Aus der Klinik für Innere Medizin / Kardiologie des Deutschen Herzzentrums Berlin Stiftung des Bürgerlichen Rechts

DISSERTATION

Verlaufsbeobachtung einer Cholesterin-senkenden Therapie im Maus ApoE^(-/-) KO Atherosklerosemodell: Korrelation zwischen Hochfeld MRT (7 TESLA) und Histologie

> Zur Erlangung des akademischen Grades Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Pia Patrizia Weyers aus Berlin

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. P. Stawowy

2. Priv.-Doz. Dr. med. I. Paetsch

3. Priv.-Doz. Dr. med. A. Wunder

Datum der Promotion: 09.09.2011

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung				
	1.1.	atomie und Physiologie der Arterien			
1.2. 1.2. 1.2.		Pathogenese der Atherosklerose			
		I. Die Response-To-Injury-Theorie			
		2. Die vulnerable Plaque	4		
	1.3.	Atherosklerosemodell: ApoE ^(-/-) <i>Knock-out</i> (KO) Mäuse	5		
	1.4.	Magnetresonanztomographie (MRT)	6		
	1.4.	I. Physikalische Grundlagen	6		
2.	Frag	estellung und Ziele	10		
3.	Mat	erial und Methoden	11		
	3.1.	Versuchstiere	11		
	3.2.	Behandlung und Futter der Tiere	11		
	32	Ezetimib Intervention	12		
	3.2.2	2. MRT Untersuchung der Tiere			
	3.2.3	3. Stabilität des MRT-Messverfahrens	14		
	3.2.4	4. Quantitative Auswertung der Signalintensitäten der MRT-Bilder	14		
	3.2.5	5. Tötung und Organexplantation	15		
	3.3.	Sudan III-Färbung			
	3.3.	1. Protokoll der Sudan III-Färbung	16		
	3.3.2	2. Flächenbestimmung Sudan III mit Hilfe der Schwellenwertbestimmung			
	3.4.	Histologie	17		
	3.4.	I. Histologische Färbeprotokolle	18		
	3.5.	Makrophagen Immunhistologie	20		
	3.6.	Zuordnung der MRT-Bilder zu den histologischen Präparaten			
3.7. Planimetrierung3.8. Ermittlung der Wanddicken und der Wandflächen aus den MRT- und Histologie-H		Planimetrierung	22		
		Ermittlung der Wanddicken und der Wandflächen aus den MRT- und Histologie-Bildern			
	3.9.	Verwendete graphische und statistische Auswertung, Datenanalyse			
	3.10.	Flussdiagramm			
4.	Erge	bnisse			
	4.1.	Stabilität des MRT-Messverfahrens			
	4.2.	Ergebnisse der in vivo Versuche an ApoE ^(-/-) (KO) Mäuse im MRT			

4.3.	8 N	Ionate West-Diät mit Ezetimib (Gruppe 1)	28
4.3	3.1.	Auswertung der Aortenwurzelflächen	28
4.3.2.		Auswertung der Lumenflächen	29
4.3.3.		Auswertung der Plaqueflächen	30
4.4.	4 N	Ionate West-Diät und nach 4 Monaten Zugabe von Ezetimib (Gruppe 2)	30
4.4.1. 4.4.2.		Auswertung der Aortenwurzelflächen	30
		Auswertung der Lumenflächen	
4.4	4.3.	Auswertung der Plaqueflächen	32
4.5.	8 N	Ionate West-Diät (Gruppe 3)	33
4.5	5.1.	Auswertung der Aortenwurzelflächen	33
4.5	5.2.	Auswertung der Lumenflächen	34
4.5	5.3.	Auswertung der Plaqueflächen	34
4.6.	Sag	gittale Messung – 8 Monate West-Diät mit Ezetimib (Gruppe 1)	36
4.6	5.1.	Auswertung der Aortenbogenflächen	36
4.6	5.2.	Auswertung der Lumenflächen	36
4.6	5.3.	Auswertung der Plaqueflächen	37
4.7.	Sag	tittale Messung – 4 Monate West-Diät und nach 4 Monaten Zugabe von Ezetimib (Gruppe 2)	38
4.7	7.1.	Auswertung der Aortenbogenflächen	38
4.7	7.2.	Auswertung der Lumenflächen	39
4.7	7.3.	Auswertung der Plaqueflächen	39
4.8.	Sag	tittale Messung – 8 Monate West-Diät (Gruppe 3)	40
4.8	8.1.	Auswertung der Aortenbogenflächen	40
4.8	3.2.	Auswertung der Lumenflächen	41
4.8	8.3.	Auswertung der Plaqueflächen	42
4.9.	Au	swertung der drei Gruppen untereinander nach 4 Monaten	43
4.9	9.1.	Ergebnisse der Aortenwurzelflächen der drei Gruppen	43
4.9	9.2.	Ergebnisse der Lumenflächen der drei Gruppen	43
4.9	9.3.	Ergebnisse der Plaqueflächen der drei Gruppen	44
4.10.	Au	swertung der drei Gruppen untereinander nach 6 Monaten	45
4.1	0.1.	Ergebnisse der Aortenwurzelflächen der drei Gruppen	45
4.1	0.2.	Ergebnisse der Lumenflächen der drei Gruppen	46
4.1	0.3.	Ergebnisse der Plaqueflächen der drei Gruppen	47
4.11.	Au	swertung der drei Gruppen untereinander nach 8 Monaten	48
4.1	1.1.	Ergebnisse der Aortenwurzelflächen der drei Gruppen	48
4.1	1.2.	Ergebnisse der Lumenflächen der drei Gruppen	49
4.11.3.		Ergebnisse der Plaqueflächen der drei Gruppen	49

	4.12.	Sag	gittale Messung – Auswertung der drei Gruppen untereinander nach 4 Monaten	
	4.12	2.1.	Ergebnisse der Aortenbogenflächen der drei Gruppen	
	4.12	2.2.	Ergebnisse der Lumenflächen der drei Gruppen	
	4.12	2.3.	Ergebnisse der Plaqueflächen der drei Gruppen	52
	4.13.	Sag	gittale Messung – Auswertung der drei Gruppen untereinander nach 6 Monaten	53
	4.13	5.1.	Ergebnisse der Aortenbogenflächen der drei Gruppen	53
	4.13	5.2.	Ergebnisse der Lumenflächen der drei Gruppen	
	4.13	5.3.	Ergebnisse der Plaqueflächen der drei Gruppen	
	4.14.	Sag	gittale Messung – Auswertung der drei Gruppen untereinander nach 8 Monaten	55
	4.14	l.1.	Ergebnisse der Aortenbogenflächen der drei Gruppen	55
	4.14	.2.	Ergebnisse der Lumenflächen der drei Gruppen	
	4.14	.3.	Ergebnisse der Plaqueflächen der drei Gruppen	57
5.	Hist	olog	ie	59
	5.1.	Sur	ndan III-Färbung der einzelnen Gruppen	59
	5.2.	His	tologische Auswertungen	60
	5.2.	1.	Darstellung der histologischen Ergebnisse der Aortenwurzelflächen	60
	5.2.2	2.	Darstellung der histologischen Ergebnisse der Lumenflächen	61
	5.2.3	3.	Darstellung der histologischen Ergebnisse der Plaqueflächen	
	5.3.	Imi	nunhistochemie, Makrophagen Auswertungen	
	5.4.	Ge	genüberstellung der MRT Auswertungen und der Histologie Auswertungen	64
	5.5.	Ko	ntrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR)	
	5.5.	1.	Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei Gruppe 1	
	5.5.2	2.	Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei Gruppe 2	
	5.5.3	3.	Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei Gruppe 3	
	5.5.4	4.	Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei 4 Monaten	
	5.5.	5.	Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei 6 Monaten	
	5.5.0	6.	Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei 8 Monaten	
	5.6.	Sag	gittale Messung – Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR)	
	5.6.	1.	Sagittale Messung – Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei Gruppe 1	
	5.6.2	2.	Sagittale Messung – Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei Gruppe 2	77
	5.6.	3.	Sagittale Messung – Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei Gruppe 3	77
	5.6.4	4.	Sagittale Messung – Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei 4 Monaten	
	5.6.	5.	Sagittale Messung – Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei 6 Monaten	
	5.6.0	6.	Sagittale Messung – Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis bei 8 Monaten	
	5.7.	Tał	bellarische Übersicht der gesamten Messergebnisse	80

6.	Diskussie	on	81
6	5.1. Stał	pilität des MRT-Systems	81
	6.1.1.	Die ApoE ^(-/-) KO Maus als Atherosklerosemodell	82
	6.1.2.	Monitoring der Atherosklerose mit Hilfe des 7 Tesla MRT im ApoE ^(-/-) KO Modell	83
6.1.3.		Sudan III-Färbung	86
	6.1.4.	Analyse der Inflammation mittels Makrophagen Färbung	
	6.1.5.	Auswertung der histologischen Ergebnisse	
	6.1.6.	Korrelation der MRT- und histologischen Ergebnisse	88
7.	Zusamme	enfassung	
8.	Literaturverzeichnis		

AEC	3-Amino-9-Ethylcarbazol		
АНА	American Heart Association		
ApoE	Apolipoprotein E		
CCD	Charge-coupled Device		
CNR	Contrast to noise ratio		
Cardio	Kardiologie		
СТ	Computertomograph		
3D	3 dimensional		
DNS	Desoxyribonukleinsäure		
DTPA	Diäthylentriaminpentaessigsäure		
EKG	Elektrokardiogramm		
EZE	Ezetimib (Ezetrol [®])		
FOV	Field of view (Gesichtsfeld)		
Gd-DTPA	Gadolinium-DTPA (Gadodiamid®)		
HE	Hämatoxylin-Eosin		
Н	Wasserstoffkern		
HDL	High Density Lipoprotein		
i.v.	intravenös		
IVUS	intravaskulärer Ultraschall		
HK koronare Herzerkrank			
КО	Knock-out		
LDL	Low Density Lipoprotein		
AMP Matrix Metalloprotein			
MRT Magnetresonanztomogra			
MW Mittel			
n	Anzahl		
NO	Sickstoffmonoxid		
oxLDL	oxidiertes LDL		
p	Signifikanzwert		
LOX-1	oxLDL-Rezeptor 1		
BS Pufferlösu			
OI Region of Intere			
SD	Standardabweichung		
T-Lymphozyten	Thymus Lymphozyten		
TE	Time to echo (Echozeit)		
TR	Time to repeat (Repetitionszeit)		
VLDL	Very Low Density Lipoprotein		
WHO	World Health Organisation		

1. EINLEITUNG

In vielen hochindustriellen Ländern einschließlich Deutschland sind die Herz-Kreislauferkrankungen, insbesondere die Atherosklerose und deren Folgeerkrankungen wie die koronare Herzkrankheit und Myokardinfarkt, als auch Apoplex und periphere arterielle Verschlusskrankheit von großer Bedeutung. Die Atherosklerose ist die häufigste zum Tode führende Erkrankung in den westlichen Industriestaaten, laut einer Statistik der *American Heart Association (AHA)* 2010 [Lloyd-Jones et al., 2009]. Die Bedeutung der koronaren Herzkrankheiten steigt derzeit, nicht zuletzt durch mangelnde körperliche Bewegung, Nikotinabusus sowie unausgewogener, hyperkalorischer Ernährung und den damit verbundenen Erkrankungen, wie Diabetes mellitus (Typ 2) und Dyslipoproteinämie, stark an. Ausprägungen der Atherosklerose können je nach Organmanifestation sein: Angina pectoris und Herzinfarkt, Niereninsuffizienz, neurologische Defizite und die peripheren arteriellen Verschlusskrankheiten. Somit senkt die Atherosklerose nicht nur die Lebensqualität der Patienten, sondern trägt auch entscheidend zur Mortalität bei [Lloyd-Jones et al., 2009]. Aufgrund der veränderten Lebensbedingungen und Essgewohnheiten, vor allem in den Schwellenländern, werden atherosklerotische Gefäßerkrankung bis zum Jahre 2020 weltweit die Haupttodesursache darstellen [Murray et al., 1997].

Bei der atherosklerotischen Gefäßerkrankung kommt es zu einer entzündlichen Reaktion in der Gefäßwand. Daraus resultieren fibrotische Umbauvorgänge, die zum Elastizitätsverlust und zur Lumeneinengung der Gefäße führen. Oft kommt es erst nach jahrzehntelanger symptomfreier Entwicklung der Atherosklerose zur klinischen Manifestation, typischerweise als Angina pectoris.

Aus Untersuchungen ist bekannt, dass die Zusammensetzung der atherosklerotischen Plaque hier eine entscheidende Rolle spielt. Neuere pathophysiologische Untersuchungen beschäftigen sich mit der Erkennung und dem Verstehen der Zusammensetzung dieser rupturgefährdeten Läsionen ("vulnerable Plaque"), welche ein erhöhtes Risiko für thrombotische Prozesse und damit den Herzinfarkt besitzen [Casscells et al., 2003].

Die Plaquezusammensetzung ist, eher als der Grad der Gefäßeinengung, ein entscheidender Faktor für das Risiko der Plaqueruptur und Thrombose. Deshalb ist ein bildgebendes Verfahren, welches atherosklerotische Veränderungen erkennt, zum besseren Verständnis der Krankheitsentstehung [Fuster et al., 2003] und Risikoeinschätzung für die Patienten notwendig [Fayad et al., 2002].

Hierfür eignet sich die Magnetresonanztomographie (MRT). Die MRT bietet die Möglichkeit anatomische Strukturen und frühe Veränderungen der Arterienwand zu detektieren. Die Fähigkeit der Magnetresonanztomographie arteriosklerotische Läsionen zu erkennen und zu beschreiben, wurde bereits in Tier- [Helft et al., 2001] und ausgewählten Patientenuntersuchungen gezeigt [Fayad et al., 2000, Saam et al., 2005]. Zum besseren Verständnis der Entstehung der atherosklerotischen Plaque wird im folgenden Kapitel zunächst die Anatomie und die Physiologie von Arterien beschrieben.

1.1. ANATOMIE UND PHYSIOLOGIE DER ARTERIEN

Die arterielle Gefäßwand weist mikroskopisch betrachtet eine Dreischichtung auf, deren morphologischer Aufbau von innen nach außen aus Tunica interna (Intima, Endothel und Elastica interna), Tunica media (Media, glatte Muskulatur mit Bindegewebe, kollagenen und elastischen Fasern) und Tunica externa (Adventitia, lockeres Bindegewebe) besteht. Die Tunica interna wird durch eine einzellige Schicht an Endothelzellen vom Blut und durch die *Membrana elastica interna* von der anschließenden Media abgegrenzt [Libby, 1998]. In der *Lamina propria intima* sind in der extrazellulären Matrix glatte Muskelzellen eingebettet. Die Intima agiert im Rahmen des Stoff-, des Flüssigkeits- und des Gasaustausches als Permeabilitätsbarriere, die den Substanzaustauch an der Arterienwand steuert. Die Tunica media enthält ringförmig verlaufende Lagen glatter Muskelzellen, die von kollagen- und elastinreicher extrazellulärer Matrix umgeben sind [Moll et al., 1995; Libby, 1998].

Die folgende Abbildung zeigt schematisch den Aufbau einer Arterienwand.



Abbildung 1: Querschnitt einer Arterienwand [entnommen aus: Sobotta, Hammersen: Histologie. München: Urban & Schwarzenberg, 1985].

Hauptaufgabe der Media ist es den Blutfluss, durch die vegetative Innervation ihrer Muskelschichten, zu regulieren. Sie kontrolliert somit die Gefäßweite der Arterien und damit die Zirkulation des Blutes (Blutdruck). Die Tunica externa wird durch die *Membrana elastica externa* von der anschließenden Media abgegrenzt [Moll et al.; 1995]. Die Adventitia verbindet das Gefäß locker mit der Umgebung [Leonhardt, 1990; Moll et al., 1995]. Sie versorgt die Gefäße von außen und besteht aus extrazellulärer Matrix. In der Adventitia verlaufen kleine Blut- und Lymphgefäße und einzelne Nervenzellen.

1.2. PATHOGENESE DER ATHEROSKLEROSE

Atherom (griechisch): Gefäßwandschwellung durch Ansammlung breiartigen Fettmaterials; Sklerose (griechisch): Kollagenfaservermehrung.

Die *World Health Organisation* (WHO) definiert Atherosklerose als variable Kombination von Veränderungen der Arterienintima mit herdförmiger Ansammlung von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, fibrösem Gewebe und Kalziumablagerungen mit Veränderungen der Media in großen und mittleren elastischen und muskulären Arterien.

1.2.1. DIE RESPONSE-TO-INJURY-THEORIE

Während man früher von einer reinen vaskulären Lipidspeicherkrankheit ausging, hat sich das Verständnis der Pathophysiologie der Atherosklerose während der letzten zehn Jahre erheblich verändert.

Heute basiert unser pathophysiologisches Konzept auf der sogenannten *Response-to-injury*-Theorie [Ross 1986]. Diese besagt, dass ursächlich eine Schädigung der Endothelzellen der Gefäßwand erfolgt und als Reaktion eine Entzündung des Gefäßes entsteht. Mediatoren der Gefäßwandschädigung sind z.B. *Low-Density-Lipoprotein* (LDL), Nikotinabusus oder arterielle Hypertonie und Angiotensin II [Gaziano et al., 2010].

Beteiligt an dieser komplexen Pathophysiologie sind unterschiedliche Zelltypen, wie Endothelzellen, glatte Gefäßmuskelzellen, Thrombozyten und mononukläre inflammatorische Zellen.

Initiales Ereignis ist, dass sich LDL-Cholesterin in der Gefäßwand (entsprechend einem Konzentrationsgradienten) ablagert. Dort wird das LDL-Cholesterin von Makrophagen phagozytiert. Dies erfolgt über den sogenannten "scavanger receptor" (CD36), der im Gegensatz zum LDL-Rezeptor nicht durch ein hohes intrazelluläres Cholesterin herunter reguliert wird. Dies führt somit zum ungehinderten Aufnehmen von Cholesterin in den Makrophagen, welche dann als Schaumzellen (foam cells) imponieren [Osterud et al., 2003].

Mögliche atheroprotektive Faktoren sind in diesem Zusammenhang:

- Endogene antioxidative Enzyme (Superoxid-Dismutasen, Gluthadion-Peroxidasen, Kathalasen).
- Antioxidative Vitamine, wie Vitamin C, E oder Karotinoide.
- als auch natürliche Antioxidantien, wie Flavonoide (Polyphenole), die in pflanzlichen Nahrungsmitteln vorkommen oder z.B. Tannine, die im Rotwein enthalten sind.

Parallel kommt es aufgrund der genannten Faktoren zu einer Fehlfunktionen der Endothelzellschicht. In den Endothelzellen wird Stickstoffmonoxid (NO) gebildet. NO hemmt die Leukozytenmigration, die Thrombozytenadhäsion und die Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen [Gauthier et al., 1995; de Graaf et

al., 1992; Cornwell et al.; 1994]. NO wird durch die freien Radikale, die während der Entzündung entstehen, inaktiviert. Das NO bildende Enzym, die NO-Synthetase, ist aufgrund der direkten Endothelschädigung weniger aktiv bzw. es wird weniger gebildet. Eine wesentliche Rolle in der Reduktion des NO spielt dabei das oxLDL und der oxLDL-Rezeptor 1 (LOX-1) [Cominacini et al., 2001].

Mediatoren wie Wachstumsfaktoren führen parallel dazu, dass Monozyten angelockt werden. Diese wandeln sich nach Eintritt in die Gefäßwand zu Makrophagen um, was sie befähigt an der chronischen Entzündungsreaktion in der Atherosklerose teilzunehmen und dies auch weiter zu unterhalten. Diese initiale atherosklerotische Läsion, gekennzeichnet durch die Cholesterin-beladenen Schaumzellen wird auch *fatty streaks* genannt. Die Schaumzellen produzieren zahlreiche Wachstumsfaktoren (z.B. platelet-derived growth factor, PDGF) und Entzündungsmediatoren (z.B. Interleukine) was dazu führt, dass weitere Entzündungszellen, als auch glatte Gefäßmuskelzellen in die Gefäßläsionen einwandern.

Diese glatten Muskelzellen, welche in die Intima einwandern, sind die Hauptproduzenten der extrazellulären Matrix. Sie tragen entscheidend zum Wachstum der Läsion bei. Zunächst entsteht eine stabile, jedoch für das Gefäßlumen eine stenosierende, atherosklerotische Läsion. Somit verringert sich durch den sogenannten Glagov-Effekt der innere Gefäßdurchmesser bei menschlichen Koronargefäßen allerdings nachdem > 40% des Umfanges pathologisch verändert sind. Bis dahin kann der Plaquezuwachs durch eine Dilatation kompensiert werden [Glagov et al.; 1987]. Hiernach kommt es in der Regel zur typischen Symptomatik, der Angina pectoris.

1.2.2. DIE VULNERABLE PLAQUE

Eine dünne fibröse Kappe und ein großer lipidreicher Kern (Atherom) kennzeichnen die "vulnerable Plaque" [Fuster V, 2003]. Naghavi et al., (2003) definieren in einem Übersichtsartikel die vulnerable Plaque wie folgt: "Alle Arten atherosklerotischer Plaques mit hoher Wahrscheinlichkeit thrombotischer Komplikationen und schnellen Wachstums werden als vulnerable Plaque beschrieben". Durch das Wachstum des Lipidkerns kommt es zu einer zunehmenden Instabilität der Plaque. Der Anteil freien Cholesterins ist in rupturierten Läsionen signifikant erhöht [Felton et al., 1997].

Eine entscheidende Bedeutung haben aber die mononuklären inflammatorischen Zellen in der Pathophysiologie der vulnerablen Plaque. Diese Zelltypen bilden eine Reihe von proteolytischen Enzymen, von denen Matrix Metalloproteasen (MMPs) die Bedeutendsten sind, da sie die extrazellulären Matrixproteine abbauen können [Galis et al., 1994]. Durch den Schwund der festigenden Strukturen wird der Plaque vulnerabel. Faktoren, wie hämodynamischer Stress, begünstigen die Ruptur der Plaquekappe. Durch die Exposition von Matrixbestandteilen wie Kollagene zum Blutstrom, lagern sich Thrombozyten an und aktivieren die Gerinnungskaskade. Der entstehende Thrombus führt zum Gefäßverschluss und damit zum Myokardinfarkt. Die Plaqueruptur ist bei über 70% der Fälle die Ursache für einen Herzinfarkt [Davies et al., 2007]. Übereinstimmend haben klinische Studien gezeigt, dass die MMP-2 und MMP-9 im Plasmaspiegel bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom/Myokardinfarkt erhöht sind [Kai et al., 1998].

1.3. ATHEROSKLEROSEMODELL: APOE^(./.) KNOCK-OUT (KO) MÄUSE

Um neue diagnostische Methoden zu testen, bedarf es an Modellen, welche die komplexe Pathogenese der Atherosklerose, die Entstehung bis hin zur Manifestation, abbilden. Aus ethischen Gründen, kann man dies nicht am Menschen durchführen und hat zu diesem Zweck einen genetisch veränderten Maustyp entwickelt. Aus einem Mäusestamm (C57 *Black/*6), der schon von sich aus zur Atherosklerose neigt, ist mit Hilfe eines genetischen Verfahrens die Erbinformation für das Apolipoprotein ApoE^(-/-) "ausgeknockt" worden [Piedrahita et al., 1992]. Danach lässt sich durch Auszucht eine homozygote Linie züchten, die diesen Defekt stabil an weitere Generationen weitergibt.

Das Apolipoprotein E, spielt eine bedeutende Rolle im Fettstoffwechsel. Es ist ein Bestandteil vom *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) und dem *High Density Lipoprotein* (HDL), die am Cholesterintransport zwischen den Zellen beteiligt sind. ApoE fungiert dabei als Bindungsmolekül für den LDL-Rezeptor.

Der LDL Rezeptor ermöglicht, dass diese Lipoprotein-Partikel, die mit Triglyzeriden, Cholesterin, Phospholipiden und verschiedenen Apolipoproteinen beladen sind, in die Zelle aufgenommen werden. ApoE ist zudem Bestandteil der *Remnants*, die aus den entladenen Chylomikronen entstehen.

