

Aus dem Deutschen Herzzentrum Berlin
Stiftung des Bürgerlichen Rechts

D I S S E R T A T I O N

**Histomorphometrische Untersuchungen von Herzmuskelzellen bei
Organspendern, Patienten mit koronarer Herzkrankheit und
Patienten mit Aortenklappenstenose
- Eine Studie der Herzhypertrophie -**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Daniela Genova
aus Sofia

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. R. Meyer
2. Prof. Dr. med. Dr. h. c. H. Guski
3. Priv.-Doz. Dr. med. habil. B. Bockholdt

Datum der Promotion: 16.10.2007

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	- 1 -
1.1	Normale Struktur des Myokards	- 1 -
1.2	Das hypertrophe Myokard	- 5 -
1.3	Arbeitshypothesen und Aufgabenstellung	- 10 -
2	Material und Methoden	- 11 -
2.1	Untersuchungsmaterial	- 11 -
2.2	Untersuchungsmethoden	- 18 -
2.2.1	Gewebeproben	- 18 -
2.2.1.1	Mikroskopie	- 19 -
2.2.1.2	Morphometrie mit EasyMeasure®	- 20 -
2.2.1.3	Fibrosemessung mit KS 400 Release 3.1	- 24 -
2.2.2	Patienten	- 24 -
2.3	Statistik	- 25 -
3	Ergebnisse	- 26 -
3.1	Analyse der Patientenpopulationen	- 26 -
3.2	Ergebnisse der Herzkatheteruntersuchung	- 29 -
3.3	Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung	- 31 -
3.4	Ergebnisse der Morphometrie mit EasyMeasure®: Herzmuskelzellgröße	- 34 -
3.5	Ergebnisse der Morphometrie mit KS 400 Release 3.1: Fibroseausprägung	- 42 -
3.6	Analyse der EasyMeasure – Ergebnisse	- 47 -
4	Diskussion	- 56 -

Wie groß die Welt ist, merkt man erst, wenn man etwas darin sucht.

Robert Gernhardt

1 Einleitung

Das Herz ist die treibende Kraft für die Versorgung der 100 Billionen Zellen (Kunsch et al. 2000) eines Menschen mit Sauerstoff und Nährstoffen sowie für den Abtransport der Stoffwechselprodukte. Bereits 280 Jahre vor Christus erforschte Aristoteles das Herz und bezeichnete es als „Sitz der Seele und Quelle jeder Bewegung“. In den nachfolgenden Jahrhunderten standen die Anatomie und die Funktion dieses faszinierenden Organs im Mittelpunkt wissenschaftlichen Interesses. Erst die Entdeckung des Mikroskops um das Jahr 1600 ermöglichte aber den Blick in die feingeweblichen Strukturen und verbesserte das Verständnis für die Herzaktionen. Der holländische Naturforscher und Mikroskopiker Antonie van Leeuwenhoek (1632 - 1723) beschrieb als erster die Querstreifung der Muskelfasern und die netzförmige Struktur des Herzmuskels (Schott et al. 1993). Seine Erkenntnisse gerieten aber in Vergessenheit, bis sie im 19. Jahrhundert von dem Schweizer Anatom von Kölliker wieder ins Gedächtnis gerufen und vielfach erweitert wurden (Eberth 1866). In den nachfolgenden Jahrzehnten folgte eine rasante Entwicklung der Forschung auf diesem Gebiet, so dass der Feinbau des Herzmuskels heutzutage kein Rätsel mehr ist.

1.1 Normale Struktur des Myokards

Das Myokardgewebe setzt sich aus Herzmuskelzellen und einem dezent ausgebildeten bindegewebigen Netzwerk zusammen, in dessen Maschen sich ein dichtes Kapillargeflecht verzweigt. Nach der Geburt liegt das Verhältnis von Bindegewebs- zu Myozytenkernen etwa bei 1:1. Während des normalen Herzwachstums und bei der Herzhypertrophie nimmt die Anzahl der Fibrozyten zu und das Verhältnis verschiebt sich bei Erwachsenen auf 5:2 zugunsten der Bindegewebszellen (Adler 1972a, 1972b). Obwohl die Myozyten mit 25 – 30 % der Zellen zahlenmäßig nur etwa 1/3 bis 1/4 aller Myokardzellen darstellen, nehmen sie mit 70 – 75 % den volumenmäßig größten Anteil des Myokards ein (Astorri et al. 1977, Canale et al. 1986, Jantunen et al. 1989).

Die zwei Milliarden Herzmuskelzellen (Adler 1972a, Adler 1972b) hängen typischerweise durch spitzwinklige Verzweigungsbrücken (Dichotomie) zusammen und stoßen im Bereich der Kittlinien (Glanzstreifen, Disci intercalares) aneinander. Anatomisch handelt es sich also bei dem Herzmuskel nicht um ein Synzytium, wie man früher glaubte. Die dicht geschlängelten

Glanzstreifen stellen eine besondere Abwandlung des Sarkolemm dar und sind für die Erregungsfortleitung von Zelle zu Zelle verantwortlich (Degenring 1976). Obwohl die Herzmuskelfasern aus praktischen Gründen oft zylindrisch dargestellt werden, ist das in Wirklichkeit nicht der Fall. Nur in jugendlichen Herzen und Herzen unterhalb der Gewichtsgrenze von 350 g, sowie im rechten Ventrikel, haben die Querschnitte der Herzmuskelzellen angenäherte Kreisflächen. Bei schweren Kammerwänden sind sie unregelmäßig gelappt und eingebuchtet. Dabei nehmen die Abweichungen von der Kreisfläche mit steigendem Herzgewicht zu (Linzbach 1947, 1950). Der Herzmuskelzellkern ist meistens zentral gelegen, rechteckig im Längsschnitt, und weist eine perinukleäre hellere Zone auf, die Lipofuszinpigment enthalten kann. Die meisten Kardiomyozyten sind einkernig, gelegentlich kommen aber auch zweikernige Zellen vor (Adler 1972a, Anderson et al. 1982). Die charakteristische Querstreifung des Sarkoplasmas ist durch die Querstreifung der zahlreichen Myofibrillen bedingt, die bleistiftminenähnlich, in paralleler Anordnung alle Herzmuskelzellen durchziehen, ohne sich von den Glanzstreifen in ihrer Längsanordnung ablenken oder verschieben zu lassen (Degenring 1976). Zwischen den Myofibrillen befinden sich die longitudinal gereihten Mitochondrien. Lichtmikroskopisch imponieren sie als Trennlinien und verleihen dem Sarkoplasma zusätzlich eine Längsstreifung (Canale et al. 1986).

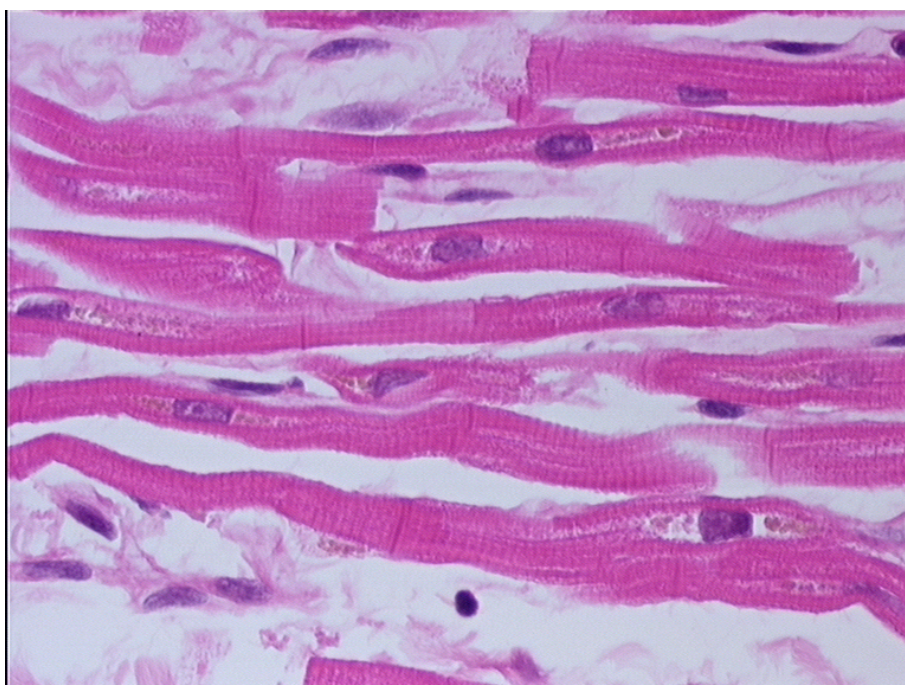


Abb. 1: Längsgeschnittene Herzmuskelzellen in Hämatoxylin- Eosin- Färbung – die Kittlinien, der Kernhof mit den Lipofuszinablagerungen, die typische Querstreifung aber auch die längs angeordneten Myofibrillen sind deutlich zu erkennen.

Die Herzmuskelzellmembran ist mit dem Endomysium, dem lockeren bindegewebigen Interstitium direkt verbunden. Dieses läuft in das Perimysium, die größeren bindegewebigen Septen zwischen den Faserbündeln, aus (Caesar 1999). Das Endo- und das Perimysium bergen ein dichtes anastomosierendes Netzwerk von Blutkapillaren, welches dreidimensional bevorzugt entsprechend der Längsachse der Myozyten angeordnet ist. Kurz nach der Geburt liegen vier Muskelfaserquerschnitte zwischen vier Kapillaren. Im Wachstumsalter kommt es zur Proliferation der kleinen Blutgefäße des Myokards, so dass bei Erwachsenen nur ein Faserquerschnitt zwischen vier Kapillaren liegt (siehe Abb. 2). In gesunden ausgereiften Herzen entfällt also eine Kapillare auf eine Muskelfaser und diese Relation bleibt sowohl in hypertrophen als auch in hyperplastischen Herzen erhalten (Hecht 1958, Roberts et al. 1941, Hort 1955b).

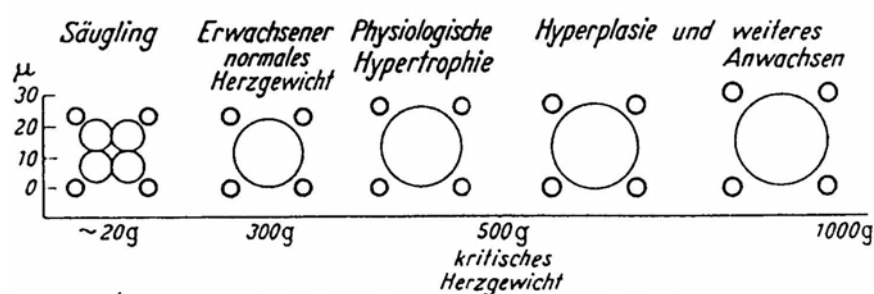


Abb. 2: Muskelfaserquerschnitte (große Kreise) in den Maschen des Kapillarnetzes (kleine Kreise) in Herzen von Säuglingen, gesunden Erwachsenen sowie in Herzhypertrophie und –hyperplasie – originale Schemazeichnung von Hort 1955.

Die Pathophysiologie des Herzens kann aber besser verstanden werden, wenn nicht nur die Morphologie, sondern auch die quantitativen strukturellen Verhältnisse dieses Organs in Gesundheit und Krankheit bekannt sind (Linzbach 1960). Einige mikroskopische Studien der neueren Zeit erforschten deshalb das Myokard aus dem Blickwinkel der Morphometrie. Der Durchmesser und die Querschnittsgröße der Herzmuskelzellen waren dabei die am häufigsten gemessenen Größen. Darüber hinaus wurden die Länge und das Volumen der Myozyten bestimmt. Die vorliegende Arbeit beschränkte sich auf den Zelldurchmesser als Maß für die Größe der Herzmuskelzellen.

In zahlreichen Fachbüchern der Histologie findet man Angaben über den Durchmesser der Kardiomyozyten. So könnte man denken, dass diesbezüglich weitreichende Untersuchungen vorliegen, wenn man sich auch wundert, warum sich die Größenangaben von Buch zu Buch so sehr unterscheiden. Tatsächlich aber wurden im Schrifttum nur wenige Arbeiten gefunden, die

sich mit der Größe der Herzmuskelzellen in normalen Herzen gesunder Erwachsener beschäftigten (siehe Tab. 1). Fasst man die Ergebnisse dieser Arbeiten zusammen, so ist die Verwirrung groß. Sowohl 5 µm als auch 20 µm sollen den Durchmesser normaler Myozyten repräsentieren? Die beträchtlichen Unterschiede zwischen den verschiedenen Autoren sprechen dafür, dass noch Forschungsbedarf auf diesem Gebiet besteht.

Tab. 1: Herzmuskelzellendurchmesser im linken und im rechten Ventrikel gesunder Erwachsener

Autor/Jahr	HMZ – Diameter in µm		Untersuchte Normalherzen	Vermessene Zellen
	LV	RV		
Goldenberg 1886	12,85	11,09	9	100
Roberts et al. 1941	MW für RV und LV – 13,9		26	160
Ashley 1945	19,5	16,1	10	86
Wendt et al. 1947	16,7	12,3	8	100
Ishikawa 1972	11,35	9,36	25	200
Fuster et al. 1977	5,8	/	22	16
Baandrup 1981	14,4	11,6	29 ^{*)}	≥ 20
Hoshino et al. 1983	11,2 – 13	9,9	16	100
Gregory et al. 1983	12,8	11,18	10 ^{*)}	65
Vliegen et al. 1987	17,5 – 18,4	/	12	50
Jantunen et al. 1989	16,0	/	10	100 - 200
Sawada et al. 1991	18,2	/	5	50
Gerdes et al. 1992	19,0	/	3	bzgl. L – 40; bzgl. V – 12.000

HMZ = Herzmuskelzelle; LV = linker Ventrikel; RV= rechter Ventrikel; MW = Mittelwert; ^{*)} = darunter auch Herzen von Kindern oder Jugendlichen; L = Zelllänge; V = Zellvolumen

Es wurde zum Ziel dieser Arbeit, das menschliche Myokard an üblichen histologischen Präparaten durch eine einfache und zuverlässige Methode morphometrisch zu charakterisieren. Da in der Natur selbst innerhalb eines Organismus keine Gleichheit der Zelldimensionen vorkommt, wäre der mittlere Diameter der Kardiomyozyten zwar ein guter Vergleichswert, für eine ausführliche Beschreibung der Myokardarchitektur aber auf keinen Fall ausreichend. Viel aufschlussreicher wäre es zu wissen, wie sich die Herzmuskelzellen anhand ihres Durchmessers in verschiedene Größenklassen verteilen. Eventuelle Unterschiede zwischen dem links- und dem rechtsventrikulären Myokard, aber auch zwischen den Geschlechtern, wären ebenso von Interesse. Eine so detaillierte morphometrische Charakterisierung des gesunden Herzens wäre ein hervorragender Vergleichsmaßstab bei der Diagnose vieler Krankheitszustände.

1.2 Das hypertrophe Myokard

Im Allgemeinen gilt das menschliche Herz als ein zellkonstantes Organ (Linzbach 1947, 1950, Hort 1953, Linzbach 1960, Adler 1972b, Linzbach 1976, Grajek et al. 1993). Nachdem etwa zwei bis drei Monate nach der Geburt die definitive Zellzahl von 2×10^9 Herzmuskelzellen (Adler 1972a, Adler 1972b) erreicht ist, erfolgt die weitere Vergrößerung des Herzens durch physiologische Wachstums- und Differenzierungsvorgänge. Dabei ist das Wachstum der Muskelfasern harmonisch, d.h. das Verhältnis von Länge zu Breite bleibt erhalten (Linzbach 1948). Am Ende der Wachstumsperiode erreicht das Herz sein Normalgewicht von 300 – 350 g und der Herzmuskelzelldurchmesser im linken Ventrikel bewegt sich, je nach Fixierung, Einbettung und Messpunkt, zwischen 10 und 15 μm (Meessen 1971b, Knieriem 1972). Wird das Herz nun einem chronisch vermehrten Wandstress ausgesetzt, so entwickelt sich eine Herzhypertrophie.

Die Hypertrophie ist definitionsgemäß eine Zunahme der „funktionierenden Masse“ des Myokards, d.h. eine Vergrößerung der vorhandenen Herzmuskelzellen durch Veränderungen in deren Durchmesser, deren Länge oder deren Volumen (Knieriem 1972, Meessen 1974, Rapaport 1982). Der Hypertrophieprozess verläuft in drei Stadien (Meerson 1969). Das erste, so genannte Schädigungs- oder Havariestadium, ist mit einer starken Belastung des Stoffwechsels der Muskelzellen als Folge einer vermehrten Arbeitsleistung assoziiert. Diese Belastung wird in der zweiten „Phase der stabilen Überfunktion“ durch Vermehrung der Mitochondrien und Neubildung von Myofibrillen ausgeglichen. Dabei können die Herzmuskelzellen einen Durchmesser von 25 bis 50 μm erreichen und es wird an funktionierender Masse gewonnen (Meessen 1971b). Ein hypertrophes Herz ist auf ein höheres Arbeitsniveau eingestellt und ist von vornherein in der Lage, die geforderte Arbeit zu leisten. Die Hypertrophie ist also als eine durchaus sinnvolle strukturelle Anpassung zu betrachten. Allerdings ist dieser Prozess mit einer Abnahme der funktionellen Reserve verbunden. Bei hohen Hypertrophiegraden ist die Reservekraft irgendwann ausgeschöpft und die Herzen können minimalen Mehranforderungen nur noch mit unökonomischer Arbeitssteigerung begegnen. Sie tragen „den Keim des Todes in sich“ (Linzbach 1947). Strukturelle Degeneration und funktionelle Insuffizienz des Myokards charakterisieren dieses dritte „Ermüdungsstadium“ des Hypertrophieprozesses.

Histologisch bietet das hypertrophe Herz ein buntes Bild. Es finden sich verlängerte und verdickte Muskelzellen. Normalerweise sind sie beim Erwachsenen maximal 15 μm dick und werden bei Hypertrophie über 25 – 30 μm dick. Bei Werten zwischen 16 und 20 μm Dicke

spricht man von leichter, zwischen 21 und 25 μm von mittlerer, darüber von schwerer Hypertrophie (Kunkel et al. 1982, Caesar 1999). Andere Autoren setzten die Grenzen der einzelnen Hypertrophieklassen tiefer. So bewegt sich für sie die leichte Hypertrophie zwischen 15,1 und 17 μm , bei 17,1 bis 19 μm sprechen sie bereits von mittelstarker und ab 19,1 μm von starker Hypertrophie (Hausmann 2004, Labschies 2006). Die Zelllänge kann bis zu 120 μm erreichen. Durch die Zunahme des Durchmessers und damit der Querschnittsfläche ist die Dichte der Myozyten vermindert. Tief einschneidende Längsfurchen verleihen den Herzmuskelfasern ein gelapptes und buchtenreiches Aussehen, oft umschließen die Fasern einzelne Kapillaren mantelartig. So wird die Zelloberfläche vergrößert und der Sauerstoff- und Nährstoffaustausch verbessert. Großer Formwandel bei der Hypertrophie erfahren auch die Myokardkerne. Aschoff (zitiert in Adler 1972a) beschrieb Anfang des 20. Jahrhunderts sog. Leistenkerne mit tiefen längs verlaufenden Rinnen und Buchten. Diese kommen durch eine Einbuchtung der Kernmembran durch die hypertrophierten Myofibrillen im Zytoplasma zustande (Adler 1972a). Im Querschnitt sind die Kerne bizarr verformt und erinnern an Hirschgeweihe. Gelegentlich kommen auch Doppelkerne und Kernfrakturen vor. Der Abstand zwischen Myozytenkern und Kapillare ist oft geringer als in nicht hypertrophen Herzen. (Linzbach 1947, Adler 1972a). Im Prozess der Hypertrophie ändert sich nicht nur die Form des Zellkerns, sondern auch sein Chromosomensatz. In normalen Erwachsenenherzen sind 32 % der Kerne diploid, 55 % tetraploid und 11 % oktaploid. Bei der Herzhypertrophie kommt es zur Verschiebung in höhere Polyploidieklassen, so dass bei Herzen über 500 g überhaupt keine diploiden Kerne mehr zu finden sind (Meessen 1971a, Adler 1972a, 1972b). Weitere hypertrophiebedingte Veränderungen weist das Sarkoplasma auf. Hier können je nach Schweregrad Fibrillenkoagulation, vakuolige oder basophile Degeneration, Zellverfettung und Lipofuszinablagerungen beobachtet werden (Linzbach 1947). Die Maschen des Kapillarnetzes werden größer und passen sich an die vergrößerten Herzmuskelfasern an, so dass weiterhin eine Kapillare auf eine Muskelfaser entfällt (Hort 1955b).

Dem Zellwachstum sind aber Grenzen gesetzt. Ab dem sog. kritischen Herzgewicht von 500 g bzw. 550 ± 50 g (laut Schoenmackers 1958) kann die Vermehrung der Muskelmasse nicht nur durch Hypertrophie, sondern zusätzlich durch numerische Hyperplasie, d.h. durch Vermehrung der Zahl der Herzmuskelzellen erfolgen (Linzbach 1947, 1950, 1960, 1976, Astorri et al. 1977, Grajek et al. 1993). Die Myozyten erreichen die Grenzdicke von 50 μm , jenseits derer der Stofftransport innerhalb der Zellen und der Stoffaustausch an ihrer Oberfläche kritisch werden (Meessen 1971a, 1971b). Sollte sich die Zelle weiter vergrößern, so kommt es als Folge der

Stoffwechselinsuffizienz bzw. des Sauerstoffmangels zur degenerativen Veränderungen und später zum Untergang von Herzmuskelfasergruppen mit Schwielenbildung. Diese Veränderungen beobachtet man in den Spätstadien der pathologischen Hypertrophie. Günstiger für die Zelle ist die amitotische Längsspaltung wegen der relativen Vergrößerung der Oberfläche und der Verkleinerung der Diffusionsstrecke (Linzbach 1947, 1948). Bei hochgradiger Hypertrophie (700 – 900 g) kann die Anzahl der Herzmuskelzellen dank der Hyperplasie mit vier Mrd. doppelt so hoch sein wie normal (Adler 1972a, Adler 1972b). Auch die Zahl der Bindegewebszellkerne nimmt vom kritischen Herzgewicht an linear zu. Das Kapillarraster versucht durch Kapillarvermehrung in Einklang mit der Zunahme der Muskelfasern zu bleiben, so dass das Kapillaren-Muskelfaser-Verhältnis recht konstant bleibt. Für den Stoffwechsel der Muskelfasern ist aber außer der Maschenweite des Kapillarnetzes der Blutstrom durch das Myokard wichtig und er hängt seinerseits wesentlich von der Weite der zuführenden Koronararterien ab (Hort 1955b). Da das Wachstum der Kranzarterien jenseits des kritischen Herzgewichtes mit der Massenzunahme des Herzmuskels nicht mehr Schritt hält, ist die Blutversorgung der Muskelfasern durch die Hyperplasie zwar verbessert, aber längst nicht normalisiert (Hort 1977).

Je nach zugrunde liegendem pathophysiologischem Mechanismus unterscheidet man 3 Formen der Hypertrophie: Druck-, Volumen- und reaktive Hypertrophie (Hurst et al. 1994). Ein klassisches Krankheitsbild, das eine Druckhypertrophie des linken Ventrikels bewirkt, ist die Aortenklappenstenose. Um dem erhöhten systolischen Ventrikeldruck und dem erhöhten systolischen Spitzenwandstress entgegenzuwirken, nimmt die Ventrikelwand an Dicke zu, wobei das ursprüngliche Kammervolumen konstant bleibt bzw. unter Umständen sogar kleiner wird (Laplace'sches Gesetz). Die Morphologen bezeichnen diese Form der Herzhypertrophie als konzentrisch. Charakteristisch für sie ist die Vergrößerung der Myozyten durch Zunahme ihrer Durchmesser bei gleichbleibender Länge. Auf subzellulärer Ebene werden neue Sarkomere synthetisiert, die sich dann zu neuen Myofibrillen anordnen. In Querschnitten kann man eine Vermehrung der myofibrillären Profile beobachten. Mit der Zunahme der Muskelmasse kommt es zur entsprechenden Zunahme des Blutstroms durch das Myokard. Ähnlich wie die Myozyten expandieren die Kapillaren nach lateral; Lumen und Oberfläche nehmen zu, die Länge ist aber nicht signifikant verändert (Rapaport 1982, Anversa et al. 1986, Sawada et al. 1991, Hurst et al. 1994). Ganz anders entwickelt sich die Hypertrophie bei einer Aorten- oder Mitralklappeninsuffizienz. Die Volumenüberlastung bewirkt eine Vergrößerung des Kammervolumens mit Zunahme der Wanddicke, eine sogenannte exzentrische Hypertrophie.

Der pathophysiologische Stimulus ist hier der erhöhte diastolische Wandstress. Die Vergrößerung des Kammervolumens reduziert den diastolischen Wandstress, erhöht aber anfangs den systolischen Spitzenwandstress (Laplace'sches Gesetz), was ein Stimulus für die kompensatorische Wanddickezunahme ist. Letztendlich bleibt das Wanddicke-Kammervolumen-Verhältnis erhalten. Auf Zellebene äußert sich die Volumenhypertrophie in einem Längenwachstum der Myozyten mit nur geringfügiger Zunahme der Querschnittsgrößen und keinerlei Veränderungen der Sarkomerenlänge. Es werden also neue Sarkomere gebildet, die sich in präformierten Myofibrillen aufstellen und diese verlängern. Nun ist nachvollziehbar, warum die Veränderungen der Wanddicke bei der exzentrischen Hypertrophie beträchtlich kleiner sind, als bei der konzentrischen Hypertrophie (Rapaport 1982, Anversa et al. 1986, Sawada et al. 1991, Hurst et al. 1994). Die dritte Form der Hypertrophie, die reaktive Hypertrophie, ist klassischerweise bei der koronaren Herzkrankheit und ihren Folgen, der ischämischen Kardiomyopathie und dem Herzinfarkt, zu finden. Sowohl der diffuse als auch der fokale Zellverlust resultieren in einem erhöhten Stress auf die restlichen Myozyten und dieser Stress ist proportional zum Ausmaß des Zellverlustes. Um die Überlastung zu bewältigen bzw. zu reduzieren, passen sich die Herzmuskelzellen an, indem sie an Größe zunehmen. Dabei erfolgt dieses Wachstum sowohl in die Länge als auch in die Breite. Insofern stellt die reaktive Hypertrophie eine Kombination zwischen konzentrischer und exzentrischer, zwischen Druck- und Volumenhypertrophie dar (Anversa et al. 1986).

Zahlreiche morphometrische Studien beschäftigen sich seit Jahren mit der Myozytenhypertrophie. Die erbrachten Ergebnisse offenbaren regionale Unterschiede in der Herzmuskelzellgröße. So ist zum Beispiel bekannt, dass die subendokardialen Myozyten größer als die subepikardialen sind (Hecht et al. 1962, Hoshino et al. 1983) und dass der Hypertrophieprozess sich in erster Linie im subepikardialen Myokard abspielt (Anversa et al. 1978, Gerdes et al. 1979, Vliegen et al. 1987). Der Vergleich der Zelldimensionen bei Druck- und Volumenhypertrophie zeigt signifikant größere Zelldurchmesser bei der ersten auf, was gut nachvollziehbar ist, wenn man bedenkt, dass die Zellen, wie oben ausführlich erörtert, unter Volumenüberlastung überwiegend in die Länge und unter Drucküberlastung in die Breite wachsen (Schoen et al. 1984, Sawada et al. 1991). Trotz detaillierter Literaturrecherche konnten aber keine Arbeiten gefunden werden, die die Druck- und die reaktive Hypertrophie morphometrisch gegenüberstellen. Das wurde deshalb zu einer weiteren Aufgabe dieser Arbeit.

Würde man die Herzmuskelzellen von Patienten mit koronarer Herzkrankheit und von Patienten

mit Aortenklappenstenose vergleichen, so wäre es rein theoretisch zu erwarten, dass es Unterschiede in den Zelldurchmessern gibt. Der erhöhte intrakavitäre Wanddruck bei der Aortenstenose sollte sich uniform auf den Ventrikel auswirken, d.h. die gesamte Zirkumferenz der Kammerwand wäre an der Hypertrophie beteiligt (Schoen et al. 1984). Das würde bedeuten, dass alle Herzmuskelzellen in der jeweiligen Wandschicht dem gleichen Stress ausgesetzt wären, also würden sie im gleichen Umfang hypertrophieren. Da es bekannt ist, dass eher die kleineren, subepikardial gelegenen Myozyten wegen der besseren Blutversorgung an Größe zunehmen (Anversa et al. 1978, Gerdes et al. 1979, Vliegen et al. 1987), wäre es denkbar, dass sich die Zelldimensionen in den verschiedenen Wandschichten angleichen. Demzufolge müsste man anhand von Messungen des Herzmuskelzelldurchmessers einen gewissen Grad der Hypertrophie feststellen können, wobei es keine wesentlichen Kaliberunterschiede zwischen den Zellen geben sollte. Bei der morphometrischen Untersuchung des Myokards von KHK- Patienten würde man ein anderes Ergebnis erwarten. Die uneinheitliche Durchblutung, die teils normal teils gedrosselt sein kann, bedingt von vornherein ein sehr heterogenes histologisches Bild. Sowohl normale, als auch hypertrophierte und atrophisierte Myozyten bilden den Zellverband (Gunning et al. 2002, Labschies 2006). Würde man die Durchmesser dieser Zellen messen und daraus einen für die Zelldimensionen repräsentativen Durchschnitt ermitteln, so wäre es denkbar, dass dieser Mittelwert unter dem der Herzen mit Aortenklappenstenose liegt. Die bereits mikroskopisch erkennbaren beträchtlichen Kaliberunterschiede könnten sich in einer großen Standardabweichung auswirken. Da die Blutversorgung des Myokards eingeschränkt ist, müsste dadurch das „Hypertrophiepotential“ eingeschränkt sein. Demzufolge wäre es zu erwarten, dass nur wenige Zellen hohe und sehr hohe Hypertrophiegrade erreichen. Zusammenfassend könnte man also bei dem Vergleich zwischen Druck- und reaktiver Hypertrophie die Hypothese aufstellen, dass in Druckhypertrophie der mittlere Durchmesser der Herzmuskelzellen größer, die Standardabweichung aber kleiner ist und dass sich die gemessenen Werte bei der Druckhypertrophie in höhere Größenklassen verteilen.

1.3 Arbeitshypothesen und Aufgabenstellung

Die morphologische Charakterisierung des Myokards ist ein wichtiger diagnostischer aber auch prognostischer Bestandteil des Betreuungsmanagements herzkranker Patienten. Um sie zu vervollständigen, ist die Gestaltmessung der zusammensetzenden Strukturen (die Morphometrie) unabdingbar. Leider bestehen immer noch, wie oben näher aufgeführt, bestimmte Differenzen und Wissenslücken auf diesem Gebiet.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es deshalb, den Zustand der menschlichen Herzmuskelzellen sowohl in Gesundheit als auch in Krankheit quantitativ zu erfassen und zu bewerten.

Dabei sollten die folgenden Fragen beantwortet bzw. Hypothesen geprüft werden:

- Wie groß ist eine Herzmuskelzelle? Lässt sich diese Größe einfach aber zuverlässig bestimmen? Warum sind die Angaben im Schrifttum so kontrovers?
- Wie sind die quantitativen Verhältnisse in normalen menschlichen Herzen? Gibt es Unterschiede zwischen dem linken und rechten Ventrikel, sowie zwischen Männern und Frauen?
- In welche Größenklassen verteilen sich die normalen Myozyten anhand ihres Durchmessers?
- Wie verändern sich die Zelldimensionen im Krankheitszustand, wie zum Beispiel in Herzen mit Aortenklappenstenose und in Herzen mit koronarer Herzkrankheit?
- Lässt sich die Annahme bestätigen, dass die Druckhypertrophie in ihrer Ausprägung stärker aber uniformer ist als die reaktive Hypertrophie?
- Wie ist die Größenverteilung der Herzmuskelzelldurchmesser bei diesen zwei Formen der Hypertrophie?
- Wie stark ist der Einfluss verschiedener Faktoren auf die Größe der Myozyten?

Mache die Dinge so einfach wie möglich - aber auch nicht einfacher.

Albert Einstein

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungsmaterial

Entsprechend der Fragestellung wurden drei Gruppen von Patienten nach streng definierten Kriterien zusammengestellt.

- Vergleichsgruppe

Dieser gehörten 23 Organspender (16 weiblich und sieben männlich) von insgesamt 535 an, die man in dem Zeitraum vom 1.01.1996 bis zum 31.12.2004 in der Homograftbank am Deutschen Herzzentrum Berlin erfasste. Einschlusskriterien (nach Prof. Meyer, Arbeitsbereich Herzpathologie, DHZB) waren:

1. Herzmasse unter 400 g – 400 g wurden als absolute Obergrenze definiert. Restherzen, bei denen das Gesamtgewicht nicht zu ermitteln war, wurden ausgeschlossen;
2. Wandstärke der linken Herzkammer – optimal bis 12 mm, tolerabel bis 15 mm;
3. Mikroskopischer Befundbericht, der keine wesentlichen pathologisch-anatomischen Veränderungen in der Herzmuskelzellgröße und dem Fibrosegehalt aufwies. Intimaproliferation und geringgradige, hämodynamisch nicht relevante Stenosen der Koronararterien waren zulässig.

