

Aus der Abteilung für Herzchirurgie
Krankenhaus München-Bogenhausen
Chefarzt Prof. Dr. med. B. M. Kemkes

**Histomorphologische und immunhistochemische Untersuchungen
zur Atheroskleroseresistenz der Arteria mammaria interna bei
einem unselektionierten Patientenkollektiv**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Verena Vogel
aus Kempten

2006

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. B. Reichart
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. B. Steckmeier
Mitbetreuung durch die promovierten Mitarbeiter:	Prof. Dr. med. B.M. Kemkes Dr. med. Brigitte Gansera
Dekan:	Prof. Dr. med. D. Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung:	16.11.2006

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG	6
1.1 Die myokardiale Atherosklerose	6
1.2 Geschichte der Koronarchirurgie	7
1.3 Geschichtliches aus der konventionellen Histologie und der Immunhistochemie	9
1.4 Histologische Merkmale der Arteria mammaria interna	10
1.5 Verwendung von speziellen Markern im Rahmen der Immunhistochemie	11
2 FRAGESTELLUNG / ZIEL DER UNTERSUCHUNG	13
3 METHODIK	15
3.1 Patientengut	15
3.2 Einteilung der Patienten in Gruppen	18
3.3 Bestrahlte Patienten	18
3.4 Chirurgisches Vorgehen	18
3.5 Durchführung der konventionellen Histologie und der Immunhistochemie	20
3.5.1 Konventionelle Histologie	20
3.5.2 Immunhistochemie	21
3.5.2.1 Antikörper und Reagenzien	21
3.5.2.2 Gewebepreparation	24
3.5.2.3 Zweikörper-Detektionssysteme	25
3.5.2.3.1 ABC-Methode	26
3.5.2.3.2 APAAP-Methode	27

4 ERGEBNISSE	28
4.1 Konventionelle Histologie	28
4.1.1. Grad der Intimafibrose in Abhängigkeit vom Alter des Patientenkollektives	28
4.1.2. Grad der Intimafibrose in Abhängigkeit vom Risikoprofil des Patientenkollektives	29
4.2 Immunhistochemie	34
5 DISKUSSION	82
6 ZUSAMMENFASSUNG	87
7 LITERATURVERZEICHNIS	89
8 DANKSAGUNG	95
9 LEBENSLAUF	96

1 EINLEITUNG

1.1 Die myokardiale Atherosklerose

In der westlichen Zivilisation gilt die Atherosklerose als häufigster Grund für Behinderung oder Tod. Charakteristischerweise werden dabei typische Läsionen im Bereich der Gefäßintima (Sklerose) sowie eine Akkumulation von Fetten (Atherome) gefunden, was zu einer Lumeneinengung der Gefäßwand mit Plaquebildung führen kann. Die Atherosklerose mit signifikanter Einengung der Koronararterien führt in der Regel, durch Sauerstoffunterversorgung des Herzmuskels, klinisch zur Angina Pectoris oder bei Verschluss oder Thrombus des Gefäßes zum Myokardinfarkt. Die Atherosklerose von hirnversorgenden Gefäßen kann zur transienten ischämischen Attacke und zum Apoplex führen, während es in den peripheren Gefäßen zur Claudicatio intermittens und zur Gangrän kommen kann. Multiple generalisierte und systemische Risikofaktoren führen zur Entstehung der Krankheit, der Gefäßbefall zeigt jedoch typische Lokalisationen im arteriellen Gefäßbett. Die Atherosklerose tendiert zu einem fokalen Befall, in prädisponierten Regionen. Im Koronarsystem stellt z.B. der proximale linke Ramus interventricularis anterior eine typische Prädilektionsstelle für Atherosklerose dar, während andere Arterien, z.B. die Arteria mammaria, nur äußerst selten von Atherosklerose betroffen sind, obwohl sie in enger Nachbarschaft verlaufen und sogar strukturell miteinander verwandt sein können. Solche atherosklerotischen Läsionen entstehen gehäuft an arteriellen Bifurkationen. An diesen Stellen kommt es zu Wirbelbildungen im Blutfluss. Es wird angenommen, dass lokale dynamische Flussfaktoren zu dieser fokalen Verteilung der Erkrankung beitragen.

Als Risikofaktoren für die Entstehung und Progression der Atherosklerose mit gesicherten Hinweisen für Kausalität werden Hyperlipidämie sowie ein niedriger HDL- und hoher Lipoprotein(a)-Level, Hypertonie, männliches Geschlecht, Diabetes mellitus, positive Familienanamnese, Nikotinabusus, Postmenopause, Hyperfibrinogenämie und Hyperhomocysteinämie in der Literatur genannt. Kontrovers diskutiert werden Adipositas sowie der Polymorphismus des Angiotensin Converting Enzyme (ACE).

Die Therapie der myokardialen Atherosklerose bzw. der koronaren Herzkrankheit basiert im wesentlichen auf drei etablierten Verfahren: der konservativ-medikamentösen Behandlung, kathetergestützten Techniken (PTCA oder Stentimplantation) und herzchirurgischen Maßnahmen (aorto-koronare Bypassoperationen). Das optimale Therapieverfahren ist abhängig von der Stenose Lokalisation, dem Ausmaß des Gefäßbefalles sowie von interindividuellen Faktoren wie Alter des Patienten, Komorbidität und Operabilität [4].

1.2 Geschichte der Koronarchirurgie

Der myokardialen Atherosklerose liegt ein einheitlicher pathophysiologischer Mechanismus zu Grunde. Die durch Plaques stenosierte Koronarien können dem Myokard nicht ausreichend Sauerstoff und Nährstoffe zuführen, so dass es zunächst nur unter Belastung, später aber auch in Ruhe zu einer Unterversorgung des Herzmuskels kommt. Bei Fortschreiten der koronaren Herzerkrankung kann es zum Gefäßverschluss durch Thrombus oder Thrombembolus und zum Herzinfarkt sowie zur Nekrose des Herzmuskels kommen. Die Frequenz der koronaren Bypassoperationen liegt in der Bundesrepublik bei circa 55 000/anno und stellt den

größten Anteil aller herzchirurgischen Eingriffe dar (63%) (Bundesqualitätssicherung 2002). Ausgezeichnete Früh- und Spätergebnisse nach aorto-koronaren Bypassoperationen in den letzten zehn Jahren sowie eine perioperative Letalität (30 Tage) von nur ca. zwei Prozent bei unter 70-jährigen Patienten (eigenes Patientengut) sind zu verzeichnen. Therapiekonzepte, die die Verbesserung der myokardialen Sauerstoffversorgung zum Ziel haben, sind seit vielen Jahrzehnten Gegenstand intensiver klinischer und experimenteller Forschungsreihen.

1951 wurde erstmals durch Vineberg die Arteria mammaria interna direkt in das erkrankte Myokard anastomosiert, eine Methode, die sich nicht durchsetzen konnte. 1957 wurde die koronare Endarteriektomie durch Longmire beschrieben. 1961 wurde eine Gefäßstenose mit einer patienteneigenen Vene zu beheben versucht (Senning 1961). Favaloro begründete 1967 die heute etablierte koronare Bypasschirurgie, als erste direkte operative Myokardrevaskularisierung, die bis heute weitere Entwicklungen zu verzeichnen hat (operative Techniken mit Verzicht auf die extrakorporale Zirkulation, Etablierung weniger invasiver Operationsmethoden - so genannte minimal-invasive Technik, - Verwendung von Xenotransplantaten (bald wieder verlassen) und die zunehmende Verwendung körpereigener Arterien, wie der Arteria mammaria interna, Arteria gastroepiploica, Arteria epigastrica inferior oder Arteria radialis anstelle von Vena-saphena-magna-Transplantaten) [4].

Die routinemäßige Verwendung der Arteria mammaria interna als Standardtransplantat der ersten Wahl führte zu verlängerten Überlebensraten im Vergleich zu Patienten, die allein mit Vena-saphena-magna-Transplantaten versorgt wurden. Langzeituntersuchungen ergaben, dass bei Venentransplantaten mit einer Verschlussrate von 60-70 % innerhalb von 10 Jahren zu rechnen ist [8] [13] [22]. Als

Grund für die ausgezeichneten Früh- und Spätergebnisse wird vor allem neben einer operativ-technisch einfachen Durchführung der Präparation der Arteria mammaria interna die klinisch beobachtete geringere Anfälligkeit der Arteria mammaria interna gegenüber Atherosklerose im Vergleich zu anderen arteriellen Transplantaten (z.B. Arteria radialis; Arteria gastro-epiploica) angenommen [1] [6] [17] [20] [27] [3] [2]. Dies wird zum einen dem Elastin zugeschrieben, der Grundkomponente der elastischen Media. Elastin ist ein sehr bradytrophes Gewebe mit einem niedrigen metabolischen Umsatz und dadurch reduziertem Bedarf an Sauerstoff. Zum anderen wird angenommen, dass die erhaltene Lymphdrainage des Gefäßes und die vollständige Ernährung der Arterie über das Lumen sowie die besseren vasoaktiven Eigenschaften durch vermehrte Prostazyklinproduktion zu einer vermehrten Atheroskleroseresistenz beitragen [14].

1.3 Geschichtliches aus der konventionellen Histologie und der Immunhistochemie

Das Fachgebiet der Histologie gehört zu den wissenschaftlichen Grundlagen der Medizin, und beschäftigt sich mit der Lehre von den Geweben. Für die ärztliche Praxis hat es größte Bedeutung, ist doch die Diagnose vieler Erkrankungen nur durch histologische Untersuchung von Gewebeproben möglich. Die moderne Gewebelehre nahm ihren Anfang 1801 mit dem Franzosen Bichat, der als erster die Bedeutung der Gewebe für Bau und Funktion der Organe fand.

1838 folgte, als eine der bedeutendsten Entdeckungen des 19. Jahrhunderts, die Entdeckung der Zelle als Baueinheit aller Lebewesen durch Schleiden und Schwann. Mit Albert von Koelliker, dem Begründer der Zellularphysiologie, erkannte man, dass

Zellen sich selbst erhaltende Funktionseinheiten sind. Rudolf Virchow erweiterte diese Kenntnis mit seinen Erfahrungen, dass Krankheiten auf Störungen im Zellgeschehen zurückgehen (Zellulärpathologie).

Durch den Einsatz von Gewebekulturen und durch die Entwicklung von indirekten Methoden zur Gewebsuntersuchung, z.B. der Polarisationsmikroskopie, zeigte sich, dass mikroskopisch erkennbare Strukturen einem dauernden Umbau unterworfen sind. Das Konzept von der dynamischen Bauweise der lebendigen Materie wurde entwickelt. Dieses Konzept gründet sich auf die Vorstellung, dass sich alle Teile der Zellen und Gewebe nie in einem stationären, sondern immer in einem äußerst dynamischen, einem dauernden Wechsel unterworfenen, äußerst labilen Zustand befinden. Zum einen erfordert die Aufrechterhaltung dauernde Energiezufuhr, zum anderen bleiben auch größere Einheiten erhalten, obgleich ihre Bausteine ständig ausgetauscht werden (z.B. Membranen).

1.4 Histologische Merkmale der Arteria mammaria interna

Die geringe Tendenz zur Atherosklerose der Arteria mammaria interna (IMA) wird auf ihre histopathologische Struktur, die wesentlich einer Arterie vom elastischen Typ entspricht, zurückgeführt. Die Arteria mammaria interna repräsentiert im wesentlichen die einzige Arterie vom elastischen Typ beim Menschen. Arterien vom muskulären Typ hingegen wie z.B. Arteria radialis oder gastroepiploica, weisen eine deutlich ausgeprägtere Neigung zur Atherosklerose auf. Bereits wenige elastische Lamellen in der Gefäßmedia sollen vor dem Auftreten von Kontinuitätsunterbrechungen in der Lamina elastica interna und somit vor Intimafibrose schützen. Durch Diskontinuitäten der Lamina elastica interna können

glatte Muskelzellen der Media in die Intima des Gefäßes vordringen und dort bestimmte Mediatoren freisetzen, von denen angenommen wird, dass sie zur Entstehung von atherosklerotischen Läsionen beitragen. [14]

Eine weitere Rolle spielt wahrscheinlich das bradytrophe Gewebe der elastischen Media, dessen geringer metabolischer Stoffwechsel einen niedrigen Sauerstoffbedarf zur Folge hat [23]. Bis heute ist die Inzidenz der Atherosklerose in arteriellen Transplantaten nicht definitiv geklärt. Bisher zeigten einige Studien, dass das Auftreten von Atherosklerose in der Arteria mammaria interna als äußerst gering zu betrachten ist [25]. Große klinische Studien unterstützen diese Annahme bei Patienten mit einem Arteria-mammaria-interna-Conduit und insbesondere bei Patienten mit bilateralen Arteria-mammaria-interna-Transplantaten [21].

1.5 Verwendung von speziellen Markern im Rahmen der Immunhistochemie

Immunhistochemische Färbemethoden spielen heute in der biologisch-medizinischen Forschung und in der morphologischen (histopathologischen, zytopathologischen) Diagnostik eine wesentliche Rolle. Die Immunhistochemie begann 1941 mit der Verwendung fluoreszenzgekoppelter Antikörper (Coons) und wurde seither in Sensitivität und Spezifität immer weiter verbessert.

Die Reaktionsmuster eines Antikörpers ergeben sich aus der Lokalisation eines Antigens. Es werden drei Reaktionsmuster, das zytoplasmatische, das nukleäre und das membranständige Muster unterschieden.

Als spezifische immunhistochemische Marker für Atherosklerose gelten: CD34 als zellulärer Marker von Perizyten von Blutgefäßen, CD68 als zellulärer Marker von Makrophagen und Histiozyten, Tenascin und Kollagen III und IV als Marker von extrazellulären Matrixproteinen. CD34, CD68 und Kollagen IV markieren spezifisch Zellen bzw. deren Basalmembran, Tenascin und Kollagen III hingegen Umbauvorgänge und Strukturänderungen der extrazellulären Matrix und können somit als Atherosklerosemarker arterieller Gefäße verwendet werden.

2 FRAGESTELLUNG / ZIEL DER UNTERSUCHUNG

Die Ursache für die vergleichsweise deutlich besseren Langzeitergebnisse bei arterieller Revaskularisation der Koronararterien mittels der Arteria mammaria interna (IMA) liegt vor allem in der histologisch nachgewiesenen großen Anzahl an elastischen Elementen im Zellstroma sowie dem Fehlen von glatter Muskulatur im Vergleich zu anderen arteriellen Transplantaten (Arteria radialis, Arteria gastroepiploica).

Die klinisch objektiv fassbare relative Resistenz der Arteria mammaria interna gegen Atherosklerose konnte bisher nur in wenigen konventionellen histologischen Untersuchungsreihen nachgewiesen werden. Nur sehr wenige Veröffentlichungen, mit ausgesprochen niedrigen Patientenzahlen, befassen sich mit immunhistochemischen Fragestellungen zu diesem Thema.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war, bei einer großen Patientenzahl unterschiedlicher Altersgruppen und Komorbidität, zum einen in konventionell-histologischen Untersuchungen, mittels HE-Färbung sowie Elastica-van-Gieson-Färbung (Darstellung von Kollagenfasern), zum anderen mit den erwähnten immunhistochemischen Methoden diese klinisch nachweisbare relative Resistenz gegenüber Atherosklerose der Arteria mammaria interna zu evaluieren.

Ein zusätzlicher Gesichtspunkt der Studie liegt in der Differenzierung der immunhistochemischen Ergebnisse analog zum unterschiedlichen kardiovaskulären Risikoprofil der Patienten. Als Schwerpunkt sollten bei einer großen Anzahl an Patienten mit Diabetes mellitus, generalisierter Atherosklerose (peripherer AVK,

Stenose der Arteria carotis), Fettstoffwechselstörung und Hypertonus, die histologischen Ergebnisse hinsichtlich dieser kardiovaskulären Risikofaktoren differenziert werden. Zusätzlich wurde eine spezielle Patientengruppe mit Zustand nach Thoraxbestrahlung wegen Mammakarzinom oder Lymphom in die Untersuchungsreihe eingeschlossen. Fragestellung bei dieser speziellen Patientengruppe war, ob die vorangegangene Radiatio einen histologisch nachweisbaren Strahlenschaden an der Arteria mammaria interna verursacht, der ihre Verwendung in der koronaren Bypasschirurgie einschränken könnte.

3 METHODIK

3.1 Patientengut

In die Untersuchungsreihe eingeschlossen wurden 203 Patienten, die sich von 1999 bis einschließlich 2003 im Krankenhaus Bogenhausen einer Routinebypassoperation unterzogen.

Ein distales Endstück der Arteria mammaria, welches normalerweise verworfen wird, wurde dabei entnommen und zur histologischen sowie immunhistochemischen Untersuchung eingesandt. In der Regel wurde dabei sowohl die rechte als auch die linke Arteria mammaria untersucht.

Von den 203 Patienten waren 59 Patienten weiblich, 144 Patienten waren männlich. Das mittlere Alter aller Patienten betrug 66,7 Jahre, mit einer Standardabweichung von $\pm 9,03$ Jahren. Das mittlere Alter der weiblichen Patienten betrug 70,3 Jahre, mit einer Standardabweichung von $\pm 9,01$ Jahren. Das mittlere Alter der männlichen Patienten betrug 65,3 Jahre, mit einer Standardabweichung von $\pm 8,62$ Jahren. Es handelte sich durchgehend um Patienten eines nicht selektionierten Routinekollektives. Das Patientenkollektiv wurde einer Risikofaktorenanalyse unterzogen und in Gruppen getrennt ausgewertet. Als Risikofaktoren wurden Hypertonus, Hyperlipidämie, medikamentös behandelter Diabetes mellitus, insulinpflichtiger Diabetes mellitus, generalisierte arterielle Verschlusskrankheit sowie Radiatio in Folge von Mammakarzinom oder Morbus Hodgkin/Non-Hodgkin-Lymphom unterschieden. Des weiteren wurden die Patienten in definierten

Altersgruppen getrennt ausgewertet, (Patienten \leq 55 Jahre, Patienten von 56-75 Jahren und Patienten \geq 76 Jahre).

Zunächst wurde zur Differenzierung der verschiedenen Risikofaktoren eine konventionell-histologische Untersuchung der distalen Endstücke der Arteria mammaria interna mittels HE-Färbung (Darstellung von Zelle und Zellstroma) sowie Elastica-van-Gieson-Färbung (Darstellung von Kollagenfasern) zur Detektion von Intimahyperplasie/-fibrose bei allen 203 Patienten durchgeführt. In einer zweiten Untersuchungsreihe wurde zur weiteren Differenzierung bzw. Evaluierung oben genannter Risikofaktoren eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente bei zwölf Patienten mit oral therapiertem Diabetes mellitus, elf Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus, zwölf Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit sowie sechzehn Patienten nach Radiatio durchgeführt. Verwendet wurden dabei die später im Detail beschriebenen Marker CD34 (Marker von Perizyten und glatter Muskulatur), CD68 (Marker von Makrophagen und Histiozyten), Tenascin (Marker von Umbauvorgängen), Kollagen III (Marker von Umbauvorgängen) und Kollagen IV (Marker von Basalmembranen von Endothelien und glatter Muskulatur). Die Diagramme 1 und 2 zeigen demographische Faktoren und das Risikoprofil des Gesamtkollektives.

Diagramm 1

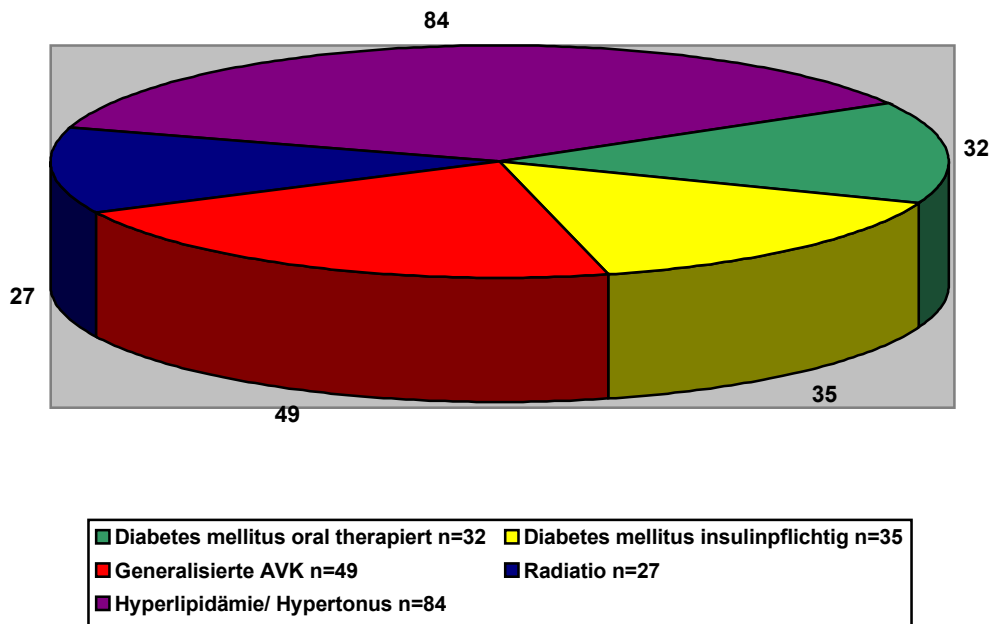
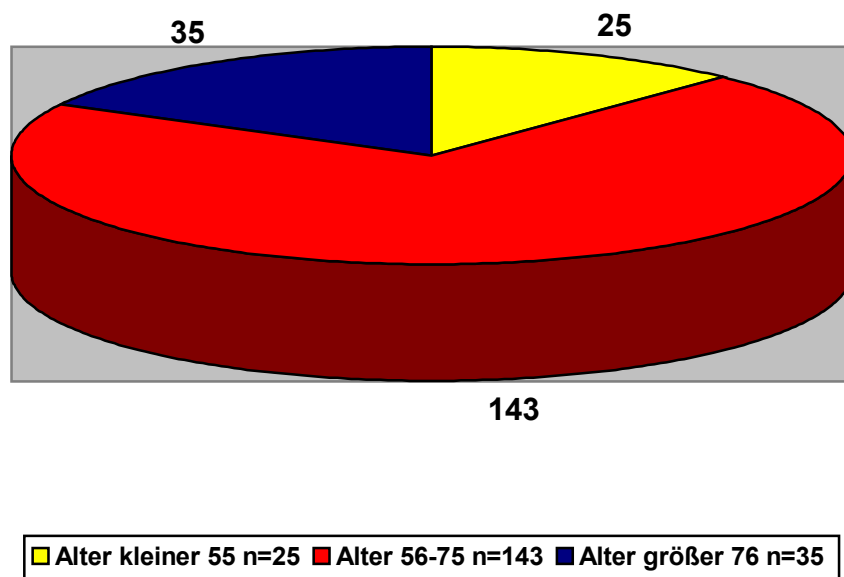


Diagramm 2 zeigt die Altersverteilung aller 203 Patienten.