Diese Reste, die *Remnants*, bestehen aus Fettsäuren und Cholesterin und werden dann ApoE-vermittelt in die Leber aufgenommen. Fehlt nun das ApoE im Organismus, so wie es bei den gezüchteten ApoE^(-/-) KO Mäusen der Fall ist, kommt es zu erheblich erhöhten Cholesterin- und Lipoprotein-Werten im Blut. Dies hat wiederum zur Folge, dass es hier sehr schnell zur Ausbildung atherosklerotischer Läsionen kommt.

Diese Art der Erkrankung gibt es auch bei den Menschen, als vererbbare Typ 3 Hyperlipoproteinämie. Dabei fehlt das ApoE nicht vollständig, sondern ist durch einen Gendefekt derart verändert, dass es nicht an den LDL-Rezeptor binden kann. Es führt zu einem unvollständigen Abbau der Chylomikronenresten und der LDL, so dass deren Plasmakonzentration ansteigt. Die Folge ist hier auch ein massiv erhöhtes Atheroskleroserisiko. In dem Mausmodell werden zur Forcierung der Atherosklerosebildung die Blutfettwerte der Mäuse noch zusätzlich erhöht, indem die Tiere eine hoch cholesterinreiche, sogenannte West-Diät gegeben wird [Nakashima et al., 1994].

In diesem Modell werden die ersten Anzeichen der Atherosklerose ab der dritten bis vierten Woche unter West-Diät in den großen Gefäßen sichtbar. Es beginnt mit Intima-Läsionen und Fetteinlagerungen sowie Schaumzellbildung. Schon ab der sechsten bis zehnten Woche lassen sich "fibrös-fettige" atherosklerotische Läsionen mit definierten fibrösen Kappen erkennen und ab der achten bis fünfzehnten Woche nehmen die Plaque eine komplexe und vielfältig geschichtete Morphologie an [Johnson et al., 2005].

Wenn die Tiere Normalfutter bekommen, bilden sie langsamer stabilere Plaques aus. Durch die West Diät bilden sie schneller entzündlichere makrophagenreiche, lipidreichere Plaques mit Fettlakunen aus.

1.4. MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE (MRT)

Die Magnetresonaztomographie (MRT) erzeugt hochauflösende Schnittbilder des Körpers. Sie benutzt im Gegensatz zu der Computertomographie dabei keine Röntgenstrahlen, sondern lediglich ein starkes Magnetfeld und Hochfrequenzimpulse. Das MRT verwendet die Kerne von Wasserstoffatomen (1H) zur Bildgebung. Eine wesentliche Grundlage für den Bildkontrast stellen die unterschiedlichen Relaxationszeiten, sowie die unterschiedlichen Protonenkonzentrationen der verschiedenen Gewebearten dar.

Es werden dafür die magnetischen Resonanzeigenschaften von Wasserstoffatomen ausgenutzt.

Der Vorteil der MRT aus medizinischer Sicht liegt nicht nur in der hervorragenden Qualität der Weichteildarstellung, sondern auch der Tatsache, dass ohne Umlagerung des Patienten jede beliebige Schichtebene aufgenommen werden kann.

Da bei diesen Versuchen die Mäuse im Gegensatz zum Menschen sehr klein sind, musste das MRT für das Mausmodell bestimmte Anforderungen erfüllen. Es wurde zu diesem Zweck ein PharmaScan[®], 70/16 AS 7 Tesla MRT Scanner (Bruker; Ettlingen; Germany) Software: Paravision 3.0.2, verwendet, um hochauflösende Bilder von den thorakalen Aorten der Mäuse zu bekommen. Deshalb ist es sinnvoll höhere Tesla, Magnetfelder, zu nutzen. Somit befindet man sich mit dem 7 Tesla in einem Bereich, bei dem man eine stabile Bildgebung in vivo erzeugen kann.

1.4.1. PHYSIKALISCHE GRUNDLAGEN

Ein Atom besteht aus einem Kern mit Protonen und Neutronen und den ihn umgebenden Elektronen. Viele Atomkerne besitzen ein magnetisches Moment, sie weisen einen Spin auf. Der Spin ist die Eigenrotation eines Atomkerns um seine eigene Achse. Diese Eigenschaft haben Atomkerne mit einer ungeraden Zahl von Protonen und Neutronen. Der einfachste Atomkern mit Kernspin ist der Wasserstoffkern (H). Für die MRT-Bildgebung ist das Wasserstoffatom von entscheidender Bedeutung, da Wasserstoff sehr häufig im Körper vorkommt und eine hohe Sensitivität in der MRT besitzt. Das Wasserstoffatom ist das am einfachsten aufgebaute Atom und besteht nur aus einem Proton. Man kann aufgrund der bewegten elektrischen Ladungen eines Protons und des resultierenden magnetischen Momentes jedes Proton auch als einen magnetischen Dipol mit Nord- und Südpol betrachten. Im magnetfreien Raum befinden sich die Dipole im ungeordneten Zustand, d.h., dass jeder Magnet beliebig ausgerichtet werden kann. Bringt man diese ungeordneten Magnete in ein statisches, homogenes äußeres Magnetfeld, wie z.B. in einem MRT, dann orientieren sich die magnetischen Dipole entsprechend der magnetischen Feldlinien aus. Die Unordnung wird aufgehoben. Die parallele Ausrichtung wird aus energetischen Gründen bevorzugt. Es hängt von der Stärke des äußeren Magnetfeldes ab, wie viele der Protonen sich im parallelen und im antiparallelen Zustand zum äußeren Magnetfeld befinden. Es stellt sich zwischen ihnen, der Stärke des äußeren Magnetfeldes entsprechend, ein dynamisches Gleichgewicht ein. Die magnetischen Momente der parallel und antiparallel ausgerichteten Protonen heben sich im Verhältnis 1:1 auf. Aus der geringen Anzahl der Protonen, die sich aus energetischen Gründen eher parallel ausrichten, resultiert ein geringes magnetisches Moment, welches man sich in der Magnetresonanztomographie zunutze macht.

Die Protonen drehen sich nicht nur um ihre eigene Achse, sondern sie trudeln um die Spinachse, vergleichbar mit einem Spielkreisel. Das "Trudeln" wird als Präzisionsbewegung bezeichnet und die Frequenz ω_0 , mit der die Protonen präzidieren, als Lamorfrequenz. Die Größe der Lamorfrequenz eines Protons hängt von der Stärke des Magnetfeldes ab, in dem sich das Proton befindet. Je stärker das Magnetfeld ist, desto höher die Frequenz. Versucht man Protonen in einem äußeren Magnetfeld, die sich parallel oder antiparallel ausgerichtet haben, in eine andere Lage oder Orientierung zu bringen, ist das nur mit Hochfrequenz-Impulsen, deren Frequenz der Lamorfrequenz entspricht, möglich. Man bezeichnet die eingestrahlten hochfrequenten Impulsfrequenzen auch als Resonanzfrequenzen.

Die durch Hochfrequenz-Impulse eingestrahlte Energie, wird nach dem Abschalten der Impulse wieder von den Protonen abgegeben. Die Signale werden dann von der Körperspule (erzeugt das äußere Magnetfeld), die dann als Empfangsantenne dient, aufgenommen. Diese aufgenommenen Spannungen, gemessen in Millivolt, werden dann verstärkt, gefiltert und digitalisiert dem MRT-Rechnersystem zugeführt. Dieser kann dann ein MRT-Bild rekonstruieren [Reiser; Semmler, 1992].

Bei der MRT macht man sich zu nutze, dass eine stromdurchflossene Leiterschleife einen magnetischen Dipol bildet. Bringt man einen Organismus in diese stromdurchflossene Spule, richten sich die Protonen, hauptsächlich aber die Wasserstoffprotonen des Organismus, entsprechend der Polarität der Spule aus. Nahezu alle Wasserstoffprotonen des Organismus richten sich parallel oder antiparallel aus. Man bezeichnet dies auch als longitudinale Magnetisierung des Organismus.

Strahlt man einen Hochfrequenz-Impuls von 90° (ein Hochfrequenzimpuls, der die Protonen, die sich im äußeren Magnetfeld parallel oder antiparallel ausgerichtet haben um 90° kippt) in den Organismus ein, werden abhängig vom Ort, an dem der Impuls eingestrahlt wird, und abhängig von der Zeit, wie lange der Hochfrequenz-Impuls auf den Ort wirkt und nach welcher Zeit der Impuls wiederholt wird (TR Repititionszeit), unterschiedlich viele Protonen angeregt und ausgelenkt. Die angeregten Protonen besitzen nun ein höheres Energieniveau. Des Weiteren geraten die angeregten Protonen in Phase, d.h. die nun quer zum äußeren Magnetfeld entstandenen Magnetvektoren addieren sich. Daraus folgt, dass die longitudinale Magnetisierung abnimmt und die Quermagnetisierung zunimmt. Schaltet man die Hochfrequenz-Impulse ab, nimmt die longitudinale Magnetisierung wieder zu und die Quermagnetisierung ab. Das System entspannt sich wieder, es relaxiert.

Die longitudinale Relaxationszeit ist die Zeit, die die longitudinale Magnetisierung braucht, um ihren Ausgangswert zu erreichen. Sie ist eine Zeitkonstante, wie schnell die Relaxation abläuft. Diese Zeit wird als T1-Zeit bezeichnet [Schild, 1990; Reiser; Semmler, 1992].

Nach dem Abschalten der Hochfrequenz-Impulse geraten die Protonen wieder außer Phase, und die magnetischen Momente heben sich gegenseitig wieder auf. Somit nimmt die transversale Magnetisierung ab. Die Zeitkonstante für die Abnahme der Transversal-Magnetisierung wird als T2-Zeit bezeichnet.

Die Relaxationszeiten T1 und T2 sind voneinander vollkommen unabhängig und laufen gleichzeitig ab, sie werden durch die Wechselwirkung der Protonen untereinander und von ihrer Umgebung bestimmt.

Jedes Proton wird durch das Magnetfeld der benachbarten Protonen beeinflusst. Diese Beeinflussung durch die benachbarten Protonen ist nicht gleich verteilt und es ergeben sich unterschiedliche Präzisionsfrequenzen. Auch das äußere Magnetfeld ist nicht völlig homogen, sondern variiert leicht in seiner Stärke, woraus sich ebenfalls unterschiedliche Präzisionsfrequenzen ergeben. Aufgrund dessen resultieren unterschiedliche Relaxationszeiten für T1 und T2 und führen zu verschiedenen Signalintensitäten. Diese werden dann als abgestufte Grautöne mit der Fourier-Transformation als digitales Bild dargestellt, dadurch erreicht man die räumliche Zuordnung. Durch sie entstehen Kontraste zwischen den unterschiedlichen Organen, die sich dann im MRT-Bild voneinander abgrenzen lassen.

Die Bildkontraste können modifiziert werden, je nachdem ob man die Bilder nach der T1- oder T2-Zeit auslesen oder rekonstruieren läßt.

Die Repetitionszeit TR (<u>time to repeat</u>) beeinflusst entscheidend den T1-Kontrast, denn sie bestimmt, wie lange die Spins Zeit haben, sich von der letzten Anregung zu "erholen". Wird die Repetitionszeit kurz gewählt (unter ca. 600 ms), so beeinflusst T1 wesentlich den Bildkontrast. Gewebe mit kurzem T1 relaxieren rasch und geben nach einer erneuten Anregung viel Signal (sie erscheinen also im Bild hell). Gewebe mit langem T1 haben hingegen noch wenig relaxiert und erzeugen deshalb weniger Signal als Gewebe mit kurzem T1 und erscheinen im Bild dunkel. Wird T1 lang gewählt (größer als etwa 1500 ms), so haben alle Gewebe genügend Zeit zu relaxieren, der Bildkontrast ist nur noch gering. Durch die Wahl der Repetitionszeit kann also die T1-Gewichtung ausgesucht werden. Kurzes TR \rightarrow starke T1-Gewichtung, Langes TR \rightarrow geringe T1-Gewichtung. Es kommt auf die Relaxationszeiten der Gewebe an.

So wie die Repetitionszeit (TR) entscheidend den T1 Kontrast beeinflusst, so bestimmt die Echozeit TE (*time to echo*) den Einfluss von T2 auf den Bildkontrast. T2 ist viel kürzer als T1 und liegt im Bereich bis zu einigen hundert Millisekunden. Wird die Echozeit kurz gewählt (weniger als ca. 30 ms), so sind die Signalintensitätsunterschiede noch klein. Entsprechend ist die T2-Gewichtung eines solchen Bildes gering. Wird die Echozeit länger gewählt, also mehr als 60 ms, kommt es zu einer starken T2 Gewichtung. Gewebe mit kurzem T2 geben wenig Signal ab und erscheinen auf dem Bild dunkel, Gewebe mit langem T2 weisen jedoch viel Signal auf und erscheinen im Bild hell.

Um ein MRT Bild zu erhalten, werden Schnittbilder durch den Körper angefertigt. Das beginnt damit, dass man mit dem Anregungspuls nicht den ganzen Körper, sondern gezielt nur die Schicht erfasst, die man untersuchen will. Das Magnetfeld des MR-Tomographen verläuft entlang der zu untersuchenden Person. Diese Richtung wird als Z-Richtung bezeichnet. Die Z-Richtung ist immer die Richtung des Magnetfeldes. Um selektiv eine Schicht anzuregen, wird deshalb das Magnetfeld entlang der Z-Richtung inhomogen gemacht. Dazu dient eine zusätzliche Magnetspule, die das Magnetfeld am Kopfende des Tomographen etwas verstärkt, am Fußende etwas abschwächt. Anstatt homogen zu sein, besitzt das Magnetfeld einen Gradienten, einen Anstieg entlang der Z-Richtung. Das heißt aber, dass jetzt auch die Lamorfrequenz der Spins am Kopfende höher ist als am Fußende. Es ergibt sich eine fließende Änderung der Lamorfrequenz entlang der Z-Richtung, und jede Schicht besitzt nun eine eigene Frequenz (Schichtselektionsgradient). So kann man mit einer bestimmten Frequenz genau eine entsprechende Schicht anregen, der Rest des Körpers wird nicht beeinflusst. Die Protonen in den verschiedenen Schichten sind somit vorübergehend unterschiedlich starken Magnetfeldern ausgesetzt und weisen damit auch unterschiedliche Präzessionsfrequenzen auf. Ein zweiter Gradient quer zum ersten wird nach der Erregung kurz eingeschaltet und bewirkt eine kontrollierte Dephasierung der Spins, dass in jeder Bildzeile die Präzession der Spins eine andere Phasenlage hat (Phasengradient). Der dritte Gradient wird während der Messung rechtwinklig zu den beiden anderen geschaltet; er sorgt dafür, dass die Spins jeder Bildspalte eine andere Präzessionsgeschwindigkeit haben, also eine andere Lamorfrequenz senden (Auslesegradient, Frequenzkodiergradient). Alle drei Gradienten zusammen bewirken also eine Kodierung des Signals in drei Raumebenen. Das empfangene Signal gehört zu einer bestimmten Schicht des Körpers und enthält eine Kombination aus Frequenz- und Phasenkodierung, die der Computer mit einer Fourier-Transformation in ein zweidimensionales Bild umrechnen kann [Weishaupt D; Köchli V: Wie funktioniert MRI? Berlin: Springer, 2001].

2. FRAGESTELLUNG UND ZIELE

Das Ziel der Arbeit war es die Entwicklung und Progression der Atherosklerose bei fettgefütterten ApoE^(-/-) KO Mäusen mit dem 7 Tesla MRT zu untersuchen. Hierzu wurden drei unterschiedliche Behandlungsformen von ApoE^(-/-) KO Mäusen – ohne Cholesterin-senkende Intervention, mit Cholesterinsenkender Intervention zu Beginn der Fütterung und Start der Cholesterin-senkenden Intervention nach 4 Monaten Fettfütterung – mit einer Hochfeld MRT 7 Tesla in acht Monaten je dreimal untersucht. Als Referenz wurden parallel immunhistochemische Untersuchungen, inklusive der Untersuchung der inflammatorischen Komponente (Makrophagenfärbung) durchgeführt. Diese histologischen Präparate wurden computergestützt ausgewertet und den ebenso computergestützt ausgewerteten MRT-Bildern gegenübergestellt. So sollte eine mögliche Korrelation zwischen diesen beiden Verfahren untersucht werden. Die Cholesterin-senkende Intervention wurde mit dem Medikament Ezetimib durchgeführt.

Die einzelnen Arbeitsschritte sollten daher umfassen:

- 1. Computergestützte Auswertung der MRT-Bilder der ApoE^(-/-) KO Mäuse von Aortenwurzel und Aortenbogen nach 4, 6 und 8 Monaten.
- 2. Anfertigung der immunhistochemischen Präparate (HE-Färbung, Sudan III-Färbung und MAC-3 Färbung) nach dem achten Monat.
- 3. Histomorphometrische Auswertungen der Präparate.
- 4. Statistische Analysen und Untersuchung, zur möglichen Korrelation zwischen den MRT-Ergebnissen und den histologischen-Ergebnissen.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. VERSUCHSTIERE

Es wurde für die Studie Zuchtursprungstiere von Charles River, München/Deutschland bezogen, bei den Tieren handelt es sich um sogenannte ApoE^(-/-) *Knockout* (KO) Mäuse. Für die gesamte Studie wurden 18 ApoE^(-/-) KO Mäuse eingesetzt. Die Tiere wurden fach- und artgerecht durch entsprechend qualifiziertes Personal im neurowissenschaftlichen Forschungshaus der Charité in Käfigen gehalten (Genehmigung für das Tierversuchsvorhaben Nummer G 0107/05).



Abbildung 2: ApoE^(-/-) Knockout (KO) Mäuse (links), Mäusestamm (C57 Black/6) (rechts).

3.2. BEHANDLUNG UND FUTTER DER TIERE

Aufstellung der Gruppen:

Die Tiere wurden aufgrund ihrer Fütterungsunterschiede in drei Gruppen unterteilt.

Zur besseren Übersichtlichkeit sind die Gruppen nochmal in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Aufstellung der Gruppen: Aufgeführt ist die Fütterungsart mit der jeweiligen Behandlung, die Gruppen, die Tieranzahl und die Fütterungszeit in Tagen sowie die Fütterungszeit in Monaten. Gruppe 1: Western Type Diät mit EZE über 8 Monate; Gruppe 2: 4 Monate Western Type Diät und anschließend 4 Monate Western Type Diät mit EZE; Gruppe 3: über 8 Monate Western Type Diät.

Futterart	Gruppen	Tieranzahl	Sex	FZ Monate
West mit Ezetimib	1	6	М	7,4
4 West + 4 Ezetimib	2	6	М	4,0+4,0
West	3	6	М	7,7

Die erste Gruppe, bestehend aus 6 Mäusen, bekam 8 Monate lang eine fettreiche sogenannten West Diät bestehend aus 21% Fettanteil mit Cholesterin; als Trägersubstanz Schweineschmalz. Das Futter wurde zusätzlich mit Ezetimib in einer Konzentration von 0,005% angereichert (Spezialfutter der Firma Altromin).

Die zweite Gruppe, bestehend aus 6 Mäusen, wurde die ersten 4 Monate mit West Diät und danach 4 Monate West-Diät mit zusätzlichem Ezetimib angereichtem Futter gefüttert.

Die dritte Gruppe, 6 Mäuse, bekam durchgehend 8 Monate nur West Diät, ohne Ezetimib. Wasser und Diät wurden den Tieren ad libitum zur Verfügung gestellt. Das Futter wurde von der Firma Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG (Lage/Deutschland) zusammengestellt und geliefert.

3.2.1. EZETIMIB INTERVENTION

Ezetimib ist ein Arzneistoff, der die Aufnahme von Cholesterin aus dem Darmlumen hemmt. Das Medikament ist seit 2003 in Deutschland zugelassen und wird von der Firma Merck/Schering-Plough Pharmaceuticals unter dem Namen Ezetrol[®] vertrieben. Das Prinzip der Nichtaufnahme des Cholesterins aus dem Darmlumen beruht darauf, dass sich Ezetimib an ein Protein *Niemann-Pick C1 Like 1 Protein* des Bürstensaumes des Dünndarms einlagert und verhindert selektiv die Aufnahme nicht nur des durch die Nahrung aufgenommenen, sondern auch die des endogen synthetisierten, durch den Darm (enterohepatischer Kreislauf) ausgeschiedenen Cholesterins [Altmann et al., 2004]. Ezetimib hat eine relativ lange Halbwertszeit von 22 Stunden, so reicht es aus, dass es beim Menschen nur einmal pro Tag verabreicht wird. Die lange Halbwertszeit lässt sich erklären, dass das Medikament dem enterohepatischen Kreislauf unterliegt, d.h. es wird zum Teil über die Darmschleimhaut aufgenommen und wieder durch die Leber in die Galle abgegeben, so dass es erneut an die Schleimhautoberfläche binden und wirken kann.

Aufgrund der Absorptions- und Resorptionshemmung lassen sich die Blutfettwerte für Cholesterin, VLDL und LDL signifikant senken und für das *High-Density*-Lipoprotein (HDL) steigern. HDL transportiert überschüssiges Cholesterin aus den peripheren Geweben zurück zur Leber, das dort dann über die Galle ausgeschieden wird. Im Rahmen der Versuche wurde eine Interventionsstudie mit dem Medikament Ezetimib (EZE), einem Cholesterinabsorptionshemmer durchgeführt bei dem jeweils über die Hälfte der ApoE^(-/-) KO Mäuse EZE erhielten. Das Medikament (Konzentration 0,005%) soll einen hemmenden Effekt auf die Bildung der Atherosklerose bewirken.

3.2.2. MRT UNTERSUCHUNG DER TIERE

Alle Tiere wurden nach jeweils vier, sechs und acht Monaten in einem 7.0 Tesla Kleintier-Magnetresonanztomograhen (PharmaScan[®] 70/16 7 Tesla MRT Scanner Bruker; Ettlingen/Deutschland) in einer 38 mm Mauskörperspule (Abbildung 4) untersucht.

Die Mäuse wurden in Rückenlage auf einen nichtmagnetischen Silikonpad gelagert.





Abbildung 3: Die Maus ist in eine Beißschiene mit den Vorderzähnen eingehängt und in die Narkosemaske gezogen worden

Abbildung 4: Mauskörperspule für den PharmaScan[®] 7 Tesla

Das Silikonpad ist innen mit zwei Schläuchen verbunden. In dem einen Schlauch dringt strömendes körpertemperaturgesteuertes Wasser in das Silikonpad ein und in dem anderen Schlauch fließt das Wasser wieder aus dem Silikonpad raus, damit bei dem Tier während der Anästhesie normotherme Bedingungen, (circa 37° Celsius) herrschen. Die Anästhesie erfolgte über eine Gasnarkose von Isofluran (1.5 - 2 Vol. %). Zusätzlich wurde das Kontrastmittel Gadolinium-DTPA, 0,03 mmol/kg, (Gd-DTPA, Magnevist Bayer Schering, Berlin/Deutschland) intravenös über die Schwanzvene injiziert. Es wurden TRI-Pilots zur Bildaquisierung mit geringer Auflösung erstellt, um die Lage der Aorta in drei Raumrichtungen (Transversal, sagittal und coronal) zu überprüfen. Danach wurden 3 dimensionale (3D) Turbo-Spin-Echo-Sequenzen (RARE, Faktor 2, Bruker), der Aortenwurzel und des Aortenbogens zwischen den Abgängen erstellt.



