

3 Material und Methoden

Ziel dieser Untersuchungen ist es das Potential des Blutpoolkontrastmittels P792 bei der MRT-Bildgebung eines myokardialen Infarktes im Vergleich zu Gd-DOTA zu evaluieren. Die Versuche dafür sind im Rahmen eines vom Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin genehmigten Versuchsvorhabens durchgeführt worden (Genehmigungsnummer: G 00169/99).

3.1 Untersuchte Tiere

In der vorliegenden Arbeit sind insgesamt dreizehn Minischweine (Mini-LEWE) verwendet worden, die von dem experimentellen Zentrum der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus an der Technischen Universität Dresden (Dresden, Deutschland) bezogen wurden. Zehn Schweine sind in die experimentellen Untersuchungsgruppen eingeschlossen worden. Drei Tiere verstarben während der Infarktinduktion an einem plötzlichen Herztod (s. S. 43).

Es wurden je fünf gesundheitlich nicht vorbelastete Tiere, mit einem Körpergewicht zwischen 20 und 30 kg und einem Alter von ca. neun Monaten in einer Gruppe mit akutem, reperfundierten Myokardinfarkt (Gruppe 1) und in einer Gruppe mit akutem, nicht-reperfundiertem Myokardinfarkt (Gruppe 2) magnetresonanztomographisch untersucht. Dabei wurden die Untersuchungen bei allen Tieren jeweils am zweiten und dritten Tag nach der Herzinfarktinduktion in einem 1,5 T MRT (Magnetom Sonata, Siemens AG, Erlangen, Deutschland) durchgeführt. Für die kontrastmittelgestützte Bildgebung wurde je drei Schweinen aus beiden Gruppen zuerst das niedermolekulare Gd-DOTA (Dotarem®, Laboratoire Guerbet, Aulnay-sous-Bous, Frankreich) und am Folgetag das Blutpoolkontrastmittel P792 (Vistarem®, Laboratoire Guerbet, Aulnay-sous-Bous, Frankreich) intravenös verabreicht. Zwei Tiere aus jeder Gruppe wurden mit umgekehrter Reihenfolge der Kontrastmittelgabe untersucht (s. Tab. 3-1). Die Auswahl der Minischweine für die Zuordnung in die einzelnen Gruppen erfolgte zufällig.

Im Anschluss an die letzte magnetresonanztomographische Messung sind die Tiere euthanasiert und alle Herzen makrohistologisch aufgearbeitet worden.

Tier	Gewicht [kg]	Ge- schlecht	Gruppe	Myokardinfarkt	KM	
					1. Messtag	2. Messtag
A	23	m	1	reperfundiert	Dotarem (4,6 ml)	Vistarem (8,3 ml)
B	28	m	1	reperfundiert	Dotarem (5,6 ml)	Vistarem (10,0 ml)
C	23	m	1	reperfundiert	Dotarem (4,6 ml)	Vistarem (8,3 ml)
D	23	w	1	reperfundiert	Vistarem (8,3 ml)	Dotarem (4,6 ml)
E	20	m	1	reperfundiert	Vistarem (7,2 ml)	Dotarem (4,0 ml)
F	20	w	2	chronisch	Dotarem (4,0 ml)	Vistarem (7,2 ml)
G	21	w	2	chronisch	Dotarem (4,2 ml)	Vistarem (7,6 ml)
H	26	m	2	chronisch	Dotarem (5,2 ml)	Vistarem (9,4 ml)
I	30	m	2	chronisch	Vistarem (10,8 ml)	Dotarem (6,0 ml)
J	22	m	2	chronisch	Vistarem (7,9 ml)	Dotarem (4,4 ml)

Tab. 3-1: Gruppeneinteilung und Körpermasse der Tiere mit Angaben über die Reihenfolge und die absolute Menge des verabreichten Kontrastmittels (m = männlich, w = weiblich)

3.2 Verwendete Kontrastmittel

In den vorliegenden Untersuchungen sind zwei verschiedene paramagnetische Kontrastmittel eingesetzt worden. Bei P792 (Vistarem®) handelt es sich um ein RCBPA mit einem Molekulargewicht von 6,47 kDa und einem Durchmesser von 5,05 nm (s. S. 36). Das Vergleichskontrastmittel Gd-DOTA (Dotarem®) ist ein unspezifisches Kontrastmittel mit einem Molekulargewicht von 0,56 kDa und einem Durchmesser von 0,9 nm (s. S. 35). Im Folgenden werden die wichtigsten Eigenschaften der beiden Kontrastmittel tabellarisch noch einmal kurz zusammengefasst (s. Tab. 3-2).

KM	Molekular- gewicht [kDa]	Molekül- durchmesser [nm]	Osmolalität [mOsmol/kg]	Relaxivität (20 MHz / 37 °C) [mM ⁻¹ s ⁻¹]	Eliminations- Halbwertszeit [min]	Verteilungs- Volumen [ml/kg]
P792	6,473	5,05	300	39,0	41	101
Gd- DOTA	0,56	0,9	1350	3,5	48	187

Tab. 3-2: Eigenschaften von P792 und Gd-DOTA

3.3 Versuchsablauf

3.3.1 Narkose

Die Minischweine wurden sowohl für die Herzinfarktinduktion, als auch für die beiden MRT-Untersuchungen in Vollnarkose gelegt. Dazu bekamen sie 15 mg/kg KM Ketaminhydrochlorid (Ketavet® 100 mg/ml, Pharmacia & Upjohn, Erlangen, Deutschland), 0,1 mg/kg KM Droperidol (Dehydrobenzperidol, Orphan Pharmaceuticals, Wien, Österreich) und 0,2 mg/kg KM Midazolamhydrochlorid (Dormicum®, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) intramuskulär verabreicht. Um die Narkose für die Intubation und den Transport der Tiere in den Operations- bzw. MRT-Untersuchungsraum zu vertiefen, wurde ihnen über eine Venenverweilkanüle (Vasoscan® G20/G22, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) Propofol (Disoprivan® 1 %, AstraZeneca GmbH, Wedel, Deutschland) nach Wirkung in eine Ohrvene injiziert. Ist eine ausreichende Narkosetiefe erreicht worden, sind die Schweine mit einem Endotrachealtubus (RAE™ Oral, 6,0-7,0 mm, Mallinckrodt Laboratories, Athlon, Irland) intubiert worden. Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurden sie mit einem 1,5-5 %igem Isofluran-Sauerstoff-Gemisch (Forene®, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden, Deutschland) maschinell beatmet (Beatmungsgerät: A.D.S. 1000, engler engineering corporation, Florida, USA).

3.3.2 Myokardinfarktinduktion

3.3.2.1 Akuter reperfundierter Myokardinfarkt

Bei fünf Schweinen (Gruppe 1) ist in einem „closed-chest“ Tiermodell ein reperfundierter Myokardinfarkt im Bereich der lateralen Wand erzeugt worden, indem ein Marginalast des LCX für einen Zeitraum von 90 min vollständig verschlossen wurde. Dazu wurde unter sterilen Bedingungen die A. femoralis mit einer Punktionskanüle (One-Part Needle, 18 gage/7,0 cm, William Cook Europe, Bjaeverskov, Dänemark) punktiert und ein Führungsdraht (Emerald™ Guidewire, 150 cm/0,035 inch, Cordis Europa N.V., Roden, Niederlande) eingeschoben. Die Kanüle wurde daraufhin entfernt und eine arterielle Schleuse (Avanti®, 11 cm/0,038 inch, 6F o. 8F, Cordis Europa N.V., Roden, Niederlande) ist über den Führungsdraht in die Arterie platziert worden. Durch einen Hockey-Stick-Führungskatheter (H-Stick SH, 6F o. 8F, Vistabrite tip, 100 cm, Cordis, Miami, USA), der im

Ostium der linken Herzkranzarterie platziert wurde, ist ein steuerbarer Führungsdraht (Balance® Hi-Torque, 190 cm/0,014 inch, Guidant Europe NV/SA, Diegem, Belgien) in den zu blockenden Ast des LCX vorgeschoben worden. Dieser Draht wiederum diente als Leitschiene für einen koronaren Dilatationskatheter (Cross sail, Ø: 3 mm, Länge: 10 mm, Guidant Europe NV/SA, Diegem, Belgien), mit dem dann nach Entfernung des Drahtes wiederum die Arterie für 90 min mit einem Druck von 6 atm verschlossen worden ist.

Sowohl die ordnungsgemäße Platzierung des Instrumentariums in den Koronarien, als auch die Vollständigkeit der Okklusion sind unter Durchleuchtung (C-Bogen: Exposcop CB 7-D, Ziehm GmbH, Deutschland) bei Gabe des nichtionischen Röntgenkontrastmittels Ultravist (Ultravist®-370, Schering Deutschland GmbH, Berlin, Deutschland) mehrfach überprüft worden.

Während der gesamten Zeit wurde die Entwicklung des akuten Myokardinfarktes mit Hilfe einer EKG-Ableitung verfolgt. Anhand einer ST-Streckenhebung konnte sicher von einer myokardialen Ischämie ausgegangen werden.

Nach dem 90minütigen Verschluss des LCX ist vorsichtig der Druck aus dem koronaren Dilatationskatheter abgelassen worden und der Katheter sowie die arterielle Schleuse wurden entfernt. Zur Blutungsstillung ist die Punktionsstelle für ca. 10 min manuell komprimiert worden.

3.3.2.2 Nicht-reperfundierter Myokardinfarkt

Die experimentelle Erzeugung eines akuten, nicht-reperfundierten Myokardinfarktes (Gruppe 2) unterschied sich nur in wenigen Punkten von der Induktion des akuten, reperfundierten Myokardinfarktes.

Nachdem der Führungskatheter vom Typ Hockey-Stick (H-Stick SH, 6F o. 8F, Vistabrite Tipp, 100 cm, Cordis, Miami, USA) soweit wie möglich in die linke, circumflexe Koronararterie vorgeschoben worden ist, wurde eine ca. 4-7 cm lange Wolframspirale (spirale detachable pen tungstene, Balt Extrusion, Montmorency, Frankreich) mit einem Durchmesser von 3 mm in das Gefäß appliziert. Die Spiralen wurden dazu mit isotoner NaCl-Lsg. (NaCl 0,9%, Berlin-Chemie AG, Berlin, Deutschland) in die Koronarie gespült, wodurch dort eine Gefäßembolisation ausgelöst wird. Nach ungefähr 15 min waren sichere Anzeichen (ST-Streckenhebung) für einen Myokardinfarkt im EKG zu erkennen.

Die Entwicklung der Thrombosierung in der Koronararterie ist in unregelmäßigen Abständen über einen Zeitraum von 60-90 min ebenfalls unter Durchleuchtung mit Hilfe von Ultravist®-370 verfolgt worden.

3.3.3 Medikamentelle Behandlung der Tiere

Die fünf Tiere der Gruppe 1 bekamen unmittelbar vor dem experimentellen Eingriff 200 I.E./kg KM Heparin-Natrium (Liquemin® N 25.000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) über die Venenverweilkanüle verabreicht. Alle Tiere wurden über den gesamten Zeitraum der Infarktinduktion und der MRT-Untersuchungen mit isotoner Vollelektrolytlösung (Thomæjonin®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen, Deutschland) infundiert. Zur Schmerztherapie wurden ebenfalls alle Schweine mit 2 mg/kg KM Tramadolhydrochlorid (Tramal® 50 mg, Grünenthal, Aachen, Deutschland) intravenös versorgt.

Bei acht Minischweinen ist es im Zuge der Herzinfarktinduktion zu Zwischenfällen in Form von Kammerflimmern, Extrasystolen, Gefäßspasmus, Bradykardie und allgemeiner Herz-Kreislauf-Schwäche gekommen. Diese Tiere wurden je nach Form des Zwischenfalls mit Epinephrinhydrochlorid (Suprarenin®, Aventis Pharma Deutschland GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland), Glyceroltrinitrat (Nitrolingual® infus., Pohl Boskamp, Hohenlockstedt, Deutschland), Lidocainhydrochlorid (Xylocain® 4 %, AstraZeneca GmbH, Wedel, Deutschland) und Metoprololtartrat (Beloc® i.v., AstraZeneca, Wedel, Deutschland) behandelt. In drei Fällen ist zusätzlich ein Defibrillator (Defi Melacard-Econ, Mela Elektromedizin GmbH, München, Deutschland) zur Therapie des Kammerflimmerns eingesetzt worden. Drei Schweine verstarben trotz intensiver Wiederbelebungsmaßnahmen im Zuge des experimentellen Eingriffs in Vollnarkose.

3.4 Magnetresonanztomographische Untersuchung

Die Untersuchungen mittels MRT fanden jeweils am zweiten und dritten Tag nach Herzinfarktinduktion im Institut für Radiologie an der Charité, Campus Mitte, Universitätsmedizin Berlin, statt. Alle Messungen wurden an einem 1,5 T Scanner Magnetom Sonata durchgeführt. Das Gerät weist eine maximale Gradientenamplitude von 40 mT/m und einer minimalen Schaltzeit von 200 μ s.

3.4.1 Positionierung der Minischweine

Die tief narkotisierten Schweine sind in linker Seitenlage, mit den Hinterbeinen voran im MRT untersucht worden. Da das Signal-zu-Rausch Verhältnis (SNR) bei ultraschnellen Messungen von größter Bedeutung ist, wurden die Messungen mit einer Body-Spule (6-channel phased-array body-coil posterior/anterior) durchgeführt. Ihre Positionierung erfolgt derart, dass sich der Spulenmittelpunkt auf Herzhöhe befand. Die Untersuchungen sind prospektiv EKG-getriggert durchgeführt worden, um sicherzustellen, dass die Datenaufnahme immer zum gleichen Zeitpunkt im Herzzyklus erfolgt. Dazu ist den Tieren eine MR-kompatible, aktive 3-Punkt EKG-Elektrode (Active ECG Electrodes, Schiller Medical, Wissembourg, Frankreich) an die rechte Thoraxwand angelegt worden.

3.4.2 Untersuchungsplanung

Um quantitative Aussagen über Wandstärken, Dimensionen der Herzbinnenräume und die Funktion einzelner Herzabschnitte treffen zu können, ist es notwendig, das Herz entlang seiner anatomischen Achsen darzustellen. Dazu wurden zuerst sog. Suchschnitte mit einer 2d-trueFisp Scout-Sequenz angefertigt, auf denen das Herz in den drei Hauptebenen des Körpers dargestellt wird. Diese Übersichtsaufnahmen ermöglichen als nächstes die Planung des sog. „Zweikammerblicks“, um von diesem wiederum den „Vierkammerblick“ zu planen. Dieses Schnittbild ist die Grundlage für die mehrfach gewinkelte Ebene der „kurzen Achse“, die in mehreren Schichten durch die Ventrikel gelegt werden (s. Abb. 3-1). Zur Vereinfachung der Bildauswertung erfolgt die Datenakquisition in Atemanhaltetechnik. Dazu wird das Beatmungsgerät manuell in der Endexpirationsphase gestoppt.

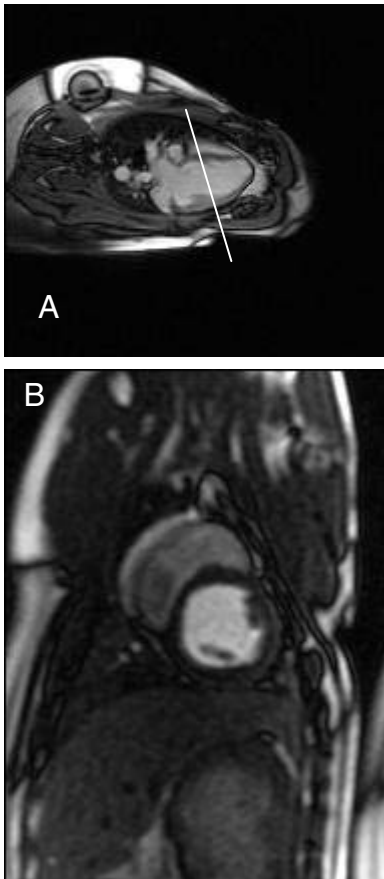


Abb. 3-1: Planung eines Kurzachsenschnitts

A Planung der „kurzen Achse“ Anhand des „Vierkammerblicks“

B Kurzachsenschnitt zum Zeitpunkt der Kontrastmittelanflutung

3.4.3 Late Enhancement Untersuchungen

Für die Late Enhancement Untersuchung (Gruppe 1 u. 2) wurde eine T1-gewichtete 2d-IR-FLASH (inversion recovery fast low angle shot) Sequenz angewendet. Die Sequenzparameter waren wie folgt: TR = 5,7 ms, TE = 4,3 ms, TI = 270-500 ms, Akquisitionsfenster = 142 ms mit 25 Segmenten pro Herzschlag, Anregungswinkel $\alpha = 25^\circ$, Bandbreite = 140 Hz/Pixel, FOV = 280 x 210, Matrix = 256 x 148, Schichtdicke = 4 mm bei 10-12 Schichten, Triggerverzögerung auf die R-Zacke = 0 ms. Die Gesamtmesszeit betrug 70-120 s in Abhängigkeit von der Herzfrequenz. Messzeitpunkte waren ca. alle 5 min bis ungefähr 60 min nach Kontrastmittelapplikation. Über den gesamten Zeitraum ist die Inversionszeit in unregelmäßigen Abständen mit Hilfe eines TI-Scouts bestimmt worden. Der TI-Scout wurde mit folgenden Parametern gemessen: TR = 2,5 ms, TE = 1,1 ms, $\alpha = 50^\circ$, FOV = 350 x 262, Matrix = 192 x 104, Schichtdicke = 8 mm, 15 Segmente, 19 Phasen pro Herzschlag. Damit ist es möglich, eine Inversionszeit auszuwählen, bei der die Signalintensität von ungeschädigtem, vitalem Myokard nahe null liegt. Das Blut im linken Ventrikel besitzt dann ebenfalls eine relativ niedrige Signalintensität. Auf diese Weise sollte

ein positiver Kontrast zwischen Infarktareal und normalem Myokard ohne Unterschätzung der Infarktfläche erreicht werden.

3.4.4 MR-First-Pass Bildgebung

Die MR-First-Pass (MRFP) Perfusionsmessungen (Gruppe 2) sind mit einer trueFisp-Sequenz in drei Schichten, mit einer Dicke von 6mm über eine Dauer von 120 Herzschlägen, kurz vor und unmittelbar nach der Kontrastmittelbolusapplikation mit folgenden Parametern gemessen worden: Aquisitionsfenster pro Schicht = 204,1 ms, TE = 1,1 ms, Aquisitionsfenster pro Herzschlag = 613 ms, TI = 110 ms, TR (effektiv) = 2,83 ms, $\alpha = 50^\circ$, Bandbreite = 1395,0 Hz/Pixel, FOV = 165 x 220, Matrix = 72 x 128, Auflösung = 2,3 x 1,7 mm, Distanzfaktor = 40 %. Im Anschluss sind die Messungen in unregelmäßigen, zeitlichen Abständen, über eine unterschiedliche Anzahl von Herzschlägen wiederholt worden.

3.4.5 Kontrastmittelapplikation

Bei allen Tieren ist das Kontrastmittel für die MR-Untersuchungen nach Aufnahme der Leermessungen als Bolus über eine Venenverweilkanüle (G20 für P792, G22 Für Gd-DOTA) in eine Ohrtrandvene injiziert und mit 20 ml 0,9 %iger NaCl nachgespült worden. Der exakte Zeitpunkt der KM-Gabe war fünf Herzschläge nach Start der Messequenz für die MRFP Untersuchung. Die Injektionsgeschwindigkeit betrug 2 ml/s (Injektomat, Spectris MR Injector, Medrad, Maastricht, Niederlande).

Je zwei Schweine aus beiden Gruppen erhielten am ersten Messtag P792 in einer Dosis von 13 $\mu\text{mol Gd/kg KM}$. Dies entspricht, bezogen auf die T1-Relaxivität, einer Dosis von 100 $\mu\text{mol Gd/kg KM}$ des Vergleichkontrastmittels Gd-DOTA, welches am zweiten Messtag in jener Dosis verabreicht wurde. Bei den restlichen Tieren wurden die Kontrastmittel in umgekehrter Reihenfolge injiziert (s. Tab. 3-1).

3.5 Auswertung der MRT-Untersuchungen

Die Auswertung der gemessenen Bilder wurde mit dem automatischen Auswertprogramm Image J (National Institutes of Health, USA) durchgeführt. Dieses Programm ordnet den unterschiedlichen Graustufen der dargestellten Signalintensitäten (SI) eine relative, natürliche Zahl zu und errechnet dann den Mittelwert in der ausgewählten Messregion (ROI = region of interest). Dabei wurden die ROI's so platziert, dass Auswirkungen von Partial-, Volumen- und Bewegungsartefakten ausgeschlossen werden konnten.

Die Bestimmung der Infarktgröße erfolgte in der Schnittserie, in der die Kontrastmittel-späthanreicherung (Late Enhancement) optisch am deutlichsten zu erkennen war. Neben der Volumenberechnung wurden von diesen Bildern die Signalintensitäten des infarzierten und des nicht geschädigten Myokards bestimmt. Des Weiteren ist der Zeitpunkt des Beginns des Late Enhancements analysiert worden.

Neben den Gewebeparametern hängt die Signalintensität auch von gerätetechnischen Parametern ab, die von Messung zu Messung variieren können. Die erhaltenen Zahlen sind daher nicht direkt miteinander vergleichbar, sondern müssen erst gegen einen internen Standard relativiert werden. Hierfür wurde das, sich neben dem Tierkörper, dunkel darstellende Rauschen gemessen und in Relation zu der jeweils bestimmten SI gesetzt.

Für beide Kontrastmittel ist der Kontrastwert (CNR = contrast to noise ratio) zwischen infarziertem und nicht-geschädigtem Myokard im Late Enhancement bestimmt worden. Dieser wurde nach folgender Formel berechnet:

$$CNR = (SI_{Myokard} - SI_{Infarkt}) / SI_{Rauschen} \quad (\text{Formel 2})$$

CNR = contrast to noise ratio

SI = Signalintensität

Um den regionalen, myokardialen Blutfluss (First Pass Untersuchungen) bestimmen zu können, wurden Signalintensitäts-Zeitverläufe, sowohl im Infarktgebiet, als auch im nicht geschädigten Myokard gemessen. Dazu wurden ebenfalls ROI's in die auszuwertenden Myokardareale platziert.

Zur Analyse der Signalintensitäts-Zeitkurven (First Pass) wurde die prozentuale Anhebung der SI (PSIC = percentage signal intensity change) bezogen auf den Ausgangswert (SI_0) im Infarktbereich und nicht geschädigtem Myokard wie folgt bestimmt:

$$PSIC = (SI_t - SI_0) / SI_0 * 100 \quad (\text{Formel 3})$$

PSIC = prozentuale Signalintensitätsänderung

SI_t = Signalintensität zum Zeitpunkt t

SI_0 = Signalintensität zum Zeitpunkt 0 (Leerwert)

Dazu ist SI_0 aus den ersten zehn gemessenen Leerwerten gemittelt worden.

Als weiterer Punkt ist die Fläche unter der Kurve (AUC = area under the curve) zur Veranschaulichung der Kontrastzunahme berechnet worden. Hierfür ist folgende Formel verwendet worden:

$$AUC = \Delta t * \left(\frac{y_0}{2} + \frac{y_n}{2} + \sum_{i=1}^{n-1} y_i \right) \quad (\text{Formel 4})$$

AUC = Fläche unter der Kurve

Δt = Zeitdifferenz zwischen den einzelnen Messungen

y_0 = Messwert der ersten Messung

y_i = Messwert der n -ten Messung

n = Anzahl der äquidistanten Zeitschritte

Die Persistenz der Kontrastmittel im Blut des linken Ventrikels nach 10 Minuten ist mit Hilfe der Formel 5 berechnet worden.

$$persistence = PSIC_{LV10min} / PSIC_{FP} * 100 \quad (\text{Formel 5})$$

PSIC = prozentuale Signalintensitätsänderung

LV = linker Ventrikel

FP = First Pass

3.6 Histologische Untersuchung

3.6.1 Organentnahme und histologische Aufarbeitung

Alle Tiere wurden unmittelbar nach der letzten MRT-Messung mit 0,3 ml/kg KM T61 (T61 ad us. vet., Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) euthanasiert und die Herzen nach Eröffnung der Brusthöhle komplett entnommen.

Nach grober Reinigung der Herzen unter fließendem Wasser sind diese für 10 min bei -18°C gekühlt worden. Im Anschluss sind sie mit einer elektrischen Allschnittmaschine (Elektro-Allschnittmaschine E 130, Gebr. Graef GmbH & Co.KG, Arnshausen, Deutschland) von der Basis zum Apex hin, entsprechend der kurzen Herzachse in 4 mm dicke Scheiben geschnitten worden.

Die histologische Färbung zur makroskopischen Abgrenzung des Infarktgebietes erfolgte in 1 %iger Triphenyltetrazoliumchloridlösung (TTC) für 20 min bei 37 °C. Dazu wurde 1 g TTC (2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) in 100 ml Phosphatpuffer (Phosphatpuffer-Lösung pH7,2, Division Chroma®, Münster, Deutschland) gelöst und die Schnitte ohne Licht- und Frischlufteinfluss im Brutschrank unter den genannten Bedingungen inkubiert.

3.6.2 Auswertung der gefärbten Schnitte

In Anschluss an die Färbung sind die Herzschnitte für den qualitativen Vergleich digital fotografiert worden. Zur quantitativen Bestimmung des Infarktgebietes wurden die Infarktumrisse auf eine Folie übertragen und gescannt. Mit Hilfe des Auswertprogramms NIH Image (National Institut of Health, USA) sind daraufhin die Infarktgrößen bestimmt worden.

Anhand der anatomischen Strukturen sind die einzelnen, korrespondierenden Scheiben den entsprechenden MR-Schichten zugeordnet worden.

3.7 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms „SPSS“ Version 11.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) und des statistischen Auswertprogramms SAS (SAS Institute GmbH, Heidelberg, Deutschland).

Aufgrund der niedrigen Tierzahl und der damit verbundenen Streuung wurde für die Darstellungsweise der quantitativen Daten der Box-and-Whiskers-Plot (kurz: Boxplot) gewählt, der Lage, Streuung und Konzentrationen von Beobachtungswerten veranschaulicht. Boxplots sind eine graphische Umsetzung zentraler, numerischer Informationen wie Minimum, Maximum, Median und Perzentile, die keine Normalverteilung der Daten voraussetzt. Dabei liegen 50 % der Werte zwischen dem ersten und dritten Perzentil, also innerhalb des dargestellten, grauen Kastens. Die Enden der Whisker stellen den größten bzw. kleinsten Wert dar, der nicht ausreißerverdächtig ist. Ausreißer sind mit „o“, Extremwerte mit „*“ gekennzeichnet.

Bei den Bland-Altman-Plots handelt es sich um Punktwolken, die einen Vergleich zweier abhängiger Parameter gegen den Mittelwert (X-Achse) graphisch darstellen. Auf der Y-Achse ist die Differenz der beiden zu vergleichenden Parameter aufgetragen. Ausgehend von diesen Werten sind drei zusätzliche, waagerechte Bezugslinien eingezeichnet. Die mittlere Bezugslinie befindet sich in Höhe des Mittelwertes der Differenz der Messwerte. Über dieser Linie ist eine weitere Bezugslinie eingezeichnet, deren Wert sich aus dem Mittelwert plus der zweifachen Standardabweichung zusammensetzt. Die Bezugslinie unterhalb der „Mittelwertlinie“ gibt den Wert aus Mittelwert minus zweifacher Standardabweichung wieder. Die Region innerhalb der oberen und unteren Bezugslinie enthält 95 % der gemessenen Daten. Insgesamt gibt das Diagramm an, um wie viel sich die beiden Parameter unterscheiden (Bland and Altman 1986)

Die Wahl des statistischen Testverfahrens richtete sich nach der Fragestellung (Vergleich zweier Gruppen oder Kurvenverlauf) und nach der Beziehung der Merkmale untereinander (abhängig/unabhängig). Für abhängige Merkmale, wie der Vergleich unterschiedlicher Messungen bei denselben Tieren, wurde der Wilcoxon-Test angewendet. Wurden unabhängige Daten aus verschiedenen Infarktgruppen miteinander verglichen, kam der U-Test nach Mann und Whitney zum Einsatz. Zur Auswertung und zum Vergleich von Kurvenverläufen ist eine nicht-parametrische Analyseverfahren verwendet worden (Brunner and Munzel 2002).

Zur Wertung der Testergebnisse ist die jeweilige Irrtumswahrscheinlichkeit p angegeben. Die Nullhypothese, dass sich die untersuchten Parameter unterscheiden, wurde bei $p > 0,05$ abgelehnt.