

4. Ergebnisse

Ausgewertet wurden 37 heterotop-transplantierte Rattenherzen (männliche Lewis-Ratten), die sich 30 Tage in der Bauchhöhle von Fisher344-Ratten befanden. Um eine möglichst differenzierte Aussage über das Rejektionsgeschehen zu erhalten, wurden diese - nach entsprechender Aufbereitung – wie folgt ausgewertet:

4.1 Auswertung nach dem ISHLT-Standard

Bei der Auswertung nach dem ISHLT-Standard wurden sämtliche Herzen mit 3,00 bis 4,00 gewertet, wobei der Mittelwert bei ca. 3,85 liegt, was einem ISHLT-Grad von 4 entspricht (Tabelle 1). Am Median erkennt man, dass es keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen gibt.

Tabelle 1: Auswertung nach dem ISHLT-Standard (3,00 = ISHLT 3A, 3,50 = ISHLT 3B, 4,00 = ISHLT 4)

Tiergruppe	Anzahl der Tiere	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung	Varianz	Median
1	10	3,00	4,00	3,83	0,33	0,11	4,00
2	8	3,00	4,00	3,78	0,36	0,13	4,00
3	10	3,50	4,00	3,90	0,21	0,04	4,00
4	9	3,00	4,00	3,86	0,33	0,11	4,00

Die Abbildung 4 zeigt, dass es 6 Tiere gibt, die nicht nach dem ISHLT-Grad 4 eingestuft werden. Nur 3 Tiere kann man nach Grad 3A einstufen. Es handelt sich jeweils um Tiere aus unterschiedlichen Gruppen, so dass auch die Tendenz fast gleich ist.

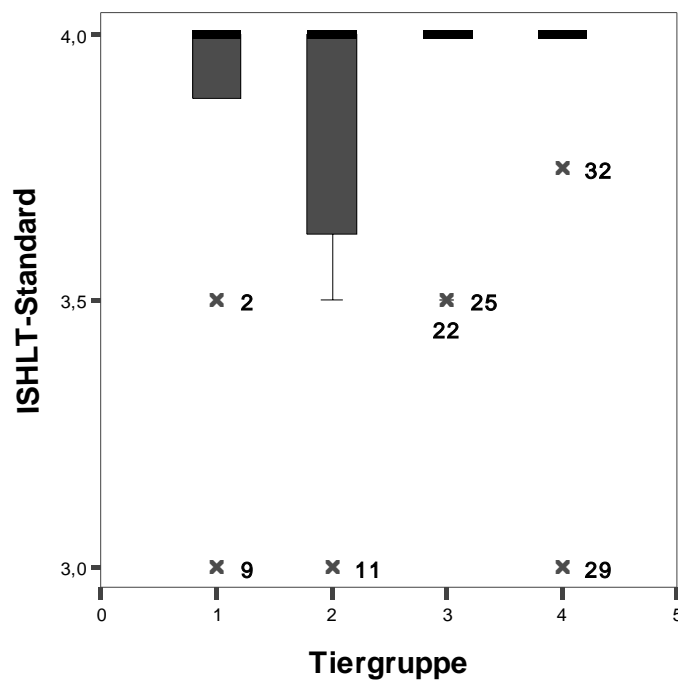


Abbildung 4: Auswertung nachdem ISHLT-Standard (Gruppe 1 = alt \Rightarrow alt, Gruppe 2 = alt \Rightarrow jung, Gruppe 3 = jung \Rightarrow alt, Gruppe 4 = jung \Rightarrow jung)

4.2 Auswertung der Fibrose

Der durchschnittliche Fibrosegehalt der Tiergruppe 1 (alt auf alt) liegt bei 12,5% mit einer Standardabweichung von 7,6% der gemessenen Fläche des Herzquerschnittes. Bei der Gruppe 2 (alt auf jung) steigt der prozentuale Fibroseanteil auf 23,8%, bei Gruppe 3 (jung auf alt) auf 40,97% an. Die Gruppe 4 zeigt wieder einen geringeren Anteil von 13,4% an, der dem der Gruppe 1 gleicht (Tabelle 2).

Tabelle 2: Auswertung der Fibrose (%-Anteil am Herzquerschnitt)

Tiergruppe	Anzahl der Tiere	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung	Varianz	Median
1	9	5,38	27,13	12,54	7,59	57,60	8,50
2	8	14,88	46,50	23,82	11,89	141,35	18,19
3	7	27,38	53,88	40,97	10,82	116,98	39,50
4	8	5,50	28,63	13,42	6,73	45,22	12,44

Die einzige Ausnahme ist das Tier 2/Gruppe 4 das mit einem Fibroseanteil von 28,6% eine deutliche Erhöhung gegenüber den anderen Tieren der Gruppe 4 zeigt.

