

2 Methodik

2.1 Versuchstiere

Für diesen Versuchsablauf wurden zwanzig doppeltransgene Ratten (dTGR) mit einer Überexpression von menschlichem Renin und einer gleichzeitigen Überexpression an Angiotensinogen verwendet. Des Weiteren wurde eine Gruppe mit sieben Sprague-Dawley-Ratten (SD) geführt.

2.1.1 Sprague-Dawley-Ratten

Für die Versuchsreihe wurden als Kontrollgruppe männliche Sprague-Dawley-Ratten (SD) untersucht. Die SD-Ratten wurden von der Firma Mollegaard Breeding Centre Deutschland GmbH, Schönwalde, Germany geliefert. Sie waren vier Wochen alt und ihr Gewicht lag bei 108 (\pm 6) g.

Die SD-Gruppe wurde im Tierhaus bei einer konstanten Temperatur von 23° C gehalten. Sie unterlagen einem 12 Stunden Tag-Nacht-Zyklus. Der Tag-Rhythmus begann um 6.00 Uhr und endete um 18.00 Uhr. Danach begann der Nacht-Zyklus.

Die Angaben zur genaueren Futterverteilung sind in dem Kapitel 2.2 zusammengefasst.

2.1.2 Doppeltransgene Ratten

Die männlichen doppeltransgenen Ratten (dTGR) besaßen eine Überexpression von humanen Renin bei gleichzeitiger Überexpression von Angiotensinogen. Im Plasma hatten sie eine signifikant erhöhte Reninaktivität und einen chronisch erhöhten Blutdruck. Dies führte zu einer myokardialen Hypertrophieentwicklung [Bohlender et al. 1997, Bohlender et al. 2001].

Die Tiere wurden von der „Registration and Consulting Company Ltd.“ Füllinsdorf bei Basel, Schweiz, bezogen. Sie waren vier Wochen alt und ihr Gewicht lag zwischen 68 g und 114 g. Der Median des Gewichtes in dieser Gruppe betrug 77,5 g.

Auch die dTGR-Gruppe wurde im Tierhaus bei einer konstanten Temperatur von 23° C gehalten. Wie die SD-Gruppe unterlagen sie einem 12 Stunden Tag-Nacht-Zyklus. Der Tag-Rhythmus begann um 6.00 Uhr und endete um 18.00 Uhr. Danach begann wieder der Nacht-Zyklus. Die Angaben zur genaueren Futterverteilung sind in dem Kapitel 2.2 zusammengefasst.

2.2 Studienprotokoll

Die dTGR-Gruppe wurde mit Hilfe der Randomisierung in zwei Untergruppen eingeteilt. Acht Ratten bekamen während der gesamten Versuchszeit nach der ersten magnetokardiographischen Messung zu ihrem Standardfutter kontinuierlich Losartan verabreicht (dTGR/Los). Hier wurden 30mg Losartan pro kg Standardfutter am Tag beigesetzt. Die anderen zwölf Ratten wurden als „unbehandelte“ doppeltransgene Ratten (dTGR) zur Losartangruppe geführt. Die dTGR-Gruppe erhielt normales Standardfutter ohne Zusätze.

Als separate Vergleichsgruppe wurde der dTGR- und dTGR/Los-Gruppen eine SD-Gruppe, als Kontrollgruppe gegenübergestellt. Auch sie erhielten ein Standardfutter ohne Zusätze. Für alle drei Rattengruppen war der Zugang zum Futter frei, und sie bekamen eine 1%ige NaCl-Lösung zu trinken.

Für die dTGR/Los-, dTGR- Gruppe und die SD-Tiere wurden drei magnetokardiographische Messungen durchgeführt. Sie erfolgten in einem Alter von 4, 5 und 7 Wochen (s. Tab. 1). Vor der jeweiligen MKG-Untersuchung wurden alle Ratten mit einer Ketavet- und einer 2%igen Rompun-Narkose anästhesiert.

Die Ergebnisse der Blutdruck-, Echokardiographie- und Laborwerte wurden bei den Ratten im Alter von 5, 6 und 7 Wochen ermittelt. Sie wurden im Rahmen einer größeren Studie zur Verfügung gestellt.

Bei der echokardiographischen Messung erfolgte eine Narkose der Ratten mit einem Gemisch aus 2-3%igen Isofluran und Sauerstoff.