Diagramm 2



3.2 Einteilung der Patienten in Gruppen

Das Gesamtkollektiv von 203 Patienten wurde einer Risikofaktorenanalyse unterzogen und in Gruppen getrennt ausgewertet. Als Risikofaktoren wurden Hypertonus/Hyperlipidämie (84 Patienten), oral behandelter Diabetes mellitus (32 Patienten), insulinpflichtiger Diabetes mellitus (35 Patienten), generalisierte arterielle Verschlusskrankheit (49 Patienten), sowie Radiatio in Folge von Mammakarzinom oder Morbus Hodgkin/Non-Hodgkin-Lymphom (27 Patienten) unterschieden. Da einige Patienten ein Risikoprofil von mehr als einer Grunderkrankung aufwiesen, belief sich das Risikoprofil des Gesamtkollektives auf 227 Grunderkrankungen. Des weiteren wurden die Patienten in definierten Altersgruppen getrennt ausgewertet. (Patienten \leq 55 Jahre, Patienten von 56-75 Jahre und Patienten \geq 76 Jahre).

3.3 Bestrahlte Patienten

Ein besonderes Kollektiv stellten Patienten nach präoperativer Thoraxbestrahlung dar. Insgesamt wurden 32 distale Arteria-mammaria-interna-Segmente von Patienten mit Radiatio des Thorax wegen Mammakarzinom, Morbus Hodgkin oder Non-Hodgkin-Lymphomen untersucht. Die Ergebnisse wurden hinsichtlich etwaiger strahleninduzierter Schäden dem übrigen Patientenkollektiv gegenübergestellt.

3.4 Chirurgisches Vorgehen

Die Untersuchungsreihe wurde durchgehend bei Patienten eines nicht selektionierten Routinekollektives mit koronarer Bypassoperation, die von 1999 bis einschließlich 2003 im Krankenhaus Bogenhausen operiert wurden, durchgeführt. Die Operation

aller Patienten erfolgte in konventioneller Technik. Als Zugang zum Herzen wurde eine mediale Sternotomie gewählt. Alle Patienten wurden in Intubationsnarkose und unter Anwendung der Herz-Lungen-Maschine operiert.

Die Arteria mammaria interna (IMA) wurde einseitig oder beidseitig von ihrem Ursprung aus der Arteria subclavia bis zur Bifurkation in Arteria epigastrica superior und Arteria musculophrenica dargestellt. Die Mobilisation erfolgte dabei erst kaudal über die Aufzweigung in Höhe des sechsten Interkostalraumes, dann nach kranial bis zur Vena subclavia. Die Arterie wurde mit ihrer zugehörigen Vene in einem Gewebestrang belassen. Auf die Anwendung von Elektrokoagulation in der Umgebung des Gefäßes wurde verzichtet, um die Arterie vor thermischen Schäden zu schützen. Die Seitenäste des Gefäßes wurden mit Hämoclips ligiert. Die Pleura wurde, wenn möglich, geschlossen belassen. Der Gefäßstrang blieb bis zur Anastomosierung in situ.

Ein distales Endstück der Arteria mammaria interna, welches normalerweise verworfen wird, wurde entnommen und zur histologischen sowie immunhistochemischen Untersuchung eingesandt. In der Regel wurden dabei sowohl die rechte als auch die linke Arteria mammaria interna untersucht.

Nach systemischer Heparinisierung erfolgte der Anschluss an die extrakorporale Zirkulation. Der Blutfluss der Arteria mammaria interna wurde mit einem standardisierten Perfusionsdruck von 70 mm Hg geprüft. Die Arterie wurde bei Flussmengen < 50 ml/min mit einer Parsonnetsonde sondiert, um Engstellen im Verlauf des Gefäßes zu erkennen oder eine eventuelle Spastik des Gefäßes zu

lösen. Wenn der Blutfluss dennoch nicht akzeptabel erschien, wurde die Arterie verworfen.

In der Regel wurde die linke Arteria mammaria interna (LIMA) an den Ramus interventricularis anterior der linken Koronararterie angeschlossen, bei der häufigeren Verwendung der rechten und linken Arteria mammaria interna wurde die linke Arteria mammaria interna mit einem Gefäß aus dem Versorgungsgebiet des Ramus circumflexus, die rechte Arteria mammaria interna (RIMA) mit dem Ramus interventricularis anterior anastomosiert. Die übrigen peripheren Anastomosen wurden mit Vena-saphena-magna-Transplantaten oder seltener mit der Arteria radialis angelegt. Um die Position der Arteria mammaria interna zu sichern, wurde das Gefäß mit drei Nähten im perivaskulären Fettgewebe (Pedikelnähte) befestigt. Außerdem wurde die RIMA mit einem PTFE-Sleeve (Fa. Gore, Putzbrunn) umgeben, um sie bei Reoperationen vor Verletzungen zu schützen.

3.5 Durchführung der konventionellen Histologie und Immunhistochemie

3.5.1 Konventionelle Histologie

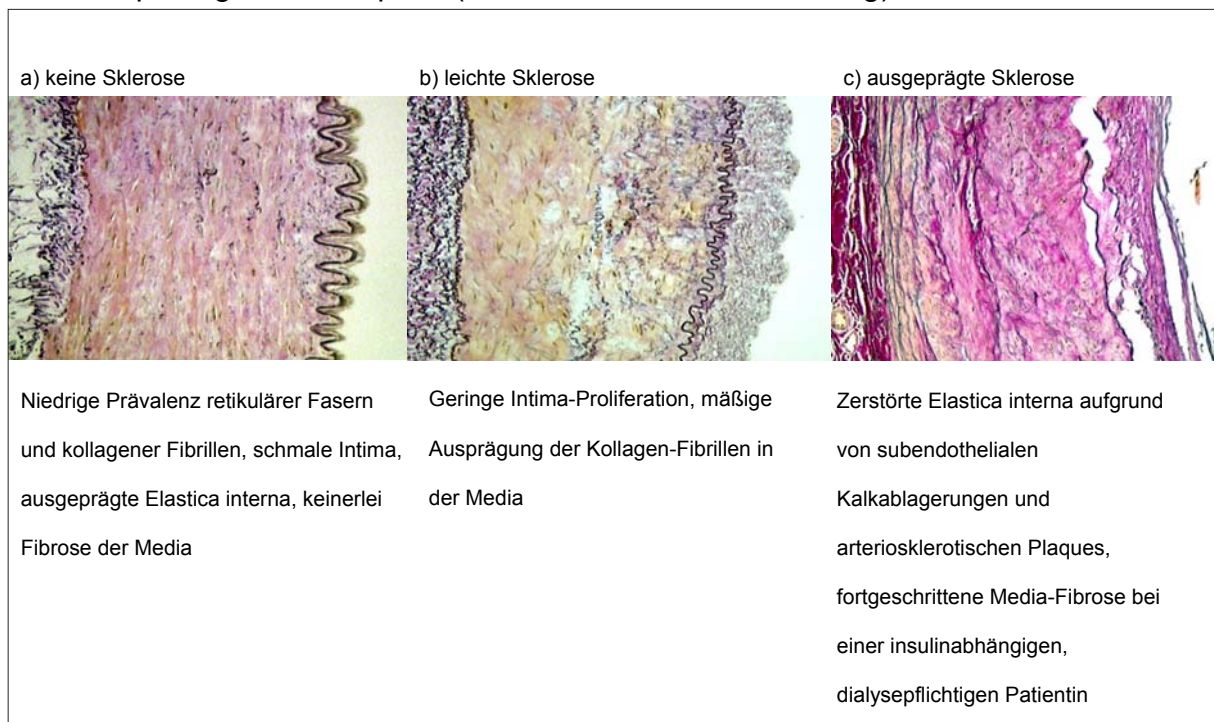
Für die histopathologische Begutachtung der Operationspräparate wurden diese nach in der Pathologie routinemäßig angewandten Standardverfahren in 4% gepuffertem wässrigen Formalin fixiert und anschließend in Paraffin eingebettet. Als Standardfärbung wurde eine HE-Färbung (Hämatoxylin-Eosin) durchgeführt, hierbei werden die Zellkerne mit dem Hämatoxylin blau angefärbt und das umgebende Zytoplasma zeigt eine rötliche Anfärbung. Zusätzlich wurde eine Elastica-van-Gieson-Färbung angefertigt, mit der insbesondere fibrosierende Prozesse (z.B.

Atherosklerose) gut dargestellt werden können, hierbei werden Kollagenfasern rot und Retikulinfasern schwarz angefärbt.

Abb. 1 a-c zeigen Beispiele der Elastica-van-Gieson-Färbung diabetischer Arteriae mammae internae mit verschiedener Ausprägung einer Media-/Intimafibrose.

Abbildung 1

Histomorphologische Beispiele (Elastica-van-Gieson-Färbung)



3.5.2 Immunhistochemie

3.5.2.1 Antikörper und Reagenzien

Für die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Untersuchungen wurden verschiedene kommerziell erhältliche Primärantikörper verwendet. Detaillierte

Angaben, die Poly- bzw. Monoklonalität der Antikörper sowie die Quelle der Antikörper sind in der Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1:

Primär-Antikörper	Klon		Quelle
CD34	QBEND/10	monoklonal	BioGenex, 4600 Norris Canyon Road, San Ramon, CA 94583, USA
CD68	PG-M1	monoklonal	DAKO Cytomation GmbH, 22083 Hamburg, Germany
Tenascin	TN2	monoklonal	DAKO Cytomation GmbH, 22083 Hamburg, Germany
Kollagen III	HWD1.1	monoklonal	BioGenex, 4600 Norris Canyon Road, San Ramon, CA 94583, USA
Kollagen IV	CIV 22	monoklonal	DAKO Cytomation GmbH, 22083 Hamburg, Germany

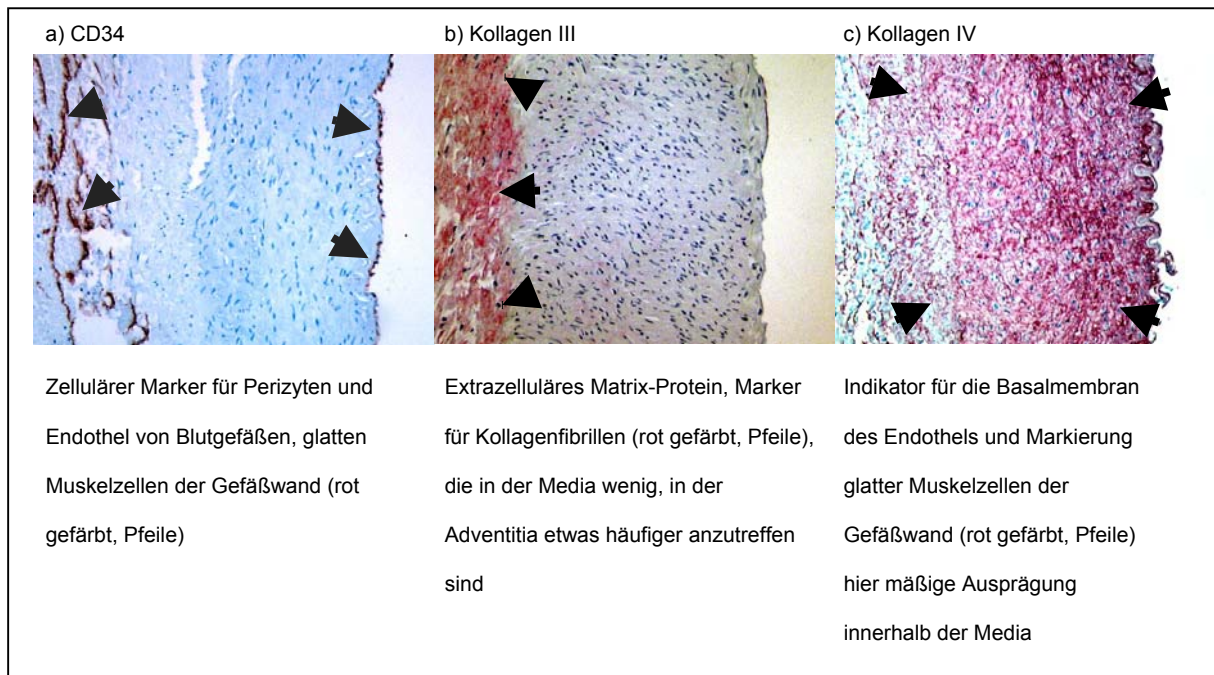
Hierbei kommen als zelluläre Marker der Antikörper CD34 (Markierung von Endothelien, Perizyten sowie glatter Muskulatur von Blutgefäßen) und der Antikörper CD68 (Markierung von Makrophagen und Histiozyten) zum Einsatz.

Zur Markierung von extrazellulären Matrixproteinen wurden die Antikörper Tenascin (wird bei Umbauvorgängen wie z.B. Wundheilung früh gebildet und im weiteren Verlauf wieder abgebaut) sowie Kollagen III (wird bei Umbauvorgängen gebildet und wieder abgebaut, ähnlich wie bei Tenascin, jedoch spätere Bildung und späterer Abbau) und Kollagen IV (markiert Basalmembran von Endothelien und glatte Muskulatur von Blutgefäßen) angewandt.

Abb. 2 a-c zeigt beispielhaft immunhistochemische Färbungen mittels verschiedener Atherosklerosemarker bei diabetischen Arteriae mammae internae.

Abbildung 2

Immunhistochemische Färbungen



Die verwandten Chemikalien für die einzelnen Reaktionsschritte (vergleiche 3.5.2.3.1 ABC-Methode und 3.5.2.3.2 APAAP-Methode) sind im folgenden in der Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2 :

Substanz	Quelle
<i>AEC</i> (Aminoethyl Carbazole)	Zymed Laboratories Inc., 561 Eccles Avenue, South San Francisco, CA 94080, USA
<i>Aquatex</i> (wässriges Eindeckmittel)	Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
<i>Fast Red</i> Substrate Pack (HK182-5K) for manual procedures	BioGenex, 4600 Norris Canyon Road, San Ramon, CA 94583, USA
<i>HISTOSTAIN®-Plus</i> Peroxidase Bulk Kit (Broad Spectrum)	Zymed Laboratories Inc., 561 Eccles Avenue, South San Francisco, CA 94080, USA
<i>PBS-Puffer</i> . 10 Tabletten auf 1 Liter Aqua dest., pH 7,3	Linaris, 97877 Bettingen am Main, Germany
<i>Power Block</i> (Universal Blockierungsreagenz)	BioGenex, 4600 Norris Canyon Road, San Ramon, CA 94583, USA
<i>Super Sensitive Label</i> (alkalische Phosphatase konjugierter Streptavidinkomplex)	BioGenex, 4600 Norris Canyon Road, San Ramon, CA 94583, USA
<i>Super Sensitive Multilink</i> (biotinyliertes Anti-Immunglobulin)	BioGenex, 4600 Norris Canyon Road, San Ramon, CA 94583, USA
<i>Wasserstoffperoxid</i> 30% (stabilisiert) zur Synthese	Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany

3.5.2.2 Gewebevorbehandlung

Von den Paraffinblöcken der Arteria-mammaria-interna-Präparate wurden 4 µm dicke Schnitte angefertigt und auf silanisierte Adhäsionsobjektträger aufgebracht, da es bei immunhistochemischen Reaktionen wegen zahlreicher Inkubationsschritte notwendig ist, dass die Gewebsschnitte sicher am Glas fixiert sind. Die Objektträger mit den Gewebsschnitten wurden über Nacht bei 60°C aufbewahrt.

Die anschließenden Reaktionsschritte erfolgten jeweils bei Raumtemperatur und sind detailliert unter 3.5.2.3.1 ABC-Methode und 3.5.2.3.2 APAAP-Methode beschrieben.

Zur Antigendemaskierung wegen entsprechender Quervernetzung von Proteinen bei Fixierung des Gewebes durch Formalin ist meistens eine Vorbehandlung notwendig. Hierbei wurden bei den verschiedenen Antikörpern unterschiedliche Verfahren (Tabelle 3) angewandt, die sich in der Praxis bewährt haben.

Tabelle 3:

Primär-Antikörper	Vorbehandlung
CD34	keine Vorbehandlung
CD68	10 min in Citratpuffer kochen (pH 6,0), 20 min abkühlen
Tenascin	10 min enzymatischer Andau mit Protease
Kollagen III	10 min enzymatischer Andau mit Pepsin
Kollagen IV	10 min in Citratpuffer kochen (pH 6,0), 20 min abkühlen

3.5.2.3 Zweitantikörper-Detektionssysteme

Zur Darstellung/Visualisierung des ortsspezifisch gebundenen Primärantikörpers sind weitere Antigen-Antikörper-Bindungsreaktionen unter Kopplung mit Farbstoffen notwendig. In der vorliegenden Arbeit wurden hierfür die ABC-Methode (Avidin-Biotin-Complex) sowie die APAAP-Methode (Alkalische Phosphatase-Antialkalische Phosphatase) angewandt. Dabei wurden die hier verwandten Primärantikörper mit den folgenden Zweitantikörper-Detektionssystemen kombiniert (Tabelle 4)

Tabelle 4:

Primär-Antikörper	Zweitantikörper-Detektionssystem
CD34	ABC-Methode
CD68	ABC-Methode
Tenascin	APAAP-Methode
Kollagen III	APAAP-Methode
Kollagen IV	APAAP-Methode

3.5.2.3.1 ABC-Methode

Dieses Verfahren stützt sich auf die starke Affinität von Avidin oder Streptavidin zu Biotin. Der Primärantikörper wird durch einen biotinylierten Sekundärantikörper, der gegen die Tierspezies des Primärantikörpers gerichtet ist, mit dem vorgeformten Avidin-Biotin-Komplex (ABC) (Peroxidase) verbunden. Detektiert wird die Peroxidase mit entsprechenden chromogenen Substanzen [16].

Reaktionsschritte ABC-Methode:

- 1) Entparaffinierung: jeweils kurz waschen
Xylol und absteigende Alkoholreihe (99%→96%→70%)
- 2) Peroxidase-Block: 10 min
Wasserstoffperoxid (30%) verdünnt 1:10 in 70% Ethanol
- 3) 5 min. waschen in *PBS*-Puffer
- 4) Vorbehandlung: siehe Tabelle 3
- 5) Serum-Blockierungslösung: 10 min
(*HISTOSTAIN®-Plus* Peroxidase Bulk Kit)
- 6) Inkubation mit Primärantikörper: 45 min
150 µl (CD34 unverdünnt, CD68 1:50 verdünnt)
- 7) 5 min. waschen in *PBS*-Puffer
- 8) Inkubation mit biotinyliertem Sekundärantikörper: 15 min
(*HISTOSTAIN®-Plus* Peroxidase Bulk Kit)
- 9) 5 min. waschen in *PBS*-Puffer
- 10) Inkubation mit mit Peroxidase konjugiertem ABC-Komplex: 15 min
(*HISTOSTAIN®-Plus* Peroxidase Bulk Kit)
- 11) 5 min. waschen in *PBS*-Puffer
- 12) Anfärbung mit Chromogen: 10 min
AEC-Substrat
- 13) Kurz waschen mit Aqua dest.
- 14) Gegenfärbung mit Hämatoxylin: 30 sec.
- 15) Eindecken mit *Aquatex*

3.5.2.3.2 APAAP-Methode

Bei der APAAP-Methode handelt es sich um eine unmarkierte Antikörpertechnik, wobei ein löslicher, vorgeformter Enzym-Anti-Enzym-Komplex aus dem Antigen alkalische Phosphatase und dem dagegen gerichteten Antikörper verwendet wird. Der Primärantikörper sowie der APAAP-Komplex stammen aus der selben Tierspezies (Maus), so dass der Sekundärantikörper beide miteinander verknüpft. Dies kann nur gewährleistet sein wenn der Sekundärantikörper im Überschuss vorliegt, so dass er mit dem Fab-Arm den Komplex erfassen kann [7].

Reaktionsschritte APAAP-Methode:

- 1) Entparaffinierung: jeweils kurz waschen
Xylol und absteigende Alkoholreihe (99%->96%->70%)
- 2) Aqua dest.
- 3) Vorbehandlung: siehe Tabelle 3
- 4) Blockierungslösung: 10 min
Power Block (Universal Blockierungsreagenz)
- 5) Inkubation mit Primärantikörper: 45 min
150 µl (Tenascin 1:50 verdünnt, Kollagen III unverdünnt, Kollagen IV 1:50 verdünnt)
- 6) 5 min. waschen in *PBS*-Puffer
- 7) Inkubation mit biotinyliertem Anti-Immunglobulin: 15 min
Super Sensitive Multilink
- 8) 5 min. waschen in *PBS*-Puffer
- 9) Inkubation mit mit alkalischer Phosphatase konjugiertem Streptavidinkomplex :
15 min
Super Sensitive Label
- 10) 5 min. waschen in *PBS*-Puffer
- 11) Anfärbung mit Chromogen: 10 min
Fast Red
- 12) Kurz waschen mit Aqua dest.
- 13) Gegenfärbung mit Hämatoxylin: 30 sec.
- 14) Eindecken mit *Aquatex*

4 ERGEBNISSE

4.1 Konventionelle Histologie

4.1.1 Grad der Intimafibrose in Abhängigkeit vom Alter des Patientenkollektives

Die Ergebnisse der konventionell-histologischen Untersuchung hinsichtlich des Ausmaßes eventuell bestehender Atherosklerose der Arteria-mammaria-interna-Segmente wurden nach vier Kategorien ausgewertet, (keine Intimafibrose, geringe Intimafibrose, mäßig bis ausgeprägte Intimafibrose und Atherosklerose/Plaque).