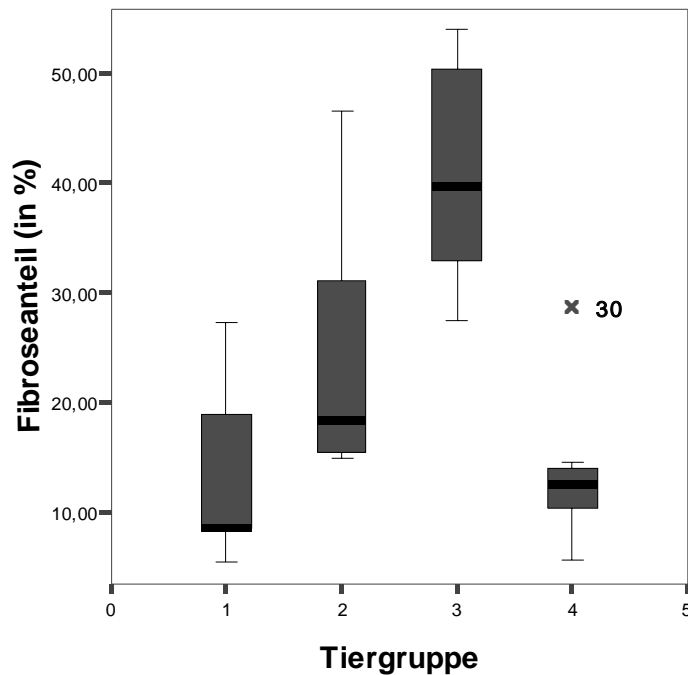


Abbildung 5: Fibroseauswertung in % (Gruppe 1 = alt ⇒ alt, Gruppe 2 = alt ⇒ jung, Gruppe 3 = jung ⇒ alt, Gruppe 4 = jung ⇒ jung)

Wir sind davon ausgegangen, dass ein Fibrosegehalt von bis zu 10% bei Ratten als normal angesehen werden kann. In der Literatur schwanken die Angaben über den normalen Bindegewebsgehalt im Rattenherzen. (GUSKI (1980) gibt 15% , OLIVETTI et al. (1980) geben durchschnittlich 9,5% als physiologisch beim Rattenherzen an.) Da sich bei den Auswertungen keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Septum und den Ventrikeln zeigten, beziehen sich die Angaben auf dem gesamten Herzquerschnitt.

Um eine Tendenz in den jeweiligen Gruppen darzustellen, wurden die Gruppen nochmals in Untergruppen wie folgt unterteilt :

- Untergruppe 1 = bis 10 % („physiologisch“)
- Untergruppe 2 = >10 – 20 % („pathologisch“)
- Untergruppe 3 = >20 % („hochgradig pathologisch“)

Tabelle 3: Fibroseauswertung (in % nach Untergruppen sortiert)

Tiergruppe	Untergruppe 1 (0 - 10 %)	Untergruppe 2 (>10 - 20%)	Untergruppe 3 (>20 %)
1	66,7	11,1	22,2
2	0,0	50,0	50,0
3	0,0	0,0	100,0
4	12,5	75,0	12,5

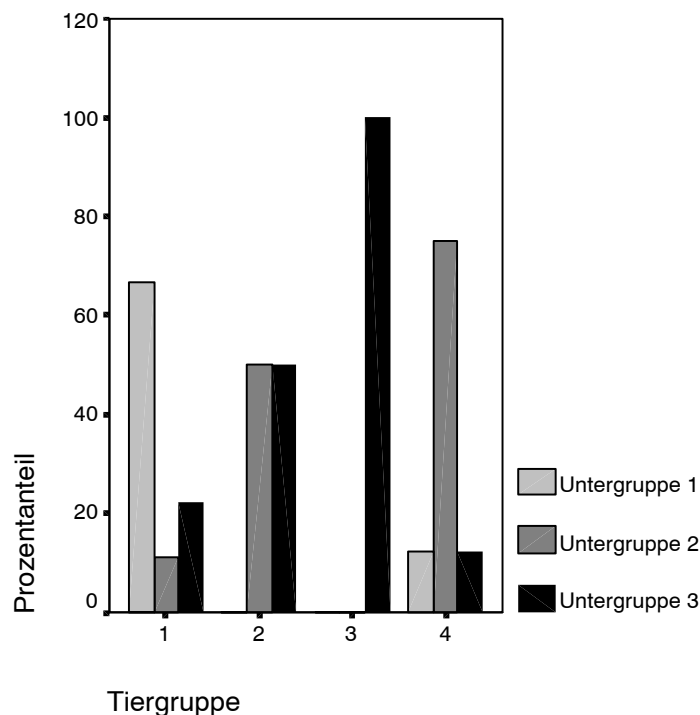


Abbildung 6: Fibroseanteil in % (nach Untergruppen sortiert)

Die Abbildung 6 zeigt, dass bei der Gruppe 1 der Anteil der Tiere, die einen normalen Fibroseanteil (bis 10%) haben, überwiegt. Exakt die Hälfte der Tiere der Gruppe 2 haben einen Fibroseanteil von >10-20%, die andere Hälfte weist einen Anteil von >20% auf, wodurch sich eine gleichmäßige Verteilung ergibt. Die gesamte Gruppe 3 zeigt einen Anteil von >20% auf, während bei der Gruppe 4 die Untergruppe 2 mit >10-20% überwiegt.

4.3 Auswertung des Narbengewebes (%-Anteil an der Fibrose)

Die Auswertung des Anteils des Narbengewebes an der Fibrose zeigt ähnliche Tendenzen wie die Auswertung der Fibrose. In der Gruppe 1 sind durchschnittlich 31,0% vernarbt, während

in der Gruppe 2 und 3 die Vernarbung auf 54,9% bzw. 75,7% ansteigt. Bei der Gruppe 4 zeigt sich eine Abnahme des Narbengewebes auf 25,2%.

Tabelle 4: Narbenanteil (%-Anteil an der Fibrose)

Tiergruppe	Anzahl der Tiere	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung	Varianz	Median
1	9	17,88	54,25	31,03	12,70	161,21	28,00
2	8	36,63	81,00	54,88	15,20	231,04	49,75
3	7	60,63	87,13	75,66	11,34	128,51	77,50
4	8	11,13	37,88	25,18	8,82	77,81	24,94

In der Abbildung 7 sieht man, dass es keine Extremwerte gibt.

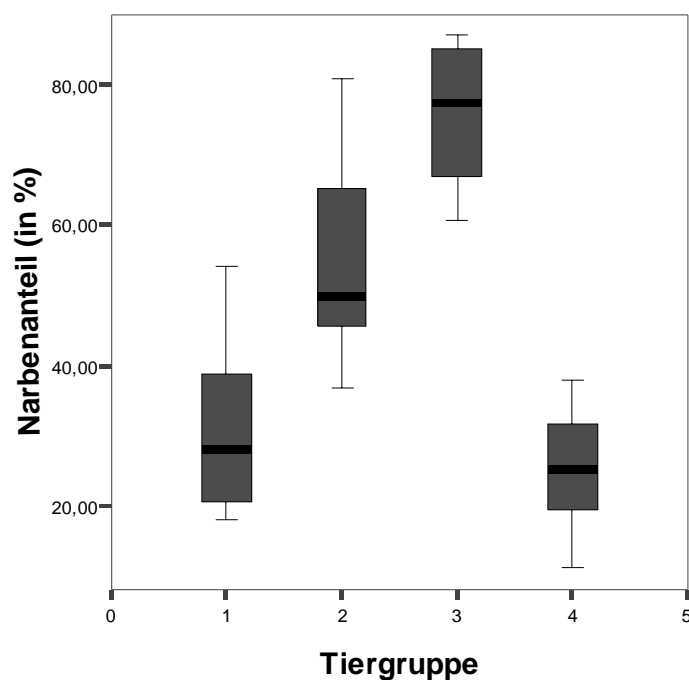


Abbildung 7: Narbenanteil (%-Anteil vom Fibrosegehalt)

Auch hier wurden, um die Tendenzen der einzelnen Gruppen darzustellen, Untergruppen gebildet, die sich hier wie folgt unterscheiden :

- Untergruppe 1 \Rightarrow 0-30%
- Untergruppe 2 \Rightarrow >30-60%
- Untergruppe 3 \Rightarrow >60%

Tabelle 5: Narbengewebe (%-Anteil an der Fibrose, nach Untergruppen geordnet)

Tiergruppe	Untergruppe 1 (0 - 30 %)	Untergruppe 2 (> 30 - 60 %)	Untergruppe 3 (> 60 %)
1	55,6	44,4	0,0
2	0,0	75,0	25,0
3	0,0	0,0	100,0
4	62,5	37,5	0,0

Die Gruppe 1 zeigt wiederum einen geringeren Anteil, der vernarbt ist. Bei der Gruppe 2 haben die meisten Tiere eine Vernarbung von >30-60%, während Gruppe 3 komplett über 60% vernarbt ist. Die Gruppe 4 hat ähnliche Tendenzen wie die Gruppe 1, d.h. die Mehrheit der Tiere (ca. 60%) weist nur eine Vernarbung von bis zu 30% auf (s. Tabelle 5).

Dies wird noch mal in der Abbildung 8 verdeutlicht.

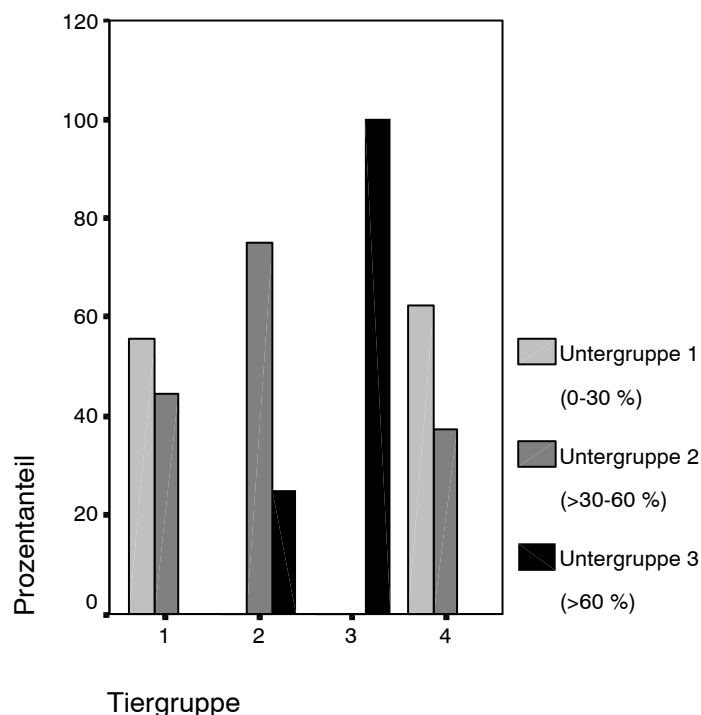


Abbildung 8: Narbengewebe (%-Anteil an der Fibrose, nach Untergruppen sortiert)

4.4 Auswertung der vaskulären Reaktionen

Auf einem Areal von 16 mm² wurden verschiedene Messungen vorgenommen. Auf 4 mm² im Septum und je 6 mm² in der linken und rechten Ventrikelwand wurden die Gefäße mit deutlicher Membrana elastica interna gezählt und nach ihren Veränderungen oder ihrem Verschluss differenziert.

Die Gruppe 1 hat einen Mittelwert von 14 Gefäßen/16mm² bei einer Standardabweichung von 6,5 , die Gruppe 2 einen Mittelwert von 15,2 Gefäßen/16mm² bei einer Standardabweichung von nur 2,98. Bei der Gruppe 3 zeigt sich ein Mittelwert von 12,1 Gefäße/16mm² bei einer Standardabweichung von 1,73. In der Gruppe 4 steigen beide Werte wieder auf 16,9 Gefäße/16 mm² und 4,72 an. (s. Tabelle 6)

Tabelle 6: Anzahl der Gefäße / 16 mm²

Tiergruppe	Anzahl der Tiere	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung	Varianz	Median
1	9	8,00	25,00	14,00	6,52	42,50	11,00
2	7	12,00	19,00	15,29	2,98	8,90	14,00
3	8	10,00	15,00	12,13	1,73	2,98	11,50
4	9	11,00	25,00	16,89	4,73	22,36	15,00

In der Abbildung 9 werden die hohen Standardabweichungen der Gruppen 1 und 4 deutlich sichtbar. Extremwerte sind keine erkennbar, dafür wird der ähnliche Median der unterschiedlichen Gruppen deutlich.

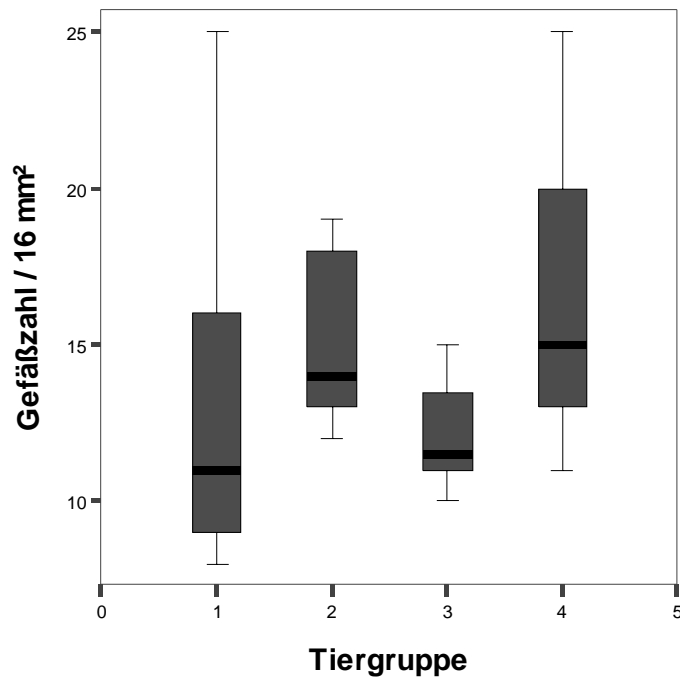


Abbildung 9: Anzahl der Gefäße / 16 mm²

Die Untersuchung der Gefäße auf Veränderungen ergab nur geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Tiergruppen und lag bei ca. 9,3 veränderte Gefäße/16 mm². Auch die Standardabweichungen der Werte waren in den Gruppen fast gleich und lagen im Durchschnitt bei 3,65 (s. Tabelle 7)

Tabelle 7: Anzahl der veränderten Gefäße / 16 mm²

Tiergruppe	Anzahl der Tiere	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung	Varianz	Median
1	9	5,00	17,00	9,44	3,97	15,78	8,00
2	7	8,00	17,00	11,29	3,73	13,91	10,00
3	8	3,00	14,00	8,50	3,55	12,57	8,50
4	9	1,00	13,00	8,11	3,59	12,86	9,00

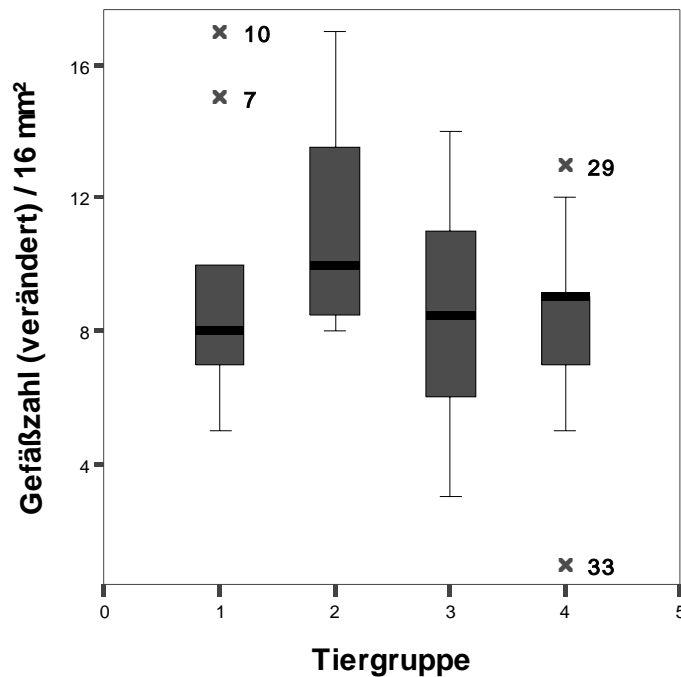


Abbildung 10: Anzahl der veränderten Gefäße / 16 mm²

In der Abbildung 10 wird diese Aussage nochmals verdeutlicht. Es zeigen sich hier jedoch bei Gruppe 1 und 4 je zwei Extremwerte. Es handelt sich hierbei um die Tiere 7 und 10 der Gruppe 1 und um die Tiere 1 und 5 der Gruppe 4.

Abschließend wurde untersucht, wie viele Gefäße komplett verschlossen waren. Es ergeben sich folgende Ergebnisse:

Bei der Gruppe 1 waren im Durchschnitt 5,1 Gefäße/16 mm², bei Gruppe 2 4,4 Gefäße/16 mm², bei Gruppe 3 3,6 Gefäße/16 mm² und bei der Gruppe 4 nur 1,3 Gefäße / 16 mm² komplett verschlossen. Die Standardabweichung lag bei den Gruppen 1 und 2 bei ca. 2,8 und bei den Gruppen 3 und 4 bei ca. 2,1.

Tabelle 8: Anzahl der verschlossenen Gefäße / 16 mm²

Tiergruppe	Anzahl der Tiere	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung	Varianz	Median
1	9	2,00	10,00	5,11	2,85	8,11	4,00
2	7	1,00	8,00	4,43	2,88	8,29	3,00
3	8	1,00	8,00	3,63	2,26	5,13	3,00
4	9	0,00	5,00	1,33	2,06	4,25	0,00

Die Abnahme der verschlossenen Gefäße von Gruppe 1 zu Gruppe 4 wird in der Abbildung 11 auch noch mal deutlich.

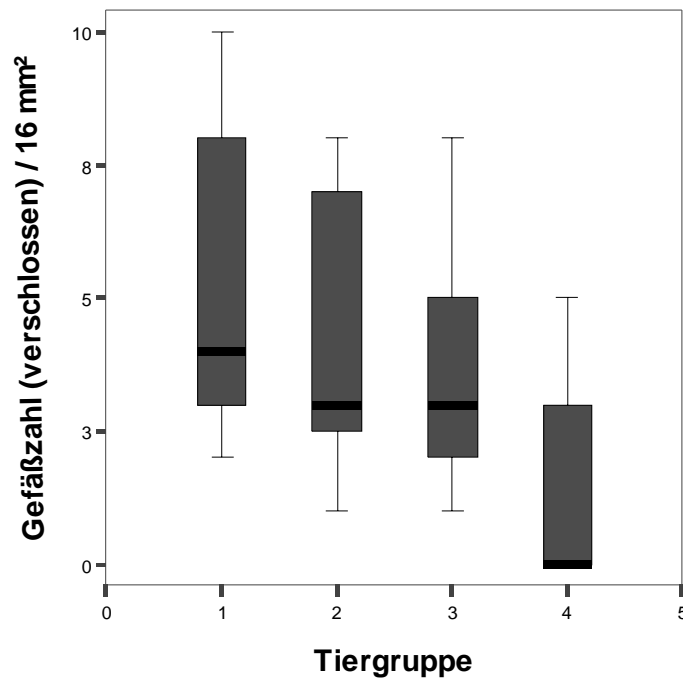


Abbildung 11: Anzahl der verschlossenen Gefäße / 16 mm²

4.5 Immunhistochemische Auswertung

Zur statistischen Auswertung der immunhistochemischen Reaktionen wurden diese in Zahlen umgewandelt :

- 0 = keine Aktivität
- 0,25 = diskrete Aktivität
- 0,5 = geringe, schwache oder herdförmige Aktivität
- 1,0 = positive Aktivität
- 1,5 = positiv, mit Trend zu stark positiv
- 2,0 = stark positive Aktivität

Dies sind die Auswertekriterien, die sich in der Herzpathologie des DHZB bewährt haben.

4.5.1 T-Lymphozyten (Clone UCHL-1)

In der Gruppe 1 und 2 ergab sich ein Mittelwert von ca. 1,23 , was einer „positiven Aktivität“ von T-Lymphozyten entspricht. Gruppe 2 lag bei 0,21. Dies entspricht einer „diskreten Aktivität“ der T-Lymphozyten (Tabelle 9). Gruppe 4 zeigte wiederum eine „positive Aktivität“ der T-Lymphozyten.

Tabelle 9: Aktivität der T-Lymphozyten

Tiergruppe	Anzahl der Tiere	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung	Varianz	Median
1	10	0,00	2,00	1,23	0,82	0,67	1,50
2	8	0,00	1,00	0,22	0,34	0,12	0,13
3	10	1,00	1,50	1,20	0,26	0,07	1,00
4	9	0,25	1,50	1,03	0,36	0,13	1,00

In der Tabelle 9 wie auch in der Abbildung 12 zeigt sich, dass die Werte in der Gruppe 1 mehr streuen als in den anderen Gruppen. Gruppe 4 hat - bis auf 3 Tiere (Tier 6,7 und 8) - eine „positive Aktivität“ der T-Lymphozyten (1,0). Die Standardabweichung der Gruppe 2 liegt bei 0,34 durch den Wert des Tieres 8 (1,0). Wie man an den Box-Plots sieht wäre es sonst die Gruppe mit der geringsten Streuung. Die Gruppe 3 hat eine „positive Aktivität“ der T-Lymphozyten mit einer geringen Standardabweichung von 0,26.

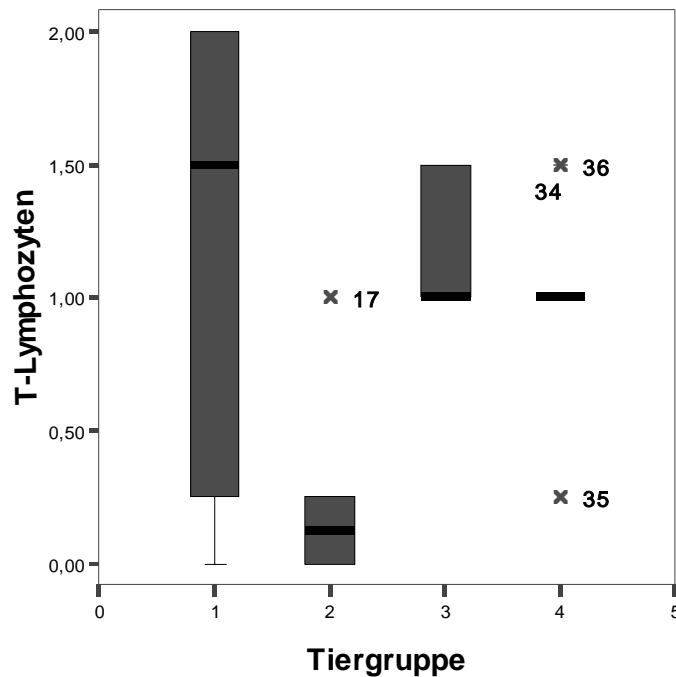


Abbildung 12: Aktivität der T-Lymphozyten

4.5.2 B-Lymphozyten (Clone MB1)

Die Gruppe 1 weist im Mittel eine „positive“ (1,0) bis „positiv, mit Trend zu stark positive Aktivität“ der B-Lymphozyten auf, allerdings wieder mit der größten Standardabweichung (0,53). Gruppe 2 hat im Durchschnitt eine „diskrete Aktivität“ (0,28), Gruppe 3 eine „schwache“ (0,6) und Gruppe 4 eine „positive Aktivität“ (1,0) der B-Lymphozyten. Die Standardabweichung liegt zwischen 0,31-0,53 (Tabelle 10/Abb.10). Auch hier zeigt die Gruppe 1 die größte Streuung. Gruppe 2 und 4 zeigen kaum Streuung, zeichnen sich aber durch Extremwerte aus (Gruppe 2/Tier 9, Gruppe 4/Tier 1,6 und 9).