Bis auf ein Spenderorgan mit nicht beurteilbaren Koronararterien entsprachen alle Herzen diesen Kriterien (Tab. 2) und bildeten somit eine „echte“ Kontrollgruppe, die weitgehend unbelastet von kardialen Erkrankungen gewesen sein durfte.

Tab. 2: Vergleichsgruppe – Übersichtstabelle der 23 Patienten. Die folgenden Angaben waren der Grund, diese Spenderherzen als „normal“ zu betrachten.

Histo-Nr	Alter	Geschlecht	Herzmasse in g	Wandli in mm	Wandre in mm	Myokardli + re	Koronararterien
96/1776	18	Weiblich	209	12	3	o.p.B.	o.p.B.
97/0072	53	Männlich	395	15	4	o.p.B.	o.p.B.
97/0220	56	Weiblich	200	13	8	o.p.B.	o.p.B.
97/0480	57	Weiblich	208	11	3	o.p.B.	Intimaproliferation mit geringer Lumeneinengung
97/0533	30	Männlich	285	15	3	o.p.B.	o.p.B.

Material und Methoden

97/0617	67	Weiblich	239	13	3	o.p.B.	herdförmige, hämodynamisch bedeutungslose Intimaproliferation
97/0657	62	Weiblich	288	15	7	o.p.B.	o.p.B.
97/0658	43	Männlich	389	12	4	o.p.B.	o.p.B.
97/0894	44	Männlich	321	15	6	o.p.B.	o.p.B.
97/0981	47	Männlich	331	12	2	o.p.B.	o.p.B.
98/0005	40	Weiblich	294	15	4	o.p.B.	o.p.B.
98/0899	31	Weiblich	292	12	3	o.p.B.	o.p.B.
98/1338	57	Weiblich	320	15	7	o.p.B.	nicht beurteilbar
99/0293	34	Männlich	350	10	7	o.p.B.	o.p.B.
99/0802	41	Weiblich	368	12	4	o.p.B.	o.p.B.
00/0042	41	Weiblich	270	15	5	o.p.B.	geringe Intimaproliferation
00/0728	41	Weiblich	239	13	3	o.p.B.	o.p.B.
00/2413	51	Weiblich	204	14	6	o.p.B.	geringfügige Sklerose
03/0186	18	Männlich	222	8	5	o.p.B.	o.p.B.
03/0607	26	Weiblich	271	13	3	o.p.B.	geringgradige stenosierende Sklerose
03/1091	54	Weiblich	274	12	5	o.p.B.	geringgradige stenosierende Sklerose
03/1149	37	Weiblich	268	13	2	o.p.B.	diskrete nicht stenosierende Sklerose
04/0268	51	Weiblich	267	10	4	o.p.B.	geringgradige nicht stenosierende Sklerose

Wand li bzw. re = Wandstärke der linken bzw. der rechten Kammer; Myokard li + re = links- und rechtsventrikuläres Myokard; o.p.B. = ohne wesentlichen pathologischen Befund

- KHK-Gruppe

KHK- Patienten waren 41 Männer von den Patienten der ELENA- Studie (Evaluation of LDL and its Effects on Atherosclerosis) – eine seit dem Jahr 2002 am Deutschen Herzzentrum Berlin laufende prospektive Untersuchung von kardiovaskulären Risikofaktoren zur Entwicklung und Progredienz der koronaren Herzerkrankung, in deren Rahmen intraoperativ vor einer Revaskularisation eine Myokardbiopsie entnommen wurde. Das Vorhandensein eines beurteilungsfähigen Myokards aus dem linken Ventrikel war eines der Einschlusskriterien für diese Gruppe. Die andere Bedingung bei den Patienten mit koronarer Herzkrankheit war das Fehlen weiterer Herzerkrankungen, insbesondere von Klappenerkrankungen.

Tab. 3: KHK- Gruppe – Übersichtstabelle der 41 Patienten mit koronarer Herzkrankheit, sortiert nach Histo-Nr. Unter den Diagnosen in den im EDV-System des DHZB gespeicherten Arztbriefen fanden sich keine Aortenklappenerkrankungen.

Histo-Nr.	Alter	Geschlecht	Biopsie		Diagnose	Nebenerkrankungen
			Anzahl	Gesamtlänge in mm		
02/3687	62	Männlich	3	4,5	Koronare Dreifäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Diabetes mellitus, tablettenpfl. Fettstoffwechselstörung Hyperurikämie/Gicht PAVK
02/3810	64	Männlich	1	3,0	Koronare Dreifäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Diabetes mellitus, tablettenpfl. Fettstoffwechselstörung Hyperurikämie/Gicht
03/0395	63	Männlich	5	5,5	Koronare Dreifäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Diabetes mellitus, tablettenpfl. Fettstoffwechselstörung Hypothyreose Apoplex/TIA/PRIND
03/0547	60	Männlich	1	2,5	Koronare Dreifäß-erkrankung	Myokardinfarkt Diabetes mellitus, tablettenpfl. Fettstoffwechselstörung Hyperurikämie/Gicht PAVK Apoplex/TIA/PRIND
03/0633	51	Männlich	3	2,1	Koronare Dreifäß-erkrankung	Myokardinfarkt Fettstoffwechselstörung
03/0649	58	Männlich	1	2,5	Koronare Dreifäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung
03/0764	61	Männlich	1	3,0	Koronare Dreifäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Hyperurikämie/Gicht
03/0926	58	Männlich	3	3,1	Koronare Dreifäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Hyperurikämie/Gicht
03/0935	64	Männlich	3	5,7	Koronare Dreifäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Hyperthyreose

Material und Methoden

03/0999	67	Männlich	2	6,8	Koronare Dreifgefäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung
03/1273	68	Männlich	1	6,0	Koronare Dreifgefäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Diabetes mellitus, tablettenpfl. Adipositas Apoplex/TIA/PRIND
03/1527	61	Männlich	3	5,8	Koronare Dreifgefäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Herzrhythmusstörung Apoplex/TIA/PRIND
03/1557	62	Männlich	1	6,0	Koronare Dreifgefäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung
03/1584	56	Männlich	3	9,8	Koronare Zweifgefäß-erkrankung	Fettstoffwechselstörung Hyperurikämie/Gicht
03/1638	55	Männlich	2	6,6	Koronare Dreifgefäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Fettstoffwechselstörung
03/1835	42	Männlich	1	5,0	Koronare Dreifgefäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Fettstoffwechselstörung Adipositas
03/2543	58	Männlich	3	4,8	Koronare Dreifgefäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Diabetes mellitus, tablettenpfl. Fettstoffwechselstörung PAVK
03/2607	60	Männlich	1	5,5	Koronare Dreifgefäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Niereninsuffizienz
03/2883	62	Männlich	1	4,2	Koronare Dreifgefäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Fettstoffwechselstörung PAVK Herzinsuffizienz NYHA II
03/2973	55	Männlich	2	2,1	Koronare Dreifgefäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung
03/3212	57	Männlich	2	6,3	Koronare Zweifgefäß-erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Fettstoffwechselstörung

Material und Methoden

03/3604	61	Männlich	1	13,6	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Diabetes mellitus, tablettenpfl. Fettstoffwechselstörung
03/4236	67	Männlich	3	5,0	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Diabetes mellitus, insulinpfl. Fettstoffwechselstörung Adipositas PAVK
03/4320	65	Männlich	1	1,2	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Fettstoffwechselstörung Niereninsuffizienz Apoplex/TIA/PRIND
03/4324	65	Männlich	2	5,2	Koronare Dreifäß- erkrankung	Angina pectoris Fettstoffwechselstörung
03/4395	56	Männlich	2	4,6	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Diabetes mellitus, tablettenpfl. Fettstoffwechselstörung
03/4420	54	Männlich	1	1,7	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung
03/4479	67	Männlich	2	14,6	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Adipositas Hyperurikämie/Gicht
03/4532	62	Männlich	1	1,5	Koronare Dreifäß- erkrankung	Myokardinfarkt Angina pectoris Diabetes mellitus, insulinpfl. Fettstoffwechselstörung Niereninsuffizienz
04/0063	64	Männlich	1	1,8	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Diabetes mellitus, tablettenpfl. Fettstoffwechselstörung
04/0083	56	Männlich	1	3,6	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Diabetes mellitus, tablettenpfl. Fettstoffwechselstörung Adipositas Hyperthyreose

Material und Methoden

04/0124	67	Männlich	1	3,5	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Diabetes mellitus, tablettenpfl. Fettstoffwechselstörung
04/0157	60	Männlich	1	11	Koronare Dreifäß- erkrankung	Myokardinfarkt Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Herzrhythmusstörung
04/0201	56	Männlich	1	8,5	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Hypothyreose
04/0343	73	Männlich	2	8	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Angina pectoris Adipositas Herzrhythmusstörung Hypothyreose
04/0763	65	Männlich	1	4,7	Koronare Dreifäß- erkrankung	Myokardinfarkt Fettstoffwechselstörung Adipositas Hyperurikämie/Gicht
04/0850	66	Männlich	1	10,6	Koronare Dreifäß- erkrankung	Angina pectoris Fettstoffwechselstörung
04/1121	55	Männlich	3	6,3	Koronare Erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung
04/1188	54	Männlich	2	3,8	Koronare Dreifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Aneurysma
04/1303	62	Männlich	1	10,2	Koronare Zweifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Hyperurikämie/Gicht PAVK
04/1707	55	Männlich	1	2,7	Koronare Zweifäß- erkrankung	Arterielle Hypertonie Myokardinfarkt Fettstoffwechselstörung

- AOK-Gruppe

Ursprünglich hatte man die Intention, in dieser Gruppe nur Patienten mit reiner Aortenklappenstenose zu erfassen. Von insgesamt 148 ELENA- Patienten, die zur Auswahl standen, war das aber bei nur fünf Patienten der Fall, weswegen man auch solche aufgenommen hat, bei denen ein kombiniertes Aortenklappenvitium mit führender Stenose vorlag. Trotzdem blieb diese Kohorte mit insgesamt 13 männlichen Patienten die kleinste. Ähnlich wie bei der KHK- Gruppe waren hier weitere Einschlusskriterien das unmittelbar

vor der Klappenersatzoperation entnommene, beurteilungsfähige Myokard und das bis auf das Klappenitium gesunde Herz.

Tab. 4: AOK- Gruppe – Übersichtstabelle der 13 Patienten mit Aortenklappenfehlern, sortiert nach Histo-Nr. In den Arztbriefen des DHZB war keine koronare Erkrankung dokumentiert. Die Störungen des Reizleitungssystems bei drei der Patienten wurden als Folge des Klappenitiums interpretiert.

Histo-Nr	Alter	Geschlecht	Biopsie		Diagnose	Nebenerkrankungen
			Anzahl	Gesamtlänge in mm		
03/0653	43	Männlich	2	7,4	Hochgradige AK-Stenose bei bikuspidaler AK	Arterielle Hypertonie
03/1229	70	Männlich	2	11,0	AK-Vitium mit führender Stenose III°	Herzrhythmusstörung
03/1897	71	Männlich	1	9,2	AK-Stenose III° bei bikuspidaler Klappe	Arterielle Hypertonie Fettstoffwechselstörung Adipositas
03/2697	60	Männlich	1	2,9	Kombiniertes AK-Vitium mit führender Stenose III°	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Adipositas
03/3511	64	Männlich	1	5,4	AK-Stenose IV°	Arterielle Hypertonie Fettstoffwechselstörung Adipositas
03/3983	55	Männlich	1	7,5	AK-Stenose III° bis IV°	Arterielle Hypertonie Angina pectoris
04/0347	69	Männlich	1	2,3	AK-Stenose IV°	Arterielle Hypertonie Fettstoffwechselstörung Herzrhythmusstörung Apoplex/TIA/PRIND
04/0537	60	Männlich	1	9,1	AK-Stenose III° mit Insuffizienz I°	Angina pectoris Diabetes mellitus, tablettenpfl. Fettstoffwechselstörung Niereninsuffizienz
04/0717	49	Männlich	1	12,8	AK-Stenose III° mit AK-Insuffizienz I° bis II°	Angina pectoris Aneurysma
04/2320	77	Männlich	1	4,0	AK-Stenose III°	Fettstoffwechselstörung
04/2386	75	Männlich	2	3,8	Kombiniertes AK-Vitium mit führender Stenose	Arterielle Hypertonie Angina pectoris Fettstoffwechselstörung Herzrhythmusstörung Hyperthyreose Niereninsuffizienz

04/2425	73	Männlich	1	4,5	Kombiniertes AK-Vitium mit führender Stenose	Arterielle Hypertonie PAVK
04/3213	69	Männlich	1	7,4	AK-Stenose mit Insuffizienz II°-III°	Arterielle Hypertonie Hyperurikämie/Gicht

AK = Aortenklappe

Bei der Zusammenstellung der drei Gruppen waren nur Erwachsene von Interesse. Kinder und Jugendliche unter 18 Jahren wurden von den Beobachtungen ausgeschlossen. Da das Studiendesign der ELENA- Studie nur männliche Studienteilnehmer vorsah, bestanden die KHK- und die AOK- Gruppe ausschließlich aus Männern. So wurden in dieser Arbeit insgesamt 77 Herzen untersucht, darunter 16 von Frauen und 61 von Männern.

2.2 Untersuchungsmethoden

2.2.1 Gewebeproben

Das besondere Interesse dieser Arbeit galt den Gewebeproben, die der Grundstock für weiterführende Analysen waren. Bei den Patienten der ELENA- Studie (KHK- und AOK- Gruppe) erfolgte die Biopsieentnahme (siehe Abb. 3) transmural aus der Vorderwand der linken Herzkammer intraoperativ, unmittelbar vor dem eigentlichen Eingriff (Revaskularisation bzw. Klappenersatz). Verfahren wurde nach einer im DHZB üblichen Methode (siehe Hausmann 2004). Die Proben aus den Spenderorganen der Vergleichsgruppe entnahm man im Rahmen der Klappengewinnung. Hier stand ausreichend Material zur Verfügung, was die Anfertigung von histologischen Präparaten sowohl von dem linksventrikulären, als auch von dem rechtsventrikulären Myokard, von der Aorta, von der Arteria pulmonalis und von den Koronararterien ermöglichte. Die Bearbeitung aller Gewebeproben führten die Mitarbeiterinnen des Arbeitsbereichs Herzpathologie unter der Leitung von Prof. Dr. med. R. Meyer nach standardisiertem Vorgehen durch. Neben der Übersichtsfärbung Hämatoxylin-Eosin (HE) wurde auch eine Bindegewebsfärbung nach Domagk bzw. neuerdings mit Siriusrot angefertigt.

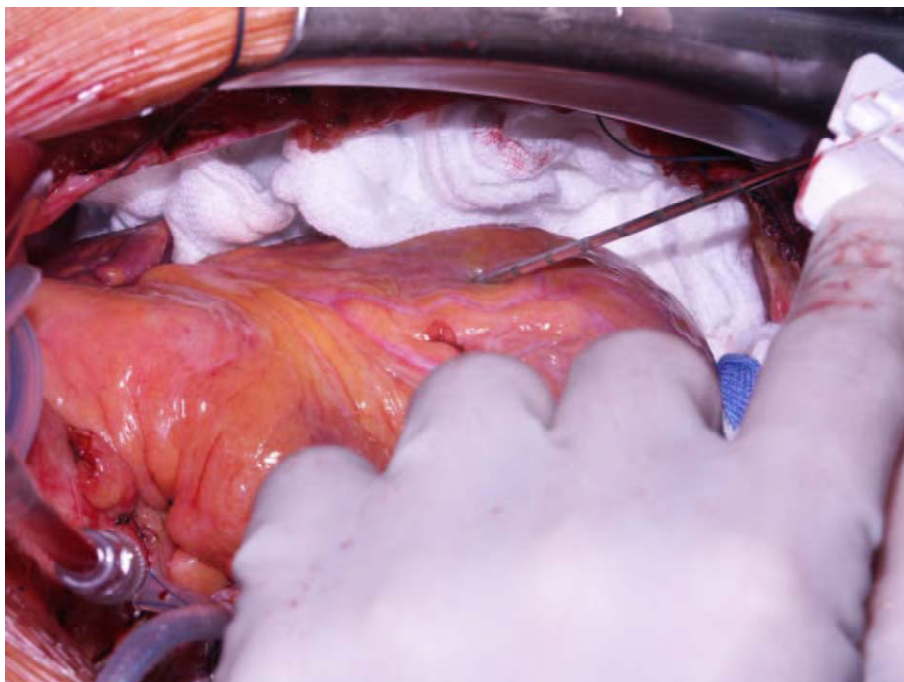


Abb. 3: Biopsieentnahme an der Vorderwand der linken Herzkammer am schlagenden Herzen vor Gabe der kardioplegischen Lösung (Hausmann 2004)

2.2.1.1 Mikroskopie

Die mikroskopische Untersuchung aller Gewebeproben erfolgte einzig und allein durch Prof. Dr. med. R. Meyer und wurde ausführlich dokumentiert. Die Befundberichte über das linksventrikuläre Myokardgewebe der KHK- und AOK- Gruppe enthielten Aussagen zu den Herzmuskelzellen, zu der Fibrose und dem Vorliegen von Narben, zum Endokard, zu Myozytolysen, Demarkationszeichen und spezifischen lymphozytären Infiltraten, sowie zu den Blutgefäßen der terminalen Strombahn. Bei der Vergleichsgruppe wurden neben dem linksventrikulären auch das rechtsventrikuläre Myokard und das Septum, sowie die großen Gefäße (die Aorta, die Arteria pulmonalis und die Koronararterien) begutachtet. Hier fanden sich außerdem Angaben über das makroskopische Bild, über das Gewicht des Spenderherzens und über die Wandstärke des rechten und des linken Ventrikels. Die Befundberichte waren bis auf einen Fall, wo die Koronararterien nicht zur Untersuchung vorlagen, und wenige Fälle, wo morphologische Veränderungen beschrieben aber nicht in Schweregrade eingeteilt waren, vollständig.

Bei der Analyse des Myokards dokumentierte der Untersucher die Veränderungen der Herzmuskelzellen und die Fibroseausprägung besonders detailliert.

- Herzmuskelzellen

Drei Gesichtspunkte dienten zur Beurteilung:

a) Hypertrophie

Man unterschied vier Schweregrade: Schweregrad 0 = keine Hypertrophie; Schweregrad 1 = geringgradige Hypertrophie; Schweregrad 2 = mittelgradige Hypertrophie und Schweregrad 3 = hochgradige Hypertrophie. Je nachdem in welchem Maße die meisten Myozyten verändert waren, erfolgte die Entscheidung für die jeweilige Kategorie nach rein optischer Abschätzung.

b) Kaliberunterschiede

Falls Kaliberunterschiede zwischen den Herzmuskelzellen vorlagen, wurden sie ebenfalls in leicht, mäßig oder schwer eingeteilt. Die Festlegung kam wie bei der Hypertrophie nach subjektivem Urteil zustande.

c) Zellkerne

Man berichtete über nicht vergrößerte und gering-, mittel- oder hochgradig vergrößerte Zellkerne. In manchen Fällen wurden die Kerne als „bizarr“ bezeichnet.

- Fibrose und Narben

Die Fibrose bewertete der Untersucher nach ihrer Art und Ausprägung. Nach der Art unterschied man lokale perivasale, lokale interstitielle und diffuse Fibrose. Jede Art wurde entsprechend in drei Schweregrade (leicht, mäßig oder stark) eingeteilt. Man prüfte dazu noch das Vorliegen von Narben als Folge der Fibrose oder unabhängig davon. Gelegentlich wurde die Lokalisation der Narben, z.B. subendokardial beschrieben.

2.2.1.2 Morphometrie mit EasyMeasure®

Die histomorphometrische Untersuchung der Herzmuskelzellen stand im Mittelpunkt dieser Arbeit. Dazu wurde ein Gerätesystem aus Mikroskop (Zeiss, Anxioskop), Videokamera (Sony Color Video, Typ 3CCD) und konventionellem Rechner mit IQ EasyMeasure® verwendet. IQ EasyMeasure® ist eine Imaging- und Messsoftware, entwickelt von Firma INTEQ® Informationstechnik GmbH und angepasst den Bedürfnissen der Pathologie. Neben anderen zahlreichen Funktionen ermöglicht das Programm das interaktive Messen von Distanzen im Live- Bild, was zur Ermittlung der Größen der Myozyten diente.

Die Morphometrie erfolgte an max. 3 µm dicken, Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbten Quer- und/oder Längsschnitten. Jedes einzelne histologische Präparat wurde systematisch, Gesichtsfeld für Gesichtsfeld, nach messbaren Zellen abgesucht. So sollte erreicht werden, dass die Messungen auf die ganze Gewebeprobe verteilt und damit die Ergebnisse für das gesamte Myokard repräsentativ waren. Unter dem oben verwendeten Begriff „messbar“ verstand man Myozyten mit eindeutigen Grenzen und Kern. Mangelte es an solchen, akzeptierte man auch kernlose Zellen mit Lipofuzineinlagerungen, da man von seiner perinuklearen Lage ausging (siehe Abb. 4).



Abb. 4: „Messbare“ Zellen – neben den Kardiomyozyten mit Kern sind auch solche mit Lipofuzineinlagerungen dargestellt.

Bei 200- oder 400facher Gesamtvergrößerung wurden mit der Computermaus von Zellgrenze bis Zellgrenze eines Myozyts senkrechte Linien gezogen. Aus der Länge dieser Linien errechnete das EasyMeasure[®]- Programm die tatsächlichen Distanzen (im µm-Bereich) automatisch. Die gewählte Vergrößerung diente allein der Bequemlichkeit des Untersuchers. Zellen der Spenderorgane wurden 400fach vergrößert, Zellen der KHK- und AOK- Gruppe meistens 200fach. So konnte man bei den kleineren Myozyten der Vergleichsgruppe die Zellmembranen besser wahrnehmen und dementsprechend genauer messen. Bei den überwiegend hypertrophierten Zellen der anderen zwei Gruppen wirkte dagegen die Abgrenzung bei der kleineren Vergrößerung deutlicher, da der Zellschatten nicht zu erkennen war. Ein positiver Nebeneffekt war, dass man auf diese Weise ein homogenes Bild gewann. Die Myozyten aller

drei Gruppen wirkten optisch gleich groß, was den Untersucher vor einer unbewussten Zellektion bewahrte (z.B. eher kleine Zellen bei der Vergleichsgruppe, bzw. eher große bei der KHK- und AOK- Gruppe zu messen). Auf die Berechnung der Distanzen sollte sich die Auswahl der Gesamtvergrößerung allerdings nicht ausgewirkt haben, da man diese vor Beginn der Messungen mit EasyMeasure[®] angeben musste und danach bei dem Umrechnen in μm -Zahlen vom Programm berücksichtigt wurde.

Um die Größe der Herzmuskelzellen möglichst präzise zu ermitteln, wurden die Vermessungen an genau festgelegten Stellen angebracht. Die Form der Zelle bzw. die Schnittführung (quer, schräg oder längs) bestimmte dabei, wo und wie viele Messlinien gezogen wurden.

1. Runde Zellen: Um die Größe runder Zellen zu beschreiben, genügten zwei Messungen pro Zelle, die durch den Kern (Position 1) und gegenseitig senkrecht erfolgten (siehe Abb. 5A). Die Anzahl solcher Zellen war aber zum Vernachlässigen klein.
2. Ovale Zellen: Hier zog man drei Messlinien – eine durch den Kern (Position 1) und zwei links- und rechts bzw. oberhalb und unterhalb davon, dicht an der Kerngrenze vorbei (Position 2). Angestrebt wurde wie bei den runden Zellen, die kürzesten Distanzen an diesen bestimmten Stellen zu finden (siehe Abb. 5B). Da die meisten Myozyten durch den Schnitt schräg getroffen wurden, erfolge auch der überwiegende Anteil der Messungen auf diese Weise, also hatte man je drei Messwerte pro Zelle.
3. Herzmuskelfasern: Bei Längsschnitten maß man im Idealfall fünf Distanzen pro Zelle aus, drei davon wie bei den ovalen Zellen. Die anderen zwei Distanzen waren die Senkrechten zur Zellmembran, die beiderseits des Kerns und eine Kernweite von ihm entfernt (Position 3) gezogen wurden (siehe Abb. 5C). Im Normalfall waren aber die Zellkonturen an dieser Messstelle nicht immer klar abzugrenzen, fehlten sogar gelegentlich, also führte man in diesen Fällen nur drei Messungen pro Zelle durch (in Position 1 und 2). Deswegen und auch auf Grund des viel kleineren Anteils an Längsschnitten war die Anzahl der Myozyten mit fünf ermittelten Distanzen sehr gering.

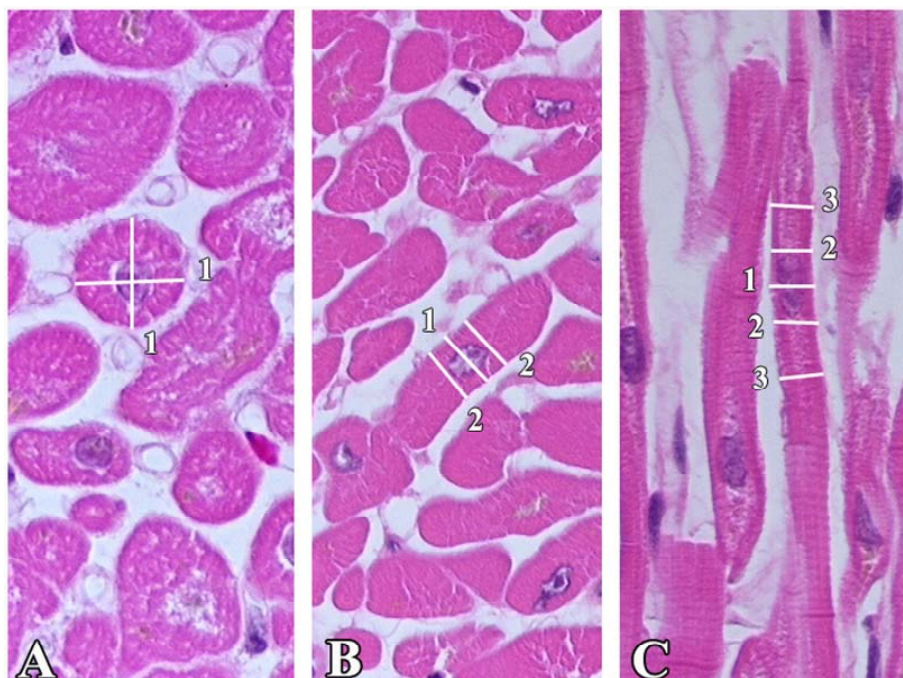


Abb. 5: Vermessung der Herzmuskelzellen in Abhängigkeit von der Zellform. Dargestellt sind die festgelegten Messpunkte: **Position 1** – die Messlinie verläuft durch den Kern, **Position 2** – Messlinie am Kernpol senkrecht zur Zellmembran und **Position 3** – die Messlinie verläuft eine Kernbreite entfernt vom Kernpol ebenso senkrecht zur Zellmembran.

Um einen für die Größe der Herzmuskelzellen der untersuchten Gewebeproben repräsentativen Mittelwert zu berechnen, brauchte man eine gewisse Anzahl von Messungen. Um diese festzustellen, verfolgte man die folgende Taktik: aus den ersten drei Messungen errechnete man den Mittelwert (\bar{x}) und die Standardabweichung (sd). Es kamen noch drei Messungen dazu und man errechnete \bar{x} und sd erneut, diesmal aber aus den sechs Werten. Wieder kamen drei Messungen dazu und wieder errechnete man \bar{x} und sd aber jetzt aus neun Werten. So wurde die Population immer wieder um drei neue Zahlenwerte erweitert und der Mittelwert und die Standardabweichung für die gesamte Population bestimmt. Diese Vorgehensweise wurde so lange beibehalten, bis drei aufeinanderfolgende Mittelwerte gleich blieben bzw. sich nicht signifikant voneinander unterschieden (d.h. der Quotient aus Standardfehler des Mittelwertes und Standardabweichung $\leq 0,10$ wurde). War das der Fall, hatte man einen statistisch aussagekräftigen Messumfang ermittelt.

Die praktische Anwendung dieser Strategie war allerdings erschwert, da das EasyMeasure[®]-Programm nicht in der Lage war, solche Berechnungen durchzuführen. Dieses Problem wusste man folgendermaßen zu lösen: Den Erfahrungen im Arbeitsbereich Herzpathologie des DHZB entsprechend lag der gesuchte Messumfang bei etwa 300 Messungen. Deshalb maß man

zwischen 250 und 350 Distanzen aus und exportierte dann die Daten in eine Excel- Tabelle, wo sie rechnerisch verarbeitet wurden. Blieben drei aufeinanderfolgende Mittelwerte gleich, wurden die Messungen eingestellt. Änderte sich der Mittelwert weiter, musste man zusätzliche Zellen auf ihre Größe prüfen und die neuen Daten berechnen. Das war aber eher selten der Fall und bei vielen Untersuchungen lag der erforderliche Messumfang sogar unter der Anzahl der durchgeführten Messungen. Man löschte die nachfolgenden „überflüssigen“ Messwerte aber nicht, sondern beließ sie zur Bekräftigung der Ergebnisse. So maß man im Mittel 341 ± 22 Zelldiameter pro Gewebeprobe aus. Der größte Messumfang zählte 381 Werte und der kleinste 264. Insgesamt wurden bei den 77 Patienten 34.079 Messungen durchgeführt, 7.752 davon an Myozyten aus dem linken und 8.055 an Myozyten aus dem rechten Ventrikel der Vergleichsgruppe (23 Herzspender). Bei den 41 Biopsien der KHK- Gruppe vermaß man 13.868 Distanzen und bei der AOK- Gruppe mit 13 Patienten 4.404 Distanzen.

Von den so ermittelten Zellgrößen wurden die Mittelwerte pro Patient und pro Gruppe berechnet, die für den jeweiligen Patienten bzw. für die jeweilige Gruppe charakteristisch sein sollten und die für weiterführende Analysen verwendet wurden.

2.2.1.3 Fibrosemessung mit KS 400 Release 3.1

Eine weitere morphometrische Untersuchung der Myokardproben bestand in der quantitativen Bestimmung der Fibrose. Dazu benutzte man das gleiche Gerätesystem aus Mikroskop, Videokamera und Rechner wie bei der Bestimmung der Zellgrößen der Myozyten (siehe Kapitel 2.2.1.2: Material und Methoden). Anders war allerdings das verwendete Programm – KS 400 Release 3.1. Das ist eine Messsoftware, die Dipl. Ing. T. Betz und Prof. Dr. med. R. Meyer in Zusammenarbeit entwickelten. Das Verfahren ermöglicht die Bestimmung des absoluten (in μm^2) und relativen (in %) Ausmaßes der Gesamtfibrose und der reinen Fibrose, sowie des Narbenanteils. Alle Messungen erfolgten an nach Domagk bzw. mit Siriusrot gefärbten histologischen Schnitten mit einer 200fachen Gesamtvergrößerung. Sie wurden von erfahrenen Mitarbeiterinnen des Arbeitsbereichs Herzpathologie im DHZB durchgeführt und als Excel - Datei im EDV - System abgelegt.

2.2.2 Patienten

Neben den Befundberichten über den morphologischen Zustand des Herzens strebte man an, möglichst viele medizinische Informationen über die Patienten zu erhalten. Im Fall der Herzspender erwies sich das als ziemlich schwierig. Es fanden sich Angaben über Alter,

Geschlecht, Körpergröße, Gewicht und Todesursache, nicht aber über klinische Diagnosen. Dabei war es unklar, ob die Spender frei von Vorerkrankungen waren oder ob diese nicht erfasst wurden. Auf Grund der strengen Einschlusskriterien (siehe Kapitel 2.1: Material und Methoden), den die Spenderorgane entsprachen, vermutete man aber keine wesentlichen kardialen Erkrankungen.

Im Fall der KHK- und AOK- Patienten standen dagegen umfassende Informationsquellen zur Verfügung. Die im EDV- System des DHZB gespeicherten Arztbriefe wurden systematisch nach klinisch gestellten Diagnosen durchsucht. In einer speziell für die ELENA- Studie eingerichteten Datenbank fanden sich ausführliche anamnestische Angaben, die Ergebnisse zahlreicher Untersuchungen (Herzkatheter, Echographie, Magnetresonanztomographie, Spiral- Computertomographie usw.) sowie Angaben über den operativen Eingriff.

Sämtliche Daten sowohl über die ELENA- Patienten als auch über die Herzspender, die für diese Arbeit von Interesse waren, wurden selektiert und in eine eigene Datenbank eingegeben. Diese Datenbank war eine solide Basis für die nachfolgenden Analysen.

2.3 Statistik

Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem statistischen Programmpaket SPSS.