Abbildung 5: Exemplarisches MRT Bild der thorakalen Aorta. A stellt den Aortenbogen mit den jeweiligen Abgängen dar und B den Bereich der Klappenebene der Aortenwurzel



Abbildung 6: System: PharmaScan[®] 70/16 AS 7 Tesla MRI Scanner (Bruker; Ettlingen; Germany) Software: Paravision 3.0.2

Die T1-gewichteten Bilder wurden Elektrokardiogramm- (EKG) und Atem-getriggert aufgenommen. Die Zeitverzögerung von 5.3 ms zwischen dem 90 Grad Anregungspuls und dem 180 Grad Refokussierungspuls erlaubt, dass das strömende Blut die Bildebene verlässt, um das Echo auswerten (lesen) zu können, so dass das Blutsignal unterdrückt wird. Der 3-D Block wurde in zehn Schichten a 250 µm mit einer 256 x 256 Matrix bei einem Gesichtsfeld (*field of view*, FOV) von 2,8 mal 2,8 cm² (TR/TE

500/10.6 ms) rekonstruiert. Die räumliche Auflösung in der Ebene beträgt $110 \ \mu\text{m} \ x \ 110 \ \mu\text{m}$. Die gesamte Aufnahmezeit der T1 gewichteten Bilder beträgt getriggert ~ 23 min. Die durch das Kontrastmittel Magnevist[®] entstandenen kontrastreicheren Bilder der Aorta, besonders von der Aortenwurzel und des Aortenbogens waren 3 Minuten nach der Sequenz rekonstruiert. Es wurden 10 MRT-Bilder von der Aortenwurzel und 10 MRT-Bilder von dem Aortenbogen erstellt. Die Region der Aortenwurzel wurde durch die Höhe der Aortenklappen identifiziert. Die zweite Region war der transversale Abschnitt des Aortenbogens, zwischen dem Truncus brachiocephalicus und der Aorta carotis communis.

Nachdem alle Tiere jeweils dreimal im MRT untersucht worden waren, wurden die Mäuse mit einer Überdosis Isofluran euthanisiert.

3.2.3. STABILITÄT DES MRT-MESSVERFAHRENS

Um die Stabilität des MRT-Messverfahrens zu überprüfen wurden Signale der Luft und des Muskels sowie die dazugehörigen Standardabweichungen in den MRT-Bildern bestimmt.

3.2.4. QUANTITATIVE AUSWERTUNG DER SIGNALINTENSITÄTEN DER MRT-BILDER

Es wurden die Grauwerte, also Intensitäten der einzelnen Regionen gemessen. Als Regionen wurden die zu erwartenden Kontraste genommen, die sich aus der Luft, dem Muskel, der Plaque und der Gefäßwand ergaben. So sind Kontraste zwischen Lumen/Gefäßwand, Lumen/Muskel, Muskel/Luft und Fett/Muskelgewebe zu erwarten. Dazu wurden mehrere gleichgroße (10,4 Pixel; 0,002mm²), kreisförmige Meßfelder (*Region of Interest*, ROI) auf die zu untersuchenden Regionen positioniert und gemessen. Für die Auswertung der Signalintensitäten wurde die Freeware ImageJ Version 1.33u (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA) verwendet. Drei unterschiedliche Messregionen wurden untersucht:

Die Bereiche mit der höchsten Intensität in der Plaqueregion, die Bereiche mit der geringsten Intensität in der Gefäßwand und des Muskels und die Bereiche außerhalb des zu untersuchenden Tieres, die Luft. Diese große ROI, gelegen zwischen dem Bereich außerhalb des Tieres ohne Artefakte, wird als "Rauschen" bezeichnet.

Das Rauschen bezeichnet die Diskrepanz zwischen dem erwarteten und dem gemessenen Wert in einem Bild. In der Praxis wird die Signalintensität eines Bereiches bestimmt, der theoretisch kein Signal abgeben sollte, also sicher außerhalb des zu untersuchenden Organismus liegt.

Alle durch Image J erhaltene Messergebnisse wurden in Microsoft Office Excel 2007 (USA) kopiert.

Es wurde noch das Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis zwischen der Gefäßwand und der pathologisch veränderten Gefäßwand berechnet. Das Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis ist definiert als die Differenz der Signalintensitäten zweier Gewebe dividiert durch die Standartabweichung der Luft, die im Hintergrund gemessen wird. Das Verhältnis wird als *contrast to noise ratio* (CNR) bezeichnet.

Für die Berechnung des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses wird nur der Betrag der Differenz der Signalintensitäten berücksichtigt.

Signalintensität Gewebe 1 (S1) – Signalintensität Gewebe 2 (S2)

CNR =

Standartabweichung von Luft (SD Luft)

(Kaufman; Kramer; Crooks; Ortendahl, 1989; Wolf; Balaban, 1997; Baierl; Seiderer; Heiwang; Rath, 1986)

3.2.5. TÖTUNG UND ORGANEXPLANTATION

Die Tiere wurden mit einer Überdosis Isofluran euthanisiert. Danach wurde die Bauchhöhle mikrochirurgisch eröffnet und mit einer Verweilkanüle die Bauchaorta punktiert, um eine möglichst große Menge an Blut zu entnehmen. Das Blut wurde in heparanisierten Blutserumröhrchen bei 300 U/min zentrifugiert und das Serum zur Verwahrung bis zur weiteren laborchemischen Diagnostik in flüssigem Sickstoff bei unter 77,35 K (= -195,80° Celsius) eingefroren. Zusätzlich wurde der Thorax eröffnet und die Aorta von der Aortenwurzel bis zum Zwerchfell inklusive kurzer Gefäßabschnitte der ersten drei Abgänge, der Truncus brachiocephalicus, der Arteria carotis communis sinistra und der Arteria subclavia sinistra, entnommen.

Die folgenden Abbildungen zeigen die Abpräparationen des Aortenbogens und der ersten drei Abgänge.



Abbildung 7: Darstellung der Abpräparation des Aortenbogens. Pfeil: Aortenwurzel. Die schwarze Umrandung demonstriert an dieser Stelle die atherosklerotische Veränderung.



Abbildung 8: Darstellung der Abpräparation der drei Abgänge: Pfeil 1 = Truncus brachiocephalicus, Pfeil 2 = Arteria carotis communis sinistra, Pfeil 3 = Arteria subclavia sinistra. Schwarze Umrandungen zeigen die atheroskl. Veränderungen.

3.3. SUDAN III-FÄRBUNG

Bei der Sudanfärbung handelt es sich um eine histochemische Methode, welche Fettanreicherungen anfärben kann. Hierbei wurde ein Sudan III-Protokoll, welches unter 3.3.1 aufgeführt ist, (*oil red-Staining*) für die Färbung der Aorten eingesetzt. Die Fettanreicherungen werden dabei rot angefärbt.



Abbildung 9: Sudan III-gefärbte aufgeschnittene Aorta thoracica. Der Pfeil zeigt auf die atherosklerotische Plaque.

Dies kommt besonders in der atherosklerotischen Plaque zum Ausdruck, da sich dort ein großer Anteil an Cholesterin und anderen Fettmolekülen befindet.

Die Menge an eingelagertem Fett korreliert relativ genau mit der Plaquegröße. Somit eignet sich diese Methode zur quantitativen Erfassung der Atherosklerosefläche in Gefäßen [Nunnari et al.; 1989, VanderLaan et al.; 2004].

3.3.1. PROTOKOLL DER SUDAN III-FÄRBUNG

Die thorakale Aorta wurde von der Aortenwurzel bis zum Zwerchfell sorgfältig abpräpariert. Zur Färbung wurde die thorakale Aorta für fünf Sekunden in 50% Ethanol getaucht. Im Anschluss wurde die Aorta dann in einen gut verschließbaren Färbebehälter, der Sudan III (ein lipophiler Farbstoff) enthält, gelegt. Danach wurde sie dreimal ein paar Sekunden in 50% Ethanol eingetaucht, um die Farbreste herauszulösen.

Das Ethanol löst sowohl Fett als auch die Sudan III-Lösung. Die Behandlung erfolgte möglichst kurz, um nicht zu viel Fett bzw. Farbstoff zu lösen.

Mit einer Altra 20 Olympus CCD Farbdigitalkamera mit Zell Software wurde nach der Färbung der fetthaltigen Läsionen der aufgeschnittenen Aortenschnitte, die lumennahe Seite der Aortenbögen, fotographiert.

3.3.2. FLÄCHENBESTIMMUNG SUDAN III MIT HILFE DER SCHWELLENWERT-BESTIMMUNG

Die quantitative Sudan III-Flächenbestimmung erfolgt an der thorakalen Aorta der untersuchten Mäuse. Die Sudan gefärbten Präparate wurden mittels einem OP Mikroskop SZ 40 unter der ALTRA 20 Olympus digitalisiert und anschließend mit dem Programm AnalySIS (Abbildung 10) analysiert. Damit kann man für die jeweiligen Bilder entsprechende Farbschwellenwerte setzen, indem man Sequenzen jeder der einzelnen (technischen) Primärfarben Rot, Grün und Blau (Abbildung 10 Vergrößerung rechts) bestimmt. Diese "Farbregion" wurde dann im Bild angefärbt. Man "mischt" den Farbbereich, welcher der Sudanfärbung (hellgrün bis grüne Farbtöne) entspricht. Die Flächen der markierten Regionen wurden durch eine Analyse-Funktion der Software gemessen und in einer Tabelle dargestellt. Die Daten aus dem AnalySIS-Programm wurden in Microsoft Office Excel 2003 kopiert und dort die Plaqueanteile berechnet. Die markierten Sudanflächen, die über den Farbschwellenwert bestimmt wurden (Abbildung 10) werden dann prozentual zur jeweiligen thorakalen Gefäßfläche ins Verhältnis gesetzt.



Abbildung 10: Darstellung der Auswertungsmaske der AnalySIS Software. Links im Bild ist eine Aufnahme, einer Sudan III gefärbten, aufgeschnittenen Aorta in die Maske geladen. Mit der Funktion "Farbschwellenwerte setzen" (Rechts vergrößert dargestellt) können die Farbbereiche der Sudan III-Färbung bestimmt und so gegenüber der restlichen Gefäßwand abgegrenzt werden. Man erkennt Quantitätskurven der drei technischen Primärfarben: Rot, Grün und Blau. Es kann für jede dieser Farben eine Sequenz ausgewählt werden, so dass in der Summe der drei Farbsequenzen ein bestimmter Farbbereich gemischt und markiert wird, hier der Sudan III positiven Bereiche.

In der entsprechenden Farbschwellenanalyse werden auch die Digitalaufnahmen der immunhistochemischen Färbungen ausgewertet.

3.4. HISTOLOGIE

Die Histologie dient der Beurteilung der Läsionen auf zellulärer Ebene und wird für die Identifikation einzelner Zellen herangezogen. Die bei -80° eingefrorenen Herzen wurden in Tissue Tek (Medite Medizintechnik GmbH, Burgdorf/Deutschland) eingebettet und auf einen Adapter für das Gefrierschnittmikrotom, Kryostat (2800 Frigocut, Reichert-Jung) montiert. Von den Herzbasen wurden fünf bis sechs Mikrometer dicke konsekutive Schnitte angefertigt und dann auf einem Objektträger (*Super Frost Plus*, Fa. Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig/Deutschland) aufgenommen.

Die Gefrierabschnitte wurden 24 Stunden luftgetrocknet und mit 4 Grad kaltem Aceton für 5 Minuten fixiert. Danach wurden sie nativ mikroskopiert und Schnitte mit atherosklerotisch veränderten Regionen für die Hämatoxylin-Eosin (HE) Färbung ausgewählt.



Abbildung 11: Schematische Darstellung des Herzens zur Veranschaulichung der konsekutiven Schnitte von der Aortenwurzel. 1 Aortenwurzel, 2 Plaquefläche, 3 Herz

Die mit dieser am weitesten verbreiteten Färbung [Dobozy et al., 1990] gefärbten Schnitte wurden mikroskopiert und nach verschiedenen Kriterien, z.B. die Plaquegröße, die Vollständigkeit der Gefäßwand und die schneidebedingte Artefakten bewertet.

3.4.1. HISTOLOGISCHE FÄRBEPROTOKOLLE

HÄMATOXYLIN-EOSIN

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung ist eine Standard-Übersichtsfärbung. Sie dient der Unterscheidung verschiedener Gewebestrukturen im mikroskopischen Bild anhand von zwei verschiedenen Einzelfärbungen. Hämatoxylin ist ein natürlicher Farbstoff aus dem Blauholzbaum. Um seine Eigenschaft zu entwickeln, muss er zu Hämalaun (basischer Hämateinlack) aufbereitet werden. Hämalaun ist positiv geladen und bindet sich an die sauren Bestandteile der DNS, deshalb werden die Zellkerne blau gefärbt.

Eosin ist ein synthetischer saurer Farbstoff, der negativ geladen ist. Er bindet sich an die positiven Gewebsbestandteile, wie Eiweiße. Das Zellplasma ist daher rötlich gefärbt. Für die HE-Färbung wurden die tiefgefrorenen Schnitte kurz in destilliertem Wasser gespült, dann zwei Minuten im Hämatoxylin nach Mayer (Dr. K. Hollborn & Söhne, Leipzig) getaucht und zehn Minuten unter lauwarmen Leitungswasser gespült, danach eine Minute in Eosin-Lösung getaucht, worauf wieder mit destilliertem Wasser (Aqua dest.) gespült wurde. Dann wurde das Wasser mit einer aufsteigenden Alkoholreihe, siehe Tabelle 2, entzogen und weitere 2 mal 15 Minuten zum entwachsen in Roticlear (Carl Roth GmbH und Co KG, Karlsruhe) getaucht. Mit Permount (Fisher Scientific, New Jersey, USA), ein konservierender Klebstoff,

werden Deckgläschen (Familie Menzel, Braunschweig) blasenfrei auf die Präparate gebracht und damit dauerhaft versiegelt. Die nachfolgende Abbildung zeigt die HE-Färbung am Beispiel einer Aortenwurzel.



Abbildung 12: Beispielbild eines HE-gefärbten Querschnittes der Aortenwurzel mit atherosklerotischer Läsion. Der Pfeil zeigt auf den Abgang der linken Koronaratterie.

Tabelle 2: Färbeprotokoll der Hämatoxylin-Eosin-Färbung, mit absteigender Alkoholreihe, anschließender Färbung mit Hämatoxylin und Eosin und anschließender aufsteigender Alkoholreihe und Roticlear

2 mal 15 Minuten
4 Minuten
2 Minuten
2 Minuten
1 Minute
2 Minuten
2 Minuten
unter 1 Minute
1 Minute
2 Minuten
4 Minuten
2 mal 15 Minuten

3.5. MAKROPHAGEN IMMUNHISTOLOGIE

Es wurde zur Markierung der Makrophagen und Endothelzellen die 3-Amino-9-Ethylcarbazol (AEC)-Peroxidase Methode verwendet.

Die Grundlage dieser immunhistochemischen Färbemethode beruht auf der indirekten Darstellung von Epitopen (sogenannte *Sandwich*-Methode). Diese Zielmoleküle wurden durch einen Primärantikörper spezifisch gebunden. Als nächstes wurden die angehefteten Antikörper wiederum von weiteren, sog. Sekundärantikörpern erkannt. An den Sekundärantikörpern ist ein Enzym (Peroxidase) gekoppelt, das bei Zugabe eines Substrates einen Farbstoff bildet.



Abbildung 13: Darstellung der AEC (3-Amino-9-Ethylcarbazol)-Peroxidase Methode (entnommen aus Moll, S.: Praxis der Immunhistochemie. Stuttgart: Urban und Fischer, 2000).

Um die Makrophagen (anti-Maus Mac-3 Antikörper, Klon M3/84, Lot F182, Firma Santa Cruz), zu markieren wurden diese fünf Minuten in kaltem Aceton fixiert. Die getrockneten Schnitte wurden dann für zwanzig Minuten Peroxidase-geblockt (50 ml 3% H₂O₂ mit 200 ml Methanol vermischt 0,6% H₂O₂), um die Aktivität der endogen im Gewebe vorhandenen Peroxidase zu hemmen. Zwei Minuten wurde in kaltem Wasser gespült, die Primär-Antikörper in entsprechender Verdünnung (Mac-3 1:50) aufgetragen. Für die Kontrollen wurde nur Verdünnungslösung ohne Antikörper verwendet, je Objektträger 200µl. Die Lösungen wurden nach einer Stunde Einwirkzeit abgegossen und die Schnitte mit Pufferlösung (PBS) dreimal drei Minuten gespült. Jetzt wurden 200µl des Peroxidase-gekoppelten Sekundär-Antikörper *Goat-Anti-Rat* IgG (Lot 60582, Firma Jackson) in der Verdünnung 1:500 für eine Stunde aufgetragen. Dieses wurde wieder abgegossen und dann die Objektträger dreimal drei Minuten mit PBS gespült. Zehn Minuten lang wurde dann das AEC Substrat von Zymed (München) aufgetragen, je Objektträger zwei Tropfen. Das Enzym, die AEC-Peroxidase wandelt den Farbstoff zu einem roten Farbstoff um. Das Substrat wurde dann abgegossen und dreimal drei Minuten mit Aqua dest. gespült. Dies stoppt die Funktion des Enzyms, also die Farbbildung.

Zur Orientierung wurde eine Kernfärbung mit Hämatoxylin für eine Minute durchgeführt. Die Schnitte wurden dann unter indirekt fließendem, lauwarmem Leitungswasser fünf Minuten gewaschen. Zum Schluss wurde noch feucht Kaiser's Glyceringelantine aufgetragen, um mit einem Deckglas einzudeckeln.

Es mußte darauf geachtet werden, dass zwischen den einzelnen Färbeschritten der Immunhistochemie die Präparate nicht austrockneten. Die Schnitte wurden dann mit einem Lichtmikroskop Typ der Serie Olympus BX-61 und der Software AnalySIS[®] (Soft Imaging System GmbH, Münster) mikroskopiert und digitalisiert. Pro Objektträger wurde mindestens ein Schnitt, je nach Qualität der Präparate, in verschiedenen Vergrößerungen abfotographiert, so dass die gesamte Aortenwurzel gut das Bild ausfüllt. Die Flächenbestimmungen wurden mit Hilfe des Programmes AnalySIS durchgeführt. Dabei wurde auch schon die für die Sudan III-Färbungen beschriebene Farbschwellenanalyse angewandt (Kap. 3.3.2).

3.6. ZUORDNUNG DER MRT-BILDER ZU DEN HISTOLOGISCHEN PRÄPARATEN

Mit dem Lichtmikroskop der Serie Olympus BX61 und der Software AnalySIS[®] wurden die histologischen Präparate fotographiert. Diesen Bildern wurden entsprechend die MRT Bilder zugeordnet. Den MRT Aufnahmen nach 8 Monaten Behandlung sind die jeweiligen Querschnitte der Histologie gegenübergestellt worden. Es wurden wie bereits im Kapitel 3.2.2. dargestellt, jeweils 10 MRT-Bilder von der Aortenwurzel rekonstruiert. Aus diesen 10 MRT-Bildern wurde ein Bild der Histologie dem entsprechenden MRT-Bild zugeordnet. Dabei wurde besonders auf charakteristische Merkmale wie Lumenform, Plaquelage und Plaquekontur geachtet.



Abbildung 14: Auswahl eines MRT-Bildsatzes aus 10 MRT-Bildern von der Aortenwurzel und die Zuordnung zu dem entsprechenden histologischen Schnitt.

3.7. PLANIMETRIERUNG

Die morphologische Beurteilung erfolgte unter Bewertung der Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnitte. Die digitalen Bilder der histologischen Schnitte wurden mit der Software Olympus Cell (Hamburg/ Deutschland) ausgewertet. Dazu wurden die Lamina externa der Tunica media, also die Außenflächen der Aortenwurzeln mit einem Freihand-*Tool* umfahren (Region des Interesses (*Region of Interest (ROI)*) und die Flächen vermessen. Man erhält dabei die Umfänge und die Flächen der ROI's, also die Außenfläche des Gefäßes, die Fläche des Lumens und die Plaqueflächen. Sollten zwei oder mehr Plaques sich in einer Schnittebene befinden wurden diese einzeln bestimmt und nachher die Summe der Plaqueflächen dargestellt.

Die MRT-Bilder wurden mit der Software Image J (1.34, Wayne Rasband, *National Institute of Health*, USA) ausgewertet. Dazu wurden die Außenflächen der Gefäßwand, wie in Abbildung 15 D zu sehen ist, mit einem Freihand-*Tool* umfahren und die ROI (*region of interest*) markiert und vermessen. Dabei erhält man die Fläche des Gefäßes. Die Lumenfläche ergibt sich, wenn man ebenfalls mit einem Freihand-*Tool*, wie in Abbildung 15 C demonstriert wird, das Gefäßlumen umfährt. Die Plaquefläche ergibt sich durch manuelle Bestimmung mittels Freihand-*Tool*, siehe Abbildung 15 E. Die Ergebnisse wurden tabellarisch in Office Excel 2007 verwaltet und mittels Power Point (Microsoft 2007) in Graphen veranschaulicht. Die folgende Abbildung zeigt, wie mit einem Freihand-*Tool*, die Flächen markiert wurden.



Abbildung 15: A: Exemplarische MRT Aufnahme eines transversalen Schnittes durch den Mauskörper auf Aortenklappenebene, **B:** Teilvergrößerung der Aortenwurzel aus dem Bild A, **C:** Manuelle Bestimmung des inneren Lumens mittels Freihand-*Tool*, **D:** Manuelle Bestimmung der Gefäßaußenfläche mittels Freihand-*Tool*, **E:** Manuelle Bestimmung der Plaqueflächen mittels Freihand-*Tool*, **F:** Manuelle Bestimmung der Plaqueflächen in einem histologischen Bild mittels Freihand-*Tool*. [Literatur Dietrich et al, 2009].

3.8. ERMITTLUNG DER WANDDICKEN UND DER WANDFLÄCHEN AUS DEN MRT- UND HISTOLOGIE-BILDERN

Zusätzlich wurden die Wanddicke und die Wandfläche der Aortenwurzel der Gruppe 1, 2 und 3 von den MRT- und Histologie-Bildern bestimmt. Die Wanddicke der jeweiligen Gruppen ergibt sich aus der Berechnung:

äußere Fläche (gesamte Aortenwurzel) – Innenfläche (Umfang Lumen)

Wanddicke =

(äußerer Umfang + innerer Umfang) / 2

Die Wandfläche ergibt sich aus der Formel:

Wandfläche = äußere Fläche (gesamte Aortenwurzel) – Innenfläche (Umfang Lumen)

Die Auswertungen der Ergebnisse von den MRT- und Histologie Daten wurden graphisch im Kapitel 5.4. gegenübergestellt.

3.9. VERWENDETE GRAPHISCHE UND STATISTISCHE AUSWERTUNG, DATEN-ANALYSE

Die erhobenen Daten wurden zur einfacheren Verwaltbarkeit in das Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Office Excel 2007 übertragen und von dort in die Statistik Software SPSS[®] Version 17.0 kopiert. Die Daten sind als Mittelwerte +/- Standardabweichungen (SD) angegeben. Statistische Signifikanz bestand bei p < 0.05.

Es wurden Balkendiagramme erstellt und mit dem Mann-Whitney-U-Test die Statistik errechnet. Der Mann-Whitney-U-Test ist ein parameterfreier statistischer Test. Der U-Test ist ein Homogenitätstest. Er dient zur Überprüfung der Signifikanz der Übereinstimmung zweier Gruppen, also ob zwei unabhängige Gruppen zu derselben Grundgesamtheit gehören.

Für die Überprüfung der Stabilität des MRT-Messverfahrens wurden die Messungen der Luft und des Muskels als so genannte Boxplots dargestellt. Es werden sogenannte "Boxen" dargestellt, welche die mittleren 50% der Einzeldaten enthalten. Sie werden also durch das obere und untere Quartil begrenzt, wobei die Länge der Boxen dem Interquartilsabstand entspricht (Abbildung 16). Dieser ist ein Maß der

Streuung der Daten, welches durch die Differenz des oberen und unteren Quartils bestimmt wird. Der waagerechte dicke schwarze Balken entspricht dem Median Wert.

Durch die "*Whiskers*" (Schnurrbärte) werden die außerhalb der Box liegenden Werte dargestellt. Unter dem ersten Quartil (= 25. Perzentile) versteht man den Wert, unter dem genau 25 % der Beobachtungen liegen, bzw. unter dem dritten Quartil (= 75. Perzentile) denjenigen Wert, unter dem genau 75% der Beobachtungen liegen. Werte außerhalb des Schnurrbartes, also zwischen 1,5 und 3 Interquartilsdistanzen werden als Kreise eingezeichnet, Ausreißer darüber als Sterne.