Für die Versuche erteilte das Landesamt für Landesschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin die Genehmigung (Genehmigungsnummer: G 0240/01).

| | dTGR | dTGR/Los | SD |
|-----------------------|---|--|------------------|
| 4. Woche | MKG-Untersuchung | MKG-Untersuchung; Nach der MKG-Messung Beginn der Losartantherapie | MKG-Untersuchung |
| 5. Woche | MKG-Untersuchung; Blutdruckmessung Albuminuriebestimmung | MKG-Untersuchung; Blutdruckmessung Albuminuriebestimmung | MKG-Untersuchung |
| 6. Woche | Blutdruckmessung Albuminuriebestimmung | Blutdruckmessung Albuminuriebestimmung | |
| 7. Woche | MKG-Messung; Blutdruckmessung; Echokardiographie Albuminuriebestimmung | MKG-Untersuchung; Blutdruckmessung; Echokardiographie Albuminuriebestimmung | MKG-Untersuchung |
| nach Obduktion | Körper-, Nieren-, Herzgewichtsbestimmung | Körper-, Nieren-, Herzgewichtsbestimmung | |

Tab. 1: Tabellarische Darstellung des zeitlichen Verlaufes des Studienprotokolls für die doppeltransgenen Ratten mit (dTGR/Los) und ohne (dTGR) Losartanbehandlung und der Kontrollgruppe SD (Sprague Dawley). MKG = Magnetokardiographie.

2.3 Diagnostische Untersuchungsmethoden

2.3.1 Magnetokardiographie

2.3.1.1 Technische Voraussetzungen

Mit einer Sieben-Kanal-Magnet-Messanlage wurden die magnetokardiographischen Messungen registriert. Die Messvorrichtung bestand aus SQUIDS. Diese Detektoren sind höchst empfindliche Induktionselemente im supraleitenden heliumgekühlten Zustand bei einer Temperatur von 4,2 K (-269°C). An das Gerät wurde ein axiales Gradiometer zweiter Ordnung gekoppelt, um Störquellen herauszufiltern.

Der Durchmesser der Pickup-Spulen des Magnetokariogramms lag bei 2 cm. Die Messungen wurden in einem speziellen Messraum durchgeführt, der aus zwei Wänden eines nichtmagnetischen Mumetalls bestand. Zusätzlich hatte die Wand eine Legierung aus Eisen und Nickel und war zwischen diesen beiden Wänden mit Aluminium versehen, was als innerer Leitfähigkeitsschirm diente. Die Abschirmeigenschaften dieses magnetisch abgeschirmten Raumes waren von der Frequenz abhängig. Der Abschirmfaktor lag bei einer Frequenz von 10 Hz größer als 10.000.

Die Innenausstattung der Kammer bestand aus:

- einer Sieben-Kanal-Magnet-Messanlage, die 7 SQUID-Systeme enthält,
- einem nichtmagnetischen manuell positionierbarer Kleintiertisch,
- einem EKG-Gerät „Cardiofax Q“ der Firma Nikon Kohden

Im Rahmen dieser Studie war es notwendig, einen Kleintiertisch (s. Abb. 7) für die magnetokardiographische Messung zu entwickeln. Dieser Tisch musste drei Eigenschaften aufweisen: das magnetische Feld unbeeinflusst lassen, eine immer exakt identische Positionierung der Ratte gewährleisten und eine ausreichende Sicherheit und Stabilität bieten.

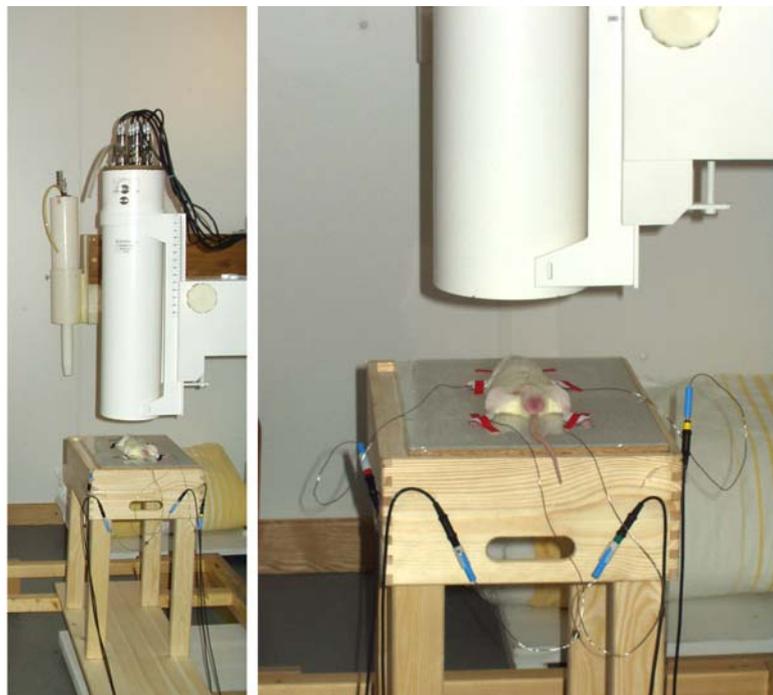


Abb. 7: Anordnung der Messvorrichtung für die magnetokardiographische Messung (nach Fischer 2005).

Die Niedrig-Temperatur-supraleitende (low-temperature superconducting (LTS)) Gradiometer-Systemanlage befand sich für die Messungen in der vertikalen Messebene. So wurde die z-Komponente, welches der sagittalen Ebene entspricht, des sich zeitlich ändernden Magnetfeldes berührungsfrei über dem Thorax aufgenommen. Abb. 8 zeigt die Position der SQUID-Sensoren während der MKG-Aufnahme.

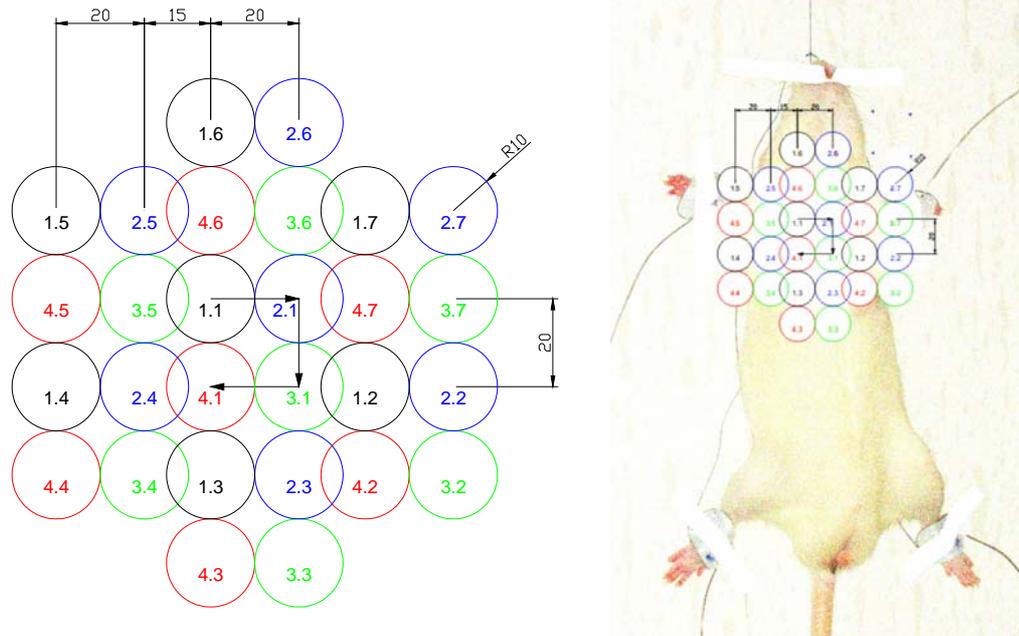


Abb. 8: Die linke Abbildung zeigt die Position der SQUID-Sensoren während den einzelnen MKG-Aufnahmen. Daneben ist die MKG-Sensorposition über dem Rattentorso gezeigt. Die Punkte 1.1 bis 1.7 (schwarze Kreise) geben die Ausgangslage der SQUID-Sensoren bei der 7 Kanalmessanlage des Magnetokardiographen an. Dabei hat jeder SQUID-Sensor einen Durchmesser von 2 cm. Die schwarzen Pfeile zeigen die jeweilige Lageveränderung der Sensoren um 2 cm an. Durch die Verschiebung des Gitters konnten jeweils weitere Positionen gemessen werden. Die zweite Position zeigen die blauen Kreise mit den Zahlen 2.1 bis 2.7 an. Die grünen Kreise mit den Nummern 3.1 bis 3.7 bilden die dritte Position. Anhand der roten Kreise soll die letzte Position der SQUID-Sensoren mit den Zahlen 4.1 bis 4.7 dargestellt werden. Durch Verschiebung der Sensoren in Richtung des Uhrzeigersinns konnte ein größeres Messfeld registriert werden. (Alle Angaben der Markierung in mm).

2.3.1.2 Durchführung der Magnetokardiographie

Die narkotisierte Ratte wurde auf die Messplatzvorrichtung gelegt und mit Hilfe von amagnetischen EKG-Elektroden auf dem Rücken liegend fixiert. Durch eine zusätzliche Verwendung von Klebebändern, konnte der Halt der Elektroden wesentlich verstärkt werden.

Das kardiale Magnetfeld wurde über der anterioren Thoraxwand der Ratte registriert. Dabei fand die Erfassung der magnetokardiographischen Daten in der Frontalebene statt. Der Abstand zwischen Messplattenvorrichtung und Sensor betrug 5,5 cm. Die Komponenten des magnetischen Feldes, die sich senkrecht zum Thorax ausbreiteten, wurden in einem entsprechenden Gitter registriert.

Jede einzelne der vier Zwischenmessungen dauerte ca. 30 Sekunden und erfolgte bei einer Abtastrate (sampling rate) von 1000 Hz. Die erste Messung begann in der Ausgangsposition. Am Ende jeder Zwischenmessung wurde die 7-Kanalanlage vom Ausgangspunkt um jeweils 2 cm im Uhrzeigersinn verschoben (s. Abb. 8), und die Parameter erneut gemessen. Durch die vier Messpunktstationen wurde ein 28-Punkte-Messgitter realisiert.

2.3.1.3 Auswertung der Magnetokardiographie

Die Auswertung der MKG-Daten vollzog sich in mehreren Arbeitsschritten:

Als Erstes wurden die gemittelten Daten aller Kanäle digital gefiltert. Daraufhin erfolgte eine Nulllinienkorrektur. Die R-Zacken-Position und der Beginn des QRS-Komplexes wurden bestimmt. Um einen repräsentativen Einzelschlag für jeden Messkanal zu erhalten, fand eine Mittelung mehrerer einander ähnlicher Schläge statt. Danach wurden die registrierten MKG-Daten für die weitere Bearbeitung in einem 28-Punkte-Gitter dargestellt (Abb. 9).

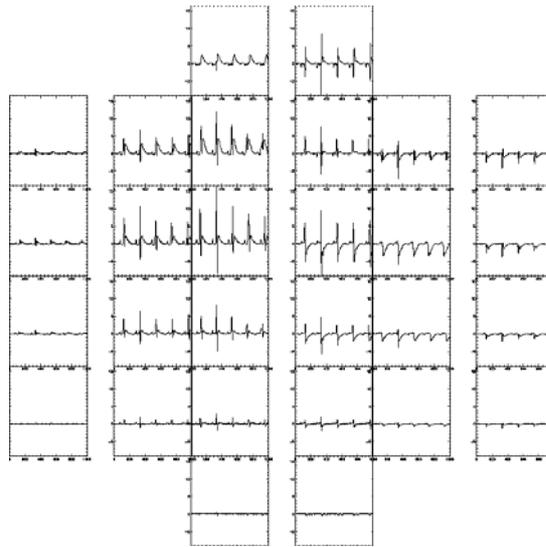


Abb. 9: MKG-Registrierung im 28-Punkte-Gitter mit Darstellung des Magnetsignals für jeden einzelnen SQUID-Sensor.

Die an den 28 Positionen gemessenen MKG-Kurven wurden über Interpolation in ein standardisiertes 6 x 6 Punkte-Gitter transformiert. Feldlinien gleicher Magnetfeldstärke, die so genannten Isofeldlinien, wurden bestimmt. Dabei wurden aus den bekannten Daten diese Werte errechnet und anschließend als Gesamt-Isfeldmappen dargestellt. Die Isofeldmappen beginnen zeitlich mit der Q-Zacke des QRS-Komplexes und enden nach der T-Welle. Ihre Darstellung für die Auswertung relevanten Zeitintervalle für die Arbeit befindet sich in Abb. 10 und 13.

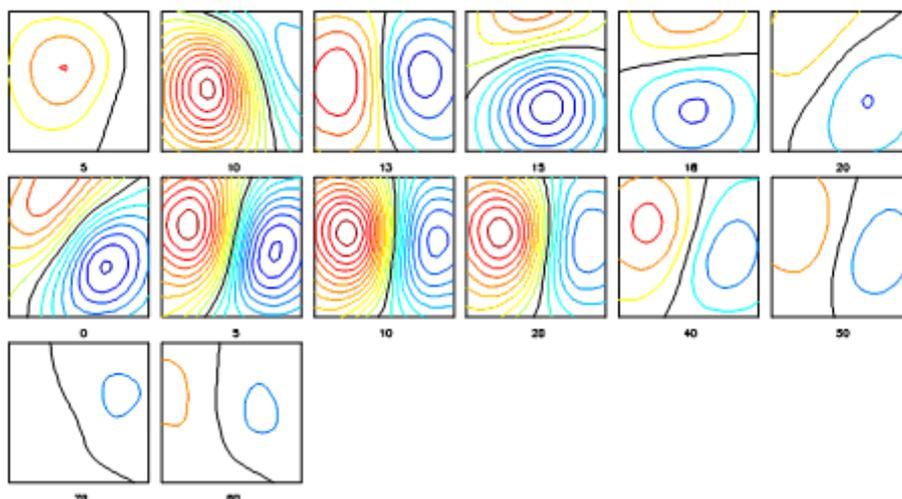


Abb. 10: Darstellung einer gesamten MKG-Isfeldlinienmappe. Die einzelnen Mappen werden von Beginn des QRS-Komplexes bis zum T-Wellenende dargestellt. Der Zeitpunkt des jeweiligen Bildes steht in Millisekunden mittig unter jedem Bild. Der Abstand zwischen den Isofeldlinien beträgt 0,3 pT. Rote Linien stehen für den Pluspol, blauen Linien für den Minuspol des Magnetfeldes.

Folgende Parameter wurden durch Berechnung aus dem 6 x 6 Gitter bestimmt:

1. Inhomogenitätsindex IHi: Er beschreibt die Magnetfeldverteilung um das Magnetfeldmaximum und -minimum herum. Für seine Berechnung werden zunächst die lokalen Extremata der jeweiligen Einzelmappen für die 28 gemessenen Positionen registriert. Anschließend wird die gemittelte Differenz zwischen dem Extremum und seinen Nachbarpunkten nach der Formel in Abb. 11 errechnet.

$$Dif_{extr} = \frac{1}{N_{Nachbar}} \sum_{i=1}^{N_{Nachbar}} (V_{extr} - V_i)$$

Abb. 11: Formel zur Errechnung der gemittelten Differenz zwischen dem Extremum (extr) der Magnetfeldstärke (V) und seinen Nachbarpunkten (Nachbar).

Im nächsten Schritt erfolgt die Summation der aus der vorherigen Formel (Abb. 11) bestimmten Absolutwerte (s. Abb. 12).

$$IHi = \sum_{i=1}^{N_{extr}} abs(Dif_i)$$

Abb. 12: Formel zur Errechnung des Inhomogenitätsindex IHi durch die Summe der Absolutwerte (abs) der gemittelten Differenz (Dif) zwischen dem Extremum der Magnetfeldstärken und seinen Nachbarpunkten.

In den Inhomogenitätsindex gehen die Anzahl der Magnetfeldextremata und das Verhalten des Magnetfeldes in der Extremwertumgebung ein. Die Einheit des Indexes ist relativ.

Ein großer IHi-Wert zeigt eine große Inhomogenität, während ein kleiner IHi-Wert eine kleine Inhomogenität darstellt.

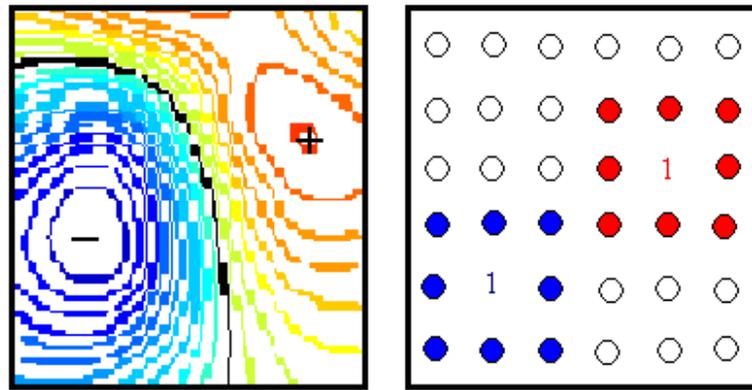


Abb. 13: Bildliche Darstellung zur Berechnung des Inhomogenitätsindex. Die linke Abbildung zeigt eine einzelne MKG-Isofeldlinienmappe aus einer Gesamtmappe. Dabei stellt die blaue Farbe den negativen Pol und die rote Farbe den positiven Pol des Magnetfeldes dar. Auf der rechten Abbildung ist das 6 x 6 Gitter dargestellt, aus dem die MKG-Isofeldmappe errechnet wird. Anhand des Gitters können die vorhandenen Minima und Maxima (hier mit der roten „1“ für das Maximum und für das Minimum die blaue „1“) bestimmt werden. Die neben den Zahlen rot bzw. blau markierten Kreise geben die direkten Nachbarpunkte zu den Minima und Maxima an. Diese Punkte gehen in die Formel für die Berechnung des Inhomogenitätsindex direkt mit ein.

2. Xmin und Xmax: Diese Werte geben die Positionen der X-Koordinate für das Minimum beziehungsweise für das Maximum des Magnetfeldes wieder. Die Einheit wird in cm angegeben.

3. Ymin und Ymax: Diese Parameter zeigen die Lage der Y-Koordinate für das Minimum beziehungsweise für das Maximum des Magnetfeldes an. Die hier verwendete Einheit ist eine Zentimeterangabe.

4. Vmin und Vmax: Sie stellen das Magnetfeldstärkenminimum und –maximum dar. Angegeben werden sie in der Einheit picoTesla (pico = 10^{-12}).

5. max-min: Dieser Parameter resultiert aus einer einfachen Addition der Beträge von den Magnetfeldstärken Vmin und Vmax (s. Abb. 14). Der Wert wird in picoTesla (pT) angegeben.

$$\text{max-min} = |V \text{ min}| + |V \text{ max}|$$

Abb. 14: Formel für die Berechnung des Parameters max-min aus der einfachen Addition der Beträge von den Magnetfeldstärken Vmin und Vmax.

6. Winkel: Der Winkel ergibt sich aus der gedachten Verbindungslinie zwischen dem Magnetfeldmaximum und dem –minimum, sowie der Geraden, die durch die Rechts-Links Linie des Torsos (entspricht der X-Koordinate der Magnetfeldmappe) bestimmt wird. Dies wird in Abb. 15 ersichtlich. Er wird in der Einheit Grad angegeben.

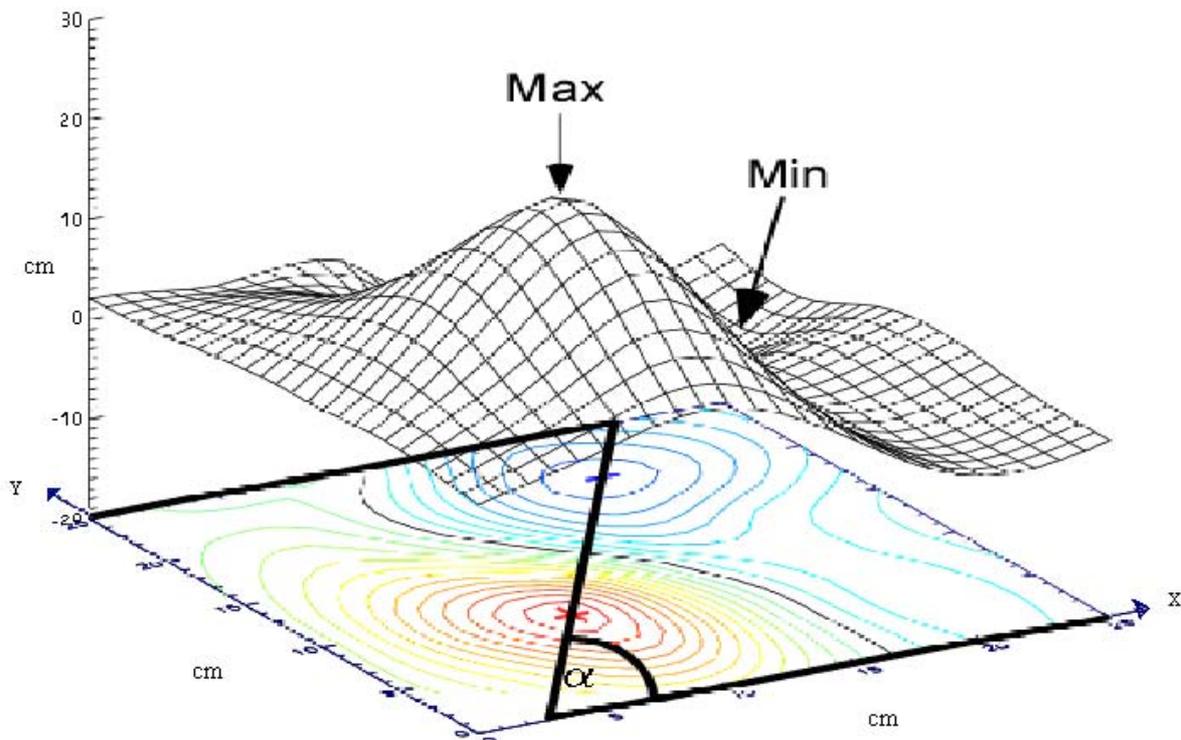


Abb. 15: Darstellung der Parameter des Magnetfeldmaximums und –minimums und des Winkels. Die graphische Darstellung stellt in dem unteren Abschnitt die zweidimensionale Anordnung des Magnetfeldes mit den Extrema dar. Hieraus ergibt sich die darüber befindliche dreidimensionale Abbildung zur besseren visuellen Verdeutlichung. Der Winkel ergibt sich aus der gedachten Verbindungslinie zwischen dem Magnetfeldmaximum und dem –minimum, sowie der Geraden, die durch die Rechts-Links Linie des Torsos (entspricht der X-Koordinate der Magnetfeldmappe) bestimmt wird (nach Gapelyuk 2005).

Die Darstellung der aus den Parametern gewonnenen Daten erfolgte graphisch in Form von Einzelkurven und einer daraus gemittelten Gesamtzeitverlaufskurve (s. Abb. 18, 20, 22).

Anhand des magnetokardiographischen Normalbildes der Ratte wurden die Zeitintervalle ausgewählt, die für die Charakterisierung des magnetokardiographischen Bildes als relevant betrachtet wurden. Diese Zeitintervalle korrespondieren mit entsprechenden

elektrokardiographischen Zeitintervallen, die in Studien hinsichtlich ihrer Sensitivität und Spezifität zum Nachweis typischer Hypertrophieveränderungen geprüft wurden [Levy et al. 1990].

Der erste Messzeitpunkt wurde zum Beginn der Ventrikeldepolarisation gesetzt, was vergleichbar mit dem Anfang der Q-Zacke im EKG ist. Dieser Zeitpunkt wurde zum Messpunkt 0 ms erklärt (s. Abb. 16). Der zweite Meßpunkt wurde 20 ms nach Messpunkt 0 gesetzt. Das daraus resultierende Zeitintervall wurde als QRS_{Gesamt} bezeichnet und erfasst die Depolarisationsphase. Um den Maximalwert der Depolarisationsamplitude zusätzlich zu berücksichtigen, wurde ein Zeitintervall von 8 ms nach dem gesetzten Nullpunkt bis 12 ms eingeführt. Das Messintervall wurde R_{Spitze} genannt.

Zur Beschreibung der Erregungsrückbildung wurde in den gemittelten MKG-Parameterkurven das Zeitintervall 20 ms nach dem oben gesetzten Nullpunkt bis 25 ms gewählt wie auch die Zeit 60 bis 70 ms. Die Zeit 20 bis 25 ms stellte den Zustand der vollkommenen Erregung im Herzen mit Beginn der Erregungsrückbildung dar. Vergleichbar ist dies im EKG mit der gesamten ST-Strecke bis zum Maximum der T-Wellen-Amplitude. Deshalb wurde dieser Zeitabschnitt als STT bezeichnet. Das zweite Zeitintervall von 60 bis 70 ms beinhaltete das Ende der Erregungsrückbildung. Hier endete die T-Welle. Aus diesem Grund wurde der Begriff T_{Ende} verwandt.

Zu diesen Zeitintervallen wurde jeweils das gemittelte Integral der MKG-Zeitverlaufskurven der Parameter für alle 9 Parameter bestimmt, die in der weiteren Auswertung verwandt wurden.

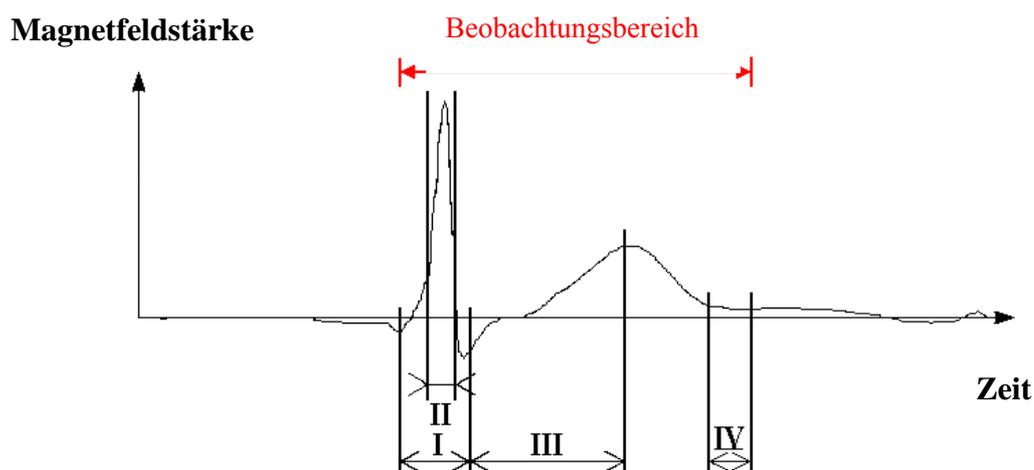


Abb. 16: Schematische Darstellung der Festlegung der Zeitintervalle.

Der rot markierte Bereich stellt den Ausschnitt des ausgewerteten MKG-Bereiches dar. Für die Depolarisationszeit wurden die Zeitgrenzen bei 0-20 ms (QRS_{Gesamt}) und bei 8-12 ms (R_{Spitze}) gesetzt. Die Repolarisation wurde in die Zeitintervalle 20-25 ms (STT) und 60-70 ms (T_{Ende}) eingeteilt.

2.3.2 Echokardiographische Untersuchung

Die narkotisierten Ratten wurden für die Messungen auf dem Rücken positioniert. Um die Signalqualität durch Verbesserung des Schallkopf-Hautkontaktes zu erhöhen, wurde das Fell im Bereich des Thoraxes rasiert.

Das Echokardiographiegerät besaß einen 10 MHz Schallkopf für Kleintieruntersuchungen, mit dessen Hilfe derselbe Untersucher alle morphologischen und funktionalen Parametererhebungen durchführte. Die Informationen erhielt er aus den links parasternalen und apikalen Bereichen. Den zweidimensionalen Blick in der kurzen Achse des linken Ventrikels erhielt man im M-Mode in der Höhe des Papillarmuskels.

Durchgeführt und ausgewertet wurde die Echokardiographie entsprechend den Richtlinien der Amerikanischen Gesellschaft für Echokardiographie. Im M-Mode-Echokardiogramm (= Ultraschallsignale werden entlang einer Linie aufgenommen und die zeitlich nacheinander erhaltenen Signale nebeneinander dargestellt) wurden der enddiastolische (LV-Diastole) und endsystolische Diameter (LV-Systole) des linken Ventrikels und die Dicke der Hinterwand (LVHW-Diastole) und des Interventrikularseptums (IVS-Diastole) in der Diastole gemessen. Aus dem M-Mode konnte die systolische Funktion anhand der prozentualen systolischen Verkürzungsfraction (percentage fractional shortening (LV%FS)) abgeleitet werden. Die Berechnung der FS erfolgte durch die Differenz des enddiastolischen (LVEDD) und endsystolischen (LVESD) linksventrikulären Diameters. Dieses Ergebnis wurde durch den LVEDD dividiert. Das entsprechende Resultat ergab eine Prozentzahl (s. Abb. 17).

$$LV\%FS = \frac{(LVEDD - LVESD)}{(LVEDD \times 100\%)}$$

Abb. 17: Formel für die Berechnung der prozentualen systolischen Verkürzungsfraction (LV%FS).

2.3.3 Nicht-invasive Blutdruckmessung

Zur Bestimmung der indirekten Blutdruckmessung an der Ratte wurde ein automatisches, computergestütztes, oszillatorisches Messsystem (TSE, Bad Homburg) verwendet. Die Messungen erfolgte für die dTGR und die dTGR/Los in der 5., 6. und 7. Woche. Die wachen Ratten kamen für die Messung einzeln in den entsprechenden Messkäfig. Hier betrug die

Temperatur ca. 32°C. Um den Schwanz der Ratte wurde die richtige Größe des Pulswellen Detektors (Staumanschette) gelegt. Nach Auslösung der Starttaste konnte der systolische Blutdruck gemessen werden. Um die Ratten an die Messmethode zu gewöhnen, wurden vor der eigentlichen Messung drei Probemessungen durchgeführt und anschließend verworfen. Nach dem Ende der Messung nahm man die Staumanschette vom Schwanz ab, und die Tiere kamen aus dem Messkäfig. Die Blutdruckwerte wurden mit einem 2-Kanal Kompensationsschreiber gemessen, wobei alle registrierten Daten auf den Computer übertragen wurden. Die systolischen Blutdruckwerte der dTGR und der dTGR/Los wurden anschließend statistisch vergleichend ausgewertet.

2.3.4 Albuminuriebestimmung

Um eine Aussage über Albuminveränderungen treffen zu können, wurde der Urin 24 Stunden gesammelt. Diese Messung geschah für die dTGR/Los und für die dTGR im Alter von 5, 6 und 7 Wochen. Dafür wurden die Ratten einzeln in einen metabolischen Käfig gesetzt. In dem Käfig herrschten die gleichen Haltungsbedingungen. Der Zugang zum Futter und Wasser war frei und entsprach dem jeweiligen Gruppenfutter (s. Kapitel 2.2). Damit sich die Tiere an den metabolischen Käfig gewöhnen konnten, wurde der in den ersten 12 Stunden angefallene Urin verworfen. Der darauf folgende Urin wurde für die nächsten 24 Stunden gesammelt. Die weitere Albuminkonzentrationsbestimmung erfolgte über das hauseigene Labor. Alle Daten vom Labor wurden in den Computer übernommen und statistisch ausgewertet.

2.3.5 Körper-, Herz- und Nierengewichtsbestimmung

Die Bestimmung des Körper-, Herz- und Nierengewichtes erfolgte in der 7. Woche zum Studienende durch Obduktion.

Für die Ermittlung des Körpergewichtes wurden die Ratten auf eine Präzisionswaage gelegt. Nach der Messung wurden die Werte in der Maßeinheit Gramm vom Display abgelesen und aufgeschrieben.

Um das Herzgewicht zu bestimmen, wurde der Thorax mit einer Schere eröffnet. Anschließend wurde das Herz im Gesamten entnommen und eine Herzspülung mit DEPC-Wasser (Deethyl-Pyrovat-Carbonat) durchgeführt. Im nächsten Schritt wurde die V. cava inferior und die V. cava superior sowie der Aortenbogen mit dem Herzbeutel abpräpariert. Die Herzgewichtsbestimmung erfolgte analog der Körpergewichtsbestimmung.

Wie der Thorax wurde auch das Abdomen mit einer Schere eröffnet, und die beiden Nieren entfernt. Sie wurden beide zusammen auf einer Präzisionswaage in Gramm gemessen und die Ergebnisse registriert.

Alle Werte vom Körper-, Herz- und Nierengewicht wurden in der Maßeinheit Gramm (g) oder Milligramm (mg) angegeben. Aus dem Quotienten des Nierengewichtes und des Körpergewicht konnte das relative Nierengewicht berechnet werden. Analog zum relativen Nierengewicht, wurde das relative Herzgewicht berechnet. Es ergibt sich aus dem Quotienten des Herzgewichtes und des Körpergewichtes.

Alle ermittelten Daten aus der Gewichtsbestimmung wurden in den Computer übernommen und für die weitere statistische Analyse verwendet.

2.4 Statistische Auswertung

In allen durchgeführten Untersuchungen wurden für alle gemessenen Parameter die Mittelwerte und die Standardabweichungen errechnet.

Unter Verwendung des Statistikprogramms SPSS Version 6.1 wurde die statistische Signifikanz der erhobenen Daten geprüft. Dazu dienten der U-Test nach Mann und Whitney mit dem Vergleich zweier unabhängiger Stichproben und der Kruskal-Wallis-Test, der mehr als zwei unabhängige Gruppen miteinander vergleicht. Bei der statistischen Auswertung fand die Prüfung auf eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ ($p < 0,05$) statt. Um die hohen Signifikanzen anzuzeigen, wurden die berechneten p-Werte nach Bonferonie-Holm korrigiert. Die Werte, die nach der Korrektur noch in der Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ lagen, wurden in den Tabellen der Ergebnisbeschreibungen hervorgehoben.

Für die Parameter IHi, max-min und den Winkel erfolgte zusätzlich eine Darstellung mit Box-Plots. Die Box-Plots beinhalten den errechneten Median und die zugehörige Streuung.