Für quantitative Merkmale berechnete man Mittelwert und Standardabweichung bzw. Median und Interquartilabstand. Da die Stichprobenumfänge klein waren und damit nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden konnte, wurde bei dem Vergleich dieser Merkmale zwischen den Gruppen den Mann – Whitney – U – Test, bzw. bei dem Vergleich zwischen den beiden Ventrikeln den Wilcoxon – Test angewandt. Bei der Analyse der EasyMeasure®- Ergebnisse wurden zusätzlich Korrelationskoeffizienten errechnet, um die Beziehungen zwischen dem Herzmuskelzelldurchmesser und verschiedenen Variablen zu messen.

Die deskriptive Auswertung von qualitativen Merkmalen erfolgte durch Angabe der absoluten und relativen Häufigkeiten. Bei dem Vergleich wurde der Chi – Quadrat – Test bzw. der exakte Test nach Fisher herangezogen.

Das Signifikanzniveau wurde bei allen Tests bei 0,05 angesetzt.

Habe Mut, dich deines eigenen Verstandes zu bedienen.

Emanuel Kant

3 Ergebnisse

Dieser Teil der Arbeit beinhaltet eine Charakterisierung der drei Patientenpopulationen anhand der anamnestischen Daten sowie eine Darstellung der Ergebnisse der Herzkatheteruntersuchungen, der Mikroskopie und der Morphometrie. Außerdem wurde die morphometrisch bestimmte Größe der Herzmuskelzellen weitgehend analysiert.

3.1 Analyse der Patientenpopulationen

Geschlecht, Alter und BMI waren die einzigen Parameter, die man in allen drei Patientengruppen analysieren konnte. Dabei war die Geschlechterverteilung aus bereits im Kapitel „Material und Methoden“ erwähnten Gründen ungleichmäßig. Nur 16 von 77 Patienten (ca. 21 %) waren weiblich und sie gehörten ausschließlich der Vergleichsgruppe an.

Zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme zeigte die Altersverteilung der Patienten Unterschiede zwischen den Gruppen (Abb. 6). Erwartungsgemäß waren die Organspender mit einem Altersmedian von 43 Jahren (Interquartilabstand 20) wesentlich jünger als die KHK- Patienten mit einem Median von 61 Jahren (Interquartilabstand 8,5) und die AOK- Patienten mit einem Median von 69 Jahren (Interquartilabstand 14,5).

Signifikante Unterschiede fanden sich auch im BMI der „gesunden“ Patienten (Median 24,7, Interquartilabstand 3,9) im Vergleich zu den KHK- (Median 27,5, Interquartilabstand 5,15) und den AOK- Patienten (Median 28,7, Interquartilabstand 6,05). Zwischen den letzten zwei Gruppen waren diesbezüglich keine wesentlichen Differenzen festzustellen (Abb. 7).

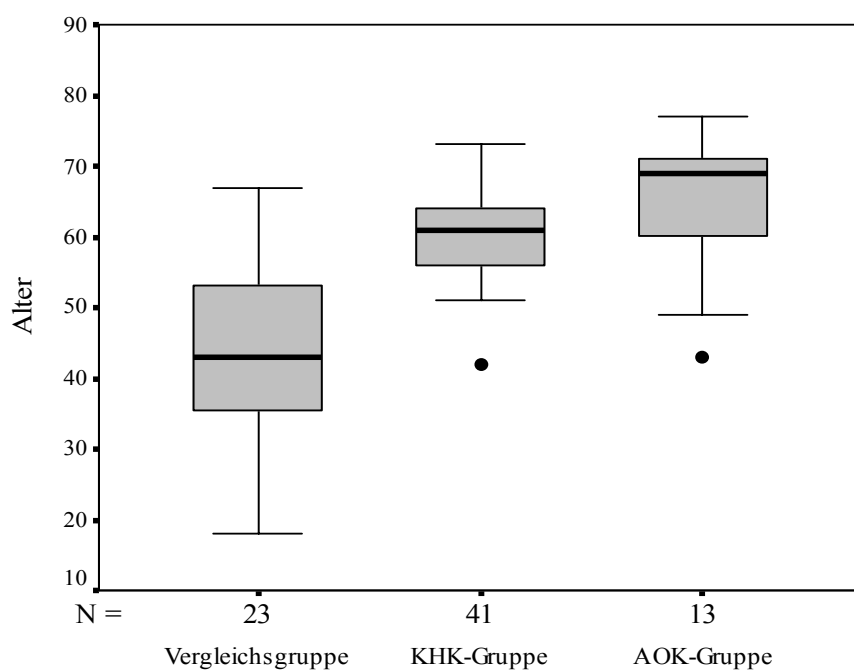


Abb. 6: Altersverteilung in den drei Gruppen (Vgl. vs. KHK, $p = 0,000$, s.; Vgl. vs. AOK, $p = 0,000$, s.; KHK vs. AOK, $p = 0,073$, n.s.). Ein $P < 0,05$ im Mann – Whitney – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

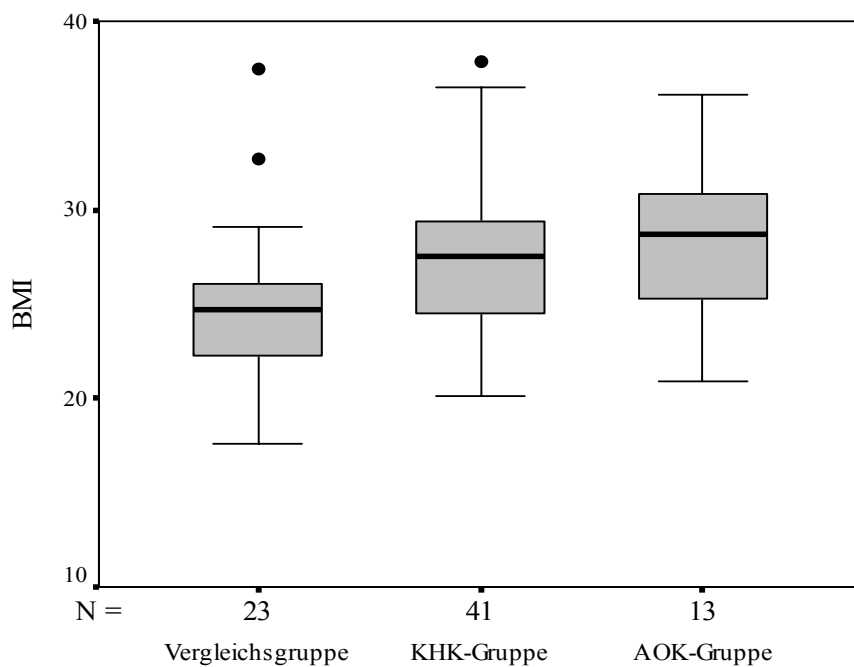


Abb. 7: Gewichtsverteilung in den drei Gruppen (Vgl. vs. KHK, $p = 0,008$, s.; Vgl. vs. AOK, $p = 0,015$, s.; KHK vs. AOK, $p = 0,448$, n.s.). Ein $P < 0,05$ im Mann – Whitney – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Wegen fehlender anamnestischer Angaben über die Herzspender konnte man nur die Koronar- und die Klappenpatienten bezüglich ihrer Begleiterkrankungen, Rauch- und Trinkgewohnheiten vergleichen (Tab. 5). Dabei zeigte sich, dass Krankheiten wie arterielle Hypertonie, Stoffwechselerkrankungen (außer Fettstoffwechselerkrankungen), Atherosklerose der peripheren und kranialen Gefäße, sowie Herz- und Niereninsuffizienz in den beiden Patientenkollektiven gleich vertreten waren. Auch in ihrem Nikotin- und Alkoholkonsum unterschieden sich die Gruppen unwesentlich. Der exakte Test nach Fisher fand signifikante Diskrepanzen zwischen den Kohorten nur bezüglich drei Diagnosen – Myokardinfarkt, Angina pectoris und Fettstoffwechselstörungen. Diese häuften sich wesentlich mehr bei den Patienten mit ischämischen Veränderungen des Myokards.

Tab. 5: Nebenerkrankungen, Nikotinabusus und Alkoholkonsum in der KHK- und der AOK- Gruppe. Der relative Anteil an der gesamten Gruppe ist in Klammern angegeben. Ein $P < 0,05$ im Chi - Quadrat – Test bzw. im exakten Test nach Fisher wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Parameter	Messwert	KHK – Gruppe 41 Patienten	AOK – Gruppe 13 Patienten	P
Arterielle Hypertonie	Nein	8 (19,5%)	4 (30,8%)	,453 (ns)
	Ja	33 (80,5%)	9 (69,2%)	
Myokardinfarkt	Nein	20 (48,8%)	13 (100%)	,001 (s)
	Ja	21 (51,2%)	0 (0%)	
Angina pectoris	Nein	8 (19,5%)	8 (61,5%)	,011 (s)
	Ja	33 (80,5%)	5 (38,5%)	
Diabetes mellitus	Nein	28 (68,3%)	12 (92,3%)	,220 (ns)
	Ja, insulinpflichtig	2 (4,9%)	0 (0%)	
	Ja, tablettenpflichtig	11 (26,8%)	1 (7,7%)	
Fettstoffwechselstörung	Nein	2 (4,9%)	6 (46,2%)	,001 (s)
	Ja	39 (95,1%)	7 (53,8%)	
Adipositas	Nein	34 (82,9%)	10 (76,9%)	,689 (ns)
	Ja	7 (17,1%)	3 (23,1%)	
Herzrhythmusstörung	Nein	38 (92,7%)	10 (76,9%)	,143 (ns)
	Ja	3 (7,3%)	3 (23,1%)	
Hypothyreose	Nein	38 (92,7%)	13 (100%)	1,000 (ns)
	Ja	3 (7,3%)	0 (0%)	
Hyperthyreose	Nein	39 (95,1%)	12 (92,3%)	1,000 (ns)
	Ja	2 (4,9%)	1 (7,7%)	
Hyperurikämie/Gicht	Nein	32 (78,0 %)	12 (92,3%)	,420 (ns)
	Ja	9 (22,0%)	1 (7,7%)	
PAVK	Nein	35 (85,4%)	12 (92,3%)	1,000 (ns)
	Ja	6 (14,6%)	1 (7,7%)	
Herzinsuffizienz	Nein	40 (97,6%)	13 (100%)	1,000 (ns)
	Ja	1 (2,4%)	0 (0%)	
Niereninsuffizienz	Nein	38 (92,7%)	11 (84,6%)	,584 (ns)
	Ja	3 (7,3%)	2 (15,4%)	

Aneurysma	Nein	40 (97,6%)	12 (92,3%)	,427 (ns)
	Ja	1 (2,4%)	1 (7,7%)	
Apoplex/TIA/PRIND	Nein	36 (87,8%)	11 (84,6%)	1,000 (ns)
	Ja	5 (12,2%)	2 (15,4%)	
Nikotin	Kein Nikotinabusus	9 (22%)	3 (23,1%)	,986 (ns)
	Ja, früher	20 (48,8%)	6 (46,2%)	
	Ja, aktuell	12 (29,3%)	4 (30,8%)	
Alkohol	Kein Alkoholkonsum	2 (4,9%)	0 (0%)	,673 (ns)
	Ja, gelegentlich	10 (24,4%)	4 (30,8%)	
	Ja, regelmäßig	29 (70,7%)	9 (69,2%)	

s = signifikant; ns = nicht signifikant

3.2 Ergebnisse der Herzkatheteruntersuchung

Die Befunde der präoperativ durchgeführten Angiographien der Koronargefäße (siehe Abb. 8) wurden retrospektiv analysiert.

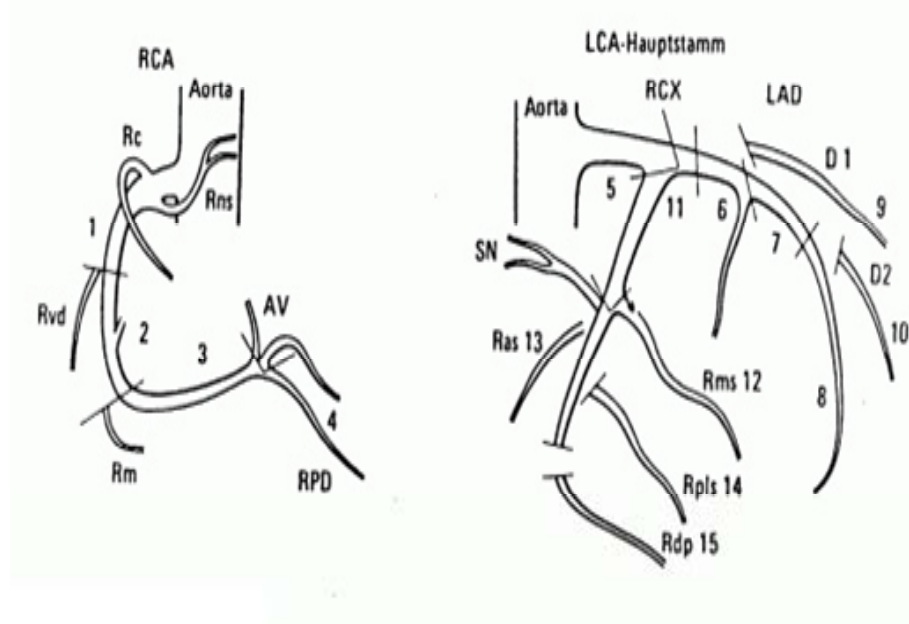


Abb. 8: Nomenklatur der Koronarterien nach AHA (American Heart Association). Bei der Auswertung der Koronarangiographien wurden diese Gefäße in drei Gruppen zusammengefasst: 1. Hauptstamm (LCA), sowie Ramus interventrikularis (LAD) und seine Äste, 2. Ramus circumflexus (RCX) und seine Äste und 3. Rechte Koronarterie (RCA) und ihre Äste.

Statistisch zeigten sich bezüglich der Ausprägung von Gefäßalterationen signifikante Unterschiede zwischen der KHK- und der AOK- Gruppe. Der koronare Versorgungstyp war hingegen in den beiden Gruppen ähnlich vertreten.

Tab. 6: Herzkatheteruntersuchung der KHK- und der AOK- Patienten – Zusammenfassung und statistischer Vergleich der Befunde. Der relative Anteil an der gesamten Gruppe ist in Klammern angegeben. Ein $P < 0,05$ im Chi – Quadrat - Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Parameter	Messwert	KHK - Gruppe 41 Patienten	AOK – Gruppe 13 Patienten	P - Wert
Erkrankte Gefäßsysteme	Keine	0 (0%)	8 (61,5%)	,000 (s)
	Ja, 1	0 (0%)	3 (23,1%)	
	Ja, 2	8 (19,5%)	2 (15,4%)	
	Ja, 3	33 (80,5%)	0 (0%)	
Hauptstammstenose sowie Stenose von Ramus interventrikularis- und dessen Ästen	Nein	0 (0%)	12 (92,3%)	,000 (s)
	Ja, < 50%	2 (4,9%)	0 (0%)	
	Ja, 51 – 75%	8 (19,5%)	0 (0%)	
	Ja, > 76%	31 (75,6%)	1 (7,7%)	
Stenose von Ramus circumflexus- und dessen Ästen	Nein	8 (19,5%)	10 (76,9%)	,000 (s)
	Ja, < 50%	5 (12,2%)	3 (23,1%)	
	Ja, 51 – 75%	7 (17,1%)	0 (0%)	
	Ja, > 76%	21 (51,2%)	0 (0%)	
Stenose der Rechten Koronararterie- und derer Äste	Nein	2 (4,9%)	10 (76,9%)	,000 (s)
	Ja, < 50%	2 (4,9%)	3 (23,1%)	
	Ja, 51 – 75%	7 (17,1%)	0 (0%)	
	Ja, > 76%	30 (73,2%)	0 (0%)	
Koronarer Versorgungstyp	Keine Angaben	8 (19,5%)	6 (46,2%)	,209 (ns)
	Linkstyp	8 (19,5%)	4 (30,8%)	
	Rechtstyp	12 (29,3%)	1 (7,7%)	
	Intermediärtyp	13 (31,7%)	2 (15,4%)	

s = signifikant; ns = nicht signifikant

Die bei der Laevokardiographie gemessene LVEF von 65,29 % in der KHK- Gruppe unterschied sich nicht wesentlich von der LVEF in der AOK- Gruppe (64,71 %). Es ist allerdings zu erwähnen, dass die Daten ziemlich spärlich waren. Bei 17 Koronarpatienten und bei sechs Klappenpatienten fehlten Angaben bezüglich der LVEF.

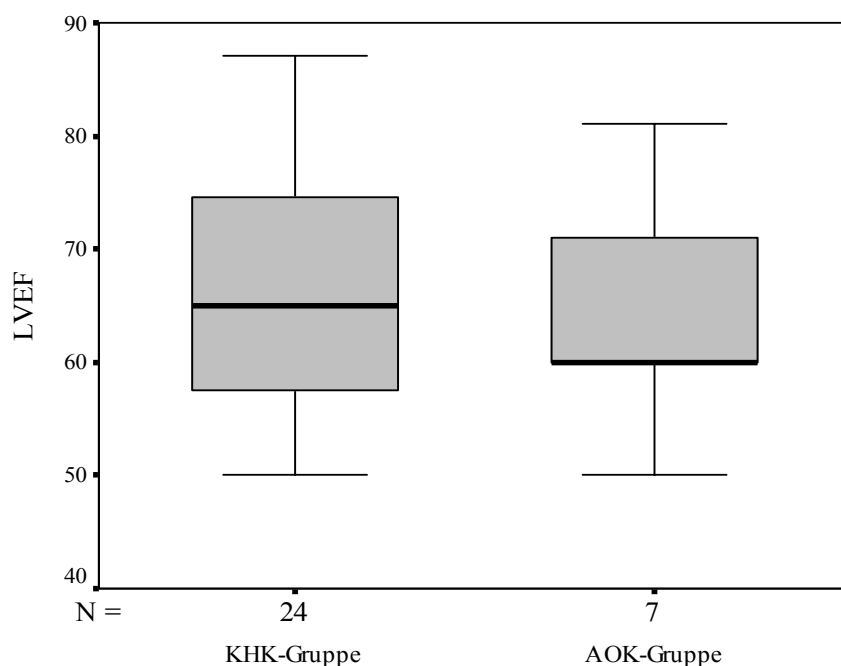


Abb. 9: LVEF in der KHK- und AOK- Gruppe (KHK vs. AOK, $p = 0,794$, n.s.). Ein $P < 0,05$ im Mann – Whitney – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

3.3 Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung

Bei der subjektiven Auswertung der Myokardbiopsien fehlten gelegentlich Aussagen über das Kaliber der Herzmuskelzellen (bei zwei AOK- Patienten) sowie über die perivasale und interstitielle Fibrose (siehe Tab. 7 und Tab. 8).

Der statistische Vergleich zwischen den Gruppen (siehe Tab. 7) zeigte signifikante Unterschiede zwischen der Vergleichs- und der KHK- Gruppe sowie zwischen der Vergleichs- und der AOK- Gruppe bezüglich der Hypertrophie der Herzmuskelzellen, der Kaliberunterschiede und des Ausmaßes der interstitiellen Fibrose. Die perivasale Fibrose war in der AOK- Gruppe deutlich stärker ausgeprägt als in der Vergleichsgruppe, nicht aber in der KHK- Gruppe. Hingegen war der Narbenanteil in den Biopsien der Koronarpatienten signifikant höher als in den Biopsien der Herzspender. Die AOK- Gruppe unterschied sich diesbezüglich unwesentlich von der Vergleichsgruppe. All diese Parameter - Myokardzellhypertrophie, Kaliberunterschiede, perivasale Fibrose, interstitielle Fibrose und Narben, zeigten keine statistisch relevanten

Diskrepanzen beim Vergleich zwischen der KHK- und der AOK- Gruppe.

Tab. 7: Mikroskopische Untersuchung des linken Ventrikels in der Vergleichsgruppe, der KHK- und der AOK-Gruppe – Zusammenfassung der subjektiven Beurteilung verschiedener Parameter und Vergleich zwischen den drei Gruppen. Der relative Anteil an der gesamten Gruppe ist in Klammern angegeben. Ein $P < 0,05$ im Chi - Quadrat – Test bzw. im exakten Test nach Fisher wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Parameter	Vergleichsgruppe 23 Patienten	KHK - Gruppe 41 Patienten	AOK – Gruppe 13 Patienten	P-Wert
Hypertrophie der Herzmuskelzelle				
Keine	13 (16,9%)	1 (2,4%)	0 (0%)	Vgl*KHK ,000 (s) Vgl*AOK ,000 (s) KHK*AOK ,535 (ns)
Gering	8 (10,4%)	7 (17,1%)	2 (15,4%)	
Mäßig	2 (2,6%)	25 (61%)	6 (46,2%)	
Stark	0 (0%)	8 (19,5%)	5 (38,5%)	
Kaliberunterschiede der Herzmuskelzellen				
Keine	16 (69,6%)	8 (19,5%)	3 (23,08%)	Vgl*KHK ,000 (s) Vgl*AOK ,001 (s) KHK*AOK ,714 (ns)
Gering	5 (21,7%)	4 (9,8%)	0 (0%)	
Mäßig	2 (8,7%)	17 (41,5%)	5 (38,46%)	
Stark	0 (0%)	12 (29,3%)	3 (23,08%)	
Fehlende Angaben	0 (0%)	0 (0%)	2 (15,38%)	
Perivasale Fibrose				
Keine	4 (17,39%)	1 (2,44%)	0 (0%)	Vgl*KHK ,057 (ns) Vgl*AOK ,026 (s) KHK*AOK ,621 (ns)
Gering	18 (78,26%)	31 (75,61%)	9 (69,2%)	
Mäßig	0 (0%)	5 (12,20%)	3 (23,1%)	
Stark	0 (0%)	1 (2,44%)	1 (7,7%)	
Fehlende Angaben	1 (4,35%)	3 (7,32%)	0 (0%)	
Interstitielle Fibrose				
Keine	7 (30,43%)	1 (2,44%)	0 (0%)	Vgl*KHK ,005 (s) Vgl*AOK ,012 (s) KHK*AOK ,621 (ns)
Gering	15 (65,22%)	31 (75,61%)	9 (69,2%)	
Mäßig	0 (0%)	5 (12,20%)	3 (23,1%)	
Stark	0 (0%)	1 (2,44%)	1 (7,7%)	
Fehlende Angaben	1 (4,35%)	3 (7,32%)	0 (0%)	
Narben				
Nein	19 (82,6%)	10 (24,4%)	6 (46,2%)	Vgl*KHK ,000 (s) Vgl*AOK ,056 (ns) KHK*AOK ,170 (ns)
Ja	4 (17,4%)	31 (75,6%)	7 (53,8%)	

Vgl*KHK = Vergleich zwischen der Vergleichs- und der KHK-Gruppe; Vgl*AOK = Vergleich zwischen der Vergleichs- und der AOK-Gruppe; KHK*AOK = Vergleich zwischen der KHK- und der AOK-Gruppe; s = signifikant; ns = nicht signifikant

Bei der Analyse der subjektiven Beurteilung des Myokards der Herzspender (siehe Tab. 8) fanden sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der untersuchten Parameter zwischen Männern und Frauen. Bis auf die Hypertrophie der Myozyten waren auch keine relevanten Diskrepanzen zwischen dem rechten und linken Ventrikel festzustellen.

Tab. 8: Mikroskopische Untersuchung des rechten und linken Ventrikels in der Vergleichsgruppe – Zusammenfassung der subjektiven Beurteilung verschiedener Parameter und Vergleich zwischen den Geschlechtern sowie zwischen den beiden Ventrikeln. Der relative Anteil an der gesamten Gruppe ist in Klammern angegeben. Ein $P < 0,05$ im Chi - Quadrat – Test bzw. im exakten Test nach Fisher wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Parameter	Vergleichsgruppe linker Ventrikel 23 Patienten			Vergleichsgruppe rechter Ventrikel 23 Patienten			P- Wert
	16 weibl.	7 männl.	P- Wert	16 weibl.	7 männl.	P- Wert	
Hypertrophie der Herzmuskelzellen							
Keine	13 (56,5%)		,202 (ns)	20 (87,0%)		,144 (ns)	,020 (s)
	11 (68,8%) 2 (28,6%)			15 (93,8%) 5 (71,4%)			
Gering	8 (34,8%)			3 (13,0%)			
	4 (25,0%) 4 (57,1%)			1 (6,3%) 2 (28,6%)			
Mäßig	2 (8,7%)			0 (0%)			
	1 (6,3%) 1 (14,3%)			0 (0%) 0 (0%)			
Stark	0 (0%)			0 (0%)			
	0 (0%) 0 (0%)			0 (0%) 0 (0%)			
Kaliberunterschiede der Herzmuskelzellen							
Keine	16 (69,6%)		,670 (ns)	21 (91,3%)		,082 (ns)	,134 (ns)
	12 (75,0%) 4 (57,1%)			16 (100%) 5 (71,4%)			
Gering	5 (21,7%)			1 (4,3%)			
	3 (18,8%) 2 (28,6%)			0 (0%) 1 (14,3%)			
Mäßig	2 (8,7%)			1 (4,3%)			
	1 (6,3%) 1 (14,3%)			0 (0%) 1 (14,3%)			
Stark	0 (0%)			0 (0%)			
	0 (0%) 0 (0%)			0 (0%) 0 (0%)			
Perivasale Fibrose							
Keine	4 (17,4%)		,746 (ns)	7 (30,4%)		,829 (ns)	,083 (ns)
	3 (18,75%) 1 (14,3%)			5 (31,25%) 2 (28,57%)			
Gering	18 (78,3%)			12 (52,2%)			
	12 (75,0%) 6 (85,7%)			8 (50%) 4 (57,14%)			
Mäßig	0 (0%)			0 (0%)			
	0 (0%) 0 (0%)			0 (0%) 0 (0%)			
Stark	0 (0%)			0 (0%)			
	0 (0%) 0 (0%)			0 (0%) 0 (0%)			
Fehlende Angaben	1 (4,3%)		4 (17,4)				
	1 (6,25%) 0 (0%)		3 (18,75%) 1 (14,29%)				

Interstitielle Fibrose									
Keine	7 (30,4%)			,228 (ns)	9 (39,1%)			,405 (ns)	,157 (ns)
	6 (37,5%)		1 (14,3%)		7 (43,75%)		2 (28,57%)		
Gering	15 (65,2%)			,557 (ns)	10 (43,5%)			,557 (ns)	1,000 (ns)
	9 (56,25%)		6 (85,7%)		6 (37,5%)		4 (57,14%)		
Mäßig	0 (0%)			,557 (ns)	0 (0%)			,557 (ns)	1,000 (ns)
	0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)		
Stark	0 (0%)			,557 (ns)	0 (0%)			,557 (ns)	1,000 (ns)
	0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)		
Fehlende Angaben	1 (4,3%)			,557 (ns)	4 (17,4%)			,557 (ns)	1,000 (ns)
	1 (6,25%)		0 (0%)		3 (18,75%)		1 (14,29%)		
Narben									
Nein	19 (82,6%)			,557 (ns)	19 (82,4%)			,557 (ns)	1,000 (ns)
	14 (87,5%)		5 (71,4%)		14 (87,5%)		5 (71,4%)		
Ja	4 (17,4%)			,557 (ns)	4 (17,4%)			,557 (ns)	1,000 (ns)
	2 (12,5%)		2 (28,6%)		2 (12,5%)		2 (28,6%)		

s = signifikant; ns = nicht signifikant

3.4 Ergebnisse der Morphometrie mit EasyMeasure®: Herzmuskelzellgröße

Die Ergebnisse der morphometrischen Untersuchung der Herzmuskelzellen mittels EasyMeasure® sind in Tabelle 9 dargestellt.

Von insgesamt 7.752 Messungen an linksventrikulären und 8.055 Messungen an rechtsventrikulären Kardiomyozyten in der Vergleichsgruppe ließ sich ein mittlerer Zelldurchmesser von $10,74 \pm 2,4 \mu\text{m}$ für links und $9,14 \pm 1,78 \mu\text{m}$ für rechts errechnen. In der KHK- Gruppe kalkulierte man aus 13.868 Distanzen eine durchschnittliche Zellgröße von $17,67 \mu\text{m}$ ($\pm 4,09 \mu\text{m}$). In der AOK- Gruppe wurden 4.404 Diameter ausgemessen, dabei betrug der ermittelte Mittelwert $19,79 \mu\text{m}$ ($\pm 4,56 \mu\text{m}$).

Tab. 9: Morphometrische Untersuchung des linken und rechten Ventrikels mit EasyMeasure® - Durchmesser der Herzmuskelzellen. Dargestellt sind die Anzahl der bei den jeweiligen Patienten durchgeführten Messungen, der Mittelwert und die Standardabweichung der Messwerte.

Histo-Nr	Anzahl Messungen links	HMZ – Diameter links		Anzahl Messungen rechts	HMZ – Diameter rechts	
		\bar{x}	sd		\bar{x}	sd
Vergleichsgruppe						
96/1776	297	8,83	1,440	358	9,51	1,833
97/0072	297	9,10	1,654	354	9,05	1,806
97/0220	357	10,81	2,387	340	9,04	2,120
97/0480	351	9,23	2,002	335	7,76	1,394

97/0533	303	8,59	1,580	333	9,67	1,995
97/0617	354	8,98	2,313	366	8,05	1,684
97/0657	342	9,84	2,161	360	9,41	1,725
97/0658	336	11,66	3,038	363	10,19	2,016
97/0894	318	11,78	3,026	343	8,65	1,545
97/0981	348	11,65	2,007	342	9,15	1,694
98/0005	324	11,64	2,997	354	10,42	1,904
98/0899	348	13,15	3,678	357	9,03	1,574
98/1338	351	11,07	2,439	357	8,67	1,728
99/0293	345	11,15	2,822	354	9,26	1,897
99/0802	330	13,20	2,167	375	8,92	1,986
00/0042	327	14,82	3,556	369	8,54	1,679
00/0728	351	11,35	2,589	351	8,89	1,643
00/2413	357	11,36	2,350	345	9,97	1,825
03/0186	339	10,24	2,515	342	9,39	1,671
03/0607	351	10,22	2,417	312	9,02	1,529
03/1091	348	9,81	2,099	345	9,59	2,108
03/1149	339	9,23	1,770	351	9,77	1,907
04/0268	339	9,29	2,198	349	8,36	1,514

KHK-Gruppe

02/3687	264	13,27	2,744
02/3810	273	12,00	2,449
03/0395	345	15,06	3,137
03/0547	339	13,94	3,154
03/0633	279	15,47	3,430
03/0649	360	13,68	3,017
03/0764	351	13,84	3,138
03/0926	342	17,54	4,629
03/0935	345	17,89	4,523
03/0999	351	20,55	5,097
03/1273	294	21,13	5,774
03/1527	348	16,55	3,661
03/1557	345	17,07	3,959
03/1584	342	16,08	3,750
03/1638	345	16,71	3,873
03/1835	345	18,26	4,315
03/2543	345	14,48	3,306
03/2607	348	21,88	5,492
03/2883	339	23,66	5,488
03/2973	312	19,04	5,173
03/3212	342	24,34	7,244
03/3604	351	20,50	4,026
03/4236	363	18,01	4,021
03/4320	372	19,91	4,110
03/4324	357	15,53	3,066

03/4395	381	17,72	3,787
03/4420	345	18,42	4,459
03/4479	342	20,72	4,886
03/4532	375	10,91	2,857
04/0063	321	18,18	4,093
04/0083	339	21,98	5,179
04/0124	309	17,22	3,928
04/0157	351	17,24	3,535
04/0201	321	15,59	2,806
04/0343	357	21,46	5,372
04/0763	369	22,05	5,319
04/0850	333	17,57	3,692
04/1121	326	14,87	3,244
04/1188	333	16,97	4,080
04/1303	363	18,41	3,841
04/1707	306	18,90	3,866
AOK-Gruppe			
03/0653	339	19,05	3,829
03/1229	336	22,31	6,066
03/1897	288	22,40	4,885
03/2697	336	15,24	3,188
03/3511	369	18,81	4,949
03/3983	348	18,87	3,736
04/0347	345	18,40	4,031
04/0537	306	18,65	4,264
04/0717	327	20,03	5,243
04/2320	339	20,44	4,856
04/2386	342	16,89	3,914
04/2425	372	16,65	3,771
04/3213	357	29,57	6,588

HMZ = Herzmuskelzellen; \bar{x} = Mittelwert; sd = Standardabweichung

Die zahlreichen Messwerte (26.024 linksventrikuläre und 8.055 rechtsventrikuläre Zelldiameter) wurden für jede Gruppe bzw. in der Vergleichsgruppe für jede Herzkammer in 18 Größenklassen (je 2,99 µm breit) eingeteilt. Die erste Klasse enthielt Messwerte unter 2,99 µm, die letzte Größenklasse Werte über 51,0 µm. Dabei kam es zu folgenden Ergebnissen:

In der Vergleichsgruppe (siehe Abb. 10A) lagen 89,4 % aller linksventrikulären Herzmuskelzelldurchmesser im Normbereich (< 15 µm). Die Werte verteilten sich dabei überwiegend in drei Größenklassen (6,0 bis 8,99 µm – 27,2 %, 9,0 bis 11,99 µm – 40,9 % und 12,0 bis 14,99 µm – 21,3 %). In der KHK- Gruppe (Abb. 10B) hatten nur 32,6 % der Myozyten einen Diameter kleiner 15 µm. Hier waren die Messungen etwas breiter verteilt – in fünf Klassen (9,0 bis 11,99 µm – 9,4 %, 12,0 bis 14,99 µm – 21,1 %, 15,0 bis 17,99 µm – 24,5 %, 18,0 bis 20,99 µm – 19,7 % und 21,0 bis 23,99 µm – 12,0 %). Am kleinsten war der Anteil nichthypertrophierter Herzmuskelzellen in der AOK- Gruppe – erst 17,8 % (siehe Abb. 10C). Die Messwerte gehörten fünf Größenklassen an (12,0 bis 14,99 µm – 13,2 %, 15,0 bis 17,99 µm – 24,3 %, 18,0 bis 20,99 µm – 23,3 %, 21,0 bis 23,99 µm – 15,5 % und 24,0 bis 26,99 µm – 8,1 %).