Abbildung 16: Exemplarisches Beispiel eines Boxplots. Die "Boxen" (3) enthalten die mittleren 50% der Einzeldaten, der waagerechte Balken darin entspricht dem Median. Die Whiskers reichen in diesem Beispiel bis zum letzten Wert innerhalb von $1\frac{1}{2}$ Interquartilsdistanzen (2, 4). Werte zwischen $1\frac{1}{2}$ und 3 Interquartilsdistanzen werden als Kreise (1), Werte darüber als Stern (5) dargestellt.

Die Boxplots bieten somit die Möglichkeit, die Signalunterschiede auf einen Blick zu erkennen.

Zur Korrelation der MRT- und histologischen Daten wurden Bland-Altmann Diagramme erstellt. Das Bland-Altmann Diagramm ist eine graphische Darstellungsmethode für den Vergleich zweier unterschiedlicher Messmethoden. Dabei werden in einem Diagramm jeweils die Differenz (d) gegen die Mittelwerte (m) der beiden Messmethoden aufgetragen. Zusätzlich sichtbar sind noch die mittlere Abweichung und die Grenze des Übereinstimmungsintervalls. Dieses Diagramm bietet, im Gegensatz zu einem einfachen Streudiagramm, eine optische Beurteilung, wie hoch die Schwankungsbreite der Daten ist und ob zwei unterschiedliche Messmethoden, hier Planimetrierung MRT und Planimetrierung Histologie, prinzipiell das gleiche misst. Zusätzlich wurde für die Korrelation der MRT- und histologischen Daten noch eine PEARSON Korrelation erstellt. Mit Hilfe der PEARSON Korrelation prüft man den linearen Zusammenhang zweier Messverfahren. Er kann Werte zwischen -1 und +1 annehmen. Ist der Wert Null, besteht keine Korrelation, bei Eins ein vollständig linearer Zusammenhang [Heinze, 2004].

3.10. FLUSSDIAGRAMM



Abbildung 17: Schematische Darstellung des Versuchsablaufes

4. ERGEBNISSE

4.1. STABILITÄT DES MRT-MESSVERFAHRENS

Zur Überprüfung der Stabilität des MRT-Messverfahrens wurde das Hintergrundrauschen, die Luft, und die dazugehörige Standardabweichung bestimmt.

Die Luft stellt hierbei einen Bereich dar, der theoretisch kein Signal abgeben sollte. Luft befindet sich außerhalb des zu untersuchenden Organismus. In Abbildung 18 wird das Signal der Luft und die Streubreite des Hintergrundrauschens aus den numerisch ausgewerteten MRT-Bildern als Boxplots dargestellt. In der Abbildung 18 erkennt man, dass die Streubreite des Hintergrundrauschens (Luft) und die dazugehörige Standardabweichung nur eine geringe Streubreite der Daten zeigt. Es ergibt sich ein Mittelwert \pm Standardabweichung von 33,7×10⁶ \pm 2,3×10⁶. In der Graphik sind die Daten von 360 MRT-Bildern eingeflossen.



Abbildung 18: Signal der Luft und ihre Standardabweichung als Boxplots dargestellt, MW \pm SD. Die Kreise demonstrieren die abweichenden Daten.

Als interne Referenz, zur zusätzlichen Überprüfung der Stabilität des MRT-Messverfahrens wurde der Skelettmuskel der Schulter der Maus (musculus trapezius) und die dazugehörige Standardabweichung bestimmt. Die Region des Muskels sollte möglichst homogen sein. In Abbildung 19 wird die Streubreite des Muskels aus den numerisch ausgewerteten MRT-Bildern als Boxplots dargestellt. Der Mittelwert und die Standardabweichung betragen: $38,6 \times 10^6 \pm 1,9 \times 10^6$. Auch hier sind die Daten der 360 MRT-Bilder mit berücksichtigt worden. Man erkennt ein stabiles Signal im Muskel mit einer sehr geringen Standardabweichung.



Abbildung 19: Streubreite des Muskels aus den numerisch ausgewerteten MRT-Bildern als Boxplots dargestellt. MW \pm SD. Die Streubreite des Hintergrundrauschens und die dazugehörige Standardabweichung zeigen nur eine geringe Streubreite der Daten. Die Kreise demonstrieren die abweichenden Daten.

In den nächsten Abschnitten werden die Ergebnisse der MRT-Gefäßschnitte dargestellt.

4.2. ERGEBNISSE DER IN VIVO VERSUCHE AN APOE^(-/-) (KO) MÄUSE IM MRT

Drei unterschiedliche Behandlungsformen von Apo $E^{(--)}$ (KO) Mäusen sind mittels Hochfeld MRT über acht Monate drei Mal untersucht worden. In Gruppe 1 befinden sich die Tiere (n = 6) die über einen Zeitraum von 8 Monaten eine Western Typ Diät mit Ezetimib bekommen haben. In der Gruppe 2 befinden sich die Tiere (n = 6), die die ersten 4 Monate nur Western Typ Diät und anschließend über einen Zeitraum von 4 Monaten eine Western Typ Diät mit Ezetimib bekommen haben. In Gruppe 3 befinden sich die Tiere (n = 6) die 8 Monate durchgehend mit Western Typ Diät gefüttert worden sind.



Abbildung 20: Repräsentative Querschnitte der Aortenwurzel in vivo nach 4, 6 und 8 Monaten im Hochfeld MRT, T1 gewichtet unter Magnevist[®] Unterstützung, aufgenommen.

Alle Tiere der drei Gruppen sind insgesamt drei Mal, und zwar, nach dem vierten, sechsten und achten Monat, im MRT in vivo untersucht worden. In Abbildung 20 sind exemplarische MRT Schnittbilder der gesamten Aortenwurzel über 4, 6 und 8 Monate dargestellt. Deren numerische Auswertungen in den folgenden Kapiteln dargestellt sind.

In dem folgenden Kapitel 4.3. sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertungen der Aortenwurzel-, der Lumen- sowie der Plaquefläche von den drei Gruppen über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten als Graphen dargestellt. Einmal im Vergleich der absoluten Werte in mm² und einmal als Prozent bezogen auf die Aortenwurzelaußenfläche bzw. Aortenbogenaußenfläche. Es werden zunächst die Auswertungen der Graphen von den transversalen Schnitten der Aortenwurzelflächen dargestellt.



Abbildung 21: Das weiße Kästchen B zeigt exemplarisch den Bereich der Aortenwurzel, in welchen die Messungen stattgefunden haben.

4.3. 8 MONATE WEST-DIÄT MIT EZETIMIB (GRUPPE 1)

4.3.1. AUSWERTUNG DER AORTENWURZELFLÄCHEN

In Abbildung 22 sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Aortenwurzelflächen [mm²] über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der Gruppe 1 graphisch als Balkendiagramme dargestellt.



Abbildung 22: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenwurzelflächen in mm² der Gruppe 1 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).
Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der Monate mit den Standardabweichungen an. Man kann erkennen, dass bei 4, 6 und 8 Monaten kein signifikanter Unterschied zu sehen ist. Bei 4 Monaten ergibt sich ein MW \pm SD von 3,35 mm² \pm 0,69 mm², bei 6 Monaten erhält man Werte von 3,31 mm² \pm 0,72 mm² und bei 8 Monaten bekommt man Werte von 3,47 mm² \pm 0,64 mm².

Danach ist untersucht worden, ob es Unterschiede zwischen den Monaten (4, 6, 8) in den Lumenflächen der Gruppe 1 gibt.

4.3.2. AUSWERTUNG DER LUMENFLÄCHEN

In der Abbildung 23 A sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Lumenflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Ablauf bei 4, 6 und 8 Monaten in der Gruppe 1 als Balkendiagramme dargestellt. Bei 4 Monaten ergibt sich ein Wert (MW ± SD) von 1,75 mm² ± 0,23 mm², nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 2,08 mm² ± 0,65 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 1,96 mm² ± 0,50 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

In Abbildung 23 B sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Verhältnisses vom Lumen auf die Aortenwurzelfläche als Balkendiagramme dargestellt. Wie man in dieser Abbildung erkennen kann erhält man nach 4 Monaten einen Wert (Mittelwert \pm Standardabweichung) von 53% \pm 7%, nach 6 Monaten bekommt man einen Wert von 62% \pm 9% und nach 8 Monaten einen Wert von 56 % \pm 7%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 23: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm² der Gruppe 1 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile vom Lumen bezogen auf die Aortenwurzelfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

Anschließend ist die Plaquefläche untersucht worden wie im folgenden Kapitel beschrieben.

4.3.3. AUSWERTUNG DER PLAQUEFLÄCHEN

Die Abbildung 24 A zeigt die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Plaqueflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Verlauf bei 4, 6 und 8 Monaten der Gruppe 1. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW ± SD) von 1,14 mm² ± 0,80 mm², nach 6 Monaten erhält man 0,88 mm² ± 0,28 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 1,10 mm² ± 0,34 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

In Abbildung 24 B sind numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenwurzel, als Balkendiagramme, dargestellt. Bei 4 Monaten ergibt sich ein Wert (MW \pm SD) von 31% \pm 16%, nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 27% \pm 8% und nach 8 Monaten ergibt sich ein Wert von 30% \pm 13%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 24: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm² der Gruppe 1 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von der Plaque bezogen auf die Aortenwurzelfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

4.4. 4 MONATE WEST-DIÄT UND NACH 4 MONATEN ZUGABE VON EZETIMIB (GRUPPE 2)

4.4.1. AUSWERTUNG DER AORTENWURZELFLÄCHEN

Wie bei der Gruppe 1 wurden hier die Parameter der Aortenwurzel-, Lumen- und Plaquefläche im zeitlichen Verlauf von 8 Monaten betrachtet.

In Abbildung 25 sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Aortenwurzelflächen $[mm^2]$ über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der Gruppe 2 graphisch als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der Monate (4, 6 und 8) mit deren Standardabweichungen an. Bei 4 Monaten ergibt sich ein MW ± SD von 3,68 mm² ± 0,66 mm², nach 6

Monaten erhält man Werte von 3,81 mm² \pm 0.68 mm² und nach 8 Monaten bekommt man Werte von 3,04 mm² \pm 0,61 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.



Abbildung 25: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenwurzelflächen in mm² der Gruppe 2 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

Im Folgenden ist untersucht worden, ob es Unterschiede zwischen den Monaten in den Lumenflächen von Gruppe 2 gibt.

4.4.2. AUSWERTUNG DER LUMENFLÄCHEN

In der Abbildung 26 A sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Lumenflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Ablauf bei 4, 6 und 8 Monaten in der Gruppe 2 als Balkendiagramme dargestellt. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW ± SD) von 1,97 mm² ± 0,24 mm², nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 2,13 mm² ± 0,65 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 1,67 mm² ± 0,25 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

In Abbildung 26 B sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Verhältnisses zwischen Lumen auf die gesamte Aortenwurzelfläche als Balkendiagramme dargestellt. Wie man in dieser Abbildung erkennen kann erhält man nach 4 Monaten einen Wert (MW \pm SD) von 55% \pm 9%, nach 6 Monaten bekommt man einen Wert von 55% \pm 9% und nach 8 Monaten einen Wert von 56% \pm 5%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 26: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm^2 der Gruppe 2 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW ± SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile vom Lumen bezogen auf die Aortenwurzelfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW ± SD; n = 6 Tiere).

Danach ist in der Gruppe 2 (4 Monate West und 4 Monate EZE) untersucht worden, ob es Unterschiede zwischen den Monaten (4, 6, 8) in den Plaqueflächen gibt.

4.4.3. AUSWERTUNG DER PLAQUEFLÄCHEN

Die Abbildung 27 A zeigt die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Plaqueflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Verlauf bei 4, 6 und 8 Monaten in der Gruppe 2. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW ± SD) von 1,29 mm² ± 0,51 mm², nach 6 Monaten erhält man 0,61 mm² ± 0,26 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 0,54 mm² ± 0,16 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

In Abbildung 27 B sind numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenwurzel, als Balkendiagramme, dargestellt. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW \pm SD) von 30% \pm 13%, nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 18% \pm 10% und nach 8 Monaten ergibt sich ein Wert von 18% \pm 6%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 27: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm² der Gruppe 2 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von der Plaque bezogen auf die Aortenwurzelfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

4.5. 8 MONATE WEST-DIÄT (GRUPPE 3)

4.5.1. AUSWERTUNG DER AORTENWURZELFLÄCHEN

In Abbildung 28 sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Aortenwurzelflächen [mm²] über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der Gruppe 3 graphisch als Balkendiagramme dargestellt.

Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der Monate mit deren Standardabweichungen an. Nach 4 Monaten ergibt sich ein MW \pm SD von 4,29 mm² \pm 0,93 mm², nach 6 Monaten erhält man Werte von 4, 68 mm² \pm 1,12 mm² und nach 8 Monaten bekommt man Werte von 4,35 mm² \pm 0,48 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.



Abbildung 28: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenwurzelflächen in mm² der Gruppe 3 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. ($MW \pm SD$; n = 6 Tiere).

Danach ist untersucht worden, ob es Unterschiede zwischen den Monaten (4, 6, 8) in den Lumenflächen gibt.

4.5.2. AUSWERTUNG DER LUMENFLÄCHEN

In der Abbildung 29 A sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Lumenflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Ablauf bei 4, 6 und 8 Monaten in der Gruppe 3 als Balkendiagramme dargestellt. Nach vier Monaten bekommt man einen Wert (MW ± SD) von 2,11 mm² ± 0,56 mm², nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 2,21 mm² ± 0,52 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 1,95 mm² ± 0,38 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

Der Graph in Abbildung 29 B stellt als Balkendiagramme die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Lumens als Prozent bezogen auf die gesamte Aortenwurzelfläche dar. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW \pm SD) von 49% \pm 6%, nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 47% \pm 3% und nach 8 Monaten ergibt sich ein Wert von 44% \pm 4%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 29: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm² der Gruppe 3 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile vom Lumen bezogen auf die Aortenwurzelfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

Anschließend ist die Plaquefläche untersucht worden wie im folgenden Kapitel beschrieben.

4.5.3. AUSWERTUNG DER PLAQUEFLÄCHEN

Die Abbildung 30 A zeigt die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Plaqueflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Verlauf bei 4, 6 und 8 Monaten in der dritten Gruppe. Bei allen drei Gruppen sind keine signifikanten Unterschiede in den Ergebnissen zu erkennen, nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW ± SD) von 1,89 mm² ± 0,43 mm², nach 6 Monaten erhält man 1,78 mm² ± 0,57 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 1,94 mm² ± 0,22 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

In Abbildung 30 B sind numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenwurzel als Balkendiagramme dargestellt. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW \pm SD) von 44% \pm 7%, nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 38% \pm 8% und nach 8 Monaten ergibt sich ein Wert von 45% \pm 4%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 30: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm² der Gruppe 3 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von der Plaque bezogen auf die Aortenwurzelfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

Um den Aortenbogen in transversaler Schicht abzubilden zwischen den Abgängen des Truncus brachiocephalicus und der Aorta carotis communis muss der 3D-Block für das MRT in sagittaler Orientierung geplant werden. In den folgenden Graphen der Abbildung 32 – 40 werden die Ergebnisse der transversalen Schnitte des Aortenbogens in sagittaler MRT Aufnahme ausgewertet.



Abbildung 31: Das weiße Kästchen A zeigt exemplarisch den Aortenbogen zwischen den Abgängen des Truncus brachiocephalicus und der Aorta carotis communis, wo die Messungen vorgenommen wurden.

4.6. SAGITTALE MESSUNG – 8 MONATE WEST-DIÄT MIT EZETIMIB (GRUPPE 1)

4.6.1. AUSWERTUNG DER AORTENBOGENFLÄCHEN

In Abbildung 32 sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Aortenbogenflächen [mm²] über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der Gruppe 1 graphisch als Balkendiagramme dargestellt.

Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der Monate mit deren Standardabweichungen an. Man kann erkennen, dass bei 4, 6 und 8 Monaten kein signifikanter Unterschied zu sehen ist. Nach 4 Monaten ergibt sich ein MW \pm SD von 3,21 mm² \pm 0,44 mm², nach 6 Monaten erhält man Werte von 3,49 mm² \pm 0.63 mm² und nach 8 Monaten bekommt man Werte von 3,17 mm² \pm 0,16 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.



Abbildung 32: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenbogenfläche in mm² der Gruppe 1 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

Danach ist untersucht worden, ob es Unterschiede zwischen den Monaten in der Gruppe 1 bezüglich der Lumenflächen gibt.

4.6.2. AUSWERTUNG DER LUMENFLÄCHEN

In der Abbildung 33 A sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Lumenflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Ablauf bei 4, 6 und 8 Monaten in der Gruppe 1 als Balkendiagramme dargestellt. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW ± SW) von 2,29 mm² ± 0,20 mm², nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 2,54 mm² ± 0,50 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 2,25 mm² ± 0,16 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

Der Graph der Abbildung 33 B stellt als Balkendiagramme, die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Lumens als Prozent bezogen auf die gesamte Aortenbogenfläche dar. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW \pm SD) von 72% \pm 5%, nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 73% \pm 3% und nach 8 Monaten ergibt sich ein Wert von 71% \pm 2%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 33: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm^2 der Gruppe 1 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW ± SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile vom Lumen bezogen auf die Aortenbogenfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW ± SD; n = 6 Tiere).

Anschließend ist die Plaquefläche untersucht worden wie im folgenden Kapitel beschrieben.

4.6.3. AUSWERTUNG DER PLAQUEFLÄCHEN

Die Abbildung 34 A zeigt die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Plaqueflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Verlauf bei 4, 6 und 8 Monaten in der Gruppe 1. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW ± SD) von 0,44 mm² ± 0,07 mm², nach 6 Monaten erhält man 0,43 mm² ± 0,13 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 0,36 mm² ± 0,12 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

In Abbildung 34 B sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche (als Balkendiagramme) dargestellt. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW \pm SD) von 14% \pm 1%, nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 13% \pm 5% und nach 8 Monaten ergibt sich ein Wert von 11% \pm 4%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 34: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm² der Gruppe 1 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

4.7. SAGITTALE MESSUNG – 4 MONATE WEST-DIÄT UND NACH 4 MONATEN ZUGABE VON EZETIMIB (GRUPPE 2)

4.7.1. AUSWERTUNG DER AORTENBOGENFLÄCHEN

In Abbildung 35 sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Aortenbogenflächen $[mm^2]$ über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der Gruppe 2 graphisch als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der Monate mit deren Standardabweichungen an. Nach 4 Monaten ergibt sich ein MW \pm SD von 3,69 mm² \pm 0,49 mm², nach 6 Monaten erhält man Werte von 3,63 mm² \pm 0,39 mm² und nach 8 Monaten bekommt man Werte von 4,02 mm² \pm 0,46 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.



Abbildung 35: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenbogenflächen in mm² der Gruppe 2 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. ($MW \pm SD$; n = 6 Tiere).

Im folgenden Kapitel ist die Lumenfläche untersucht worden.

4.7.2. AUSWERTUNG DER LUMENFLÄCHEN

In der Abbildung 36 A sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Lumenflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Ablauf bei 4, 6 und 8 Monaten in der Gruppe 2 als Balkendiagramme dargestellt. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW ± SD) von 2,35 mm² ± 0,39 mm², nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 2,53 mm² ± 0,26 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 2,73 mm² ± 0,34 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

Der Graph in Abbildung 36 B stellt als Balkendiagramme die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Lumens als Prozent bezogen auf die gesamt Aortenbogenfläche dar. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW \pm SD) von 63% \pm 5%, nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 70% \pm 5% und nach 8 Monaten ergibt sich ein Wert von 68% \pm 7%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 36: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm² der Gruppe 2 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Lumen bezogen auf die Aortenbogenfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

Danach ist die Plaquefläche untersucht worden, ob es Unterschiede zwischen den Monaten (4, 6, 8) der Gruppe 2 in den Plaqueflächen gibt.

4.7.3. AUSWERTUNG DER PLAQUEFLÄCHEN

Die Abbildung 37 A zeigt die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Plaqueflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Verlauf nach 4, 6 und 8 Monaten in der Gruppe 2. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW ± SD) von 0,63 mm² ± 0,13 mm², nach 6 Monaten erhält man 0,65 mm² ± 0,09 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 0,71 mm² ± 0,27 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant. In Abbildung 37 B sind numerische Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der

Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche, als Balkendiagramme, dargestellt. Bei 4 Monaten bekommt

man einen Wert (MW \pm SD) von 17% \pm 4%, bei 6 Monaten erhält man einen Wert von 18% \pm 3% und bei 8 Monaten ergibt sich ein Wert von 17% \pm 5%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 37: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm² der Gruppe 2 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

4.8. SAGITTALE MESSUNG – 8 MONATE WEST-DIÄT (GRUPPE 3)

4.8.1. AUSWERTUNG DER AORTENBOGENFLÄCHEN

In Abbildung 38 sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Aortenbogenflächen [mm²] über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der Gruppe 3 graphisch als Balkendiagramme dargestellt.

Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der Monate mit deren Standardabweichungen an. Nach 4 Monaten ergibt sich ein MW \pm SD von 3,56 mm² \pm 0,42 mm², nach 6 Monaten erhält man Werte von 3,87 mm² \pm 0,62 mm² und nach 8 Monaten bekommt man Werte von 3,31 mm² \pm 0,63 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.



Abbildung 38: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenbogenflächen in mm² der Gruppe 3 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD, n = 6 Tiere).

4.8.2. AUSWERTUNG DER LUMENFLÄCHEN

In der Abbildung 39 A sind die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Lumenflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Ablauf bei 4, 6 und 8 Monaten in der Gruppe 3 als Balkendiagramme dargestellt. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW ± SD) von 2,53 mm² ± 0,33 mm², nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 2,75 mm² ± 0,33 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 2,39 mm² ± 0,50 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

Der Graph in Abbildung 39 B stellt als Balkendiagramme die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Lumens als Prozent bezogen auf die gesamt Aortenbogenfläche dar. Bei 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW \pm SD) von 71% \pm 5%, bei 6 Monaten erhält man einen Wert von 72% \pm 4% und bei 8 Monaten ergibt sich ein Wert von 72% \pm 2%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 39: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm^2 der Gruppe 3 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW ± SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Lumen bezogen auf die Aortenbogenfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW ± SD; n = 6 Tiere).

Danach ist untersucht worden, ob es Unterschiede zwischen den Monaten in den Plaqueflächen gibt.

4.8.3. AUSWERTUNG DER PLAQUEFLÄCHEN

Die Abbildung 40 A zeigt die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der Plaqueflächen $[mm^2]$ des MRT im zeitlichen Verlauf bei 4, 6 und 8 Monaten in der Gruppe 3. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW ± SD) von 0,89 mm² ± 0,28 mm², nach 6 Monaten erhält man 0,98 mm² ± 0,21 mm² und nach 8 Monaten einen Wert von 0,88 mm² ± 0,19 mm². (p = nicht signifikant).

In Abbildung 40 B sind numerische Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche, als Balkendiagramme, dargestellt. Nach 4 Monaten bekommt man einen Wert (MW \pm SD) von 25% \pm 6%, nach 6 Monaten erhält man einen Wert von 25% \pm 4% und nach 8 Monaten ergibt sich ein Wert von 27% \pm 2%. Der p-Wert ist nicht signifikant.



Abbildung 40: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm² der Gruppe 3 über den Monitoring-Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

Die folgenden Graphen der Abbildungen 42 - 50 zeigen die numerischen Daten der morphometrischen Auswertungen der gesamten Aortenwurzel-, Lumen- und Plaqueflächen innerhalb der unterschiedlichen Gruppen zu den drei gemessenen Zeitpunkten. Die Auswertungen erfolgten an transversalen Schnitten der Aortenwurzel.



Abbildung 41: Das weiße Kästchen B zeigt exemplarisch den Bereich der Aortenwurzel, an der die Messungen erfolgten.

Nachdem die jeweils unterschiedlichen Gruppen nach 4, 6 und 8 Monaten untersucht wurden, werden nun die drei Gruppen untereinander zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten miteinander verglichen.