Tabelle 10: Aktivität der B-Lymphozyten

Tiergruppe	Anzahl der Tiere	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung	Varianz	Median
1	10	0,25	2,00	1,23	0,53	0,28	1,50
2	8	0,00	1,00	0,28	0,31	0,10	0,25
3	10	0,25	1,50	0,60	0,47	0,23	0,25
4	9	0,00	1,50	1,00	0,43	0,19	1,00

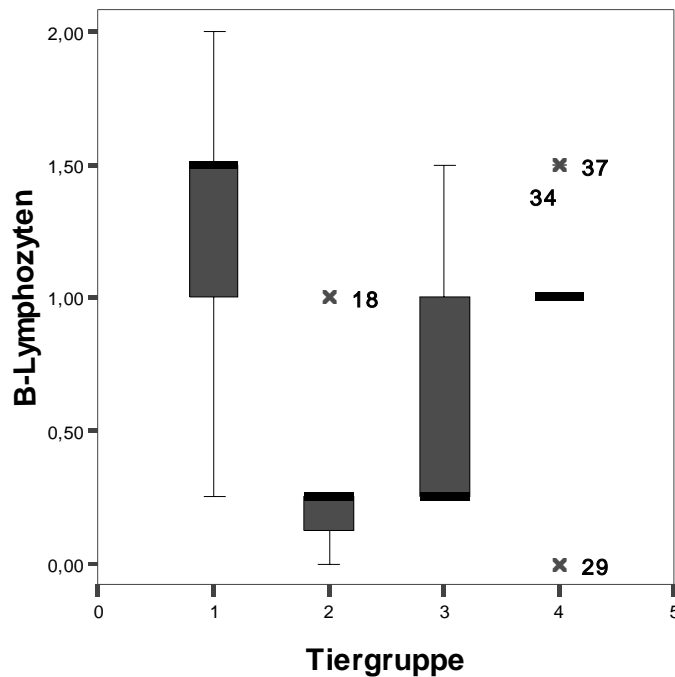


Abbildung 13: Aktivität der B-Lymphozyten

4.5.3 Makrophagen (Clone D11)

Die Makrophagen zeigen in der Gruppe 1 einen Mittelwert von 0,65, das entspricht etwa einer „geringen Aktivität“. Die Gruppen 2 bis 4 haben jeweils eine „diskrete Aktivität“ der Makrophagen, Gruppe 3 zeigt dabei laut Tabelle 11 die größte Standardabweichung mit ca. 0,4 an. In der Abbildung 14 wird aber deutlich, dass die Gruppe 1 die größte Streuung aufweist, während bei den anderen Gruppen Extremwerte für die Standardabweichung verantwortlich sind. In der Gruppe 2 hat nur das Tier 2 eine „positive Aktivität“ der Makrophagen. In der Gruppe 3 zeigen Tier 5 und 10 eine „positive Aktivität“. Die Gruppe 4 hat zwei Tiere (4 und 5) die „keine“ und jeweils ein Tier mit „geringer“ (Tier 2) und mit „positiver“ Makrophagen-Aktivität (Tier 1).

Tabelle 11: Aktivität der Makrophagen

Tiergruppe	Anzahl der Tiere	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung	Varianz	Median
1	10	0,25	1,00	0,65	0,38	0,14	0,75
2	8	0,00	1,00	0,28	0,31	0,10	0,25
3	10	0,00	1,00	0,28	0,40	0,16	0,13
4	9	0,00	1,00	0,31	0,30	0,09	0,25

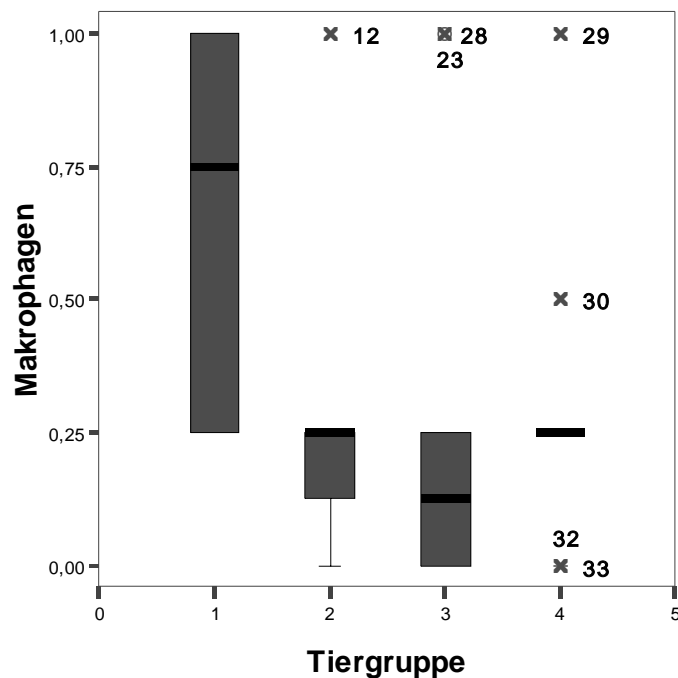


Abbildung 14: Aktivität der Makrophagen

4.5.4 Muskelaktin (Clone 1A4)

Die Tabelle 12 und die Abbildung 15 zeigen, dass in allen Gruppen das Muskelaktin „stark positiv“ aktiv ist. Sämtliche Tiere haben die selbe Aktivität, so dass Standardabweichung und Varianz bei 0 liegen.

Tabelle 12: Aktivität des Muskelaktins

Tiergruppe	Anzahl der Tiere	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung	Varianz	Median
1	10	2,00	2,00	2,00	0,00	0,00	2,00
2	8	2,00	2,00	2,00	0,00	0,00	2,00
3	10	2,00	2,00	2,00	0,00	0,00	2,00
4	9	2,00	2,00	2,00	0,00	0,00	2,00

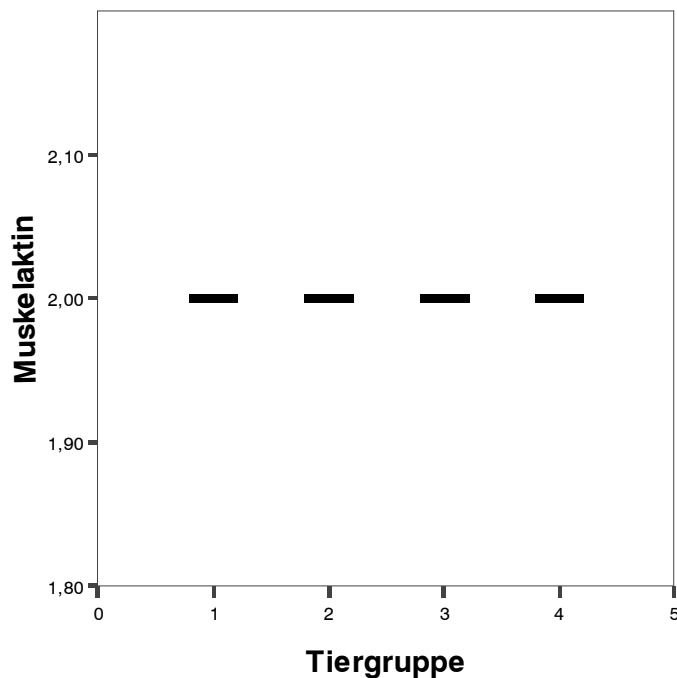


Abbildung 15: Aktivität des Muskelaktins

4.5.5 Rattenspezifische Makrophagen (Clone ED1)

Die Gruppen zeigen im Mittel eine „diskrete Aktivität“ der rattenspezifischen Makrophagen, weisen aber ein paar Extremwerte auf. In der Gruppe 1 zeigt Tier 1 eine „positive“, Tier 8 eine „positive mit Trend zu stark positive Aktivität“ der Makrophagen. Die Gruppe 2 und 3 haben jeweils ein Tier (Tier 1 und Tier 2), das eine „positive mit Trend zu stark positive Aktivität“ haben. Tier 3 der Gruppe 4 hat als einziges eine „stark positive Aktivität“ der Makrophagen.

Tabelle 13: Aktivität der Makrophagen (rattenspezifisch)

Tiergruppe	Anzahl der Tiere	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung	Varianz	Median
1	10	0,00	1,50	0,43	0,47	0,22	0,25
2	8	0,00	1,50	0,31	0,51	0,26	0,13
3	10	0,00	1,50	0,23	0,48	0,23	0,00
4	9	0,00	2,00	0,31	0,65	0,42	0,00

In der Abbildung 16 wird noch deutlicher, dass die Streuung innerhalb der Gruppen gering ist, und nur die Extremwerte die Varianz verantworten.

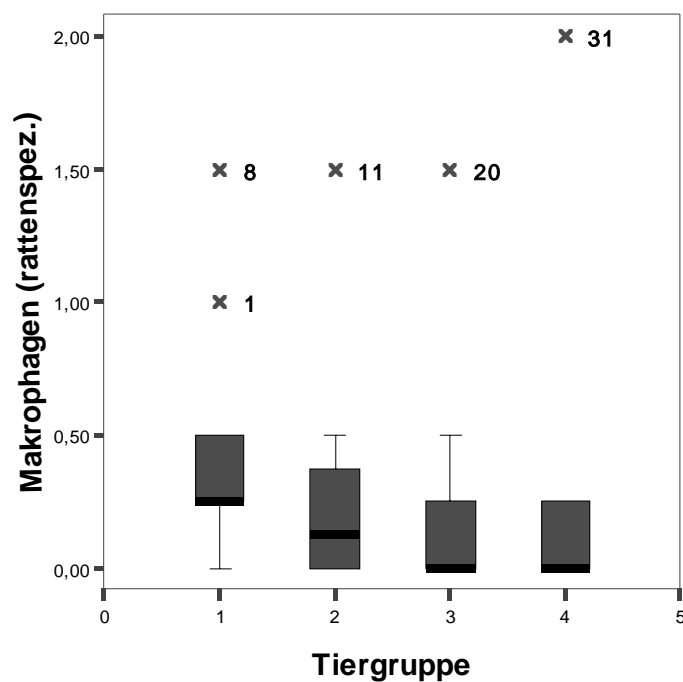


Abbildung 16: Aktivität der Makrophagen (rattenspezifisch)