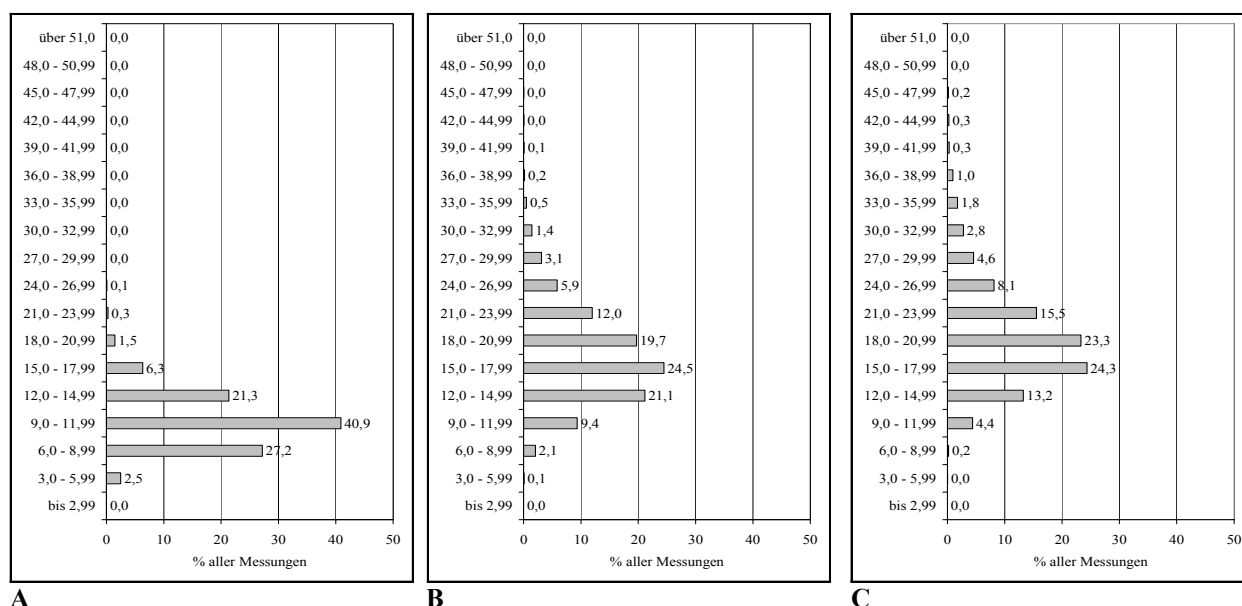


Abb. 10: Verteilung der EasyMeasure®- Messwerte vom linken Ventrikel in Größenklassen. A. Verteilung in der Vergleichsgruppe, B. Verteilung in der KHK- Gruppe, C. Verteilung in der AOK- Gruppe.

Im Vergleich zum linken Ventrikel verteilten sich die Messwerte vom rechten Ventrikel der Herzspendergruppe überwiegend in zwei Größenklassen - 6,0 bis 8,99 μm – 44,6 % und 9,0 bis 11,99 μm – 44,1 % (siehe Abb. 10B). Die Zelldurchmesser lagen bis auf wenige unwesentliche Ausnahmen unter 15 μm .

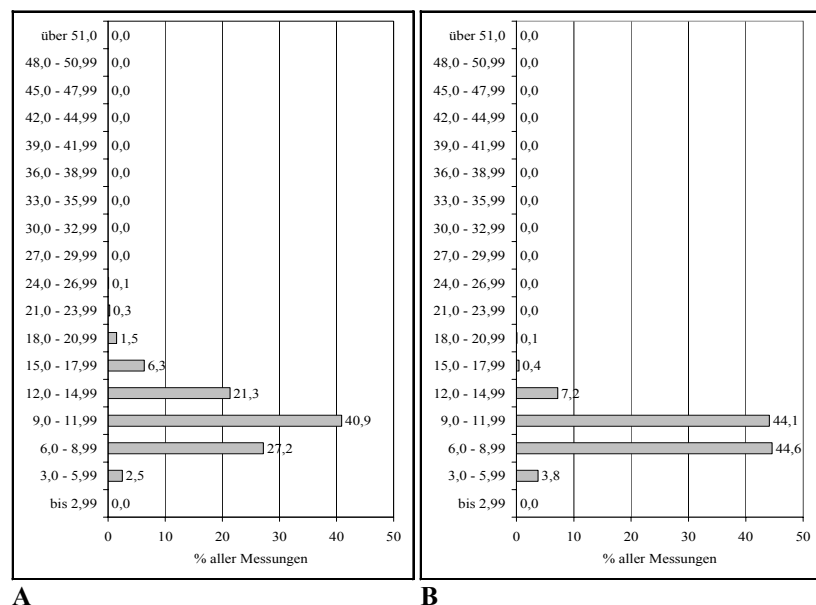


Abb. 11: Verteilung der EasyMeasure®- Messwerte vom linken und rechten Ventrikel der Vergleichsgruppe in Größenklassen. **A.** Verteilung links, **B.** Verteilung rechts.

Die Verteilung der einzelnen Messwerte in Größenklassen spiegelte die Vielfältigkeit der Herzmuskelzellgrößen wider. Die Anzahl der Größenklassen passte zu der berechneten Standardabweichung und der Rang der bestbesetzten Klasse zum Schweregrad der Hypertrophie in der entsprechenden Gruppe.

Der praktisch gleiche Variationskoeffizient in den drei Kohorten (22 % in der Vergleichsgruppe bzw. je 23 % in der KHK- und in der AOK- Gruppe) unterstützte den Eindruck einer homogenen Verteilung der einzelnen Größenklassen und deutete darauf hin, dass die Patienten ähnlich in der Ausprägung der Hypertrophie ihrer Myokardzellen reagierten.

Die statistische Prüfung (Kolmogorov-Smirnov-Test) stellte sowohl für den linken und rechten Ventrikel der Vergleichsgruppe als auch für die KHK- und die AOK- Gruppe eine Normalverteilung der mittleren Herzmuskelzellendiameter fest. Wie in Abbildung 12 veranschaulicht, gruppierten sich die Punkte (die mittleren Herzmuskelzellendiameter) in allen vier Fällen um die Gerade der Normalverteilung herum.

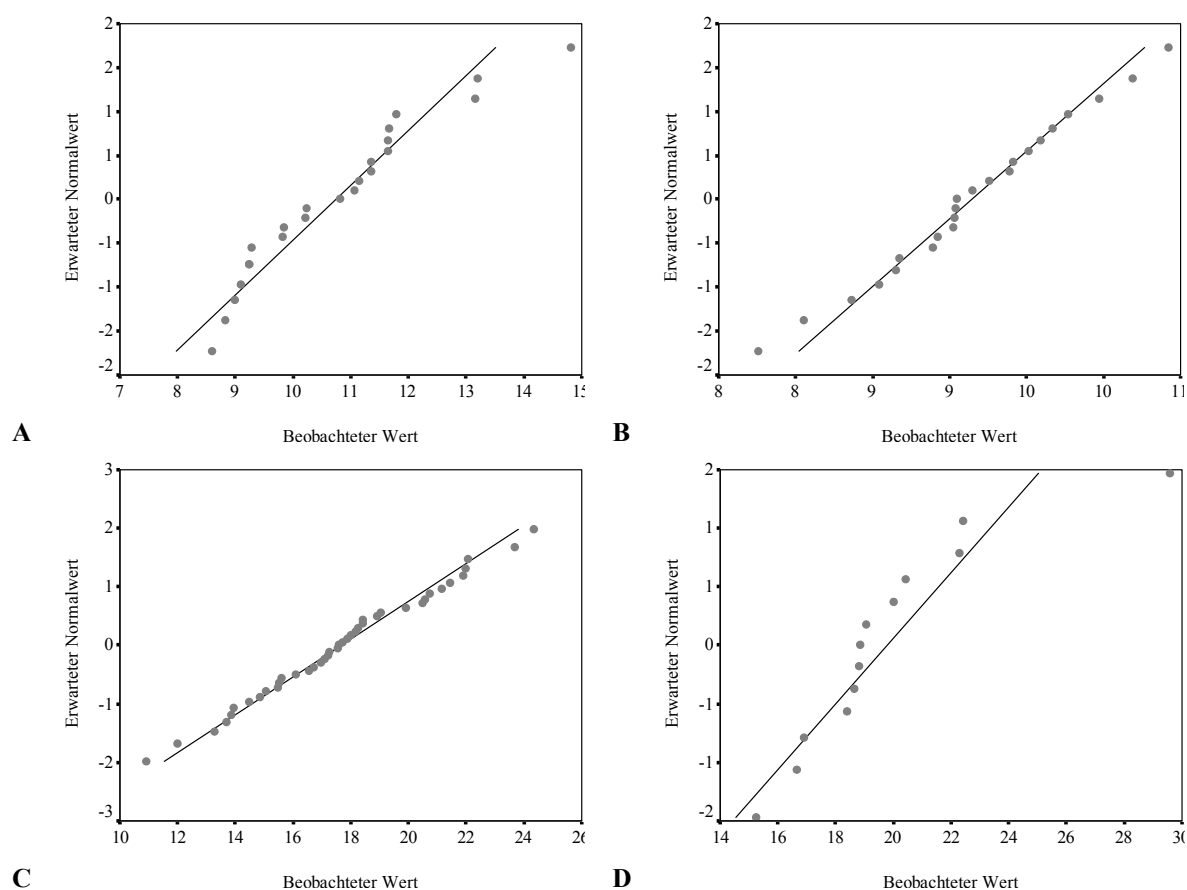


Abb. 12: Q-Q-Wahrscheinlichkeitsdiagramme. **A.** Vergleichsgruppe links, **B.** Vergleichsgruppe rechts, **C.** KHK-Gruppe, **D.** AOK- Gruppe. Die Punkte stellen die mittleren Herzmuskelzellendiameter und die Gerade die zu testende Normalverteilung dar.

Die morphometrisch ermittelten gruppenspezifischen Mittelwerte wurden statistisch verglichen. Dabei zeigte sich, dass die Herzmuskelzellen im linksventrikulären Myokard der Herzspender signifikant kleiner als die Myozyten der KHK- und der AOK- Patienten waren. Zwischen der KHK- und der AOK- Gruppe bestand diesbezüglich kein wesentlicher Unterschied (siehe Abb. 13).

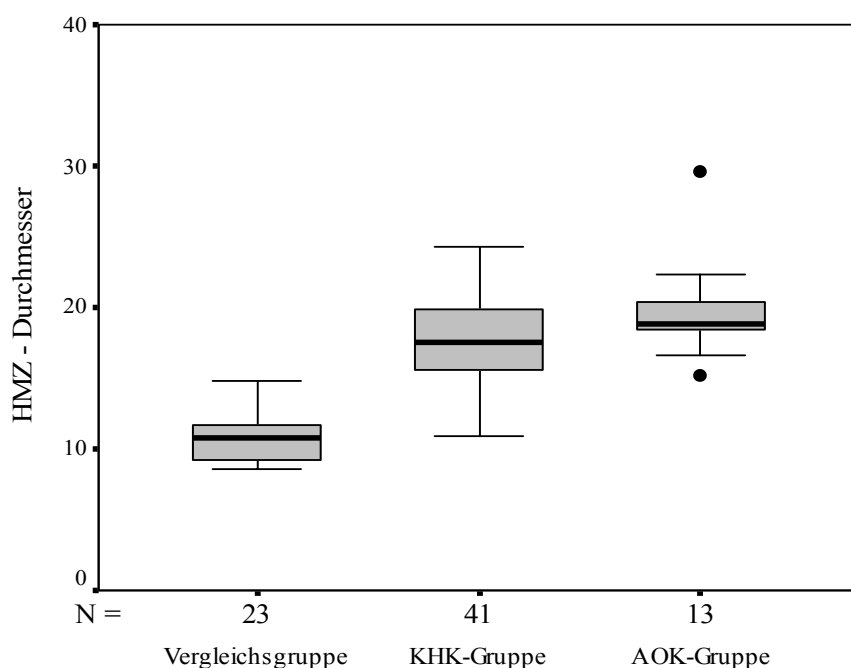


Abb. 13: Vergleich der Diameter der linksventrikulären HMZ zwischen den drei Gruppen (Vgl. vs. KHK, $p = 0,000$ s.; Vgl. vs. AOK, $p = 0,000$ s.; KHK vs. AOK, $p = 0,061$ n.s.). Ein $P < 0,05$ im Mann - Whitney – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Die statistische Auswertung des objektiv bestimmten Schweregrades der Hypertrophie ergab ebenso signifikant stärkere Hypertrophie im Myokard der KHK- und der AOK- Patienten als im Myokard der Herzspender, kein bedeutender Unterschied aber beim Vergleich zwischen der KHK- und der AOK- Gruppe (siehe Tab. 10).

Tab. 10: Schweregrad der Herzmuskelzellhypertrophie in den Gruppen – objektive Beurteilung anhand der EasyMeasure®- Ergebnisse. Der relative Anteil an der gesamten Gruppe ist in Klammern angegeben. Ein $P < 0,05$ im Chi – Quadrat – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Parameter (Hypertrophie)	Vergleichsgruppe 23 Patienten	KHK- Gruppe 41 Patienten	AOK- Gruppe 13 Patienten	P- Wert
Keine (bis 15 μm)	23 (100%)	9 (22%)	0 (0%)	Vgl*KHK ,000 (s) Vgl*AOK ,000 (s) KHK*AOK ,321 (ns)
Geringe (15,1 - 17 μm)	0 (0%)	8 (19,5%)	3 (23,1%)	
Mäßige (17,1 - 19 μm)	0 (0%)	13 (31,7%)	5 (38,5%)	
Starke (> 19,1 μm)	0 (0%)	11 (26,8%)	5 (38,5%)	

Vgl*KHK = Vergleich zwischen der Vergleichs- und der KHK- Gruppe; Vgl*AOK = Vergleich zwischen der Vergleichs- und der AOK- Gruppe; KHK*AOK = Vergleich zwischen der KHK- und der AOK- Gruppe; s = signifikant; ns = nicht signifikant

Darüber hinaus wurde die Vergleichsgruppe weiterer statistischer Analysen unterzogen und das Myokard der Spenderherzen nach Seiten- und Geschlechtsbesonderheiten untersucht. Dabei fanden sich keine relevanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen bezüglich der Größe ihrer Herzmuskelzellen (siehe Tab. 11), wohl aber zwischen den beiden Herzkammern. Die im rechten Ventrikel gemessenen Zelldurchmesser erwiesen sich als signifikant kleiner im Vergleich zum linken Ventrikel.

Tab. 11: Morphometrische Untersuchung des linken und rechten Ventrikels mit EasyMeasure® in der Vergleichsgruppe – Diameter der Herzmuskelzellen und deren Vergleich zwischen den Geschlechtern sowie zwischen den beiden Ventrikeln. Ein $P < 0,05$ im Mann – Whitney – bzw. im Wilcoxon – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Parameter	Vergleichsgruppe 23 Patienten linker Ventrikel			Vergleichsgruppe 23 Patienten rechter Ventrikel			P
	16 weibl.	7 männl.	P	16 weibl.	7 männl.	P	
Zelldurchmesser in μm (\bar{x})	10,74		,841 (ns)	9,14		,285 (ns)	,000 (s)
	10,80	10,60		9,06	9,34		
Standardabweichung (sd)	2,40		,894 (ns)	1,78		,640 (ns)	,000 (s)
	2,41	2,38		1,76	1,81		
Variationskoeffizient in %	22		,820 (ns)	19		,671 (ns)	,007 (s)
	22	22		19	19,5		

\bar{x} = Mittelwert; sd = Standardabweichung; s = signifikant; ns = nicht signifikant

Im geschlechtergetrennten Seitenvergleich stellte sich fest, dass dieses Phänomen nur bei den weiblichen Spenderherzen vorkam. Männliche rechts- und linksventrikuläre Myozyten unterschieden sich in ihrer Größe nicht voneinander (siehe Abb. 14).

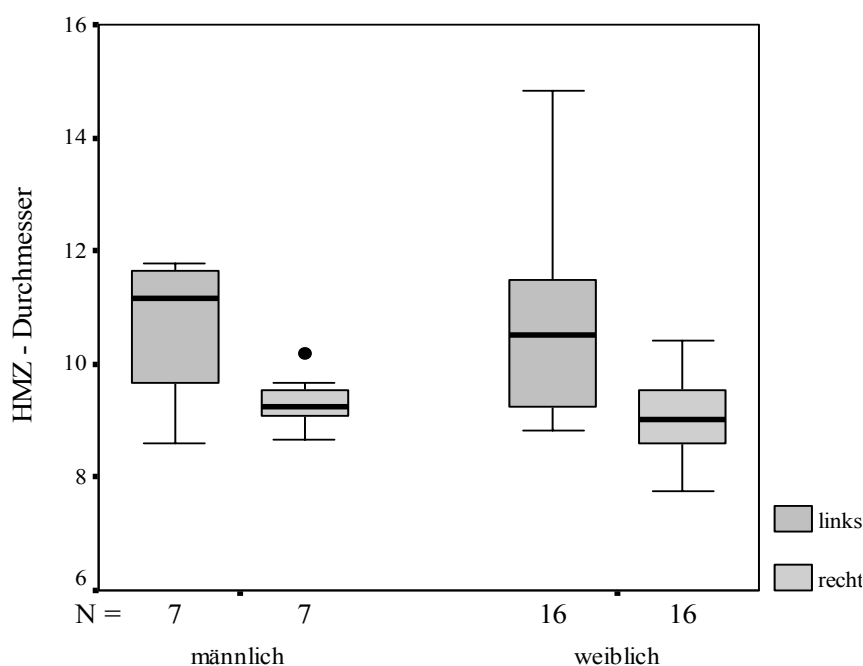


Abb. 14: Vergleich der HMZ – Diameter des linken und rechten Ventrikels bei männlichen und weiblichen Herzspendern gemessen mit EasyMeasure® (männliches Geschlecht – links vs. rechts, $p = 0,063$ n.s.; weibliches Geschlecht – links vs. rechts, $p = 0,002$ s.). Ein $P < 0,05$ im Wilcoxon – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

3.5 Ergebnisse der Morphometrie mit KS 400 Release 3.1: Fibroseausprägung

Bei zwei Patienten der KHK- Gruppe und bei einem Patienten der AOK- Gruppe war die Fibrosemessung mit KS 400 Release 3.1. aus technischen Gründen nicht möglich. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind aus Tabelle 12 zu entnehmen.

Tab. 12: Morphometrische Untersuchung des linksventrikulären Myokards mit KS 400 Release 3.1 in den Gruppen – Ausprägung der Gesamtfibrose, Ausprägung der reinen Fibrose und Anteil der Narben.

Parameter	Vergleichsgruppe 23 Patienten	KHK- Gruppe 41 Patienten	AOK- Gruppe 13 Patienten
Gesamtfibrose in μm^2 ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	600,26 \pm 375,68	6800,79 \pm 2983,65	6289,42 \pm 2816,39
Gesamtfibrose in % ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	0,7 \pm 0,63	8,41 \pm 3,65	7,75 \pm 3,44
Reine Fibrose in μm^2 ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	589,61 \pm 361,71	5342,08 \pm 2514,45	4093,75 \pm 1941,54
Reine Fibrose in % ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	0,7 \pm 0,63	6,62 \pm 3,07	5,0 \pm 2,3
Narben in % ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	0,39 \pm 1,12	16,0 \pm 7,92	25,0 \pm 16,6

\bar{x} = Mittelwert; sd = Standardabweichung

Das Ausmaß der Gesamtfibrose und der reinen Fibrose sowie der Narbenanteil waren in der KHK- und in der AOK- Gruppen statistisch gesehen gleich ausgeprägt, deutlich stärker aber im Vergleich zur Herzspendengruppe (siehe Abb. 15, Abb. 16 und Abb. 17).

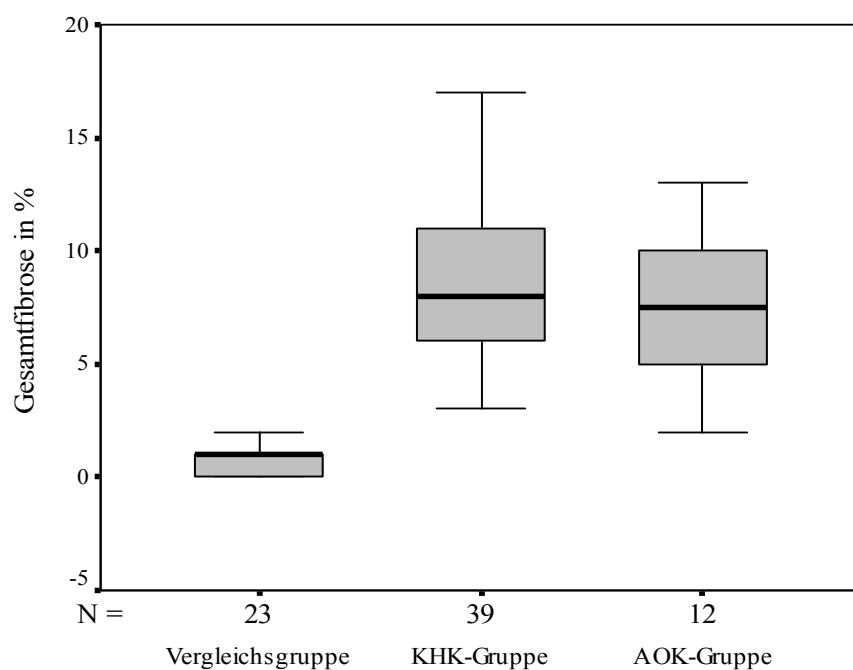


Abb. 15: Vergleich des relativen Ausmaßes der Gesamtfibrose im linksventrikulären Myokard zwischen den drei Gruppen (Vgl. vs. KHK, $p = 0,000$ s.; Vgl. vs. AOK, $p = 0,000$ s.; KHK vs. AOK, $p = 0,664$ n.s.). Ein $P < 0,05$ im Mann - Whitney – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

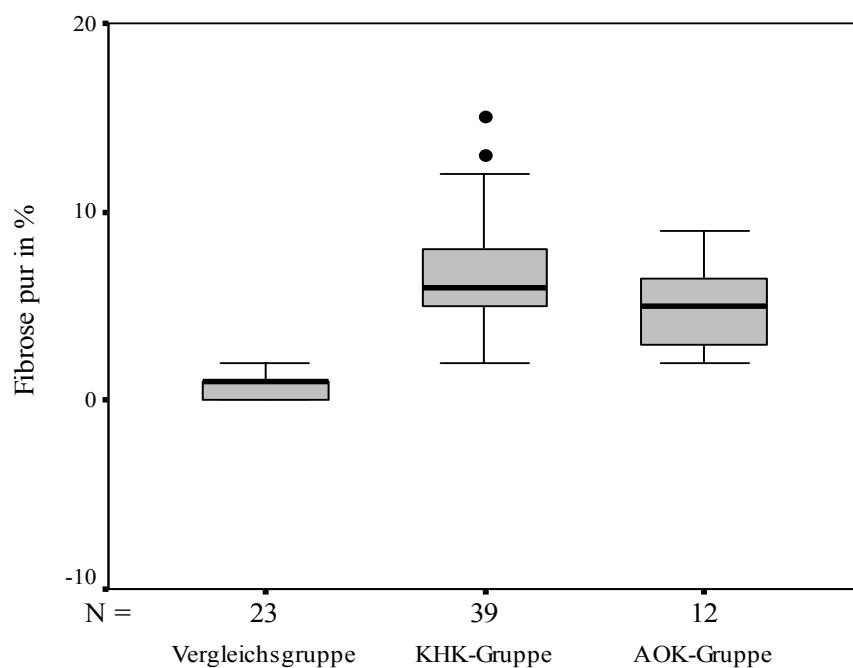


Abb. 16: Vergleich des relativen Ausmaßes der reinen Fibrose im linksventrikulären Myokard zwischen den drei Gruppen (Vgl. vs. KHK, $p = 0,000$ s.; Vgl. vs. AOK, $p = 0,000$ s.; KHK vs. AOK, $p = 0,136$ n.s.). Ein $P < 0,05$ im Mann - Whitney – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

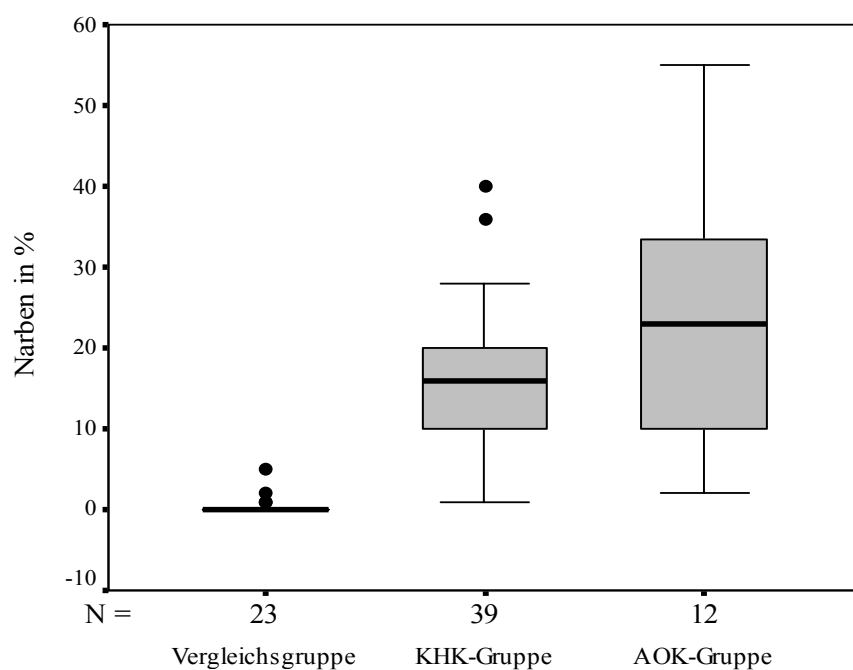


Abb. 17: Vergleich des Narbenanteils im linksventrikulären Myokard zwischen den drei Gruppen (Vgl. vs. KHK, $p = 0,000$ s.; Vgl. vs. AOK, $p = 0,000$ s.; KHK vs. AOK, $p = 0,06$ n.s.). Ein $P < 0,05$ im Mann - Whitney – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Bei der statistischen Auswertung sowohl der linksventrikulären als auch der rechtsventrikulären Ergebnisse der Fibrosemessung in der Vergleichsgruppe ergaben sich keine Differenzen zwischen dem männlichen und dem weiblichen Myokard. Es fanden sich aber signifikante Unterschiede zwischen dem rechten und dem linken Ventrikel (siehe Tab. 13).

Tab. 13: Morphometrische Untersuchung des linken und rechten Ventrikels mit KS 400 Release 3.1 in der Vergleichsgruppe – Ausprägung der Gesamtfibrose, Ausprägung der reinen Fibrose und Anteil der Narben. Vergleich zwischen den Geschlechtern sowie zwischen den beiden Ventrikeln. Ein $P < 0,05$ im Mann – Whitney – bzw. im Wilcoxon – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Parameter	Vergleichsgruppe 23 Patienten linker Ventrikel			Vergleichsgruppe 23 Patienten rechter Ventrikel			P
	16 weibl.	7 männl.	P	16 weibl.	7 männl.	P	
Gesamtfibrose in μm^2 ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	600,26 \pm 375,68		,947	1133,57 \pm 740,55		,640	,000 s
	594,63	613,14	ns	1095,31	1221,0	ns	
Gesamtfibrose in % ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	0,7 \pm 0,63		1,00	1,43 \pm 0,9		,972	,001 s
	0,69	0,71	0 ns	1,44	1,43	ns	
Reine Fibrose in μm^2 ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	589,61 \pm 361,71		,894	1094,26 \pm 673,91		,640	,000 s
	583,0	604,71	ns	1053,13	1188,29	ns	
Reine Fibrose in % ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	0,7 \pm 0,63		1,00	1,43 \pm 0,9		,972	,001 s
	0,69	0,71	0 ns	1,44	1,43	ns	
Narben in % ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	0,39 \pm 1,12		,479	0,78 \pm 1,83		,299	,041 s
	0,44	0,29	ns	0,75	0,86	ns	

\bar{x} = Mittelwert; sd = Standardabweichung; s = signifikant; ns = nicht signifikant

Diese Unterschiede waren ebenso bei der geschlechtergetrennten Analyse bezüglich der Gesamtfibrose und der reinen Fibrose zu beobachten (siehe Abb. 18 und Abb. 19). Bezüglich des Narbenanteils aber zeigten weder die weiblichen noch die männlichen Herzen Seitenunterschiede (siehe Abb. 20).