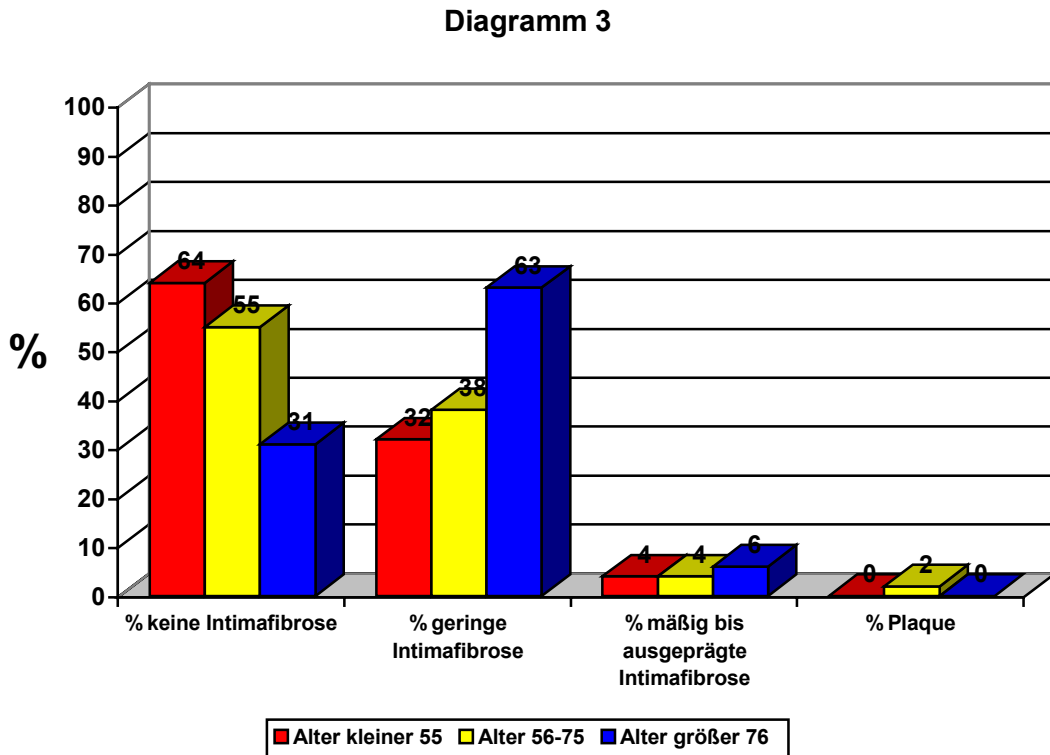
Tabelle 5 und Diagramm 3 zeigen den Grad der Intimafibrose in Abhängigkeit vom Alter der Patienten. Die Patienten wurden hierfür in drei Altersgruppen aufgeteilt (Alter ≤ 55 , Alter 56-75, Alter ≥ 76).

Tabelle 5:

Grad der Intimafibrose in Abhängigkeit vom Alter.

	Keine Intimafibrose	Geringe Intimafibrose	Mäßig bis ausgeprägte Intimafibrose	Stark ausgeprägte Intimafibrose/Plaque
Alter ≤ 55 n = 25	n = 16	n = 8	n = 1	n = 0
Alter 56-75 n = 143	n = 79	n = 55	n = 6	n = 3
Alter ≥ 76 n = 35	n = 11	n = 22	n = 2	n = 0

Ein klares Bild erhält man, wenn man den prozentualen Grad der Intimafibrose für die drei betrachteten Altersgruppen darstellt. (Diagramm 3)



Ein Risikofaktor für das Auftreten von Intimafibrose war erwartungsgemäß das Alter.

4.1.2 Grad der Intimafibrose in Abhängigkeit vom Risikoprofil des Patientenkollektives

Das Patientenkollektiv von 203 Patienten wurde des weiteren hinsichtlich seiner 227 Grunderkrankungen ausgewertet. Die Ergebnisse der konventionell-histologischen Untersuchung der Arteria mammaria interna wurden in Abhängigkeit von Diabetes mellitus, generalisierter arterieller Verschlusskrankheit sowie Radiatio ausgewertet. Den Ergebnissen wurden nicht alle übrigen Patienten als Kontrollkollektiv gegenübergestellt, sondern ein weitgehend gesundes Kontrollkollektiv, von 84

Patienten, die außer Hyperlipidämie und Hypertonus keine weiteren Risikofaktoren aufwiesen.

Tabelle 6 und Diagramm 4 zeigen den Grad der Intimafibrose der 67 untersuchten Patienten mit Diabetes mellitus (D.M.), sowohl oral therapiert als auch insulinpflichtig, sowie des Kontrollkollektives von 84, Patienten die als Risikoprofil nur Hypertonus und Hyperlipidämie aufweisen. Aus Diagramm 4 könnte sogar der Schluss gezogen werden, dass sich Diabetes mellitus günstig auf das Atheroskleroserisiko auswirkt. Die statistische Auswertung mittels Chi-Quadrat-Test ergab allerdings keinen signifikanten Unterschied. ($p > 0,05$)

Tabelle 6:

	Keine Intima-fibrose	Geringe Intima-fibrose	Mäßig bis ausge-prägte Intima-fibrose	Stark ausge-prägte Intima-fibrose/ Plaque	
D.M. oral n = 32	n = 20	n = 10	n = 1	n = 1	$\chi^2 = 0.02877$ $p = 0.86531$
D.M. Insulin n = 35	n = 21	n = 12	n = 2	n = 0	$\chi^2 = 0.08041$ $p = 0.77675$
Kein D.M. Kontroll-gruppe nur Hypertonus/ Hyperlipid-ämie n = 84	n = 42	n = 36	n = 5	n = 1	

Diagramm 4

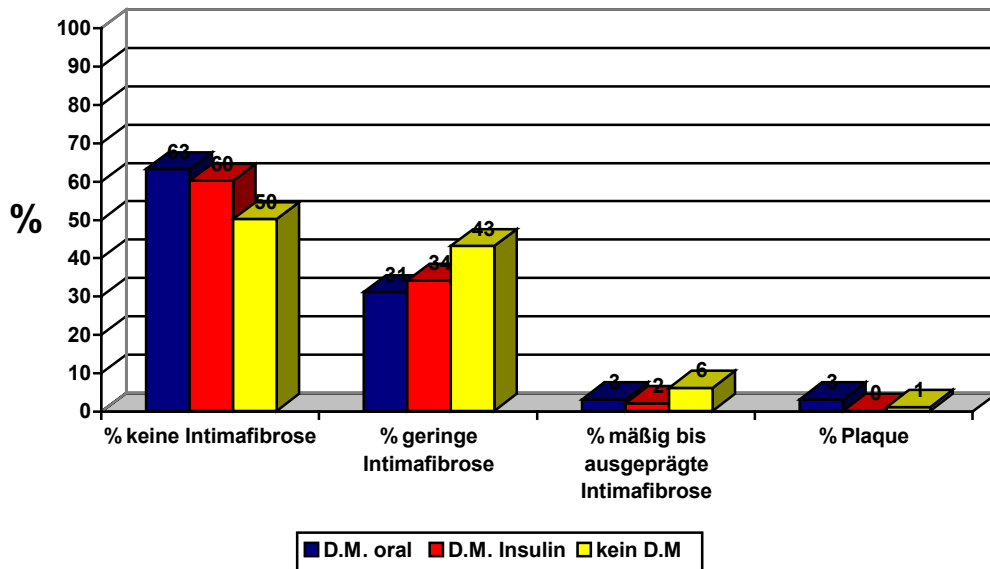


Tabelle 7 und Diagramm 5 zeigen den Grad der Intimafibrose der 49 untersuchten Patienten mit generalisierter peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK), sowie als Kontrollkollektiv den Grad der Intimafibrose bei den 84 Patienten mit Hypertonus und Hyperlipidämie als ausschließliche Risikofaktoren. Auch bei Patienten mit generalisierter peripherer arterieller Verschlusskrankheit ergab sich im Vergleich zur Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied in Bezug auf Intimafibrose.

Tabelle 7:

	Keine Intimafibrose	Geringe Intimafibrose	Mäßig bis ausgeprägte Intimafibrose	Stark ausgeprägte Intimafibrose/Plaque	
pAVK n = 49	n = 26	n = 19	n = 2	n = 2	$\chi^2 =$ 0.04634 $p =$ 0.82956
Keine pAVK Kontrollgruppe nur Hypertonus/ Hyperlipidämie n = 84	n = 42	n = 36	n = 5	n = 1	

Diagramm 5

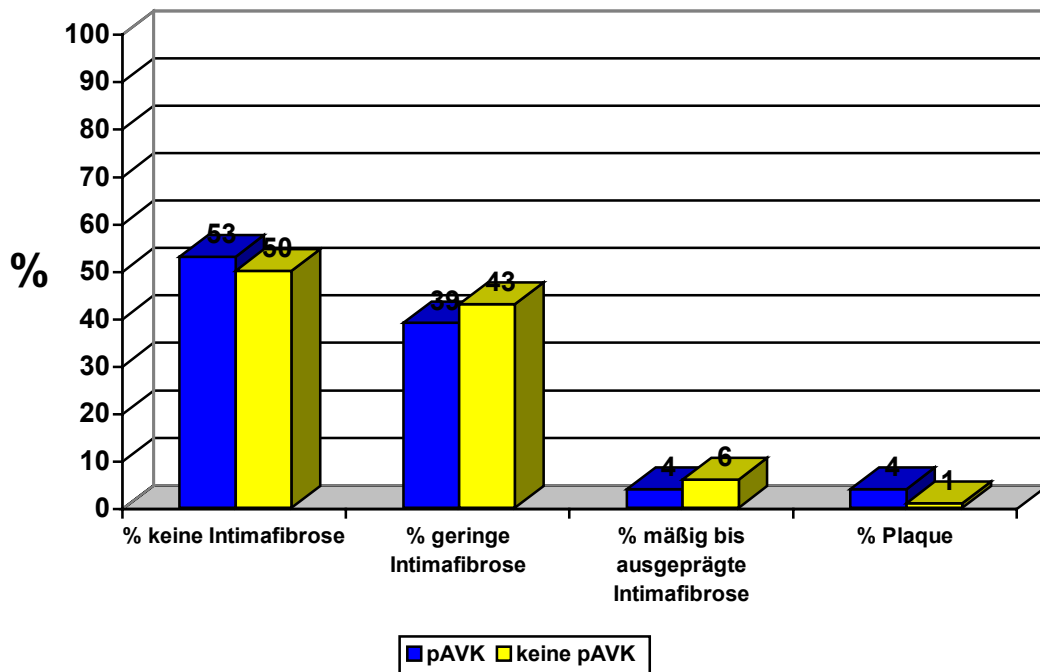
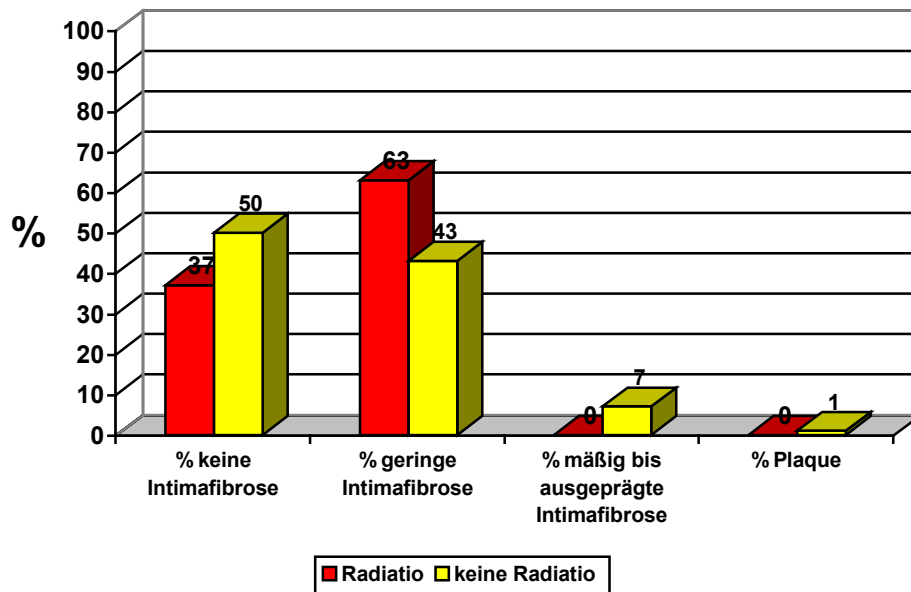


Tabelle 8 und Diagramm 6 zeigen den Grad der Intimafibrose der Arteria mammaria interna bei den 27 bestrahlten Patienten, sowie als Kontrollkollektiv den Grad der Intimafibrose bei jeweils aller derer 84 Patienten, die nur unter Hypertonus und Hyperlipidämie leiden. Auch für bestrahlte Patienten ergab sich im Vergleich zur Kontrollgruppe kein mathematisch signifikanter Unterschied, obwohl das Diagramm 6 bei oberflächlicher Betrachtung auch zu anderen Schlüssen verleiten könnte.

Tabelle 8:

	Keine Intimafibrose	Geringe Intimafibrose	Mäßig- ausgeprägte Intimafibrose	Stark ausgeprägte Intimafibrose/Plaque	
Radiatio n = 27	n = 10	n = 17	n = 0	n = 0	$\chi^2 =$ 2.03878 p = 0.15333
Keine Radiatio Kontrollgruppe nur Hypertonus/ Hyperlipidämie n = 84	n = 42	n = 36	n = 5	n = 1	

Diagramm 6



4.2 Immunhistochemie

Zur weiteren Differenzierung der untersuchten Risikofaktoren für Atherosklerose (Diabetes mellitus, generalisierte arterielle Verschlusskrankheit und Radiatio) wurde eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente bei elf Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus, jeweils zwölf Patienten mit oral therapiertem Diabetes mellitus und generalisierter arterieller Verschlusskrankheit sowie 16 Patienten nach Radiatio aus dem Gesamtkollektiv der 203 Patienten durchgeführt. Verwendet wurden dabei die beschriebenen Marker CD34, CD68, Tenascin, Kollagen III und Kollagen IV. Bei den einzelnen Patientengruppen wurden zunächst noch einmal die Ergebnisse der konventionellen Histologie der jeweiligen Patienten in einer Tabelle vorangestellt.

Diagramm 7 zeigt das Ausmaß der Intimafibrose und Mediasklerose bei elf Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus. Die konventionelle histologische Untersuchung erfolgte mittels HE-Färbung sowie Elastica-van-Gieson-Färbung.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier 43-77 Jahre), die Ordinate zeigt den Grad der Intimafibrose bzw. den Grad der Mediasklerose.

(Grad 0 = keine Intimafibrose / Mediasklerose, Grad 1 = geringfügige Intimafibrose / Mediasklerose, Grad 2 = mäßig bis ausgeprägte Intimafibrose / Mediasklerose, Grad 3 = starke Intimafibrose/Plaque).

Es zeigte sich bei drei Patienten (Alter: 73 und 74 Jahre) eine mäßig bis ausgeprägte Intimafibrose, bei einem 67- und einem 74-jährigen Patienten stellte sich eine mäßige bis ausgeprägte Mediasklerose dar. Die übrigen Patienten zeigten keine oder nur eine geringfügige Intimafibrose oder Mediasklerose. Insgesamt zeigt sich eine geringfügige Tendenz zur Intimafibrose mit zunehmendem Alter.

Diagramm 7:

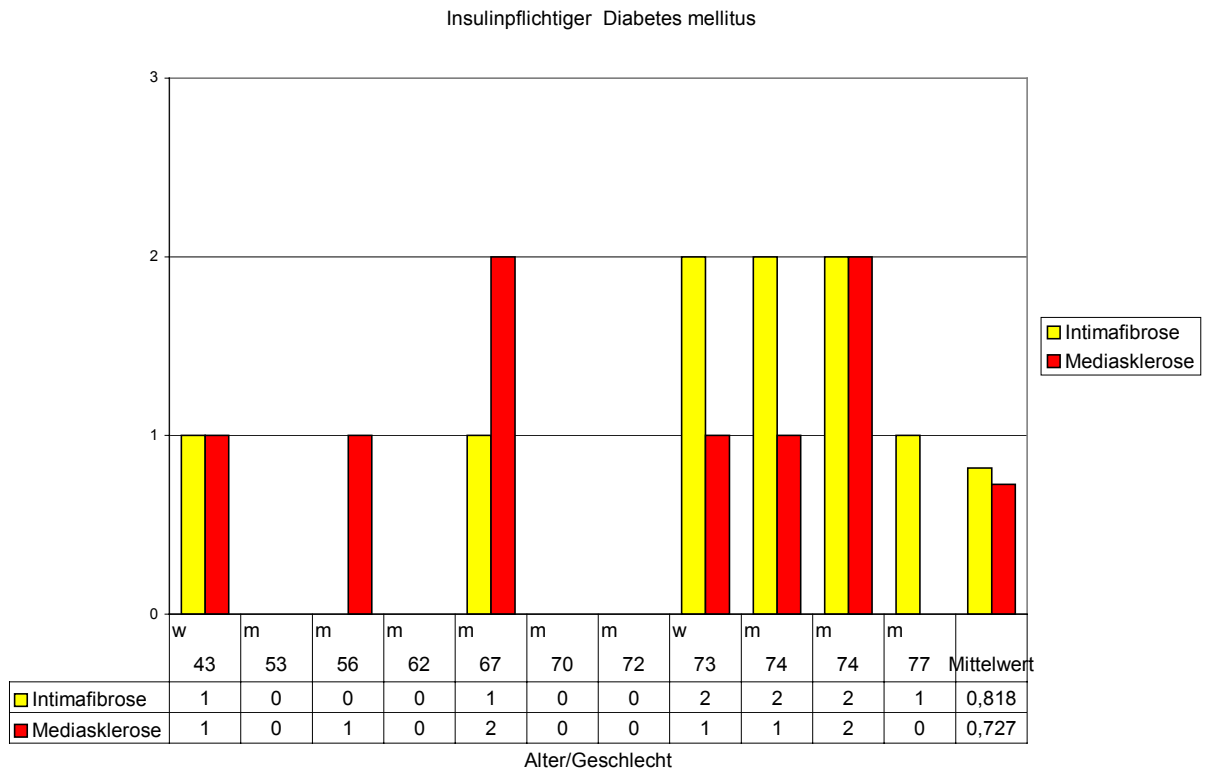


Diagramm 8 stellt den Grad der Intimafibrose und der Mediasklerose bei zwölf Patienten mit oral therapiertem Diabetes mellitus dar. Die konventionell-histologische Untersuchung erfolgte mittels HE-Färbung sowie Elastica-van-Gieson-Färbung.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier von 52–78 Jahre), die Ordinate zeigt den Grad der Intimafibrose bzw. den Grad der Mediasklerose. (Grad 0-3).

Es zeigte sich bei nur zwei Patienten (Alter: 58 und 67 Jahre) eine mäßig bis ausgeprägte Intimafibrose. Bei dem 67-jährigen Patienten zeigte auch die Media eine mäßig bis ausgeprägte Sklerose. Die restlichen Patienten zeigten keine oder nur eine geringfügige Intimafibrose bzw. Mediasklerose der Arteria mammaria interna. Insgesamt zeigt sich keine Tendenz zur vermehrten Intimafibrose/ Mediasklerose.

Diagramm 8:

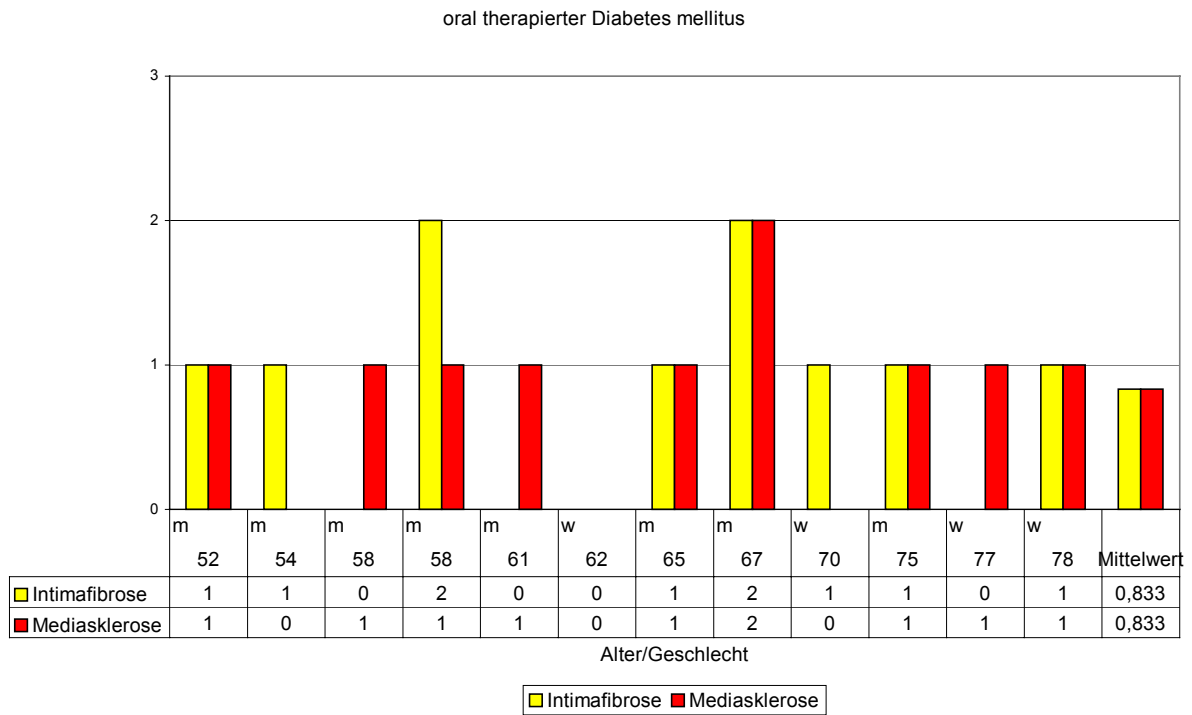


Diagramm 9 stellt den Grad der Intimafibrose sowie der Mediasklerose bei zwölf Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit dar. Die konventionelle histologische Untersuchung erfolgte mittels HE-Färbung sowie Elastica-van-Gieson-Färbung.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier von 55–76 Jahren), die Ordinate zeigt den Grad der Intimafibrose bzw. den Grad der Mediasklerose.

Es zeigte sich bei zwei Patienten (Alter: 73 und 76 Jahre) eine mäßig bis ausgeprägte Intimafibrose, bei keinem Patienten stellte sich eine ausgeprägtere Mediasklerose dar. Die übrigen Patienten zeigten keine oder nur eine geringfügige Intimafibrose bzw. Mediasklerose. Insgesamt stellt sich allenfalls eine geringfügige Tendenz zur Intimafibrose mit zunehmendem Alter dar.