4.9. AUSWERTUNG DER DREI GRUPPEN UNTEREINANDER NACH 4 MONATEN

4.9.1. ERGEBNISSE DER AORTENWURZELFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 42 sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Aortenwurzelflächen der drei Gruppen nach 4 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 3,35 mm² \pm 0,69 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 3,68 mm² \pm 0,66 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 4,29 mm² \pm 0,93 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.



Abbildung 42: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenwurzelflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 4 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

Danach ist untersucht worden, ob es Unterschiede zwischen den Gruppen in den Lumenflächen gibt.

4.9.2. ERGEBNISSE DER LUMENFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 43 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Lumenflächen der drei Gruppen nach 4 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der Gruppe 1 ergibt sich ein

MW \pm SD von 1,75 mm² \pm 0,23 mm², bei der Gruppe 2 erhält man Werte von 1,97 mm² \pm 0,24 mm² und bei der Gruppe 3 bekommt man Werte von 2,11 mm² \pm 0,56 mm². (p = nicht signifikant).

Der Graph in Abbildung 43 B stellt als Balkendiagramme, die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Lumens als Prozent bezogen auf die gesamt Aortenwurzelfläche dar. Bei 4 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 53% \pm 7%, bei Gruppe 2 erhält man einen Wert von 55% \pm 9% und bei der Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 49% \pm 6%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 43: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 4 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). (B) Darstellung der prozentualen Anteile vom Lumen bezogen auf die Aortenwurzelfläche der drei Gruppen im Vergleich bei 4 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

Anschließend ist die Plaquefläche untersucht worden wie im folgenden Kapitel beschrieben.

4.9.3. ERGEBNISSE DER PLAQUEFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 44 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Plaqueflächen der drei Gruppen nach 4 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 1,14 mm² \pm 0,80 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 1,29 mm² \pm 0,51 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 1,89 mm² \pm 0,43 mm². Die Statistische Auswertung ergab, dass man einen signifikanten Unterschied p = 0,044 zwischen den Gruppen 2 und 3 erhält.

In Abbildung 44 B sind numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenwurzelfläche als Balkendiagramme dargestellt. Bei 4 Monaten bekommt

man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 31% \pm 16%, bei Gruppe 2 erhält man einen Wert von 30% \pm 13% und bei Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 44% \pm 7%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 44: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 4 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,004 (Gruppe 2 und 3). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von der Plaque bezogen auf die Aortenwurzelfläche der drei Gruppen im Vergleich bei 4 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

4.10. AUSWERTUNG DER DREI GRUPPEN UNTEREINANDER NACH 6 MONATEN

4.10.1. ERGEBNISSE DER AORTENWURZELFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 45 sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Aortenwurzelflächen der drei Gruppen nach 6 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 3,31 mm² \pm 0,72 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 3,81 mm² \pm 0,68 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 4,86 mm² \pm 1,12 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.



Abbildung 45: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenwurzelflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 6 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

Im Folgenden ist die Lumenfläche zwischen den Gruppen (4, 6, 8) untersucht worden.

4.10.2. ERGEBNISSE DER LUMENFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 46 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Lumenflächen der drei Gruppen nach 6 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 2,08 mm² \pm 0,65 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 2,13 mm² \pm 0,65 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 2,21 mm² \pm 0,52 mm². (p = nicht signifikant).

Der Graph in Abbildung 46 B stellt als Balkendiagramme die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Lumens als Prozent bezogen auf die gesamt Aortenwurzelfläche dar. Bei 6 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 62% \pm 9%, bei Gruppe 2 erhält man einen Wert von 55% \pm 9% und bei der Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 47% \pm 3%. Die statistische Auswertung ergab, dass es einen signifikanten Unterschied p = 0,28 zwischen den Gruppe 1 und 3 gibt.



Abbildung 46: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm² im Vergleich der drei Gruppen bei 6 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe). (B) Darstellung der prozentualen Anteile vom Lumen bezogen auf die Aortenwurzelfläche der drei Gruppen im Vergleich bei 6 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,28 (Gruppe 1 und 3)

Anschließend ist die Plaquefläche untersucht worden wie im folgenden Kapitel beschrieben.

4.10.3. ERGEBNISSE DER PLAQUEFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 47 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Plaqueflächen der drei Gruppen nach 6 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 0,88 mm² \pm 0,28 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 0,61 mm² \pm 0,26 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 1,78 mm² \pm 0,57 mm². Die statistische Auswertung ergab, dass man signifikante Unterschiede bei den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,16 und signifikante Unterschiede bei den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,04 erhält.

In Abbildung 47 B sind numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenwurzelfläche als Balkendiagramme dargestellt. Bei 6 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 27% \pm 8%, bei der Gruppe 2 erhält man einen Wert von 18% \pm 10% und bei Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 38% \pm 8%. Die statistische Auswertung ergab, dass man signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,085 und signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,085 und signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,005 erhält.



Abbildung 47: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 6 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,16 (Gruppe 1 und 3), p = 0,04 (Gruppe 2 und 3). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von der Plaque bezogen auf die Aortenwurzelfläche der drei Gruppen im Vergleich bei 6 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,085 (Gruppe 1 und 3), p = 0,005 (Gruppe 2 und 3).

4.11. AUSWERTUNG DER DREI GRUPPEN UNTEREINANDER NACH 8 MONATEN

4.11.1. ERGEBNISSE DER AORTENWURZELFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 48 sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Aortenwurzelflächen der drei Gruppen nach 8 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 3,47 mm² \pm 0,64 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 3,04 mm² \pm 0,61 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 4,35 mm² \pm 0,48 mm². Die statistische Auswertung ergab, dass man signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,011 erhält.



Abbildung 48: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenwurzelflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,011 (Gruppe 2 und 3).

Danach ist untersucht worden, ob es Unterschiede zwischen den Gruppen in den Lumenflächen gibt.

4.11.2. ERGEBNISSE DER LUMENFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 49 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Lumenflächen der drei Gruppen nach 8 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 1,96 mm² \pm 0,50 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 1,67 mm² \pm 0,25 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 1,95 mm² \pm 0,38 mm². (p = nicht signifikant). Der Graph in Abbildung 49 B stellt als Balkendiagramme die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Lumens als Prozent bezogen auf die gesamt Aortenwurzelfläche dar. Bei 8 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 56% \pm 7%, bei der Gruppe 2 erhält man einen Wert von 56% \pm 5% und bei Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 44% \pm 4%. Die statistische Auswertung ergab, dass man signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,032 und signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,009 erhält.



Abbildung 49: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm² im Vergleich der drei Gruppen bei 8 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe). (B) Darstellung der prozentualen Anteile vom Lumen bezogen auf die Aortenwurzelfläche der drei Gruppen im Vergleich bei 8 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,032 (Gruppe 1 und 3), p = 0,009 (Gruppe 2 und 3).

Anschließend ist die Plaquefläche untersucht worden wie im folgenden Kapitel beschrieben.

4.11.3. ERGEBNISSE DER PLAQUEFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 50 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Plaqueflächen der drei Gruppen nach 8 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 1,10 mm² \pm 0,34 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 0,54 mm² \pm 0,16

 mm^2 und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 1,94 $mm^2 \pm 0,22 mm^2$. Die statistische Auswertung ergab, dass man signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,003, signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 2 mit p = 0,05 und eine hohe Signifikanz zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p < 0,001 erhält.

In Abbildung 50 B sind numerische Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenwurzelfläche, als Balkendiagramme, dargestellt. Bei 8 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 30% \pm 13%, bei Gruppe 2 erhält man einen Wert von 18% \pm 6% und bei Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 45% \pm 4%. Die statistische Auswertung zeigt, dass eine hohe Signifikanz zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p < 0,001 vorliegt.



Abbildung 50: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,003 (Gruppe 1 und 3), p = 0,05 (Gruppe 1 und 2), p < 0,001 (Gruppe 2 und 3). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von der Plaque bezogen auf die Aortenwurzelfläche der drei Gruppen im Vergleich bei 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p < 0,001 (Gruppe 2 und 3).

Die folgenden Graphen der Abbildungen 52 - 60 zeigen die numerischen Daten der morphometrischen Auswertungen der Aortenbogen-, der Lumen- und der Plaqueflächen innerhalb der unterschiedlichen Gruppen zu den drei gemessenen Zeitpunkten. Die Auswertungen erfolgten an transversalen Schnitten des Aortenbogens in sagittaler Aufnahme.



Abbildung 51: Das weiße Kästchen A zeigt exemplarisch den Aortenbogen, an der die Messungen erfolgten.

4.12. SAGITTALE MESSUNG – AUSWERTUNG DER DREI GRUPPEN UNTEREINANDER NACH 4 MONATEN

4.12.1. ERGEBNISSE DER AORTENBOGENFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 52 sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Aortenbogenflächen der drei Gruppen nach 4 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 3,21 mm² \pm 0,44 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 3,69 mm² \pm 0,49 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 3,56 mm² \pm 0,42 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.



Abbildung 52: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenbogenflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 4 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

Im Folgenden ist die Lumenfläche der Gruppen 1, 2 und 3 untersucht worden.

4.12.2. ERGEBNISSE DER LUMENFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 53 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Lumenflächen der drei Gruppen nach 4 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 2,29 mm² \pm 0,20 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 2,35 mm² \pm 0,39 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 2,53 mm² \pm 0,33 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

Der Graph in Abbildung 53 B stellt als Balkendiagramme, die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Lumens als Prozent bezogen auf die gesamt Aortenbogenfläche dar. Bei 4 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 72% \pm 5%, bei der Gruppe 2 erhält man einen



Wert von $63\% \pm 5\%$ und bei der Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von $71\% \pm 5\%$. Der p-Wert ist nicht signifikant.

Abbildung 53: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 4 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Lumen bezogen auf die Aortenbogenflächen der drei Gruppen bei 4 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

Anschließend ist die Plaquefläche untersucht worden wie im folgenden Kapitel beschrieben.

4.12.3. ERGEBNISSE DER PLAQUEFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 54 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Plaqueflächen der drei Gruppen nach 4 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 0,44 mm² \pm 0,07 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 0,63 mm² \pm 0,13 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 0,89 mm² \pm 0,28 mm². Die statistische Auswertung ergab, dass man signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 2 mit p = 0,03 und signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,014 erhält.

In Abbildung 54 B sind numerische Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche als Balkendiagramme dargestellt. Bei 4 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 14% \pm 1%, bei der Gruppe 2 erhält man einen Wert von 17% \pm 4% und bei der Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 25% \pm 6%. Die statistische Auswertung ergab, dass man signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,007 und signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,007 und signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,015 erhält.



Abbildung 54: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 4 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,03 (Gruppe 1 und 2), p = 0,14 (Gruppe 1 und 3). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche der drei Gruppen bei 4 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,007 (Gruppe 1 und 3), p = 0,015 (Gruppe 2 und 3).

4.13. SAGITTALE MESSUNG – AUSWERTUNG DER DREI GRUPPEN UNTEREINANDER NACH 6 MONATEN

4.13.1. ERGEBNISSE DER AORTENBOGENFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 55 sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Aortenbogenflächen der drei Gruppen nach 6 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 3,49 mm² \pm 0,63 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 3,63 mm² \pm 0,39 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 3,87 mm² \pm 0,62 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.



Abbildung 55: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenbogenflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 6 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

Danach ist untersucht worden, ob es Unterschiede zwischen den Gruppen in den Lumenflächen gibt.

4.13.2. ERGEBNISSE DER LUMENFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 56 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Lumenflächen der drei Gruppen nach 6 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 2,54 mm² \pm 0,50 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 2,53 mm² \pm 0,26 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 2,75 mm² \pm 0,33 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

Der Graph in Abbildung 56 B stellt als Balkendiagramme, die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Lumens als Prozent bezogen auf die gesamte Aortenbogenfläche dar. Bei 6 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 73% \pm 3%, bei Gruppe 2 erhält man einen Wert von 70% \pm 5% und bei der Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 72% \pm 4%. (p = nicht signifikant).



Abbildung 56: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 6 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Lumen bezogen auf die Aortenbogenfläche der drei Gruppen über den Zeitraum von 6 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

Anschließend ist die Plaquefläche untersucht worden, wie im folgenden Kapitel beschrieben.

4.13.3. ERGEBNISSE DER PLAQUEFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 57 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Plaqueflächen der drei Gruppen nach 6 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 0,43 mm² \pm 0,13 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 0,65 mm² \pm 0,09

 mm^2 und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 0,98 $mm^2 \pm 0,21 mm^2$. Die statistische Auswertung ergab, dass man signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,001, signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 2 mit p = 0,021 und eine Signifikanz zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,014 erhält.

In Abbildung 57 B sind numerische Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche, als Balkendiagramme, dargestellt. Bei 6 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 13% \pm 5%, bei der Gruppe 2 erhält man einen Wert von 18% \pm 3% und bei der Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 25% \pm 4%. Die statistische Auswertung ergab, dass man signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,003 und einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,06 erhält.



Abbildung 57: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm² im Vergleich der drei Gruppen bei 6 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,001 (Gruppe 1 und 3), p = 0,021 (Gruppe 1 und 2), p = 0,014 (Gruppe 2 und 3). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche der drei Gruppen über den Zeitraum von 6 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,003 (Gruppe 1 und 3), p = 0,006 (Gruppe 2 und 3).

4.14. SAGITTALE MESSUNG – AUSWERTUNG DER DREI GRUPPEN UNTEREINANDER NACH 8 MONATEN

4.14.1. ERGEBNISSE DER AORTENBOGENFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 58 sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Aortenbogenflächen der drei Gruppen nach 8 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an.



Abbildung 58: Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Aortenbogenflächen in mm² im Vergleich der drei Gruppen bei 8 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,008 (Gruppe 1 und 2).

Bei der Gruppe 1 ergibt sich ein MW \pm SD von 3,17 mm² \pm 0,16 mm², bei der Gruppe 2 erhält man Werte von 4,02 mm² \pm 0,46 mm² und bei der Gruppe 3 bekommt man Werte von 3,31 mm² \pm 0,63 mm². Die statistische Auswertung ergab, dass man einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 2 mit p = 0,008 erhält.

Im Folgenden Kapitel sind die Lumenflächen der Gruppen 1, 2 und 3 untereinander untersucht worden.

4.14.2. ERGEBNISSE DER LUMENFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 59 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Lumenflächen der drei Gruppen nach 8 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 2,25 mm² \pm 0,16 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 2,73 mm² \pm 0,34 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 2,39 mm² \pm 0,50 mm². Der p-Wert ist nicht signifikant.

In Abbildung 59 B sind numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche als Balkendiagramme dargestellt. Bei 8 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 71% \pm 2%, bei der Gruppe 2 erhält man einen Wert von 68% \pm 7% und bei der Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 72% \pm 2%. Der p-Wert ist nicht signifikant.



Abbildung 59: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Lumenflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Lumen bezogen auf die Aortenbogenfläche der drei Gruppen über den Zeitraum von 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

Anschließend ist die Plaquefläche untersucht worden, wie im folgenden Kapitel beschrieben.

4.14.3. ERGEBNISSE DER PLAQUEFLÄCHEN DER DREI GRUPPEN

In Abbildung 60 A sind die numerischen Daten der morphologischen Auswertungen der Plaqueflächen der drei Gruppen nach 8 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 0,36 mm² \pm 0,12 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man Werte von 0,71 mm² \pm 0,27 mm² und bei der dritten Gruppe bekommt man Werte von 0,88 mm² \pm 0,19 mm². Die statistische Auswertung ergab, dass man signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 2 mit p = 0,035 und einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,01 erhält.

In Abbildung 60 B sind numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche als Balkendiagramme dargestellt. Bei 8 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 11% \pm 4%, bei der Gruppe 2 erhält man einen Wert von 17% \pm 5% und bei der Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 27% \pm 2%. Die statistische Auswertung ergab, dass man eine hohe Signifikanz zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p < 0,001 und einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,005 bekommt. Eine leichte Tendenz ist zwischen den Gruppen 1 und 2 mit p = 0,06 zu erkennen.



Abbildung 60: (A) Numerische Ergebnisse der in vivo im MRT gemessenen Plaqueflächen in mm^2 im Vergleich der drei Gruppen bei 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,035 (Gruppe 1 und 2), p = 0,01 (Gruppe 1 und 3). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Plaque bezogen auf die Aortenbogenfläche der drei Gruppen über den Zeitraum von 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p < 0,001 (Gruppe 1 und 3), p = 0,005 (Gruppe 2 und 3).

5. HISTOLOGIE

5.1. SUNDAN III-FÄRBUNG DER EINZELNEN GRUPPEN

In Abbildung 61 A sind repräsentative Bilder von längs aufgeschnittenen thorakalen Aorten, die mit Sudan III gefärbt sind, dargestellt. Sudan III färbt die Fettanreicherungen rot an. Gleichzeitig werden, links neben den jeweiligen Sudan III gefärbten Schnitten von jeder Gruppe die Sudan positiven Flächen, ermittelt über die Farbschwellenwerte, gezeigt.



Abbildung 61: (A) Repräsentative Bilder (der drei Gruppen nach 8 Monaten) von längs aufgeschnittenen thorakalen Aorten, die mit Sudan III (rot) gefärbt sind, und die Ermittlung der Sudan positiven Flächen über Farbschwellenwerte. (B) Darstellung der prozentualen Anteile der Sudan positiven Flächen zur thorakalen Aorta im Vergleich der drei Gruppen bei 8 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,001 (Gruppe 1 und 2), p < 0,001 (Gruppe 1 und 3), p = 0,001 (Gruppe 2 und 3).

Der Graph in Abbildung 61 B, zeigt die numerischen Ergebnisse der prozentualen Anteile der Sudan positiven Flächen zur thorakalen Aorta im Vergleich der Gruppen nach 8 Monaten zueinander. Die Ergebnisse der Sudan positiven Flächen zur thorakalen Aorta werden als Balkendiagramme repräsentiert und geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. In der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 5,04% \pm 2,34%, bei der zweiten Gruppe erhält man einen Wert von 19,75% \pm 2,84% und in der dritten Gruppe bekommt man einen Wert von 32,91% \pm 1,47%. Die statistische Auswertung ergab, dass man eine hohe Signifikanz zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p < 0,001, einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 2 mit p = 0,001 und eine Signifikanz zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,001 erhält.

5.2. HISTOLOGISCHE AUSWERTUNGEN

In Abbildung 62 sind exemplarisch histologische Schnittbilder der Aortenwurzel nach 8 Monaten dargestellt. Deren Auswertungen in den folgenden Kapiteln dargestellt werden.





Die folgenden Graphen zeigen die numerischen Ergebnisse der histologischen Daten der Aortenwurzel-, der Lumen- und der Plaqueflächen [mm²] im Vergleich der Gruppen nach 8 Monaten zueinander. Einmal im Vergleich der absoluten Werte in mm² und einmal als Prozent bezogen auf die Aortenwurzelaußenfläche.

5.2.1. DARSTELLUNG DER HISTOLOGISCHEN ERGEBNISSE DER AORTEN-WURZELFLÄCHEN

In Abbildung 63 werden die histologischen Ergebnisse der Aortenwurzelflächen $[mm^2]$ im Vergleich der Gruppen nach 8 Monaten als Balkendiagramme repräsentiert. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. In der ersten Gruppe erhält man einen Wert $(MW \pm SD)$ von 1,29 mm² ± 0,30 mm², bei der zweiten Gruppe bekommt man einen Wert von 1,73 mm² ± 0,29 mm² und in der dritten Gruppe ergibt sich ein Wert von 2,65 mm² ± 0,34 mm². Die statistische Auswertung ergab, dass man einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,001 und einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,012 bekommt. Eine leichte Tendenz ist zwischen den Gruppen 1 und 2 mit p = 0,09 zu erkennen.



Abbildung 63: Darstellung der histologischen Ergebnisse der Aortenwurzelflächen $[mm^2]$ im Vergleich der drei Gruppen nach 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,001 (Gruppe 1 und 3), p = 0,012 (Gruppe 2 und 3).

Danach ist untersucht worden, ob es Unterschiede zwischen den Gruppen in den Lumenflächen gibt.

5.2.2. DARSTELLUNG DER HISTOLOGISCHEN ERGEBNISSE DER LUMEN-FLÄCHEN

In Abbildung 64 A werden die histologischen Ergebnisse der Lumenflächen $[mm^2]$ im Vergleich der drei Gruppen nach 8 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. In der ersten Gruppe erhält man einen Wert (MW ± SD) von 1,07 mm² ± 0,24 mm², bei der zweiten Gruppe bekommt man einen Wert von 1,33 mm² ± 0,18 mm² und in der dritten Gruppe ergibt sich ein Wert von 1,92 mm² ± 0,30 mm². Die statistische Auswertung ergab, dass man einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,008 und einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,036 erhält.

Der Graph in Abbildung 64 B stellt als Balkendiagramme die numerischen Daten der morphometrischen Auswertung des Lumens als Prozent bezogen auf die gesamt Aortenwurzelfläche dar. Bei 8 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 83% \pm 4%, bei der Gruppe 2 erhält man einen Wert von 77% \pm 3% und bei der Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 72% \pm 2%. Die statistische Auswertung ergab, dass man eine hohe Signifikanz zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p < 0,001, einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 2 mit p = 0,01 und eine Signifikanz zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,017 erhält.



Abbildung 64: (A) Darstellung der histologischen Ergebnisse der Lumenflächen $[mm^2]$ im Vergleich der drei Gruppen nach 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,008 (Gruppe 1 und 3), p = 0,036 (Gruppe 2 und 3). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Lumen bezogen auf die Aortenwurzelaußenfläche der drei Gruppen über den Zeitraum von 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p < 0,001 (Gruppe 1 und 3), p = 0,017 (Gruppe 2 und 3).

Anschließend ist die Plaquefläche untersucht worden, wie im folgenden Kapitel beschrieben.

5.2.3. DARSTELLUNG DER HISTOLOGISCHEN ERGEBNISSE DER PLAQUE-FLÄCHEN

In Abbildung 65 A werden die histologischen Ergebnisse der Plaqueflächen $[mm^2]$ im Vergleich der Gruppen nach 8 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. In der ersten Gruppe erhält man einen Wert $(MW \pm SD)$ von 0,10 mm² \pm 0,07 mm², bei der zweiten Gruppe erhält man einen Wert von 0,27 mm² \pm 0,08 mm² und in der dritten Gruppe ergibt sich ein Wert von 0,56 mm² \pm 0,08 mm². Die statistische Auswertung ergab, dass eine hohe Signifikanz zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p < 0,001, ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 2 mit p = 0,032 und eine Signifikanz zwischen den Gruppen 2 und 3 mit p = 0,005 vorliegt.

In Abbildung 65 B sind numerischen Daten der morphometrischen Auswertung der prozentualen Anteile der Plaque bezogen auf die Aortenwurzelfläche als Balkendiagramme dargestellt. Bei 8 Monaten bekommt man bei der Gruppe 1 einen Wert (MW \pm SD) von 7% \pm 4%, bei der Gruppe 2 erhält man einen Wert von 15% \pm 2% und bei der Gruppe 3 ergibt sich ein Wert von 21% \pm 2%. Die statistische Auswertung ergab, dass man einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,001, einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,001, einen signifikanten 2 und 3 mit p = 0,014 erhält.

62



Abbildung 65: (A) Darstellung der histologischen Ergebnisse der Plaqueflächen $[mm^2]$ im Vergleich der drei Gruppen nach 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p < 0,001 (Gruppe 1 und 3), p = 0,032 (Gruppe 1 und 2), p = 0,005 (Gruppe 2 und 3). (B) Darstellung der prozentualen Anteile von Plaque bezogen auf die Aortenwurzelaußenfläche der drei Gruppen über den Zeitraum von 8 Monaten zueinander. (MW ± SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,001 (Gruppe 1 und 3), p = 0,009 (Gruppe 1 und 2), p = 0,014 (Gruppe 2 und 3).