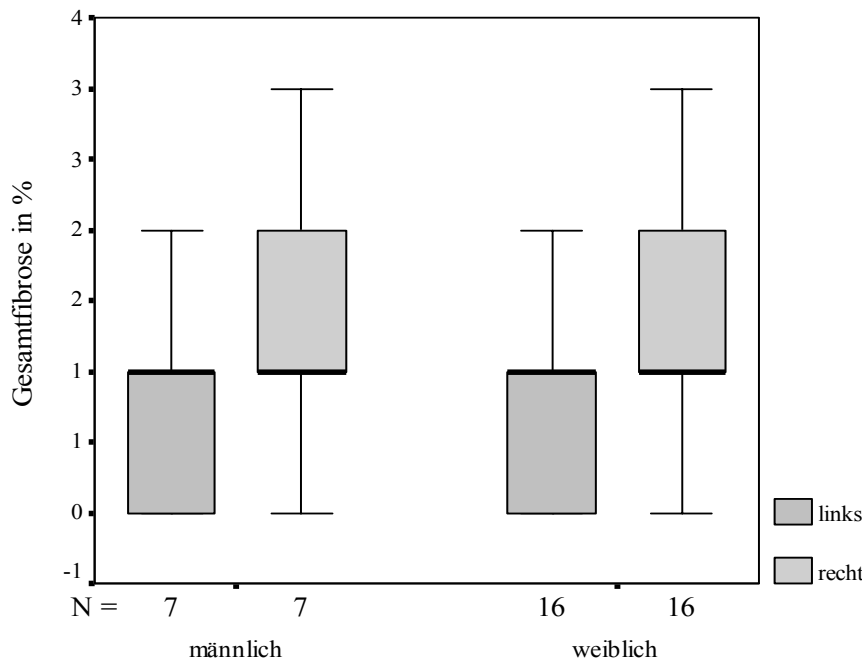


Abb. 18: Vergleich des Ausmaßes der Gesamtfibrose des linken und rechten Ventrikels bei männlichen und weiblichen Herzspendern gemessen mit KS 400 Release 3.1 (männliches Geschlecht – links vs. rechts, $p = 0,025$ s.; weibliches Geschlecht – links vs. rechts, $p = 0,008$ s.). Ein $P < 0,05$ im Wilcoxon – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

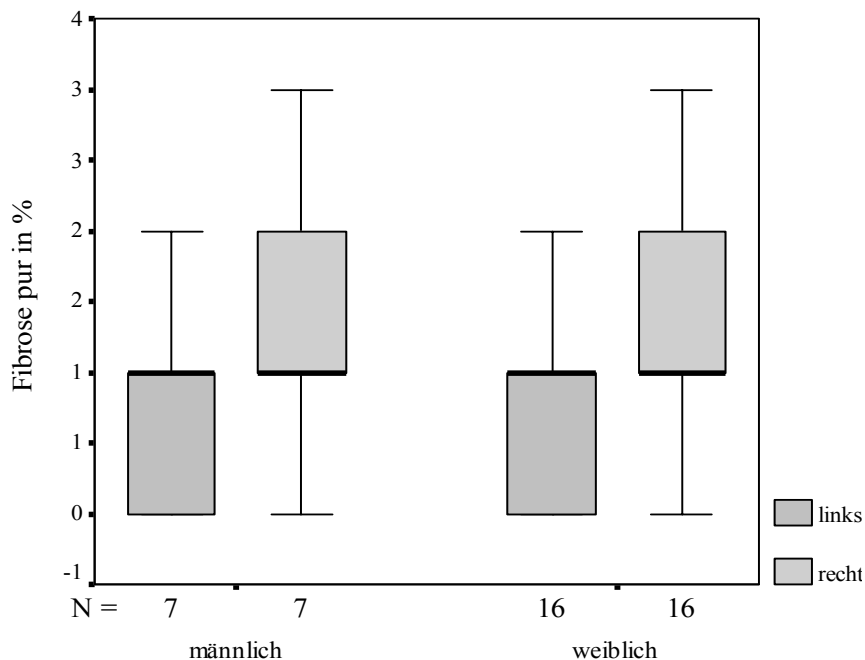


Abb. 19: Vergleich des Ausmaßes der reinen Fibrose des linken und rechten Ventrikels bei männlichen und weiblichen Herzspendern gemessen mit KS 400 Release 3.1 (männliches Geschlecht – links vs. rechts, $p = 0,025$ s.; weibliches Geschlecht – links vs. rechts, $p = 0,008$ s.). Ein $P < 0,05$ im Wilcoxon – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

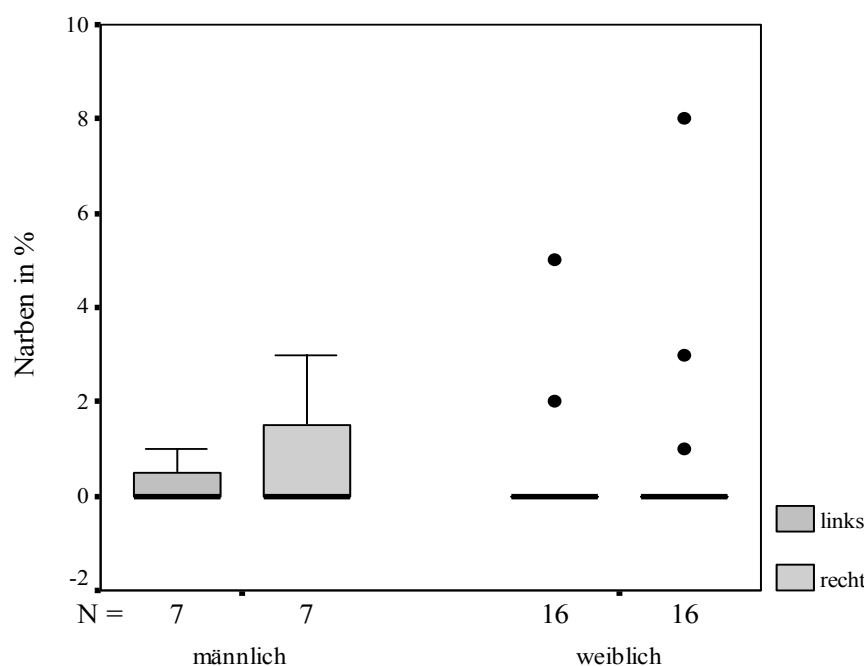


Abb. 20: Vergleich des Narbenanteils im linken und rechten Ventrikel bei männlichen und weiblichen Herzspendern gemessen mit KS 400 Release 3.1 (männliches Geschlecht – links vs. rechts, $p = 0,157$ n.s.; weibliches Geschlecht – links vs. rechts, $p = 0,102$ n.s.). Ein $P < 0,05$ im Wilcoxon – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

3.6 Analyse der EasyMeasure – Ergebnisse

In Anbetracht der aus den verschiedenen Untersuchungen gewonnenen Daten wurden die EasyMeasure®- Ergebnisse detailliert analysiert, um eventuelle Zusammenhänge und Besonderheiten aufzudecken.

Das Alter der Patienten (siehe Abb. 21) schien auf den ersten Blick mit der Myozytengröße gut zu korrelieren ($r = 0,586$). Nach dem Ausschluss der Einflussnahme der Gruppenzugehörigkeit aber zeigte sich eine nur geringe Korrelation ($r = 0,231$).

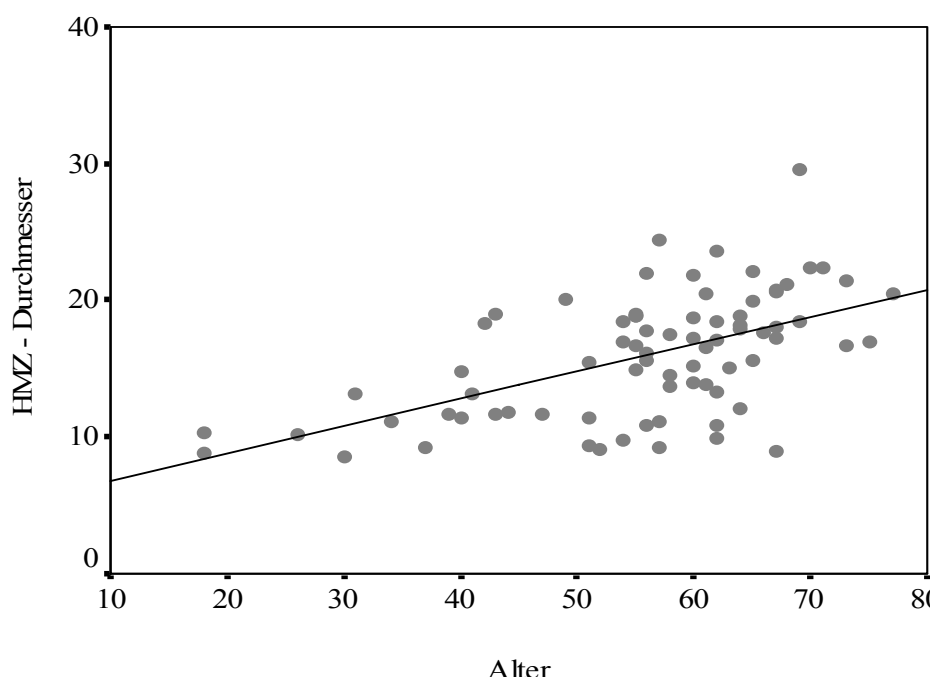


Abb. 21: Herzmuskelzell diameter und Alter.

Ebenso als geringfügig erwies sich die Wechselbeziehung zwischen Zelldurchmesser und BMI (siehe Abb. 22). Der partielle Korrelationskoeffizient unter Berücksichtigung der Störvariable Gruppe betrug 0,273.

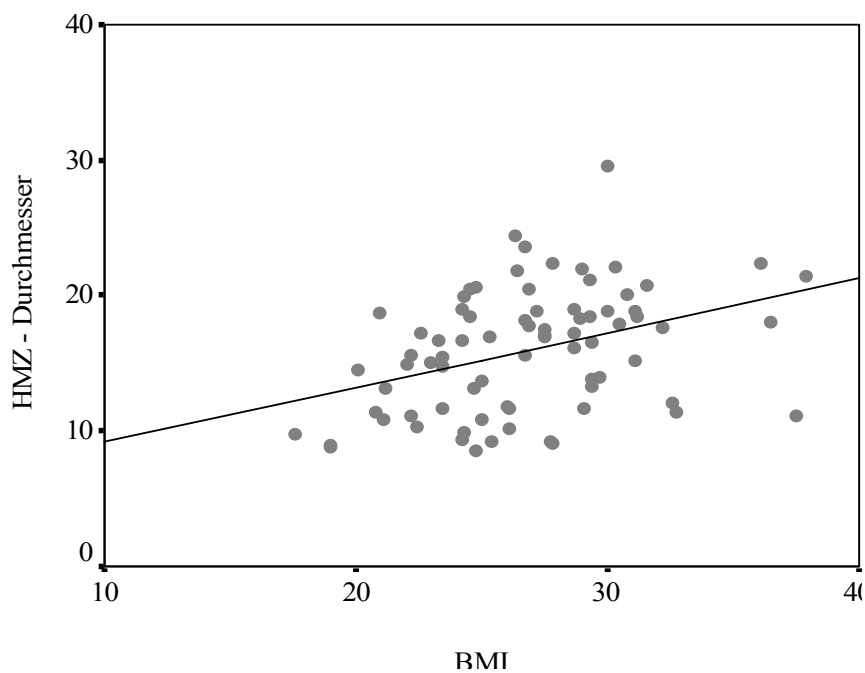


Abb. 22: Herzmuskelzell diameter und BMI.

Weiterhin analysierte man die Herzmuskelzellgröße im Zusammenhang mit den Rauch- und Trinkgewohnheiten der Koronar- und der Klappenpatienten. Die Herzspender wurden aus dieser Prüfung wegen fehlender Angaben zwangsläufig ausgeschlossen.

Es fand sich keine lineare Beziehung zwischen dem Myozytdiameter und dem Nikotinabusus, quantifiziert durch die Packyears. Die Regressionslinie verlief dabei fast horizontal zur Abszisse und sprach dafür, dass sowohl Nicht-Raucher als auch starke Raucher und Ex-Raucher ähnlich große Herzmuskelzellen hatten (siehe Abb. 23).

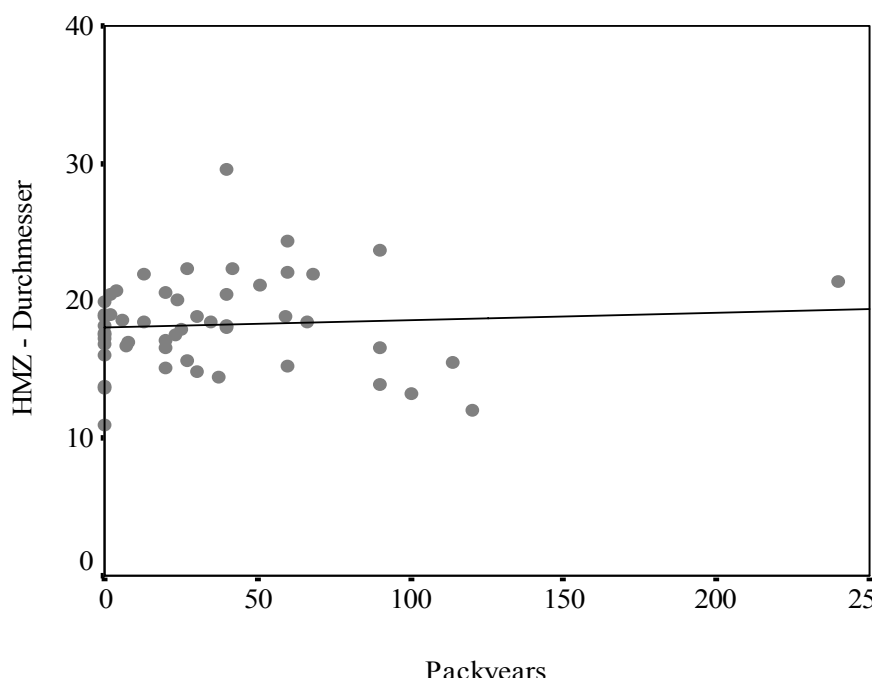


Abb. 23: Herzmuskelzelldiameter und Nikotinabusus

Bezüglich des Alkoholkonsums wurden keine Größenunterschiede zwischen den Myozyten der Koronar- und Klappenpatienten festgestellt (siehe Abb. 24).

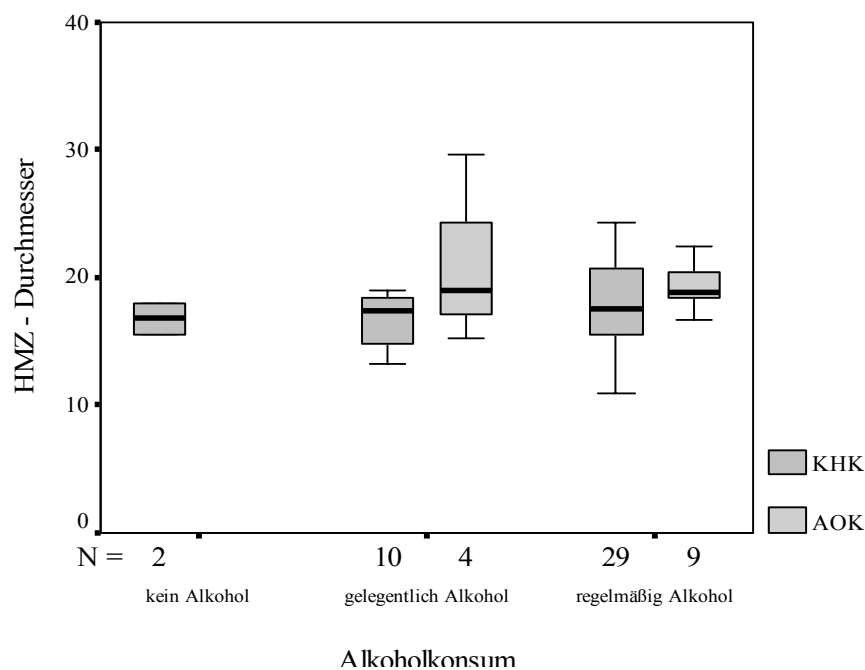


Abb. 24: Herzmuskelzellendiameter und Alkoholkonsum. Bis auf zwei Patienten der KHK – Gruppe haben alle anderen zu einem bestimmten Zeitpunkt Alkohol konsumiert (gelegentlich – KHK vs. AOK, $p = 0,120$, n.s.; regelmäßig – KHK vs. AOK, $p = 0,250$, n.s.). Ein $P < 0,05$ im Mann – Whitney – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Von der großen Anzahl an Nebendiagnosen war der Einfluss der Hypertonie auf den Zelldiameter von besonderem Interesse. Dabei zeigte sich, dass die Myozyten von Klappenpatienten ohne arteriellen Hypertonus wesentlich hypertrophierter als die Myozyten von KHK- Patienten ohne Hypertonie waren. Dieser Unterschied zwischen den Gruppen war dagegen bei Hypertonikern nicht mehr zu beobachten (siehe Abb. 25).

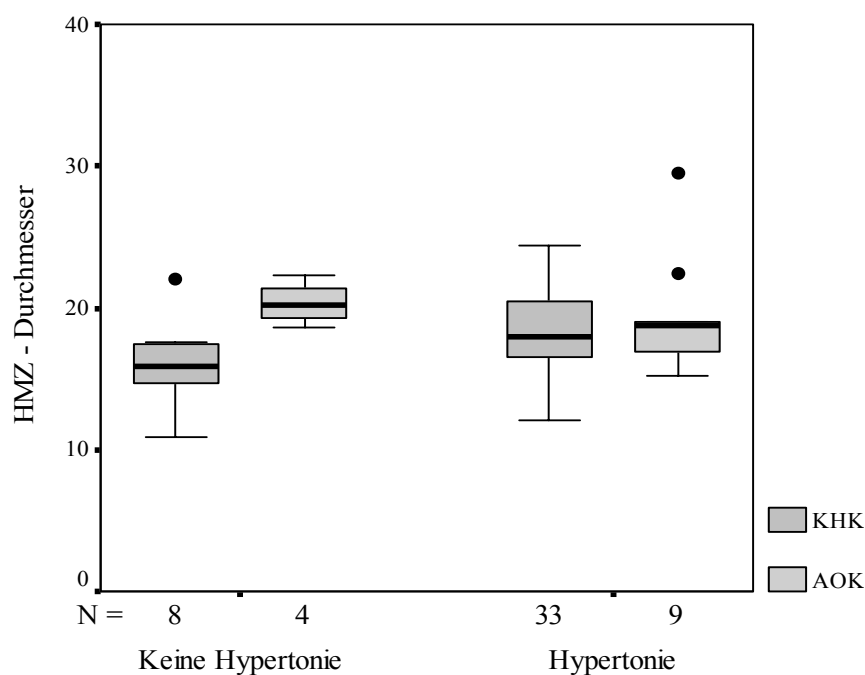


Abb. 25: Herzmuskelzelldiameter und arterielle Hypertonie (kein Hypertonus – KHK vs. AOK, $p = 0,027$ s; Hypertonus – KHK vs. AOK, $p = 0,434$ n.s.). Ein $P < 0,05$ im Mann – Whitney – Test wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Die EasyMeasure®- Ergebnisse wurden darüber hinaus in Hinsicht auf die Herzkatheterbefunde analysiert. Der Kruskal– Wallis– Test fand keine Größenunterschiede in den Myozyten der KHK- und der AOK- Gruppe bezüglich der Anzahl der atherosklerotischen Gefäße (siehe Abb. 26). Ähnliches ergab sich bei der Untersuchung der Herzmuskelzelldiameter bezüglich der Stenose der die linksventrikuläre Vorderwand versorgenden Arterien (siehe Abb. 27).

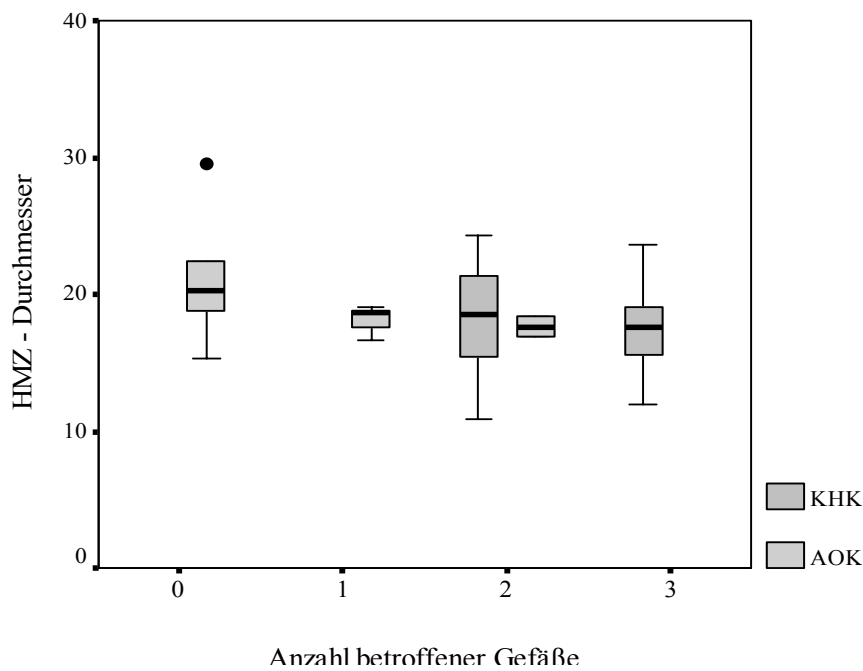


Abb. 26: Herzmuskelzell diameter und Anzahl der atherosklerotischen Gefäße. Ein Mann – Whitney – Test war wegen der Häufigkeitsverteilung nur in einem Fall (zwei betroffene Gefäße) durchführbar (KHK vs. AOK, $p = 0,794$, n.s.). Der Kruskal – Wallis – Test ergab ein $P = 0,115$ (n.s.). Ein $P < 0,05$ in den nichtparametrischen Tests wurde als statistisch signifikant betrachtet.

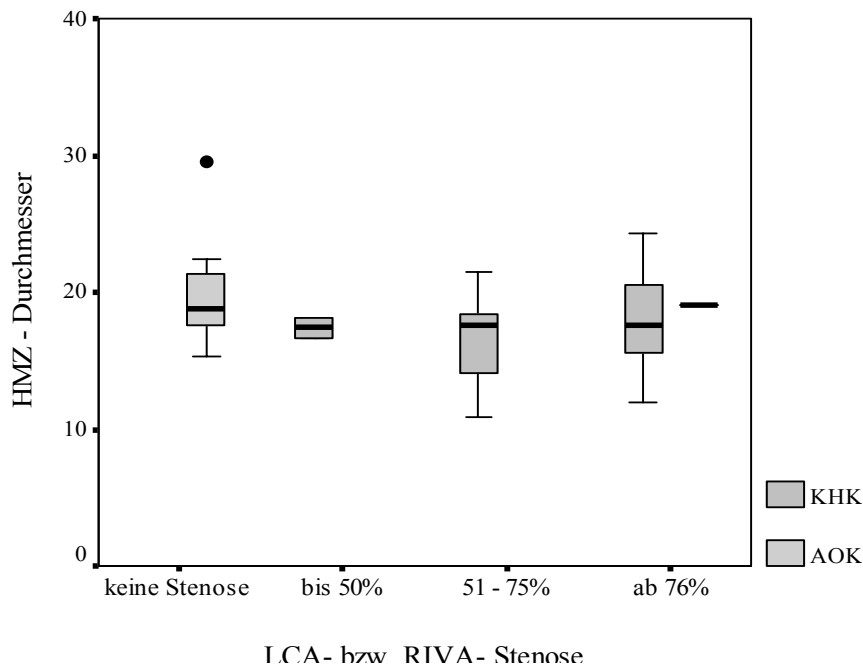


Abb. 27: Herzmuskelzell diameter und Stenose der LCA bzw. der RIVA. Ein Mann – Whitney – Test war wegen der Häufigkeitsverteilung nur in einem Fall (Stenose ab 76%) durchführbar (KHK vs. AOK, $p = 0,551$, n.s.). Der Kruskal – Wallis – Test ergab ein $P = 0,280$ (n.s.). Ein $P < 0,05$ in den nichtparametrischen Tests wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Die LVEF im Herzkatheter zeigte unter Ausschluss der Ausreißer eine geringfügige negative Korrelation zu der Herzmuskelzellgröße (partieller Korrelationskoeffizient $r = -0,383$), d.h. die Abnahme der LVEF korrelierte mit einer Zunahme der Myozytengröße (siehe Abb. 28).

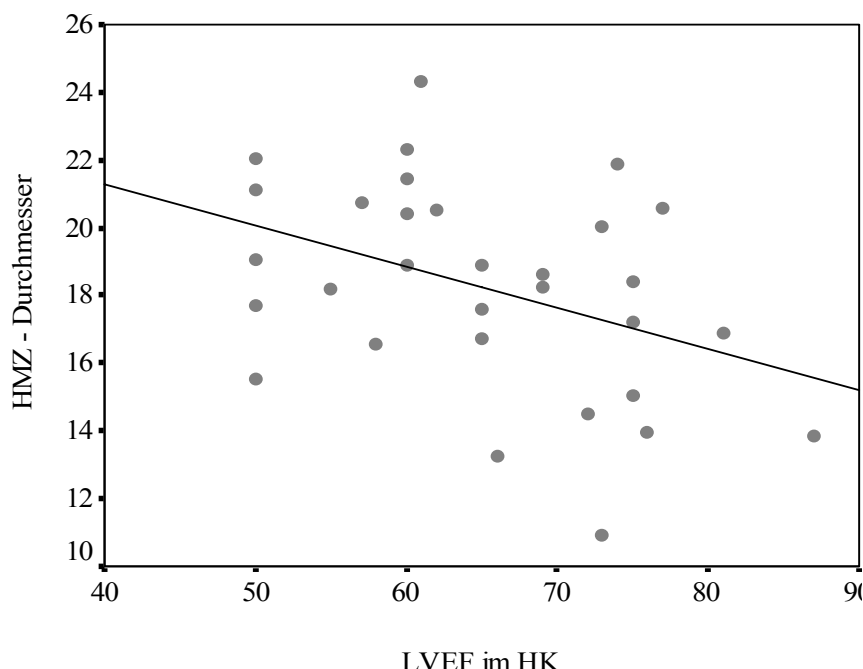


Abb. 28: Herzmuskelzelldiameter und LVEF im Herzkatheter.

Weitere Analysen wurden anhand der Ergebnisse der mikroskopischen Beurteilung der Biopsien vorgenommen. Der dabei subjektiv bewertete Grad der Hypertrophie wurde mit den EasyMeasure®-Ergebnissen, die man ebenso in Kategorien einteilte, verglichen (siehe Tab. 14). In nur 37,7 % der Fälle kam es zu einer Deckung der objektiven und subjektiven Einteilung der Hypertrophie. Der Kappa – Koeffizient betrug 0,177 und bestätigte den Eindruck einer Übereinstimmung, die über das zufallsbedingte Maß nicht weit hinausging. Zusammenfassend ließ sich sagen, dass das subjektive Gutachten eher dazu geneigt war, das Ausmaß der Hypertrophie überzubewerten.

Tab. 14: Herzmuskelzellhypertrophie – objektive und subjektive Ergebnisse. Der relative Anteil an der Gesamtkohorte ist in Klammern angegeben.

Hypertrophie		Objektiv				Gesamt
		Keine (bis 15 µm)	Gering (15,1 - 17µm)	Mäßig (17,1 - 19 µm)	Stark (> 19,1 µm)	
Subjektiv	Keine	13 (16,9%)	0 (0%)	1 (1,3%)	0 (0%)	14 (18,2%)
	Gering	10 (13,0%)	1 (1,3%)	6 (7,8%)	0 (0%)	17 (22,1%)
	Mäßig	9 (11,7%)	9 (11,7%)	7 (9,1%)	8 (10,4%)	33 (42,9%)
	Stark	0 (0%)	1 (1,3%)	4 (5,2%)	8 (10,4%)	13 (16,9%)
	Gesamt	32 (41,6%)	11 (14,3%)	18 (23,4%)	16 (20,8%)	77 (100%)

Ferner untersuchte man den Zusammenhang zwischen Fibrose und Herzmuskelzellhypertrophie. Dabei korrelierte der Anteil der Gesamtfibrose gut mit dem Diameter der Kardiomyozyten (siehe Abb. 29). Nach Ausschluss der Ausreißer betrug der Korrelationskoeffizient nach Pearson 0,608.

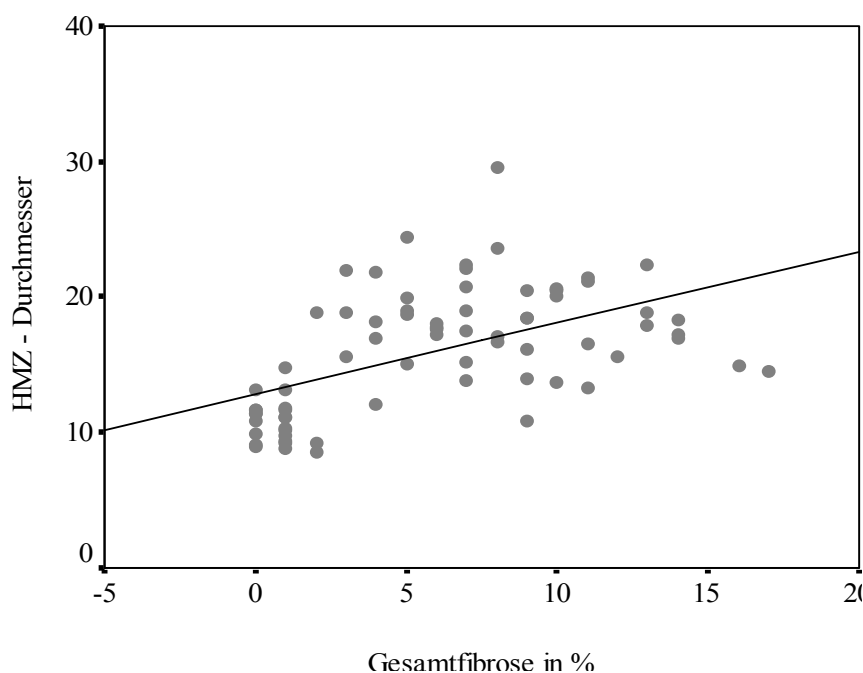


Abb. 29: Herzmuskelzelldiameter und Gesamtfibrose.

Darüber hinaus korrelierte die Herzmuskelzellgröße signifikant mit dem Ausmaß der reinen Fibrose (siehe Abb. 30) – mit der Zunahme des Bindegewebes im Myokard nahm die Zellhypertrophie deutlich zu ($r = 0,537$).

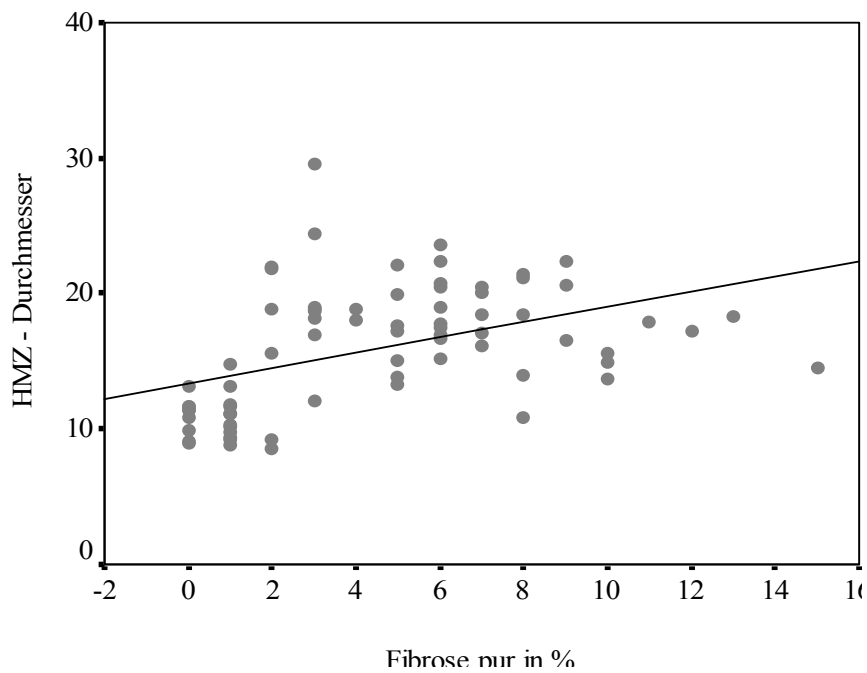


Abb. 30: Herzmuskelzell diameter und reine Fibrose.

Derartiger Zusammenhang wurde auch bei der Analyse des Narbenanteils beobachtet. Der Pearson'sche Koeffizient lag bei 0,602 und sprach für eine gute positive Korrelation zwischen der Ausprägung von Narben und dem Durchmesser der Kardiomyozyten (siehe Abb. 31).

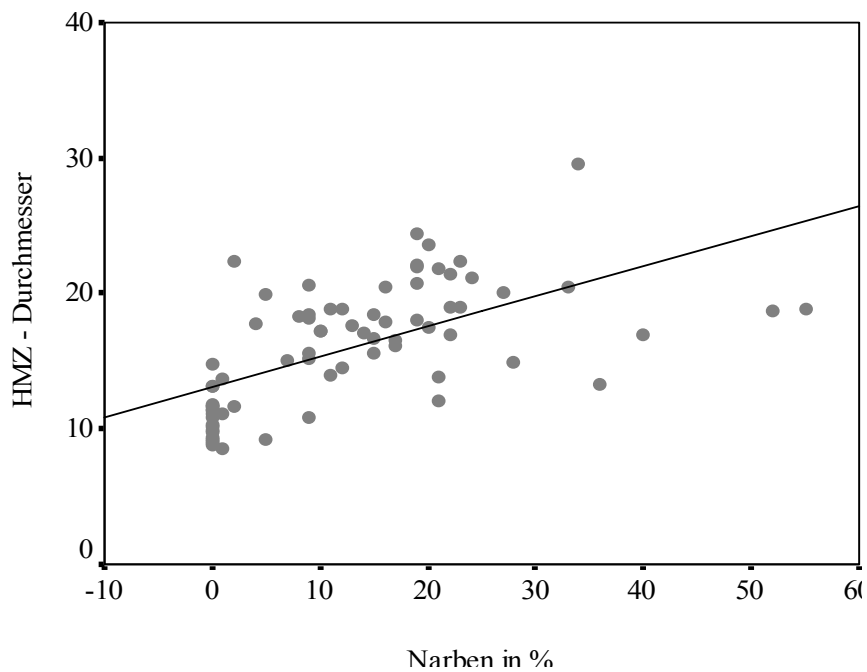


Abb. 31: Herzmuskelzell diameter und Narben.

Das scheint einer dieser einfachen Fälle zu sein, die so schwer zu lösen sind.

Sherlock Holmes

4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit leistet einen Beitrag zur Morphometrie des menschlichen Myokards in Gesundheit und in Krankheit. Der Durchmesser der Herzmuskelzellen als Maß für die Zellgröße stand dabei im Mittelpunkt der Untersuchungen.

In der Weltliteratur findet sich keine einheitliche Definition für den Diameter eines Myozyts, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener Arbeiten erschwert (siehe Tab. 1 in Kapitel 1.1: Einleitung). Einige Autoren bestimmten, ähnlich wie hier, den kleinsten Durchmesser in der Höhe des Zellkerns (Wendt et al. 1947, Ishikawa et al. 1972, Fuster et al. 1977, Baandrup et al. 1981, Hoshino et al. 1983, Gregory et al. 1983, Vliegen et al. 1987, Jantunen et al. 1989). Ein Untersucher (Sawada et al. 1991) maß die Zelldimensionen mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops und definierte den Diameter als den kürzesten Durchmesser in der Höhe der halben Zelllänge. Andere Autoren betrachteten die Herzmuskelzelle als elliptisch im Querschnitt. Sie bemühten sich um die Gewinnung idealer Querschnitte und maßen an diesen einen minimalen und einen maximalen, aufeinander senkrecht stehenden Diameter. Davon errechneten sie einen Mittelwert, der für die Zelle repräsentativ sein sollte (Goldenberg 1886, Roberts et al. 1941, Ashley 1945). Zusätzlich zu dieser direkten Messung bestimmte Ashley die Herzmuskelzellgröße mit der Flächen-Gewichts-Methode. Er berechnete den Durchmesser aus der Querschnittsfläche nach der Formel für die Berechnung von Kreisflächen ($A = \pi r^2 = \pi/4 d^2$). Ein weiteres indirektes Verfahren wandte Gerdes in seiner Arbeit an (Gerdes et al. 1992). An isolierten Myozyten bestimmte er zuerst das Volumen und die Länge und errechnete davon den Durchmesser.

