SHIVALKAR, B., AUSMA,  
J., BORMANS, G., SCHIEPERS, C., DE ROO, M., MORTELMANS, L.**

Histological alterations in chronically hypoperfused myocardium: correlation with PET  
findings.

Circulation. 1994; 90: 735-45.

**MEYER, J.**

Erkrankungen des Koronarkreislaufs.

In: R. GROSS, P. SCHÖLMERICH, W. GEROK (Hrsg.): Die Innere Medizin.

Schattauer Verlag, Stuttgart. 2000: 244-57.

**MOON, C., KRAWCZYK, M., AHN, D., AHMET, I., PAIK, D., LAKATTA, E. G., TALAN, M. I.**

Erythropoietin reduces myocardial infarction and left ventricular functional decline after coronary artery ligation in rats.

Proc Natl Acad Sci. 2003; 100: 11612-7.

**MÖRL, H., HADERS, P., VON FALLOIS, J.**

Koronare Herzkrankheit.

Walter de Gruyter Verlag, Berlin, New York. 1998: 1-2.

**MUKHERJEE, D., BHATT, D. L., ROE, M. T., PATEL, V., ELLIS, S. G.**

Direct myocardial revascularization and angiogenesis - how many patients might be eligible?

Am J Cardiol. 1999; 84: 598-600.

**NÄSLUND, U., HÄGGMARK, S., JOHANSSON, G., MARKLUND, S. L., REIZ, S.**

A closed-chest myocardial occlusion-reperfusion model in the pig: techniques, morbidity and mortality.

Euro Heart J. 1992; 13: 1282-9.

**NICKEL, R., SCHUMMER, A., SEIFERLE, E.**

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.

Parey Buchverlag, Berlin. 1996: 19-22, 41-3.

**NIXDORFF, U.**

Vitalitätsdiagnostik.

In: F. A. FLACHSKAMPF: Praxis der Echokardiographie.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. 2002: 204-16.

**O'KONSKI, M. S., WHITE, F. C., LONGHURST, J. C., ROTH, D. M., BLOOR, C. M.**

Ameroid constriction of the left circumflex coronary artery in swine. A model of limited coronary collateral circulation.

Am J Cardiovasc Pathol. 1987; 1: 69-77.

**ODENSTEDT, J., MANSSON, C., JANSSON, S. O., GRIP, L.**

Endocardial electromechanical mapping in a porcine acute infarct and reperfusion model evaluating the extent of myocardial ischemia.

J Invasive Cardiol. 2003; 15: 497-501.

**ORLIC, D., ANDERSON, S., BIESECKER, L. G., SORRENTINO, B. P., BODINE, D. M.**

Pluripotent hematopoietic stem cells contain high levels of mRNA for c-kit, GATA-2, p45 NF-E2, and c-myb and low levels or no mRNA for c-fms and the receptors for granulocyte colony-stimulating factor and interleukin 5 and 7.

Proc Natl Acad Sci. 1995; 92: 4601-5.

**PARSA, C. J., MATSUMOTO, A., KIM, J., RIEL, R. U., PASCAL, L. S., WALTON, G. B., THOMPSON, R. B., PETROFSKI, J. A., ANNEX, B. H., STAMLER, J. S. und KOCH, W. J.**

A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart.  
J Clin Invest. 2003; 112: 999-1007.

**PERIN, E. C., GENG, Y. J., WILLERSON, J. T.**

Adult stem cell therapy in perspective.  
Circulation. 2003; 107: 935-8.

**PERIN, E. C., SILVA, G. V., SARMENTO-LEITE, R., SOUSA, L. S. A., HOWELL, M., MUTHUPILLAI, R., LAMBERT, B., VAUGHN, W. K., FLAMM, S. D.**

Assessing myocardial viability and infarct transmuralty with left ventricular electro-anatomical mapping in patients with stable coronary artery disease.  
Circulation. 2002; 106: 957-61.

**PETERSEN, J.**

Perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTCA).  
In: H. ROSKAMM and H. REINDELL (Hrsg.): Herzkrankheiten.  
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hongkong, London, Mailand, Paris, Santa Clara, Singapur, Tokio. 1996: 1410-23.

**PSCHYREMBEL**

Walter de Gruyter Verlag, Berlin. 2002: 127-8,147.

**RAHIMTOOLA, S. H.**

The hibernating myocardium.  
Am Heart J. 1989; 117: 211-21.

**RAHIMTOOLA, S. H.**

Concept and evaluation of hibernating myocardium.  
Annu Rev Med. 1999; 50: 75-86.

**RAO, S.V., STAMLER, J. S.**

Erythropoietin, anemia, and orthostatic hypotension: the evidence mounts.  
Clin Auton Res. 2002; 12: 141-3.

**RATCLIFFE, H. L., LUGINBUHL, H.**

The domestic pig: a model for experimental atherosclerosis.  
Atherosclerosis. 1971; 13: 133-6.

**RENTROP, K. P., COHEN, M., BLANKE, H., PHILLIPS, R. A.**

Changes in collateral channel filling after controlled artery occlusion by an angioplasty balloon in human subjects.  
J Am Coll Cardiol. 1985; 5: 587-92.

**RIBATTI, D., PRESTA, M., VACCA, A., RIA, R., GIULIANI, R., DELL'ERA, P., NICO, B., RONCALI, L., DAMMACCO, F.**

Human erythropoietin induces a pro-angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo.

Blood. 1999; 93: 2627-36.

**RISSANEN, V.**

Microvasculature in the left ventricular wall of the human heart.

Angiology. 1973; 24: 345-58.

**ROESSNER, A., KIRKPATRICK, C. J., SCHNEIDER, C.**

Gefäße.

In: W. BÖCKER, H. DENK, P. U. HEITZ (Hrsg.): Pathologie.

Urban & Fischer Verlag, München, Jena. 2001: 449-55

**ROSKAMM, H.**

Klinik der koronaren Herzerkrankung 1: Angina pectoris, stumme Myokardischämie, instabile Angina pectoris.

In: H. ROSKAMM, H. REINDELL (Hrsg.): Herzkrankheiten.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hongkong, London, Mailand, Paris, Santa Clara, Singapur, Tokio. 1996: 625-78.

**ROSS, R.**

The pathogenesis of atherosclerosis - an update.

N Engl J Med. 1986; 314: 488-500.

**ROSS, R.**

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

Nature. 1993; 362: 801-9.

**ROTH, D. M., MARUOKA, Y., ROGERS, J., WHITE, F. C., LONGHURST, J. C., BLOOR, C. M.**

Development of coronary collateral circulation in left circumflex Ameroid-occluded swine myocardium.

Am J Physiol Heart Circ Physiol. 1987; 253: H1279-88.

**SALISBURY, P. F., CROSS, C. E., RIEBEN, P. A.**

Acute ischaemia of inner layers of ventricular wall.

Am Heart J. 1963; 66: 650-6.

**SANDRITTER, W., THOMAS, C.**

Histopathologie.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York. 1986: 65.

**SCHÄCHINGER, V., ZEIHNER, A. M .**

Koronare Herzerkrankung.

In: W. E. BERDEL, M. BÖHM, M. CLASSEN, V. DIEHL, K. KOCHSIEK, W. SCHMIEGEL (Hrsg.): Innere Medizin.

Urban & Fischer Verlag, München, Jena. 2004: 227-42.

**SCHAPER, W., ITO, W. D.**

Molecular mechanisms of coronary collateral vessel growth.

Circ Res. 1996; 79: 911-9.

**SCHEUNERT, A., TRAUTMANN, A.**

Lehrbuch der Veterinärphysiologie.

Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg. 1987: 211-64, 276-82, 289-300.

**SCHIELE, A. W.**

Untersuchungen zum Einfluss einer retardierenden Koronarverengung auf die Myokardperfusion im Modell am Miniaturschwein.

Vet Med Diss, München. 2005

**SCHMAILZL, K. J. G., ARNTZ, H. R.**

Ischämische Herzerkrankung.

In: M. DIETEL, J. DUDENHAUSEN, N. SUTTORP (Hrsg.): Harrisons Innere Medizin.

ABW Wissenschaftsverlag, Berlin. 2003: 1540-50.

**SCHMIDT, R. F., THEWS, G.**

In: R. F. SCHMIDT, G. THEWS (Hrsg.): Physiologie des Menschen.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. 2000: 448-560.

**SCHMUZIGER, M., ESCHENBRUCH, E., TOLLENAERE, P.**

Herzchirurgie.

In: H. ROSKAMM, H. REINDELL (Hrsg.): Herzkrankheiten.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hongkong, London, Mailand, Paris, Santa Clara, Singapur, Tokio. 1996: 1438-52.

**SCHOTT, R. J., MORROW, L. A.**

Growth factors and angiogenesis.

Cardiovasc Res. 1993; 27: 1155-61.

**SELLKE, F. W., RUEL, M.**

Vascular growth factors and angiogenesis in cardiac surgery.

Ann Thorac Surg. 2003; 75: S685-90.

**SIESWERDA, G. T., YANG, L., BOO, M. B., KAMP, O.**

Real-time perfusion imaging: a new echocardiographic technique for simultaneous evaluation of myocardial perfusion and contraction.

Echocardiography. 2003; 20: 545-55.

**SILBERNAGEL, S., LANG, F.**

Taschenatlas der Pathophysiologie.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. 1998: 218.

**SILVA, M., GRILLOT, D., BENITO, A., RICHARD, C., NUNEZ, G., FERNANDEZ-LUNA, J. L.**

Erythropoietin can promote erythroid progenitor survival by repressing apoptosis through Bcl-XL and Bcl-2.

Blood. 1996; 88: 1576-82.

**SIREN, A. L., KNERLICH, F., POSER, W., GLEITER, C. H., BRUCK, W., EHRENREICH, H.**

Erythropoietin and erythropoietin receptor in human ischemic/hypoxic brain.

Acta Neuropathol. 2001; 101: 271-6.

**SKOLD, B. H., GETTY, R., RAMSEY, F. K.**

Spontaneous atherosclerosis in the arterial system of aging swine.

Am J Vet Res. 1966; 27: 257-73.

**SOBOTTA, J.**

Atlas der Anatomie des Menschen.

Hrsg.: R. PABST, R. PUTZ.

Urban & Fischer Verlag, München, Jena. 2000: 76-91.

**SQUADRITO, F., ALTAVILLA, D., SQUADRITO, G., CAMPO, G. M., ARLOTTA, M., QUARTARONE, C., SAITTA, A., CAPUTI, A. P.**

Recombinant human erythropoietin inhibits iNOS activity and reverts vascular dysfunction in splanchnic artery occlusion shock.

Br J Pharmacol. 1999; 127: 482-8.

**STATISTISCHES BUNDESAMT DEUTSCHLAND**

2004

[www.destatis.de](http://www.destatis.de)

**STARY, H.C.**

Composition and classification of human atherosclerotic lesions.

Virchows Archiv A. 1992; 421: 277-90.

**STERIN-BORDA, L., BARCELO, A. C., BOZZINI, C.**

Erythropoietin improves cardiac contractility in post-hypoxic mice.

Br J Haematol. 2003; 121: 180-6.

**STRAUER, B. E., BREHM, M., ZEUS, T., GATTERMANN, N., HERNANDEZ, A., SORG, R. V., KÖGLER, G., WERNET, P.**

Intrakoronare, humane autologe Stammzelltransplantation zur Myokardregeneration nach Herzinfarkt.

Dtsch Med Wschr. 2001; 126: 932-8.

**STRAUER, B. E., KORNOWSKI, R.**

Stem cell therapy in perspective.  
Circulation. 2003; 107: 929-34.

**SYED, I. S., SANBORN, T. A., ROSENGART, T. K.**

Therapeutic angiogenesis: a biologic bypass.  
Cardiology. 2004; 101: 131-43.

**TAVIAN, M., CORTES, F., ROBIN, C., SCHIAVON, V., HALLAIS, M. F.,  
COULOMBEL, L., CHARBORD, P., LABASTIE, M. C., PEAULT, B.**

The hemangioblast, common precursor of endothelial and hematopoietic cells.  
Transfus Clin Biol. 2000; 7: 238-41.

**TRAMONTANO, A. F., MUNIYAPPA, R., BLACK, A. D., BLENDEA, M. C.,  
COHEN, I., DENG, L., SOWERS, J. R., CUTAIA, M. V., EL-SHERIF, N.**

Erythropoietin protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway.  
Biochem Biophys Res Commun. 2003; 112: 990-4.

**UNGER, E. F.**

Experimental evaluation of coronary collateral development.  
Cardiovasc Res. 2001; 49: 497-506.

**VERDOUW, P. D., WOLFFENBUTTEL, B. H. R., VAN DER GIESSEN, W. J.**

Domestic pigs in the study of myocardial ischemia.  
Euro Heart J. 1983; 4: 61-7.

**VÖLLER, H., NIXDORFF, U., FLACHSKAMPF, F. A.**

Myokardialer Vitalitätsnachweis mit der Dobutamin-Echokardiographie: Aktuelle Übersicht.  
Z Kardiol. 2000; 89: 921-31.

**WEAVER, M. E., PANTELY, G. A., BRISTOW, J. D., LADLEY, H. D.**

A quantitative study of the anatomy and distribution of coronary arteries in swine in comparison with other animals and man.  
Cardiovasc Res. 1986; 20: 907-17.

**WHITE, F. C., BLOOR, C. M.**

The pig as a model for myocardial ischemia.  
In: M. E. TUMBLESON: Swine in biomedical research.  
Plenum Press, New York, London. 1986: 481-90.

**WHITE, F. C., CARROLL, S. M., MAGNET, A., BLOOR, C. M.**

Coronary collateral development in swine after coronary artery occlusion.  
Circ Res. 1992; 71: 1490-500.

**WHITE, F. C., ROTH, D. M., BLOOR, C. M.**

The pig as a model for myocardial ischemia and exercise.

Lab Anim Sci. 1986; 36: 351-6.

**WOLF, T., GEPSTEIN, L., DROR, U., HAYAM, G., SHOFTI, R., ZARETZKY, A.,  
URETZKY, G., ORON, U., BEN-HAIM, S. A.**

Detailed endocardial mapping accurately predicts the transmural extent of myocardial infarction.

J Am Coll Cardiol. 2000; 37: 1590-7.

**WORLD HEALTH ORGANIZATION**

The World Health Report 1985

**WORLD HEALTH ORGANIZATION**

The World Health Report 2004

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Anatomie der Koronararterien des Schweines (nach DYCE et al. 1991)	6
Abb. 2:	Verästelung der Koronararterien (FARRER-BROWN 1968a)	7
Abb. 3:	Fließschema zum Versuchsplan	38
Abb. 4:	Ameroid Konstriktor (Aufnahme aus vorliegender Studie)	41
Abb. 5:	Implantierter Ameroid Konstriktor um den Ramus circumflexus (Aufnahme aus vorliegender Studie)	41
Abb. 6:	Arterielle Einführschleuse mit Dilatator in der Schleuse und Führungsdraht (Aufnahme aus vorliegender Studie)	44
Abb. 7:	Schematische Darstellung von Wandbewegungsstörungen (nach HERMAN et al. 1967)	46
Abb. 8:	Komponenten des NOGA-Systems*	47
Abb. 9:	Spitzenbereich des Mappingkatheters (nach GEPSTEIN et al. 1997a)	48
Abb. 10:	Reference Patch*	48
Abb. 11:	Elektromagnetische Felder des Location Pad*	49
Abb. 12:	Lokalisation des Katheters*	50
Abb. 13:	Stabilitätskriterien Lokalisation, Zykluslänge und lokale Aktivierungszeit, Ausschnitt des Monitorbildes*	51
Abb. 14:	Stabilitätskriterium Schleifenstabilität*	52
Abb. 15:	Stabilitätskriterium EKG-Übereinstimmung, Ausschnitt des Monitorbildes*	52
Abb. 16:	Linear Lical Shortening*	55
Abb. 17:	Schematische dreidimensionale Darstellung des 9-Segment- Modells des linken Ventrikels	58
Abb. 18:	Bull's Eye View Map (Beispiel aus vorliegender Studie)	58
Abb. 19:	Die Unterteilung des linken Ventrikels am dreidimensionalen NOGA-Map (anhand eines Beispiels aus vorliegender Studie)	59
Abb. 20:	Injektionskatheter mit aufgeschraubter Luer-Spritze*	60
Abb. 21:	Spitze des Injektionskatheters mit ausgefahrener Nadel*	60
Abb. 22:	Explantierte Konstriktoren (Aufnahme aus der vorliegenden Studie)	61

Abb. 23:	Intramyokardiale Injektion von grüner Tusche (Pfeile) (Aufnahme aus vorliegender Studie)	62
Abb. 24:	Koronarangiographie der rechten Koronararterie, RAO 30°-Projektion	66
Abb. 25:	Koronarangiographie der linken Koronararterie, LAO 30°-Projektion	67
Abb. 26:	Momentaufnahme einer Lävotrikulographie, AP-Projektion	70
Abb. 27:	Unipolar Voltage-Werte der "area of interest" von Phase 2 und Phase 3	72
Abb. 28:	Linear Local Shortening-Werte der "area of interest" von Phase 2 und Phase 3	74
Abb. 29:	Ejektionsfraktionen der Epo- und Placebo-Gruppe von Phase 2 und Phase 3	76
Abb. 30:	Unipolar Voltage Map, LAO-Ansicht. Schwein 111 (Epo), Phase 2	79
Abb. 31:	Unipolar Voltage Map, LAO-Ansicht. Schwein 111 (Epo), Phase 3	79
Abb. 32:	Linear Local Shortening Map, LAO-Ansicht. Schwein 111 (Epo), Phase 2	80
Abb. 33:	Linear Local Shortening Map, LAO-Ansicht. Schwein 111 (Epo), Phase 3	80
Abb. 34:	Hochgradige Fibrosierung (F), interstitielles Ödem (Ö), gelegentliche Vakutfett-Einlagerungen (VF) und entzündliche Infiltrate (I)	84
Abb. 35:	Hochgradige Fibrosierungen (F) und mittelgradige interstitielle Ödeme (Ö)	84
Abb. 36:	Hochgradige Fibrosierungen (F) und interstitielle Ödeme (Ö) sowie mittelgradige Hämorrhagien (H) neben einem Bereich mit grüner Tusche-Injektion (T)	85
Abb. 37:	Hochgradige Fibrosierungen (F) und interstitielle Ödeme (Ö) sowie mittelgradige Hämorrhagien (H)	85
Abb. 38:	Geringgradige Fibrosierungen (F)	86
Abb. 39:	Geringgradige Fibrosierungen (F)	86
Abb. 40:	Mittelgradige Hämorrhagien (H) und hochgradige Rundzellinfiltrationen (R)	87
Abb. 41:	Mittelgradige Hämorrhagien (H) und hochgradige Rundzellinfiltrationen (R)	87

Abb. 42:	Geringgradige Rundzellinfiltrate (R) und ödematöse Auflockerung des Gewebes (Ö)	88
Abb. 43:	Hochgradige Rundzellinfiltrate (R)	88
Abb. 44:	Hochgradige vakuolige Degenerationen (V) und mittelgradige Nekrosen (N)	89
Abb. 45:	Hochgradige vakuolige Degenerationen (V) und Mittelgradige Nekrosen (N)	89
Abb. 46:	Hochgradige vakuolige Degenerationen (V), interstitielle Ödeme (Ö) und mittelgradige Nekrosen (N)	90
Abb. 47:	Hochgradige vakuolige Degenerationen (V) und Mittelgradige Nekrosen (N)	90
Abb. 48:	Mittelgradige Nekrosen (N) und hochgradige vakuolige Degenerationen (V) des Myokards	91
Abb. 49:	Mittelgradige Nekrosen (N) und hochgradige vakuolige Degenerationen (V) des Myokards	91

\* NOGA-Trainingsmaterial, mit freundlicher Genehmigung der Fa. Cordis

## 9 Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Koronarangiographie-Daten, Phase 2	68
Tab. 2:	Koronarangiographie-Daten, Phase 3	69
Tab. 3:	Werte des Unipolar Voltage (mV)	73
Tab. 4:	Werte des Linear Local Shortening (%)	75
Tab. 5:	Ejektionsfraktionen	77
Tab. 6:	Größenänderungen des ischämischen Gebiets	78
Tab. 7:	Ergebnisse der histologischen Untersuchungen (Fibrosen, Rundzellinfiltrate)	82
Tab. 8:	Weitere histopathologische Veränderungen des Myokards	83

## 10 Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria/Arterie
Abb.	Abbildung
AP	anterior posterior
AV-Knoten	Atrioventrikularknoten
bFGF	basic fibroblast growth factor
bzw.	beziehungsweise
CK-MB	Creatinin-Kinase Muscle-Brain
cm	Zentimeter
DNS	Desoxyribonucleinsäuren
DVD	Digital Video Disk
EKG	Elektrokardiogramm
EMM	Elektromechanisches Mapping
Epo	Erythropoietin
Fa.	Firma
FDG	Flourdeoxyglukose
HDL	high density lipoproteins
HMG-CoA	Humanes Hydroxymethylglutaryl-Coenzym A
IE	Internationale Einheiten
i.m.	intramuskulös
Inc.	Incorporated (deutsch: eingetragene Gesellschaft)
ISDN	Isosorbindinitrat
i.v.	intravenös
kDa	kiloDalton
KGW	Körpergewicht
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAD	left anterior descending artery
LAO	left anterior oblique
LCX	left circumflex (coronary artery)
LD <sub>50</sub>	Letale Dosis; diejenige Dosis, welche für 50% der Tiere eines Kollektivs letal ist
LDL	low density lipoproteins
LLS	Linear Local Shortening
Ltd.	Limited (deutsch: GmbH)
LV	linker Ventrikel
mg	Milligramm
MIBI	Methoxy-Isobutyl-Isonitrit
min	Minute
µm	Mikrometer
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
MRT	Magnetresonanztomographie
NO	Stickoxid
NOGA	hebräisch: Planet Mars
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
OP	Operation oder Operationssaal
PET	Positronenemissionstomographie

## Abkürzungsverzeichnis

---

PTCA	perkutane transluminale koronare Angioplastie
RAO	right anterior oblique
RCA	right coronary artery
RDP	Ramus descendes posterior
rhuEpo	rekombinantes humanes Erythropoietin
RIVA	Ramus interventricularis anterior
S.	Seite
s. c.	subcutan
SD	Standardabweichung
SPECT	Single Photon Emissionscomputertomographie
Tab.	Tabelle
Tc	Technetium
Tl	Thallium
TMLR	transmyokardiale Laserrevaskularisation
TUNEL	Terminal-Deoxynucleotidyl-Transferase-medicated-deoxy-Uridintri- phosphat -nick-end-labelling
UV	Unipolar Voltage
V.	Vena/Vene
Vol%	Volumenprozent
WHO	World Health Organization
ZNS	Zentrales Nervensystem

## 11 Danksagung

**Herrn Prof. Dr. med. vet. habil. W. Schmahl** danke ich für die Übernahme der Disserationsarbeit an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Bei **Herrn Prof. Dr. med. K.-H. Kuck**, Direktor der kardiologischen Abteilung des Allgemeinen Krankenhauses St. Georg in Hamburg, bedanke ich mich für die Überlassung des Themas und dafür, dass ich die histologische Auswertung im Genlabor der kardiologischen Abteilung durchführen durfte.

**Herrn Dr. S. Geidel, Herrn Dr. K. Jaquet, Herrn Dr. K. Krause und Frau Mona Nauertz** aus der kardiologischen Abteilung des Allgemeinen Krankenhauses St. Georg in Hamburg möchte ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Studie danken.

Für die Organisation und Unterstützung der Studie sowie für die Durchsicht des Manuskripts bedanke ich mich ganz herzlich bei **Frau Sandra Baark**.

Mein besonderer Dank gilt **Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt** für die herzliche Betreuung und Unterstützung der Arbeit sowie die Durchsicht des Manuskripts.

**Herrn Dr. med. J. Brenner** danke ich für die Anstellung am European Surgical Institute der Firma Ethicon in Norderstedt.

**Frau Dr. M. L. Schmeller** aus dem Institut für Experimentelle Therapieforschung und Onkologie der Technischen Universität München danke ich für die Ratschläge zur Histologie.

**Frau Sigrid Boczor** vom Allgemeinen Krankenhaus St. Georg in Hamburg danke ich herzlichst für die Prüfung der statistischen Belange.

**Herrn PD Dr. med. H.-P. Stoll** von der Firma Cordis in Belgien danke ich für die finanzielle Unterstützung der Studie.

**Andreas Koch**, Mitarbeiter des European Surgical Institute, danke ich für die Lösung der technischen Fragen bei der Versuchsdurchführung, seine Hilfsbereitschaft und humorvolle Art in allen Situationen.

**Allen Mitarbeitern des OP-Teams** des European Surgical Institute danke ich für die tatkräftige Unterstützung und freundliche Zusammenarbeit.

Zuletzt möchte ich mich von ganzem Herzen bei **meiner Familie** für die liebevolle und geduldige Unterstützung während des Studiums und der Dissertation bedanken. Ohne Euch hätte ich den Wunsch, Tierärztin zu werden, nur träumen können.