5.3. IMMUNHISTOCHEMIE, MAKROPHAGEN AUSWERTUNGEN

Die MAC-3 Auswertungen dienen als Maß für die Entzündlichkeit des Gewebes. Es handelt sich hierbei um eine Subpopulation von Makrophagen. Der Graph in Abbildung 66, zeigt als Balkendiagramme die numerischen Auswertungen der immunhistochemischen MAC-3 Ergebnisse auf das Verhältnis Aortenwurzel in Prozent im Vergleich der Gruppen nach 8 Monaten zueinander. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. In der Gruppe 1 (8 Monate West-Diät mit EZE) erhält man einen Wert (MW \pm SD) von 0,90 mm² \pm 0,36 mm², bei der Gruppe 2 (4 Monate West-Diät und 4 Monate EZE) bekommt man einen Wert von 2,65 mm² \pm 0,57 mm² und in der Gruppe 3 (8 Monate nur West-Diät) ergibt sich ein Wert von 3,11 mm² \pm 0,43 mm². Die statistische Auswertung ergab, dass man einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 2 mit p = 0,03 und einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 3 mit p = 0,001 bekommt.



Abbildung 66: Darstellung der MAC-3 Ergebnisse auf das Verhältnis Aortenwurzel in Prozent im Vergleich der Gruppen nach 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe). Statistische Auswertung, p = 0,03 (Gruppe 1 und 2), p = 0,001 (Gruppe 1 und 3).

5.4. GEGENÜBERSTELLUNG DER MRT AUSWERTUNGEN UND DER HISTOLOGIE AUSWERTUNGEN

Im Folgenden werden die MRT-Bilder mit den Histologie-Bildern nach jeweils 8 Monaten im Vergleich beschrieben.



Abbildung 67: Repräsentative Querschnitte der gesamten Aortenwurzel, welche in vivo nach 4, 6 und 8 Monaten mittels Hochfeld MRT aufgenommen wurden. Die nach 8 Monaten aufgenommenen MRT Bilder sind den korrespondieren Querschnitten der Histologie der drei Gruppen jeweils gegenübergestellt worden.

Hierbei wurde von den MRT- und Histologie-Messergebnissen der Aortenwurzelflächen $[mm^2]$ eine Korrelation nach PEARSON und ein Bland-Altmann-Plot erstellt. Die Korrelation der MRT- und der Histologie-Daten stellt sich in Abbildung 68 dar. Man kann gut die Abgrenzungen der einzelnen Gruppen sehen, bei denen sich Cluster ausbilden. Der PEARSON Korrelationskoeffizient beträgt r = 0,64 (p = 0,004). Zur Darstellung der Streuung der Korrelation wurde zusätzlich ein Bland-Altmann Plot erstellt (Abbildung 69). Die grünen Punkte in den jeweiligen Graphen demonstrieren die Gruppe 1, die schwarzen Punkte die Gruppe 2 und die orangen Punkte zeigen die Gruppe 3. Auch hier lässt sich zusätzlich die Clusterbildung der einzelnen Gruppen erkennen.


Abbildung 68: Korrelation der MRT- und Histologie-Daten an der Aortenwurzelfläche [mm²]. Der nach PEARSON bestimmte Korrelationskoeffizient beträgt r = 0,64 bei einem Signifikanzniveau von p = 0,004. Grüne Punkte = Gruppe 1, schwarze Punkte = Gruppe 2, orange Punkte = Gruppe 3.

Der Bland-Altmann Plot der Abbildung 69 verdeutlicht die geringen Abweichungen der Messergebnisse der beiden unterschiedlichen Untersuchungsmethoden der MRT/Histologie. Bis auf eine Ausnahme liegen alle Werte innerhalb der vierfachen Standardabweichung zwischen 2,96 mm² (= MW + 2×SD) und 0,45 mm² (= MW - 2×SD). Der Mittelwert der Differenz der MRT und Histologie beträgt 1,77 mm².



Abbildung 69: Bland-Altmann Plot der Mittelwerte der MRT-Aortenwurzelflächen und Histologie-Aortenwurzelflächen und Differenzen zwischen den MRT-Aortenwurzelflächen und Histologie-Aortenwurzelflächen. Grüne Punkte = Gruppe 1, schwarze Punkte = Gruppe 2, orange Punkte = Gruppe 3. Es bilden sich Cluster aus.

Histologie

Es wurden für die MRT- und Histologie-Messergebnisse der Lumenflächen $[mm^2]$ eine Korrelation nach PEARSON und ein Bland-Altmann Plot erstellt. Die Korrelation der MRT- und der Histologie-Daten stellt sich in Abbildung 70 dar. Der PEARSON Korrelationskoeffizient beträgt r = 0,357 (p = 0,146). Zur Darstellung der Streuung der Korrelation wurde zusätzlich ein Bland-Altmann Plot erstellt (Abbildung 71). Die grünen Punkte in den jeweiligen Graphen demonstrieren die Gruppe 1, die schwarzen Punkte die Gruppe 2 und die orangen Punkte zeigen die Gruppe 3.



Abbildung 70: Korrelation der MRT- und Histologie-Daten an den Lumenflächen $[mm^2]$. Der PEARSON Korrelationsindex beträgt r = 0,357 bei einem Signifikanzniveau von p = 0,146. Grüne Punkte = Gruppe 1, schwarze Punkte = Gruppe 2, orange Punkte = Gruppe 3.

In Abbildung 71 verdeutlicht der Bland-Altmann Plot die geringen Abweichungen der Messergebnisse der beiden unterschiedlichen Untersuchungsmethoden der MRT/Histologie. Die Schwankungen liegen innerhalb der vierfachen Standardabweichung zwischen 1,24 mm² (= MW + 2×SD) und -0,22 mm² (= MW $- 2\times$ SD). Der Mittelwert der Differenz von MRT und Histologie beträgt 0,51 mm².



Abbildung 71: Bland-Altmann Plot der Mittelwerte der MRT-Lumenflächen und Histologie-Lumenflächen und Differenzen zwischen den MRT-Lumenflächen und Histologie-Lumenflächen. Grüne Punkte = Gruppe 1, schwarze Punkte = Gruppe 2, orange Punkte = Gruppe 3.

Neben den Aortenwurzel- und Lumenflächen wurden auch für die MRT- und Histologie-Messergebnisse der Plaqueflächen $[mm^2]$ eine Korrelation nach PEARSON und ein Bland-Altmann Plot erstellt. Die Korrelation der MRT- und der Histologie-Daten stellt sich in Abbildung 72 dar. Der PEARSON Korrelationskoeffizient beträgt r = 0,572 (p = 0,013). Zur Darstellung der Streuung der Korrelation wurde zusätzlich ein Bland-Altmann Plot erstellt (Abbildung 73). Die grünen Punkte in den jeweiligen Graphen demonstrieren die Gruppe 1, die schwarzen Punkte die Gruppe 2 und die orangen Punkte zeigen die Gruppe 3.



Abbildung 72: Korrelation der MRT- und Histologie-Daten an den Plaqueflächen $[mm^2]$. Der PEARSON Korrelationsindex beträgt r = 0,572 bei einem Signifikanzniveau von p = 0,013. Grüne Punkte = Gruppe 1, schwarze Punkte = Gruppe 2, orange Punkte = Gruppe 3. Ausbildung von Clustern.

Der Bland-Altmann Plot der Abbildung 73 verdeutlicht die geringen Abweichungen der Messergebnisse der beiden unterschiedlichen Messmethoden. Die Schwankungen liegen klar innerhalb der vierfachen Standardabweichung zwischen 1,86 mm² (= MW + 2×SD) und -0,12 mm² (= MW - 2×SD). Der Mittelwert der Differenz der MRT und Histologie beträgt 0,87 mm².



Abbildung 73: Bland-Altmann Plot der Mittelwerte der MRT-Plaqueflächen und Histologie-Plaqueflächen und Differenzen zwischen den MRT-Plaqueflächen und Histologie-Plaqueflächen. Grüne Punkte = Gruppe 1, schwarze Punkte = Gruppe 2, orange Punkte = Gruppe 3.

Histologie

Es wurde von den MRT- und Histologie-Messergebnissen der Wanddicken [μ m] eine Korrelation nach PEARSON und ein Bland-Altmann Plot erstellt. Die Korrelation der MRT- und der Histologie-Daten stellt sich in Abbildung 74 dar. Der PEARSON Korrelationskoeffizient beträgt r = 0,744 (p < 0,001). Zur Darstellung der Streuung der Korrelation wurde zusätzlich ein Bland-Altmann Plot erstellt (Abbildung 75). Die grünen Punkte in den jeweiligen Graphen demonstrieren die Gruppe 1, die schwarzen Punkte die Gruppe 2 und die orangen Punkte zeigen die Gruppe 3.



Abbildung 74: Korrelation der MRT- und Histologie-Daten der Wanddicken [μ m]. Der PEARSON Korrelationsindex beträgt r = 0,744 bei einem Signifikanzniveau von p < 0,001. Grüne Punkte = Gruppe 1, schwarze Punkte = Gruppe 2, orange Punkte = Gruppe 3.

Der Bland-Altmann Plot der Abbildung 75 verdeutlicht die geringen Abweichungen der Messergebnisse der beiden unterschiedlichen Messmethoden. Bis auf eine Ausnahme liegen alle Werte innerhalb der vierfachen Standardabweichung 257,024 μ m (= MW + 2×SD) und 97,405 μ m (= MW - 2×SD). Der Mittelwert der Differenz der MRT und Histologie beträgt 177, 216 μ m.



Abbildung 75: Bland-Altmann Plot der Mittelwerte der MRT-Wanddicken und Histologie-Wanddicken und Differenzen zwischen den MRT- und Histologie-Wanddicken. Grüne Punkte = Gruppe 1, schwarze Punkte = Gruppe 2, orange Punkte = Gruppe 3.

Neben den Wanddicken wurde auch von den MRT- und Histologie-Messergebnissen der Wandflächen $[mm^2]$ eine Korrelation nach PEARSON und ein Bland-Altmann Plot erstellt. Die Korrelation der MRT- und der Histologie-Daten stellt sich in Abbildung 76 dar. Der PEARSON Korrelationskoeffizient beträgt r = 0,786 (p < 0,001). Zur Darstellung der Streuung der Korrelation wurde zusätzlich ein Bland-Altmann Plot erstellt (Abbildung 77). Die grünen Punkte in den jeweiligen Graphen demonstrieren die Gruppe 1, die schwarzen Punkte die Gruppe 2 und die orangen Punkte zeigen die Gruppe 3.



Abbildung 76: Korrelation der MRT- und Histologie-Daten an den Wandflächen [mm²]. Der PEARSON Korrelationsindex beträgt r = 0,786 bei einem Signifikanzniveau von p < 0,001. Grüne Punkte = Gruppe 1, schwarze Punkte = Gruppe 2, orange Punkte = Gruppe 3.

Der Bland-Altmann Plot der Abbildung 77 verdeutlicht die geringen Abweichungen der Messergebnisse der beiden unterschiedlichen Messmethoden. Bis auf eine Ausnahme liegen alle Werte innerhalb der vierfachen Standardabweichung 7,01 mm² (= MW + $2 \times SD$) und -1,33 mm² (= MW - $2 \times SD$). Der Mittelwert der Differenz der MRT und Histologie beträgt 2,88 mm².



Abbildung 77: Bland-Altmann Plot der Mittelwerte der MRT- und Histologie-Wandflächen und Differenzen zwischen den MRT- und Histologie-Wandflächen. Grüne Punkte = Gruppe 1, schwarze Punkte = Gruppe 2, orange Punkte = Gruppe 3.

Abschließend ist noch überprüft worden, da mit einem Kontrastmittel dargestellt wurde, ob es Unterschiede in der Kontrastmittelaufnahme in den Gefäßwänden der unterschiedlichen Gruppen gibt. Da die MRT-Daten nicht so ohne weiteres vergleichbar sind, erfolgt der Vergleich über das CNR (Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis).

5.5. KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS (CNR)

Die folgenden Graphen zeigen die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses (CNR) zwischen nicht-pathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand von den drei Gruppen über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten.



Abbildung 78: Das weiße Kästchen B zeigt exemplarisch die Aortenwurzel, an der die Messungen erfolgten.

Die Auswertungen erfolgten an transversalen Schnitten der Aortenwurzel.

5.5.1. KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI GRUPPE 1

In Abbildung 79 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der ersten Gruppe graphisch als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Monate mit deren Standardabweichungen an. Nach 4 Monaten ergibt sich ein MW \pm SD von 15,96 \pm 5,89, nach 6 Monaten erhält man Werte von 22,94 \pm 7,20 und nach 8 Monaten bekommt man Werte von 19,54 \pm 11,03.



Abbildung 79: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

5.5.2. KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI GRUPPE 2

In Abbildung 80 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der zweiten Gruppe graphisch als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Monate mit deren Standardabweichungen an. Nach 4 Monaten ergibt sich ein MW \pm SD von 8,72 \pm 6,61, nach 6 Monaten erhält man Werte von 6,15 \pm 7,54 und nach 8 Monaten bekommt man Werte von 14,61 \pm 8,13.



Abbildung 80: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

5.5.3. KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI GRUPPE 3

In Abbildung 81 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der dritten Gruppe graphisch als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Monate mit deren Standardabweichungen an. Nach 4 Monaten ergibt sich ein MW \pm SD von 13,70 \pm 5,56, nach 6 Monaten erhält man Werte von 13,64 \pm 6,54 und nach 8 Monaten bekommt man Werte von 9,32 \pm 3,77.



Abbildung 81: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

5.5.4. KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI 4 MONATEN

In Abbildung 82 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand der drei Gruppen nach 4 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 15,96 \pm 5,98, bei der zweiten Gruppe erhält man einen Wert von 8,72 \pm 6,67 und in der dritten Gruppe bekommt man einen Wert von 13,70 \pm 5,56.



Abbildung 82: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand im Vergleich der drei Gruppen bei 4 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

5.5.5. KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI 6 MONATEN

In Abbildung 83 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand der drei Gruppen nach 6 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 22,94 \pm 7,20, bei der zweiten Gruppe erhält man einen Wert von 6,15 \pm 7,54 und in der dritten Gruppe bekommt man einen Wert von 13,64 \pm 6,54.



Abbildung 83: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand im Vergleich der drei Gruppen bei 6 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

5.5.6. KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI 8 MONATEN

In Abbildung 84 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand der drei Gruppen nach 8 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 19,54 \pm 11,03, bei der zweiten Gruppe erhält man einen Wert von 14,61 \pm 8,13 und in der dritten Gruppe bekommt man einen Wert von 9,32 \pm 3,77.



Abbildung 84: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand im Vergleich der drei Gruppen bei 8 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

5.6. SAGITTALE MESSUNG – KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS (CNR)

Die folgenden Graphen der Abbildungen 86 - 91 zeigen die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand innerhalb der unterschiedlichen Gruppen zu den drei gemessenen Zeitpunkten. Die Ergebnisse erfolgten an transversalen Schnitten der Aortenwurzel in sagittaler Aufnahme.



Abbildung 85: Das weiße Kästchen A zeigt exemplarisch die Aortenwurzel, an der die Messungen erfolgten.

5.6.1. SAGITTALE MESSUNG – KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI GRUPPE 1

In Abbildung 86 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der ersten Gruppe graphisch als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Monate mit deren Standardabweichungen an. Nach 4 Monaten ergibt sich ein MW \pm SD von 10,41 \pm 6,49, nach 6 Monaten erhält man Werte von 20,64 \pm 10,70 und nach 8 Monaten bekommt man Werte von 14,61 \pm 4,05.



Abbildung 86: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

5.6.2. SAGITTALE MESSUNG – KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI GRUPPE 2

In Abbildung 87 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der zweiten Gruppe graphisch als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Monate mit deren Standardabweichungen an. Nach 4 Monaten ergibt sich ein MW \pm SD von 11,69 \pm 5,54, nach 6 Monaten erhält man Werte von 18,47 \pm 9,12 und nach 8 Monaten bekommt man Werte von 15,38 \pm 7,56.



Abbildung 87: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

5.6.3. SAGITTALE MESSUNG – KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI GRUPPE 3

In Abbildung 88 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 4, 6 und 8 Monaten der dritten Gruppe graphisch als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Monate mit deren Standardabweichungen an. Nach 4 Monaten ergibt sich ein MW \pm SD von 12,29 \pm 5,29, nach 6 Monaten erhält man Werte von 14,63 \pm 7,30 und nach 8 Monaten bekommt man Werte von 12,56 \pm 2,95.



Abbildung 88: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand über den Zeitraum von 8 Monaten, gemessen nach jeweils 4, 6 und 8 Monaten. (MW \pm SD; n = 6 Tiere).

5.6.4. SAGITTALE MESSUNG – KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI 4 MONATEN

In Abbildung 89 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand der drei Gruppen nach 4 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 10,41 \pm 6,49, bei der zweiten Gruppe erhält man einen Wert von 11,69 \pm 5,54 und in der dritten Gruppe bekommt man einen Wert von 12,29 \pm 5,29.



Abbildung 89: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand im Vergleich der drei Gruppen bei 4 Monaten zueinander. ($MW \pm SD$; n = 6 Tiere je Gruppe).

5.6.5. SAGITTALE MESSUNG – KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI 6 MONATEN

In Abbildung 90 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand der drei Gruppen nach 6 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 20,64 \pm 10,70, bei der zweiten Gruppe erhält man einen Wert von 18,47 \pm 9,12 und in der dritten Gruppe bekommt man einen Wert von 14,63 \pm 7,30.



Abbildung 90: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand im Vergleich der drei Gruppen bei 6 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

5.6.6. SAGITTALE MESSUNG – KONTRAST-ZU-RAUSCH-VERHÄLTNIS BEI 8 MONATEN

In Abbildung 91 sind die numerischen Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nichtpathologischer Gefäßwand und pathologisch veränderter Gefäßwand der drei Gruppen nach 8 Monaten als Balkendiagramme dargestellt. Die Balkendiagramme geben die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen mit deren Standardabweichungen an. Bei der ersten Gruppe ergibt sich ein MW \pm SD von 14,61 \pm 4,05, bei der zweiten Gruppe erhält man einen Wert von 15,38 \pm 7,56 und in der dritten Gruppe bekommt man einen Wert von 12,56 \pm 2,95.



Abbildung 91: Numerische Ergebnisse des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen nicht-pathologischer und pathologisch veränderter Gefäßwand im Vergleich der drei Gruppen bei 8 Monaten zueinander. (MW \pm SD; n = 6 Tiere je Gruppe).

Zusammenfassend sind nochmals alle ausgewerteten Ergebnisse dieser Arbeit in der Tabelle 3 dargestellt.

5.7. TABELLARISCHE ÜBERSICHT DER GESAMTEN MESSERGEBNISSE

Tabelle 3: Übersicht der gesamten Messergebnisse.

	Alter	Gruppe 1		Gruppe 2		Gruppe 3	
		MW	SD	MW	SD	MW	SD
Aortenwurzelfläche	4 Monate	3,35	0,69	3,68	0,66	4,29	0,93
	6 Monate	3,31	0,72	3,81	0,68	4,68	1,12
	8 Monate	3,47	0,64	3,04	0,61	4,35	0,48
Lumenfläche	4 Monate	1,75	0,23	1,97	0,24	2,11	0,56
	6 Monate	2,08	0,65	2,13	0,65	2,21	0,52
	8 Monate	1,96	0,50	1,67	0,25	1,95	0,38
Lumenfläche zu Aortenwurzelfläche [%]	4 Monate	53,00	7,00	55,00	9,00	49,00	6,00
	6 Monate	62,00	9,00	55,00	9,00	47,00	3,00
	8 Monate	56,00	7,00	56,00	5,00	44,00	4,00
Plaquefläche	4 Monate	1,14	0,80	1,29	0,51	1,89	0,43
	6 Monate	0,88	0,28	0,61	0,26	1,78	0,57
	8 Monate	1,01	0,34	0,54	0,16	1,94	0,22
Plaquefläche zu Aortenwurzelfläche [%]	4 Monate	31,00	16,00	30,00	13,00	44,00	7,00
	6 Monate	27,00	8,00	18,00	10,00	38,00	8,00
	8 Monate	30,00	13,00	18,00	6,00	45,00	4,00
Aortenbogenfläche	4 Monate	3,21	0,44	3,69	0,49	3,56	0,42
	6 Monate	3,49	0,63	3,63	0,39	3,87	0,62
	8 Monate	3,17	0,16	4,02	0,46	3,31	0,63
Lumenfläche	4 Monate	2,29	0,20	2,35	0,39	2,53	0,33
	6 Monate	2,54	0,50	2,53	0,26	2,75	0,33
	8 Monate	2,25	0,16	2,73	0,34	2,39	0,50
Lumenfläche zu Aortenbogenfläche [%]	4 Monate	72,00	5,00	63,00	5,00	71,00	5,00
	6 Monate	73,00	3,00	70,00	5,00	72,00	4,00
	8 Monate	71,00	2,00	68,00	7,00	72,00	2,00
Plaquefläche	4 Monate	0,44	0,07	0,63	0,13	0,89	0,28
	6 Monate	0,43	0,13	0,65	0,09	0,98	0,21
	8 Monate	0,36	0,12	0,71	0,27	0,88	0,19
Plaquefläche zu Aortenbogenfläche [%]	4 Monate	14,00	1,00	17,00	4,00	25,00	<mark>6,00</mark>
	6 Monate	13,00	5,00	18,00	3,00	25,00	4,00
	8 Monate	11,00	4,00	17,00	5,00	27,00	2,00
Sudan	8 Monate	5,04	2,34	19,75	2,84	32,91	1,47
Aortenwurzelfläche	Histo	1,29	0,30	1,73	0,29	2,65	0,34
Lumenfläche	Histo	1,07	0,24	1,33	0,18	1,92	0,30
Lumen/Aortenw.fl. [%]	Histo	83,00	4,00	77,00	3,00	72,00	2,00
Plaquefläche	Histo	0,10	0,07	0,27	0,08	0,56	0,08
Plaque/Aortenw.fl. [%]	Histo	7,00	4,00	15,00	2,00	21,00	2,00
MAC 3	8 Monate	0,90	0,36	2,65	0,57	3,11	0,43
CNR	4 Monate	15,96	5,89	8,72	6,67	13,70	5,56
	6 Monate	22,94	7,20	6,15	7,54	13,64	6,54
	8 Monate	19,54	11,03	14,61	8,13	9,32	3,77
CNR sagittal	4 Monate	10,41	6,49	11,69	5,54	12,29	5,29
	6 Monate	20,64	10,70	18,47	9,12	14,63	7,30
	8 Monate	14,61	4,05	15,38	7,56	12,56	2,95

6. DISKUSSION

Die vorliegende Arbeit untersuchte drei unterschiedliche Behandlungsformen von ApoE^(-/-) KO Mäusen mittels Hochfeld MRT 7 Tesla und Immunhistochemie/Histomorphometrie über 8 Monate. In Gruppe 1 befanden sich die Tiere, die über 8 Monate West-Diät mit Ezetimib bekommen haben. In der Gruppe 2 befanden sich die Tiere, die die ersten 4 Monate nur West-Diät und anschließend 4 Monate eine West-Diät mit Ezetimib bekommen haben und die Gruppe 3 bekam 8 Monate lang nur West-Diät. Die Mäuse wurden jeweils nach 4, 6 und 8 Monaten im MRT an der Aortenwurzel und dem Aortenbogen untersucht. Die nach 8 Monaten aufgenommenen MRT-Bilder sind den korrespondierenden Querschnitten der Histologie der drei Gruppen jeweils gegenübergestellt worden.

Vorhergehende Arbeiten dieser Arbeitsgruppe [Dietrich et al., 2009] haben gezeigt, dass die Analyse der Atherosklerose der fettgefütterten ApoE^(-/-) KO Mäuse mit der Hochfeld MRT 7 Tesla prinzipiell möglich ist. Das Ziel dieser Arbeit war es, Langzeitverlaufsbeobachtungen und Entwicklung sowie Progression der Atherosklerose bei fettgefütterten ApoE^(-/-) KO Mäusen mit dem 7 Tesla MRT zu untersuchen. Darüber hinaus sollte mittels Intervention mit einem cholesterinsenkenden Medikament (Ezetimib) der Effekt auf die Entwicklung und Progression der atherosklerotischen Läsionen mit dem MRT 7 Tesla untersucht werden. Zur Referenz dienten parallel durchgeführte immunhistochemische Untersuchungen, die mit den MRT Ergebnissen gute Korrelationen zeigten.