Diagramm 9:

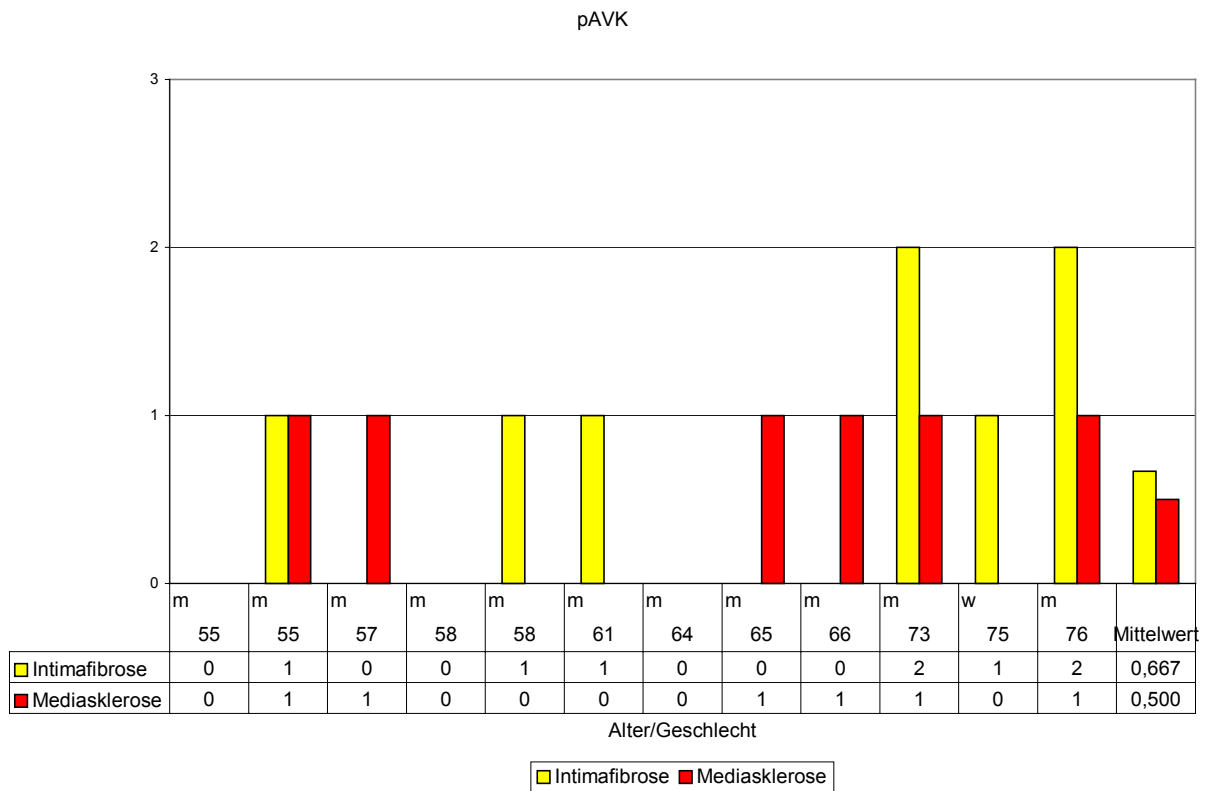


Diagramm 10 stellt den Grad der Intimafibrose bzw. der Mediasklerose bei 16 Patienten nach Radiatio dar. Die konventionell-histologische Untersuchung erfolgte mittels HE-Färbung sowie Elastica-van-Gieson-Färbung.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier von 38–80 Jahre), die Ordinate zeigt den Grad (0-3) der Intimafibrose bzw. den Grad der Mediasklerose.

Es zeigte sich bei einem 73-jährigen Patienten eine mäßig bis ausgeprägte Intimafibrose, bei keinem Patienten stellte sich eine ausgeprägtere Mediasklerose dar. Die übrigen Patienten zeigten keine oder nur eine geringfügige Intimafibrose bzw. Mediasklerose. Insgesamt stellt sich keine Tendenz zur Intimafibrose oder Mediasklerose dar.

Diagramm 10:

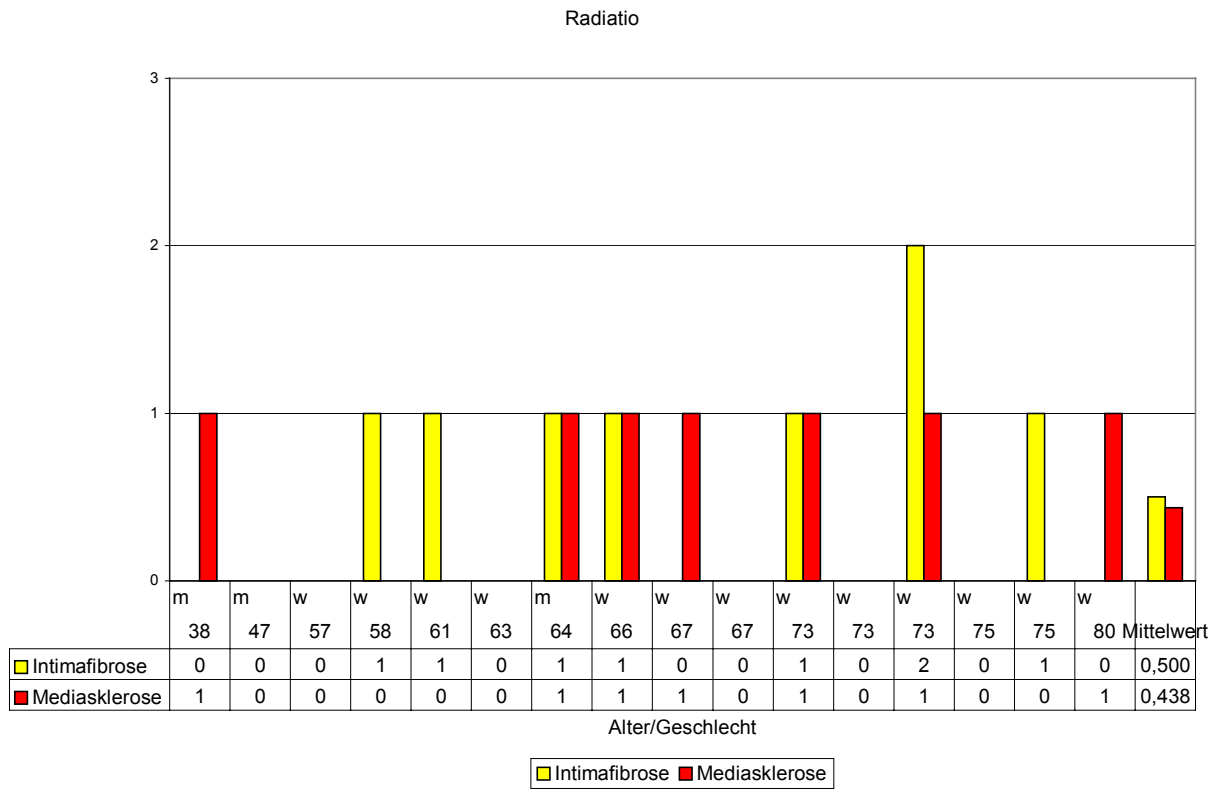


Diagramm 11 stellt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente der elf Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus dar. Untersucht wurde mit dem immunhistochemischen Marker CD34, der vor allem mit Perizyten und glatter Muskulatur reagiert. Das Einwandern von glatten Muskelzellen vor allem in die Intima eines Gefäßes wird mit der Entstehung von Atherosklerose in Zusammenhang gebracht.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier wieder von 43–77 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf CD34.

(Grad 0 = keine Reaktion auf CD34, Grad 1 = geringfügige Reaktion auf CD34, Grad 2 = mäßige Reaktion auf CD34, Grad 3 = deutliche Reaktion auf CD34).

In der Intima der untersuchten Gefäße zeigte sich bei zwei Patienten (Alter: 56 und 72 Jahre) eine mäßige Reaktion auf CD34, bei den restlichen Patienten stellte sich keine oder allenfalls eine geringfügige Reaktion auf CD34 in der Intima der Gefäßwand dar. In der Media zeigte sich bei allen Patienten keine oder nur eine geringfügige Reaktion auf CD34. In der Adventitia zeigte sich interessanterweise bei drei Patienten (Alter 56, 62, und 73 Jahre) eine deutliche Reaktion (Grad 3) auf CD34. Bei allen übrigen Patienten zeigte sich in der Adventitia eine mäßige Reaktion auf CD34. Insgesamt stellt sich somit eine deutliche Tendenz zur Reaktion von CD34 in der Adventitia, nicht aber in der Intima oder Media der Arteria mammaria interna von insulinpflichtigen Diabetikern dar.

Diagramm 11:

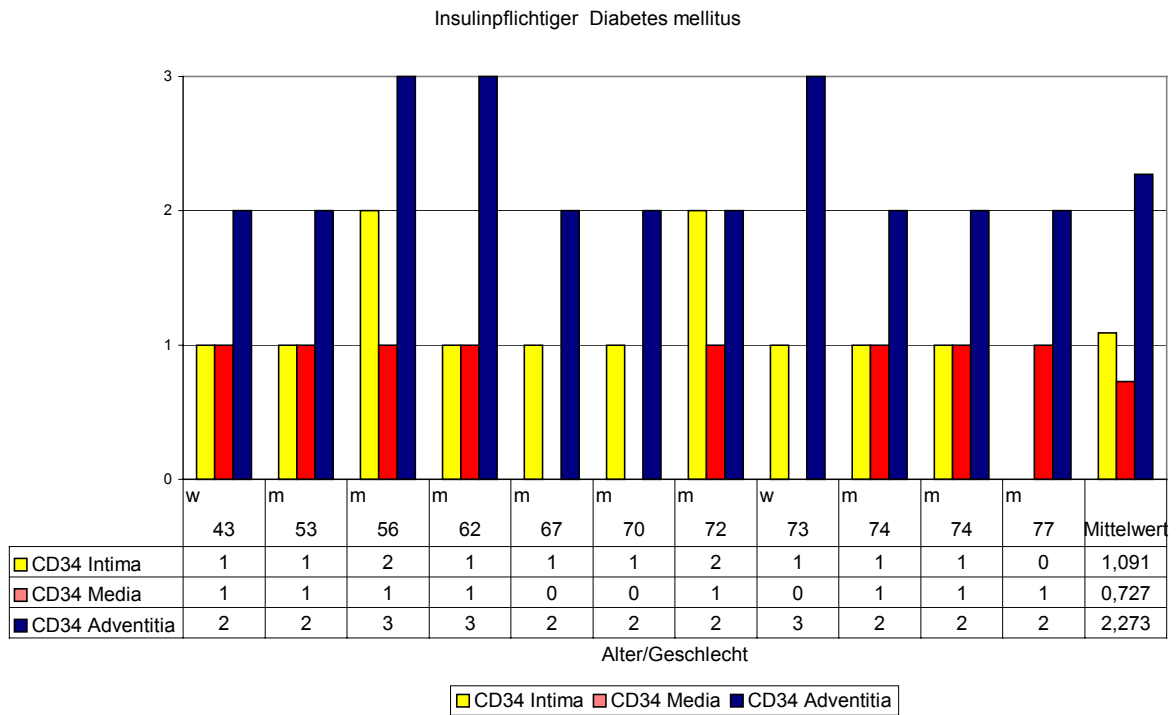


Diagramm 12 stellt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente der zwölf Patienten mit oral therapiertem Diabetes mellitus mittels CD34 dar.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier wieder von 52–78 Jahre), die Ordinate zeigt das Ausmaß, Grad 0-3, der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf CD34.

In der Intima zeigte sich bei allen oral therapierten Diabetikern nur eine geringfügige Reaktion auf CD34. In der Media stellte sich bei einem 54-jährigen eine mäßige Reaktion auf CD34 dar, die restlichen Patienten zeigten in der Media der Gefäßwand keine oder nur eine geringfügige Reaktion auf CD34. In der Adventitia zeigte sich beim gleichen Patienten mit Reaktion auf CD34 in der Media (Alter: 54) eine deutliche Reaktion (Grad 3), auf den immunhistochemischen Marker. Bei allen restlichen Patienten zeigte sich in der Adventitia eine mäßige Reaktion auf CD34. Insgesamt stellt sich somit auch bei den oral therapierten Diabetikern eine Tendenz zur Reaktion auf CD34 in der Adventitia, nicht aber in der Intima der Arteria mammaria interna dar.

Diagramm 12:

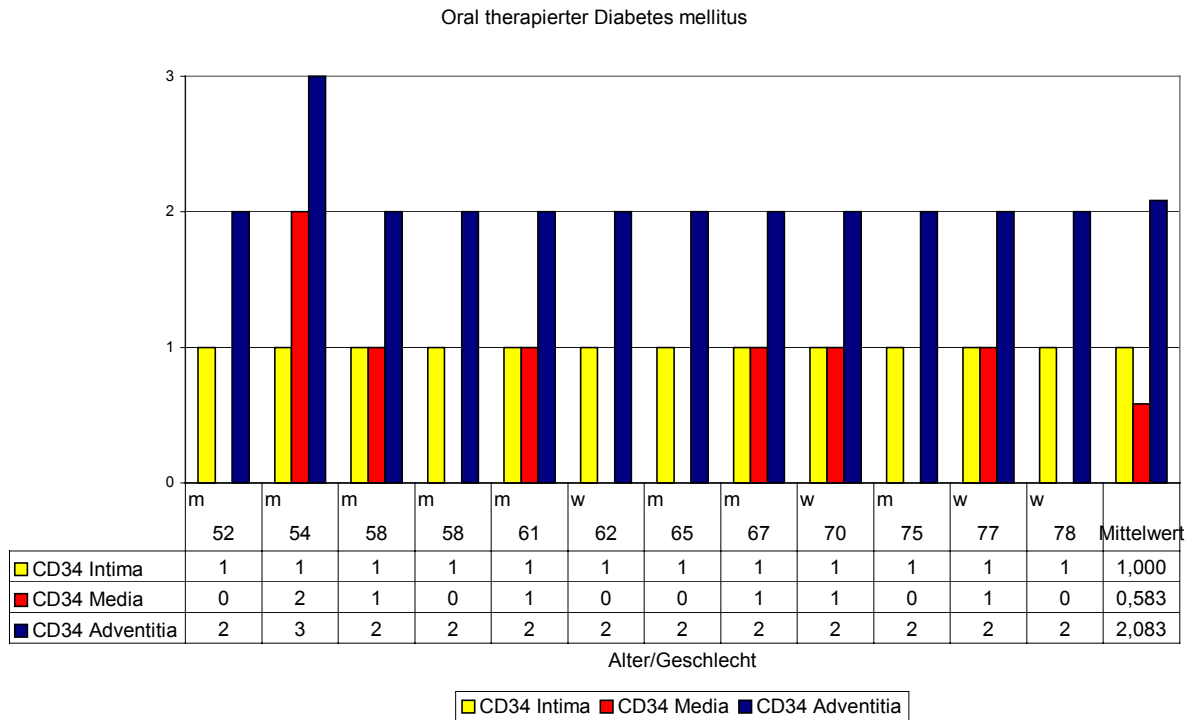


Diagramm 13 zeigt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente der zwölf Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit mittels CD34.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier von 55–76 Jahre), die Ordinate stellt das Ausmaß, Grad 0-3; der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf CD34 dar.

Die Intima zeigte bei einem 65-jährigen Patienten eine mäßige Reaktion auf CD34, während die übrigen Patienten keine oder nur eine geringe Reaktion auf CD34 in der Intima der untersuchten Gefäße zeigten. In der Media stellte sich bei allen Patienten keine oder eine nur geringfügige Reaktion auf CD34 dar. Die Adventitia zeigte bei einem 55-jährigen Patienten eine deutliche (Grad 3) Reaktion auf CD34. Bei allen restlichen Patienten zeigte sich in der Adventitia eine mäßige oder geringfügige Reaktion auf CD34. Insgesamt stellt sich somit auch bei den Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit eine Tendenz für die Reaktion auf CD34 in der Adventitia, nicht aber in der Intima der untersuchten Arteria-mammaria-interna-Segmente dar.

Diagramm 13:

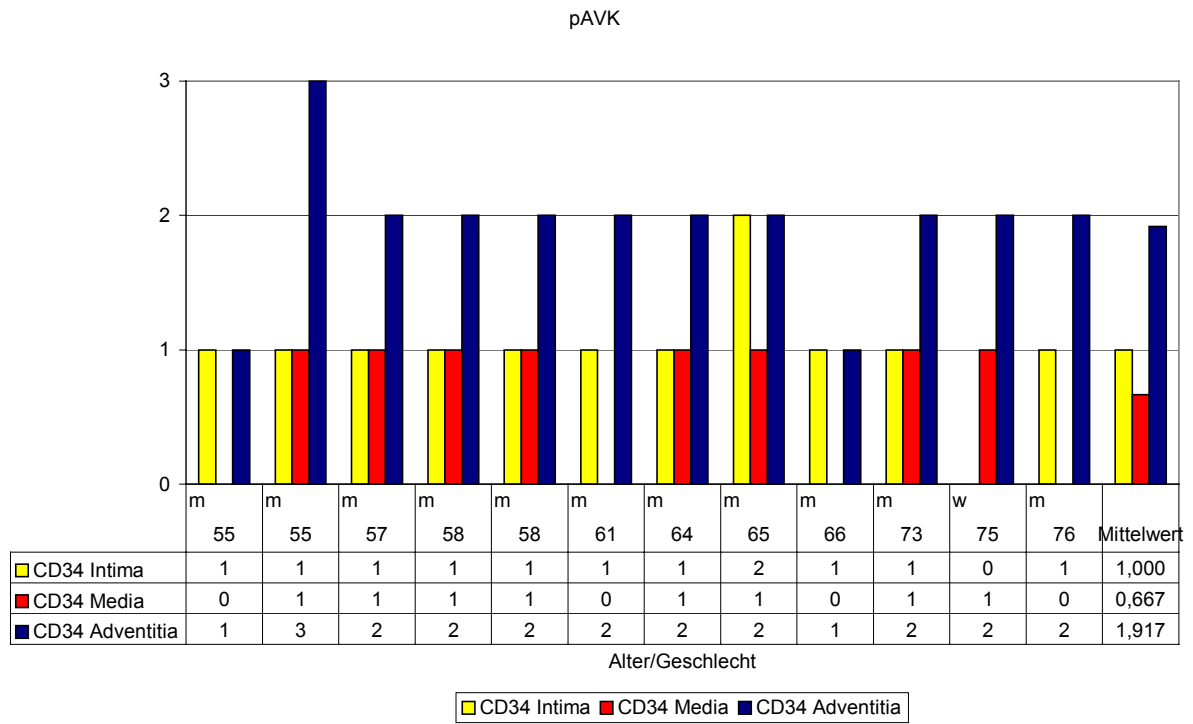


Diagramm 14 stellt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteriamammaria-interna-Segmente der bekannten 16 Patienten nach Radiatio dar. Untersucht wurde ebenfalls mit dem immunhistochemischen Marker CD34, der vor allem mit Perizyten und glatten Muskelzellen reagiert. Das Einwandern von glatten Muskelzellen vor allem in die Intima der Gefäßwand wird mit der Entstehung von Atherosklerose in Zusammenhang gebracht.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier von 38–80 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf CD34.

Die Intima der Gefäßwand zeigte bei zwei Patientinnen (Alter: 58 und 73 Jahre) eine mäßige Reaktion auf CD34, während sich bei den übrigen Patienten nur eine geringe Reaktion auf CD34 in der Intima zeigte. In der Media stellte sich bei allen Patienten keine oder eine nur geringfügige Reaktion auf CD34 dar. Die Adventitia zeigte bei einer 57-jährigen Patientin eine deutliche (Grad 3) Reaktion auf CD34. Bei allen übrigen Patienten zeigte sich in der Adventitia eine mäßige oder geringfügige Reaktion auf CD34. Insgesamt stellt sich somit auch hier eine Tendenz zur Reaktion auf CD34 in der Adventitia, nicht aber in der Intima der Gefäßwände der bestrahlten Patienten dar.

Diagramm 14:

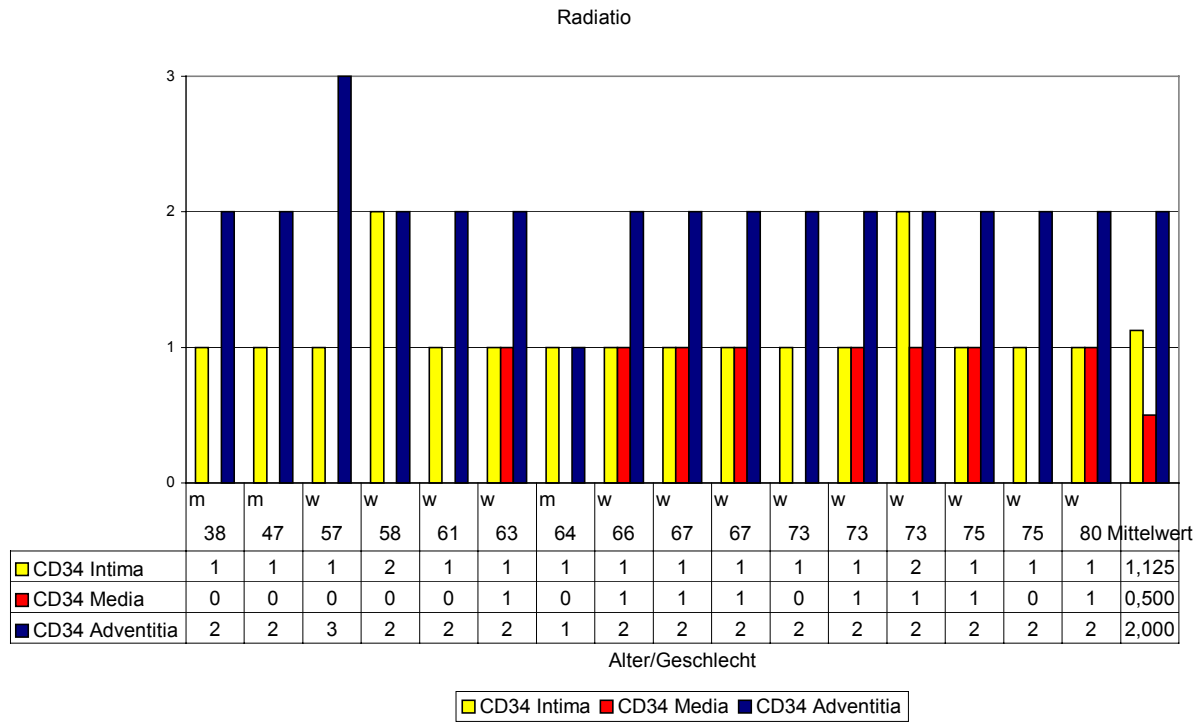


Diagramm 15 stellt eine weitere immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente der elf Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus dar. Untersucht wurde jetzt mit dem immunhistochemischen Marker CD68, der vor allem mit Makrophagen und Histozyten reagiert. Auch das Einwandern von Makrophagen und Histozyten in die Gefäßwände wird mit der Entstehung von Atherosklerose in Zusammenhang gebracht.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier von 43–77 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf CD68.

(Grad 0 = keine Reaktion auf CD68, Grad 1 = geringfügige Reaktion auf CD68, Grad 2 = mäßige Reaktion auf CD68, Grad 3 = deutliche Reaktion auf CD68).

Die Intima zeigte nur bei einer 73-jährigen Patientin eine mäßige Reaktion auf CD68, während die restlichen Patienten gar nicht auf CD68 reagierten. In der Media stellte sich bei allen Patienten keine oder eine nur geringfügige (drei Patienten, Alter: 53, 73 und 77 Jahre) Reaktion auf CD68 dar. Die Adventitia zeigte bei einem 74-jährigen Patienten eine mäßige Reaktion auf CD68. Bei allen restlichen Patienten zeigte sich in der Adventitia keine oder nur eine geringfügige Reaktion auf CD68. Insgesamt stellt sich somit eine diskrete Tendenz für die Reaktion auf CD68 in der Adventitia, nicht aber in der Intima oder Media der Arteria mammaria interna der untersuchten insulinpflichtigen Diabetikern dar.

Diagramm 15:

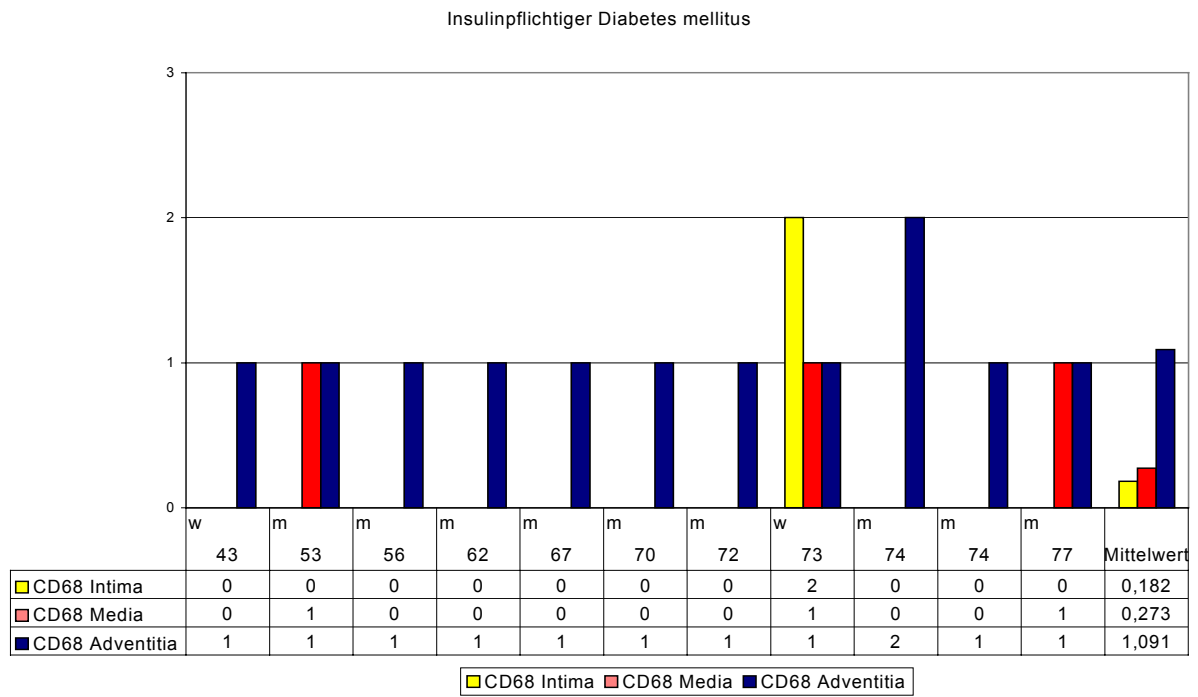


Diagramm 16 stellt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteriamammaria-interna-Segmente der zwölf Patienten mit oral therapiertem Diabetes mellitus mittels CD68 dar.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier wieder von 52–78 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion, Grad 0-3, der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf CD68.

Die Intima zeigte nur bei einem 75-jährigen Patienten eine geringfügige Reaktion auf CD 68, während die übrigen Patienten gar nicht auf CD 68 reagierten. Dieser 75-jährige Patient und zwei weitere Patienten (Alter: 58 und 67) zeigten auch in der Media eine geringfügige Reaktion auf CD68. Alle anderen Patienten reagierten nicht auf CD 68 in der Media. In der Adventitia stellte sich bei allen Patienten keine oder nur eine geringfügige Reaktion auf CD 68 dar, jedoch sprachen insgesamt mehr Patienten auf CD 68 in der Adventitia an als in der Media oder Intima. Insgesamt stellt sich somit eine äußerst diskrete Tendenz zur Reaktion auf CD 68 in der Adventitia, nicht aber in der Intima oder Media der Arteria mammaria interna bei den untersuchten oral therapierten Diabetikern dar.

Diagramm 16:

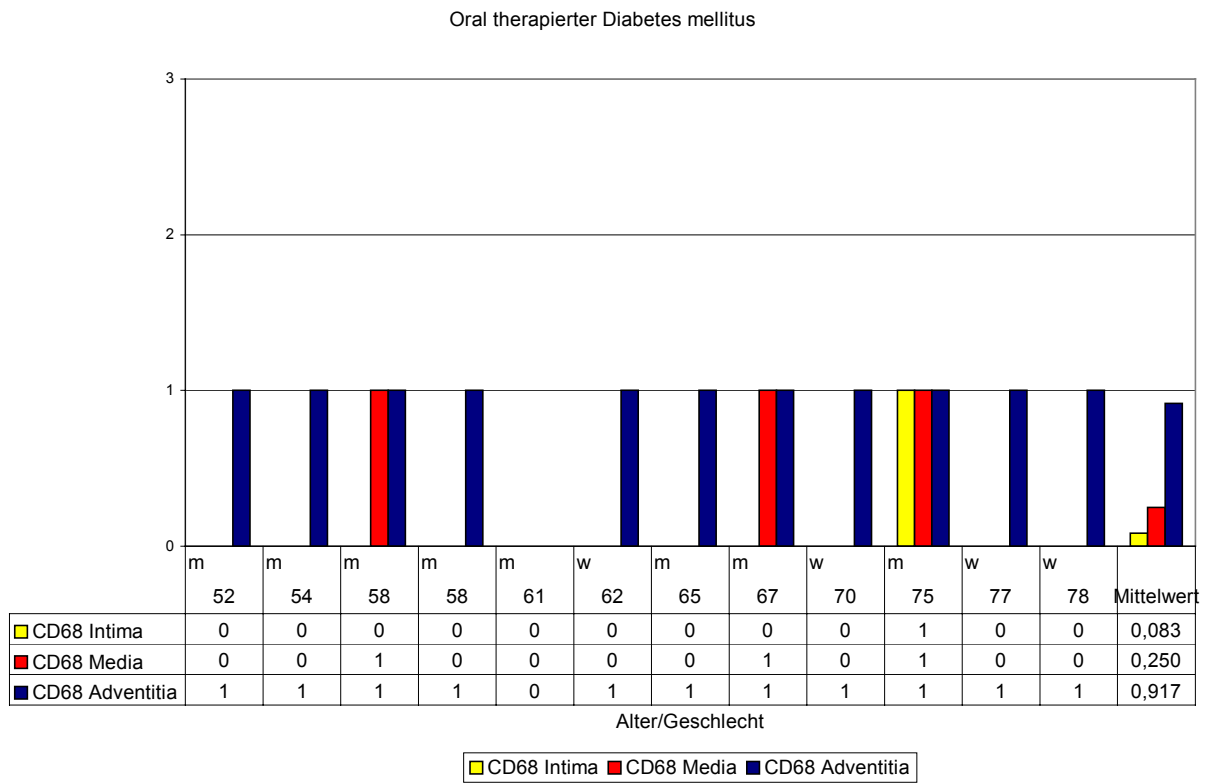


Diagramm 17 zeigt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteriamammaria-interna-Segmente der zwölf Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit mittels CD68.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier wieder von 55–76 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion, Grad 0-3, der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf CD68.

Die Intima der Arteria mammaria interna aller zwölf Patienten reagierte nicht auf CD68. In der Media zeigte sich bei fünf Patienten eine geringfügige Reaktion auf CD68, die restlichen Segmente reagierten nicht mit CD68. Die Adventitia zeigte bei allen Patienten keine oder nur eine geringfügige Reaktion auf CD68, jedoch sprachen insgesamt mehr Patienten auf CD68 in der Adventitia an als in der Media oder Intima. Insgesamt stellt sich somit wieder eine sehr geringfügige Tendenz zur Reaktion auf CD68 in der Adventitia, nicht aber in der Intima oder Media der Arteria mammaria interna bei den untersuchten Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit dar.

Diagramm 17:

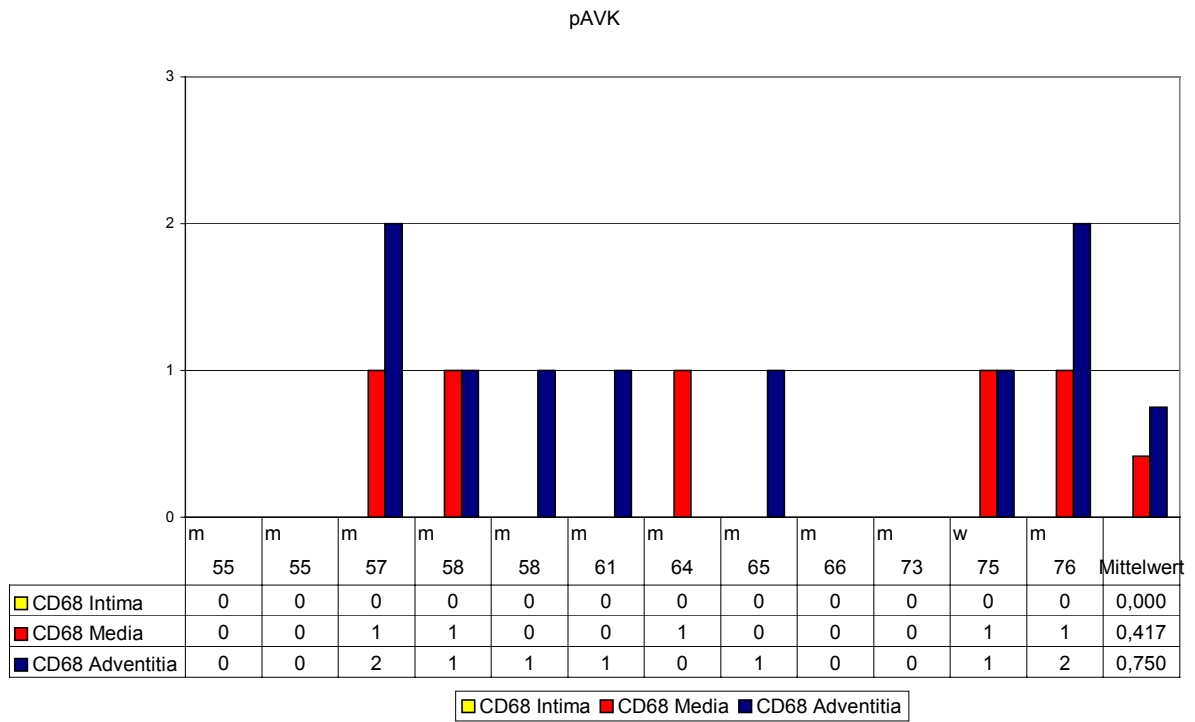


Diagramm 18 stellt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteriamammaria-interna-Segmente der 16 bestrahlten Patienten dar. Untersucht wurde mit dem immunhistochemischen Marker CD68, der vor allem mit Makrophagen und Histozyten reagiert. Auch das Einwandern von Makrophagen und Histozyten in die Gefäßwand wird mit der Entstehung von Atherosklerose in Zusammenhang gebracht.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen, (hier wieder von 38–80 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf den immunhistochemischen Marker. (Grad 0-3).

Die Intima der Arteria mammaria interna reagierte bei drei Patienten (Alter: 66, 73 und 80 Jahre) mit CD68, die Intima der restlichen Patienten reagierte dagegen nicht auf CD68. Die Media von drei Patienten (Alter: 38, 66 und 73 Jahre) reagierte ebenfalls geringfügig auf CD68, während die Media der übrigen Patienten nicht mit CD68 reagierte. In der Adventitia zeigte sich bei über der Hälfte aller Patienten eine geringe Reaktion auf CD68, bei den restlichen Patienten reagierte sie nicht mit CD68. Insgesamt stellt sich somit eine äußerst geringfügige Tendenz für die Reaktion auf CD68 in der Adventitia, nicht aber in der Intima oder Media der Arteria mammaria interna bei bestrahlten Patienten dar.

Diagramm 18:

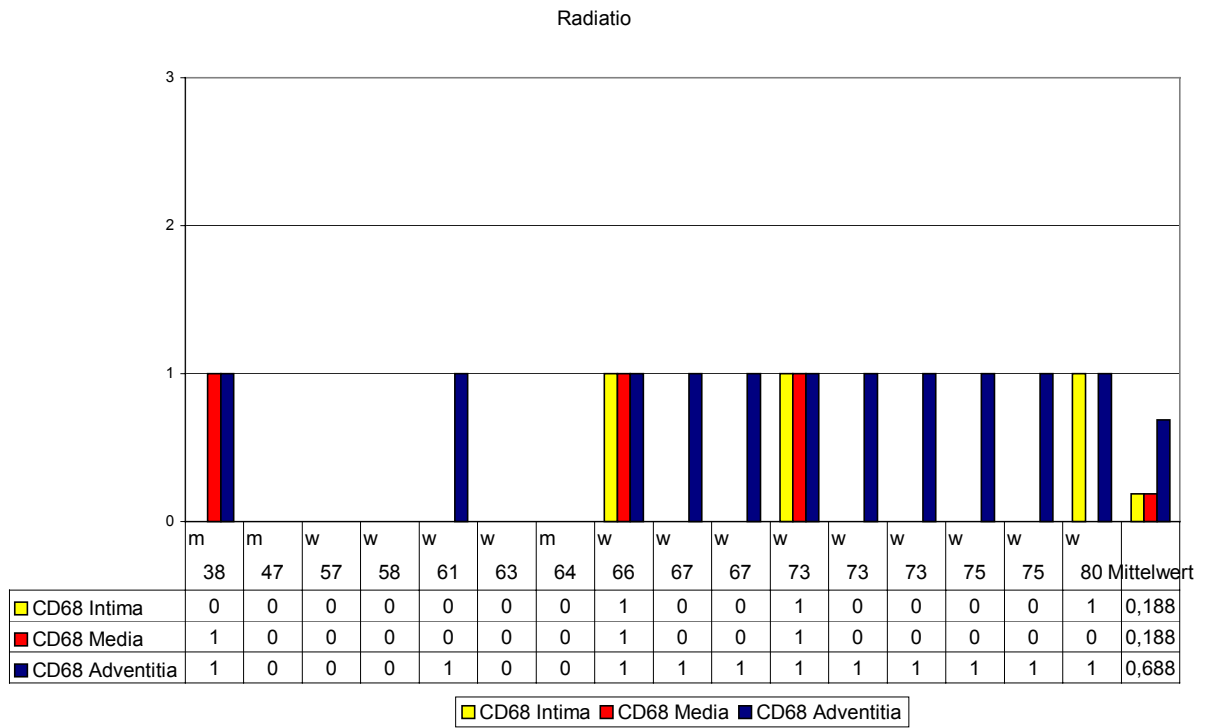


Diagramm 19 stellt eine weitere immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente der elf Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus dar. Untersucht wurde nun mit dem immunhistochemischen Marker Tenascin. Tenascin dient als Marker von Umbauvorgängen z.B. im Tumorstroma oder im Rahmen von Entzündungen. Es wird im Verlauf von Umbauvorgängen relativ früh gebildet und verschwindet im weiteren Verlauf rasch wieder. Da Atherosklerose als Entzündung gewertet werden kann, wurde auch dieser gängige immunhistochemische Marker in dieser immunhistochemischen Untersuchung verwendet.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier von 43–77 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Tenascin an.

(Grad 0 = keine Reaktion auf Tenascin, Grad 1 = geringfügige Reaktion auf Tenascin, Grad 2 = mäßige Reaktion auf Tenascin, Grad 3 = deutliche Reaktion auf Tenascin).

Die Intima der Arteria mammaria interna reagierte bei einer 73-jährigen Patientin deutlich (Grad 3) auf Tenascin, die Intima der restlichen Patienten reagierte geringfügig (4 Patienten) oder gar nicht auf Tenascin. Die Media von 6 von 11 Diabetikern reagierte mäßig auf Tenascin, die Media der restlichen fünf Patienten reagierte geringfügig auf den immunhistochemischen Marker. Die Adventitia eines 53-jährigen Patienten reagierte mäßig auf Tenascin, die der oben genannten 73-jährigen Patientin geringfügig. Die Adventitia aller restlichen Patienten reagierte nicht auf Tenascin. Insgesamt zeigt sich eine diskrete Tendenz für die Reaktion auf

Tenascin vor allem in der Media der untersuchten Arteria-mammaria-interna-Segmente der elf insulinpflichtigen Diabetiker.

Diagramm 19:

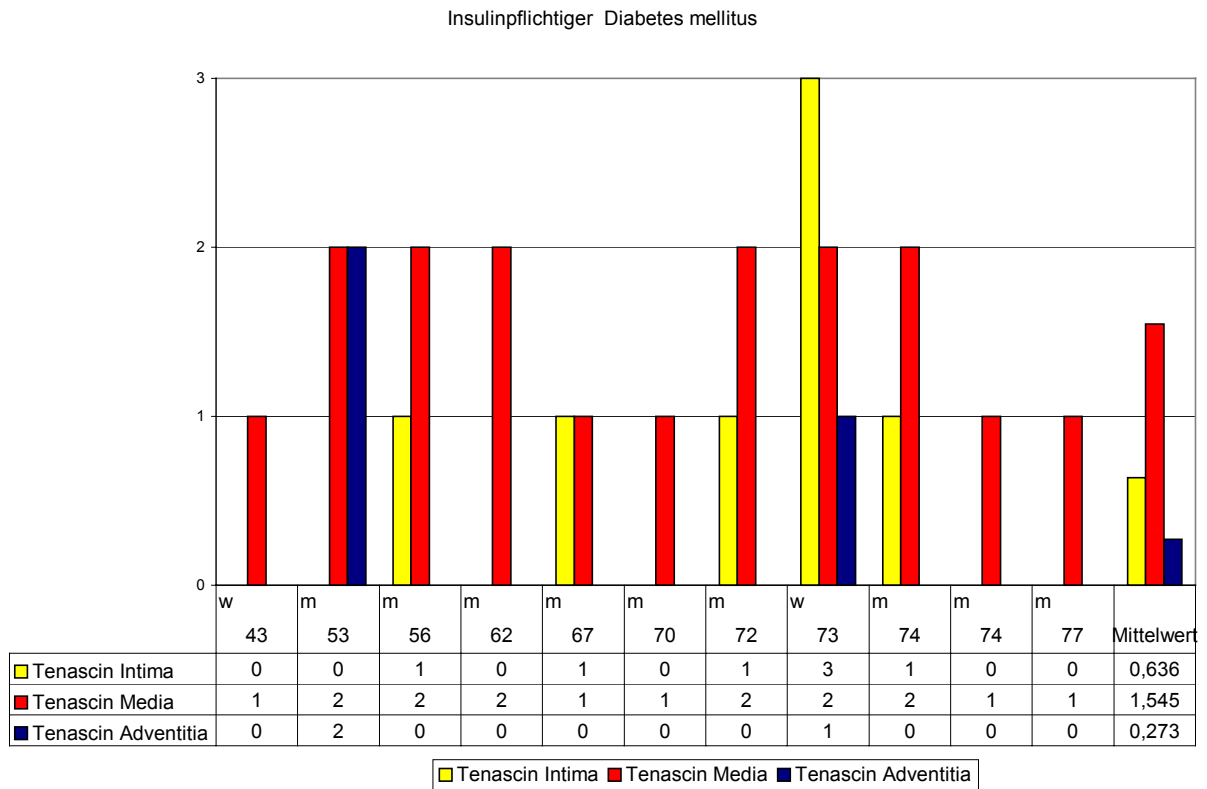


Diagramm 20 stellt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteriamammaria-interna-Segmente der zwölf Patienten mit oral therapiertem Diabetes mellitus mittels Tenascin dar.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen, (hier von 52–78 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Tenascin.

Die Intima der Arteria mammaria interna reagierte bei einem 58-jährigen Patienten mäßig auf Tenascin, die Intima der restlichen Patienten reagierte geringfügig (5 Patienten) oder nicht (6 Patienten) auf Tenascin. Die Media von 4 von 12 Patienten reagierte mäßig auf Tenascin, die Media der restlichen 8 Patienten reagierte geringfügig auf den immunhistochemischen Marker. Die Adventitia von drei Patienten (Alter: 67, 77 und 78 Jahre) reagierte geringfügig auf Tenascin, die Adventitia aller restlichen Patienten reagierte nicht auf Tenascin. Insgesamt zeigt sich eine geringe Tendenz für die Reaktion auf Tenascin vor allem in der Media der untersuchten Arteriamammaria-interna-Segmente, auch bei oral therapierten diabetischen Patienten.

Diagramm 20:

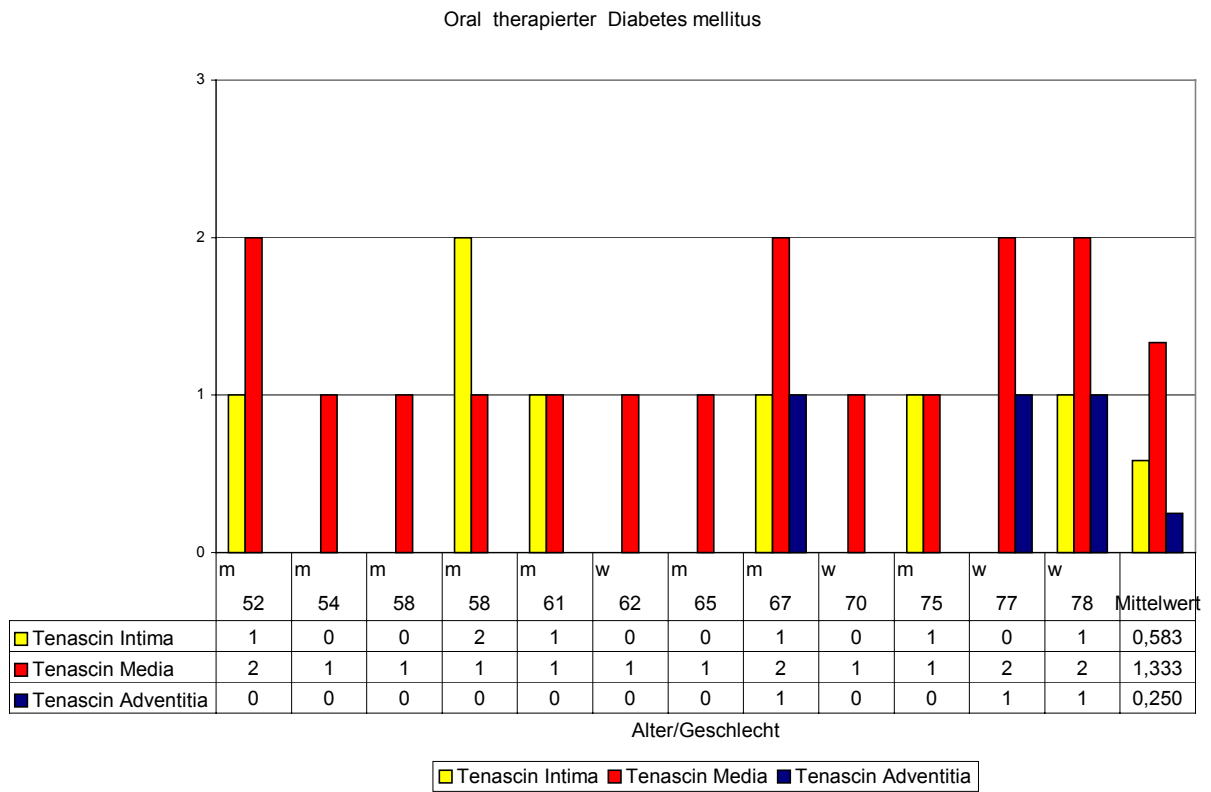


Diagramm 21 zeigt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente der zwölf Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit mittels Tenascin.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier von 55–76 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Tenascin.

Die Intima von zwei Patienten (Alter 55 und 57 Jahre) zeigte eine mäßige Reaktion auf Tenascin. Die Intima der restlichen Patienten zeigte keine (3 Patienten) oder allenfalls eine geringfügige Reaktion (7 Patienten) auf Tenascin. Die Media von acht Patienten zeigte eine mäßige Reaktion auf Tenascin, die Media der übrigen Patienten zeigten keine (1 Patient) oder nur eine geringfügige Reaktion auf Tenascin (3 Patienten). Die Adventitia zeigte bei vier Patienten nur eine geringfügige Reaktion auf Tenascin, die Adventitia der restlichen Patienten reagierte gar nicht auf Tenascin. Insgesamt zeigt sich auch hier eine diskrete Tendenz für die Reaktion auf Tenascin vor allem in der Media der untersuchten Arteria-mammaria-interna-Segmente der Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit.

Diagramm 21:

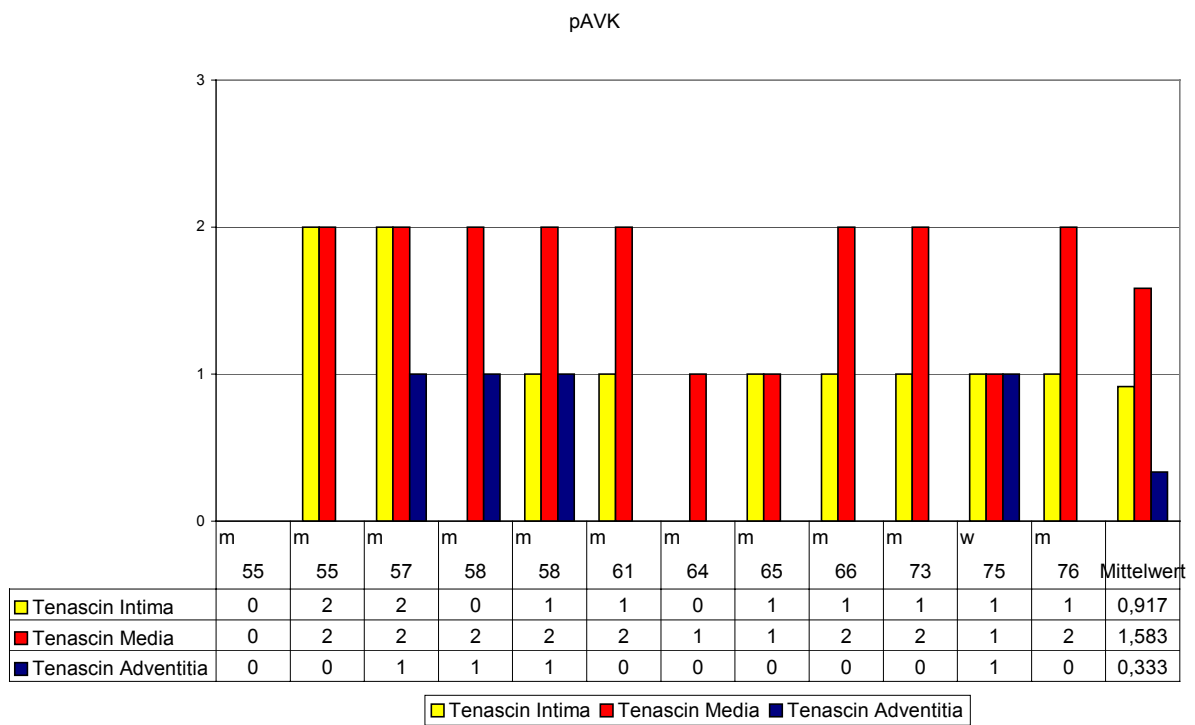


Diagramm 22 stellt eine immunhistochemische Untersuchung mittels Tenascin der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente der 16 bestrahlten Patienten dar.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen, (hier wieder von 55–76 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Tenascin. (Grad 0-3).

Die Intima von fünf Patienten (Alter: 58, 66, 67 und 73 Jahre) zeigte eine mäßige Reaktion auf Tenascin. In der Intima von ebenfalls fünf Patienten stellte sich eine geringfügige Reaktion auf Tenascin dar, während die Intima von sechs Patienten gar nicht auf Tenascin reagierte. Die Media von elf Patienten zeigte eine mäßige Reaktion auf Tenascin, die Media der übrigen Patienten zeigte keine (1 Patient) oder nur eine geringfügige Reaktion auf Tenascin (4 Patienten). Die Adventitia von drei Patienten zeigte eine geringfügige Reaktion auf Tenascin, die Adventitia der restlichen Patienten reagierte nicht auf Tenascin. Insgesamt zeigt sich auch hier eine diskrete Tendenz für die Reaktion auf Tenascin vor allem in der Media der untersuchten Arteria-mammaria-interna-Segmente. Auffällig ist, dass in der Gruppe der bestrahlten Patienten die Reaktion auf Tenascin im Vergleich zu den anderen Gruppen am höchsten ist. Dieses Phänomen ist wahrscheinlich auf die vorangegangene Bestrahlung zurückzuführen.

Diagramm 22:

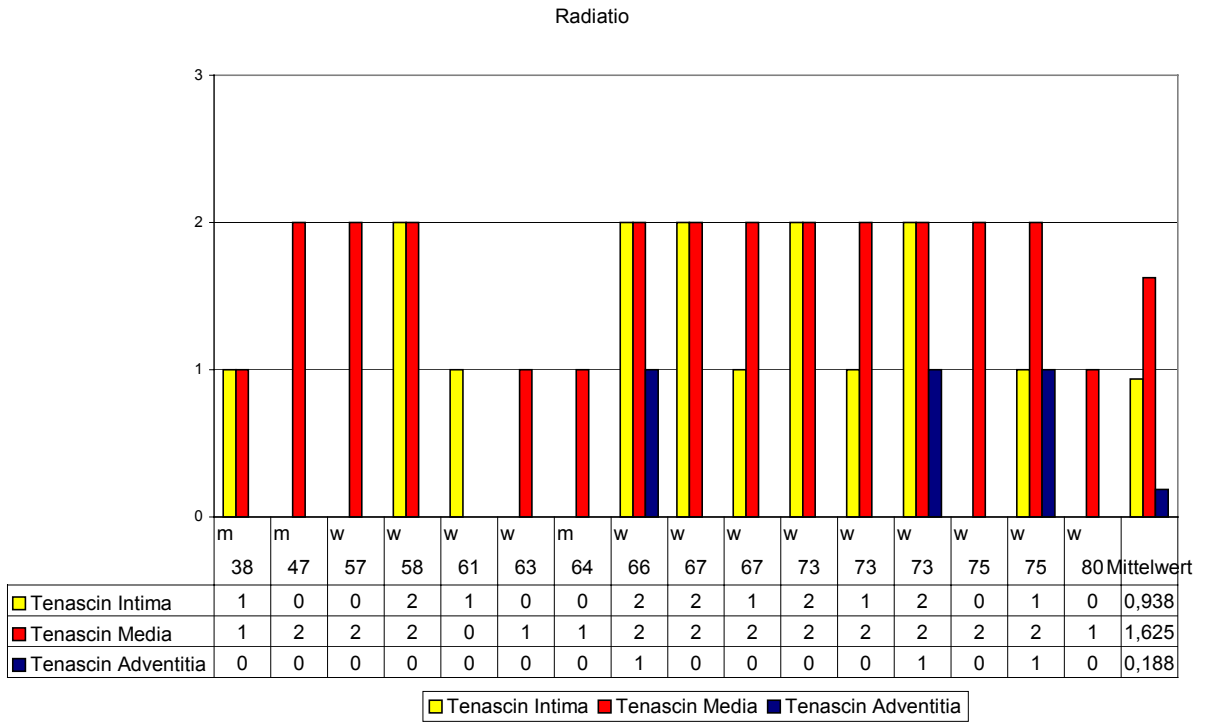


Diagramm 23 stellt eine weitere immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente der elf Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus dar. Untersucht wurde jetzt mit dem immunhistochemischen Marker Kollagen III. Kollagen III dient auch als Marker von Umbauvorgängen z.B. im Tumorstroma oder im Rahmen von Entzündungen, ähnlich Tenascin. Es wird im Verlauf von Umbauvorgängen jedoch später gebildet als Tenascin und wird auch später abgebaut als Tenascin. Da Atherosklerose als Entzündung gewertet werden kann, wurde auch Kollagen III in der immunhistochemischen Untersuchung verwendet.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier wieder von 43–77 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß des Ansprechens der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Kollagen III.

(Grad 0 = keine Reaktion auf Kollagen III, Grad 1 = geringfügige Reaktion auf Kollagen III, Grad 2 = mäßige Reaktion auf Kollagen III, Grad 3 = deutliche Reaktion auf Kollagen III).

Die Intima von drei Patienten (Alter: 53, 56 und 74 Jahre) zeigte eine mäßige Reaktion auf Kollagen III. Die Intima der übrigen Patienten zeigte keine (6 Patienten) oder allenfalls eine geringfügige Reaktion auf Kollagen III (2 Patienten). Die Media von einer 73-jährigen Patientin zeigte eine deutliche (Grad 3), Reaktion auf Kollagen III, drei Patienten zeigten eine mäßige Reaktion auf Kollagen III. Die Media der übrigen sieben Patienten zeigte keine (4 Patienten) oder eine geringfügige (3 Patienten) Reaktion auf Kollagen III. Die Adventitia von zwei Patienten zeigte eine deutliche Reaktion (Grad 3) auf Kollagen III (Alter: 56 und 73 Jahre), die Adventitia von ebenfalls drei Patienten zeigte eine mäßige Reaktion auf Kollagen III. Drei

Patienten reagierten geringfügig auf Kollagen III, zwei Patienten gar nicht. Insgesamt zeigt sich bei den insulinpflichtigen Diabetikern eine zunehmende Tendenz für die Reaktion auf Kollagen III vor allem in der Adventitia der untersuchten Gefäßwände, aber auch in der Media und Intima der Arteria mammaria interna, was für schleichende Umbauprozesse spricht, die während der Entwicklung einer Atherosklerose stattfinden.

Diagramm 23:

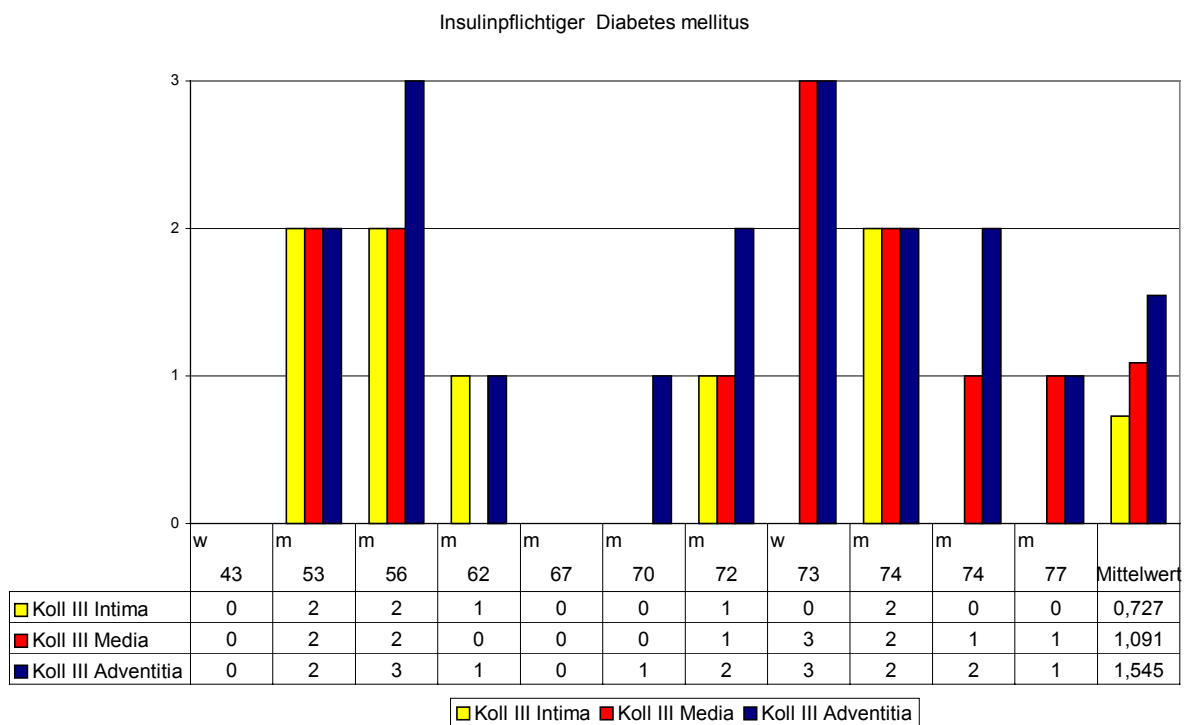


Diagramm 24 stellt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteriamammaria-interna-Segmente der zwölf Patienten mit oral therapiertem Diabetes mellitus mittels Kollagen III dar. Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier von 52–78 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß, Grad 0-3, der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Kollagen III an.

Die Intima von zwei Patienten (Alter: 58 und 77 Jahre) zeigte eine mäßige Reaktion auf Kollagen III. Die Intima der übrigen Patienten zeigte keine (6 Patienten) oder eine geringfügige Reaktion auf Kollagen III (4 Patienten). Die Media von drei Patienten (Alter: 58, 77, und 78 Jahre) zeigte eine mäßige Reaktion auf Kollagen III, 5 Patienten zeigten eine geringfügige Reaktion auf Kollagen III. In der Media der übrigen vier Patienten stellte sich keine Reaktion auf Kollagen III dar. Die Adventitia von einer 78-jährigen Patientin zeigte eine deutliche (Grad 3) Reaktion auf den immunhistochemischen Marker. Die Adventitia von drei (54-, 61- und 65-jährigen) Patienten reagierte mäßig auf Kollagen III. Sieben Patienten zeigten eine geringe Reaktion auf Kollagen III in ihrer Adventitia, ein Patient reagierte gar nicht auf Kollagen III. Insgesamt zeigt sich auch bei den oral therapierten Diabetikern eine Tendenz für die Reaktion auf Kollagen III vor allem in der Adventitia der untersuchten Gefäßwände, aber auch in der Media und Intima der Arteria mammaria interna, was für schleichende Umbauprozesse spricht, die während der Entwicklung einer Atherosklerose stattfinden.

Diagramm 24:

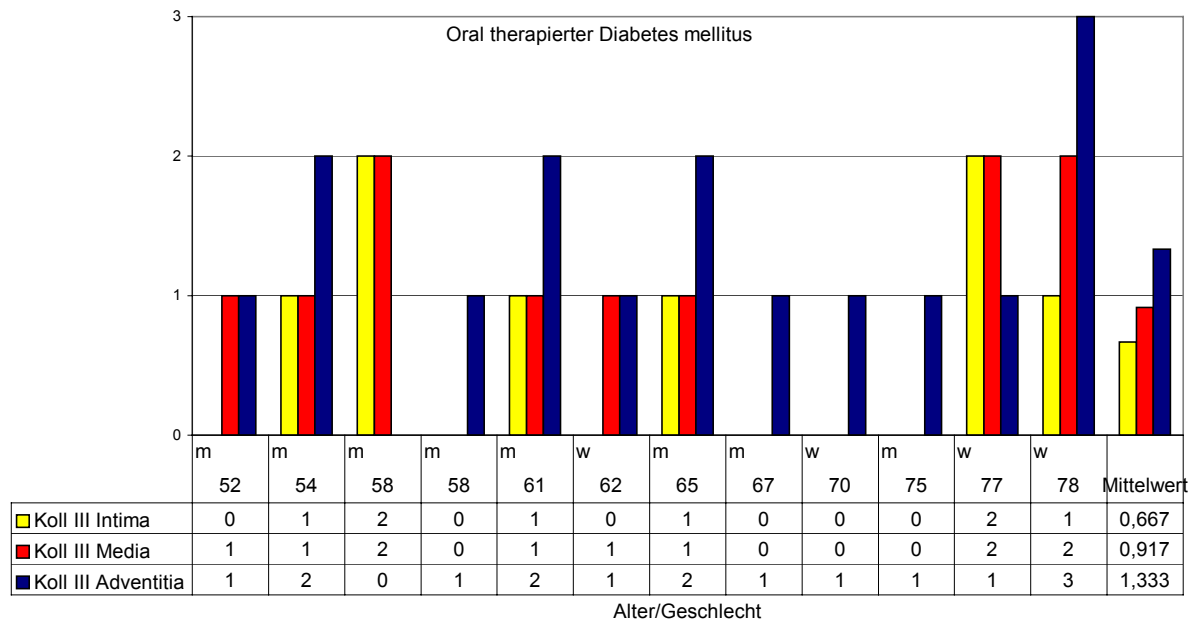


Diagramm 25 zeigt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteriamammaria-interna-Segmente der zwölf Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit mittels Kollagen III. Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier von 55–76 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion, Grad 0-3, der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Kollagen III.

Die Intima von drei Patienten (Alter: 57, 75 und 76 Jahre) zeigte eine mäßige Reaktion auf Kollagen III. Die Intima der übrigen Patienten zeigte keine (3 Patienten) oder nur eine geringfügige Reaktion auf Kollagen III (6 Patienten). Die Media von drei Patienten (Alter: 55, 57 und 76 Jahre) reagierte mäßig auf Kollagen III. Die Media von sechs Patienten zeigte eine geringfügige Reaktion auf Kollagen III, drei Patienten reagierten nicht auf Kollagen III. Die Adventitia von zwei Patienten (Alter: 57 und 65 Jahre) zeigte eine deutliche (Grad 3) Reaktion auf den immunhistochemischen Marker. Die Adventitia von fünf Patienten reagierte mäßig auf Kollagen III. In der Adventitia von vier Patienten zeigte sich nur eine geringfügige Reaktion auf Kollagen III, während ein Patient gar nicht auf Kollagen III reagierte. Insgesamt zeigt sich auch bei den Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit eine Tendenz für die Reaktion auf Kollagen III, vor allem in der Adventitia der untersuchten Gefäßwände, aber auch in der Media und Intima der Arteria mammaria interna, als Hinweis was für Umbauprozesse, die während der Entwicklung einer Atherosklerose stattfinden.

Diagramm 25:

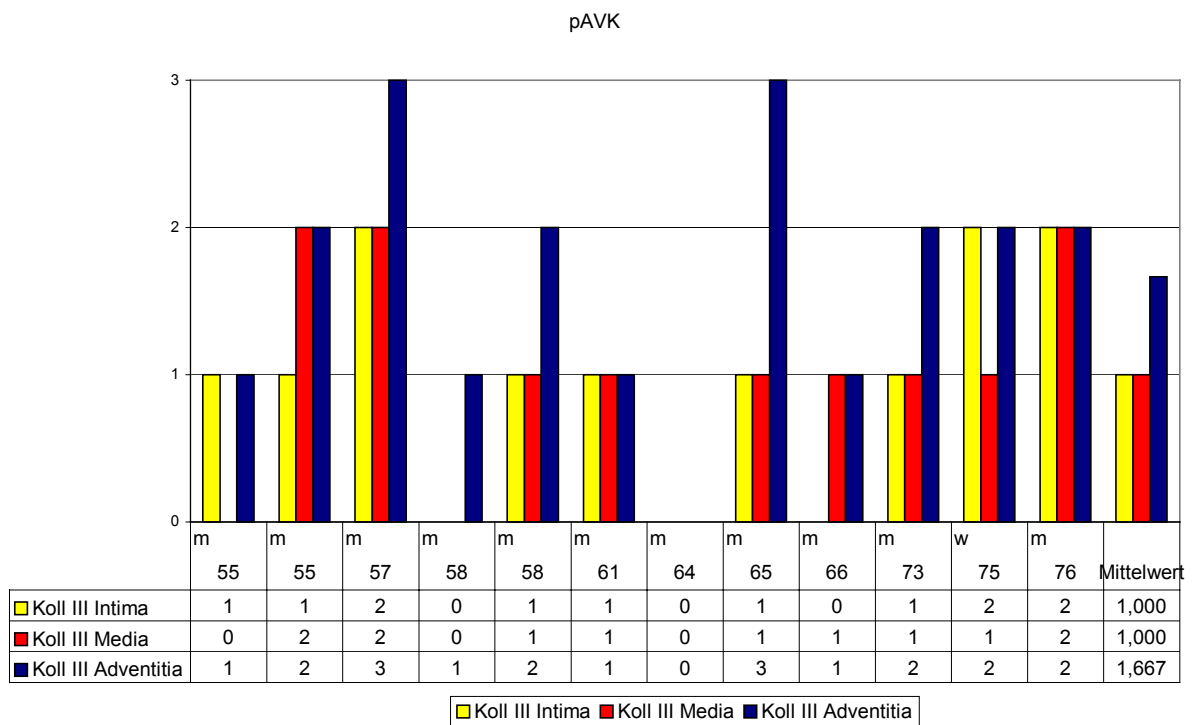


Diagramm 26 stellt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteriamammaria-interna-Segmente der 16 thorax-bestrahlten Patienten dar. Untersucht wurde unter Verwendung des immunhistochemischen Markers Kollagen III. Kollagen III dient als Marker von Umbauvorgängen z.B. im Tumorstroma oder im Rahmen einer Entzündung, ähnlich Tenascin. Es wird im Verlauf von Umbauvorgängen jedoch später gebildet als Tenascin und wird im weiteren Verlauf auch später abgebaut.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier wieder von 38–80 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion, Grad 0-3, der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Kollagen III an.

Die Intima von fünf Patienten (Alter: 38, 61, 67 und 73 Jahre) zeigte eine mäßige Reaktion auf Kollagen III. Die Intima der übrigen Patienten zeigte keine (5 Patienten) oder allenfalls eine geringfügige Reaktion auf Kollagen III (6 Patienten). Die Media von fünf Patienten (Alter: 38, 64, 66 und 67 Jahre) reagierte mäßig auf Kollagen III. Die Media von acht Patienten zeigte nur eine geringfügige Reaktion auf Kollagen III, drei Patienten reagierten gar nicht auf Kollagen III. Die Adventitia von zwei Patienten (Alter: 66 und 67 Jahre) zeigte eine deutliche (Grad 3) Reaktion auf den immunhistochemischen Marker. In der Adventitia von drei Patienten (Alter: 47, 63 und 73 Jahre) zeigte sich eine mäßige Reaktion auf Kollagen III. Neun Patienten reagierten geringfügig auf Kollagen III in der Adventitia, zwei Patienten reagierten dagegen nicht auf Kollagen III. Insgesamt zeigt sich auch bei den bestrahlten Patienten eine Tendenz für die Reaktion auf Kollagen III vor allem in der Adventitia der untersuchten Gefäßwände, aber auch in der Media und Intima der Arteria mammaria interna.

Diagramm 26:

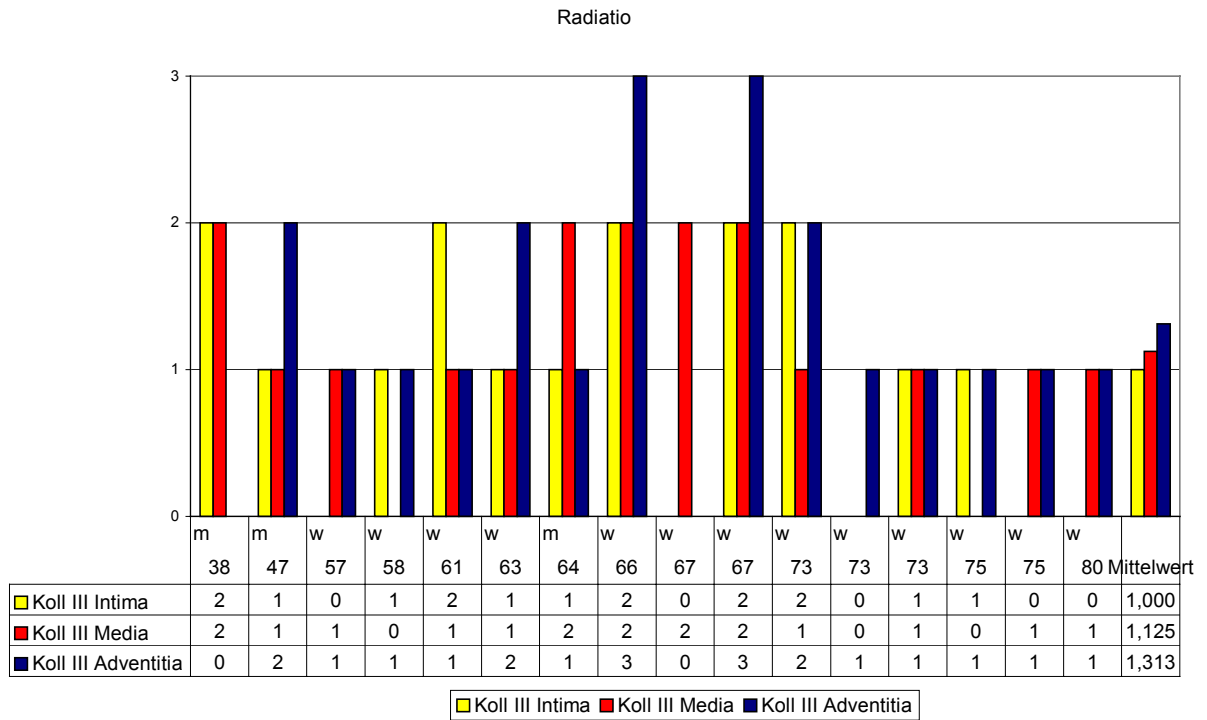


Diagramm 27 stellt eine weitere immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente der elf Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus dar. Untersucht wurde nun mit dem immunhistochemischen Marker Kollagen IV. Kollagen IV dient als Marker von Basalmembranen von Endothelien sowie als Marker von glatter Muskulatur. Das Einwandern von glatten Muskelzellen wird mit der Entstehung von Atherosklerose in Zusammenhang gebracht.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier von 43–77 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Kollagen IV.

(Grad 0 = keine Reaktion auf Kollagen IV, Grad 1 = geringfügige Reaktion auf Kollagen IV, Grad 2 = mäßige Reaktion auf Kollagen IV, Grad 3 = deutliche Reaktion auf Kollagen IV).

Die Intima von einem 70-jährigen Patienten zeigte eine deutliche (Grad 3) Reaktion auf Kollagen IV. Die Intima von acht Patienten zeigte eine mäßige Reaktion auf den immunhistochemischen Marker. Ein Patient zeigte eine geringfügige und ein Patient keine Reaktion auf Kollagen IV. Die Media von zwei Patienten (Alter: 62 und 70 Jahre) reagierte deutlich (Grad 3) auf Kollagen IV. Die Media von acht Patienten zeigte eine mäßige Reaktion auf Kollagen IV, ein Patient reagierte geringfügig auf Kollagen IV. In der Adventitia aller Patienten zeigte sich eine geringfügige (6 Patienten) oder keine (5 Patienten) Reaktion auf Kollagen IV. Insgesamt zeigt sich bei den insulinpflichtigen Diabetikern für diesen immunhistochemischen Marker eine Tendenz für die Reaktion auf Kollagen IV vor allem der Media und Intima der Arteria mammaria interna.

Diagramm 27:

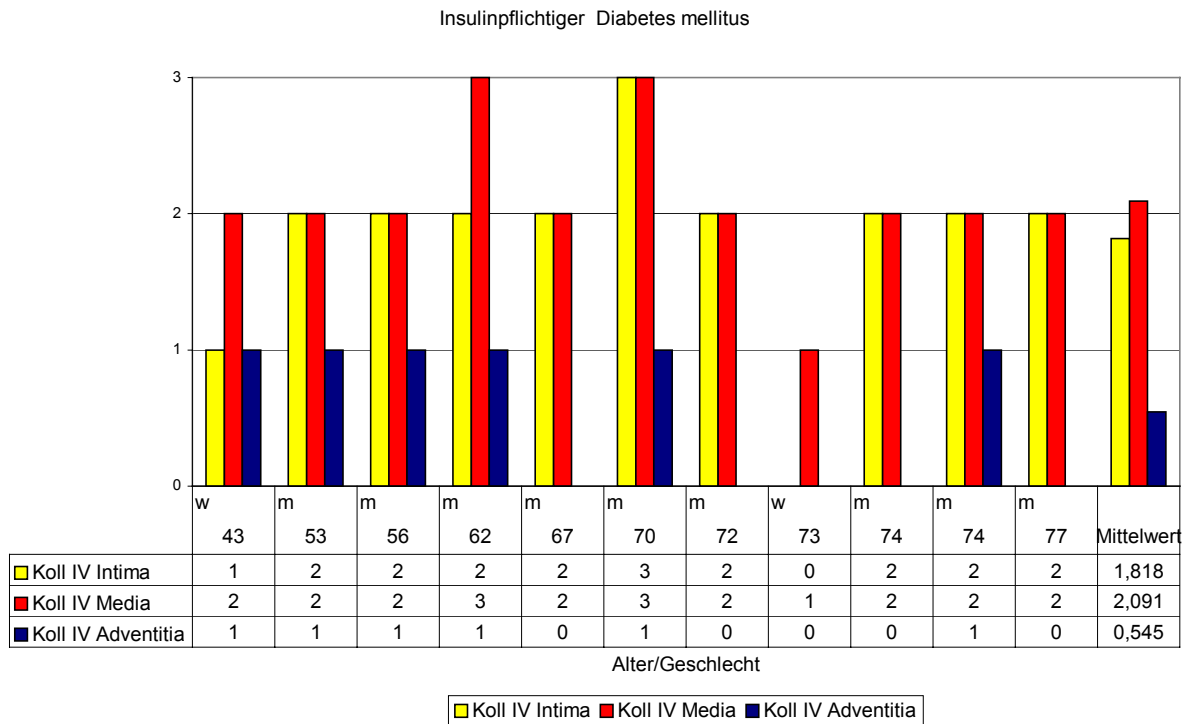


Diagramm 28 zeigt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteriamammaria-interna-Segmente der zwölf Patienten mit oral therapiertem Diabetes mellitus mittels Kollagen IV.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier wieder von 52–78 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß des Ansprechens, Grad 0-3, der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Kollagen IV an.

Die Intima von zwei Patienten (Alter: 58 und 78 Jahre) zeigte eine deutliche (Grad 3) Reaktion auf Kollagen IV. Die Intima von neun Patienten zeigte eine mäßige Reaktion auf den immunhistochemischen Marker. Ein Patient zeigte in seiner Intima eine geringfügige Reaktion auf Kollagen III. Die Media von ebenfalls drei Patienten (Alter: 54, 58 und 78 Jahre) reagierte deutlich (Grad 3) auf Kollagen IV. Die Media von acht Patienten zeigte eine mäßige Reaktion auf Kollagen IV, ein Patient reagierte nur geringfügig auf Kollagen IV. Die Adventitia einer 67-jährigen Patientin reagierte mäßig auf Kollagen IV, drei Patienten reagierten geringfügig und acht nicht auf Kollagen IV in der Adventitia. Insgesamt zeigt sich auch hier, bei oral therapierten Diabetikern, für diesen Marker eine Tendenz für die Reaktion auf Kollagen IV vor allem in der Media und Intima der Arteria mammaria interna.

Diagramm 28:

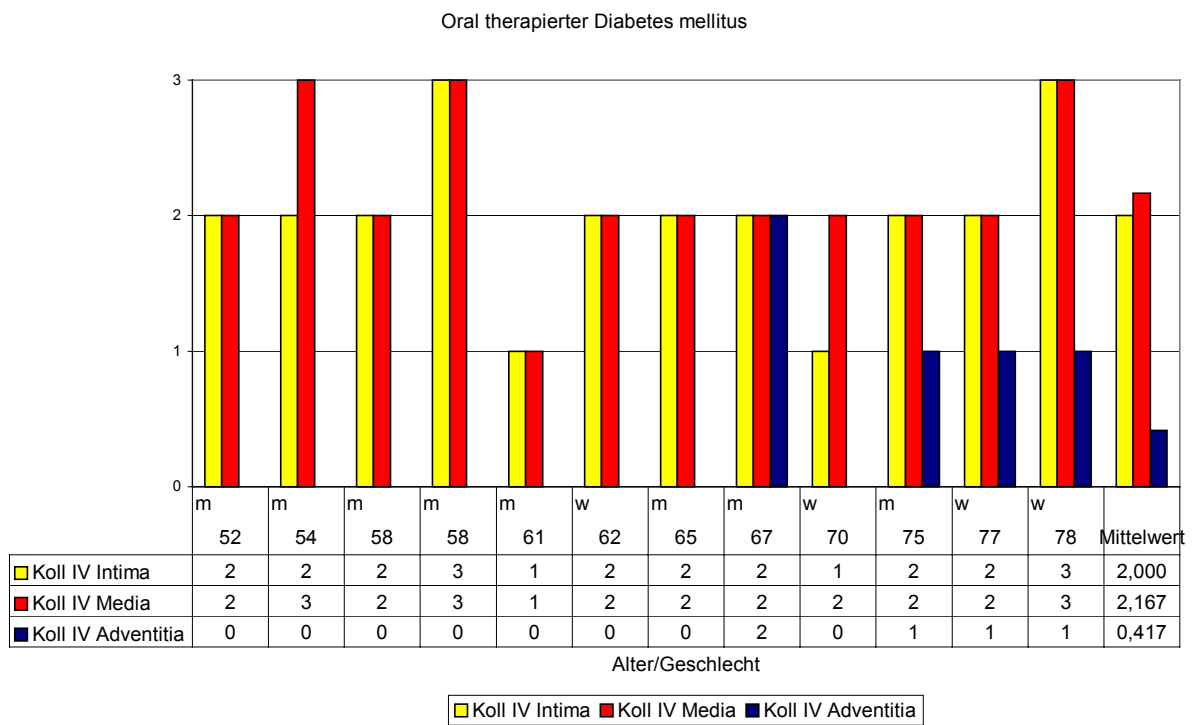


Diagramm 29 stellt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente der zwölf Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit mittels Kollagen IV dar.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier wieder von 55–76 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Kollagen IV an.

Die Intima sowie die Media aller zwölf Patienten zeigte eine mäßige Reaktion auf Kollagen IV. In der Adventitia von drei Patienten zeigte sich eine geringfügige Reaktion auf Kollagen IV. Neun Patienten reagierten nicht auf den immunhistochemischen Marker. Insgesamt zeigte sich bei den Patienten mit generalisierter arterieller Verschlusskrankheit für diesen Marker eine deutliche Tendenz für die Reaktion auf Kollagen IV vor allem in der Media und Intima der Arteria mammaria interna.

Diagramm 29:

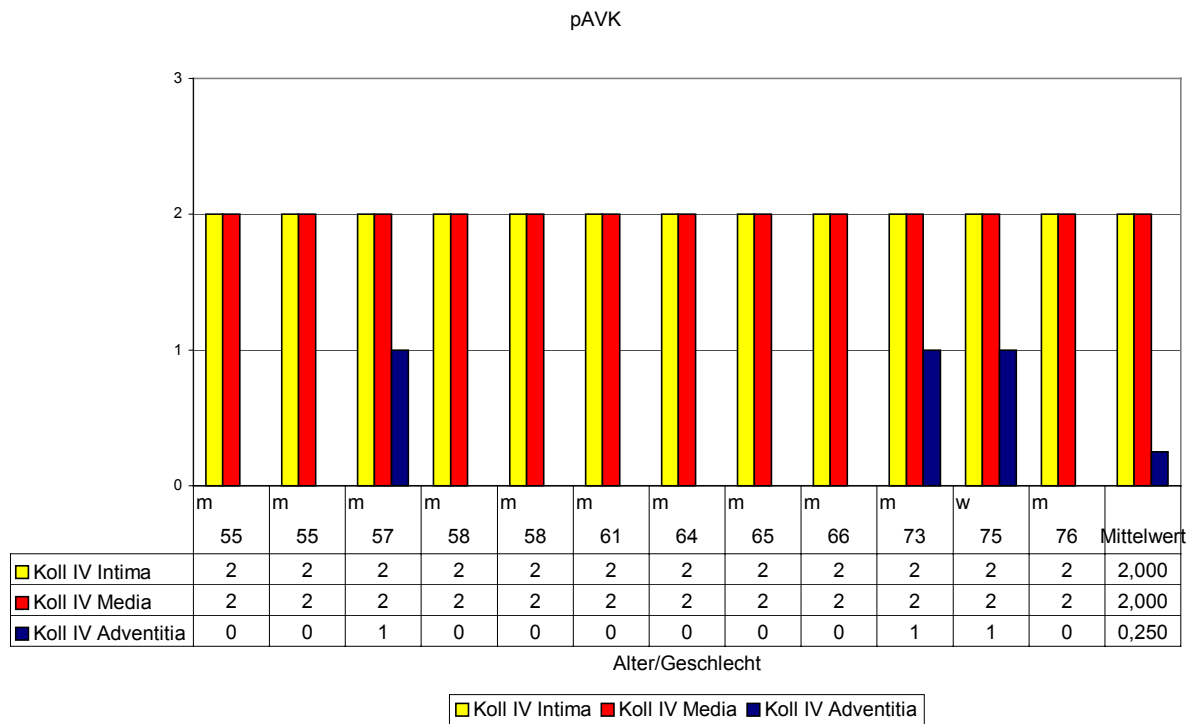
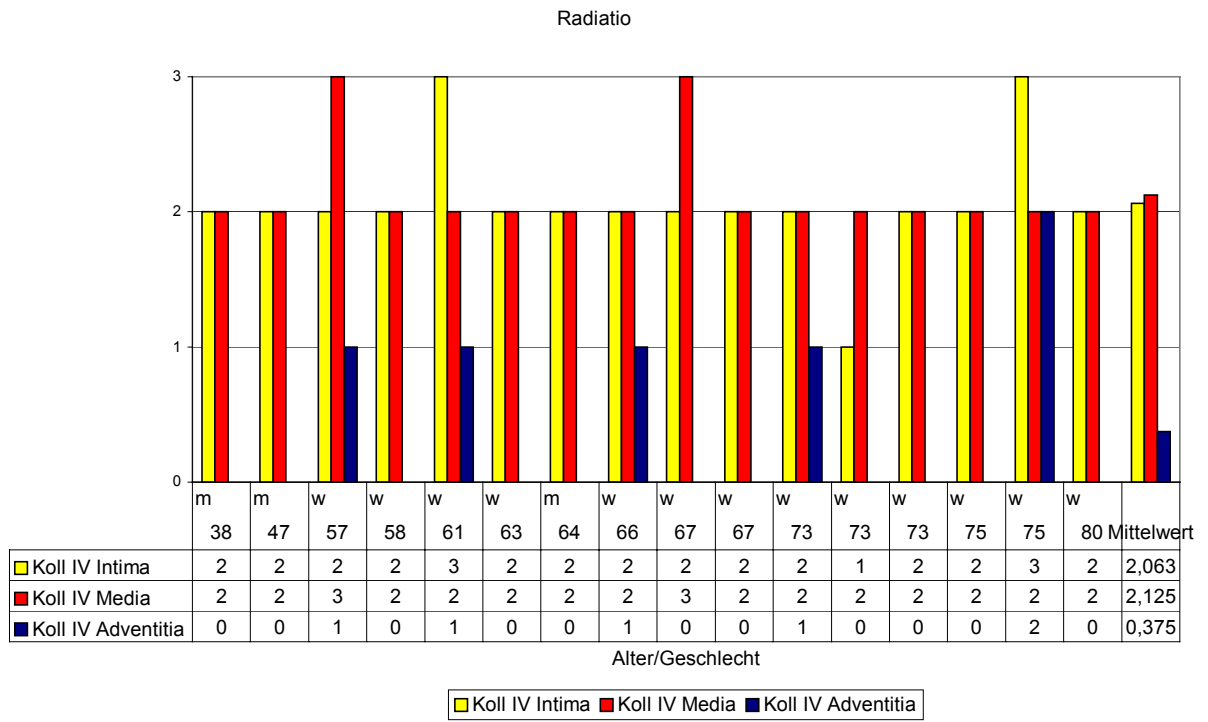


Diagramm 30 stellt eine immunhistochemische Untersuchung der distalen Arteriamammaria-interna-Segmente der 16 Patienten nach Radiatio mittel Kollagen IV dar. Kollagen IV dient als Marker von Basalmembranen von Endothelien sowie als Marker von glatter Muskulatur. Das Einwandern von glatten Muskelzellen wird mit der Entstehung von Atherosklerose in Zusammenhang gebracht.

Auf der Abszisse des Diagramms ist das Alter der Patienten aufgetragen (hier wieder von 38–80 Jahren), die Ordinate zeigt das Ausmaß der Reaktion, Grad 0-3, der Intima, Media und Adventitia der Arteria mammaria interna auf Kollagen IV.

Die Intima von zwei 61- und 75- jährigen Patienten zeigte eine deutliche (Grad 3) Reaktion auf Kollagen IV. 13 Patienten zeigten in ihrer Intima eine mäßige Reaktion auf Kollagen IV, während nur ein Patient ein geringfügige Reaktion auf Kollagen IV zeigte. In der Media zweier 57- und 67- jähriger Patienten fand sich eine deutliche (Grad 3) Reaktion auf Kollagen IV. Die Media der übrigen 14 Patienten reagierte mäßig auf Kollagen IV. Die Adventitia einer 75-jährigen Patientin zeigte eine mäßige Reaktion auf Kollagen IV. Vier Patienten reagierten in ihrer Adventitia geringfügig auf Kollagen IV, 11 Patienten reagierten gar nicht auf den immunhistochemischen Marker. Insgesamt zeigte sich auch bei den bestrahlten Patienten wieder eine deutliche Tendenz für die Reaktion auf Kollagen IV vor allem in der Media und Intima der Arteria mammaria interna.

Diagramm 30:



5 DISKUSSION

Die Frage, wie häufig atherosklerotische Veränderungen in arteriellen Transplantaten zur Koronarrevaskularisation auftreten, lässt sich nicht genau beantworten. Frühen Studien zufolge, die sich mit diesem Thema beschäftigt haben, ist die Inzidenz der Atherosklerose in der Arteria mammaria interna als relativ niedrig anzusehen [25]. Große klinische Untersuchungsreihen konnten zeigen, dass Patienten, die einen, insbesondere zwei Arteria-mammaria-interna-Bypässe erhielten, einen deutlichen Langzeitüberlebensvorteil gegenüber jenen mit ausschließlich Venentransplantaten aufweisen [12] [21].

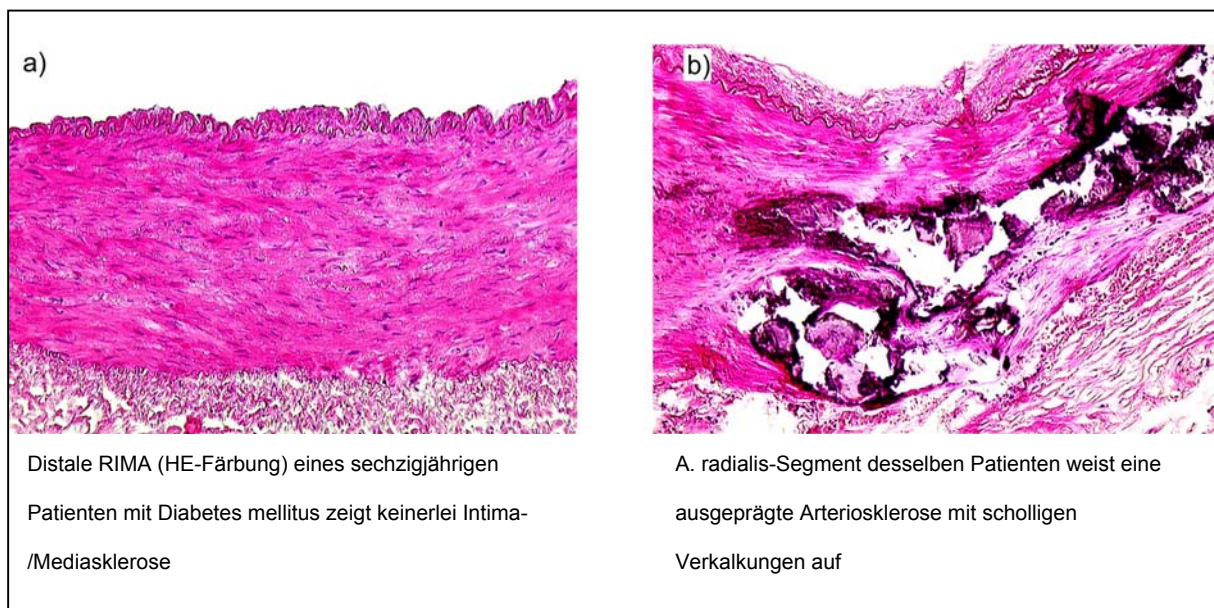
Für die Arteria epigastrica inferior wurde das Risiko einer Atherosklerose als relativ hoch beschrieben. Die Arteria gastroepiploica scheint dagegen eine vergleichsweise geringe Atheroskleroseanfälligkeit aufzuweisen. Allerdings basieren Studien zu diesem Thema auf kleinen Fallzahlen [15] [30]. Generell kann davon ausgegangen werden, dass alle derzeit in der Koronarchirurgie verwendeten arteriellen Transplantate, im Gegensatz zu den Vena-saphena-magna-Transplantaten, das ideale Lumen besitzen, um als koronare Conduits zu dienen.

Die Arteria mammaria interna eignet sich wegen ihres adäquaten Durchmessers und ihrer Beschaffenheit in idealer Weise zur Revaskularisation vorzugsweise des Ramus interventricularis anterior (RIVA) oder von Ästen der Arteria circumflexa. Bilaterale Arteria-mammaria-Transplantate zeigen außergewöhnlich gute Langzeit-Offenheitsraten, wie die Erfahrungen der letzten Jahre zeigen. Dagegen sind die Ergebnisse weniger zufriedenstellend, wenn die Arteria mammaria interna mit der rechten Koronararterie (RCA) anastomosiert wird [12] [21].

Der Durchmesser der Arteria radialis ist größer als der der Koronararterien und sie soll, speziell bei diabetischen Patienten deutlich, anfälliger für Atherosklerose sein. [18] Die Arteria epigastrica inferior ist distal sehr feinelumig (1-1,2 mm) und deshalb nur fraglich als Bypass geeignet, während sie in ihren proximalen Anteilen ein erhöhtes Risiko für Atherosklerose aufweist [15] [30]. Über das Auftreten einer Atherosklerose in der Radialarterie ist wenig bekannt, jedoch wurden atherosklerotische Veränderungen dort häufiger beschrieben als bei der Arteria mammaria interna [18].

Abb. 3 a) und b) zeigen exemplarisch histomorphologische Unterschiede eines distalen Arteria-mammaria-interna-Segmentes (1a) und Arteria- radialis-Segmentes (1b) eines insulinpflichtigen, diabetischen Patienten.

Abbildung 3



Insbesondere Diabetes mellitus soll das Auftreten einer Atherosklerose der Radialarterie sehr begünstigen [18]. Außerdem kann bei circa fünf Prozent aller Patienten die Radialarterie nicht entnommen werden, ohne den Blutfluss der Hand zu kompromittieren [5]. Dagegen kann eine Arteria mammaria interna oder sogar das bilaterale Arteria-mammaria-interna-Transplantat als Bypass verwendet werden ohne ein erhöhtes Risiko für Wundheilungsstörungen oder Sternuminstabilitäten zu identifizieren, da der sternale Blutfluss durch die Entnahme nicht wesentlich beeinträchtigt wird [10].

Patienten, die wegen Malignomen im Thoraxbereich bestrahlt wurden, gelten in der Koronarchirurgie als eine Hochrisikopopulation für den Arteria-mammaria-interna-Bypass. In einer histologischen Studie zu diesem Thema, mit nach unserem Kenntnisstand den weltweit größten Patientenzahlen, wurde kein vermehrtes Auftreten einer Intimafibrose der Arteria mammaria interna durch die vorangegangene Bestrahlung festgestellt [11].

Wenige Publikationen, die sich mit der histomorphologischen Beschaffenheit der Arteria mammaria interna beschäftigen, begründen das Fehlen einer Atherosklerose in der IMA damit, dass dieses Gefäß eines der wenigen arteriellen Transplantate vom überwiegend elastischen Typ darstellt. Die Arbeitsgruppe um van Son beschreibt eine intraindividuelle Variabilität der histomorphologischen Beschaffenheit der Arteria mammaria interna von ihrem Ursprung aus der Arteria subclavia bis zu ihrer Aufzweigung in Arteria epigastrica und Arteria musculophrenica [29]. Besonderes Augenmerk wurde in dieser Untersuchungsreihe auf den Grad der Ausprägung elastischer Media in der Arteria mammaria interna gelenkt. Diese Untersuchung zeigte, dass vor allem die distalen Abschnitte der Arteria mammaria

interna vom elastischen oder elastomuskulären Typ waren. Nur ein kleiner Anteil der distalen Arteria-mammaria-interna-Segmente, die normalerweise nicht den Anastomosenbereich repräsentieren, wiesen Merkmale eines muskulären Typs mit nur spärlichen elastischen Fasern auf.

Einige wenige durchgeführte histomorphologische Studien (zeigten ein niedriges Atheroskleroserisiko des Arteria-mammaria-interna-Bypasses, und bestätigten die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungsreihe. [29] [26]. Marx et al. fand bei zwölf Prozent der untersuchten Arteriae mammae internae eine minimale Verengung des Arteria-mammaria-interna-Lumens, was auf eine manifeste Intimaverdickung zurückgeführt werden konnte. Auch in dieser Studie ergab sich kein Anhalt für Verschlüsse oder Zeichen einer Atherosklerose der IMA. [23]. Die Ergebnisse dieser Studie korrelieren positiv mit unseren eigenen Ergebnissen, da wir bei nur drei bis sechs Prozent der untersuchten Patienten eine mittelgradige Fibrose der Intima, unabhängig von der Koexistenz eines Diabetes mellitus gefunden haben. Eine allenfalls als gering zu bezeichnende Fibrose der Intima fanden wir bei vorangegangenen thorax-bestrahlten Patienten (62%), jedoch wies keines dieser Arteria-mammaria-interna-Segmente die von anderen Autoren beschriebene schwere Fibrose oder strahleninduzierte Okklusion auf. Es zeigte sich eine Tendenz zur mäßigen Fibrose der Intima bei insulinabhängigen Diabetikern (sechs Prozent; statistisch nicht signifikant) verglichen mit den untersuchten nicht insulinabhängigen Diabetikern (drei Prozent) und der Kontrollgruppe (fünf Prozent).

Nur wenige Studien analysierten einen potentiellen Unterschied hinsichtlich der Intima von Arteria-mammaria-interna-Segmenten diabetischer und nicht-diabetischer Patienten [18] [24]. Die Arbeitsgruppe um Ribau [24] führte immunhistochemische

Studien unter Verwendung von intrazellulären und vaskulären Zelladhäsionsmolekülen 1 und E-Selektin durch, ohne jedoch einen signifikanten Unterschied in der Expression dieser Moleküle zwischen Arteriae mammae internae von Diabetikern und Nicht-Diabetikern zu finden. Die Verifizierung einer Intimaverdickung erfolgte in dieser Arbeit durch Auszählung der Anzahl glatter Muskelzellen in der Intima und Media der Arteria-mammaria-interna-Segmente. Es stellte sich heraus, dass die Intima der Arteria-mammaria-interna-Segmente der diabetischen Patienten doch signifikant verdickt war ($p < 0.05$). Bei dieser Studie handelte es sich jedoch um eine sehr kleine Fallzahl ($n = 10$).

In unserer Untersuchungsreihe konnten wir das Vorhandensein glatter Muskelzellen in der Intima oder Media kaum darstellen, allenfalls zeigte sich eine sehr schwache Reaktion auf CD34 (Marker für glatte Muskelzellen). Der immunohistochemisch definierte Grad einer Atherosklerose überstieg in keinem Fall eine geringgradige Reaktion auf CD68 (zellulärer Marker für Makrophagen und Histozyten), Tenascin und Kollagen III (Marker für kollagene Fibrillen). Für diabetische und nicht-diabetische Patienten fand sich kein wesentlicher Unterschied. Für Kollagen IV, das die Basalmembran von Endothelien und Zellen glatter Muskulatur von Blutgefäßen identifiziert, fanden sich im Mittel Werte zwischen 1.8 und 2.2, was einer geringfügigen bis mäßigen Reaktion entspricht. Da Kollagen IV bekanntermaßen in allen Arterien vom elastischen Typ nachweisbar ist, lässt sich dieses Phänomen erklären.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Die klinische Erfahrung und die histomorphologischen sowie immunhistochemischen Ergebnisse der Studien bezüglich der Atheroskleroseresistenz in der Arteria mammaria interna korrelieren sehr gut. In der aktuell durchgeführten Studie zeigten die 203 untersuchten Arteria-mammaria-interna -Segmente von Patienten eines nicht selektionierten Routinekollektives eine relative Atheroskleroseresistenz. In die Untersuchungsreihe eingeschlossen wurden 203 Patienten, die sich von 1999 bis einschließlich 2003 im Krankenhaus Bogenhausen einer Routinebypassoperation unterzogen. Ein distales Endstück der Arteria mammaria interna, welches normalerweise verworfen wird, wurde dabei entnommen und zur histologischen sowie immunhistochemischen Untersuchung eingesandt. In der Regel wurde dabei sowohl die rechte als auch die linke Arteria mammaria interna untersucht.

Das Patientenkollektiv wurde einer Risikofaktorenanalyse unterzogen und in Gruppen getrennt ausgewertet. Als Risikofaktoren wurden medikamentös behandelter Diabetes mellitus, insulinpflichtiger Diabetes mellitus, generalisierte arterielle Verschlusskrankheit sowie Radiatio unterschieden. Diese Patienten wurden mit einer Kontrollgruppe verglichen, die an Risikofaktoren nur einen Hypertonus oder eine Hyperlipidämie aufwies (Patienten ohne einen dieser beiden Risikofaktoren waren praktisch nicht vorhanden). Des Weiteren wurden die Patienten in definierten Altersgruppen getrennt ausgewertet.

Die histomorphologischen Untersuchungen unter Verwendung der Elastica-van-Gieson-Färbung (markiert vor allem retikuläre Fasern und Kollagenfibrillen) der Segmente ergaben in der Mehrzahl keine oder allenfalls eine geringe Intima-

/Mediafibrose. Immunhistochemische Untersuchungen unter Verwendung von fünf monoklonalen Antikörpern CD34, CD68, Tenascin, Kollagen III und IV bestätigten die histomorphologischen Befunde. Es ergab sich keine unterschiedliche Reaktion bei Segmenten von Patienten mit den Grunderkrankungen Diabetes mellitus (oral therapiert oder insulinpflichtig), periphere arterielle Verschlusskrankheit oder Zustand nach Thoraxbestrahlung im Vergleich zu Patienten der Kontrollgruppe (nur Fettstoffwechselstörung oder Hypertonus). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass histomorphologisch und immunohistochemisch kein relevanter Einfluss auf die Atheroskleroseinzidenz der Arteria mammaria interna durch Diabetes mellitus, periphere arterielle Verschlusskrankheit oder Bestrahlung nachweisbar war.

Patienten mit diesen Grunderkrankungen sollten daher Arteria-mammaria-interna-Bypässe zumindest aus histologischer Sicht nicht vorenthalten werden.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Barner HB, Barnett MG.
Fifteen to twenty-one-year angiographic assessment of internal thoracic artery as a bypass conduit.
Ann Thorac Surg 1994 Jun ; 57(6): 1526-8

2. Barner HB, , Reese J, Standeven JW.
Twelve-year experience with internal mammary artery for coronary artery bypass.
J Thorac Cardiovasc Surg 1985 Nov, 90 (5):668-75

3. Barner HB, Swartz MT, Mudd JG, Tyras DH.
Late patency of the internal mammary artery as a coronary bypass conduit.
Ann Thorac Surg 1982 Oct; 34 (4): 408-12

4. Boss A., Eckstein F, Frenz M, Schaffner T., Meier B, Carrel T.
Transmyokardiale Laserrevaskularisation: etabliertes Verfahren , Akupunktur am Herzen oder Plazebo-effekt?
Schweizer Med Forum Nr. 19 9.Mai 2001

5. Buxton BF, Komeda M, Fuller JA, Gordon I.
Bilateral internal thoracic artery grafting may improve late results of coronary artery surgery.
Circulation 1997; 96 (Suppl I): 432 (abstract)

6. Cameron A, Davis KB, Green G, et al.
Coronary bypass surgery with internal-thoracic-artery grafts. effects on survival over a 15-year period .
N Engl J Med 1996 Jan 25; 334(4):216-9

7. Cordell JL, Falini B, Erber WN, Ghosh AK, Abdulaziz Z, MacDonald S, Pulford KA, Stein H, Mason DY.
Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP-complexes).
J Histochem Cytochem 1984 Feb; 32(2): 219-29

8. Fiore AC, Naunheim KS, Dean P, et al.
Results of internal thoracic artery grafting over 15 years: single versus double grafts.
Ann Thorac Surg 1990 Feb;49(2):202-8; discussion 208-9

9. Garber AJ.
Effective treatment of hypertension in patients with diabetes mellitus.
Clin. Cardiol 1992 Oct; 15(5):715-9

10. Gansera B, Günzinger R, Angelis I, et al.
End of millenium-end of the single thoracic artery graft? Two thoracic arteries - standard for the next millenium? Early clinical results and analysis of risk factors in 1487 patients with bilateral internal thoracic artery grafts.
Thorac Cardiovasc Surg 2001 Feb, 49(1): 10-5

11. Gansera B, Hashemi A, Angelis I et al.

Cardiac Surgery in patients with previous carcinoma of the breast and mediastinal irradiation: is the internal thoracic artery graft obsolete?

Thorac Cardiovasc Surg 1999 Dec; 47 (6) : 376-80

12. Gansera B, Schiller M, Kiask T, Angelis I, Neumaier-Prauser P, Kemkes BM.

Internal thoracic artery vs. vein grafts-postoperative angiographic findings in symptomatic patients after 1000 days.

Thorac Cardiovasc Surg 2003 Oct; 51(5): 239-43

13. Grondin CM, Campeau L, Lesperance J et al.

Comparison of late changes in internal mammary artery and saphenous vein grafts in two consecutive series of patients 10 years after operation.

Circulation 1984 Sep, 70: 1208-12

14. Guo Wei-He editor

Arterial grafts for coronary Artery Bypass Surgery

A Textbook for Cardiovascular Clinicians and Researchers

Springer Verlag 1999; 14-5

15. He GW, Acuff TE, Ryan WH, Yang CQ, Mack MJ.

Functional comparison between the human inferior epigastric artery and internal mammary artery. Similarities and differences.

J Thorac Cardiovasc Surg 1995 Oct; 109(1):13-20

16. Hsu SM, Raine L, Fanger H.

A comparative study of the peroxidase-antiperoxidase method and an avidin-biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies.

Am J Clin Pathol 1981 May; 75(5): 734-8

17. Jones JW, Ochsner JL, Mills NL, Hughes L.

The internal mammary bypass graft : a superior second coronary artery.

J Thorac Cardiovasc Surg 1978 Apr; 75(4): 625-31

18. Kaufer E, Factor SM, Frame R, Brodmann RF.

Pathology of the radial and internal thoracic arteries used as coronary artery bypass grafts.

Ann Thorac Surg 1997Apr; 63(4): 1118-22

19. Levin ME, Sicard GA.

Peripheral vascular disease in the person with diabetes.

Elsevier Science 1990; 768-91

20. Loop FD, Lytle BW, Cosgrove DM, et al.

Influence of the internal-mammary-artery graft on 10-year survival and other cardiac events.

N Engl J Med 1986 Jan; 314(1): 1-6

21. Lytle BW, Blackstone EH, Loop FD, et al.

Two internal thoracic artery grafts are better than one.

J Thorac Cardiovasc Surg 1999 May; 117(5): 855-72

22. Lytle BW, Loop FD, Cosgrove DM, et al.

Longterm (5 to 12 years) serial studies of internal mammary artery and saphenous vein coronary bypass grafts.

J Thorac Cardiovasc Surg 1985 Feb; 89(2):248-58

23. Marx R, Clahsen H, Schneider R, Sons H, Klein RM, Gülker H.

Histomorphological studies of the distal internal thoracic artery which support its use for coronary artery bypass grafting.

Atherosclerosis 2001 Nov; 159(1): 43-8

24. Ribau JC, Hadcock SJ, Teoh K, De Reske M, Richardson M.

Endothelial adhesion molecule expression is enhanced in the aorta and internal mammary artery of diabetic patients.

J Surg Res 1999 Aug; 85(2): 225-33

25. Sims FH.

A comparison of coronary and internal mammary arteries and implications of the results in etiology of arteriosclerosis.

Am Heart J 1983 Apr; 105(4): 560-6

26. Sisto T.

Atherosclerosis in internal mammary and related arteries.

Scand J Thorac Cardiovasc Surg 1990, 24(1): 7-11

27. Tector AJ, Kress DC, Downey FX, Schmahl TM.

Complete revascularization with internal thoracic artery grafts.

Semin Thorac Cardiovasc Surg 1996 Jan; 8(1): 29-41

28. van Son JA, Falk V, Walther T, Smedts FM, Mohr FW.

Low-grade intimal hyperplasia in internal mammary and right gastroepiploic arteries as bypass grafts.

Ann Thorac Surg 1997 Mar; 63 (3) : 706-8

29. van Son JA, Smedts FM, de Wilde PC, et al.

Histological study of the internal mammary artery with emphasis on its suitability as a coronary artery bypass graft.

Ann Thorac Surg 1993 Jan; 55(1): 106-13

30. van Son JA, Smedts FM, Yang CQ, et al.

Morphometric study of the right gastroepiploic and inferior epigastric arteries.

Ann Thorac Surg 1997 Mar; 63 (3): 709-15

8 DANKSAGUNG

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. Kemkes für die Überlassung dieses interessanten Themas.

Frau Dr. Brigitte Gansera danke ich für Ihre äußerst tatkräftige, engagierte und freundliche Betreuung, die weit über jedes übliche Maß hinausging. Herzlichen Dank für Ihren schlichtweg unermüdlichen Einsatz für das Vorankommen und die Fertigstellung der Arbeit.

Bei Herrn Dr. Rohrbach bedanke ich mich ganz besonders für die aufgewendete Zeit bei der aufwendigen Durchsicht und Korrektur der histomorphologischen und immunhistochemischen Teile der Arbeit. Bei den Mitarbeitern der pathologischen Abteilung bedanke ich mich für Ihre freundliche Hilfe und Unterstützung.

Weiterhin möchte ich mich beim gesamten Team der herzchirurgischen Abteilung bedanken, insbesondere bei Frau Sailer, Frau Schneider und Frau Eisenhauer, die mir stets freundlich bei allen aufkommenden Problemen weitergeholfen haben.

Bei Frau Adelheid Loef bedanke ich mich insbesondere für die grammatikalische Korrektur der Arbeit.

Und ganz besonderer Dank gilt meinem Freund Georg Schultheiß und meiner Familie für Ihre großartige Unterstützung.

9 LEBENS LAUF

Name: Verena Vogel
 Geburtsort und -datum: 19. Dezember 1978 in Kempten
 Nationalität: deutsch
 Familienstand: ledig

Schul Ausbildung:

1985-1989 Grundschole an der Fürstenstraße Kempten
 1989-1998 Carl-von-Linde-Gymnasium, Kempten
 06/1998 Hochschulreife

Studium:

05/1999-05/2005 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-
 Maximilians-Universität München
 03/2001 Ärztliche Vorprüfung
 03/2002 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 03/2004 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 05/2005 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr:

04/2004 Institut für Arbeits- und Umweltmedizin der
 Ludwig-Maximilians-Universität München
 08/2004 Instituto de Investigaciones Medicas
 Alfredo Lanari
 Universidad de Buenos Aires/Argentinien
 Fachbereich: Chirurgie
 11/2004 Krankenhaus München-Neuperlach
 2. Medizinische Abteilung

Promotion:

09/2002 Doktorandin in der Abteilung für
 Kardiovaskularchirurgie am Krankenhaus
 München-Bogenhausen (Prof. Dr. B.M.
 Kemkes)

Arbeitsstelle:

seit 10/2005 Assistenzärztin in der Abteilung für Interne
 Medizin an der Kreisklinik Ebersberg