All diese Methoden haben ihre Schwachpunkte. Die Messungen an isolierten Myozyten (Gerdes et al. 1992) sind kritisch zu bewerten, da die Zellen möglicherweise selektiert wurden. Man kann ein bestimmtes Verteilungsmuster der Zellgrößen ermitteln, es gibt aber keine Gewissheit, dass dieses Muster dem in vivo entspricht. Durch das angewandte Verfahren zur Isolierung aus dem Zellverband gingen krankhaft veränderte Zellen unter Umständen zugrunde und wären so in der Auswertung nicht miterfasst worden (Poole-Wilson 1995). Nicht zuletzt ist die Technik der Isolierung ziemlich kompliziert und keinesfalls Routine. Ebenfalls aufwendig ist die Bestimmung des Zellvolumens durch Messung der Resistenzänderungen infolge von

Elektrolytverschiebungen, welche Gerdes (Gerdes et al. 1992) in die Berechnung des Zelldurchmessers einbezog. Noch komplizierter und zeitaufwendiger ist die indirekte Bestimmung der Herzmuskelzelldiameter durch Ashley (Ashley 1945). Dieser Autor projizierte die histologischen Schnitte auf Papier und zeichnete die Umrisse von über 11.000 kernhaltigen Herzmuskelfasern bei 1.500facher Vergrößerung nach. Anschließend wurden die Papierausschnitte ausgewogen und die mittlere Querschnittsflächengröße unter der Berücksichtigung eines spezifischen Gewicht-Flächen-Faktors berechnet. Aus der Querschnittsfläche wurde abschließend der Durchmesser der Herzmuskelzellen ermittelt. Zur Überprüfung maß Ashley zusätzlich direkt den maximalen und den minimalen Diameter an einigen Papierausschnitten und errechnete einen Mittelwert, der mit dem durch die Flächen-Gewichts-Methode ermittelten Durchmesser vergleichbar war. Die anderen zwei Autoren (Goldenberg 1886, Roberts et al. 1941), die mit dem Mittel vom maximalen und minimalen Diameter arbeiteten, vermaßen die Herzmuskelzellen mit Hilfe des Okularmikrometers.

Die Schwierigkeiten bei den drei Autoren (Goldenberg 1886, Roberts et al. 1941, Ashley 1945) ergaben sich aus der Schneidetechnik. Um die Methode des mittleren Durchmessers anwenden zu können, sind auf den Faserverlauf absolut senkrechte Schnitte notwendig. Jede Abweichung von der 90°-Ebene würde zu einer wesentlichen Zunahme des maximalen Durchmessers und damit des errechneten mittleren Durchmessers führen (siehe Abb. 32). Goldenberg löste die Aufgabe, indem er jeden Schnitt mikroskopisch nachkontrollierte. Erschienen die Myofibrillen in den Querschnitten als scharf gezeichnete Punkte, so stand die Schnittrichtung genau senkrecht zu der Achse der Muskelfaser. Dagegen genügte eine geringe Neigung der Schnittebene, um die Durchschnitte der Myofibrillen als kurze Striche aussehen zu lassen. Auf diese Weise gelang es Goldenberg, ideale Querschnitte von den Papillarmuskeln zu gewinnen, bei der Kammerwandmuskulatur scheiterte er aber. Als Alternative fertigte er Längsschnitte an und bestimmte an diesen nur einen Breitendurchmesser. Bei den späteren Untersuchungen von Roberts und Ashley konnten auch die Herzmuskelfasern der Kammerwand absolut senkrecht zu ihrer Längsachse geschnitten werden. In der linken Kammer orientierte sich Ashley an den transversal verlaufenden Fasern des tiefen Musculus bulbospiralis und des tiefen Musculus sinospiralis, in der rechten Kammer schnitt er quer durch die Trabeculae carneaе. Roberts dagegen beschrieb seine Vorgehensweise nicht. Er erwähnte nur, dass er das Minimum und das Maximum des Dickendurchmessers an perfekten Faserquerschnitten bestimmt hatte.

An der beschriebenen Gewinnung von Querschnitten sind einige Punkte kritisch anzumerken. Einerseits ist die Schneidetechnik mühsam und zeitaufwendig, für Routineuntersuchungen praktisch nicht anwendbar. Andererseits ist ihre Anwendung nur bei Leichenherzen möglich, nicht aber bei Biopsiematerial. Der dritte und vielleicht schwerwiegendste Nachteil ist, dass mit dieser Methode nur Myozyten der inneren Wandschichten morphometrisch erfasst werden und somit die Ergebnisse für das gesamte Myokard nicht repräsentativ sind.

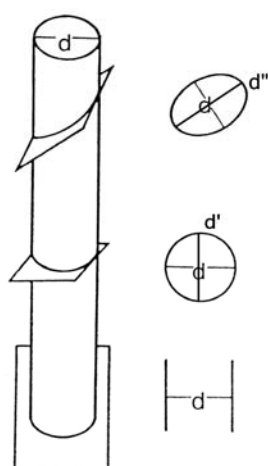


Abb. 32: Schnittführung durch einen Zylinder (modifiziert nach Baandrup et al. 1981). Der maximale Durchmesser wächst mit der zunehmenden Abweichung von der senkrechten Ebene ($d' < d''$). Der minimale Durchmesser (d) bleibt konstant.

Das in der vorliegenden Arbeit angewandte Verfahren hat all diese Nachteile nicht. In erster Linie wurden für die morphometrischen Untersuchungen die Präparate verwendet, die man für die übliche histologische Beurteilung des Myokardgewebes angefertigt hatte. Die Einbettung in Paraffin und die Färbung mit Hämatoxylin-Eosin sind etablierte Techniken, die in jedem pathologischen Labor ohne besonderen personellen oder technischen Aufwand möglich sind. Die Zellen bleiben im Zellverband erhalten, unabhängig davon, ob gesund oder krank, und lassen sich sowohl morphologisch, als auch morphometrisch detailliert untersuchen. Die Durchführung der computerunterstützten Messungen war sehr unkompliziert. Das mikroskopische Blickfeld wurde auf einen Bildschirm übertragen, auf dem man die zu bestimmenden Abstände markieren konnte. Der Computer rechnete dann anhand der Länge der Markierung und der verwendeten Vergrößerung selbständig die Distanzen in μm um. Die Technik der Messungen ist daher

insgesamt leicht zu erlernen. Sie erlaubt, mit relativ geringem Aufwand Massendaten zu gewinnen und die Ergebnisse wären bei Bedarf jederzeit reproduzierbar. Ein weiterer wesentlicher Vorteil ist, dass die Untersuchungen in dieser Arbeit Myozyten aus allen Muskelschalen des Kammermyokards berücksichtigten. Bei den Spenderherzen wurden die histologischen Präparate aus der gesamten Wanddicke angefertigt, bei den KHK- und AOK-Patienten wurden die Biopsien transmural entnommen. Seit den Untersuchungen von Hecht und Hoshino ist es bekannt, dass die Größe der Herzmuskelzellen im gesunden Myokard von innen nach außen abnimmt (Hecht 1958, Hoshino et al. 1983). Indem in der aktuellen Arbeit Myozyten aus den subendokardialen, aus den intramyokardialen aber auch aus den subepikardialen Wandschichten vermessen wurden, sind die Ergebnisse als charakteristisch für die gesamte Dicke der Vorderwand zu betrachten. Da die Myozytendimensionen in den verschiedenen Regionen der freien Kammerwand, d.h. sowohl in der Vorder-, Lateral- und Hinterwand (Schoen et al. 1984) aber auch an der Basis, in der Mitte und an der Herzspitze (Wendt et al. 1947, Ishikawa et al. 1972, Fuster et al. 1977, Gregory et al. 1983), gleich sind, kann man sogar behaupten, dass die Ergebnisse dieser Arbeit das gesamte linksventrikuläre bzw. rechtsventrikuläre Myokard morphometrisch charakterisieren. Die verwendete morphometrische Größe, der kürzeste Durchmesser durch den Zellkern, wurde von zahlreichen weiteren Autoren als ausreichend zur Darstellung der Zellgröße betrachtet (Wendt et al. 1947, Ishikawa et al. 1972, Fuster et al. 1977, Baandrup et al. 1981, Hoshino et al. 1983, Gregory et al. 1983, Vliegen et al. 1987, Jantunen et al. 1989). Dieser Parameter charakterisiert die minimale Diffusionsstrecke für Sauerstoff und Nährstoffe, die zu überwinden ist, um den Zellmetabolismus und die Zellfunktion aufrechtzuerhalten. Im Vergleich zum maximalen Durchmesser ist der minimale Durchmesser eine von der Schnittführung unabhängige Größe. Wie von Abbildung 32 abzulesen ist, kann man den kürzesten Diameter sowohl bei idealen Querschnitten als auch bei schrägen und längs verlaufenden Durchschnitten bestimmen. So entfällt die Notwendigkeit der idealen Querschnitte, was die Aufwendigkeit der verwendeten morphometrischen Methode senkt, ihre Anwendungsmöglichkeit und ihre Aussagefähigkeit aber enorm erweitert. Auf diese Weise können Myozyten aller Wandschichten vermessen werden und zwar sowohl aus ganzen Herzen (Leichen- oder Spenderherzen) als auch aus Biopsien. All dies sind wesentliche Vorteile gegenüber den Messmethoden von Goldenberg, Roberts und Ashley.

Es ist allerdings zu bedenken, dass die Herzmuskelzelle eine dreidimensionale Struktur hat und ihre tatsächliche Größe mit einer einzigen Dimension nicht ausreichend dargestellt werden kann. Der Begriff „Herzmuskelzellgröße“ wurde deshalb in der vorliegenden Arbeit mit gewissem

Vorbehalt verwendet. Es handelte sich lediglich um den Breitendurchmesser der Myozyten. Außerdem ist es bisher nicht einmal bekannt, welche Form die Herzmuskelzelle tatsächlich hat. Die morphometrisch forschenden Autoren gehen zwar von einem Zylinder aus, je nach Arbeitsgruppe von einem Kreiszyylinder oder von einem Zylinder mit elliptischem Querschnitt. Es handelt sich aber bis jetzt nur um Mutmaßungen. Die morphologische Erscheinung eines Myozyts könnte genauso gut ein Prisma, ein Rotationsellipsoid oder ein sehr komplexer geometrischer Körper sein. Die vorgestellte morphometrische Untersuchung basierte auf den Kreiszyylinder als dreidimensionale Darstellungsform der Herzmuskelzelle.

Ein wichtiger Punkt in der aktuellen Arbeit ist, dass alle Messungen mit Bezug auf den Zellkern durchgeführt wurden. Einerseits half der Zellkern bzw. der Kernhof, die Muskelfasern gegenüber den Faserbrücken abzugrenzen. So konnte man, anders als Goldenberg und Roberts, tatsächlich Zellen vermessen und zwar in ihrem zentralen Kompartiment. Andererseits zeigt sich die Herzmuskelzelle über dem Kern etwas breiter, wobei die Größenzunahme ungefähr der Größe des Kerns entspricht (Blumberg et al. 1995). Indem der Zelldurchmesser in der Höhe des Zellkerns bestimmt wurde, konnte man sicher sein, die Zelle an der breitesten Stelle vermessen zu haben. Das konnte Sawada von seinen Untersuchungen nicht behaupten, da er, wie oben erörtert, die Lage des Zellkerns nicht berücksichtigte. Alle anderen Untersucher, die mit dem minimalen Durchmesser arbeiteten, führten genau eine Messung pro Zelle durch und zwar durch die Mitte des Zellkerns. In der vorliegenden Arbeit entschied man sich dagegen für mehrere Messungen pro Zelle. Die Messlokalisationen – durch die Kernmitte und evtl. an den Kernpolen und evtl. eine Kernbreite von den Polen entfernt – waren vom Schnittwinkel durch die zylindrische Herzmuskelzelle abhängig (siehe Kapitel 2.2.1.2: Material und Methoden). Indem ein und dieselbe Zelle mehrmals vermessen wurde, erhoffte man sich eine größere Genauigkeit der Ergebnisse. Die Messwerte aus den verschiedenen Messlokalisationen durften sich nicht signifikant voneinander unterscheiden (Blumberg et al. 1995), dies wurde allerdings in der vorliegenden Arbeit nicht geprüft.

Die Analyse der Herzmuskelzelldurchmesser ergab einen Durchschnitt von 10,74 μm für die linksventrikulären und von 9,14 μm für die rechtsventrikulären Myozyten der 23 gesunden Herzen. Diese Werte wurden aus insgesamt 7.752 Messungen an Zellen aus allen Muskelschichten der linken Herzkammer (im Mittel 337 Messungen pro Patient) sowie aus 8.055 Messungen an Zellen aus allen Muskelschichten der rechten Herzkammer (im Mittel 350 Messungen pro Patient) ermittelt und waren deshalb für das linksventrikuläre bzw.

rechtsventrikuläre Myokard repräsentativ. Sie stimmten gut mit den Ergebnissen von Goldenberg (12,85 μm vs. 11,09 μm), Ishikawa (11,35 μm vs. 9,36 μm), Hoshino (11,2-13 μm vs. 9,9 μm) und Gregory (12,8 μm vs. 11,18 μm) überein (siehe Tab. 1 in Kapitel 1.1: Einleitung). Diese Autoren arbeiteten, wie in der vorgestellten Untersuchung, mit dem minimalen Diameter und benutzten mit Ausnahme von Goldenberg die gängige Präparationstechnik, d.h. Formalinfixierung, Einbettung in Paraffin und HE-Färbung. Etwas aus dem Rahmen fallen die Ergebnisse von Fuster, Baandrup und Jantunen. Obwohl sie das gleiche Verfahren anwandten, fanden sie entweder einen sehr kleinen Durchmesser von 5,8 μm für die linksventrikulären Myozyten (Fuster et al. 1977) oder einen etwas größeren Durchmesser (Baandrup et al. 1981 - 14,4 μm für links vs. 11,6 μm für rechts, Jantunen et al. 1989 - 16,0 μm für links). Für jedes Herz fertigte Fuster vier histologische Präparate aus der lateralen Wand der linken Kammer an, aus der Basis und aus dem Apex jeweils aus der subendokardialen und der subepikardialen Region. Pro Schnitt vermaß er dann vier Herzmuskelzellen, die nach seinem subjektiven Urteil für repräsentativ erklärt wurden, und errechnete abschließend für alle vier Schnitte einen Mittelwert. Vor allem die sehr kleine Anzahl der Messungen (nur 16 Messungen pro Herz) aber auch die Tatsache, dass die Zellen selektiert wurden, machen die Ergebnisse von Fuster sehr zweifelhaft. Der ermittelte Herzmuskelzelldurchmesser von 5,8 μm ist deshalb für das Myokard der linken Herzkammer als nicht repräsentativ zu betrachten und mit den hier dargestellten Ergebnissen nicht vergleichbar. Baandrup dagegen vermaß so viele Zellen, wie überhaupt möglich. Konnte er nur weniger als 20 Myozyten pro Biopsie morphometrisch analysieren, so verwarf er sie. Obwohl Baandrup in seiner Arbeit von Zelldurchmessern links- und rechtsventrikulärer Myozyten sprach, stammten seine Biopsien eigentlich aus der linken bzw. rechten Seite des Septums. Somit waren sie für das Myokard der linken bzw. rechten Kammer nicht charakteristisch und mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ebenso nicht vergleichbar. Anders als Fuster und Baandrup führte Jantunen seine Untersuchungen ähnlich wie die hier dargestellten durch. Er entnahm das Material aus der linksventrikulären Vorderwand, fixierte es in Formalin, bettete es in Paraffin ein und färbte es mit Hämatoxylin-Eosin. Anschließend bestimmte er den minimalen Diameter an 100 bis 200 quer geschnittenen Myozyten und errechnete einen repräsentativen Mittelwert von 16 μm . Der Grund für den höher ausfallenden Herzmuskelzelldurchmesser ist in diesem Fall in der Auswahl der Kontrollgruppe zu vermuten. Bei seinen Untersuchungen konzentrierte sich Jantunen auf Klappendefekte. Für seine Kontrollgruppe suchte er sich zwar bezüglich Alter und Geschlecht passende Personen aus, ohne Klappenvitien, ohne Diabetes und arterielle Hypertonie, 40 % dieser Personen hatten aber

einen Herzinfarkt in der Vorgeschichte. Somit bestand die Kontrollgruppe von Jantunten eindeutig nicht nur aus herzgesunden Personen, was die grenzwertig vergrößerten Breitendurchmesser der Herzmuskelzellen erklären könnte.

Die weiteren Untersucher (Roberts et al. 1941, Ashley 1945, Wendt et al. 1947, Vliegen et al. 1987, Sawada et al. 1991, Gerdes et al. 1992), die menschliche Kardiomyozyten morphometrisch erforschten, ermittelten höhere Werte für die Herzmuskelzellgröße (siehe Tab. 1 in Kapitel 1.1: Einleitung). Allerdings verwendeten sie andere Präparationstechniken. Der Einfluss des Verfahrens auf die Zellgröße wurde bereits von vielen Autoren diskutiert. Vliegen (Vliegen et al. 1987) zitierte zum Beispiel eine Untersuchung von Kawamura, in der der Breitendurchmesser an isolierten Myozyten mittels eines Rasterelektronenmikroskops und an üblichen, in Paraffin eingebetteten, histologischen Schnitten mittels eines Lichtmikroskops ermittelt wurde. Der Unterschied in den gemessenen Zelldurchmessern war dabei hoch signifikant (12,7 µm vs. 14,6 µm). Einige Autoren (Korecky et al. 1978) waren der Meinung, dass die eigentlichen Dimensionen der Myozyten nach Isolierung eher überschätzt werden. Die Ursache dafür sahen sie darin, dass die Myozyten im Zellverband partiell kontrahiert waren und von dem einengenden Interstitium befreit wurden. Außerdem vermuteten sie eine temporäre Schädigung des Sarkolemm während der Trennung von den benachbarten Zellen, die zu einer gewissen Zellschwellung führte. All diese Einflüsse würden eine Zunahme des Herzmuskelzelldurchmessers und damit die Unterschiede zwischen den Ergebnissen von Gerdes und den hier dargestellten Ergebnissen erklären. Andererseits stehen die üblichen Präparationstechniken bekanntermaßen im Zusammenhang mit Dehydration und daraus folgender Schrumpfung, was zu einer Verminderung der Herzmuskelzellgröße führen kann. Stowell (zitiert in Vliegen et al. 1987) berichtete über einen Volumenzuwachs von 35 % nach Fixierung mit 10%-ig gepuffertem Formalin. Nach dem Dehydrieren in Alkohol, dem Auswaschen in Xylol und dem Einbetten in Paraffin wurde eine Schrumpfung von 40 – 45 % im Vergleich zur Originalgröße registriert. Die Zugabe von kolloid - osmotisch wirksamen Substanzen, wie zum Beispiel Gelatine, sollte laut Berichten die Gewebeschrumpfung reduzieren. Mit der Absicht die Gewebeschrumpfung zu vermeiden, arbeiteten die bereits erwähnten Autoren (Goldenberg 1886, Roberts et al. 1941, Ashley 1945, Wendt et al. 1947, Vliegen et al. 1987) mit abweichenden Präparationstechniken. Goldenberg benutzte zum Fixieren speziell zubereitete Lösung, die so genannte Müller'sche Lösung, und Celloidin als Einbettungsmedium. Er glaubte, auf diese Weise ein Gleichgewicht zwischen Schwellung und Schrumpfung erreicht zu haben. Seine Ergebnisse lagen aber in der Größenordnung der

Ergebnisse dieser und anderer Arbeiten, die die übliche Präparationstechnik anwendeten (Ishikawa et al. 1972, Hoshino et al. 1983, Gregory et al. 1983). Roberts, Ashley und Vliegen versuchten die Schrumpfung durch den Austausch von Paraffin als Einbettungsmedium durch Gelatine (Roberts et al. 1941, Ashley 1945) bzw. Paraplast (Vliegen et al. 1987) zu verringern. Ihre Größenangaben bezüglich des Herzmuskelzelldurchmessers waren höher als die hier ermittelten Werte, wobei die Ergebnisse von Roberts und Ashley nicht sicher einzuordnen waren, da diese Autoren mit dem mittleren und nicht mit dem minimalen Diameter arbeiteten und Roberts außerdem Myozyten aus dem rechten sowie aus dem linken Myokard gemischt vermaß. Eindeutig größer waren die Breitendurchmesser links- und rechtsventrikulärer Myozyten bei Wendt, der für seine morphometrische Analyse frische Gefrierschnitte benutzte. Ob sie jedoch den Zelldurchmessern in vivo entsprechen, bleibt offen. Es stellt sich die Frage, ob es wirklich notwendig ist, den wahren (in vivo) Diameter der Myozyten zu kennen? Die hier ermittelten Zelldimensionen mögen, durch die Präparationstechnik bedingt, von den tatsächlichen In-vivo-Zellgrößen abweichen. Die Quellungs- und die Schrumpfungprozesse sollten sich dennoch gleichermaßen auf kranke sowie auf gesunde Herzzellen auswirken. Also ermöglicht die angewendete morphometrische Methode die Aufdeckung und die Quantifizierung der Größenveränderungen der Myozyten und stellt somit eine sinnvolle Ergänzung zu der üblichen histologischen Beurteilung des menschlichen Myokards dar.

Die statistische Auswertung der minimalen Durchmesser links- und rechtsventrikulärer Myozyten zeigte, dass der Unterschied von 1,6 μm (17,5 %), wenn auch im Bereich der Standardabweichung, hoch signifikant ($p < 0,001$) ist. D.h. dass die Herzmuskelzellen der linken Kammer durchaus größer sind, als die der rechten Herzkammer. Dieses Ergebnis ist gut nachvollziehbar, wenn man bedenkt, dass beide Ventrikel die gleiche Anzahl von Herzmuskelzellen besitzen (Linzbach 1947, 1958, 1960, 1976), die linke Herzwand aber um einiges dicker ist. Der Unterschied in den Durchmessern der Herzmuskelzellen entwickelt sich in den ersten Lebensmonaten. Untersuchungen des menschlichen Myokards in verschiedenen Lebensphasen zeigten, dass die Myozyten der linken und der rechten Herzkammer zum Zeitpunkt der Geburt etwa gleich groß sind oder sogar links dünner als rechts (Ashley 1945, Hort 1955a, Linzbach 1958). Verantwortlich dafür wird der embryonale Kreislauf gemacht, bei dem die Lunge noch nicht entfaltet ist und somit einen hohen Gefäßwiderstand/ Pulmonaldruck bewirkt. Das Blut fließt vom rechten Vorhof durch das offene Foramen ovale und von der rechten Herzkammer und der Arteria pulmonalis durch den Ductus arteriosus Botalli in die Aorta. Somit muss der rechte Ventrikel genauso viel Arbeit leisten wie der linke, wird in den

letzten Schwangerschaftswochen durch das Kleinerwerden des Foramen ovale sogar stärker beansprucht (Hort 1955a). Durch die Öffnung des Lungenkreislaufes und durch den Verschluss des Foramen ovale und des Ductus arteriosus nach der Geburt kehren sich die Verhältnisse um. Die Anforderungen an den linken Ventrikel steigen deutlich an, er nimmt schnell an Masse zu und seine Muskelfasern werden dicker. Das rechte Herz wird dagegen entlastet, was in den ersten Lebensmonaten sogar zu einer Atrophie des Kammermyokards führt (Hort 1955a, Linzbach 1958). Die rechtsventrikulären Myozyten nehmen an Kaliber ab. Später in der Wachstumsphase werden sie auch dicker, ihr Durchmesser bleibt aber kleiner als der Durchmesser der linksventrikulären Myozyten. Diese Entwicklung in den Diametern der Herzmuskelzellen stellen die Untersuchungen von Ashley dar. Obwohl seine Größenangaben mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit nicht vergleichbar waren, so wiesen sie dickere Myozyten in der rechten Herzkammer eines 7-Monate alten Fötus, ähnlich große Zelldurchmesser in den beiden Ventrikeln von Säuglingen und dickere linksventrikuläre Herzmuskelzellen nach dem dritten Lebensjahr und im Erwachsenenalter nach (Ashley 1945). Die morphometrischen Untersuchungen vieler anderer Autoren ergaben ebenfalls, dass die Myozyten aus dem rechten Ventrikel gesunder Erwachsener kleiner sind, als die Myozyten aus dem linken (Goldenberg 1886 - 16 %, Wendt et al. 1947 - 36 %, Ishikawa et al. 1972 - 21 %, Baandrup et al. 1981 - 24 %, Hoshino et al. 1983 - 13 bis 31 %, Gregory et al. 1983 - 14,5 %). Insofern waren sie in Einklang mit den vorliegenden Ergebnissen.

Nichtsdestotrotz könnte es aber sein, dass die Myozyten des linken und des rechten Ventrikels gleich groß sind. Denn der Durchmesser repräsentiert, wie oben bemerkt, nur eines der Maße einer dreidimensionalen Zellstruktur. Wenn die rechtsventrikulären Myozyten um soviel länger wären, wie die linksventrikulären breiter sind, würden sie das gleiche Volumen haben. Der unterschiedliche Anteil der zwei Maße (Breite und Länge) wäre in so einem Fall ebenso mit der stärkeren Beanspruchung des linken Ventrikels zu erklären. Um die geforderte Mehrarbeit zu leisten, müssten die linksventrikulären Myozyten über eine größere Anzahl von kontraktillen Elementen (Myofibrillen) verfügen. Das Länge-Breite-Verhältnis würde sich allein aus Platzgründen zugunsten des Zelldurchmessers verschieben. Somit wird eine neue Hypothese aufgestellt, die in weiterführenden Untersuchungen geprüft werden sollte.

Es ist darüber hinaus zu diskutieren, dass die Größenunterschiede zwischen den Diametern links- und rechtsventrikulärer Myozyten (17,5 % in der aktuellen Arbeit, zwischen 13 % und 36 % bei den oben erwähnten Autoren) die Unterschiede in der Wanddicke (12 mm vs. 4 – 5 mm) und

dem -gewicht (150 g vs. 50 g) der beiden Herzkammern alleine nicht erklären können. Eine Mitwirkung der anderen zwei Bestandteile des Myokardgewebes – des Interstitiums und der Gefäßkomponente, wäre natürlich denkbar. Da sie aber zusammen nur 25 – 30 % des Myokardvolumens einnehmen (Astorri et al. 1977, Canale et al. 1986, Jantunen et al. 1989), sollten sich diese Komponenten nicht wesentlich auf die Größe der Herzkammern auswirken. Die vorliegenden Ergebnisse, aber auch die Ergebnisse anderer Autoren (Knieriem 1964) sprechen sogar dafür, dass der Bindegewebsanteil im leichteren rechten Ventrikel durchaus größer ist als im linken. Die Erklärung für den Größenunterschied der beiden Herzkammern ist also woanders zu suchen. Linzbach begründete die unterschiedliche Wanddicke mit der unterschiedlichen Anordnung der Muskelfasern. Infolge einer physiologischen Gefügedilatation nach der Geburt kommt es zum Rearrangement der Muskelfasern im rechten Ventrikel, so dass dieser keine verkleinerte und leichtere linke Kammer darstellt. Da die Muskelfasern rechts einerseits dünner sind und sich andererseits in weniger Muskelschichten anordnen, können sie durchaus eine dreifach dünnere rechte Kammerwand aufbauen (Linzbach 1950, 1958, 1960). Abgesehen davon wäre es aber auch möglich, dass die Annahme von Linzbach über die gleiche Anzahl von Herzmuskelzellen im linken und rechten Ventrikel gar nicht wahr ist. Mehr Herzmuskelzellen, die dazu noch etwas größere Durchmesser haben, würden eine dickere linke Kammerwand genauso gut erklären. Die definitive Aufklärung des Größenunterschieds beider Ventrikel bedarf sicherlich weiterer Forschung.

Ein weiterer Beitrag der vorgestellten Arbeit besteht in der Analyse der Größenverhältnisse der Kardiomyozyten in den beiden Geschlechtern. Es ist bemerkenswert, dass in keiner der bisherigen Untersuchungen (bis auf Hoshino et al. 1983) das Geschlecht berücksichtigt wurde. Männlichen und weiblichen Myokardproben wurde bei sonst identischen Bedingungen Gleichheit bezüglich der Herzmuskelzellgröße unterstellt und sie wurden gemischt untersucht (Ashley 1945, Baandrup et al. 1981, Gregory et al. 1983). Manche Autoren machten nicht einmal Angaben über das Geschlecht ihres Untersuchungsgutes (Goldenberg 1886, Wendt et al. 1947, Ishikawa et al. 1972). Die aktuelle Arbeit dagegen analysierte 16 weibliche und sieben männliche Spenderherzen und stellte sie gegenüber. Dabei kamen interessante Ergebnisse heraus. In erster Linie konnte nachgewiesen werden, dass sich die Myozyten der Männer und die Myozyten der Frauen bezüglich ihres Durchmessers nicht signifikant voneinander unterscheiden. Zu diesem Ergebnis kam ebenfalls Hoshino, der Herzmuskelzellen aus sieben verschiedenen Regionen des Myokards von zehn Männern und sechs Frauen verglich (Hoshino et al. 1983).

Erst nachdem die Übereinstimmung der Herzmuskelzellgrößen beider Geschlechter gesichert wurde, konnte die Bildung einer gemischten Untersuchungsgruppe gerechtfertigt werden. Da es an gesunden männlichen Herzspendern mangelte, wurden in die Vergleichsgruppe der vorliegenden Arbeit auch weibliche Herzspender eingeschlossen. So wurde eine größere Kohorte gebildet, die man wissenschaftlich korrekt der vollkommen aus Männern bestehenden KHK- und AOK- Gruppe gegenüberstellen konnte.

Weiterhin wurden erstmalig die Unterschiede in der Größe der Herzmuskelzellen zwischen dem linken und dem rechten Ventrikel für jedes Geschlecht gesondert analysiert. Bei den 16 untersuchten Frauenherzen waren die Myozyten der linken Herzkammer 19 % größer als die Myozyten der rechten Kammer (10,80 μm vs. 9,06 μm). Die statistische Auswertung ergab eine hohe Signifikanz ($p = 0,002$) und brachte somit das Ergebnis in Einklang mit der Beobachtung an der gesamten Vergleichsgruppe und den Ergebnissen früherer Arbeiten (siehe oben). Überraschend waren jedoch die Größenverhältnisse der Myozyten der sieben männlichen Spenderherzen. Auf dem ersten Blick schienen die Herzmuskelzellen des linken Ventrikels mit einem Durchmesser von 10,60 μm deutlich größer zu sein, als die Myozyten des rechten Ventrikels (9,34 μm im Durchmesser). Der Wilcoxon-Test erklärte aber diesen Unterschied für nicht signifikant. Es wurde in der Weltliteratur nur eine weitere Arbeit gefunden (Olivetti et al. 1994), bei der die Untersuchungen an sieben Männerherzen und einem Frauenherz ähnliches ergaben. Es handelte sich also um eine fast reine Männerkohorte. Daraus den Rückschluss zu ziehen, die linksventrikulären Myozyten bei Männern seien nur unwesentlich größer als die rechtsventrikulären, und Bestätigung der eigenen Ergebnisse darin zu suchen, wäre aber voreilig und sicher auch falsch. Zumindest solange derartige Resultate von keinen weiteren Autoren berichtet wurden. Selbst der Autor der besagten Arbeit erwähnte sein Ergebnis nur in einem Nebensatz und diskutierte nicht weiter darüber. Es ist durchaus denkbar, dass die Ursache für das unerwartete Ergebnis der vorliegenden Untersuchung in der geringen Anzahl der analysierten Spenderorgane liegt. Aus der Statistik ist es bekannt, dass die Ungenauigkeit des Mittelwertes (der Standardfehler) umso größer ist, je stärker die Werte variieren (große Standardabweichung) und je kleiner der Stichprobenumfang n ausfällt (Wernecke 2001). Da es sich bei der Männerkohorte um nur sieben Personen handelt (n klein) und damit der Standardfehler relativ groß ist, würde man eine große Breite der Konfidenzintervalle für den typischen linksventrikulären und den typischen rechtsventrikulären Wert erwarten. In Abbildung 33 kann man den Einfluss des Stichprobenumfangs gut erkennen. Die Konfidenzgrenzen liegen bei den sieben Männern viel weiter auseinander, als bei den 16 Frauen. Dazu kommt es noch, dass der

Größenunterschied von 13 % zwischen den Mittelwerten für die links- und die rechtsventrikulären Myozyten der Männer klein ist, wodurch es zu einer Überschneidung der Konfidenzintervalle kommt. Der Unterschied in den Mittelwerten könnte nur erkannt werden, wenn er enorm groß wäre oder wenn man die Breite der Konfidenzintervalle bzw. die Standardfehler der Mittelwerte kleiner bekommen würde. Letzteres ist durch eine Vergrößerung des Stichprobenumfangs durchaus realisierbar. Fazit: Untersuchungen an einem zahlreichen Kollektiv von Männern sind notwendig, um die Frage der Größenunterschiede zwischen den Myozyten beider Herzkammer definitiv zu klären.

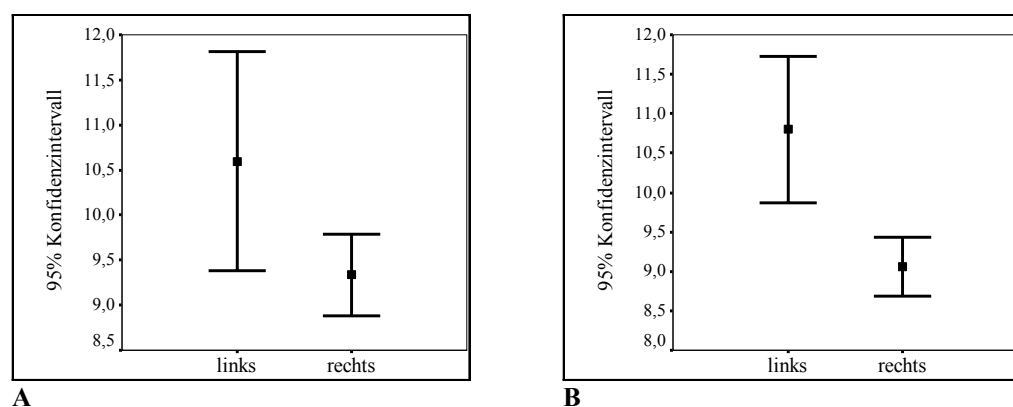


Abb. 33: Konfidenzintervalle für den Mittelwert links- und rechtsventrikulärer Herzmuskelzelldurchmesser. **A.** Konfidenzintervalle bei den sieben Männern – breit, überschneidend, **B.** Konfidenzintervalle bei den 16 Frauen – schmaler, auseinander liegend

Die Analyse der Herzmuskelzelldurchmesser in gesunden menschlichen Herzen wurde abschließend mit einer Untersuchung ihrer Verteilung in verschiedene Hypertrophiegrade und in kleinere Subklassen vervollständigt (siehe Abb. 11 in Kapitel 3.4: Ergebnisse). Dabei wurden alle 7.752 linksventrikulären und alle 8.055 rechtsventrikulären Messwerte berücksichtigt. Das Ziel war es, die Vielfältigkeit der Herzmuskelzellgrößen im Zellverband im gesunden Zustand darzustellen. Bei der Analyse erwies sich als schwierig, die Grenzen des Normbereichs und der einzelnen Hypertrophiegrade anhand früherer Arbeiten festzulegen. Wie in der Einleitung erörtert, wurden für die gesunden Herzmuskelzellen Durchmesser zwischen 5 μm und 20 μm ermittelt (siehe Tab. 1 in Kapitel 1.1: Einleitung). Es wurde aber keine Untersuchung gefunden, die auf eine so große Datenmenge zurückgreifend und wissenschaftlich korrekt einen Normbereich definierte.

Statistisch gesehen kann man die Standardbereiche, oft auch als Referenz-, Normal- oder Normbereiche bezeichnet, aus einer Stichprobe „Gesunder“ oder „Normaler“ ermitteln. Voraussetzung dafür ist, dass eine Normalverteilung vorliegt. Der Bereich der Norm wird in der Statistik als $\bar{x} \pm 2sd$ angegeben und sagt aus, in welchem Intervall 95 % der Werte des betrachteten Merkmals liegen. Außerhalb $\bar{x} \pm 2sd$ liegende Werte gelten dann als nicht-normal oder pathologisch (Wernecke 2001). In der vorgestellten Untersuchung wurden all diese Voraussetzungen erfüllt. Die Messwerte wurden von 23 Herzen ermittelt, die nach strengsten Kriterien (siehe Kapitel 2.1: Material und Methoden) für „gesund“ erklärt wurden. Für die mittleren Durchmesser sowohl der links- als auch der rechtsventrikulären Myozyten wurde im Kolmogorov–Smirnov-Test eine Normalverteilung festgestellt. Dadurch ist man berechtigt, einen Normbereich zu definieren. Dieser liegt zwischen 5,94 μm und 15,54 μm ($10,74 \pm 2 \times 2,40 \mu\text{m}$) für die Myozyten der linken Herzkammer und zwischen 6,58 μm und 11,7 μm ($9,14 \pm 2 \times 1,78 \mu\text{m}$) für die Myozyten der rechten Herzkammer. Da das zweite Intervall innerhalb des ersten liegt, wurde es bei der Festlegung der Normwerte für die Größe der Herzmuskelzellen nicht berücksichtigt. Die Normgröße der Kardiomyozyten wird folgendermaßen definiert: Alle Zellen, die kleiner als 6 μm im Durchmesser sind, sind als atrophiert zu betrachten. Die absolute Obergrenze wird bei 15 μm festgelegt. Alle Herzmuskelzellen, die einen größeren Diameter haben, sind als hypertrophiert zu bezeichnen. Der Grenzwert von 15 μm entspricht den Vorstellungen anderer Autoren (Meessen 1971b, Knieriem 1972, Hausmann 2004, Labschies 2006). Der untere Grenzwert ist dagegen erstmalig so tief gesetzt worden. In den wenigen morphometrischen Untersuchungen der Atrophie wurde diese meistens über das Herzgewicht und nicht über die Herzmuskelzellgröße definiert. Meessen und Knieriem (Meessen 1971b, Knieriem 1972) waren der Meinung, dass die normalen Kardiomyozyten zwischen 10 μm und 15 μm im Durchmesser betragen. Auch Labschies (Labschies 2006) betrachtete Zellen bis 10 μm im Durchmesser als atrophiert. Wie diese Autoren zu ihren Normbereichen kamen, ist aber unklar. In der vorliegenden Arbeit dagegen definierte man die Norm nach statistischen Kriterien auf der Basis zahlreicher Daten. Bei der Definition der einzelnen Hypertrophiegrade richtete man sich nach der Einteilung von Hausmann (Hausmann 2004) – von 15,1 bis 17 μm leichte, von 17,1 bis 19 μm mäßige und ab 19,1 μm schwere Hypertrophie.

So ergaben sich aus der Analyse der Verteilung der Herzmuskelzelldurchmesser (siehe Abb. 11 in Kapitel 3.4: Ergebnisse) folgende Erkenntnisse.

Für das linksventrikuläre Myokard gilt:

- 89,4 % der Myozyten sind normal groß (89,4% aller Messwerte lagen zwischen 6 μm und 15 μm).
- 2,5 % der Myozyten sind atrophiert (< 6 μm).
- 6,3 % der Myozyten sind leicht bis mäßig hypertrophiert (die gemessenen Durchmesser besetzten die Größenklasse 15,0 – 17,99 μm).
- 1,8 % der Myozyten sind sogar mäßig bis stark hypertrophiert (die Zelldurchmesser verteilten sich in die Größenklassen 18,0 – 20,99 μm und 21,0 – 23,99 μm , zwei von den 7.752 Messwerten lagen sogar zwischen 24,0 und 26,99 μm).

Für das rechtsventrikuläre Myokard gilt:

- 95,9 % der Myozyten sind normal groß (95,9 % aller Messwerte lagen zwischen 6 μm und 15 μm).
- 3,8 % der Myozyten sind atrophiert (< 6 μm).
- 0,4 % der Myozyten sind leicht bis mäßig hypertrophiert (die gemessenen Durchmesser besetzten die Größenklasse 15,0 – 17,99 μm).

Wenn man diese Verteilung der gemessenen Zelldiameter und die Einteilung der Patienten in die verschiedenen Hypertrophiestadien vergleicht, so fällt eine Diskordanz auf. Die Patienten liegen nämlich ausschließlich im Normbereich, d.h. sie zeigen weder Atrophie noch Hypertrophie und zwar sowohl bezüglich des linksventrikulären als auch des rechtsventrikulären Myokards. Der Grund dafür ist, dass die Einteilung der einzelnen Patienten in Hypertrophiestadien auf ihren durchschnittlichen Zelldurchmesser beruhte. Dieser Durchschnitt ist aber nicht in der Lage, die Vielfalt der Herzmuskelzellgrößen zu präsentieren. Erst die Analyse der Verteilung aller gemessenen Distanzen zeigt deutlich, dass in der Natur gewisse „Pathologie“ zum Gesundsein gehört. Im einwandfreien Myokard ist das Vorkommen von atrophierten und hypertrophierten Zellen durchaus möglich, was aber „normal“ und keinesfalls besorgniserregend ist.

Die Analyse der Gesamtverteilung zeigte weiterhin, dass sich die Messwerte aus dem linken Ventrikel der Spenderherzen überwiegend in drei Subklassen (6,0 bis 8,99 μm – 27,2 %, 9,0 bis 11,99 μm – 40,9 % und 12,0 bis 14,99 μm – 21,3 %) verteilten, die meisten Messwerte aus dem rechten Ventrikel dagegen nur zwei Größenklassen (6,0 bis 8,99 μm – 44,6 % und 9,0 bis 11,99 μm – 44,1 %) angehörten. Die Verteilungskurve der linken Kammer ist also etwas breiter und

flacher, d.h. die Herzmuskelzellgrößen variieren stärker untereinander. Die Myozyten der rechten Herzkammer charakterisieren sich dagegen mit einer Uniformität, die Verteilungskurve ist entsprechend schmal und hoch. Dieses Ergebnis spiegelt sich in der Standardabweichung wider. Der für den linksventrikulären Zelldurchmesser bestimmte Wert von $2,40\ \mu\text{m}$ war signifikant größer als die Streuung um den rechtsventrikulären mittleren Durchmesser ($1,78\ \mu\text{m}$). Die Prüfung der Variationskoeffizienten ergab ebenfalls einen signifikanten Unterschied (22 % für links vs. 19 % für rechts). Ein Wert unter 30 % gilt im Allgemeinen als normal in der Biologie und spricht für Harmonie in der Architektur sowohl der rechten als auch der linken Ventrikelwand. Der Unterschied zwischen den Variationskoeffizienten und die deutlich kleinere Standardabweichung zeigen jedoch, dass das rechtsventrikuläre Myokard durchaus homogener aufgebaut ist.

Die dargestellten Verteilungskurven (siehe Abb. 11 in Kapitel 3.4: Ergebnisse) zeigen Ähnlichkeiten in Ihrer Form mit den Häufigkeitskurven für die linke bzw. für die rechte Herzkammer bei Linzbach (Linzbach 1950). Er arbeitete allerdings nicht mit dem minimalen Durchmesser, sondern mit der Querschnittsfläche der Myozyten. Linzbach beschrieb eine gewisse Schiefe der Verteilungskurven mit einem steileren Anstieg als Abstieg, d.h. die größten Häufigkeiten lagen bei Werten, die etwas kleiner waren als die mittelgroßen Querschnitte. Bei der Analyse der Verteilung aller in dieser Untersuchung gewonnenen Daten für die linke (7.752 Diameter) bzw. rechte (8.055 Diameter) Ventrikelwand konnte die Feststellung von Linzbach bestätigt werden. Beide Verteilungskurven waren linkssteil. Der Median war entsprechend kleiner als der Mittelwert, beide lagen aber in der gleichen Subklasse von $9,0\ \mu\text{m}$ bis $11,99\ \mu\text{m}$, und zwar sowohl bei den rechts- als auch bei den linksventrikulären Messungen. Es wurden nur zwei weitere Arbeiten gefunden, die die Häufigkeiten der gemessenen Herzmuskelzelldiameter graphisch darstellen (Ishikawa et al. 1972, Gregory et al. 1983). Allerdings wurden sie von den Autoren nicht kommentiert. Soweit von den Abbildungen in diesen Arbeiten erkennbar, unterschieden sich die Verteilungskurven für die rechte und für die linke Kammer weder in ihrer Höhe noch in ihrer Breite. Der Mittelwert schien aber zumindest bei Gregory in der bestbesetzten Größenklasse zu liegen. Gemeinsam für alle Arbeiten, inklusive der vorliegenden ist es, dass sich die Herzmuskelzelldiameter der rechten Herzkammer in kleineren Größenklassen verteilten und damit die Verteilungskurve weiter links auf der Abszisse lag, im Vergleich zu der Verteilungskurve für die linksventrikulären Myozyten.

Darüber hinaus untersuchte die aktuelle Arbeit die histomorphometrischen Veränderungen des Myokards im Krankheitszustand. An transmuralen Biopsien aus der linksanterioren Kammerwand von Patienten mit koronarer Herzkrankheit oder Aortenklappenstenose bzw. kombiniertem Aortenvitium mit führender Stenose versuchte man, die Veränderungen der Herzmuskelzellgröße in diesen zwei Patientengruppen morphometrisch zu erfassen und gegenüberzustellen. Die Hypothese, dass die Druckhypertrophie stärker aber uniformer in ihrer Ausprägung sei, als die reaktive Hypertrophie, wurde dabei erstmalig geprüft. In der Weltliteratur fand sich keine weitere Arbeit, die sich mit diesem Thema befasst.

In den 41 Herzen der KHK- Gruppe wurden 13.868 Distanzen (im Mittel 338 Messungen pro Patient) vermessen und ihre Einteilung in Hypertrophiegrade analysiert (siehe Abb. 10 in Kapitel 3.4: Ergebnisse). Es ergaben sich folgende Erkenntnisse:

- 32,6 % der Myozyten sind normal groß (32,6 % aller Messwerte lagen zwischen 6 μm und 15 μm).
- 0,1 % der Myozyten sind atrophiert (nur zehn von den 13.868 Messwerten waren kleiner als 6 μm).
- 24,5 % der Myozyten sind leicht bis mäßig hypertrophiert (die gemessenen Durchmesser besetzten die Größenklasse 15,0 – 17,99 μm).
- 19,7 % der Myozyten sind mäßig bis stark hypertrophiert (die Zelldurchmesser verteilten sich in die Größenklasse 18,0 – 20,99 μm).
- 23,2 % der Myozyten sind eindeutig stark hypertrophiert.

Der kleinste Durchmesser war 4,20 μm , der größte – 52,73 μm . Die Messwerte verteilten sich breiter als in der Vergleichsgruppe (siehe Abb. 34) und zwar überwiegend in fünf Subklassen (9,0 bis 11,99 μm – 9,4 %, 12,0 bis 14,99 μm – 21,1 %, 15,0 bis 17,99 μm – 24,5 %, 18,0 bis 20,99 μm – 19,7 % und 21,0 bis 23,99 μm – 12,0 %).

Eine gleichartige Analyse wurde ebenfalls für die 13 Herzen der AOK- Gruppe durchgeführt. Die 4.404 Distanzen (im Mittel 339 Messungen pro Patient) konnten in die folgenden Hypertrophiegrade eingeteilt werden (siehe Abb. 10 in Kapitel 3.4: Ergebnisse):

- 17,8 % der Myozyten sind normal groß (17,8 % aller Messwerte lagen zwischen 6 μm und 15 μm).
- 0 % der Myozyten sind atrophiert (kein einziger Messwert war kleiner als 6 μm).

- 24,3 % der Myozyten sind leicht bis mäßig hypertrophiert (die gemessenen Durchmesser besetzten die Größenklasse 15,0 – 17,99 μm).
- 23,3 % der Myozyten sind mäßig bis stark hypertrophiert (die Zelldurchmesser verteilten sich in die Größenklasse 18,0 – 20,99 μm).
- 34,5 % der Myozyten sind eindeutig stark hypertrophiert.

Bei der Druckhypertrophie sind also nur halb so viele Zellen normal groß im Vergleich zur reaktiven Hypertrophie (17,8 % vs. 32,6 %). Der Anteil der mäßig bis stark und der stark hypertrophierten Myozyten ist dafür größer. Die Spannweite dagegen ist nur unwesentlich kleiner, als in den Patienten mit Koronarerteriosklerose (siehe oben). Der kleinste Durchmesser in der AOK- Gruppe betrug nämlich 5,70 μm , der größte Durchmesser – 47,50 μm . Die Mehrzahl der gemessenen Distanzen verteilte sich, ähnlich wie in der KHK- Gruppe, in fünf Subklassen (12,0 bis 14,99 μm – 13,2 %, 15,0 bis 17,99 μm – 24,3 %, 18,0 bis 20,99 μm – 23,3 %, 21,0 bis 23,99 μm – 15,5 % und 24,0 bis 26,99 μm – 8,1 %).

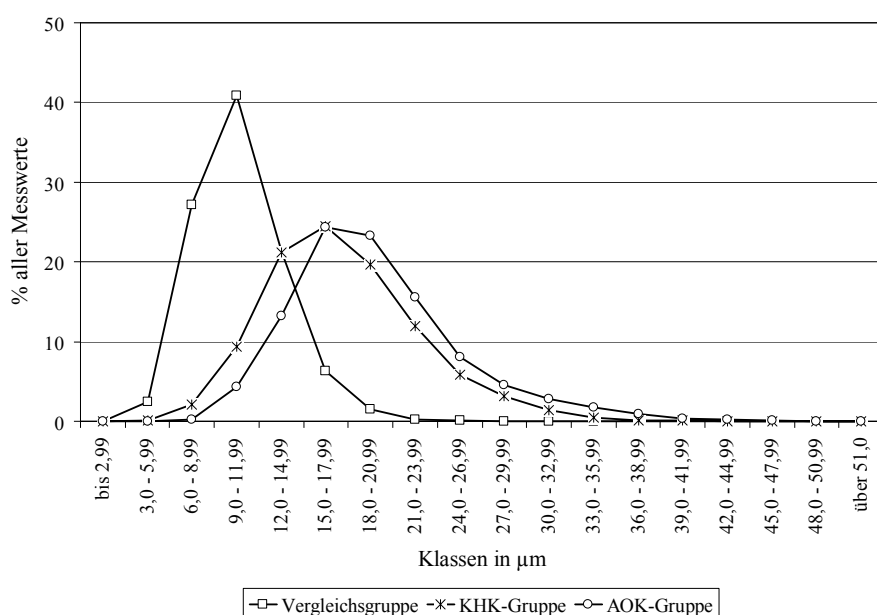


Abb. 34: Verteilung der EasyMeasure® - Messwerte vom linken Ventrikel in Größenklassen bei den verschiedenen Gruppen

Obwohl bei den Aortenklappenvitien keine Unterschiede in der Herzmuskelzellgröße von Myozyten verschiedener Muskelschalen der Kammerwand nachgewiesen wurden (Jantunen et al. 1989) und man von der gleichen Arbeitsbelastung auf die Zellen der jeweiligen Wandschicht ausgegangen war, konnte die aufgestellte Hypothese über die Uniformität der Druckhypertrophie nicht bestätigt werden. Da die Spannweite in den beiden Gruppen fast gleich war und sich die

Messwerte hauptsächlich in jeweils fünf Größenklassen verteilten, sind die Verteilungskurven etwa gleich breit (siehe Abb. 34). Es scheint also so zu sein, dass sowohl bei der Druckhypertrophie als auch bei der reaktiven Hypertrophie Kaliberschwankungen ähnlich oft vorkommen. Das wurde sowohl durch die subjektive (mikroskopische) als auch durch die objektive (morphometrische) Beurteilung der Myokardbiopsien bestätigt. Die beschriebenen Kaliberunterschiede waren bezüglich des Grades ihrer Ausprägung in den beiden Formen der Hypertrophie gleich vertreten (siehe Tab. 7 in Kapitel 3.3: Ergebnisse). Auch die Standardabweichung von dem mittleren Zelldurchmesser unterschied sich zwischen der KHK- und der AOK- Gruppe nicht signifikant (4,09 vs. 4,56). Der praktisch gleiche Variationskoeffizient von 0,23 unterstützt den Eindruck, dass die Patienten ähnlich in der Ausprägung der Hypertrophie ihrer Myokardzellen reagierten. Damit ist die Teilhypothese bzgl. der Uniformität der Druckhypertrophie zu verwerfen.

Nun ist der Grad der Hypertrophie in der KHK- und der AOK- Gruppe zu diskutieren. Für die Koronarpatienten wurde eine durchschnittliche Zellgröße von 17,67 μm ermittelt. Das Myokard der AOK- Patienten charakterisierte sich durch einen mittleren Myozytytdiameter von 19,79 μm . Selbst ohne statistische Prüfung ist es erkennbar, dass die Herzmuskelzelldurchmesser der beiden Patientengruppen viel größer sind, als der Durchmesser der Herzmuskelzellen gesunder Herzen (10,74 μm). Dieses Ergebnis kam nicht überraschend, da sowohl die koronare Herzkrankheit als auch die Aortenklappenstenose eine Mehrbelastung auf die einzelne Herzmuskelzelle bewirken, die auf Dauer zu einer Hypertrophie führt (siehe Kapitel 1.2: Einleitung). Interessant sind dagegen die Erkenntnisse der oben dargestellten Analyse der Größenverteilung der Herzmuskelzelldurchmesser. Die in Herzen mit Aortenklappenstenose gemessenen Diameter waren in über 80 % der Fälle als hypertrophiert zu bezeichnen und belegten etwas höhere Subklassen im Vergleich zu den Diametern in der KHK- Gruppe. Wie in Abbildung 34 veranschaulicht, liegt die Verteilungskurve der AOK- Gruppe entsprechend auf der Abszisse etwas weiter rechts von der Verteilungskurve der KHK- Gruppe. Auch der mittlere Zelldurchmesser weist bei den Koronarpatienten auf eine mittelstarke, bei den Klappenpatienten auf eine starke Hypertrophie hin. All dies spräche für die Hypothese, dass die Herzmuskelzellen bei einer Druckbelastung stärker hypertrophieren würden. Die statistische Prüfung brachte allerdings ein anderes Ergebnis. Der Unterschied zwischen der für die KHK- und der für die AOK- Gruppe spezifischen, morphometrisch ermittelten Durchschnittszellgröße (17,67 μm vs. 19,79 μm) wurde im Mann-Whitney-Test für nicht signifikant befunden.

Wie kam es aber zu diesem Ergebnis? Eigentlich waren ja die Überlegungen, die zur Aufstellung der Arbeitshypothese führten, nachvollziehbar und logisch (siehe Kapitel 1.2: Einleitung). Man müsste sich fragen, ob es gegebenenfalls unbeachtete Störfaktoren gibt, die die Entwicklung der Hypertrophie in den beiden Patientengruppen beeinflusst haben könnten. Eine detaillierte Analyse der klinisch - anamnestischen Daten sollte den Grund für die Unstimmigkeiten zwischen Hypothese und Ergebnis aufdecken.

Bei 80,5 % der Koronarkranken und bei 69,2 % der Patienten mit einem Aortenklappenfehler war ein arterieller Hypertonus aus der Vorgeschichte bekannt ($p = 0,453$, n.s.). Statistisch gesehen ist diese Feststellung ein Vorteil. Solange die Patienten der beiden Untersuchungsgruppen bezüglich dieses Merkmals harmonisieren, müsste sich sein Einfluss gegenseitig ausschließen. In Wirklichkeit aber ist das der vermutete Störfaktor.

Wenn man die Verteilungskurven der Herzmuskelzellendurchmesser bei KHK– Patienten mit und ohne Hypertonie analysiert (siehe Abb. 35), stellt man fest, dass die Kurve bei Hypertonie weiter rechts auf der Abszisse liegt. Herzen mit koronarer Herzkrankheit und Hypertonie hypertrophieren also stärker als Herzen mit koronarer Herzkrankheit ohne Hypertonie. Vom pathophysiologischen Gesichtspunkt aus wäre das Ergebnis damit zu erklären, dass die Herzmuskelzellen einer doppelten Belastung ausgesetzt waren. Einerseits mussten sie die Arbeit der untergegangenen Myozyten übernehmen. Gleichzeitig arbeiteten sie gegen einen höheren systemischen Druck. Der erhöhte Blutdruck stellte einen zusätzlichen Wachstumsstimulus dar und die Zellen erreichten eine höhere Größenklasse als die Zellen im Herzen von Nicht-Hypertonikern. Da das Remodeling des Myokards sowohl durch Ischämie als auch durch Druckeinfluss zustande kam, stellt sich die KHK– Gruppe in ihrer Gesamtheit als Repräsentant für reaktive Hypertrophie als nicht geeignet heraus.

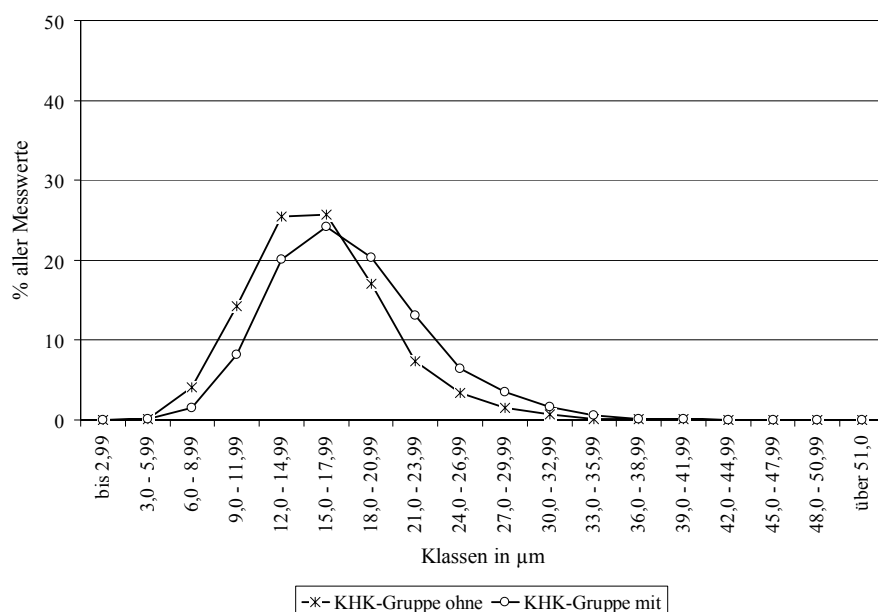


Abb. 35: Verteilung der EasyMeasure® - Messwerte in Größenklassen bei KHK- Patienten mit und ohne Hypertonie

Allein diesen Überlegungen folgend würde man in der AOK- Gruppe einen ähnlichen oder gar keinen Einfluss der Hypertonie erwarten. Wäre die Aortenklappenstenose stärker ausgebildet, würde der Druck durch die hypertensive Erkrankung keine zusätzliche Rolle spielen und sich die Verteilungskurven bei AOK- Patienten mit und ohne Hypertonie überdecken. Wenn eine leichtgradige Stenose bei ausgeprägtem Hypertonus vorliegen würde, so würden sich die Einflüsse beider Krankheiten addieren und zu einem ähnlichen Bild wie bei der KHK- Gruppe führen, d.h. zu einer stärkeren Hypertrophie der Herzmuskelzellen durch das Zusammenspiel beider Erkrankungen. Wie man aber von Abbildung 36 ablesen kann, bietet sich ein entgegengesetztes Ergebnis. Hier sind es die Myozyten von Patienten ohne Hypertonie, die sich in die höheren Hypertrophieklassen verteilen.

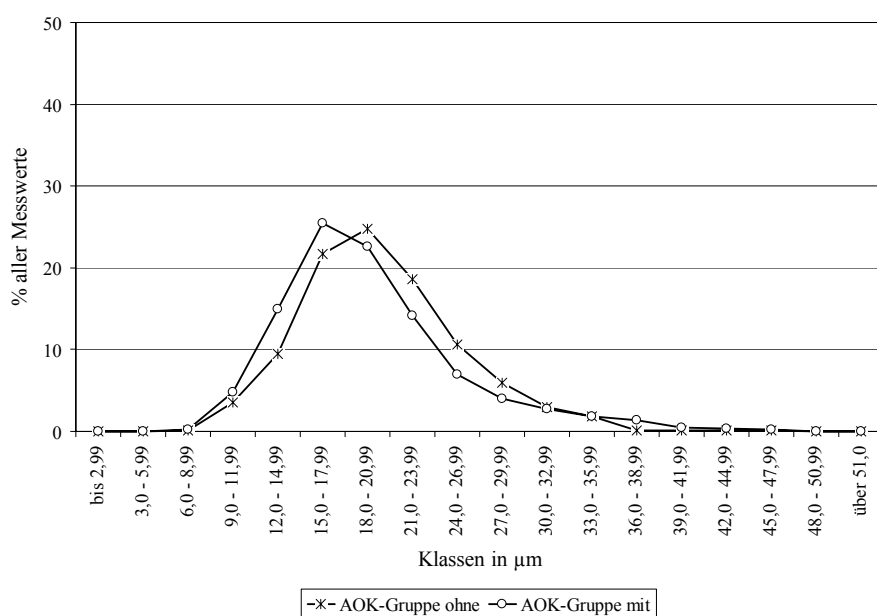


Abb. 36: Verteilung der EasyMeasure® - Messwerte in Größenklassen bei AOK- Patienten mit und ohne Hypertonie

Obwohl das Herz sowohl bei der Aortenklappenstenose als auch bei der arteriellen Hypertonie einer Druckbelastung ausgesetzt ist, finden sich strukturelle Unterschiede. Der Grund dafür ist, dass der erhöhte systemische Druck nicht nur den linken Ventrikel sondern auch die intramyokardialen Widerstandsgefäße überbeansprucht. Schwartzkopff (Schwartzkopff et al. 1992) untersuchte in einer morphometrischen Arbeit die strukturellen Veränderungen, die als Folge der beiden Formen der Druckbelastung auftreten. Er stellte eine signifikante Vergrößerung der Herzmuskelzellendurchmesser bei Hypertonie (plus 27 %) und bei Aortenklappenstenose (plus 65 %) im Vergleich zur normalen Kohorte fest. Die Myozytenhypertrophie und die vermehrte interstitielle Fibrose (plus 250 % bei Hypertonie und plus 587 % bei Aortenklappenstenose) betrachtete Schwartzkopff als Folge des erhöhten intrakavitären Drucks. Anders als bei der reinen Aortenklappenstenose wurden bei der arteriellen Hypertonie zusätzlich eine Wandverdickung und Sklerose der intramyokardialen Gefäße und eine Vermehrung der perivasalen Fibrose beobachtet (Schwartzkopff et al. 1992, Schwartzkopff et al. 1995, Mundhenke et al. 1997, Schwartzkopff et al. 2000). Dieses charakteristische Remodeling spielte sich dabei bevorzugt in den Arteriolen (Durchmesser zwischen 100 – 10 µm) ab – dem wichtigsten Abschnitt der Koronardurchblutung, der 60 – 75 % der Gesamtlänge der Koronargefäße und 50 – 60 % des totalen Koronarwiderstandes ausmacht. Das funktionelle Korrelat des Gefäßumbaus ist eine verminderte Koronarreserve, die zur Malperfusion und Malnutrition der hypertrophierten Myozyten führt (Schwartzkopff et al. 1995, Schwartzkopff et

al. 2000, Schafer et al. 2002). Es wäre durchaus vorstellbar, dass die Zellen dadurch keine hohen und sehr hohen Hypertrophiegrade erreichen würden. Die arterielle Hypertonie würde also das „Hypertrophiepotential“ der Herzmuskelzellen einschränken, was die Linksversetzung der Verteilungskurve bei Aortenklappenstenose in Kombination mit Hypertonus erklären würde (siehe Abb. 36). Für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen bedeutet das, dass eine Patientengruppe, die reine Aortenklappenstenose hätte, die Auswirkungen der Druckhypertrophie besser präsentieren würde.

Nachdem der Störfaktor erkannt wurde, prüfte man die Arbeitshypothese erneut, diesmal unter seinem Ausschluss. Nur acht Patienten der KHK- Gruppe und vier Patienten der AOK- Gruppe hatten keine Hypertonie als Begleiterkrankung und stellten somit eine reaktive bzw. eine Druckhypertrophie in ihrer reinsten Form dar. Der mittlere Herzmuskelzelldurchmesser betrug bei der reaktiven Hypertrophie $16,10 \mu\text{m} (\pm 3,60 \mu\text{m})$ und war damit größer als in den gesunden Herzen ($10,74 \pm 2,40 \mu\text{m}$), signifikant kleiner aber im Vergleich zum Zelldurchmesser bei der Druckhypertrophie ($20,36 \pm 5,11 \mu\text{m}$). Nach dem Ausschluss der Fälle mit Hypertonie änderte sich auch die Verteilung der gemessenen Distanzen in die Größenklassen (vergleiche Abb. 37 mit Abb. 34). Die Verteilungskurven der KHK- und der AOK- Gruppe rückten deutlich auseinander. Die fünf bestbesetzten Klassen blieben bei den Koronarpatienten gleich, bei einer diskreten Auffüllung der Klassen normaler und leicht hypertrophierter Zellen (9,0 bis 11,99 μm – 14,2 %, 12,0 bis 14,99 μm – 25,4 %, 15,0 bis 17,99 μm – 25,7 %, 18,0 bis 20,99 μm – 17,1 % und 21,0 bis 23,99 μm – 7,3 %). Bei den Patienten mit Aortenklappenstenose ohne Hypertonie verteilten sich die Messwerte ebenso in dieselben fünf Größenklassen wie bei der Gesamtgruppe. Eine Auffüllung fand hier aber, anders als bei den Koronarpatienten, eher in den Klassen ausgeprägter Hypertrophie statt (12,0 bis 14,99 μm – 9,4 %, 15,0 bis 17,99 μm – 21,7 %, 18,0 bis 20,99 μm – 24,8 %, 21,0 bis 23,99 μm – 18,6 % und 24,0 bis 26,99 μm – 10,7 %). Letztendlich erwies sich die Annahme, dass die Druckhypertrophie stärker in ihrer Ausprägung als die reaktive Hypertrophie sei, als richtig, wenn auch die untersuchten Kohorten mit acht bzw. vier Patienten klein waren.

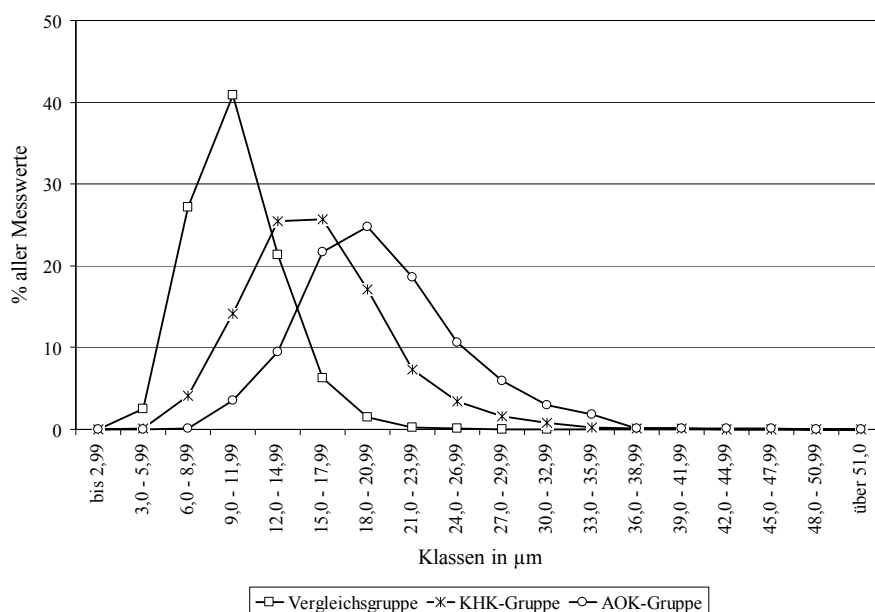


Abb. 37: Verteilung der EasyMeasure®- Messwerte vom linken Ventrikel in Größenklassen bei den verschiedenen Gruppen nach dem Ausschluss der Patienten mit arteriellem Hypertonus

Abschließend beschäftigte sich die vorliegende Arbeit mit der Auswirkung verschiedener Faktoren auf die Herzmuskelzellgröße. Zwei davon, die arterielle Hypertonie als Begleiterkrankung und die Fibroseausprägung, zeigten einen engen Zusammenhang mit dem Diameter der Myozyten. Da der Einfluss der Hypertonie bereits vorher erörtert wurde, wird an dieser Stelle nur die Wechselbeziehung zwischen Hypertrophie und Fibrose diskutiert.

Die Analyse der morphometrischen Ergebnisse offenbarte eine gute positive Korrelation zwischen Herzmuskelzellgröße und Bindegewebsanteil. Die Hypertrophie geht also mit einer Zunahme der Fibrose einher. Da die Ausprägung der Gesamtfibrose, der reinen Fibrose und der Narben in der KHK- und der AOK- Gruppe in dieser Arbeit gleich war, schien die Form der Hypertrophie, also ob es sich um Druck- oder reaktive Hypertrophie handelte, keine Rolle zu spielen. Die in der vorliegenden Arbeit festgestellte Bindegewebsvermehrung in der koronaren Herzkrankheit stimmt mit den Ergebnissen anderer Autoren überein (Schaper 1988, Okada et al. 1989, Beltrami et al. 1994, Prech et al. 2004). Okada konnte darüber hinaus, ähnlich wie hier, eine positive Korrelation zwischen Herzmuskelzelldurchmesser und Fibrose nachweisen, bei Prech korrelierte der Herzmuskelzelldurchmesser mit der Ausdehnung des Narbengewebes. Die Tatsache, dass auch die Druckhypertrophie mit einer Zunahme des Bindegewebes einhergeht, wurde ebenso in früheren Arbeiten erwiesen (Schaper et al. 1981, Krayenbühl 1982, Krayenbuehl et al. 1983, Krayenbuehl et al. 1984, Jantunen et al. 1989, Krayenbuehl et al. 1989,

Schwartzkopff et al. 1992, Jinno 1992, Villari et al. 1994). Jinno war dabei der Einzige, der seine Ergebnisse auf eine positive Korrelation zwischen Herzmuskelzellendiameter und Fibroseausprägung prüfte und sie bestätigte. Jantunen behauptete dagegen, die Fibrose wäre in Herzen mit schweren und in Herzen mit leichten oder mäßigen Klappenläsionen gleich ausgeprägt. Er korrelierte jedoch die Fibroseausprägung nicht direkt zur Herzmuskelzellgröße, sondern bildete Untersuchungsgruppen anhand von anatomischen Kriterien für die Schwere eines Klappenvitiums und verglich diese untereinander. Ein interessantes Ergebnis seiner Arbeit war die Beobachtung, dass sich die subendokardialen Wandschichten außer mit größeren Myozyten auch mit einer stärkeren Fibrose charakterisierten, im Vergleich zum Subepikard. Diese Feststellung konnte von Lund in einer späteren Arbeit bestätigt werden (Lund et al. 1998).

Der Grund für die Fibrosierung des Ventrikelmyokards bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit ist leicht nachvollziehbar, da das Wesen der Erkrankung letztendlich in Zellverlust, reaktiver Zellhypertrophie und Narbenbildung besteht. Es scheint allerdings auf den ersten Blick etwas seltsam, dass das Myokard bei Patienten mit Aortenklappenstenose ein ähnliches histomorphometrisches Bild anbietet. Einige frühere Untersuchungen konnten nachweisen, dass die Vernarbung des Myokards eher in Bezug zum Hypertrophiegrade und weniger in Bezug zu einer assoziierten koronaren Herzkrankheit steht (Wigle 1957, Hutchins et al. 1987, Lund et al. 1989). Die Zunahme des interstitiellen Bindegewebes und des Narbenanteils im hypertrophen Myokard von Patienten mit Aortenklappenstenose, die auch in dieser Arbeit in einem Ausmaß, wie bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit ausgeprägt war, sollte nicht nur als primäres proliferatives Phänomen betrachtet werden, sondern auch als Prozess der reparativen Fibrosierung als Folge der Myozytenschädigung und des Myozytenverlustes (Linzbach 1947, Linzbach 1960, Linzbach 1976, Krayenbuehl 1982, Anversa et al. 1986). Eine entscheidende Rolle spielt dabei die so genannte relative Koronarinsuffizienz. Viele Autoren betrachteten ihre Entstehung als Folge eines relativ verzögerten Wachstums mit gleichzeitiger Sklerose der großen, mittleren und kleinen Äste der Koronararterien und einer relativen Verengung der Ostia (Vogelberg 1957, Rodriguez et al. 1959, Linzbach 1976). Auch wenn die Koronargefäße radiologisch unverändert zu sein scheinen, führt die relative Koronarinsuffizienz im Prozess der Hypertrophie zur so genannten hypertrophieinduzierten ischämischen Kardiomyopathie mit herdförmigen Nekrosen, Narbenbildung und progressiver Fibrosierung des Myokards (Büchner et al. 1968, Linzbach 1976, Anversa et al. 1990). Laut Büchner und Linzbach sind die Nekrosen zuerst auf einzelne Fasern beschränkt (miliare Nekrosen), sie können aber auch ganze Gruppen benachbarter Muskelfasern betreffen. Mit dem Fortschreiten

der Hypertrophie und damit der Minderversorgung des Myokardgewebes, führt der progressive Untergang von Herzmuskelzellen zur Konfluenz der miliaren Nekroseherde und schließlich zur Ausbildung von größeren Narbenbezirken. Nach Jahren entwickelt sich dann eine diffuse Verschwiellung der Herzmuskulatur, so genannte Dehionische Myofibrose (Linzbach 1947, Büchner et al. 1968). Wenn die Herzmuskelzellhypertrophie dagegen reaktiv als Folge einer „echten“ Koronarsklerose entsteht, finden sich Fibroseherde, die sich einzeitig durch die akute Koronarinsuffizienz gebildet haben. Letztendlich aber, ob einzeitig entstanden oder Folge jahrelanger reparativer Prozesse, ist das histomorphometrische Ergebnis bezüglich der Fibroseausprägung gleich. Zusammenfassend lässt sich behaupten, dass ein vermehrter Bindegewebsanteil und Narben sowohl das Myokard bei der koronaren Herzkrankheit als auch das Myokard bei der Aortenklappenstenose charakterisieren, was sich in den Ergebnissen dieser Arbeit widerspiegelt.

Zusammenfassung

Zu einer vollständigen Beurteilung des Myokardgewebes gehört heutzutage neben der morphologischen auch eine morphometrische Untersuchung der Herzmuskelzellen. Eine ausführliche quantitative Charakterisierung des gesunden Myokards fehlte aber bis jetzt und die wenigen Aussagen darüber sind ziemlich widersprüchlich. Außerdem wurden die Veränderungen der Zelldimensionen bei der Druck- und reaktiven Hypertrophie noch nie gegenübergestellt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, den Zustand der menschlichen Herzmuskelzellen sowohl in Gesundheit als auch in Krankheit quantitativ zu erfassen und zu bewerten.

Analysiert wurden sieben männliche und 16 weibliche Spenderherzen (mittleres Alter 43 ± 13 Jahre) als Vertreter der Norm, 41 männliche KHK- Patienten (mittleres Alter 60 ± 6 Jahre) als Repräsentanten der reaktiven Hypertrophie und 13 männliche Patienten mit Aortenklappenstenose (mittleres Alter 64 ± 10 Jahre) als Vertreter der Druckhypertrophie. Eine zuverlässige und wirtschaftliche morphometrische Methode (EasyMeasure®) ermöglichte die Gewinnung von Massendaten (insgesamt 34.079 Messungen). Der Breitendurchmesser der Myozyten an definierten Stellen mit Bezug auf den Zellkern wurde als Maß für die Zellgröße untersucht. Dabei ging man vom Kreiszyylinder als dreidimensionale Darstellungsform der Herzmuskelzelle aus.

Die morphometrische Analyse der Spenderherzen ergab einen durchschnittlichen Durchmesser von $10,74 \pm 2,40 \mu\text{m}$ für die linksventrikulären und von $9,14 \pm 1,78 \mu\text{m}$ für die rechtsventrikulären Myozyten. Diese Werte wurden aus insgesamt 7.752 Messungen an Zellen aus allen Muskelschichten der linken Herzkammer (im Mittel 337 Messungen pro Patient) sowie aus 8.055 Messungen an Zellen aus allen Muskelschichten der rechten Herzkammer (im Mittel 350 Messungen pro Patient) errechnet. Anhand des ermittelten Normbereichs von $6 \mu\text{m}$ bis $15 \mu\text{m}$ für die Herzmuskelzellgröße konnte gezeigt werden, dass im gesunden Myokard neben den normalgroßen Myozyten in geringerem Ausmaß auch atrophische (2,5 % links vs. 3,8 % rechts) und hypertrophierte Zellen (8,1 % links vs. 0,4 % rechts) vorkommen. Die Verteilung der ermittelten Zelldurchmesser in kleinere Subklassen und die Unterschiede in den Standardabweichungen und in den Variationskoeffizienten zeigten darüber hinaus, dass das rechtsventrikuläre Myokard homogener aufgebaut ist, d.h., dass Kaliberschwankungen weniger ausgeprägt sind. Der mittlere Durchmesser der linksventrikulären Myozyten war mit 17,5 % signifikant größer als der Durchmesser der rechtsventrikulären Myozyten, wobei dieses

Phänomen in der geschlechtergetrennten Analyse nur für die Frauen bestätigt werden konnte. Die Herzmuskelzellen männlicher und weiblicher Spenderherzen unterschieden sich nicht in ihrer Größe, wodurch die Bildung einer gemischten Kontrollgruppe gerechtfertigt werden konnte.

Die Morphometrie des Myokards von Patienten mit KHK oder Aortenklappenstenose sollte die Auswirkungen dieser Krankheiten demonstrieren. 32,6 % von den 13.868 Distanzen (im Mittel 338 Messungen pro Patient), die in den 41 KHK- Herzen vermessen wurden, lagen im Normbereich, ein geringer Anteil (0,1 %) im Bereich der Zellatrophie und alle restlichen Werte sprachen für eine unterschiedlich ausgeprägte Hypertrophie. Bei der Aortenklappenstenose waren nur halb so viele Zellen von normaler Größe (17,8 % der 4.404 in den 13 Herzen vermessenen Durchmesser). Alle anderen Myozyten waren hypertrophiert, wobei der Anteil der mäßig bis stark und der stark hypertrophierten Zellen größer war als in der KHK- Gruppe. Die durchschnittlichen Herzmuskelzelldurchmesser der Koronarpatienten ($17,67 \pm 4,09 \mu\text{m}$) und der Klappenpatienten ($19,79 \pm 4,56 \mu\text{m}$) waren deutlich größer als in der Gruppe der gesunden Herzspender, unterschieden sich aber nicht signifikant untereinander. Der gleiche Variationskoeffizient von 0,23 und die Verteilung der ermittelten Diameter in Subklassen unterstützten den Eindruck, dass die Patienten ähnlich in der Ausprägung der Hypertrophie ihrer Myokardzellen reagierten. Die detaillierte Analyse der beiden Patientengruppen zeigte jedoch, dass dieses Ergebnis eine Folge der Mitwirkung der arteriellen Hypertonie als Begleiterkrankung auf das Herz war. Nach Ausschluss der Hypertoniker konnte für eine kleine Kohorte (acht KHK-Patienten und vier AOK- Patienten) nachgewiesen werden, dass die reine Druckhypertrophie (mittlerer Herzmuskelzelldurchmesser $20,36 \pm 5,11 \mu\text{m}$) in ihrer Ausprägung stärker ist als die reine reaktive Hypertrophie (mittlerer Durchmesser $16,10 \pm 3,60 \mu\text{m}$).

Abschließend wurde für die beiden Formen der Hypertrophie demonstriert, dass sie mit einer deutlichen Zunahme des Bindegewebsgehaltes des Myokards einhergehen. Da die Ausprägung der Gesamtfibrose, der reinen Fibrose und der Narben in der KHK- und der AOK- Gruppe gleich war, schien die Form der Hypertrophie keine Rolle zu spielen.

Literaturverzeichnis

1. Adler CP (1972a): Morphologische Grundlagen der Herzhypertrophie und des Herzwachstums. *Med Welt* 23 (14): 477-484
2. Adler CP (1972b): Polyploidisierung und Zellzahl im menschlichen Herzen. *Fortschr Med* 90 (17): 671-675
3. Anderson RH, Becker AE (1982): *Anatomie des Herzens. Ein Farbatlas.* Thieme
4. Anversa P, Loud AV, Giacomelli F, Wiener J (1978): Absolute morphometric study of myocardial hypertrophy in experimental hypertension. *Lab Invest* 38 (5): 586-609
5. Anversa P, Ricci R, Olivetti G (1986): Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: a review. *J Am Coll Cardiol* 7 (5): 1140-1149
6. Anversa P, Sonnenblick EH (1990): Ischemic cardiomyopathy: pathophysiologic mechanisms. *Prog Cardiovasc Dis* 33 (1): 49-70
7. Ashley LM (1945): A Determination of the Diameters of Ventricular Myocardial Fibers in Man and Other Mammals. *Am J of Anat* 77 (3): 325-359
8. Astorri E, Bolognesi R, Colla B, Chizzola A, Visioli O (1977): Left ventricular hypertrophy: a cytometric study on 42 human hearts. *J Mol Cell Cardiol* 9 9: 763-775
9. Baandrup U, Olsen EG (1981): Critical analysis of endomyocardial biopsies from patients suspected of having cardiomyopathy. I: Morphological and morphometric aspects. *Br Heart J* 45 (5): 475-486
10. Beltrami CA, Finato N, Rocco M, Feruglio GA, Puricelli C, Cigola E, Quaini F, Sonnenblick EH, Olivetti G, Anversa P (1994): Structural basis of end-stage failure in ischemic cardiomyopathy in humans. *Circulation* 89 (1): 151-163
11. Blumberg F, Hort C, Hort W (1995): Quantitative licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Myofibrillen und Mitochondrien von Hunde- und Hühnerherzen. *Z Kardiologie* 84 (2): 154-162
12. Büchner F, Weyland R (1968): Die Insuffizienz des hypertrophierten Herzmuskels im Lichte seiner Narbenbilder. *Urban & Schwarzenberg*: 11-115
13. Caesar R (1999): Herz. In Remmele W: *Pathologie I. Rechtsfragen in der Pathologie; Einführung in die bioptische Diagnostik; Herz und Gefäßsystem; Hämatologie; Milz; Thymus.* Springer: 103-276

14. Canale ED, Campbell GR, Smolich JJ, Campbell JH (1986): Cardiac Muscle. Springer
15. Degenring FH (1976): Der Herzmuskel. Dynamik, Koronarkreislauf und Behandlungsmöglichkeiten. Springer
16. Eberth CJ (1866): Die Elemente der quergestreiften Muskeln. Virch Arch 37 (1): 100-124
17. Fuster V, Danielson MA, Robb RA, Broadbent JC, Brown AL, Jr., Elveback LR (1977): Quantitation of left ventricular myocardial fiber hypertrophy and interstitial tissue in human hearts with chronically increased volume and pressure overload. Circulation 55 (3): 504-508
18. Gerdes AM, Callas G, Kasten FH (1979): Differences in regional capillary distribution and myocyte sizes in normal and hypertrophic rat hearts. Am J Anat 156 (4): 523-531
19. Gerdes AM, Kellerman SE, Moore JA, Muffly KE, Clark LC, Reaves PY, Malec KB, McKeown PP, Schocken DD (1992): Structural remodeling of cardiac myocytes in patients with ischemic cardiomyopathy. Circulation 86 (2): 426-430
20. Goldenberg B (1886): Ueber Atrophie und Hypertrophie der Muskelfasern des Herzens. Virch Arch 103 (1): 88-130
21. Grajek S, Lesiak M, Pyda M, Zajac M, Paradowski S, Kaczmarek E (1993): Hypertrophy or hyperplasia in cardiac muscle. Post-mortem human morphometric study. Eur Heart J 14 (1): 40-47
22. Gregory MA, Brouckaert CJ, Whitton ID (1983): Characterisation of normal human myocardium by means of morphometric analysis. Cardiovasc Res 17 (3): 177-183
23. Gunning MG, Kaprielian RR, Pepper J, Pennell DJ, Sheppard MN, Severs NJ, Fox KM, Underwood SR (2002): The histology of viable and hibernating myocardium in relation to imaging characteristics. Journal of the American College of Cardiology 39 (3): 428-435
24. Hausmann H (2004), Habilitation: Myokardrevaskularisation bei hochgradig eingeschränkter linksventrikulärer Funktion – die Bedeutung präoperativer myokardialer Vitalitätsdiagnostik für die Prognose postoperativer linksventrikulärer Funktionsverbesserung. Humboldt-Universität zu Berlin, Medizinische Fakultät - Universitätsklinikum Charité: 1-200
25. Hecht A (1958): Zur capillären Gefäßversorgung der subendokardialen Muskelschichten im menschlichen Herzen. Virch Arch 331 (1): 26-35

26. Hecht A, Hemlepp H (1962): Vergleichende Untersuchungen zur Muskelfaserquerschnittsgröße normalgewichtiger und hypertrophierter menschlicher Herzen. *Z Gesamte Inn Med* 17: 474-477
27. Hort W (1953): Quantitative histologische Untersuchungen an wachsenden Herzen. *Virch Arch* 323 (2): 223-242
28. Hort W (1955a): Morphologische Untersuchungen an Herzen vor, während und nach der postnatalen Kreislaufumschaltung. *Virchows Arch* 326 (4): 458-484
29. Hort W (1955b): Quantitative Untersuchungen über die Capillarisation des Herzmuskels im Erwachsenen- und Greisenalter, bei Hyertrophie und Hyperplasie. *Virch Arch* 327 (5): 560-576
30. Hort W (1977): Myocardial hypertrophy. Light microscopic findings on the myocardium. Blood supply. Ventricular dilatation and heart failure. *Basic Res Cardiol* 72 (2-3): 203-208
31. Hoshino T, Fujiwara H, Kawai C, Hamashima Y (1983): Myocardial fiber diameter and regional distribution in the ventricular wall of normal adult hearts, hypertensive hearts and hearts with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 67 (5): 1109-1116
32. Hurst JW, Alpert JS (1994): Diagnostic atlas of the heart. Raven Press: 24-30
33. Hutchins GM, Kuhajda FP, Moore GW (1987): Myocardial injury in patients with aortic stenosis. *Am J Cardiovasc Pathol* 1 (1): 31-37
34. Ishikawa S, Fattal GA, Popiewicz J, Wyatt JP (1972): Functional morphometry of myocardial fibers in cor pulmonale. *Am Rev Respir Dis* 105 (3): 358-367
35. Jantunen E, Halinen MO, Romppanen T, Kosma VM, Collan Y (1989): Morphometric study of human myocardium in acquired valvular diseases. *Ann Med* 21 (6): 435-440
36. Jinno T (1992): Myocardial structure and left ventricular function in aortic valvular diseases. *Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi* 40 (11): 2020-2034
37. Knieriem HJ (1964): Über den Bindegewebsgehalt des Herzmuskels des Menschen. *Arch Kreislaufforsch* 44: 231-259
38. Knieriem HJ (1972): Morphologische Grundlagen der Herzhypertrophie. *Verh Dtsch Ges Kreislaufforsch* 38: 1-21
39. Korecky B, Rakusan K (1978): Normal and hypertrophic growth of the rat heart: changes in cell dimensions and number. *Am J Physiol* 234 (2): H123-H128

40. Krayenbuehl HP (1982): Ist die sekundäre Myokardhypertrophie ein physiologischer oder pathologischer Adaptationsmechanismus? *Z Kardiologie* 71 (8): 489-496
41. Krayenbuehl HP, Hess OM, Monrad ES, Schneider J, Mall G, Turina M (1989): Left ventricular myocardial structure in aortic valve disease before, intermediate, and late after aortic valve replacement. *Circulation* 79 (4): 744-755
42. Krayenbuehl HP, Hess OM, Schneider J, Turina M (1983): Physiologic or pathologic hypertrophy. *Eur Heart J* 4 Suppl A: 29-34
43. Krayenbuehl HP, Hess OM, Schneider J, Turina M (1984): Left ventricular function and myocardial structure in aortic valve disease before and after surgery. *Herz* 9 (5): 270-278
44. Krayenbühl HP (1982): Ist die sekundäre Myokardhypertrophie ein physiologischer oder pathologischer Adaptationsmechanismus? *Z Kardiologie* 71 (8): 489-496
45. Kunkel B, Schneider M, Kober G, Bussmann WD, Hopf R, Kaltenbach M (1982): Die Morphologie der Myokardbiopsie und ihre klinische Bedeutung. *Z Kardiologie* 71 (12): 787-794
46. Kunsch K, Kunsch S (2000): *Der Mensch in Zahlen. Eine Datensammlung in Tabellen mit über 20.000 Einzelwerten.* Spektrum, Akad. Verl.: 1-70
47. Labschies F (2006), Promotion: Histomorphometrische Untersuchungen der Größe und Verteilung von Herzmuskelzellen bei Patienten mit Hibernating Myocardium. Charité, Universitätsmedizin Berlin: 1-66
48. Linzbach AJ (1947): Mikrometrische und histologische Analyse hypertropher menschlicher Herzen. *Virch Arch* 314 (5): 534-594
49. Linzbach AJ (1948): Herzhypertrophie und Kritisches Herzgewicht. *Klinische Wochenschrift* 26 (29/30): 459-463
50. Linzbach AJ (1950): Die Muskelfaserkonstante und das Wachstumsgesetz der menschlichen Herzkammern. *Virch Arch* 318 (5): 575-618
51. Linzbach AJ (1958): Die Lebenswandlungen der Struktur des Herzens. *Verh Dtsch Ges Kreislaufforsch* 24: 3-15
52. Linzbach AJ (1960): Heart failure from the point of view of quantitative anatomy. *Am J Cardiol* 5: 370-382
53. Linzbach AJ (1976): Hypertrophy, hyperplasia and structural dilatation of the human heart. *Adv Cardiol* 18: 1-14

54. Lund O, Kristensen LH, Baandrup U, Hansen OK, Nielsen TT, Emmertsen K, Jensen FT, Flo C, Rasmussen BS, Pilegaard HK (1998): Myocardial structure as a determinant of pre- and postoperative ventricular function and long-term prognosis after valve replacement for aortic stenosis. *Eur Heart J* 19 (7): 1099-1108
55. Lund O, Larsen KE (1989): Cardiac pathology after isolated valve replacement for aortic stenosis in relation to preoperative patient status. Early and late autopsy findings. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 23 (3): 263-270
56. Meerson FZ (1969): The myocardium in hyperfunction, hypertrophy and heart failure. *Circ Res* 25 (1) Suppl 2: 1-163
57. Meessen H (1971a): Morphologie der Myokardhypertrophie. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 77: 43-55
58. Meessen H (1971b): Structural bases of myocardial hypertrophy. *Br Heart J* 33 Suppl: 94-99
59. Meessen H (1974): Über Herzhypertrophie. *Lebensversicher Med* 26 (5): 102-106
60. Mundhenke M, Schwartzkopff B, Strauer BE (1997): Structural analysis of arteriolar and myocardial remodelling in the subendocardial region of patients with hypertensive heart disease and hypertrophic cardiomyopathy. *Virch Arch* 431 (4): 265-273
61. Okada R, Kawai S, Ishijima M (1989): Relation between coronary stenosis and myocardial lesions determined by a semiquantitative approach to myocardial fibrosis and hypertrophy due to ischemia. *Am J Cardiol* 63 (10): 2E-6E
62. Olivetti G, Melissari M, Balbi T, Quaini F, Cigola E, Sonnenblick EH, Anversa P (1994): Myocyte cellular hypertrophy is responsible for ventricular remodelling in the hypertrophied heart of middle aged individuals in the absence of cardiac failure. *Cardiovasc Res* 28 (8): 1199-1208
63. Poole-Wilson PA (1995): The dimensions of human cardiac myocytes; confusion caused by methodology and pathology. *J Mol Cell Cardiol* 27 3: 863-865
64. Prech M, Grajek S, Lesiak M, Mularek-Kubzdela T, Marszalek A, Paradowski S, Cieslinski A (2004): Left ventricle hypertrophy following myocardial infarction. Morphometric evaluation of the infarcted region and the free wall of the left ventricle. *Pol Arch Med Wewn* 112 (5): 1289-1296

65. Rapaport E (1982): Pathophysiological basis of ventricular hypertrophy. *Eur Heart J* 3 Suppl A: 29-33
66. Roberts JT, Wearn JT (1941): Quantitative changes in the capillary-muscle relationship in human hearts during normal growth and hypertrophy. *Am Heart J* 21 (5): 617-633
67. Rodriguez FL, Robbins SL (1959): Capacity of human coronary arteries: a postmortem study. *Circulation* 19 (4): 570-578
68. Sawada K, Kawamura K (1991): Architecture of myocardial cells in human cardiac ventricles with concentric and eccentric hypertrophy as demonstrated by quantitative scanning electron microscopy. *Heart Vessels* 6 (3): 129-142
69. Schafer S, Kelm M, Mingers S, Strauer BE (2002): Left ventricular remodeling impairs coronary flow reserve in hypertensive patients. *J Hypertens* 20 (7): 1431-1437
70. Schaper J (1988): Effects of multiple ischaemic events on human myocardium--an ultrastructural study. *Eur Heart J* 9 Suppl A: 141-149
71. Schaper J, Schwarz F, Hehrlein F (1981): Ultrastructural changes in human myocardium with hypertrophy due to aortic valve disease and their relationship to left ventricular mass and ejection fraction. *Herz* 6 (4): 217-225
72. Schoen FJ, Lawrie GM, Titus JL (1984): Left ventricular cellular hypertrophy in pressure- and volume-overload valvular heart disease. *Hum Pathol* 15 (9): 860-865
73. Schoenmackers J (1958): Vergleichende quantitative Untersuchungen über den Faserbestand des Herzens bei Herz- und Herzklappenfehlern sowie Hochdruck. *Virch Arch* 331 (1): 3-22
74. Schott H, Müller IW, Roelcke V, Wolf-Braun B, Schadewaldt H (1993): Die Chronik der Medizin. Chronik-Verlag: 192
75. Schwartzkopff B, Frenzel H, Dieckerhoff J, Betz P, Flasshove M, Schulte HD, Mundhenke M, Motz W, Strauer BE (1992): Morphometric investigation of human myocardium in arterial hypertension and valvular aortic stenosis. *Eur Heart J* 13 Suppl D: 17-23
76. Schwartzkopff B, Mundhenke M, Strauer BE (1995): Remodelling of intramyocardial arterioles and extracellular matrix in patients with arterial hypertension and impaired coronary reserve. *Eur Heart J* 16 Suppl I: 82-86
77. Schwartzkopff B, Strauer BE (2000): Coronary reserve and arteriosclerosis in hypertensive heart disease. *Z Kardiol* 89 Suppl 1 9: IX/132-IX/135

78. Villari B, Hess OM, Piscione F, Vassalli G, Weber KT, Chiariello M (1994): Heart function in chronic pressure overload caused by aortic stenosis: the role of collagen tissue. *Cardiologia* 39 (6): 411-420
79. Vliegen HW, van der LA, Huysman JA, Wijnvoord EC, Mentar M, Cornelisse CJ, Eulderink F (1987): Morphometric quantification of myocyte dimensions validated in normal growing rat hearts and applied to hypertrophic human hearts. *Cardiovasc Res* 21 (5): 352-357
80. Vogelberg K (1957): Die Lichtungsweite der Koronarostien an normalen und hypertrophen Herzen. *Z Kreislaufforsch* 46 (3-4): 101-115
81. Wendt L, Hesse H (1947): Vergleichende histologische Messungen an normalen und hypertrophischen Herzen. *Virch Arch* 314 (2): 294-314
82. Wernecke K-D (2001), *Scriptum zur Vorlesung "Biomathematik/Biometrie" für Humanmediziner: Medizinische Biometrie. Planung und Auswertung medizinischer Studien.* Institut für Medizinische Biometrie, Universitätsklinikum Charité der Humboldt-Universität zu Berlin: 54-55
83. Wigle ED (1957): Myocardial fibrosis and calcareous emboli in valvular heart disease. *Br Heart J* 19 (4): 539-549

Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Rudolf Meyer, für die Bereitstellung des Themas, für seine geduldige Betreuung und für seine konstruktiven Vorschläge zur Verbesserung der Arbeit, welche mir besonders in der Endphase eine große Hilfe und Motivation waren.

Vielen Dank an Frau Michaela Rahmsdorf, Sekretariat Prof. Dr. R. Meyer, für die unkomplizierte Terminkoordination und für ihre Freundlichkeit, die mir eine sehr angenehme Arbeitsatmosphäre ermöglicht hat. Dem MTA-Team des Arbeitsbereichs Herzpathologie danke ich für den Zugang zum Arbeitsplatz, insbesondere Frau Erni Schmitzer für die hilfreiche Einführung in die Arbeitsprogramme.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Roland Hetzer, Direktor des Deutschen Herzzentrums Berlin, für seine wohlwollende Kenntnisnahme, die Möglichkeit der Nutzung des Untersuchungsmaterials und die Bereitstellung des Laborplatzes bedanken.

Ganz lieben Dank an meine Freunde, die mir immer Mut gemacht haben und jederzeit ein offenes Ohr für mich hatten. Insbesondere danke ich Barbara Schön und Melanie Kleinemeier für die mühevollen Durchsicht der Arbeit und die Hilfe bei der grammatikalischen und sprachlichen Korrektur.

Last but not least bedanke ich mich bei meinen Eltern für ihre Liebe und ihr Vertrauen in mich. Sie standen mir mit ihrer moralischen und finanziellen Unterstützung in allen schwierigen Phasen dieser Arbeit bei und gaben mir bei Bedarf den nötigen Ansporn.

Ein herzliches Dankeschön!

Erklärung

Ich, Daniela Genova, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Histomorphometrische Untersuchungen von Herzmuskelzellen bei Organspendern, Patienten mit koronarer Herzkrankheit und Patienten mit Aortenklappenstenose. Eine Studie der Herzhypertrophie“, selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, den 28.02.2007

Daniela Genova

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Berlin, den 28.02.2007

Daniela Genova