6.1. STABILITÄT DES MRT-SYSTEMS

Zuerst musste überprüft werden, inwieweit die numerischen Ergebnisse des MRT innerhalb verschiedener, unabhängiger Messungen reproduzierbar sind. Um am Hochfeld MRT in vivo numerische Auswertungen durchführen zu können, muss ein stabiles Messsystem vorliegen, damit sich die Daten statistisch vergleichen lassen. Da sich das MRT bei jeder Messung neu initialisiert, sind die Signalintensitäten nicht direkt miteinander zu vergleichen. Das MRT stellt sich immer auf den hellsten "Punkt" (Voxel) ein, so dass numerische Daten, wie das Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis, notwendig sind, um unterschiedliche Messungen miteinander vergleichen zu können. Aus diesem Grund wurden die Signalintensitäten mit der Standardabweichung des Hintergrundrauschens (Standardabweichung des Signals, das in der Luft gemessen worden ist) korrigiert und damit auf das Rauschen normiert [Kaufmann et al., 1989].

Um eine *Image*-Technik zu evaluieren, ist die Bestimmung und Beurteilung der gesetzten ROI, die mehrere Volumenpixel enthält, notwendig. Definiert wird der Wert durch die Varianz der Volumenpixel einer ROI, die man an einer zu untersuchenden Stelle positioniert. Dazu ist es am einfachsten, den Wert an dem Ort zu messen, an dem kein Signal ist, das "Rauschen" [Kaufmann et al., 1989]. In der vorliegenden Arbeit entspricht dies dem Hintergrund neben dem zu messenden Objekt, der Luft. Gleichzeitig wurde als interne Referenz, zur zusätzlichen Überprüfung der Stabilität des MRT-Messverfahrens, der Skelettmuskel der Schulter der Maus (musculus trapezius) herangezogen, einer möglichst homogenen Stelle innerhalb des Messfeldes. Die Schwierigkeit die sich ergab war, dass der Muskel vielleicht von der Graustufe her

homogen aussieht, es aber nicht sein muss. Die Ergebnisse des Boxplots zeigen, dass die ROI's eine größere Streubreite (Muskel MW $38,6 \times 10^6 \pm \text{SD } 1,9 \times 10^6$) haben.

Das Signal der Luft wurde gemessen und die dazugehörige Standardabweichung graphisch als Boxplot dargestellt. Es ergab, dass die Streubreite des Rauschens bei 360 unabhängigen Messungen von ein und derselben Sequenz bei dem verwendeten MRT sehr gering ist und auch die Standardabweichung nicht stark streut. Der Mittelwert (MW $33,7\times10^6$) und die Standardabweichung (SD $2,3\times10^6$) weisen nur eine geringe Streubreite auf. Der Muskel, der als interne Referenz dient, verdeutlicht, dass die Messwerte des Signals Muskel von 360 Messungen bei 18 Mäusen, trotz des nicht unbedingt homogenen Muskels, ebenfalls eine Stabilität zeigt. Die Werte von dem Signal Muskel weisen ebenfalls nur eine geringe Streubreite auf. Die Schwankungen der Ergebnisse lassen sich auf die abweichenden Positionierungen der ROIs durch den Untersucher zurückführen. Allgemein erlangt man so zu stabilen Messergebnissen in der genutzten Versuchsanordnung. Es wird somit das Stabilitätskriterium erfüllt und es konnten weitere numerische Analysen an den MRT-Bildern vorgenommen werden.

6.1.1. DIE APOE^(-/-) KO MAUS ALS ATHEROSKLEROSEMODELL

Die ApoE^(-/-)KO Maus ist ein sogenanntes Hyperlipoproteinmodell, aufgrund der Steigerung des LDL- und des Cholesterinspiegels durch die West-Diät, und zählt deshalb zu den bestbeschriebenen Atherosklerosemodellen. Hier werden zur Forcierung der Ausbildung von atherosklerotischen Läsionen die Bluttfettwerte der Mäuse zusätzlich erhöht, indem den Tieren eine hoch cholesterinreiche, sog. West-Diät gegeben wird [Nakashima et al.; 1994]. So wird das Hypercholesterinmodell zum "Ultracholesterinmodell" [Jackson 2006]. Die atherosklerotisch veränderten ApoE^(-/-) KO Mäuse-Gefäße ähneln humanen atherosklerotischen Gefäßen. Das schnelle Ausbilden der atherosklerotischen Läsionen innerhalb weniger Wochen macht dieses Modell zudem vergleichsweise kostengünstig. Auch die Ausprägungsorte, die Aortenwurzel und der Aortenbogen, der atherosklerotischen Plaques in der thorakalen Aorta ähneln denen des Menschen. So beginnt die Atherosklerose in dem Mausmodell, wie beim Menschen an charakteristischen Stellen. Zu sehen ist auch, dass die Plaquebildung zuerst im Bereich der Aortenwurzel und dann im Aortenbogen stattfindet [Mateuszuk L et al., 2009].

Eine Schwierigkeit in der Vergleichbarkeit stellt die kleine Größe der murinen Gefäße, z.B. der Aorta, dar. Deshalb wurde auch für das Mausmodell speziell ein Kleintier MRT mit 7 Tesla eingesetzt, um hochauflösende Bilder zu erzeugen. Es wurden zwei verschiedenen Stellen der thorakalen Aorta, Aortenwurzel und Aortenbogen, an der sich die Plaques manifestiert haben, untersucht. Trotz der Limitationen, dass das Mausmodell sehr klein ist, zeigt die vorliegende Arbeit, dass es mit der Interventionsstudie mit Ezetimib gezielt manipulierbar und durch das MRT atherosklerotische Läsionen detektierbar ist.

6.1.2. MONITORING DER ATHEROSKLEROSE MIT HILFE DES 7 TESLA MRT IM APOE^(,-,-)KO MODELL

Die Problematik der Versuche lag darin, die Mäuse bzw. die Aortenwurzel und den Aortenbogen in dem 7 Tesla über den Zeitraum von 8 Monaten zu untersuchen. Die Schwierigkeit bestand hierbei, nach 4, 6 und 8 Monaten immer exakt an der gleichen Stelle zu messen, obwohl es ständig zu veränderten Situationen kam, wie z.B. dem Herzschlag und der Atmung. Aufgrund der hohen Herzfrequenz bei Mäusen von 300 - 800 Schläge/min (physiologisch) während der Untersuchungen wurde die Atemfrequenz im Durchschnitt von 163 Respirationen/min (physiologisch) gemessen und mit einer Respiratiosrate durch die Narkose (2% Isofluran) auf 30 ± 2 Atemzüge pro Minute gesenkt, so dass der Scanner mindestens drei R-Zaken trigger Impulse pro Atemzug nutzt. Damit stößt die bildgebende Methode an ihre Auflösungsgrenze, in einer zu vertretenden Messzeit bei in vivo Untersuchungen von ungefähr 25 Minuten pro Sequenz. Dies erklärt auch, dass zuvor veröffentlichte MRT Studien mit diesem Mausmodell eher ex vivo Daten-Scans des MRT von der Bauchaorta gemacht haben, wie in der Literatur von McAteer at al. (2004), Schneider JE et al. (2004) oder Fayad ZA et al. (1998) beschrieben. Es gibt jedoch einige Studien, welche die thorakalen Aorten bereits in vivo mit dem MRT untersucht und ähnlich gute Ergebnisse erzielt hatten [Hockings PD et al, 2002, Dietrich T et al., 2007, Chaabane L et al, 2004 und Trogan E et al, 2004]. Bei Trogan et al. (2004) wurde aber der thorakale Abschnitt der Aorta abpräpariert und unten in den Bereich der Bauchaorta einer anderen Maus transplantiert, so dass man die oben beschriebenen Schwierigkeiten, (Atmung und die schnelle Herzfrequenz), vermeiden konnte.

In den Versuchen in dieser Arbeit wurde nur der thorakale Bereich der Aorta untersucht. Das Ziel dieser Arbeit war, herauszufinden, wie sich die unterschiedlichen Behandlungsformen, also Fütterung mit West-Diät und Zugabe von Ezetimib, auf die atherosklerotischen Veränderungen in diesem Modell auswirken und inwieweit man diese Veränderungen in dem Kleintiermodell darstellen und mittels Hochfeld MRT beurteilen kann. Pilotstudien unserer Arbeitsgruppe haben gezeigt, dass der CNR-Wert (Kontrast zu Rausch), zu niedrig ist, um eine ausreichende Bildqualität für die quantitative Analyse der Aortenwand zu erreichen [Dietrich T et al., 2009]. Um aussagekräftige numerische Auswertungen vornehmen zu können, wurde daher das Kontrastmittel Gadolinium-DTPA (Gd-DTPA, Magnevist[®] Bayer, Berlin/Deutschland) eingesetzt. Verschiedene Autoren haben bereits berichtet, dass aufgrund der Anwendung von Magnevist[®] eine verbesserte Bildqualität zu erzielen ist [Nakagami H et al., 2009, Dietrich et al.; 2009, Chaabane L et al., 2004]. Das Kontrastmittel zeigte schon nach 25 min eine starke Signalintensitätszunahme. Das intravenös verabreichte Kontrastmittel Gd-DTPA verteilt sich im Extrazellularraum des Körpers. Dies führt zu einer Relaxationsverkürzung (T1-Zeit) dieser Räume. Da der Extrazellularraum von Organ zu Organ unterschiedlich ist, bestimmt die Größe des Extrazellularraumes die Signalbeeinflussung. Durch das Kontrastmittel erhalten verschiedene Organe eine unterschiedliche Kontrastierung bei gleicher Kontrastmitteldosis [Schörner et al.; 1984]. So konnte man eine sehr gute Abgrenzung von der Aortenwurzel und der Aortenbogenwand sowie dem umliegenden Gewebe erzielen. Auch die Aortenklappensegel mit den atherosklerotischen Veränderungen lassen sich so gut sichtbar machen.

Um ein noch besseres Signal-zu-Rausch Verhältnis zu erhalten wurden die beiden unterschiedlichen Aortenabschnitte, die Aortenwurzel und den Aortenbogen mit 3D Sequenz Parametern aufgenommen. Letztendlich wurden aber nur 10 Schichten des 3D Satzes rekonstruiert, was sich jedoch als ausreichend für diese Art der Auswertung erwiesen hat. So besitzen die einzelnen Schichten des MRT eine Schichtdicke von 250 µm und in der Histologie sind die Schichten nur 5µm dick. Aus diesem Grund reicht die Auflösung des MRT nicht an die der Histologie heran. Trotzdem ist es möglich den Verlauf der Atherosklerose und deren Therapie mittels MRT zu monitoren, wie schon Dietrich et al. (2009) beschrieben hat.

Das primäre Ziel der Ezetimib Intervention war zu untersuchen, ob eine Reduktion der Atherosklerose, mit Hilfe des Medikaments, durch die MRT Untersuchungen nachgewiesen werden konnte und mit der Histologie verglichen werden kann. In der Gruppe 1, die die West-Diät mit EZE durchgehend über 8 Monate erhalten hatte, kann man eine Veränderung bezüglich der Aortenwurzelfläche während der 8 Monate mit der MRT nicht erkennen, auch die Lumen sowie die Plaqueflächen zeigen über den Zeitraum von 8 Monaten keine signifikanten Änderungen. Man erkennt bei der Aorten-, Lumen- und Plaquefläche, dass sich die Daten in der MRT-Messung nicht signifikant durch die Therapie verändern.

Auffallend nach dem vierten Monat ist jedoch die Streubreite bei der Plaquefläche, der Gruppe 1 bei 4 Monaten. Die Streuung innerhalb einer Gruppe bzw. innerhalb der Gruppen kann verschiedene Ursachen haben. Trotz hoher Präzision in Zucht und Haltung der Tiere sind derartige Schwankungen ebenso Ausdruck genetischer Varianz. Desweiteren gibt es in jeder Tiergruppe immer ein Alphatier und dementsprechende Rangordnungen. Diese Faktoren sind immer Bestandteil und Manko von Tierversuchen. Um diese Unterschiede statistisch zu vermeiden, müssten die Gruppengrößen wesentlich größer gewählt werden, was aber erheblich mehr Versuchstiere erfordert. Aus Gründen des Tierschutzes kann dies aber im Rahmen dieser Arbeit nicht gewährleistet werden.

Bei 6 und 8 Monaten scheinen diese Unterschiede geringer zu werden, denn die Streubreite nimmt dort ab, jedoch findet sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

Bei der Gruppe 1 (8 Monate West mit EZE) beträgt der prozentuale Plaqueanteil der Aortenwurzelfläche bei 4 Monaten $31\% \pm 16\%$, bei 6 Monaten $27\% \pm 8\%$ und bei 8 Monaten $30\% \pm 13\%$ (p = nicht signifikant). Der Plaqueanteil verringert sich somit in der MRT-Messung gering. Jedoch sieht man in der Gruppe 2, Abbildung 27 B (4 Monate West und nach 4 Monaten Zugabe von EZE) sehr deutlich, wie nach Einsetzung des EZE die Werte bei 6 und 8 Monaten eine abnehmende Tendenz aufweisen. So senkt sich der Plaqueanteil von $30\% \pm 13\%$ bei 4 Monaten auf $18\% \pm 10\%$ bei 6 Monaten und $18\% \pm 6\%$ bei 8 Monaten. So kommt es durch die Zugabe des EZE bei 6 und 8 Monaten zu einer quantitativen Reduktion der Plaqueflächen. Die Gruppe 3 (8 Monate West) demonstriert, dass ohne die Zugabe von EZE die Plaquewerte ansteigen, so bekommt man bei 4 Monaten einen Wert von $44\% \pm 7\%$, bei 6 Monaten $38\% \pm$ 8% und bei 8 Monaten erhält man den Wert $45\% \pm 4\%$.

Somit zeigen diese Daten, dass die pharmakologische Wirkung des EZE auf die ApoE^(-/-) KO Mäuse mit Hilfe des MRT- *Imaging* nachvollzogen werden kann.

Des Weiteren konnte, bezogen auf die Lumenfläche der drei Gruppen während der 4, 6 und 8 Monate beobachtet werden, dass bei Gruppe 1 (8 Monate West mit EZE) und Gruppe 2 (4 Monate West und 4 Monate EZE) der Lumenanteil im Durchschnitt 55% beträgt, während sich bei der Gruppe 3, die 8 Monate durchgehend mit West-Diät gefüttert worden sind, nur ein durchschnittlicher Wert von 47% ergibt (p = nicht signifikant).

Bei der Gruppe 3 würde man eine stärkere Abnahme der Lumenfläche erwarten, da durch die West-Diät eine stärkere Lumeneinengung zustande kommen müsste. Bei den Aortenwurzelflächen lässt sich während der 8 Monate innerhalb der Gruppen eine Veränderung feststellen. Die Aortenwurzelfläche in Gruppe 1 ist bei 4 Monaten 3,35 mm² \pm 0,69 mm² und bei 6 Monaten 3,31 mm² \pm 0,72 mm² groß, zu erwarten wäre, dass die Fläche schon bei 6 Monaten viel kleiner sein müsste. Bei der Gruppe 2 erkennt man sogar einen Zuwachs der Aortenwurzelfläche. So beträt die Fläche bei 4 Monaten 3,68 mm² \pm 0,66 mm² und bei 6 Monaten 3,81 mm² \pm 0,68 mm². Die Aortenwurzelfläche steigt zwischen 4 und 6 Monaten eher an als dass sie kleiner wird. Bei der Gruppe 3 steigt die Aortenwurzelfläche ebenfalls zwischen 4 und 6 Monaten an, so bekommt man bei 4 Monaten einen Wert von 4,29 mm² \pm 0,93 mm² und bei 6 Monaten einen Wert von $4.68 \text{ mm}^2 \pm 1.12 \text{ mm}^2$. Ab dem achten Monat kommt es dann sowohl bei Gruppe 3 ($4.35 \text{ mm}^2 \pm 0.48 \text{ mm}^2$) als auch bei Gruppe 2 (3,04 mm² \pm 0,61 mm²) zu einer Abnahme der Aortenwurzelfläche. Dies ist auf den sogenannten Glagov-Effekt zurückzuführen [Glagov et al., 1987]. Das Gefäß dilatiert also nach außen um die Minderdurchblutung durch die Plaquebildung innerhalb des Gefäßes zu kompensieren. Die Flächenabnahme bei der Gruppe 3 nach 8 Monaten lässt sich dadurch erklären, dass es zu einer chronischen Umbauphase in der Plaque kommt, in der die Plaques fibrosieren. Aus der instabilen (vulnerablen) Plaque entwickelt sich eine stabilere Plaque mit dicker fibröser Kappe und kleineren Lipidkern aus [Rosenfeld ME et al., 2008].

Aufgrund des Glagov-Effektes verringert sich der innere Gefäßdurchmesser bei menschlichen Koronargefäßen allerdings erst nachdem mehr als 40% des Umfanges pathologisch verändert ist. Bis dahin wird der Plaquezuwachs durch eine Dilatation kompensiert. Es findet somit zunächst ein Gefäßzuwachs nach außen statt [Glagov et al., 1987].

Bei den Auswertungen des Aortenbogens ergaben sich ähnliche Ergebnisse. Wie zu erwarten, lassen sich bei der Gruppe 1 keine großen Veränderungen der Plaqueflächen erkennen. In der Gruppe 2 lässt sich mit der MRT erst eine Zunahme des Lumenanteils bei 4 Monaten $63\% \pm 5\%$ und bei 6 Monaten $70\% \pm 5\%$ und nach der Wirkung von EZE eine leichte Abnahme bei 8 Monaten von $68\% \pm 7\%$ erkennen. Ähnlich ist das auch beim Plaqueanteil zu beobachten. So erhält man bei 4 Monaten einen Wert von $17\% \pm 4\%$, bei 6 Monaten $18\% \pm 3\%$ und nach der Zugabe von EZE wieder eine Abnahme bei 8 Monaten auf $17\% \pm 5\%$ (p = nicht signifikant). In Gruppe 3 lässt sich wieder gut der Glagov-Effekt zeigen, da sich der Lumenanteil kaum verändert, er bleibt während den 8 Monaten konstant bei ungefähr $72\% \pm 4\%$. Der Plaqueanteil nimmt wie zu erwarten zu. Zusammenfassend kann man sagen, dass das Medikament EZE bei den Gruppen 1 und 2 durch das Absenken des Cholesterin- und LDL-Serum-Spiegels die Plaquefläche der Aorten reduziert, was man mit Hilfe der hochauflösenden Hochfeld 7 Tesla MRT gut zeigen konnte.

Im Gegensatz dazu, lässt sich bei den Gruppen 1, 2 und 3 nach 4 Monaten eine Steigerung in der Aortenwurzel-, Lumen- und Plaquefläche zeigen. Nach 6 Monaten ist ein deutlicher Zuwachs bezogen auf die Plaqueflächen zu sehen, da die Fütterungszeit länger ist und dementsprechend bereits einen größeren Effekt auf die Gefäße ausgeübt hat.

Man erhält bei der statistischen Auswertung signifikante Unterschiede bei den Plaqueflächen der Gruppe 2 (4 Monate West-Diät und 4 Monate West-Diät mit EZE) und der Gruppe 3 (8 Monate West-Diät) mit p = 0,04. Die Plaquezunahme liegt bei Gruppe 3 um 11% höher als bei Gruppe 1, da bei Gruppe 3 keine Zugabe von EZE erfolgte (p = 0,085). Die Lumenfläche bleibt bei 8 Monaten innerhalb der Gruppen 1, 2 und 3 annähernd konstant über den untersuchten Zeitraum, was wieder auf den Glagov-Effekt zurückzuführen ist, da die Blutversorgung der Organe gewährleistet bleiben muss.

Bei den Auswertungen der Aortenbogenfläche erhält man bei 4 und 6 Monaten jeweils bei den Gruppen 1, 2 und 3 vergleichbare Ergebnisse. Erst bei 8 Monaten sieht man aufgrund der längeren Therapie einen Unterschied. So kann man bei Gruppe 1 mit 3,17 mm² \pm 0,16 mm² und Gruppe 2 mit 4,02 mm² \pm 0,46 mm² einen Zuwachs der Aortenbogenfläche und bei Gruppe 3 eine Abnahme mit 3,31 mm² \pm 0,63 mm² erkennen. Besonders deutlich wird der Unterschied in der Plaquezunahme innerhalb der Gruppen bei 8 Monaten. So beträgt der Plaqueanteil bei Gruppe 1 (4 Monate West-Diät mit EZE) 11%, bei Gruppe 2 (4 Monate West-Diät und 4 Monate West-Diät mit EZE) 17% und bei Gruppe 3 (8 Monate West-Diät) bereits 27 %. Zwischen den Gruppen 1 und 3 herrscht eine hohe Signifikanz (p < 0,001) und zwischen den Gruppen 2 und 3 eine Signifikanz (p = 0,005). Anhand der Ergebnisse kann man sagen, dass das Medikament EZE bei den Gruppen 1 und 2 die Plaqueflächen der Aorten reduziert. Somit ist es mittels MRT- *Imaging* gelungen, anhand des ApoE^(-/-) KO Mausmodells, durch die Wirkung von EZE, Veränderungen an der thorakalen Aorta darzustellen.

6.1.3. SUDAN III-FÄRBUNG

Es sind in allen Phasen der Atherogenese Lipidansammlungen, von Lipidtröpfchen gefüllten Makrophagen bei der ersten Intimaläsionen über *Fatty Streaks* hin zu Schaumzellen und Cholesterinkristallen zu finden [Libby P et al., 2002]. Diese Fettansammlungen werden durch den lipophilen Sudan III-Farbstoff angefärbt. Folglich eignet sich die Sudan III-Färbung dazu, im Rahmen der durchgeführten Versuche, die Plaqueflächen der murinen Aorten zuverlässig zu bestimmen. Da die lipidreichen, mit Sudan III gefärbten Areale, gut abgrenzbar von den nicht gefärbten Gefäßbereichen der Gefäßwand sind, war zudem eine zuverlässige computergestützte Auswertung mit Hilfe der Farbschwellenwertbestimmung des Programms AnalySIS[®] möglich. Bei den in vivo im MRT dargestellten Gefäßabschnitten als auch bei den histologischen Schnitten bekommt man nur einen kleinen bzw. punktuellen Abschnitt von atherosklerotischen Veränderungen zu sehen. Die Sudan III-Färbung korreliert deshalb auch nicht mit den MRT und histologischen Ergebnissen. Sie gibt jedoch einen guten Überblick und "bestätigt" die Werte von der MRT und der Histologie, welche eine Zunahme der Atherosklerose zeigen.

Bei den Messergebnissen der drei Gruppen nach 8 Monaten lassen sich sehr deutliche Unterschiede der prozentualen Anteile der Sudan III positiven Flächen in der thorakalen Aorta erkennen. Das Medikament EZE reduziert in den Gruppen 1 und 2 signifikant die Sudan III- gefärbten Flächen. Die Abbildung 61 B verdeutlicht, den hohen signifikanten Unterschied zwischen der 1 und 3 Gruppe (p < 0,001), ebenfalls signifikant ist der Unterschied zwischen Gruppe 1 und 2 (p = 0,001) und der Gruppe 2 und 3 (p = 0,001). So betragen die Sudan III positiven Flächen zur thorakalen Aorta bei Gruppe 3, 32% und bei Gruppe 1 nur 5%. Das EZE reduziert bei der Gruppe 1 die Atheroskleroseflächen in den Mäuseaorten um 27% und bei der Gruppe 2 um 13%.

6.1.4. ANALYSE DER INFLAMMATION MITTELS MAKROPHAGEN FÄRBUNG

Zur Analyse der inflammatorischen Komponente der Plaque wurde die Mac-3 Färbung genutzt. Nach 8 Monaten wurden die immunhistochemischen Präparate computergestützt analysiert. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Intervention mit dem lipidsenkenden EZE, die inflammatorischen Plaqueanteile um 70% reduziert.

Aus der Veröffentlichung von Seedorf et al. (2004) geht hervor, dass EZE auch eine antiinflammatorische Wirkung auf die Funktion humaner Makrophagen hat. Die Autoren zeigen, dass die Makrophagen durch das Medikament gehemmt werden, oxidiertes LDL zu phagozytieren. Weniger oxLDL führt zu weniger phagozytierenden Makrophagen und zu einer Hemmung der Phagozytose, was zu einer Abnahme der Entzündungen führt.

6.1.5. AUSWERTUNG DER HISTOLOGISCHEN ERGEBNISSE

Man kann bezogen auf die Aortenwurzel-, Lumen- und Plaquefläche in der HE-Färbung deutlich die unterschiedlichen Behandlungserfolge in den drei Gruppen erkennen. Wie zu erwarten, misst man in der Gruppe 1, die von Anfang an EZE bekommen hat die geringsten Plaqueflächen von 7%, in der Gruppe 3 ohne jegliche EZE Behandlung die größten Plaqueflächen von 21%. In der Gruppe 2, in der erst nach 4 Monaten mit der EZE Behandlung begonnen wurde, kann mit einer Plaquefläche von 15% eine deutliche Reduzierung der Plaqueflächen gegenüber der Gruppe 3 ohne EZE Behandlung, aber nicht so geringe Plaqueflächen wie in der Gruppe 1 gemessen werden.

Die Gruppen 1, 2 und 3 bestätigen nach Auswertung aller Ergebnisse eine signifikante Wirkung des EZE auf die makroskopische und mikroskopische Plaqueentwicklung und die immunhistochemische Ergebnisse.

6.1.6. KORRELATION DER MRT- UND HISTOLOGISCHEN ERGEBNISSE

Es muss nochmal auf folgende Problematiken hingewiesen werden: Nach der Datenerfassung im MRT wurden die Gefäße histologisch aufbereitet. Eine kontinuierliche Schnittfolge wie in der MRT ist in der Histologie nur begrenzt möglich. Eine 1:1 Entsprechung zu den MRT Daten ist somit nicht 100% möglich. Ein weiteres Problem ist die unterschiedliche Schichtdicke der Schnitte. Die histologischen Schnitte sind damit 5µm und die MRT-Bilder 250µm dick. Zwischen benachbart liegenden MRT-Schnitten verändert sich die Anatomie viel mehr als zwischen aufeinanderfolgenden histologischen Bildern. Somit konnte nicht jedem Schnitt ein MRT-Bild von der Morphologie her zugeordnet werden.

Zusätzlich war es schwierig das histologische Präparat mit MRT-Bildern zu vergleichen, da es im Rahmen der Gefäßpräparation zu nicht-linearen Schrumpfungsprozessen kam. Einem histologischen Bild standen 10 MRT-Bilder Aortenwurzel/Aortenbogen gegenüber. Die anatomische Zuordnung zu den MRT-Bildern erfolgte an charakteristischen Merkmalen wie Lumenform sowie Plaquelage und –form.

Es wurde zum Vergleich der MRT und der histologischen Ergebnisse der Aortenwurzel- Lumen- und Plaqueflächen sowohl eine Korrelation nach PEARSON und ein Bland-Altmann Plot erstellt.

Es besteht bei allen Gruppen hinweg eine gute Korrelation (r = 0,64; p = 0,004 bei n = 18) zwischen den MRT und histologischen-Daten bei den Aortenwurzelflächen. Man kann auch sehr gut die Abgrenzungen, der einzelnen Gruppen sehen. Es bilden sich regelrechte Cluster zwischen den Gruppen aus.

Man erkennt jedoch, dass man im MRT in vivo größere Flächen als an den histologischen Schnitten misst. Der Bland-Altmann Plot stellt zudem eine geringe Streuung dar und zeigt somit eine gute Vergleichbarkeit zwischen den histologischen Schnitten und den MRT-Bildern. Bei dem Bland-Altmann Plot lässt sich auch die Clusterbildung der einzelnen Gruppen gut erkennen.

Bei den Lumenflächen ergibt sich eine geringere Korrelation von r = 0,357; p = 0,146. Dies kann an der Aufbereitung der Schnitte für die Histologie mit 5µm Schichtdicke zum MRT mit 250µm (partial Volumen Effekte) liegen. Zusätzlich kommt noch der schnelle Herzschlag der Mäuse bei den MRT-Messungen in vivo hinzu, so dass es ungewiss ist, in welcher Phase des Herzzyklus die MRT Messung erfolgt. Man erhält bei der Histologie im Gegensatz zu der MRT ein komplett relaxiertes Gefäß. Bei den in vivo MRT-Bildern wurde das Bild gewählt, auf welchem die Gefäßwand am besten abgegrenzt werden kann.

Man kann jedoch die Abgrenzungen der jeweiligen Gruppen wie auch die Zunahme der Lumenfläche unter den einzelnen Gruppen gut erkennen. Die Korrelation alleine ist nicht aussagekräftig genug. Trotz der schlechten Korrelation zeigt aber der Bland-Altmann Plot eine gute Übereinstimmung zwischen der Histologie und der MRT. Der Bland-Altmann Plot verdeutlicht auch hier die geringen Abweichungen der Messergebnisse, trotz der beschriebenen Problematiken.

Die Plaqueflächen weisen eine Korrelation von r = 0,572; p = 0,013 auf. Es lassen sich wieder gut die Zunahme der Plaqueflächen bei Gruppe 3 (8 Monate West-Diät) darstellen, die sich klar von den anderen beiden Gruppen abhebt. So befindet sich die Gruppe 3 zwischen 2,2 mm² und 1,8 mm², während die Gruppe 2 (4 Monate West-Diät und 4 Monate West-Diät mit EZE) zwischen 0,2 mm² und 0,8 mm² und die Gruppe 1 (8 Monate West-Diät mit EZE) zwischen 0,5 mm² und 1,5 mm² liegt. Man kann auch hier die

Clusterbildung der einzelnen Gruppen erkennen. Die Abweichungen der beiden unterschiedlichen Messmethoden sind sehr gering.

Allerdings lassen sich die Plaqueflächen nicht gut von der Media und der Adventitia getrennt voneinander im MRT abgrenzen und einzeln bestimmen. In der Histologie ist dies jedoch möglich. Um die Ergebnisse der MRT und der Histologie besser vergleichen zu können wurde zusätzlich die Wandfläche und die mittlere Wanddicke, sowohl von den MRT- als auch von den Histologie-Ergebnissen berechnet, da in beiden zwischen Plaque und Media hierdurch kein Unterschied gemacht wird. Die histologischen Ergebnisse werden somit gegenüber den MRT Ergebnissen zwar etwas "verschlechtert", jedoch lassen sich die Daten hierdurch besser vergleichen.

Neben den Aortenwurzel-, Plaque- und Lumenflächen wurden somit auch die Wanddicken und die Wandflächen untersucht. Hierbei wurden sowohl die MRT-Ergebnisse als auch die histologischen Ergebnisse miteinander verglichen. Es besteht bei der Gruppe 1 (8 Monate West mit EZE), der Gruppe 2 (4 Monate West und 4 Monate EZE) und der Gruppe 3 (8 Monate West) eine hohe Korrelation von p < 0,001; r = 0,744 zwischen den MRT und histologischen Daten der Wanddicken. Auch bei den Wandflächen besteht zwischen den drei Gruppen eine hohe signifikante Korrelation von p < 0,001; r = 0,786. Der Bland-Altmann Plot verdeutlicht die geringen Abweichungen der Messergebnisse. Mit diesen Ergebnissen wird bestätigt, dass das Monitoring mit dem MRT eine geeignete Methode darstellt, um Gefäßveränderungen und das Fortschreiten von atherosklerotischer Plaque darzustellen und das sich ähnlich gute Ergebnisse wie in der Histologie ergeben.

Zusätzlich kann man auch bei den Kontrast-zu-Rausch (CNR)-Werten Unterschiede feststellen. So steigen bei den Gruppen 1, 2 und 3 nach 4 und 6 Monaten die Signalintensitäten der MRT Bilder an und nehmen nach 8 Monaten wieder ab. Dies resultiert aus den Umbauvorgängen in der Plaque bei 8 Monaten wobei sie fibrotischer und in sich stabiler wird. Besonders bei 6 Monaten ist die Plaque durch eine dünne fibröse Membran und einen lipidreichen Kern gekennzeichnet und gibt deshalb ein stärkeres Signal als bei 8 Monaten ab. Diesen Effekt kann man auch erkennen wenn man die einzelnen Gruppen bei 4, 6 und 8 Monaten misst. Nach 4 Monaten beträgt die Signalintensität bei der Gruppe 1: $10,41 \pm 6,49$ und nimmt geringfügig bei Gruppe 3 auf $12,29 \pm 5,29$ zu. Schaut man sich nun die Ergebnisse nach 6 Monaten an, sieht man, dass die Signalintensitäten von Gruppe 1 bis 3 kontinuierlich abnehmen. Gruppe 1: $20,64 \pm 10,70$; Gruppe 2: $18,47 \pm 9,12$; Gruppe 3: $14,63 \pm 7,30$. Auch bei 8 Monaten lässt sich eine Abnahme der Signalintensität von Gruppe 2 mit $15,38 \pm 7,56$ auf Gruppe 3 mit $12,56 \pm 2,95$ erkennen. Somit kann festgestellt werden, dass die Signalintensitäten zwischen dem sechsten und achten Monat aufgrund der Umstrukturierung der Plaque stabiler, bzw. fibrotischer wird und es deshalb zu einer Abnahme der Signalintensitäten kommt.

Zusammenfassend wurde in dieser experimentellen Studie erfolgreich gezeigt, dass die hochauflösende Magnetresonanztomographie in der Lage ist, die Genauigkeit atherosklerotische Läsionen darzustellen. In der folgenden Abbildung 92 wird der Auflösungsunterschied zwischen der Histologie und der MRT noch mal schematisch dargestellt. Im MRT misst man in vivo größere Flächen als an den histologischen

Diskussion

Schnitten. Das liegt zum einen an der Aufbereitung der Schnitte für die Histologie mit 5 μ m Schichtdicke zum MRT mit 250 μ m (partial Volumen Effekte). Zudem ist die Abgrenzung im MRT zwischen der Adventitia und der Media bei einer planaren Auflösung von 110 × 110 μ m im MRT in vivo begrenzt.

Man erhält zwar eine 65-fach bessere Auflösung in der Histologie als in der MRT, trotzdem konnten wir den Therapieverlauf der Interventionsstudie mittels MRT darstellen. Obwohl es sich hierbei nicht wie bei der Histologie um ein starres, also um ein bewegendes System handelt, wurde eine gute Korrelation erzielt, wenn man die Auswertekriterien des etwas gröberen "schlechter" aufgelösten Bildgebungsverfahrens, hier 7 Tesla MRT anwendet.



Abbildung 92: Schematische Darstellung des Auflösungsunterschiedes von der Histologie rechts zu der MRT links. Man erhält in der Histologie eine circa 65-fach bessere Auflösung als in der hochauflösenden 7 Tesla MRT.

Somit ist eine genaue Analyse dieser Interventionsstudie in dem Modell in vivo prinzipiell möglich. Die qualitative Beurteilung der Wandfläche und der Wanddicke korreliert stark mit den Ergebnissen der Histologie. Dadurch stützen die Ergebnisse den Nutzen der hochauflösenden MRT für weitere experimentelle Studien zur Entstehung und Progression der Atherosklerose.

Weiterhin konnte demonstriert werden, dass nicht nur die Zugabe von EZE von Anfang an zu einer Reduktion bestehender Plaques führt, sondern, dass schon vorhandene atherosklerotische Veränderungen die Tendenz zeigen kleiner zu werden, wenn sie erst nach einer gewissen Zeit mit EZE behandelt werden.

Auch konnte gezeigt werden, dass sich diese Veränderungen mittels der Hochfeld MRT in vivo in diesem Modell untersuchen lassen.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob man im Hoch-Fett-Diät ApoE^(-/-) *Knockout* (KO) Mausmodell der Atherosklerose, Veränderungen der atherosklerotischen Läsionen unter Therapie mit dem Cholesterinabsorptionshemmer Ezetimib (EZE) mittels eines hochauflösenden MRT 7 Tesla verfolgen kann und diese MRT-Aufnahmen mit den histomorphologischen Bildern korrelieren. Die ApoE^(-/-) KO Mäuse erhielten hierfür West-Diät oder ein West-Diät/EZE-Gemisch (0,005% der Futtermenge) über einen Zeitraum von 8 Monaten. Die Tiere wurden hierzu in drei Gruppen eingeteilt. Die Gruppe 1 (n = 6) erhielt über 8 Monate West-Diät mit EZE, die Gruppe 2 (n = 6) 4 Monate West-Diät und darauffolgend über weitere 4 Monate West-Diät mit EZE. Die Gruppe 3 (n = 6) erhielt durchgehend West-Diät über 8 Monate. Alle Tiere wurden zu festgelegten Zeiten (4, 6 und 8 Monaten) im 7 Tesla MRT untersucht. Anhand der erhobenen Bilder wurden Aortenwurzel- und Aortenbogen-, sowie Plaque- und Lumenflächen quantifiziert. Die Plaquequantität wurde mit histologischen und immunhistochemischen Methoden (Nachweis von

Makrophagen als Marker für die Infiltration mit mononuklären inflammatorischen Zellen) beurteilt. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass das 7 Tesla MRT-Messsystem stabile, reproduzierbare und miteinander vergleichbare Messdaten liefert. So konnten in vivo zuverlässige intensive Signale innerhalb der Plaque der thorakalen Aorta und der angrenzenden Gefäßwand dargestellt werden. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die EZE-Behandlung zu einer signifikanten Reduktion der Plaquegröße in Hoch-Fett-Diät gefütterten ApoE^(-/-) (KO) Mausmodell führte. Insbesondere konnte demonstriert werden, dass nicht nur die EZE-Therapie zu Beginn der Fettfütterung die Ausbildung der atherosklerotischen Läsionen signifikant reduziert, sondern dass auch eine nach 4 Monaten Fettfütterung begonnene EZE-Therapie zu

einer Reduktion der atherosklerotischen Läsionen führt. Dies war begleitet von einer Reduktion der Infiltration der Plaques mit Makrophagen. Zusammenfassend demonstriert diese Arbeit somit, dass man die Entwicklung und Progression der

Atherosklerose, auch deren Therapie bei fettgefütterten $ApoE^{(--)}$ KO Mäusen mit dem 7 Tesla MRT untersuchen kann.

8. LITERATURVERZEICHNIS

Altmann SW, Davis HR, Zhu LJ, et al. Niemann-Pick C1 like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science* 2004; 303: 1201-1204.

Casscells W, Naghavi M, Willerson JT. Vulnerable Atherosclerotic Plaque: a multifocal disease. *Circulation* 2003; 107: 2072-2075.

Chaabane L, Pellet N, Bourdillon MC, et al. Contrast enhancement in atherosclerosis development in a mouse model: in vivo results at 2 Tesla. *MAGMA* 2004; 17: 188-195.

Cominacini L, Rigoni A, Fratta Pasini A, et al. The binding of oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) to ox-LDL receptor-1 in endothelial cells reduces the intracellular concentration of nitric oxide through an increased production of superoxide. *J Biol Chem* 2001; 276: 13750-13755.

Cornwell TL, Arnold E, Boerth NJ, et al. Inhibition of smooth muscle cell growth by nitric oxide and activation of camdependent protein kinase by cGMP. *Am J Physiol* 1994; 264: C1405-C1413.

Davies HR, Compton DS, Hoos LMM, et al. Deficiency of Niemann-Pick C1 Like 1 prevents atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 841-849.

De Graaf JC, Banga JD, Moncada S, et al. Nitric oxide functions as an inhibitor of platelet adhesion under flow conditions. *Circulation* 1992; 85: 2284-2290.

Dietrich T, Hucko T, Bourayou R, et al. High resolution magnetic resonance imaging in atherosclerotic mice treated with ezetimibe. *Int J cardiovasc Imaging* 2009; 25: 827-36.

Dietrich T, Perlitz C, Licha K, et al. ED-B fibronectin (ED-B) can be targeted using a novel single chain antibody conjugate and is associated with macrophage accumulation in atherosclerotic lesions. *Basic Res Cardiol* 2007; 102: 298-307.

Dobozy O, Kovacs P, Török O, et al. Biologiepraktikum - Ein Lernbehelf, Biologisches Institut der Semmelweis Universität zu Budapest für Medizin 1990; 23.

Fayad ZA, Fallon JT, Shinnar M, et al. Noninvasive in vivo high-resolution magnetic resonance imaging of atherosclerotic lesions in genetically engineered mice. *Circulation* 1998; 98: 1541-1547.

Fayad ZA, Sirol M, Nikolaou K, et al. Magnetic resonance imaging and computed tomography in assessment of atherosclerotic plaque. *Circulation* 2000; 101: 586-9.

Fayad ZA, Fuster V, Nikolaou K, et al. Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging for Noninvasive Coronary Angiography and Plaque Imaging. *Circulation* 2002; 106: 2026-2034.

Felton CV, Crook D, Davies MJ, et al. Relation of plaque lipid composition and morphology to the stability of human aortic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1337-1345.

Fuster V, Maseri A. Is There a Vulnerable Plaque? Circulation 2003; 107: 2068-2071.

Galies Z, Sukhova G, Lark M, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 94: 2493-2503.

Gauthier TW, Scalia R, Murohara T, et al. Nitric oxide protects against leukocyte-endothelium interactions in the early stages of hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1652-1659.

Gaziano TA, Bitton A, Anand S, et al. Growing epidemic of coronary heart disease in low- and middleincome countries. *Curr Probl Cardiol* 2010; 35: 72-115.

Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, et al. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1987; 316: 1371-1375.

Helft G, Worthley SG, Fuster V, et al. Atherosclerotic aortic component quantification by noninvasive magnetic resonance imaging: an in vivo study in rabbits. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1149-54.

Heinze G. Erfassung, Beschreibung und Visualisierung von medizinischen Daten, Vorlesungsbegleitendes Skript. Institut für Klinische Biometrie. Medizinische Universität Wien, 2004.

Hockings PD, Roberts T, Galloway GJ, et al. Repeated three-dimensional magnetic resonance imaging of atherosclerosis development in innominate arteries of low-density lipoprotein receptor-knockout mice. *Circulation* 2002; 106: 1716-1721.

Jackson CL. Ruptures of delight? A new mouse model of plaque rupture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1304-9.

Johnson J, Carson K, Williams H, et al. Plaque Rupture After Short Periods of Fat Feeding in the Apolipoprotein E-Knockout Mouse Model, Characterization and Effects of Pravstatin Treatment. *Circulation* 2005; 111: 1422-1430.

Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, et al. Peripheral blood levels of metalloproteases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 368- 372

Kaufmann L, David M, Kramer LE, et al. Measuring Signal-to-Nois Ratios in MR Imaging. *Radiology* 1989; 173: 265-267.

Leonhardt H. Kreislauforgane. In: Leonhardt H (Hrsg.). Histology, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen. 8. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart – New York 1990.

Libby P. Atherosclerosis. In: Fauci, Braunwalder, Isselbacher, Wilson, Martin, Kasper, Hauser, Longo (Hrsg.). Harrison's principles of internal medicine. 14th edition, Mc Graw-Hill Health Professions Devision, New York-St.Louis-San Francisco-Auckland-Bogotá-Caracas-Lisbon-London-Madrid-Mexico City-Milan-Montreal-New Delhi-Dan Juan-Singapore-Sydney-Tokyo-Toronto 1998.

Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and Atherosclerosis. Circulation 2002; 105: 1135-1143

Lioyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, et al. Heart disease and stroke statistics—2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 119 (2009) e21-181.

Mateuszuk L, Khomich TI, Slominska E, et al. Activation of nicotinamide N-methyltransferase and increased formation of 1-methylnicotinamide (MNA) in atherosclerosis. *Pharmacol Rep* 2009; 61: 76-85.

McAteer MA, Schneider JE, Clarke K, et al. Quantification and 3D reconstruction of atherosclerotic plaque components in apolipoprotein E knockout mice using ex vivo high-resolution MRI. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 2384-2390

Moll KJ, Moll M. Allgemeine Anatomie und Histologie. In: Moll KJ, Moll M (Hrsg.). Anatomie. 14. Auflage, Jungjohann Verlagsgesellschaft, Neckarsulm- Lübeck – Ulm 1995.

Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020. Global Burden of disease study. *Lancet* 1997; 349: 1498-504.

Naghavi M, Libby P, Falk E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies. *Circulation* 2003; 108: 1664-72.

Nakagami H, Osako MK, Takami Y, et al. Vascular protective effects of ezetimibe in ApoE-deficient mice. *Atherosclerosis* 2009; 203: 51-58.

Nakashima Y, Plump AS, Raines EW, et al. ApoE-Deficient Mice Develop Lesions of All Phases of Atherosclerosis Throughout the Arterial Tree. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 133-40.

Nunnari JJ, Zand T, Joris I, et al. Quantitation of oil red O staining of the aorta in hypercholesterolemic rats. *Exp Mol Pathol* 1989; 51: 1-8.

Osterud B, Bjorklid E. Role of monocytes in atherogenesis. Physiol Rev 2003; 83: 1069-112.

Piedrahita JA, Zhang SH, Hagaman JR, et al. Generation of Mice Carrying a Mutant Apolipoprotein E Gene Inactivated by Gene Targeting in Embryonic Stem Cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 4471-4475.

Reiser M, Semmler W. Magnetresonanztomographie. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, Budapest, 1992.

Rosenfeld ME, Averill MM, Bennett BJ, et al. Progression and disruption of advanced atherosclerotic plaques in murine models. *Curr Drug Targets* 2008; 9: 210-6.

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis - an update. N Engl J Med 1986; 314: 488-500.

Saam T. Quantitative Evaluation of Carotid Plaque Composition by In Vivo. Vasc Biol 2005; 25: 234-239

Schild H. H. MRI Made easy. (Schering AG 1990).

Schneider JE, McAteer MA, Tayler DJ, et al. High resolution, multicontrast three-dimensional-MRI characterizes atherosclerotic plaque composition in ApoE^(-/-) mice ex vivo. *J Magn Reson Imaging* 2004; 20: 981-989.

Schörner W, Felix R, Laniado M, et al. Human testing of the nuclear spin tomographic contrast medium gadolinium;DTPA. Tolerance, contrast affects and the 1st clinical results. *Rofo* 1984; 140: 493-500.

Seedorf U, Engel T, Lueken A, et al. Cholesterol absorption inhibitor Ezetimib blocks uptake of oxidized LDL in human macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 320: 1337-1341.

Trogan E, Fayad ZA, IItskovich VV, et al. Serial studies of mouse atherosclerosis by in vivo magnetic resonance imaging detect lesion regression after correction of dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1714-1719.

VanderLaan PA, Reardon CA, Getz GS. Site specifity of atherosclerosis: site-selective responses to atherosclerotic modulators. *Arteriocsler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 12- 22.

DANKSAGUNG

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Philipp Stawowy, Leiter der Arbeitsgruppe für experimentelle Kardiologie am Deutschen Herzzentrum Berlin danke ich für die Vergabe des Themas, seine Diskussionen und wichtige Hilfestellungen bei der Erstellung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. rer. medic. Thore Dietrich für die Durchführung der Tierversuche, die Bereitstellung der MRT-Bilder, sowie für die hervorragende Anleitung und Hilfestellung während der Versuchsdurchführungen und statistischen Auswertungen. Frau Marlene Neumann danke ich für Ihre Hilfe bei der Erstellung der immunhistologischen Präparate.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinem Freund, Herrn Lars Frotscher, für seine tatkräftige Unterstützung bei allen computertechnischen Fragen bedanken.

Die Arbeiten der Arbeitsgruppe wurden unterstützt durch den Zukunftsfond Berlin / TSB Medici.

ERKLÄRUNG

"Ich, Pia Patrizia Weyers, erkläre, dass die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: "Verlaufsbeobachtung einer Cholesterin-senkenden Therapie im Maus ApoE^(-/-) KO Atherosklerosemodell: Korrelation zwischen Hochfeld MRT (7 TESLA) und Histologie" 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".

Datum: _____

Unterschrift: _____

LEBENSLAUF

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Datum:

Unterschrift: