

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

I Medizinische Klinik und Poliklinik (Kardiologie)

(Leitung: Univ. Prof. Dr. A. Schömig)

Molekulare MRT-Bildgebung des koronaren
Umbauprozesses nach stentinduzierter Verletzung
mittels eines neuartigen, Elastin spezifischen
Kontrastmittels im Tiermodell

Nikolaus Andreas Schickl

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades
eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. E.J. Rummeny

Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. J. Hausleiter

2. Univ.-Prof. Dr. K.-L. Laugwitz

Die Dissertation wurde am 12.04.2012 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 17.07.2013 angenommen.

Meinen Eltern,

Andreas und Anneliese Schickl

Inhaltsverzeichnis

1	ABKÜRZUNGEN	5
2	EINLEITUNG	7
2.1	ALLGEMEINE EINLEITUNG UND ZIELE DER STUDIE	7
2.2	KORONARE HERZKRANKHEIT	10
2.2.1	PATHOPHYSIOLOGIE DER RESTENOSE	12
2.2.2	NEOINTIMALE HYPERPLASIE UND THROMBOSIERUNG	14
2.2.3	ARTERIELLES REMODELING	16
2.2.4	ROLLE DER EXTRAZELLULÄREN MATRIX	16
2.3	GRUNDLAGEN DER MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE	18
2.3.1	RELAXATION	20
2.3.2	PULSSEQUENZ	21
2.3.3	KARDIALE MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE	23
2.3.4	KONTRASTMITTEL IN DER KARDIO-MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE	26
2.4	VERGLEICHENDE ANATOMIE	29
3	MATERIAL UND METHODEN	30
3.1	ÜBERSICHT	30
3.1.1	VERSUCHSMODEL	31
3.1.2	VERSUCHSTIERE	31
3.1.3	HALTUNG UND BETREUUNG	31
3.1.4	PRÄMEDIKATION UND ANÄSTHESIE	32
3.1.5	PTCA & STENTING	34
3.1.6	UNTERBRINGUNG DER TIERE IN DER RUHEPHASE	36
3.1.7	MRT	36
3.1.8	KONTROLL-KORONARANGIOGRAPHIE	44
3.1.9	EUTHANASIE	44
3.1.10	SEKTION UND PROBENENTNAHME	44
3.2	AUSWERTUNG	45
3.2.1	BILDANALYSE	45
3.2.2	HISTOLOGIE	46
3.2.3	ELASTINSPEZIFITÄT VON BMS 753951	46
3.2.4	STATISTIK	48
4	ERGEBNISSE	49

4.1	MRT	49
4.1.1	KONTRAST ZU RAUSCHEN VERHÄLTNIS (CNR) IN ELASTIN REICHEM GEWEBE	49
4.1.2	KONTRAST TO NOISE RATIO IN DEN KORONARARTERIEN	50
4.1.3	QUANTITATIVER VERGLEICH	54
4.1.4	KINETIK	54
4.2	KORONARANGIOGRAPHIE	56
4.3	HISTOLOGIE	57
4.3.1	AUSWERTUNG DER INTERVENTIONELLEN GEFÄßVERLETZUNG	60
4.3.2	PLANIMETRIE	61
4.4	ELASTINBINDUNG VON BMS 753951	61
4.4.1	ELEKTRONENMIKROSKOPIE	61
4.4.2	MASSENSPEKTROMETRIE	62
4.4.3	BINDUNGSVERHALTEN VON BMS 753951	62
5	DISKUSSION	64
5.1	MATERIAL UND METHODEN	64
5.1.1	VERSUCHSTIERE	64
5.1.2	STENTS	65
5.1.3	INDUZIERTER GEFÄßVERLETZUNG	65
5.1.4	KONTRASTMITTEL	65
5.2	DISKUSSION ERGEBNISSE	66
5.2.1	VERGLEICH Gd-DTPA MIT BMS 753951	66
5.2.2	KORRELATION MIT DEN HISTOLOGISCHEN ERGEBNISSEN	66
5.2.3	ELASTINSPEZIFITÄT VON BMS 753951	67
5.2.4	ROLLE DER EZM & DES ELASTINS	67
5.2.5	MRA MIT BMS 753951	68
5.2.6	PHARMAKOKINETIK	69
5.2.7	VERGLEICH MIT ANDEREN UNTERSUCHUNGSVERFAHREN	69
6	ZUSAMMENFASSUNG	70
7	REFERENZEN	71
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	78

1 Abkürzungen

α	Alpha
ASS	Acetylsalicylsäure
ACS	Akutes Coronar Syndrom
bzw.	beziehungsweise
CNR	Contrast-to-Noise-Ratio
CT	Computertomographie
DBE	Delayed BMS 753951 Enhancement
DE-CMR	Delayed Enhancement- Coronary-Magnet-Resonanztomographie
dist.	distal
EKG	Elektrokardiogramm
et al.	und andere
EZM	extrazelluläre Matrix
FFE	Fast Field Echo
FID	Free Induction Decay
FOV	Field of View
g	Gramm
Gd-DTPA	Gadolinium-Diethylentriaminpentaessigsäure
ggf.	gegebenenfalls
HF	Hochfrequenzimpuls
ICP-MS	Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
IR	Inversionrecovery
IEL	Internal elastic lamina = Lamina elastica interna
i.v.	intravenös
JL	Judkins-Left
kg	Kilogramm
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAD	Left Anterior Descending
LCX	Left Circumflex
LGE	Late Gadolinium Enhancement
LBE	Late BMS Enhancement
M_z	Längsmagnetisierung
med.	medial

mm	Millimeter
mM	Millimol
Mn	Mangan
Mn-DTPT	Manganfodipir-Trisodium
ms	Millisekunden
MRA	Magnetresonanzangiographie
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl
NAV	Navigator
p	Signifikanz
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
prox.	proximal
PTCA	perkutane transluminale coronare Angioplastie
%	Prozent
PDGF	Plattelet derived Growth Factor
RCA	Right Coronary Artery
RF	Radiofrequency Impuls
s.	siehe
SE	Spinecho
Sec	Sekunde
SNR	Signal-to-Noise-Ratio
STIR	Short Tau Inversion Recovery
T	Tesla
TE	Echozeit
TGF	Transforming Growth Factor
TR	Repetitionenzeit
±	plus/minus
®	eingetragenes Warenzeichen
WU	Wandunregelmäßigkeiten
z.B.	zum Beispiel
Z.n.	Zustand nach
ZPF	Zentrum für präklinische Forschung

2 Einleitung

2.1 Allgemeine Einleitung und Ziele der Studie

Zu den häufigsten Todesursachen in den westlichen Industrienationen gehören Erkrankungen des Herzkreislaufsystems. (Emanuel and Emanuel 1998) Insbesondere in der Altersgruppe über 60 Jahren stellt die koronare Herzkrankheit (KHK) hinsichtlich Morbidität und Mortalität aber auch in Anbetracht der entstehenden finanziellen Kosten für das Gesundheitssystem ein bedeutendes Problem dar. (Roger, Weston et al. 2001) Im Hinblick auf die demographische Entwicklung der Bevölkerung der westlichen Welt in den kommenden Jahrzehnten wird diese Problematik weiter zunehmen. (Beller 2001)

Neben den schon länger bekannten kardiovaskulären Risikofaktoren wie Dyslipidämie, Rauchen, Diabetes mellitus und arteriellem Hypertonus ist in den letzten Jahren die Artherosklerose als ein weiterer wesentlicher Faktor für die Pathogenese der Arteriosklerose in den Fokus der Wissenschaft gerückt.

In zahlreichen Studien konnte gezeigt werden, dass die Arteriosklerose, ein morphologischer Symptomkomplex aus Veränderungen der Gefäßintima im Sinne umschriebener Ansammlungen von Lipiden, Blut und Blutbestandteilen, komplexen Kohlenhydraten und Calcium (Plaques) und Veränderungen der Gefäßmedia einen wesentlichen Anteil zu der Entstehung von Gefäßerkrankungen der Koronarien beiträgt. (Davies 1997) Diese Vorgänge führen zur Verdickung und Verhärtung der Gefäßwand.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Synthese und Abbau der extrazellulären Matrix (EZM) eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Progression der Atherosklerose spielen. (Strauss, Chisholm et al. 1994; Pasterkamp, de Kleijn et al. 2000; Libby and Aikawa 2002; Welt and Rogers 2002; Katsuda and Kaji 2003; Newby 2005) Die fortgeschrittene Zersetzung der EZM kann zu Plaqueinstabilität führen, deren Folge eine Plaqueruptur mit einer erhöhten lokalen Thrombogenität im Gefäß sein kann. Bei Patienten mit KHK kann ein solches Ereignis zu einem akuten Koronarsyndrom führen. (Libby and Aikawa 2002; Katsuda and Kaji 2003) Im Gegensatz dazu führt eine überschießende Synthese der EZM zu expansiven oder konstriktiven Gefäßwandumbauprozessen. Aus diesen kann einerseits zwar

eine bessere Plaquestabilität, andererseits jedoch auch die Stenosierung des Gefäßes oder aber nach Stentimplantation die Ausbildung einer In-Stent Restenose resultieren. (Strauss, Chisholm et al. 1994; Welt and Rogers 2002).

Hauptbestandteile der EZM sind die Strukturproteine Kollagen und Elastin. (Krettek, Sukhova et al. 2003; Brasselet, Durand et al. 2005) Elastin im Speziellen trägt wesentlich zur Stabilität der Gefäßwand bei, indem es einen kontraktiven Ruhezustand der glatten Gefäßmuskulatur ermöglicht. (Nili, Zhang et al. 2002)

Untersuchungen haben gezeigt, dass der Elastinanteil nach endoluminaler Gefäßwandverletzung signifikant erhöht ist und dass diese Erhöhung eng mit den Remodelingvorgängen in der Gefäßwand korreliert. (Brasselet, Durand et al. 2005; Christov, Korol et al. 2005) Aus Autopsiestudien weiß man zudem, dass sich ein erhöhter Anteil von Elastin auch bei Atherosklerose der Arteria carotis sowie bei Aortenaneurysmen findet. (Libby and Aikawa 2002)

Die Durchführbarkeit kardiovaskulärer Bildgebung mittels MRT zur Untersuchung der Koronararterienwände konnte bereits in vivo an Menschen mit und ohne Kontrastmittel demonstriert werden. (Botnar, Stuber et al. 2000; Fayad, Fuster et al. 2000; Fayad, Fuster et al. 2002; Yuan, Kerwin et al. 2002; Maintz, Ozgun et al. 2006; Yeon, Sabir et al. 2007)

Bisher kommen dabei allerdings nur unspezifische Substanzen wie zum Beispiel Magnevist® (Bayer-Schering Health Care, Berlin) zum Einsatz, die weitestgehend rasch aus dem Gefäßbereich austreten. Die Signalanhebungen zeigen sich dadurch einerseits in Regionen mit großem Umverteilungsvolumen und verzögerter Elimination, wie etwa fibrotische Bereiche (Wasserman, Smith et al. 2002; Yuan, Kerwin et al. 2002), sowie andererseits in Strukturen mit erhöhter Gefäßpermeabilität und reichlicher Neovaskularisierung. (Kerwin, Hooker et al. 2003; Kerwin, Oikawa et al. 2008) Dies führt zu Einschränkungen der Beurteilbarkeit der Untersuchungsergebnisse.

Ein genaueres Verständnis der speziellen biologischen Prozesse, die an der Entstehung und Progression der Atherosklerose beteiligt sind, könnte wesentlich zur besseren Interpretation klinischer Daten, zur Risikostratifizierung und zur Entwicklung neuer Therapieansätze beitragen. Zu diesen Prozessen gehören die Entzündung, die

Veränderungen der glatten Gefäßmuskulatur, die Apoptose als auch der Umbau der EZM.

Die Veränderungen an der EZM könnten mittels eines spezifischen MRT-Kontrastmittels näher untersucht werden und neue Erkenntnisse beispielsweise bei der Bewertung der Plaquelast bei Patienten mit Arteriosklerose ermöglichen. Ebenso könnte die Erforschung der neointimalen Hyperplasie nach Angioplastie vorangetrieben werden.

Ziel dieser Arbeit ist die nicht invasive Darstellung des vaskulären Remodelings nach endoluminaler Gefäßverletzung mittels des neuartigen, niedermolekularen, elastinspezifischen MRT Kontrastmittels BMS 753951 im Großtierversuch.

Dabei sollen folgende Punkte genauer betrachtet werden:

- Nichtinvasive Darstellbarkeit des vaskuläre Remodeling nach stent-induzierter Gefäßverletzung
- Korrelation der Ergebnisse der MRT-Bildgebung mit den histologischen Ergebnissen
- Vergleich der Kinetik des experimentellen Kontrastmittels BMS 753951 mit der des klinisch genutzten Kontrastmittels Magnevist® (Bayer-Schering Health Care, Berlin)
- Gegenüberstellung des Kontrast-zu-Rauschen Verhältnisses von BMS 753951 und von Magnevist® (Bayer-Schering Health Care, Berlin)
- Untersuchung der Elastinspezifität von BMS 753951 mittels Elektronenmikroskopie, Massenspektographie und in vitro Bindungsuntersuchung.

2.2 Koronare Herzkrankheit

Die koronare Herzkrankheit fußt auf einer verminderten Perfusion der Herzkranzgefäße, bedingt durch eine Lumenverminderung. Eine chronisch voranschreitende Koronararteriosklerose kann schleichend zu diesen Veränderungen führen, aber auch die plötzliche Ruptur einer vorbestehenden arteriosklerotischen Plaque mit konsekutiver Ausbildung eines Thrombus.

Der spontane Gefäßverschluss äußert sich symptomatisch als akutes Koronarsyndrom und zieht die Gefahr eines hypoxiebedingten Unterganges von Myokard, des Herzinfarktes, nach sich.

Die langsame Entwicklung einer Stenose zeigt sich klinisch häufig in Form einer stabilen Angina pectoris.

In der Behandlung sowohl des akuten Koronarsyndroms als auch der stabilen Angina pectoris hat sich neben medikamentösen Maßnahmen die Herzkatheteruntersuchung sowohl zu diagnostischen Zwecken, als auch zur gleichzeitigen therapeutischen Intervention mittels Ballondilatation (perkutane transluminale coronare Angioplastie, PTCA) als Therapieoption etabliert. In Deutschland zählt sie mit mittlerweile über 700000 durchgeführten Untersuchungen pro Jahr zu den häufigsten invasiven Maßnahmen. (van Buuren and Horstkotte 2006)

Anfänglich stellten Gefäßdissektionen, akute postinterventionelle Verschlüsse sowie im Verlauf auftretende hochgradige Restenosen häufige Komplikationen des Verfahrens dar. (Dorros, Cowley et al. 1983; Detre, Holubkov et al. 1988)

Zur Verminderung des akuten Verschlusses und der Restenose führte Sigwart 1987 die Implantation mechanische Gefäßstützen (Stents) ein. (Sigwart, Puel et al. 1987)

Die Ausbildung einer Restenose im Stentlumen stellt derzeit die wohl am häufigsten auftretende Komplikation im Rahmen der PTCA dar, Angaben über die Komplikationshäufigkeit divergieren in der Literatur zwischen 20-40% (Adamian, Colombo et al. 2001; Lowe, Oesterle et al. 2002) und 30-80%. (Mehran, Dangas et al. 1999)

Das Auftreten dieser Schwierigkeit richtet sich nach bestehenden Risikofaktoren sowie bestimmte Läsionscharakteristiken.

Negative Prädiktoren für ein Auftreten der Restenose sind ein geringes Gefäßkaliber, lange Läsionen, sowie an Gefäßabzweigungen sitzende Defekte (Bifurkationsstenose).

Risikofaktoren der Restenosierung

- Patientenseitig
 - Restenose an andere Stelle in der Vorgeschichte
 - Diabetes mellitus
 - Intervention während eines akuten Koronarsyndroms
 - Genetische Disposition

 - Läsionsbedingt
 - Gefäßdurchmesser
 - Länge der Läsion bzw des Stents
 - Minimaler Gefäßdurchmesser vor Stentimplantation
 - Minimaler Gefäßdurchmesser nach Stentimplantation
 - Ostialdefekt
 - Venöses Graft
 - Vollständiger Verschluss
- (Bhargava, Karthikeyan et al. 2003)

2.2.1 Pathophysiologie der Restenose

Eine Restenose wird als eine 50%ige Einengung bei Kontrollangiographie oder eine mehr als 50%ige Lumeneinengung im Vergleich zum Zustand vor Dilatation definiert. Ihre Genese ist multifaktoriell. Bislang konnte der Prozess nicht in seiner Gesamtheit verstanden werden. Das derzeitige Verständnis beruht auf der Vorstellung einer negativen Reaktion des Gefäßes auf das durch die PTCA verursachte Trauma. Teilaspekte dessen sind Thrombosierung, Entzündung, Zellproliferation sowie eine erhöhte Produktion extrazellulärer Matrixbestandteile. (Bhargava, Karthikeyan et al. 2003)

In Summe ergeben sie einen Lumenverlust über den Zeitraum von 6 Monaten. Im Tiermodell zeigt sich dabei eine spezielle zeitliche Abfolge der einzelnen Vorgänge (s. Abbildung 1). (Weintraub 2007)

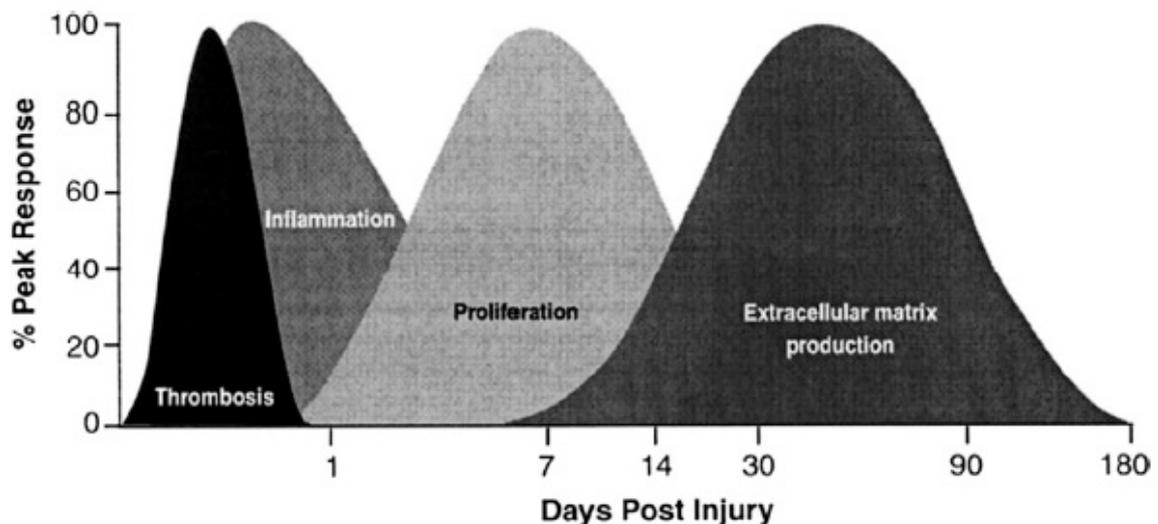


Abbildung 1 Zeitliche Gliederung der Restenosefaktoren nach Nikol, Huehns et al (1996), modifiziert nach Weintraub 2007

(Nikol, Huehns et al. 1996; Weintraub 2007)

Elastischer Recoil:

Direkt im Anschluss an die Intervention konnte in einem Zeitrahmen von 15 Minuten nach Ablassen des Druckes im Ballon ein Lumenverlust nachgewiesen werden; dieser liegt je nach Studie zwischen 34-50 %. (Rozenman, Gilon et al. 1993;

Rodriguez, Palacios et al. 1995; Caixeta, Arie et al. 1996) Als Ursache hierfür werden rein mechanische Faktoren verantwortlich gemacht. (Block 1990)

Nach Stentimplantation ist dieser Effekt deutlich geringer. Das Gefäßlumen ist hier auf weniger als 60% des tatsächlich dilatierten Umfangs vermindert.(Bermejo, Botas et al. 1998)

2.2.2 Neointimale Hyperplasie und Thrombosierung

Die PTCA verursacht am Gefäß Dehnungen und Verletzungen der Intima und Media verschiedener Stärke bis hin zu Endothelnudationen und Plaquerupturen. (Ip, Fuster et al. 1990; Baykal, Schmedtje et al. 1995) Folge dieser vielfältigen Schädigungen kann die Ausbildung einer Restenose sein. Die hierbei ablaufenden Prozesse sollen im Folgenden kurz erläutert werden.

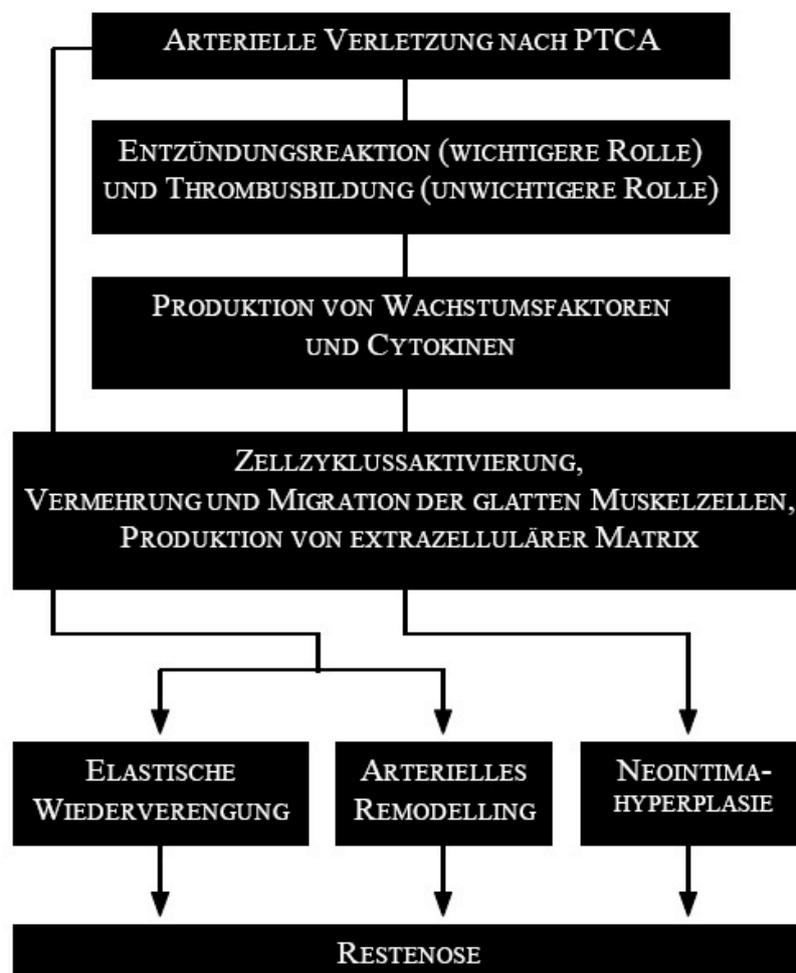


Abbildung 2 Pathophysiologie der Restenose

(Hansi 2006)

Durch die Exposition thrombogener Plaqueeanteile gegenüber dem Blutstrom lagern sich im Bereich der Endothelnudation Thrombozyten an. Insbesondere das

atheromatöse, lipidreiche Plaquezentrum weist eine starke Thrombogenität auf. (Fuster, Falk et al. 1995)

Die Verletzung von Wandstrukturen führt zudem zum Verlust von antithrombogenen Faktoren wie Stickstoffmonoxid, Prostacyclin und Gewebeplasminogen-Aktivator.

Abhängig von der Stärke der Schädigung ergeben sich daraus verschiedenen Folgen. Ein geringes Trauma ohne Schädigung der Lamina elastica interna resultiert in einem dünnen Thrombozytensaum. Ein die Lamina elastica interna überschreitender Defekt resultiert in einem makroskopisch sichtbarer Thrombus als Folge der Freilegung von negativ geladenem Typ-I-Kollagen. (Chesebro, Lam et al. 1987)

Reicht der Schaden bis in die Media kann es zur Dissektion der Gefäßwand auf Grund von Nekrosenbildung der glatten Myozyten kommen. Auftretende Spasmen proximal und distal des dilatierten Gefäßbereiches können in Kombination damit zu einem akuter Koronarverschluss führen. (Chesebro, Lam et al. 1987)

Durch die Verletzung der Gefäßwandstrukturen wird zudem das extrinsische Gerinnungssystem über den in Adventitia, Media und den artherosklerotischen Plaques selbst gebildeten Tissue-Faktor aktiviert. Gemeinsame Endstrecke von ex- und intrinsischem Gerinnungssystem ist das Thrombin.

Als Hauptmediator der Plättchenaktivierung führt Thrombin gemeinsam mit Thromboxan A₂ und ADP zur Autoaktivierung der Thrombozyten. (Harker, Hanson et al. 1995) Die postinterventionellen Thrombinbildung lässt sich über eine Anstieg der Prothrombin Fragmente F₁₊₂ messen. (Neumann and Schomig 1998)

Diese Erhöhung kann bis zwei Wochen nach Intervention nachgewiesen werden. (Gallo, Padurean et al. 1998)

Die Thrombozytenaktivierung führt zur Freisetzung verschiedener Mediatoren. Dazu gehören Serotonin, Platelet Derived Growth Factor (PDGF) und das bereits genannte Thromboxan A₂. In Kombination regen sie gemeinsam die Proliferation und Migration glatter Muskelzellen sowie eine vermehrte Synthese extrazellulärer Matrixproteine an. (Pakala, Willerson et al. 1997)

Der Thrombus selbst enthält Wachstumsfaktoren in den α -Granula der Blutplättchen (PDGF und TGF-Beta) und dient zusätzlich als Stützmatrix bei der Einsprossung

glatter Myozyten. (Baykal, Schmedtje et al. 1995; Fuster, Falk et al. 1995; Pakala, Willerson et al. 1997)

2.2.3 Arteriellles Remodeling

Die Veränderungen der Gefäßarchitektur variieren hinsichtlich Richtung und Ausmaß. Neben einer kompensatorischen Vergrößerung des Querschnitts (positives Remodeling) kann es ebenso zu einer Reduktion des Querschnitts (negatives Remodeling) kommen, aber auch das Ausbleiben jeglicher Reaktion wurde beschrieben (Failure to Respond). (Pasterkamp, Hillen et al. 1997)

Innerhalb ein und desselben Gefäßes können an verschiedenen Stellen gleichzeitig nebeneinander unterschiedlich Reaktionen auftreten.

Als Folgerung liegt nahe, dass bei der Entstehung des arteriellen Remodelings weniger globale Faktoren, wie zum Beispiel das individuelle kardiovaskuläre Risikofaktorenprofil des Patienten, als vielmehr die Reaktion von lokalen Faktoren im Gefäß eine Rolle spielen.

Man geht davon aus, dass das positives Remodeling einen Lumenverlust durch Plaquebildung von bis zu 40% ausgleichen kann. (Glagov, Weisenberg et al. 1987)

Die Lokalisation des Plaques im Gefäßverlauf spielt dabei eine wichtige Rolle, da die Fähigkeit einer Koronararterie zu Ausbildung eines positivem Remodelings von proximal nach distal abnimmt. (Burke, Kolodgie et al. 2002)

Ein weiterer Faktor scheint die Lage des Plaques relativ zum Gefäß sein, man unterscheidet eine konzentrische und eine exzentrische Lage. Atherosklerotische Plaques sind häufiger exzentrisch und neigen eher zu einer kompensatorischen Vergrößerung.(von Birgelen, Mintz et al. 1998)

2.2.4 Rolle der extrazellulären Matrix

Untersuchungen haben gezeigt, dass der erneute Gefäßverschluss nach PTCA weniger als bisher angenommen von der Proliferation der glatten Muskulatur ausgeht. Bisher war man davon ausgegangen, dass die Proliferation und Migration glatter Gefäßmuskelzellen alleinige Ursache für die Ausbildung und Verdickung der Neointima nach luminaler Gefäßverletzung sei. Viele Therapieansätze zur Vermeidung von Restenosen zielen daher auf die Inhibierung der

Muskelzellproliferation ab. (Mercator Study Group 1992; Simons, Edelman et al. 1992) Neuere Forschungsergebnisse deuten jedoch an, dass die Zellproliferation lediglich 11% des neointimalen Volumens ausmacht, so dass die vermehrte Produktion der extrazellulären Matrix eine deutlich wichtigere Rolle bei der Entwicklung von Restenosen spielt als bisher angenommen (Schwartz, Holmes et al. 1992; Koyama and Reidy 1998).

Das in der EZM enthaltene Elastin stabilisiert die arterielle Wandstruktur in dem es eine passive Dehnbarkeit der glatter Gefäßmuskulatur ermöglicht. (Karnik, Brooke et al. 2003) Seine Syntheserate steigt nach Verletzung der inneren Wandstrukturen signifikant an. Nili et al konnten zeigen, dass sieben Tage nach Gefäßverletzung die Synthese von Elastin auf das Doppelte und die Kollagenproduktion um 50% angestiegen war. Bis 21 Tagen nach Verletzung konnte eine erhöhte Syntheserate beider Proteine im Rattenmodell nachgewiesen werden. (Nili, Zhang et al. 2002) Dieser erhöhte Anteil von Elastin und Kollagen korreliert eng mit dem Ausmaß des Remodelings der Gefäßwand. (Christov, Korol et al. 2005)

Wichtige Vorgänge in der Verursachung, Progression und Komplikation der Atherosklerose sowie der Aneurysmabildung und -degeneration werden ebenso auf biologische Vorgänge in der EZM zurückgeführt. Plaqueinstabilität und folglich drohende Ruptur, wie sie häufig bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom beobachtet werden, können Folge eines fortgeschrittenen Zerfalls der EZM sein. (Libby and Aikawa 2002; Katsuda and Kaji 2003)

In den bisherigen Studien konnte die Rolle von Elastin an den Gefäßwandumbauvorgängen nur histologisch untersucht werden. Mit dem Einsatz spezifischer molekularer Kontrastmittel wie dem in der vorliegenden Studie verwendeten BMS 753951 könnten diese Vorgänge erstmals nicht invasiv erforscht werden.

2.3 Grundlagen der Magnetresonanztomographie

Die grundlegende Theorie des Magnet-Resonanz-Tomographen (MRT) basiert auf der seit 1946 experimentell nachgewiesenen magnetischen Resonanz der Atomkerne. Die Beschreibung der exakten physikalischen Grundlagen würden den Umfang dieser Arbeit überschreiten, daher sollen im Folgenden nur die für das Verständnis dieser Arbeit erforderlichen Begriffe erläutert werden.

Die Funktionsweise des MRT lässt sich in einem anschaulichen Modell näherungsweise erklären. Durch Rotation um ihre eigene Achse verhalten sich bestimmte Atomkerne wie kleine Magneten. (van Geuns, Wielopolski et al. 1999)

Dabei erfolgt der Großteil der Signalentstehung durch die Protonen des intrazellulär vorliegenden Wassers. (Smith 1985)

Unter physiologischen Bedingungen liegen die Magnete zufällig im Raum verteilt vor und heben sich gegenseitig auf. Die Nettomagnetisierung ist daher Null. Wirkt ein äußeres starkes Magnetfeld B_0 auf die Kerne, so ergibt eine Wechselwirkung zwischen B_0 und der Eigenrotation der Protonen. Im Ergebnis präzessionieren die magnetischen Momente der Protonen um die Achse des äußeren Magnetfeldes. Diese Präzessionsbewegung erfolgt mit einer Kreisfrequenz proportional zur Magnetfeldstärke.

Die Ausrichtung des Magnetfeldes der Protonen zur Richtung des äußeren Magnetfeldes (Spin) kann in paralleler Orientierung und in antiparalleler Orientierung erfolgen. Energetisch günstiger ist die parallele Orientierung, die daher bevorzugt auftritt. Die antiparallele Orientierung hingegen erfordert ein höheres Energieniveau und kommt daher seltener vor. (van Geuns, Wielopolski et al. 1999)

Lediglich 1,4 von einer Million Atomkernen befindet sich im parallelen Spin. Einzig diese „Überschußkerne“ können letztlich ein meßbares MR-Signal abgeben, da sich die Signale der anderen Kerne gegenseitig aufheben. (Harms and Kramer 1985)

Nach Angleichung der Magnetisierung der Kerne an das externe Magnetfeld ergibt sich aus der geringen Differenz zwischen antiparalleler und paralleler Ausrichtung eine Längsmagnetisierung M_z .

Messbar wird die Längsmagnetisierung durch Auslenkung aus der parallelen Ausrichtung.

Im MRT erfolgt dies mittels eines Hochfrequenzimpulses (HF- oder RF- (Radiofrequency Impuls)). Durch die Energiezufuhr kippen die Spins und somit auch die Längsmagnetisierung aus der Z-Richtung heraus.

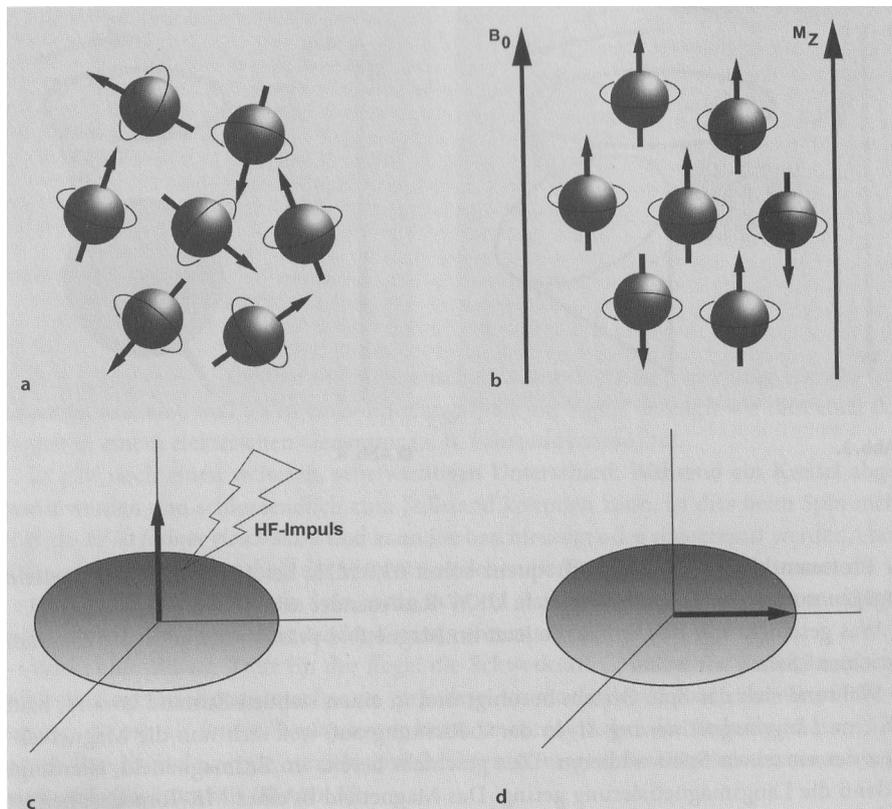


Abbildung 3: Physikalische Grundlagen des MRT

(Weishaupt, Köchli et al. 2006)

- a. natürlicher, ungeordneter Zustand
- b. Anordnung unter Einfluss eines externen Magnetfeldes B_0
- c. Längsmagnetisierung in Z-Ebene (M_z) vor HF-Impuls
- d. Auslenkung durch HF Impuls in die XY-Ebene (M_{xy})

Appliziert wird die Energie mittels einer Hochfrequenzspule. Dauer bzw. Amplitude des Impulses sind ausschlaggebend für den resultierenden Winkel. Ergibt der Impuls eine 90-Grad-Auslenkung quer zur Hauptmagnetisierung bezeichnet man ihn als 90-Grad-Impuls. Das Ergebnis ist eine Transversalmagnetisierung. Das resultierende Wechselfeld induziert in der Empfangsspule eine Wechselspannung und ist somit als MR-Signal messbar. (van Geuns, Wielopolski et al. 1999)

2.3.1 Relaxation

Nach Ende des HF-Impulses nimmt die Transversalmagnetisierung und somit das MR-Signal ab, bis der stabile Ausgangszustand vor Anregung wieder erreicht ist. Das abnehmende Signal bezeichnet man als „Free Induction Decay“ (FID). Die Zeit bis zum Wiedererlangen des Ausgangszustandes wird Relaxierungszeit genannt. (van Geuns, Wielopolski et al. 1999)

Verantwortlich für die Abnahme der Signalintensität sind zwei voneinander unabhängige Effekte.

Der erste und meistens schneller eintretende Effekt bewirkt die Abnahme der Nettotransversalmagnetisierung (T2 Relaxation oder Transversalrelaxation) durch Abnahme der nach Anregung bestehenden Phasenkoheränz. Grund dafür sind zwei Komponenten. Die erste ergibt sich aus dem Energieaustausch zwischen den Spins durch fluktuierende lokale Magnetfeldänderungen auf Grund benachbarter Spins. (Cardoza and Herfkens 1999) Die Zeitkonstante T2 beschreibt hier die reine Spin-Spin-Wechselwirkung. Für eine weitere Dephasierung sorgen zeitlich konstante Inhomogenitäten von B_0 mit dem Resultat leicht verschiedener Larmorfrequenzen der Protonen. Dieser Effekt tritt vor allem an Gewebegrenzflächen auf. Im Ergebnis verschwindet das Signal auf Grund der Dephasierung nicht mit der Zeitkonstante T2 sondern schneller mit $T2^*$ ($T2^* < T2$). (Weishaupt, Köchli et al. 2006)

Der zweite Effekt ist in der Regel deutlich langsamer und beruht auf der Abgabe der durch Anregung aufgenommenen Energie an die Umgebung (Spin-Gitter-Relaxation). Der Geschwindigkeit der Abnahme liegt eine für jedes Gewebe typischen Zeitkonstante zugrunde, die T1 Relaxationszeit. Sie definiert als die Zeit, die nach einem 90-Grad-HF-Puls benötigt wird um das System auf 63% seines Ausgangszustandes zu bringen. (van Geuns, Wielopolski et al. 1999)

Beide Effekte und die daraus resultierende Zeit bis zum Verschwinden des Signals sind voneinander unabhängig und laufen gleichzeitig ab. Sie werden in Millisekunden gemessen, wobei T2 immer kürzer ist als als T1. (Smith 1985)

Gewebe	T1 (ms)	T2 (ms)
Skelettmuskel	870	47
Myokard	600	40
Leber	490	43
Fett	260	84
Blut	1.210	35

Abbildung 4 T1 und T2 Werte verschiedener Gewebe bei 1,5 T in ms

(van Geuns, Wielopolski et al. 1999)

2.3.2 Pulssequenz

Als Pulssequenz bezeichnet man eine bestimmte Zusammensetzung von Amplitude, Dauer und Zeitpunkt von HF- und Gradientenimpuls. Je nach Wahl ergeben sich unterschiedliche Signal-Rausch-Verhältnisse, Messzeiten sowie Artefakt- und Kontrastverhalten. Im Wesentlichen gibt es zwei unterschiedliche Pulssequenzen.

2.3.2.1 Das Spinecho

Die Spinecho (SE) Sequenz besteht aus einem 90-Grad-Puls, gefolgt von einem 180-Grad-Puls. Der erste Puls führt zu einer Auslenkung der Längsmagnetisierung in die XY-Ebene. Der zweite Puls wird während der Dephasierung abgegeben und kehrt diese um. Durch die Dephasierung erhöht sich das Signal und kann als Echo-Signal gemessen werden. (van Geuns, Wielopolski et al. 1999)

Die Aneinanderreihung mehrerer 180-Grad-Impulse ermöglicht die Messung vieler Echos. Diese Technik bezeichnet man als Echo Train. Diese Methode ermöglicht eine Verkürzung der Messdauer im klinischen Kontext. Die verbesserte Rentabilität wird jedoch mit abnehmender Signalintensität innerhalb der Messungen erkauft. Diese Sequenz bezeichnet man als „multiple echo“ oder Carr-Purcel (CP)-Sequenz. (Harms and Kramer 1985)

Die SE-Sequenzen werden durch zwei Zeiten näher charakterisiert.

1. Die Echozeit (TE) ist die Zeit zwischen der Mitte des 90-Grad-Impulses und der Mitte des Echos.
2. Die Repetitionszeit (TR) ist die Zeit zwischen Beginn einer Pulssequenz und dem Beginn der folgenden Pulssequenz.

(Harms and Kramer 1985)

An dem durch Einsatz der Spin-Echo-Sequenz zustande kommenden Signal sind T1 und T2 beteiligt. Je größer TE ist, desto größer ist der Anteil von T2 am Signal. TR gibt den Ausschlag für T1.(Smith 1985)

Vorteil der SE-Sequenz ist ihre relative Unempfindlichkeit gegen statische Feldinhomogenitäten und somit eine sehr gute Bildqualität. Nachteil ist eine recht lange Messzeit und daraus resultierend eine hohen Empfindlichkeit für Bewegungsartefakte.(Weishaupt, Köchli et al. 2006)

Eine Untergruppe der SE-Sequenzen stellen die Inversion-Recovery-Sequenzen (IR-Sequenzen) dar. Mit ihnen können T1-gewichtete oder fettsupprimierte Bilder aufgenommen werden. Im Gegensatz zur SE-Sequenz erfolgt die Abgabe des 180-Grad-Impulses vor dem 90 Grad Impuls. Dadurch wechselt zunächst die Längsmagnetisierung von der positiven Z-Richtung in die negative. Zunächst resultiert auf Grund der Ausrichtung und dem Mangel eines Vektors in der XY-Achse kein Signal. Nach dem Impuls beginnt der invertierte Längsmagnetisierungsvektor durch die Transversalebene in seine ursprüngliche Ausrichtung zu relaxieren. Während dieser Phase erfolgt die Abgabe des initialen 90-Grad-Pulses der SE-Sequenz. Die Zeit zwischen 180-Grad- und 90-Grad-Impuls bezeichnet man als Inversionszeit. Durch Anpassung der Inversionszeit kann der Bildkontrast verändert werden. Folgt der 90-Grad-Puls unmittelbar auf den 180-Grad-Puls entspricht dies einer kurzen Inversionszeit und die gesamte Magnetisierung wird aus der negativen Z-Ebene in die XY-Ebene gedreht. Eine Verlängerung des Intervalls ergibt eine Verringerung des Signals. Erst nach vollständiger Relaxation steigt der Signalpegel wieder an. (Weishaupt, Köchli et al. 2006)

Durch Wahl einer geeigneten Inversionszeit ist die selektive Unterdrückung von Gewebesignalen wie etwa von Fett oder Blut möglich. Dabei wird die Inversionszeit so gewählt, dass die Relaxationszeit gerade einen Null-Durchgang hat.

Zur Bestimmung der benötigten Inversionszeit wird vorab eine nach den gleichnamigen Autoren benannte Look-Locker-Sequenz durchgeführt. Hierbei handelt es sich um eine spezielle Messesequenz zur Bestimmung eines optimalen Vorpuls-Delays bei Anwendung eines 180-Grad-Inversion-Recovery-Vorpulses. (Hombach, Grebe et al. 2005)

2.3.2.2 Das Gradientenecho

Das Echo entsteht hier durch Umschalten der Frequenzkodiergradienten. Ein Teil der Gradienten für zur Dephasierung, ein anderer zur Rephasierung. Das Maximum des Echos entsteht an der Stelle an dem sich beide aufheben.

Der wesentliche Unterschied zwischen Spin-Echo und Gradientenechosequenz ist das Ausbleiben eines 180-Grad-Impulses sowie der Winkel des Anregungsimpulses bei der Gradientenechosequenz. Dieser beträgt weniger als 90 Grad.

2.3.3 Kardiale Magnetresonanztomographie

Die erste Beschreibung des Einsatzes eines MRT zur Untersuchung des kardiovaskulären Systems erfolgte 1980 durch Goldman et al. (Goldman, Pohost et al. 1980)

Ein wesentlicher Vorteil der MRT-Untersuchung gegenüber anderen Bildgebungsverfahren ist die frei einstellbare Wahl der Schnitt- und Schichtebenen. Damit kann die Untersuchung des Herzens in beliebig einstellbaren Ebenen des dreidimensionalen Raumes erfolgen, dem Field of View (FOV). Mit der MRT-Untersuchung können zudem Aspekte wie Vitalität, Perfusion, Morphologie und Funktion des kardiovaskulären Systems beurteilt werden. (Chiu, So et al. 2003; Horstick, Petersen et al. 2004)

Die Entwicklung schnellerer Bildsequenzen zur Verkürzung der Untersuchungszeit und damit die Minderung von Bewegungsartefakten durch Herzschlag und Atmung stellte einen bedeutenden Fortschritt für die kardiale MRT dar; EKG-getriggerte Verfahren trugen weiter zur Bewegungskompensation und somit zur Verbesserung

der Qualität der kardialen MRT-Bildgebung bei. Hierbei werden einzelne Phasen der Herzaktion identifiziert und können somit getrennt betrachtet werden. Dieses so genannte „Gating“ kann prospektiv oder retrospektiv erfolgen.

Prospektiv startet die Datenaquisition mit dem QRS Komplex. Um der physiologischen Variabilität des R-R Abstandes Rechnung zu tragen, werden die letzten 10% nicht in die Erfassung mit einbezogen. Das retrospektive Gating erfasst kontinuierlich die gesamte Herzaktion, wobei nach jeder R-Zacke eine Schaltung der Gradientenspule erfolgt. Erst vor der Verarbeitung durch den Rechner erfolgt die Zuordnung der Matrixdaten zu einzelnen Herzphasen. Vorteil dieser Technik ist die Erfassung aller Teile der Herzaktion, so dass auch die diastolische Funktion detailliert untersucht werden kann.

Erschwert wird die Ableitung eines Oberflächen EKGs im MRT durch das Hauptmagnetfeld und die Einwirkung der RF-Pulse. Zur Kompensation dieser Effekte kommt ein spezielles Vektor-EKG zum Einsatz. Vor Entwicklung dieser Methode war bei rund 2-5% der Patienten keine EKG-Ableitung möglich. Durch Interpretation der räumlichen Lage des QRS-Komplexes können die störenden Einflüsse des Hauptmagnetfeldes sowie der magnetohämodynamische Effekt reduziert werden. Dieser entsteht durch den pulsatilen Fluss des Blutes in der Aorta descendens. Wichtig ist, dass die EKG Elektroden zur Verminderung der Spannungsschwankungen auf Grund der Gradienten möglichst nahe zusammen platziert werden. (Mahnken, Gunther et al. 2004)

Neben der Herzeigenbewegung kommt es atembedingt zu einer starken Verlagerung des Herzens im Thorax. Um diese primär in kraniokaudaler Achse verlaufende Bewegung zu kompensieren kann ein respiratorisches Gating erfolgen.

Eine einfache Methode zur Unterdrückung ist die so genannte Atem-Stopp-Technik (Breathholding), bei der der Patient aufgefordert wird, kurzfristig den Atem anzuhalten. Allerdings ist häufig gerade bei Patienten, die sich einer kardialen Bildgebung unterziehen müssen oder sollen die respiratorische Reserve stark eingeschränkt und somit die Atem-Stopp-Technik nur begrenzt anwendbar.

Eine Alternative stellen Atemsensoren dar, die um den Bauch des Patienten befestigt werden, so dass eine Untersuchung in freier Atmung möglich ist (Freebreathing).

Durch Erfassung des Drucks auf die Sensoren kann die Akquisition auf den Beginn der Expiration synchronisiert werden. (Bornstedt 2002)

Der gewählte Bereich, das sogenannte Gating-Fenster, bestimmt die Zulässigkeit der Messungen. Vorzugsweise wird das Akzeptanzfenster so gewählt, dass es den häufigsten Bewegungszustand, wie etwa die Endexpiration, abdeckt. Somit erhöht sich die Wahrscheinlichkeit einer positiven Korrelation zwischen gewähltem Gating-Fenster und Bewegungszustand und folglich einer korrekten Messung. Der Einsatz dieser Technik kann ebenso wie das EKG-Gating prospektiv oder retrospektiv erfolgen.

Beim prospektiven Vorgehen wird erst bestimmt, ob die Messung innerhalb des definierten Fensters liegt, ansonsten wird sie verworfen. Retrospektiv erfolgt die Messung kontinuierlich und wird erst nach Abschluss der Bildgebung mit den erhobenen Lagedaten verrechnet.

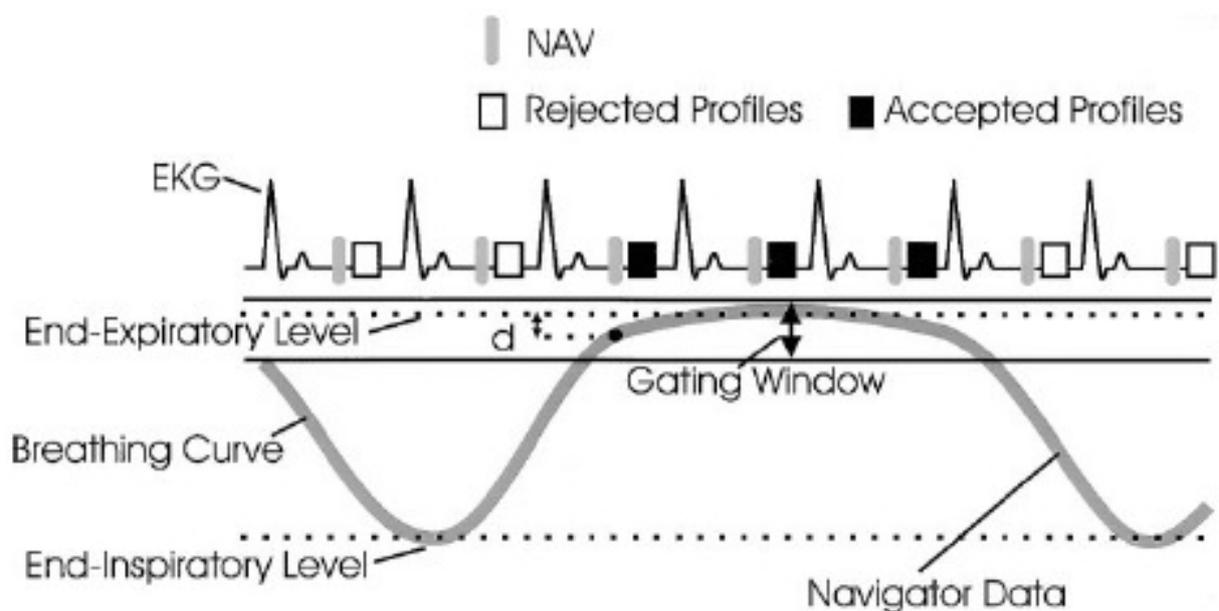


Abbildung 5 Navigator und Gating Fenster

(Stuber, Botnar et al. 1999)

Eine weitere Verbesserung der kardialen Bildgebung konnte durch Einsatz von Oberflächenspulen erzielt werden. Prinzipiell kann auch eine reine Körperspule genutzt werden, die Verwendung von Oberflächenspulen führt aber zu einer deutlichen Verbesserung von Signalstärke und Auflösung. Besonders geeignet sind mehrteilige Oberflächenspulen. (Mahnken, Gunther et al. 2004) Durch Anbringen

mehrerer Empfangsspulen oberhalb und unterhalb des Patienten, nahe des zu untersuchenden Körperbereiches beziehungsweise Organs erhält man ein günstiges Spulen-zu-Probe-Volumen-Verhältnis. Dadurch verbessert sich das Signal zu Rauschen Verhältnis und man erhält eine bessere Ortsauflösung. (Roemer, Edelstein et al. 1990)

Zusätzlich bieten die Phased-Array-Spulen den Vorteil eines größeren FOV, indem die Spulen überlappend angeordnet werden und ihre Signale zunächst separat empfangen und anschließend miteinander verrechnet werden. (Redpath 1998)

2.3.4 Kontrastmittel in der Kardio-Magnetresonanztomographie

Studien haben gezeigt, dass die Darstellung der Gefäßwand der Koronararterien mittels MRT möglich ist. Die Untersuchungen erfolgten dabei mit und ohne Einsatz von Kontrastmitteln. Kontrastmittel werden bereits seit 1988 in der MRT-Bildgebung verwendet. (Lin and Brown 2007)

Ihre Wirkweise unterscheidet sich grundlegend von derer, die im Rahmen anderen Bildgebungsverfahren zum Einsatz kommen. Im MRT ist nicht das Kontrastmittel an sich sichtbar, sondern die von ihm verursachte Signaländerung der Protonen des umgebenden Gewebes. (Okuhata 1999)

2.3.4.1 Einteilung der Magnetresonanztomographie Kontrastmittel

Die verwendeten Substanzen lassen sich nach zwei Eigenschaften kategorisieren: Anhand des **Wirkungsmechanismus** und anhand der **Verteilung** im Körper.

Einteilung anhand des **Wirkungsmechanismus**:

Hierbei wird der Einfluss des Kontrastmittels auf die Signalintensität beschrieben. Man spricht von einer positiven Verstärkung oder longitudinale Relaxation und negative Verstärkung oder transversale Relaxation. Dieser Effekt wird als T1- und T2 Relaxivität (R_1 bzw R_2) in der Einheit $\text{mM}^{-1} \times \text{s}^{-1}$ ausgedrückt. Die Definition von R_1 und R_2 ist die Anstiegsteilheit der Kurve von $1/T_1$ beziehungsweise $1/T_2$ gegen die Konzentration des Kontrastmittels. Dieser Wert ist Abhängig von Zusammensetzung,

Temperatur und Hauptmagnetfeldstärke. Der Quotient $R2/R1$ bestimmt, ob ein Kontrastmittel einen überwiegend T1- ($R1$ signifikant höher als $R2$) oder T2-verkürzenden Effekt hat. (Krombach, Higgins et al. 2002)

Ein Signalanstieg in T1-gewichteten Sequenzen entspricht einer Verkürzung der longitudinalen Relaxation (T1) und wird als positives oder auch relaxivitätsverstärkendes Kontrastmittel bezeichnet. Das Molekulargewicht der Substanzen dieser Klasse liegt meistens zwischen 1000 und 2500 Dalton. (Saeed, Wendland et al. 2000) Um eine effektive T1-Relaxation herbeizuführen, ist ein molekularer Kontakt zwischen Kontrastmittel und Wasser erforderlich. Hierbei hat sich gezeigt, dass Kontrastmittel mit einer schnellen Diffusion durch das Interstitium effektiver sind als solche mit einer Beschränkung auf den intravaskulären Raum. (Saeed, Wendland et al. 1994)

Eine Verkürzung der transversalen Relaxation entspricht einem negativen Kontrastmittel, auch Suszeptibilitätskontrastmittel genannt. Die Proportionalitätskonstante zwischen eingesetztem Magnetfeld und der Magnetisierung, die durch Interaktion zwischen Ionen und ungepaarten Elektronen hervorgerufen wird, ergibt die magnetische Suszeptibilität. (Saeed, Wendland et al. 2000)

Einteilung anhand der **Verteilung** im Körper:

Man unterscheidet extrazelluläre, intrazelluläre und intravaskuläre Substanzen. Die Pharmakokinetik der Kontrastmittel ist vor allem von ihrer molekularen Größe abhängig.

Extrazelluläre Substanzen zeichnen sich durch eine kleine Größe von weniger als 1500 Dalton aus. Die geringe Größe ermöglicht die freie Diffusion aus dem Gefäßsystem in das Interstitium. Dort verhalten sie sich inert, das heißt sie binden nicht an andere Moleküle. Ein Übertritt in den Intrazellulärraum erfolgt nicht.

Entscheidend für die Wirkung auf die T1-Relaxation ist die Umverteilungszeit. Ein hohes Molekulargewicht von größer 30000 Dalton sowie eine globuläre Form behindern die Diffusion in den Extrazellulärraum und führen somit zu einem überwiegend intravasalen Verbleib des Kontrastmittels. Dies bezeichnet man auch als Black-Blood oder makromolekulare Kontrastmittel. Gegenüber den anderen Kontrastmitteln bietet dies folgende Vorteile:

Aus der langen Plasmahalbwertszeit resultiert ein größeres Zeitfenster für die Durchführung der Untersuchung. Durch ihre hohe T1-Relaxivität ergibt sich eine gute Dosis-Wirkungs-Beziehung. Problematisch ist hingegen die Verträglichkeit und vollständige Ausscheidung.(Hombach, Grebe et al. 2005)

Um einen längeren intravasalen Wirkungszeitraum zu erreichen wird die primär extrazelluläre Substanz kovalent an ein Makromolekül wie etwa Dextran, Polylysin oder Albumin gebunden. (Saeed, Wendland et al. 2000).

Bei den intrazellulären Kontrastmitteln handelt es sich um freie Ionen, die durch selektiven Transport durch die Zellmembran in das Zellinnere gelangen. (Krombach, Higgins et al. 2002)

Im Rahmen ihrer Verwendung können Aussagen über die Zellaktivität getroffen werden, beispielsweise um die Zellvitalität nach Myokardinfarkt zu beurteilen. (Saeed, Higgins et al. 2000)

Das einzige derzeit zugelassene intrazelluläre Kontrastmittel basiert auf Mangan in Form des Chelats Manganfodipir-Trisodium (Mn-DPDP). Aus dem Mangan-Chelat werden Mn^{2+} Ionen freigesetzt, die über spannungsgesteuerte Kalziumkanäle in die Zelle aufgenommen werden. Die paramagnetischen Eigenschaften des Mn^{2+} -Ions führen zu einer Verkürzung der T1-Relaxation. Der membrantransporterabhängige Transport ermöglicht die Unterscheidung zwischen vitalen und nekrotischen Myozyten.(Bremerich, Saeed et al. 2000)

Zwischen den einzelnen Gruppen der MRT-Kontrastmittel gibt es große Überschneidungen, so dass etliche Substanzen mehreren Gruppen zuzuordnen sind. (Krombach, Higgins et al. 2002)

2.3.4.2 Neue Ansätze für Kontrastmittel

Bisher kamen lediglich unspezifische Kontrastmittel zum Einsatz. Ein neuer Ansatz ist die Entwicklung spezifischer Kontrastmittel, die gezielt zur Darstellung bestimmter Strukturen wie beispielsweise Proteine eingesetzt werden können. Zielgerichtete Substanzen könnten die Aussagekraft bei der Beurteilung von Morphologie und Funktion noch weiter verbessern.(Caravan 2009)

2.4 Vergleichende Anatomie

Im Gegensatz zu der trapezoiden Morphologie des menschlichen Herzens nimmt das Schweineherz am ehesten eine „Valentinherz“ Form ein. Ursache dessen ist zum einen die Thoraxform, zum anderen die relative Lage des Organs im Körper. Die Hauptmasse des Ventrikels liegt mit ihrer posterioren (oder kaudalen) Oberfläche dem Diaphragma an, wohingegen der anteriore (oder sternoventrale) Teil auf dem Sternum zu liegen kommt. Dies ist ein wesentlicher Unterschied zur menschlichen Anatomie und wird hauptsächlich durch die Körperhaltung des Schweines begründet. Ein weiterer auffälliger Unterschied ist die beim Schwein relativ zur Größe wesentlich dickere linke Ventrikelwand.(Crick, Sheppard et al. 1998)

Die Hauptversorgung erfolgt beim Schwein zu 49% durch die rechte Koronararterie (RCA), zu 51% durch die Linke (LCA). Für den Menschen gibt es je nach Studie unterschiedliche Verteilungen: RCA 36%, LCA 64%; RCA 38%, LCA 62% und RCA 53%, LCA 47%.(Weaver, Pantely et al. 1986)

Für beide Spezies gilt eine überwiegende Versorgung der posterioren (diaphragmalen) Herzwand aus der RCA.(Crick, Sheppard et al. 1998)

Auf Grund der Korrelation zwischen Herzkrankheit und Dominanztyp zeigt sich hier ein wichtiger Faktor für einen Einsatz des Schweinemodels. (Weaver, Pantely et al. 1986) Zudem ähnelt das Schweinemodell hinsichtlich Entwicklung, Morphologie und Funktion dem des Menschen. (McKenzie, Scandling et al. 1996) Somit ist die Verwendung von ähnlichem Kathetermaterial möglich. Darüber hinaus konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass Schweine nach Gefäßverletzung ein ähnliches Restenoseverhalten wie Menschen aufweisen.(Vilahur, Padro et al. 2011)

3 Material und Methoden

3.1 Übersicht

An sechs Versuchstieren wurde nach Vorbehandlung mit ASS und Clopidogrel (Plavix®) eine Gefäßverletzung der Koronararterien mittels PTCA und Stentimplantation durchgeführt. Dabei kamen MRT-kompatible Stents mit dem Ziel einer Verbesserung der Bildgebung für den Bereich des Stentlumens zum Einsatz. Nach 28 Tagen wurden im Abstand von zwei Tagen jeweils MRT-Aufnahmen nativ und mit Magnevist (Fa. Schering/Bayer) sowie mit BMS 753951 durchgeführt. Nach Abschluss der folgenden Koronarangiographie mit Bewertung der aufgetretenen Stenosen wurden die Tiere euthanasiert und Gewebeproben von Herz und Aorta entnommen. Der zeitliche Ablauf des Versuches ist in Abbildung 5 dargestellt. Im Anschluss wurden die Proben histologisch aufgearbeitet und auf vaskuläre Umbauprozesse untersucht. Aus den Bildern wurden Contrast-to-Noise-Ratio, Signal-to-Noise-Ratio (CNR, SNR) und Kinetik bestimmt. Die Ergebnisse der Histologie wurden mit denen der MRT-Messungen verglichen.

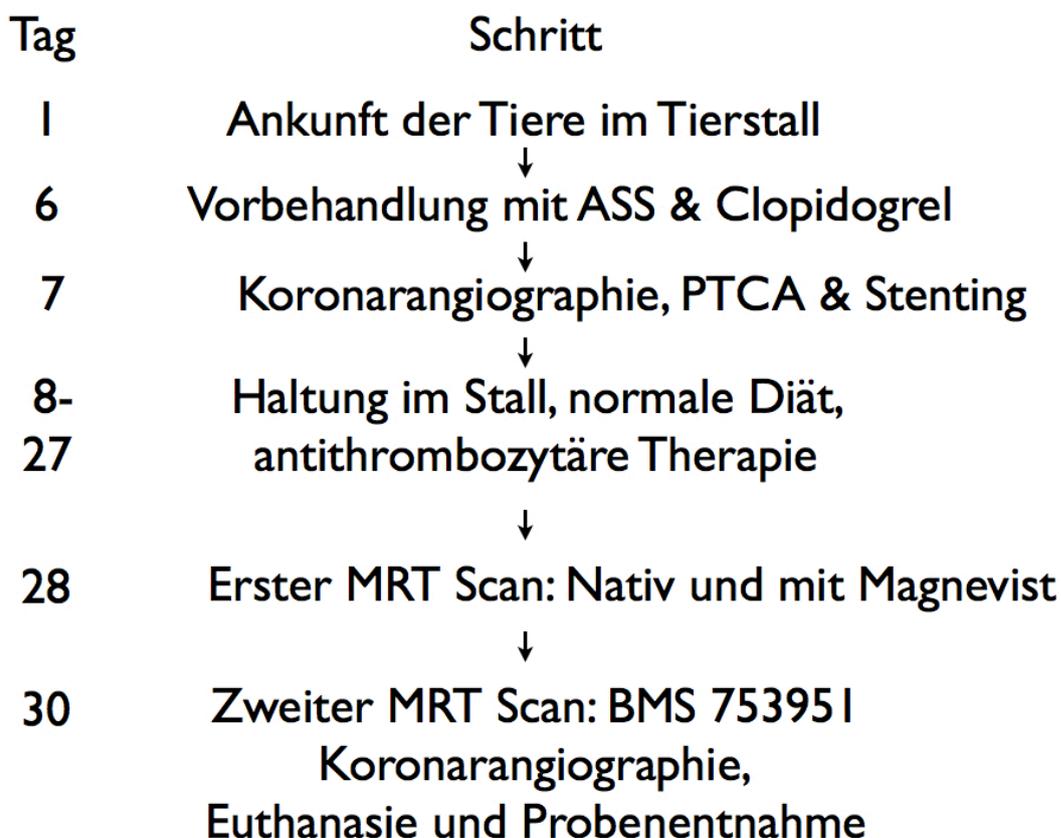


Abbildung 6 Versuchsablauf ohne Auswertung

3.1.1 Versuchsmodell

Aus Mangel an einem etablierten KHK- und Plaqueruptur-Großtiermodell kam ein von Mitglieder der Arbeitsgruppe bereits zuvor im Rahmen von Untersuchungen an MRT-kompatiblen Stents verwendetes Modell einer koronararteriellen Verletzung zum Einsatz. (Spuentrup, Ruebben et al. 2005)

Die Versuchsanordnung beinhaltet Entzündung, Zellproliferation und Gefäßumbauvorgänge ähnlich der Arteriosklerose.

3.1.2 Versuchstiere

Die vorliegende Studie wurde an sechs weiblichen Schweinen der deutschen Landrasse durchgeführt. Die Tiere wogen durchschnittlich 29,3kg ($\pm 1,03$) und ihr Alter betrug bei Versuchsbeginn drei Monate. Die Versuche waren im Vorab durch die zuständige Tierschutzkommission der Regierung von Oberbayern genehmigt worden. Die Haltung der Versuchstiere erfolgte gemäß des Tierschutzgesetzes der Bundesrepublik Deutschland in der aktuellen Fassung.

3.1.3 Haltung und Betreuung

Sieben Tage vor Versuchsbeginn wurden die Schweine in den Tierstall gebracht und von Tierpflegern und Tierärzten des Zentrums für präklinische Forschung (ZPF) am Klinikum rechts der Isar bis zum Ende der Versuche betreut.

Die Schweine wurden in speziellen Tierhaltungsräumen (personenlimitierte Zutrittskontrolle, Temperatur und Luftfeuchte reguliert, Hell/Dunkel-Lichtprogramm mit Dämmerlichtphasen) unter konventionellen Hygienebedingungen gehalten. Der Schweinehaltungsbereich wurde in verschiedenen große Buchten unterteilt, so dass auch eine Gruppenhaltung (zwei Tiere auf drei m² oder vier Tiere auf sechs m²) möglich war. Beschäftigungsmöglichkeiten (Bälle, Beißketten, leere Kanister) standen zur Verfügung. Die Fütterung erfolgte mit speziellem Schweinefutter in pelletierter Form (Ferkelaufzuchtsfutter, Treff®, Vilsbiburg). Zwölf Stunden vor dem operativen Eingriff wurden die Tiere nüchtern gesetzt. Frisches Leitungswasser war über handelsübliche automatische Nippeltränken jederzeit verfügbar. Dies entspricht den in der EU-Richtlinie 86/609 festgelegten Bedingungen. Zu jedem Zeitpunkt des Eingriffs wurden die Tiere durch die zuständige Tierärztin überwacht.

3.1.4 Prämedikation und Anästhesie

Am Tag vor Versuchsbeginn wurde den Tieren 100 mg ASS (Aspirin®, Fa. Bayer) und 300 mg Clopidogrel (*Plavix*®, Fa. Sanofi-Aventis) oral verabreicht.

Am ersten Versuchstag wurden die Tiere zunächst mit Azaperon 2mg/kg Körpergewicht (Stressnil®, Fa. Janssen-Cilag GmbH, Neuss), Ketaminhydrochlorid 10-15 mg/kg Körpergewicht (Narketan®, Fa. Chassot AG, Ravensburg) und Atropinsulfat 0,5 mg/Tier (Atropinsulfat®, Fa. Braun, Melsungen) sediert. Die Medikamente wurden in einer Mischspritze mit Distanzschlauch intramuskulär in die Sitzbeinmuskulatur als Bolus injiziert. Nach eingetretener Sedierung wurde ein Venenverweilkatheter (Vasofix® Safety, 0,9 x 25mm, Fa. Braun, Melsungen) in die Vena auricularis lateralis gelegt. Über diesen Gefäßzugang erfolgte die Narkoseeinleitung mittels Propofol 1% (Propofol 1%, Firma Fresenius) als Bolus.

Nach Ausschaltung des Schluckreflexes wurden die Schweine laryngoskopisch in Rückenlage mit einem Endotrachealtubus (Rüschelit®, Fa. Rüsch, Waiblingen) intubiert. Im Operationsraum wurden sie in Rückenlage auf einer Heizdecke am Operationstisch fixiert und an das Beatmungsgerät (Servoventilator 900C, Fa. Siemens-Elima, Schweden) angeschlossen. Die Beatmung erfolgte mit intermittierend positivem Druck.

Die Narkoseweiterführung und Aufrechterhaltung erfolgte mit Propofol 2% 10-12ml/h (Propofol 2%, Fa. Fresenius) über einen Perfusor (Perfusor® Secura, Fa. Braun, Melsungen). Während der gesamten Dauer des operativen Eingriffs erhielten die Tiere ca. 10ml/kg/h Ringer-Laktat Lösung (Ringer-Laktat®, Fa. Berlin Chemie AG). Unmittelbar vor dem chirurgischen Eingriff wurde den Tieren Metamizol 40 mg/kg i.v. (Novaminsulfon-ratiopharm® 1, Fa. Ratiopharm, Ulm, Deutschland) gegeben. Zusätzlich erhielten die Tiere während des Eingriffes Fentanyl (Fentanyl-ratiopharm®, Ratiopharm GmbH).

Die Überwachung der Pulsfrequenz und der peripheren Sauerstoffsättigung erfolgt während der Narkose über ein Pulsoxymeter (Datex S5, Firma Ohmeda, Freiburg, Deutschland). Als weitere Parameter beinhaltete das perioperative Monitoring die Messung des endexpiratorisches Kohlendioxid, ein Oberflächen-EKG, die Temperatur sowie die invasive Blutdruckmessung.

Während des Transportes erfolgte die Beatmung mittels eines Ambu-Beutels von Hand unter ständiger Überwachung der Sauerstoffsättigung und Pulsfrequenz durch ein Pulsoxymeter.

Zur antibiotischen Prophylaxe erfolgte die perioperative Gabe von 750mg Cefuroxim i.v (Cefuroxim, Fa Ratiopharm).

Mit Ausnahme der invasiven Blutdruckmessung und Prämedikation (Loading) mit Clopidogrel (*Plavix*®, Fa. Sanofi-Aventis) und ASS (Aspirin®, Fa. Bayer) wurde die Anästhesie in gleicher Art und Weise während der MRT-Untersuchungen durchgeführt.

Abweichend davon erfolgte die Anästhesie am letzten Tag des Versuches mit Pentobarbital (Narcoren®, Fa. Merial GmbH, Hallbergmoos) als Dauertropf (25-35 mg/kg/h) und Fentanyl (Fentanyl-ratiopharm®, Ratiopharm GmbH) als Bolusgaben.

3.1.5 PTCA & Stenting

Nach Narkoseeinleitung erfolgte die Lagerung der Tiere auf dem Rücken. Zur Erleichterung der Bildgebung wurden die Extremitäten ausgelagert. Unter sterilen Bedingungen wurde ein Zugang mittels Arteriae sectio geschaffen und eine Schleuse der Größe 7 French in die Arteria carotis eingebracht.



Abbildung 7 Versuchstier mit ausgelagerten Extremitäten

Unter Durchleuchtung erfolgte die Vorbringung eines JL4-Guiding Katheters in Seldingertechnik in den Aortenbulbus. Nach Platzierung der Katheterspitze in den linken Koronarhauptstamm erfolgte die selektive Koronarangiographie in RAO 30, sowie LAO 30 und kranial 40 Grad zur Darstellung der LAD und des Ramus Circumflexus unter Verwendung von Imerprol (Imeron®, Bracco Imaging Deutschland GmbH, Konstanz) als Kontrastmittel. Die Stentimplantation erfolgte direkt in die proximale bis mediale LAD, wobei ein Oversizing des entsprechenden Gefäßes angestrebt wurde. Dabei wird der Stent über den Nativdurchmesser des Gefäßes hinaus aufgedehnt. Folge sind eine stärkere Schädigung der Gefäßwand und damit eine stärkere Ausprägung der Restenose sowie ein verstärktes Gefäßremodeling. (Zamora, Sugimoto et al. 2005)

Implantiert wurden spezielle Stents der Firma Aachen Resonance. Die Prototypstents bestehen aus einer Legierung aus Kupfer (75%), Silber (8%), Platin (2%), Gold (14%) und Palladium (1%).(Buecker, Spuentrup et al. 2004).

Grund für die Verwendung dieser Spezialstents sind die starken ferromagnetischen Eigenschaften, der sonst häufig verwendeten Bare-Metal-Stents, was zu einer hohen magnetische Suszeptibilität führt und den Aufbau eines homogenen Magnetfeldes stört. Daraus resultieren an den Phasengrenzen des Materials Signalausfällen und/oder Bildverzerrungen. Durch die Verwendung von Materialien mit niedriger Suszeptibilität kann eine deutliche Artefaktreduktion erreicht werden. (Spuentrup, Ruebben et al. 2005)

In der proximale bis mediale LCX erfolgte eine Ballondilatation ohne Stentimplantation. Die rechte Koronararterie (RCA) wurde vollständig nativ belassen.

Tier	kg	Stent	Diameter	Druck	PTCA	Diameter	Druck
1	30	LAD	3,5 mm	8 atm	prox. + med. LCX	3,5 mm	14 atm
2	30	LAD	3,5 mm	8 atm	prox. LCX	3,0 mm	6 atm
3	28	LAD	4 mm	16 atm	prox. + med LCX	3,5 mm	20 atm
4	28	LAD	4 mm	10 atm	prox. LCx	3,0 mm	6 atm
5	30	LAD	4 mm	8 atm	prox. LCX	4,0 mm	16 atm
6	31	LAD	4 mm	12 atm	prox. LCx	4,0 mm	12 atm

Abbildung 8 Stentimplatations- und PTCA Übersicht

Nach Intervention wurde die Schleuse entfernt und die Arteria carotis ligiert. Die Tiere wurden nach Wiedereinsetzen der Spontanatmung in ihre Stallungen verbracht, wo sie postinterventionell durch tiermedizinisches Personal überwacht wurden.

3.1.6 Unterbringung der Tiere in der Ruhephase

Die Unterbringung der Tiere erfolgte bis zum nächsten Versuchsschritt erneut in ihren Stallungen. Bis Versuchsende erhielten die Tiere neben normaler Kost täglich Clopidogrel 75 mg (*Plavix*®, Fa. Sanofi-Aventis) sowie 100 mg ASS (Aspirin®, Fa. Bayer) per os zur Thrombozytenaggregationshemmung.

3.1.7 MRT

3.1.7.1 Vorbereitung und Monitoring

28 Tage nach Verletzung des Gefäßes durch Stentplatzierung beziehungsweise Ballondilatation erfolgte die erste Untersuchung am MRT. Die Tiere wurden zunächst analog des Anästhesieprotokolls sediert und intubiert. Zur Überwachung der Vitalparameter und EKG-Triggerung der Aufnahmen wurde ein Elektrokardiogramm mittels eines MRT-kompatiblen Monitoringsystems abgeleitet. Weitere Überwachungsparameter waren Herzfrequenz und Sauerstoffsättigung.

In achsengerechter Rückenlage wurden die Versuchstiere im MRT mit ausgelagerten Extremitäten fixiert.

Zur Streßreduktion erfolgte eine Geräuschabschirmung der Tiere durch Ohrenstöpseln.

3.1.7.2 Geräte und Versuchsablauf

Die Scans wurden mit einem 1.5 Tesla MR Scanner (Achieva, Philips Medical Systems, Best, Niederlande) durchgeführt.

Die Bildgebung erfolgte als EKG-getriggerte MRT-Angiographie (MRA) (Spuentrup, Bornert et al. 2002) in freier Atmung sowie als Delayed Gadolinium Enhancement (LGE) beziehungsweise Delayed BMS 753951 Enhancement (DBE) der Koronargefäßwände. (Botnar, Buecker et al. 2004)

3.1.7.3 Scanvorbereitung und Hilfsmittel

Zur Verbesserung der Bildgebung kam ein herzspezifisches Phased Array System aus fünf Körperspulen zum Einsatz.

Als erstes wurde eine Übersichtsaufnahme zur anatomischen Orientierung angefertigt. Mit derselben Aufnahme konnte die mittel- bis enddiastolische Ruheperiode des Herzens bestimmt werden. Dieser Teil der Herzaktion dient als Zeitfenster für die Datenerfassung.

Im nächsten Schritt wurde eine Scoutscan zur Identifizierung und Lagebestimmung der Koronararterien sowie des Zwerchfells durchgeführt. Mittels Definition der Lage des Zwerchfells relativ zur Lunge können mehrere Messungen hintereinander abgestimmt auf die Atmung erfolgen, indem die Messdaten prospektiv oder retrospektiv mit den Phasen der Atemzyklus verknüpft werden (Navigator-Technik).

Die Datenerfassung wurde in diesem Versuch mittels EKG auf die mittel- bis enddiastolische Ruhephase des Herzmuskels abgestimmt. Das Gating erfolgte mit einem fünf-mm-Fenster.

3.1.7.4 Bildgebungsparameter

Basierend auf den Daten des Scoutscans erfolgte die Planung der hochauflösenden Bildgebung.

EKG-synchronisiert und Navigator-gestützt erfolgte zunächst die 3D Balanced Fast Field Echo (Balanced FFE) MRA (Blut signalreich), danach die Delayed Enhancement Koronarangiographie (DE-CMR) mittels T1-gewichteter 3D Inversion Recovery Fast Gradient Echo Technik.

Die Bildgebungsparameter der DE-CMR entlang des Verlaufs der LAD, LCX and RCA waren:

Focus of View (FOV) = 320 mm
Matrix = 256 x 256
Ortsauflösung = 1.25 x 1.25 mm
Schnittdicke = 3 mm
acquisition window = 50 ms
TR/TE = 4.7 ms/1.4ms
flip angle = 30°
slices = 24

Die Inversionszeit-Berechnung zur Unterdrückung des Blutsignals erfolgte durch eine Look-Locker-Sequenz. Dabei handelt es sich um eine Reihe schneller Aufnahmen im Laufe der T1-Relaxation. Anhand dieser Messungen lässt sich der Nulldurchgang des Blutes bestimmen und sein Signal in den späteren Messungen unterdrücken (Hombach, Grebe et al. 2005).

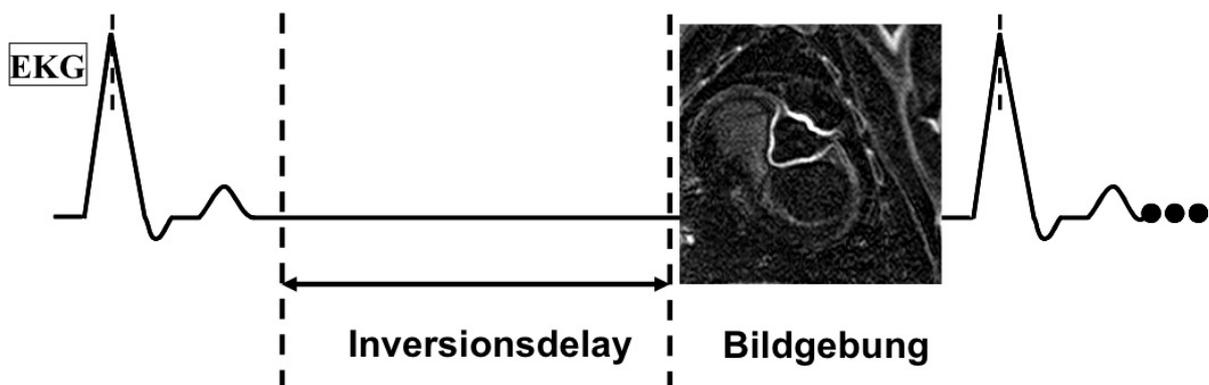


Abbildung 9 EKG getriggerte Messung mit Inversionsdelay

3.1.7.5 Bildgebung mit Gadolinium

Die Messungen erfolgten zunächst jeweils vor und nach Injektion von 0.2 mmol/kg Gadopentetat-Dimeglumin (Gd-DTPA) (Magnevist®, Bayer-Schering Health Care, Berlin), einem sich unspezifisch im Extrazellulärraum anreichernden Kontrastmittel.

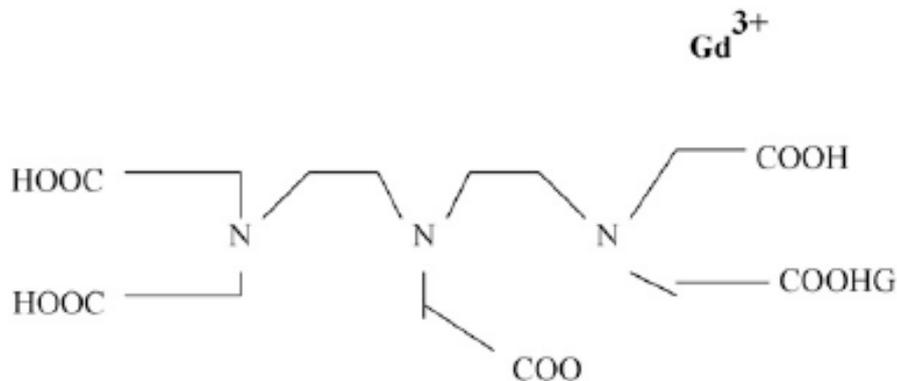


Abbildung 10 Gd-DTPA (Magnevist, Bayer-Schering Health Care, Berlin)

Gd-DTPA setzt sich zusammen aus einer Chelatkomplexverbindung zwischen Gadolinium und Diethylentriaminpentaessigsäure, einem achtzahnigen Chelator. In seiner freien Ionenform Gd^{3+} ist Gadolinium auf Grund seiner Schwermetalleigenschaften für den menschlichen Organismus hochtoxisch, erst die Komplexierung ermöglicht den Einsatz als Kontrastmittel *in vivo*. Die Kontrastmittelwirkung wird durch sieben ungepaarte Elektronen auf der f-Schale vermittelt. Durch den starken Paramagnetismus des Elements können umgebende Protonen schneller relaxieren. Daraus ergibt sich eine Verkürzung der T₁, T₂ und T₂* Relaxierungszeiten. Resultat ist eine Signalanhebung in T₁ und einer Signalminderung in T₂ und T₂*.

Eine Ausnahme bildet die Sequenz mit short tau inversion recovery (STIR). Hier zeigt sich durch Gadolinium-Anreicherung eine Signalminderung auf Grund der T₁-Verkürzung.

Gadolinium selbst geht nur kurzfristige schwache Bindungen mit Proteinen ein. Auf Grund seiner Polarität und Molekülgröße von etwa 500 Dalton kann Gadolinium die Bluthirnschranke unter physiologischen Bedingungen nicht übertreten.

Die Elimination des Kontrastmittels erfolgt überwiegend renal mittels passiver Filtration ohne Reabsorption, nur 5-7% werden biliär ausgeschieden. Im Nierengesunden hat Gd-DTPA eine Halbwertszeit zwischen eineinhalb und zwei Stunden. Die vollständige Elimination ist nach etwa 24-48 Stunden erfolgt. (Bellin and Van Der Molen 2008).

Als akut auftretende Nebenwirkungen sind Anaphylaxie und kontrastmittelinduzierte Nephropathien bekannt. Als späte Folgeschäden können eine nephrogene systemische Fibrose sowie eine Nekrosebildung am Injektionsort auftreten.

3.1.7.6 Bildgebung mit BMS 753951

Zwei Tage später am Tag 30 der Studie erfolgte die erneute Untersuchung analog des MRT Protokolls mit Gadolinium, diesmal unter Einsatz von BMS 753951. Die Messungen erfolgte vor sowie 30, 60, 90 und 120 Minuten nach Injektion von 0,1 mmol/kg BMS 753951 (DBE). (Onthank, Yalamanchili et al. 2007)

BMS-753951 (Lantheus Medical Imaging, North Billerica, USA) ist ein niedermolekulares MRT Kontrastmittel mit einer mittleren Spezifität für Elastin ($IC_{50} = 0,33\text{mM}$). Es setzt sich zusammen aus einem Gd-DTPA Chelat verknüpft mit der Aminosäure D-Phenylalanin. Die Bluthalbwertszeit von BMS 753951 ist ähnlich der von aktuell im klinischen Einsatz befindlichen Gadolinium basierter MR Kontrastmittel ($<2\%ID/g$ nach 60 Minuten). Zum Zeitpunkt der Studie ist BMS 753951 ein rein experimentelles nicht am Menschen zugelassenes Kontrastmittel.

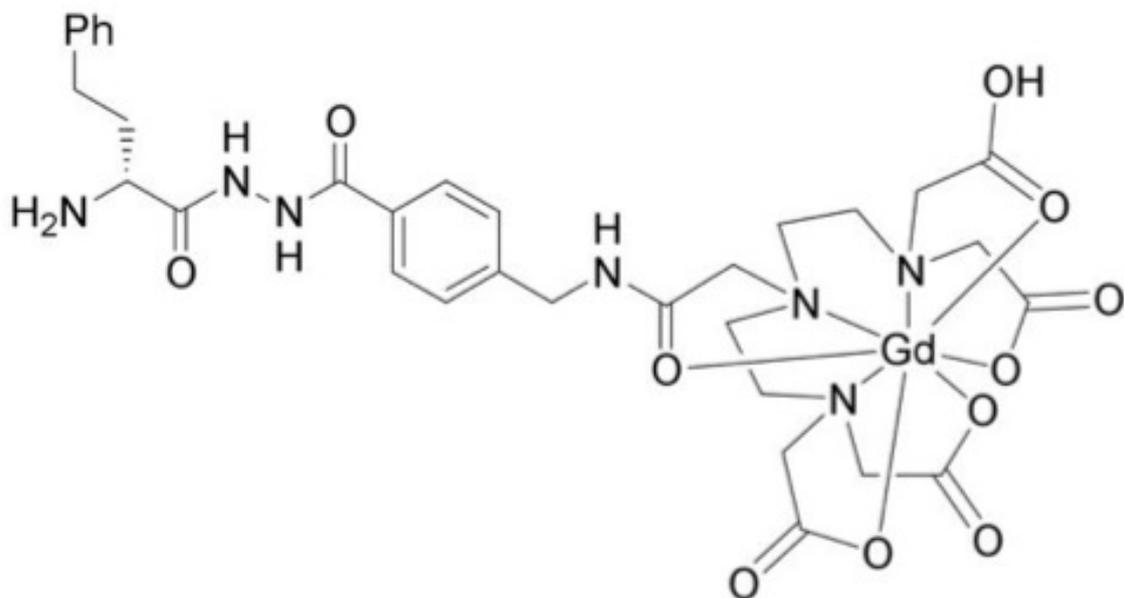


Abbildung 11 Strukturformel von BMS 753951 (Lantheus Medical Imaging, North Billerica, USA)

Präklinische Forschungsdaten von Onthank, Yalamanchili et al zeigen eine vermehrte Aufnahme in die arterielle Wand im Verhältnis zu Magnevist. (Onthank, Yalamanchili et al. 2007)

Gewebe	Bindung in %	
	[¹⁵³ Gd] BMS 753951	[¹⁵³ Gd] DTPA (Magnevist)
Plaques Aorta Hase	12.5	0.08
Koronararterie Rind	7.9	0.03
Koronararterie Schwein	6.7	0.02
Carotis Mensch	3.1	0.02

Abbildung 12 Akkumulation in elastinreichem Gewebe ex vivo

In der selben Studie zeigte BMS 753951 zudem eine stärkere Bindung an die arterielle Gefäßwand als an die venöse.

KM	Gewebe	Bindung in %
BMS 753951	Aorta	8.8
BMS 753951	Vene	0.69

Abbildung 13 Vergleich Bindung BMS 753951 Aorta vs Vene

Im Vergleich zu Magnevist besitzt BMS 753951 eine stärkere Relaxivität bei 4,7 Tesla ($3,3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$ vs $4,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$)

Nach Bindung an die Arterienwand nimmt die Relaxierung deutlich zu:

$4.5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$ (ungebunden) vs. $13.7 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$ (gebunden). Hieraus ergibt sich eine deutliche Anhebung der Signal-to-Noise Ratio. (Onthank, Yalamanchili et al. 2007)

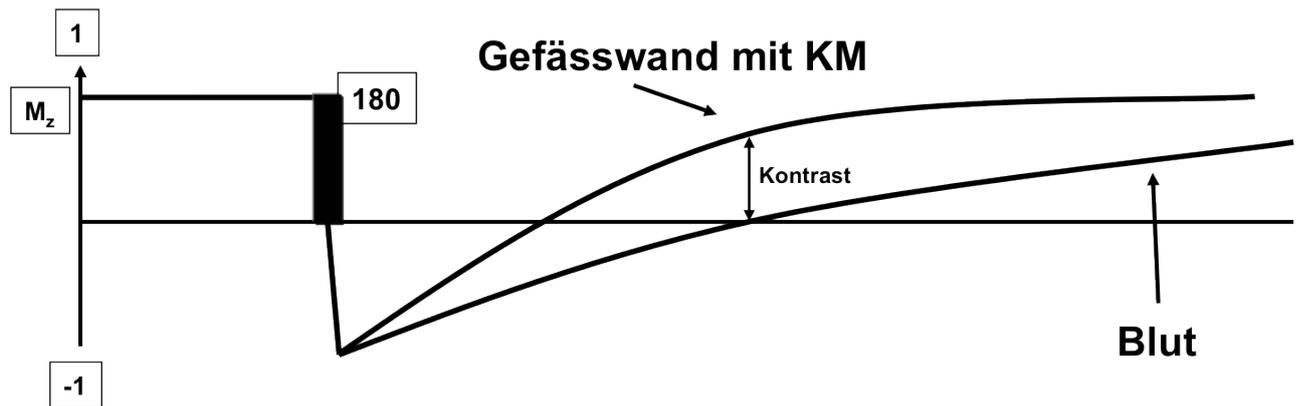


Abbildung 14 Physikalische Wirkung von BMS 753951

3.1.8 Kontroll-Koronarangiographie

Direkt im Anschluss an die letzte MRT-Untersuchung wurden die Tiere in Narkose in den OP verbracht. Dort erfolgte eine diagnostische Koronarangiographie. Ziel der Untersuchung war die Bewertung des Stenosegrades der gestenteten sowie der lediglich ballondilatierten Gefäßabschnitte.

3.1.9 Euthanasie

Nach Abschluss der letzten Untersuchung wurden die Tiere in tiefer Allgemeinanästhesie durch die Tierärztin euthanasiert. Dazu wurden ca.100mg/kg Pentobarbital-Natrium (Narcoren®, Fa. Merial GmbH, Halbergmoos, D), sowie 20ml einer einmolaren Kaliumchloridlösung (Fa. Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, D) intravenös injiziert.

3.1.10 Sektion und Probenentnahme

Nach Feststellung des Todes durch die Tierärztin wurden den Schweinen Organ- und Gewebeproben entnommen. Entnommen wurden das Herz, sowie Teile der Aorta ascendens und descendens. Die Entsorgung der restlichen Tierteile erfolgte gemäß den gesetzlichen Bestimmungen.

3.2 Auswertung

3.2.1 Bildanalyse

Die quantitative Auswertung der Bilder erfolgte durch Bestimmung der Signalintensität (SI) von Gefäßwand und Blut. Daraus wurde zusammen mit dem Hintergrundrauschen die CNR bestimmt. Die Berechnung erfolgt aus Signalintensität der Gefäßwand ($SI_{\text{Gefäßwand}}$), des Blutes (SI_{Blut}) sowie der Standardabweichung des Hintergrundrauschens ($SD_{\text{Hintergrundrauschen}}$).

Formel 1

$$K / R_{(\text{Blut/Gefäßwand})} = \frac{SI_{\text{Blut}} - SI_{\text{Gefäßwand}}}{SD_{\text{Hintergrundrauschen}}}$$

In den gestenteten, überdehnten und nativen Gefäßabschnitten wurde die Segmentierung der Gefäßwand von Hand durchgeführt. Die Bestimmung der CNR erfolgte jeweils 30, 60, 90 und 120 Minuten nach Kontrastmittelapplikation. Zur besseren Visualisierung der Kontrastmittelanreicherung im Bezug zu den anatomischen Verhältnissen wurde die nativen Bilder analog einer PET/CT Fusion mit den delayed enhancement Daten übereinandergelegt.

Bewertet wurden sowohl das kombinierte Media- und Intima-Volumen der intervenierten Bereiche als auch das des nativen Anteils.

Formel 2

$$Volumen_{\text{Intima+Media}} = \frac{2 \times \text{Stent Länge}}{\left(3 \times \left(\text{Fläche}_{\text{Stent prox.}} + 2 \times \text{Fläche}_{\text{Stent med.}} + \text{Fläche}_{\text{Stent dist.}} + \sqrt{\text{Fläche}_{\text{Stent prox.}} \times \text{Fläche}_{\text{Stent med.}}} + \sqrt{\text{Fläche}_{\text{Stent med.}} \times \text{Fläche}_{\text{Stent dist.}}} \right) \right)}$$

Die Late Enhancement Bereiche wurden von Hand unterteilt und das Volumen aus der Fläche mal der Schichtdicke berechnet. Nur im gestenteten Bereich wurde die

Summe des Intima und Media Volumens gebildet, da nur in diesem Bereich die Anreicherung eine zuverlässige Contourierung zulies.

3.2.2 Histologie

Direkt nach Explantation wurden die Koronararterien in 10%igem Formalin fixiert oder tiefgefroren.

Im gestenteten, überdehnten und nativen Gefäßbereich wurde eine elastinsensible van Gieson Färbung (Eisenhämatoxylin, Pikrinsäure, Säurefuchsin) zur Untersuchung des Remodelings der EZM durchgeführt. Elastin erscheint in der van Gieson Färbung schwarz.

Bestimmt wurde die mittlere Dicke von Intima und Media zusammen. Die Messung wurde jeweils in den proximalen, medialen und distalen Anteilen des gestenteten Bereiches, sowie in den entsprechenden Teilen der gedehnten und nativ belassenen Gefäßteile durchgeführt.

Mehrer Studien haben gezeigt, dass der Grad der Gefäßverletzung stark mit der Neointimadicke und dem prozentualen Gefäßdurchmessererlust korreliert. (Schwartz, Murphy et al. 1990; Schwartz, Huber et al. 1992; Hausleiter, Sebastian et al. 2002; Schwartz, Chronos et al. 2004)

Die Bewertung der Gefäßverletzung erfolgte an Hand der Einteilung nach Schwartz: (Schwartz, Huber et al. 1992)

- 0: keine Verletzung
- 1: Verletzung der Lamina elastica interna durch Stentanteil
- 2: Perforation der Media durch Stentanteil
- 3: Beschädigung der Lamina elastica externa durch Stentanteil

3.2.3 Elastinspezifität von BMS 753951

Zur Bestimmung der Elastinspezifität von BMS 753951 wurden verschiedene Tests durchgeführt.

3.2.3.1 Elektronenmikroskopie

Zum einen wurde zur Untersuchung des Gadoliniumverteilungsmusters von BMS 753951 innerhalb der Gefäßwand eine Elektronenmikroskopie der Lamina elastica durchgeführt. Dabei wurden zunächst BMS 753951 Spektren an verschiedenen Orten erfasst um eine räumliche Darstellung der BMS 753951 Verteilung darzustellen. Danach wurde eine Kohlenstoffkartierung zur Erfassung des Verteilungsmusters der elastischen Fasern in den Aortaproben vorgenommen, da die elastischen Fasern hauptsächlich aus Kohlenstoff aufgebaut sind.

Zu diesem Zweck wurden Proben aus der Aorta entnommen und auf einen mit flüssigem Stickstoff gekühlten Metallträger kryofixiert. Der Zuschnitt erfolgte bei – 120 Grad Celsius, danach wurden die Proben auf mit Pioloform überzogenen Nickelgittern angebracht und über Nacht gefriergetrocknet. Danach wurden die Schnitte mit einer dünnen Kohlenstoffschicht überzogen und an einem FEI Tecnai 12 Elektronen Mikroskop mit einem EDAX EDS Detektor untersucht. Zur Bildgebung kam eine EDAX Software zum Einsatz. (EDAX, Cambs, UK)

3.2.3.2 Massenspektrometrie

Des Weiteren wurde eine Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) an einer Untergruppe von gestenteten und nativen Gefäßabschnitte zur Quantifizierung der BMS 753951 Anreicherung in der Gefäßwand durchgeführt. Dazu wurden die Proben in 70%iger Salpetersäure bei 37 Grad Celsius über Nacht zersetzt. Anschließend wurde deionisiertes Wasser zur Verdünnung hinzugegeben und die Probe mittels ICP-MS auf ihre Gadolinium Konzentration untersucht.

3.2.3.3 Bindungsverhalten von BMS 753951

Zuletzt wurde das in vitro Elastinbindungsverhalten von BMS 753951 mit seiner Bindung zu anderen Proteinen verglichen. Dabei wurde [¹⁵³Gd] BMS 753951 jeweils einzeln inkubiert mit einer Lösung von: fünf mg/ml reinem Elastin gewonnen aus Rinderknorpel, fünf mg/ml Rinderalbumin sowie zehn mg/ml des EZM Proteins Chondroitin-6-Sulfat. Die Trennung des gebundenen Materials von den freien

Anteilen erfolgte mittels Zentrifugierung (2000G für 15 Minuten) in einer Centrifree® Kartusche. Die Messung erfolgte mittels eines Gamma Zählers (Wallac Wizard gamma counter, Perkin Elmer/Wallac, Gaithersburg, USA).

3.2.4 Statistik

Die Ergebnisse werden jeweils als Mittelwert mit Standardabweichung angegeben. Es wurde ein Student's T-Test durchgeführt (zweiseitig, ungepaart). Als signifikant wird in dieser Studie ein p-Wert $< 0,05$ angesehen.

4 Ergebnisse

Die Untersuchung an allen Tieren konnte ohne Zwischenfälle durchgeführt werden.

4.1 MRT

4.1.1 Kontrast zu Rauschen Verhältnis (CNR) in Elastin reichem Gewebe

In der Bildgebung zeigte sich im Bereich der Aorten- und Pulmonalarterienwand ein starkes ($43,6 \pm 6,5$) delayed enhancement (LBE) nach Injektion von BMS 753951 (Abbildung 14, 15D). Nach Injektion von Gd-DTPA zeigte sich ein geringes bis nicht nachweisbares Enhancement ($5,8 \pm 1,2$) in diesen Bereichen ($p < 0,001$).

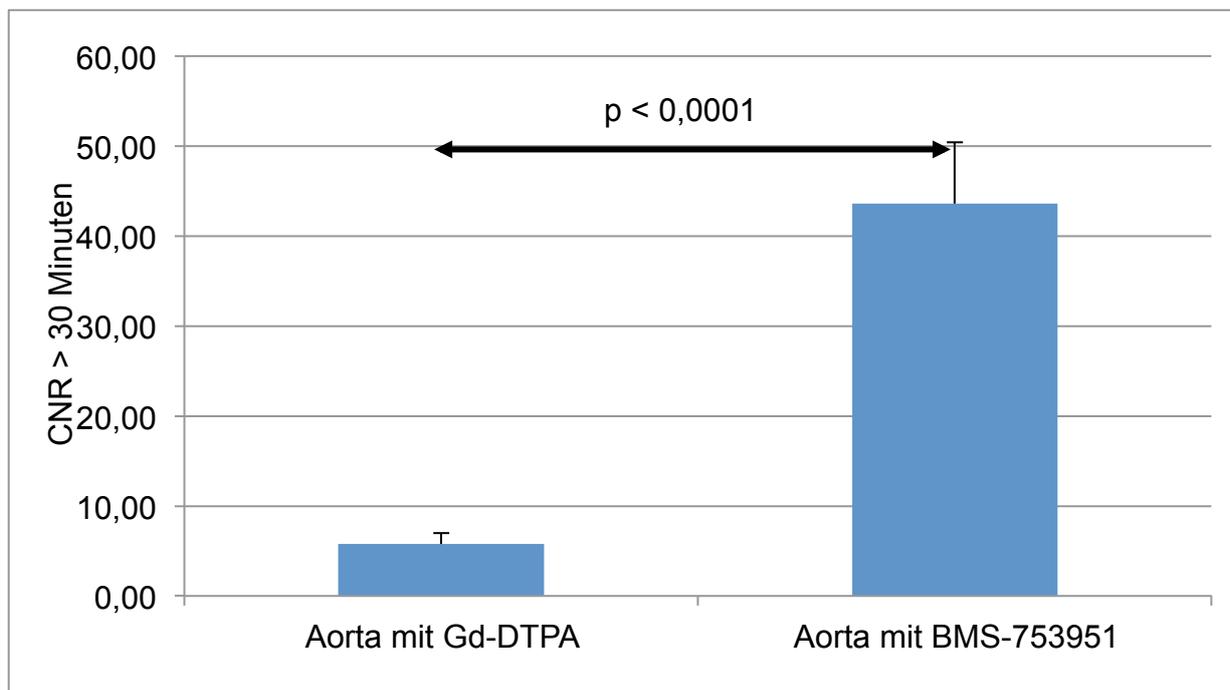


Abbildung 15 CNR in der Aorta nach KM-Gabe

4.1.2 Kontrast to Noise Ratio in den Koronararterien

Abbildung 16 und 17 zeigen ein MRA der Koronararterien in verschiedener Schnittführung. In Abschnitt A ist die der Verlauf der gestenteten LAD dargestellt. B und C zeigt das selbe Gefäß vor und nach Injektion von Gd-DTPA, jeweils mit lediglich geringer Signalanhebung. In D ist die Darstellung nach Injektion von BMS 753951, mit einer deutlichen Signalanhebung im gestenteten Gefäßabschnitt. Sowohl Gd-DTPA & BMS 753951 reichern sich unspezifisch im Bereich der Rippenknorpel an.

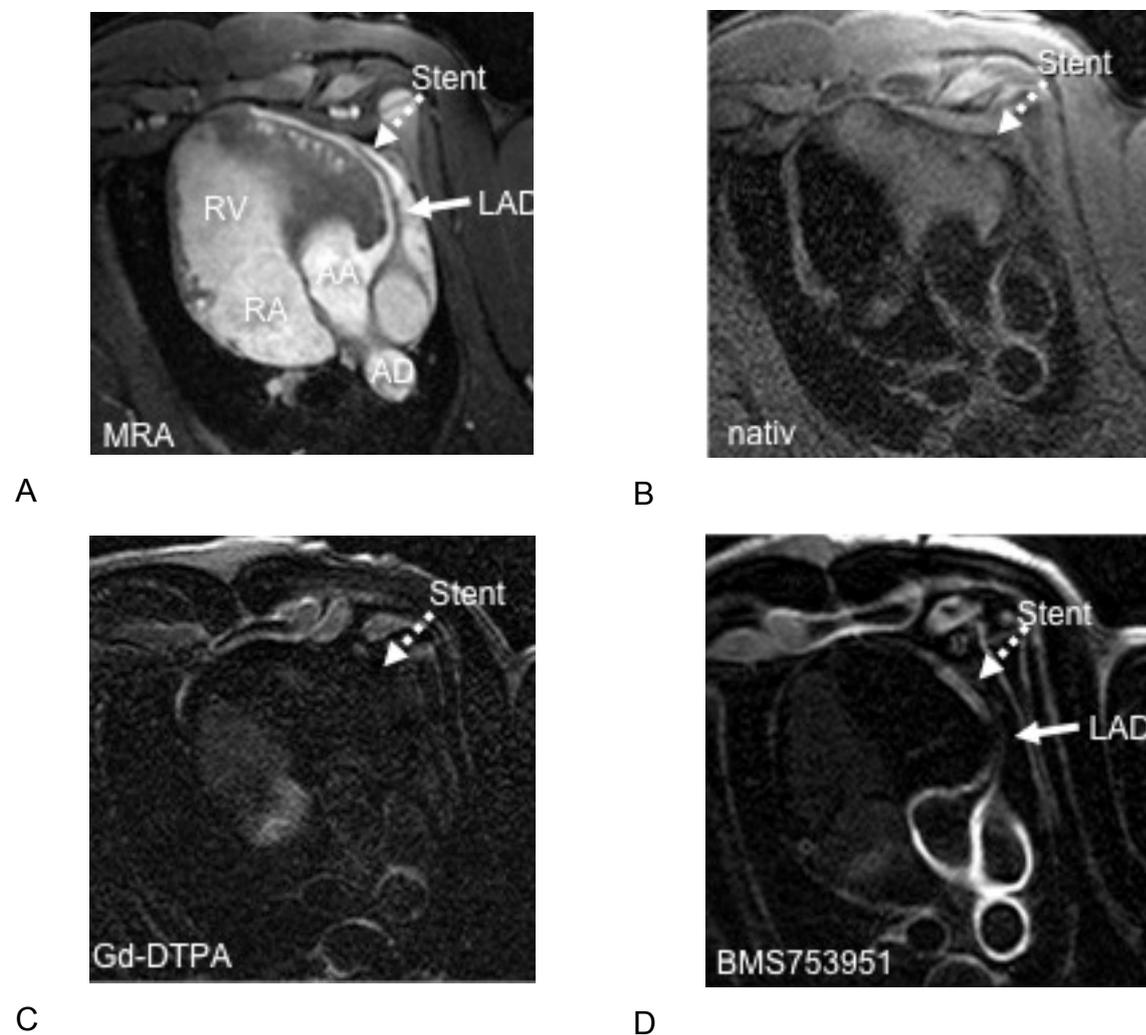
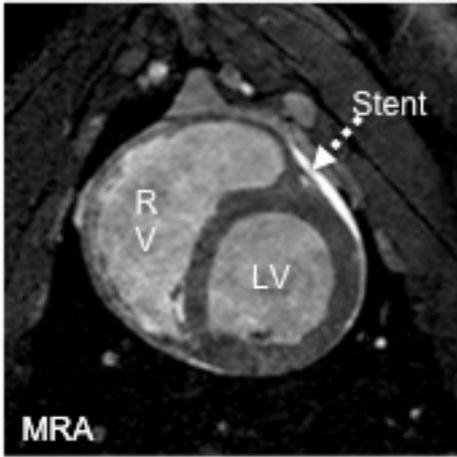
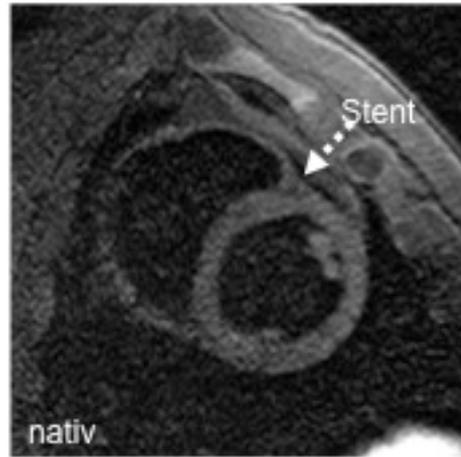


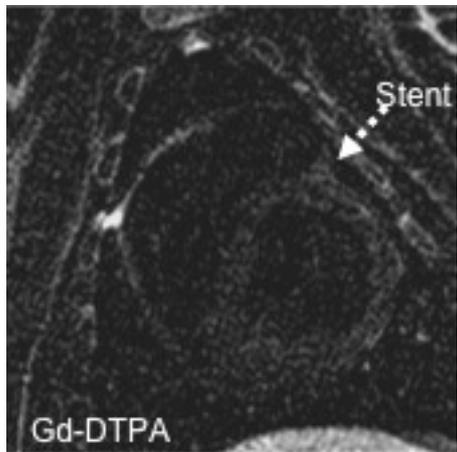
Abbildung 16 Koronares MRT der LAD mit (C & D) und ohne Kontrastmittel (A & B)



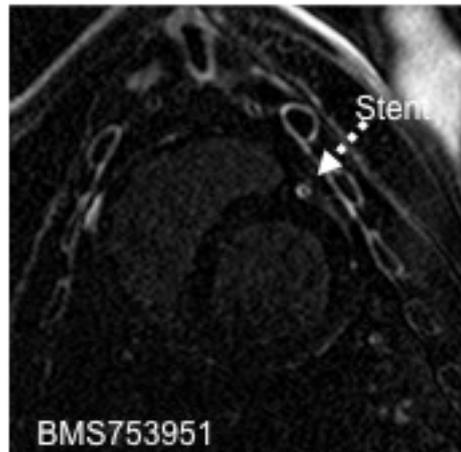
A



B



C



D

**Abbildung 17 Koronares MRT der LAD mit (C & D)
und ohne Kontrastmittel (A & B)**

4.1.2.1 Gd-DTPA

Unter Verwendung von Gd-DTPA lag das Enhancement zwischen nicht vorhanden bis gering ausgeprägt ($5,8 \pm 1,8$) in den verletzten Gefäßanteilen (sowohl gestentet als auch überdehnt). Im Bereich des nativen belassenen Gefäßes zeigte sich kein Enhancement.

4.1.2.2 BMS 753951

In den gestenteten Bereichen der LAD konnte nach Injektion von BMS 753951 ein starkes Enhancement ($21,1 \pm 6,0$) gezeigt werden (s. Abbildung 16 D & 15).

Tier	CNR	Tier	CNR
1	26	4	24
2	7	5	22
3	27	6	21

Abbildung 18 Übersicht CNR im Stentbereich mit BMS 753951

4.1.2.3 Vergleich mit Kontrollgefäß

Ohne Kontrastmitteleinsatz konnte in keinem der gestenteten, überdehnten oder nativ belassenen Gefäßareale ein Enhancement nachgewiesen werden (s. Abb. 16, 17 und 19 jeweils A & B)

Unter Verwendung von BMS 753951 in den überdehnten Gefäßabschnitten lag die Signalanhebung im mittleren bis geringen Bereich ($7,3 \pm 3,00$).

Im Kontrollgefäß(RCA) zeigte sich ein lediglich geringes Enhancement ($5,6 \pm 4,2$).

Die Ausnahme bildet mit geringfügigem Enhancement der weit proximale Anteil sowohl der RCA als auch des linken Hauptstammes (s. Abbildung 19 E & F).

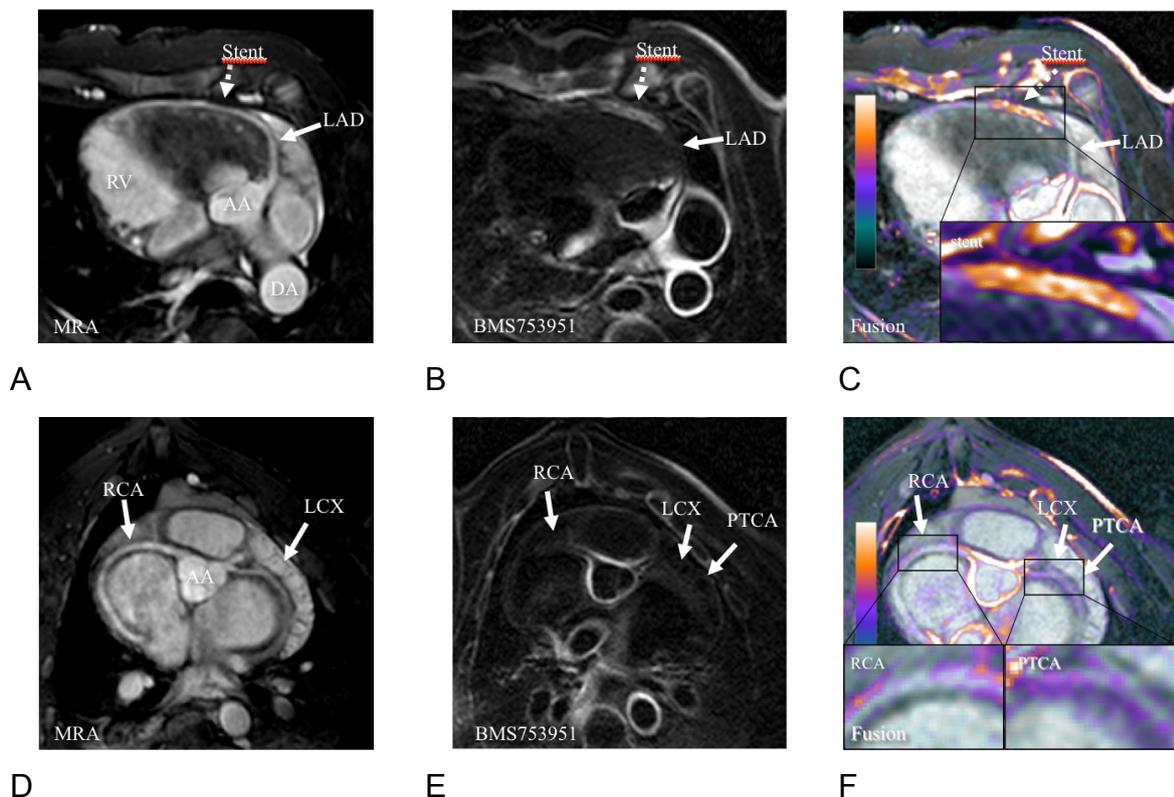


Abbildung 19 Vergleich zwischen gestenteter LAD (A,B), überdehnter LCX und nativer RCA (D,E), PET-CT ähnliche Fusion von MRA und Delayed Enhancement (C,F) mit Farbbalken zur Veranschaulichung der Stärke der Signalanhebung

4.1.3 Quantitativer Vergleich

Die quantitative Analyse des Enhancements der Gefäßwand nach Injektion von BMS 753951 ergab eine um den Faktor drei erhöhte CNR im Bereich des gestenteten Gefäßanteils im Vergleich zu dem überdehnten und nativem Teil ($21,1 \pm 6,0$ vs $7,3 \pm 3,0$ vs $5,6 \pm 4,1$; $p < 0,05$).

Zwischen dem überdehnten und dem nativen Anteil fand sich kein signifikanter Unterschied der CNR (s. Abbildung 19).

4.1.4 Kinetik

4.1.4.1 BMS 753951

Die CNR war im Vergleich zu der Bildgebung vor der Injektion von BMS 753951 bereits nach 30 Minuten um den Faktor drei erhöht. Bis zwei Stunden nach Injektion von BMS 753951 blieb die CNR im gestenteten Gefäßbereich auf diesem Niveau.

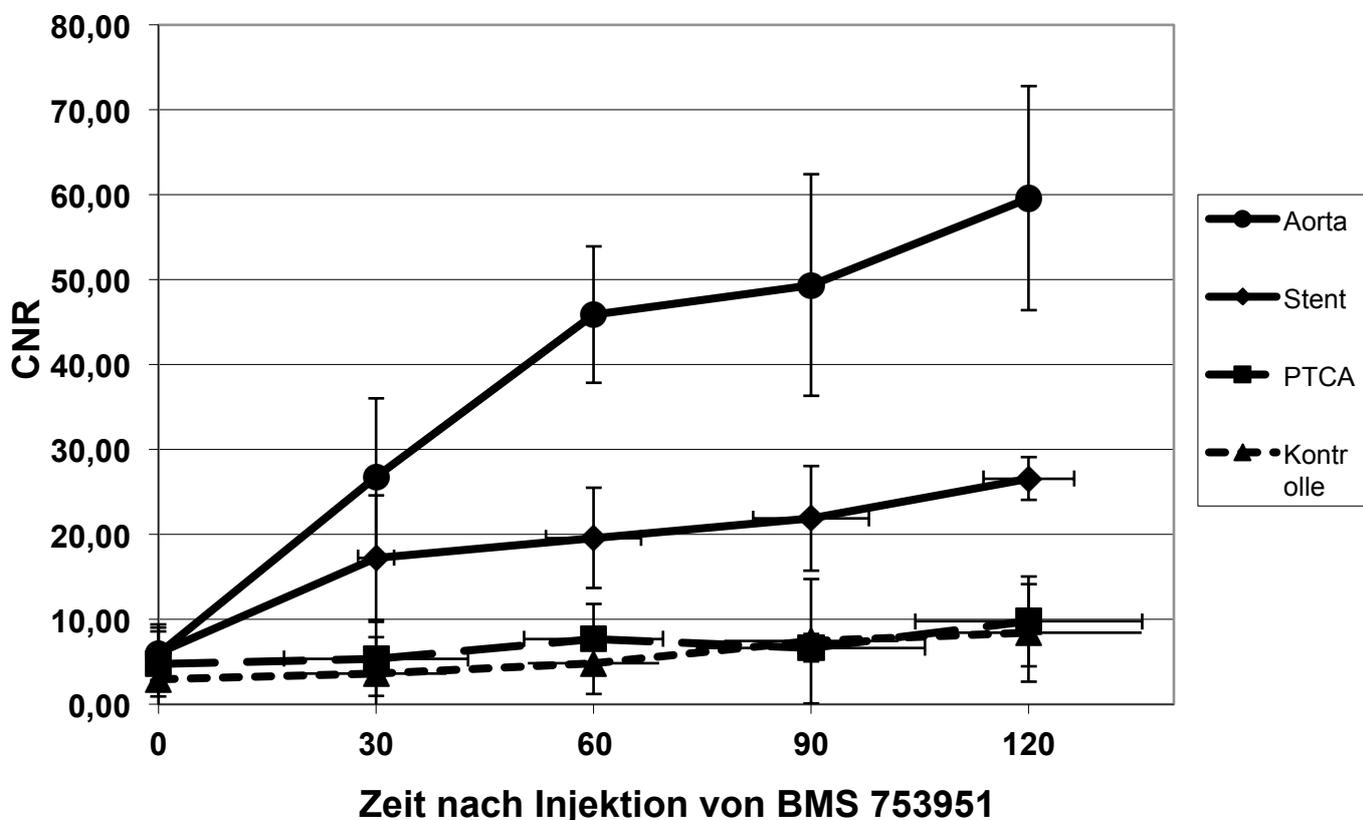


Abbildung 20 Zeitlicher Verlauf CNR nach BMS 753951

30 Minuten $p < 0,05$; 60-120 Minuten: $p < 0,01$

4.1.4.2 Vergleich der Kinetik von BMS 753951 mit Gd-DTPA

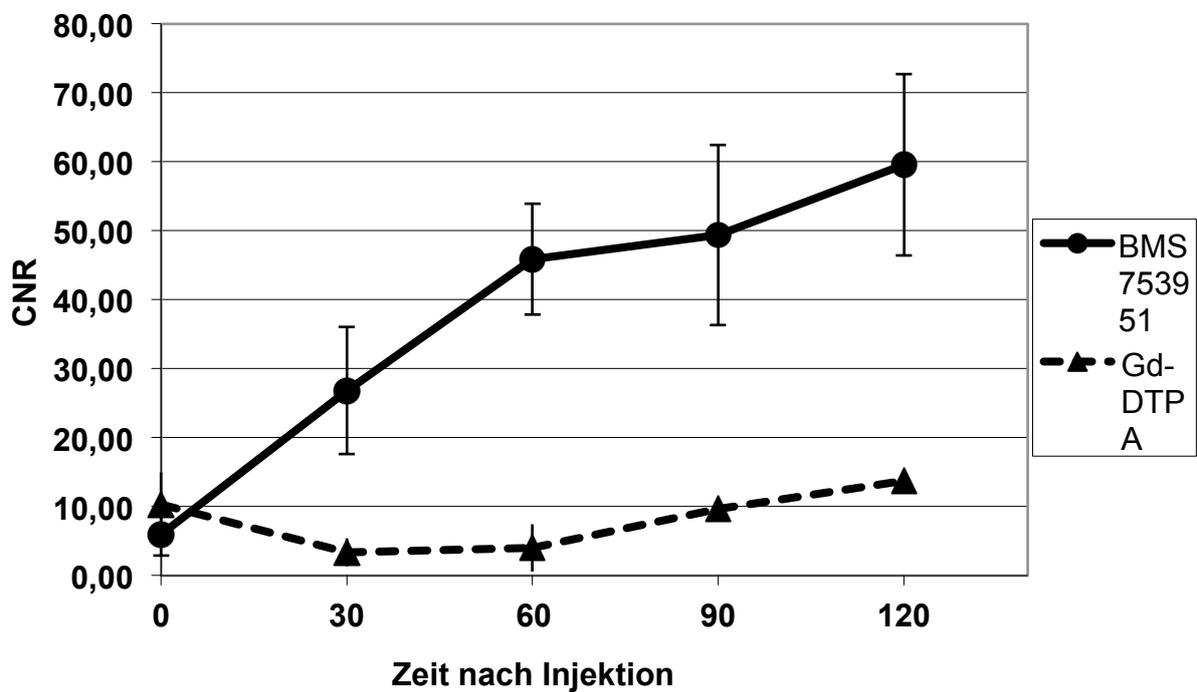


Abbildung 21 Zeitlicher Verlauf der CNR

Im zeitlichen Verlauf zeigt sich im Vergleich zu Gd-DTPA bei der Verwendung von BMS 753951 eine signifikante Zunahme des Enhancements im Bereich der Aorta (s. Abbildung 21).

4.2 Koronarangiographie

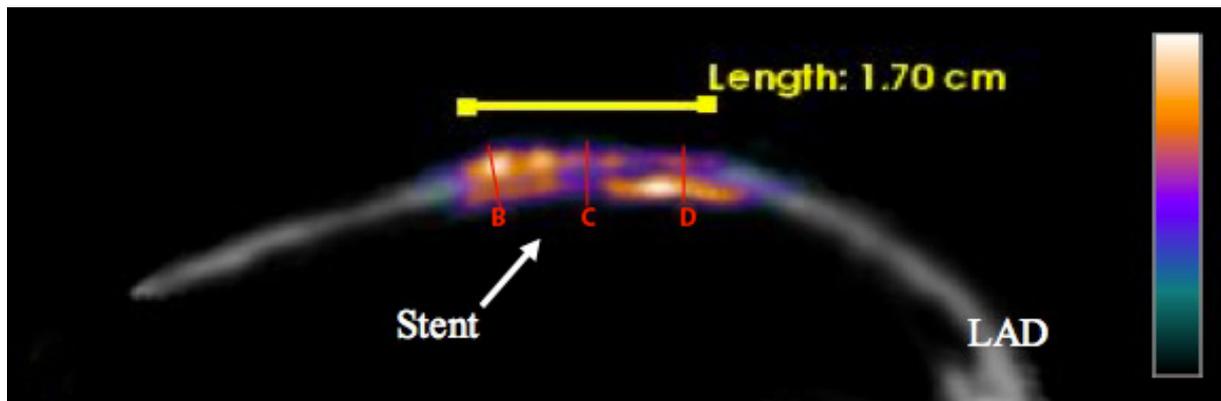
Die Kontrollkoronarangiographie zeigte bei fünf Tieren eine geringe Stenosierung des gestenteten Bereichs im Sinne von Wandunregelmäßigkeiten (WU) vor. Bei einem Tier lag eine 25-50% Stenosierung im Stentbereich der LAD vor.

Tier	In-Stent-Stenose (%)	Tier	In-Stent-Stenose (%)
1	WU	4	WU
2	WU	5	WU
3	25-50	6	WU

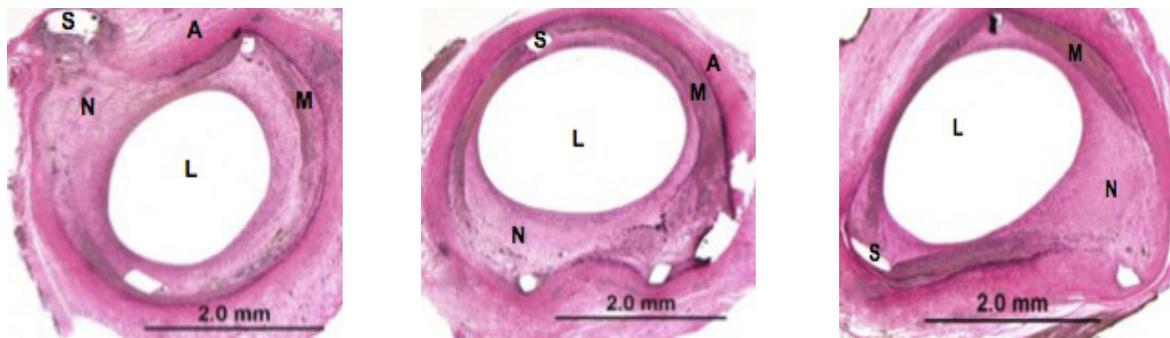
Abbildung 22 Ergebnisse Kontrollkoronarangiographie

4.3 Histologie

Histologisch war im gestenteten Bereich ein starkes Remodeling im Sinne einer exzentrischen Neointimabildung mit hohem Anteil von EZM nachweisbar. In Abbildung 22 A ist eine Fusion der MR Koronarangiogramms mit der Delayed Enhancement Bildgebung. Die Farbskala an der Seite verdeutlicht den Grad des Enhancements. Die Roten Striche zeigen den Ort der korrespondierenden Histologischen Schnitte (B distal, C medial und D proximal) der Elastica von Gieson Färbung aus dem gestenteten Gefäßbereich.



A



B

Distal

C

Medial

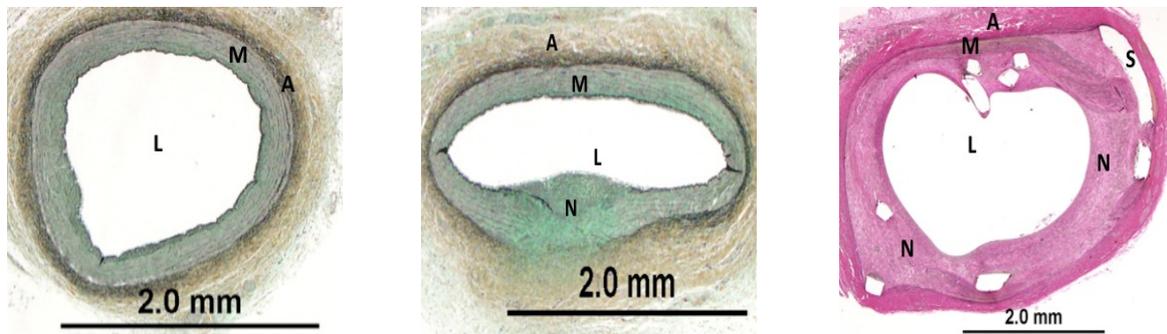
D

Proximal

(L: Lumen A: Adventitia M: Media N: Neointima S:Stent)

Abbildung 23 Histologische Aufarbeitung

Abbildung 23 zeigt die histologische Aufarbeitung mit einer Elastica van Gieson Färbung der als Kontrollgefäß dienenden RCA (A), der überdehnten LCX (B) und der gestenteten LAD (C). Im Kontrollgefäß zeigt sich eine intakte Lamina elastica interna und eine zirkuläre Anordnung der Elastinfasern in der Media. Im überdehnten Gefäßabschnitt zeigt sich hingegen eine beschädigte Lamina elastica interna sowie eine diffuse Anordnung des Elastins in der Media. Im gestenteten Gefäßbereich ist eine exzentrische Neointimabildung mit reichlicher EZM ersichtlich, die den Stent überzieht. Stentteile durchbrechen in diesem Schnitt die Elastica interna, entsprechend einem Verletzungsgrad von 1 und perforieren die Media (M), entsprechend einem Verletzungsgrad von 2.



A Natives Gefäß
 B PTCA
 C van Gieson Färbung Stentbereich
 (L: Lumen A: Adventitia M: Media N: Neointima S: Stent)

Abbildung 24 Histologischer Vergleich Kontrolle vs PTCA vs Stent

Abbildung 24 zeigt eine Elastica-van-Gieson Färbung des Kontrollgefäßes (A) sowie des PTCA Gefäßes (B). In der Vergrößerung ist deutlich die intakte Lamina elastica interna ersichtlich, sowie die zirkuläre Anordnung der Elastinfasern in der Media.

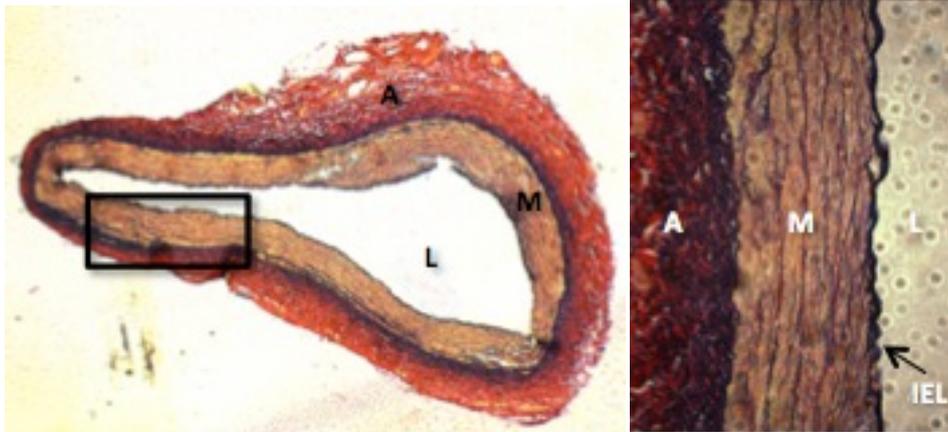


Abbildung 25 Elastica-van-Gieson Färbung des Kontrollgefäßes

(L: Lumen A: Adventitia M: Media S: Stent IEL: L. elastica interna)

Abbildung 26 zeigt einen Schnitt aus dem gestenteten Teil der LAD in Elastica-van-Gieson Färbung. Deutlich zu erkennen ist die Ausbildung der Neointima sowie die diffuse Verteilung der Elastinfasern (schwarze Punkte).

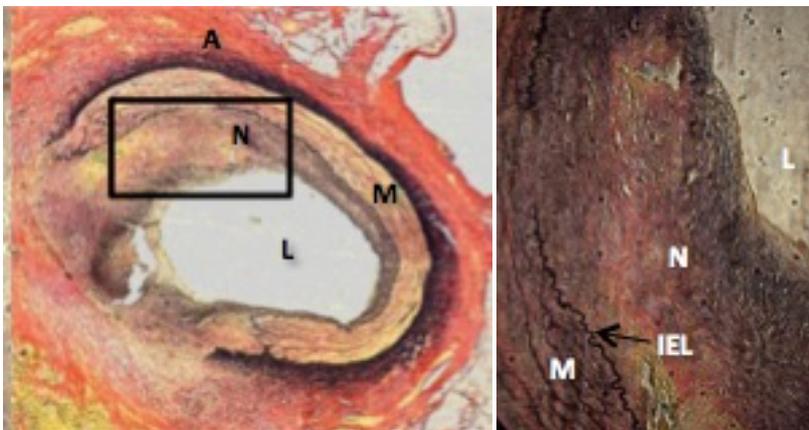


Abbildung 26 Elastica-van-Gieson Färbung der gestenteten LAD

(L: Lumen A: Adventitia M: Media N: Neointima S: Stent IEL:
L. elastica interna)

4.3.1 Auswertung der interventionellen Gefäßverletzung

Das Ausmaß der Gefäßverletzungen lag in allen den gestenteten Gefäßteilen auf ähnlichem Niveau.

Tier	Gestentetes Gefäß	Verletzungsgrad †	Intima/Media Volumen (mm ³)	Neointima Fläche (mm ²)	Intima/Media Fläche (mm ²)
1	LAD	1,0 ± 0,83	145,9	0,65	1,93
2	LAD	0,9 ± 0,56	65,9	1,24	2,70
3	LAD	1,8 ± 0,75	83,5	1,94	3,75
4	LAD	1,2 ± 1,06	13,5	2,65	4,30
5	LAD	*			6,36
6	LAD	1,5 ± 1,0	207,1	2,60	4,25

Abbildung 27 Bewertung der Gefäßverletzung im gestenteten Bereich

* Die histologische Untersuchung von Tier fünf ergab einen chronischen vollständigen Verschluss des Koronargefäßes, daher konnte keine Bewertung des Verletzungsgrades durchgeführt werden.

† Die Bewertung erfolgte durch folgendes System: 0=keine Verletzung; 1= Verletzung der Lamina elastica interna durch Stentanteil; 2= Perforation der Media durch Stentanteil sowie 3= Beschädigung der Lamina elastica externa durch Stentanteil

Der Verletzungsgrad der Gefäße lag dabei in ähnlichen Bereichen wie in vergleichbaren Studien. Dort konnte eine gute Korrelation zwischen Verletzungsgrad und neointimaler Hyperplasie nachgewiesen werden. (Schwartz, Huber et al. 1992; Hausleiter, Sebastian et al. 2002)

Im Bereich der überdehnten Gefäßareale zeigte sich ein geringer Verletzungsgrad.

4.3.2 Planimetrie

Die planimetrische Evaluation der kombinierten Dicke von Media und Intima in den jeweils gestenten, überdehnten oder nativ belassenen Gefäßanteilen korrelierte eng mit dem Signal-zu-Rauschen Verhältnis im delayed Enhancement nach Injektion von BMS 753951.

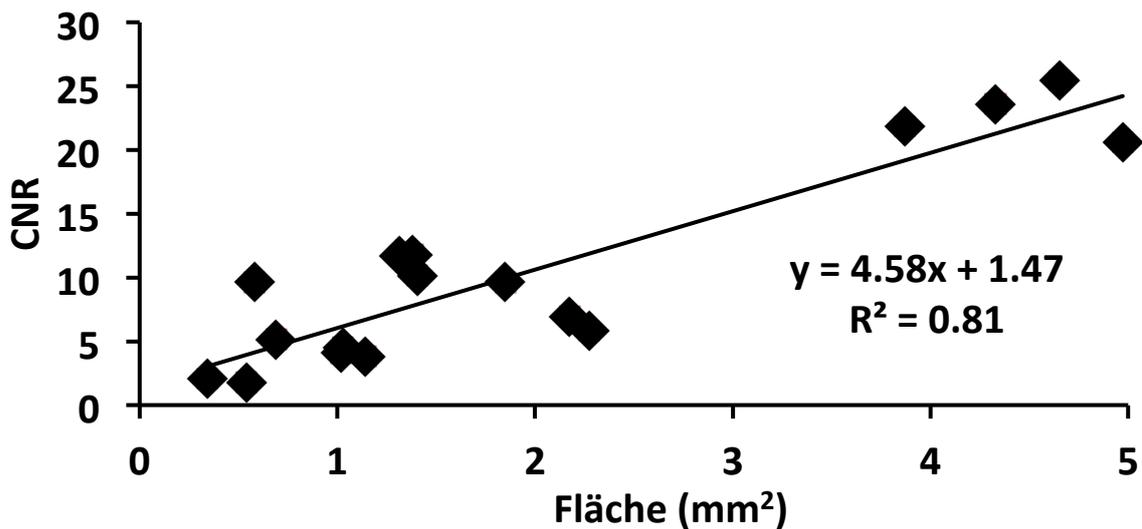


Abbildung 28 CNR der Gefäßwand vs Planimetrie

Daraus ergibt sich eine enge Korrelation zwischen kombinierter Intima- und Mediadicke im Vergleich zwischen MR-Untersuchung und Histologie. Das Ausmaß wurde hierbei von der MR Untersuchung mit einem prozentualen Anteil von 27% überschätzt.

4.4 Elastinbindung von BMS 753951

Frühere Studien haben nahegelegt, dass BMS 753951 an Elastin bindet. Dies wurde näher untersucht mittels Elektronenmikroskopie, Massenspektrometrie und der Analyse des Bindungsverhaltens von [¹⁵³Gd] BMS 753951 gegenüber reinem Elastin, Albumin und einem weiteren Protein der EZM, Chondroitin-6-Sulfat.

4.4.1 Elektronenmikroskopie

Die Elektronenmikroskopie zeigt eine exzellente Co-Lokalisierung von Gadolinium (BMS 753951) mit elastischen Fasern und der Kohlenstoffkartierung, da die elastischen Fasern hauptsächlich aus Kohlenstoff aufgebaut sind. (s. Abbildung 29)

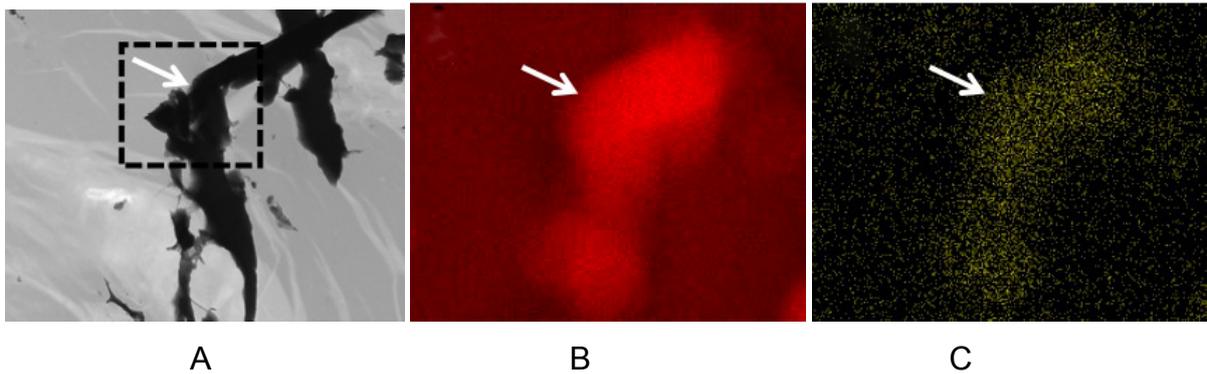


Abbildung 29 Vergleich der Co-Lokalisierung von BMS 753951 mit den elastischen Fasern

A: Transmissionselektronenmikroskopie der Aorta mit Darstellung von elastischen Fasern

B: Kohlenstoffkartierung

C: BMS 753951 Spektren

4.4.2 Massenspektrometrie

ICP-MS zeigte eine starke Erhöhung der Gadolinium Konzentration im gestenteten Bereich der Koronararterien (50-100 μM) im Vergleich mit den nativen Gefäßabschnitten (10 μM). Diese quantitative Untersuchung deckt sich mit der MR Bildgebung und den histologischen Ergebnissen.

4.4.3 Bindungsverhalten von BMS 753951

Die Untersuchung des in vitro Bindungsverhalten von [^{153}Gd] BMS 753951 zeigte, dass es vorrangig an Elastin bindet im Vergleich zu den zwei anderen Proteinen. (s. Abbildung 30)

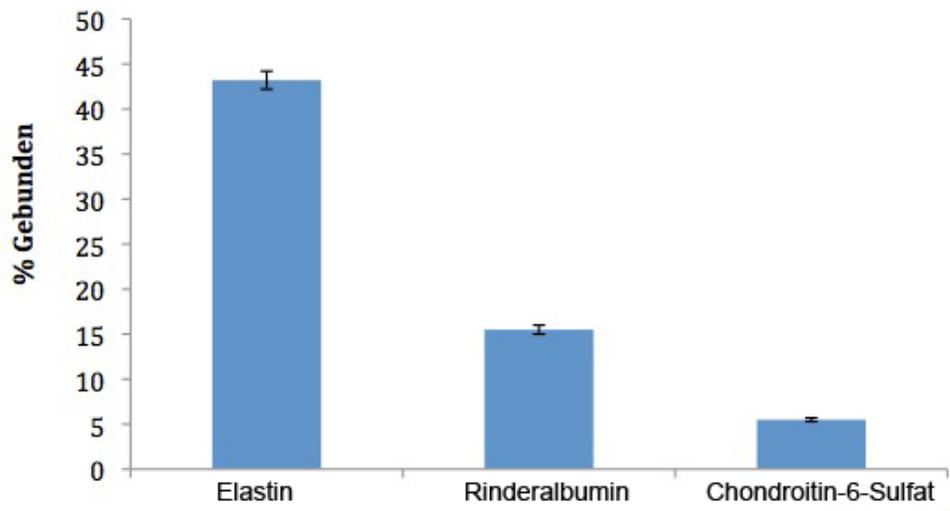


Abbildung 30 Bindungsverhalten von BMS 753951

5 Diskussion

5.1 *Material und Methoden*

5.1.1 Versuchstiere

Das Schwein wird in der experimentellen Kardiologie häufig im Bereich der kardiovaskulären Forschung verwendet. Neben der guten Verfügbarkeit bietet das Schwein eine gute Vergleichbarkeit und damit Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen. So ähneln sich die Anatomie der Koronararterien zwischen Mensch und Schwein ebenso wie das Verhältnis von Herzgröße und –gewicht in Relation zum Körpergewicht. (Crick, Sheppard et al. 1998)

Für die Bildgebung mittels MRT muss beachtet werden, dass das Signal-zu-Rauschen-Verhältnis bei Menschen auf Grund der größeren Entfernung zwischen Spule und Herz geringer ist.

Schweine haben außerdem einen niedrigeren Hämatokritwert als Menschen, dies führt zu einer Verkürzung von T2*. (Clark, Watanabe et al. 1990)

CNR und SNR werden sowohl von T1 als auch von T2* beeinflusst, daher können die Ergebnisse des verwendeten Kontrastmittels auf Grund des abweichenden Hämatokritwertes bei Menschen verändert sein. (Wagenseil, Johansson et al. 1999)

Die Verwendung der LCX als Kontrollgefäß bringt auf Grund ihrer anatomischen posterioren Lage eine erschwerte Bildgebung im MRT mit der Folge einer geringeren CNR mit sich. Dies könnte im Bereich der überdehnten LCX eine geringfügig vermindertes CNR ergeben, erklärt aber nicht den signifikanten Unterschied zwischen gestentetem und überdehnten Bereich.

Im Versuch erhielten die Tiere reguläres Futter, auf eine fettreiche Diät wurde verzichtet. Das verwendete Tiermodell enthält daher nur ein Remodeling auf Grund der induzierten Gefäßwandverletzungen, jedoch keine Arteriosklerose.

Daher können die Ergebnisse dieser Studie nicht im vollen Umfang auf Patienten mit fortgeschrittener koronarer Herzerkrankung angewendet werden, da hier häufig eine langjährige Arteriosklerose zu Grunde liegt.

Dieser Aspekt sollte bei zukünftigen Studien weiter untersucht werden.

5.1.2 Stents

Die verwendeten MRT-kompatiblen Stents bestehen aus einer speziellen Legierung (s. S. 35). Die im klinischen Alltag häufig verwendeten Metallstents weisen ferromagnetischen Eigenschaften auf und führen zu erheblichen Beeinträchtigungen der MRT Bildgebung, insbesondere im Stentlumen. Ursache dafür ist, dass Ihre magnetische Suszeptibilität den Aufbau eines homogenen Gradientenfeldes stört. (Maintz, Botnar et al. 2002)

Die MR kompatiblen Stents sind bislang nicht für die Verwendung an Menschen zugelassen.

Eine MRT Bildgebung beispielsweise zur Untersuchung einer In-Stent-Restenose analog des gezeigten Versuchsaufbaus ist daher zum aktuellen Zeitpunkt unter klinischen Bedingungen nicht möglich.

5.1.3 Induzierte Gefäßverletzung

In dem vorliegenden Versuchsansatz kam es primär auf Grund der Schädigung durch Stent Plazierung zu einem positivem Remodeling. Es ergab sich keine signifikante In-Stent Restenose, was durch die Kontrollangiographien bestätigt wurde.

Die Möglichkeit der Früherkennung von nur gering ausgeprägtem Remodeling wird im MRT durch die Ortsauflösung und den Partial Volumen Effekt beschränkt. Daher wurden nur die gestenteten Bereiche quantifiziert, da es nur hier zu einer signifikanten Signalanhebung kam.

5.1.4 Kontrastmittel

Zum Einsatz kamen zwei Kontrastmittel. Gd-DTPA wird bereits regulär klinisch eingesetzt. BMS 753951 hingegen wurde bisher nur präklinisch getestet und ist nicht für die Verwendung an Menschen zugelassen.

5.2 Diskussion Ergebnisse

5.2.1 Vergleich Gd-DTPA mit BMS 753951

In den delayed Enhancement Sequenzen unter Verwendung von BMS 753951 (DBE) konnte in den gestenteten Gefäßabschnitten eine deutliche Signalanhebung gezeigt werden ($21,12 \pm 5,96$). In überdehnten und nativ belassenen Abschnitten war hingegen kein oder ein nur gering ausgeprägtes Enhancement nachweisbar ($7,29 \pm 2,99$ bzw. $5,61 \pm 4,15$).

Gegenüber der Verwendung von mit Gd-DTPA ($5,77 \pm 1,84$ in den verletzten Gefäßarealen bzw. nicht nachweisbar in den nativen Abschnitten) war die CNR unter Verwendung von BMS 753951 deutlich erhöht.

Der vergleichsweise geringe Aufnahmegrad von Gd-DTPA im nativen und überdehnten Gefäßanteil legt nahe, dass die beobachtete Signalanhebung unter Verwendung von BMS 753951 nicht auf einen Volumenverteilungseffekt basiert, wie er bei Einsatz von Gd-DTPA auftritt, sondern auf einer spezifischen Bindung. Bereits frühere Forschungsergebnisse untermauern diese Beobachtung. Makowski et al konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass BMS 753951 sowohl in vitro als auch in vivo im Tierversuch an Mäusen eine Spezifität für Elastin zeigte. (Makowski and Botnar 2009) Diese Ergebnisse konnten in dieser Studie bestätigt werden (vgl. 5.2.3).

5.2.2 Korrelation mit den histologischen Ergebnissen

Die hohen CNR-Werte mit BMS 753951 stimmen dabei gut mit den histologischen Ergebnissen in den beschriebenen Arealen überein. In der histologischen Aufarbeitung zeigte sich eine deutliche Zunahme von Intima und Media in den gestenteten Gefäßabschnitten. Zudem war ein deutliches Remodeling erkennbar, wohingegen die überdehnten Areale nur ein geringes Remodeling aufwiesen.

Vergleicht man die berechneten Ausmaße (Volumen) des Remodellings im MRT mit den histologischen Daten, so zeigt sich ebenso eine gute Korrelation, allerdings mit einer tendenziellen Überbewertung durch das MRT. Diese lag im Mittel bei 27% des Summenvolumens von Intima und Media.

Ursache der Überbewertung könnte die limitierte Ortsauflösung der Daten sein. Schar et al konnten zeigen, dass es bei einer geringen Ortsauflösung wie in dieser Studie zu einer Überbewertung der Wanddicke von bis zu 20% kommen kann. (Schar, Kim et al. 2003)

5.2.3 Elastinspezifigkeit von BMS 753951

BMS 753951 zeigte zudem eine deutliche Anreicherung im Gefäßwandbereich elastischer Arterien, ein Enhancement in venösen Gefäßabschnitten war hingegen nicht nachweisbar. In primär muskulären Arterien wie dem nativ belassenen Koronargefäß zeigte sich ebenso nur eine geringgradige Anreicherung. Dieser Umstand legt eine Korrelation der Anreicherung von BMS 753951 mit dem Elastingehalt der anreichernden Strukturen nahe, wie es die Elektronenmikroskopie, die Massenspektrometrie und der Elastinbindungsversuch gezeigt haben.

5.2.4 Rolle der EZM & des Elastins

Studien an experimentellen Modellen und an Menschen haben gezeigt, dass die Synthese der Extrazellulärenmatrix ein Grundmechanismus bei der Ausbildung von Restenosen sowohl nach PTCA als auch nach Stentimplantation ist. (Lafont, Guzman et al. 1995; de Smet, van der Zande et al. 1998; Pasterkamp, de Kleijn et al. 2000)

Zudem trägt sie zur Pathogenese der Arteriosklerose bei. (Pasterkamp, de Kleijn et al. 2000; Libby and Aikawa 2002; Katsuda and Kaji 2003)

Elastin ist ein wesentlicher Baustein dieses Prozesses.(Nili, Zhang et al. 2002; Krettek, Sukhova et al. 2003)

Brasselet et al konnten zeigen, dass die Inhibition der Elastinquervernetzung zu einer Abnahme des konstriktiven Remodelings führte und folglich auch zu einer verminderten Restenosierung nach Gefäßverletzung. (Brasselet, Durand et al. 2005)

Normalerweise ist der Elastinanteil nach Gefäßverletzung deutlich erhöht. Zudem konnten Nili et al zeigen, dass Elastin und Kollagen einen wichtigen Beitrag an der Proliferation der EZM nach 21 und 60 Tagen nach Gefäßverletzung leisten. Als Ursache für die Elastin-Anreicherung wird die erhöhte Anfälligkeit gegenüber der mechanischen Belastung durch den Blutfluss und die Ballon-induzierte Dehnung angenommen.(Nili, Zhang et al. 2002)

Im Rahmen der Arteriosklerose konnten Krettek et al eine ineffektive Elastinsynthese feststellen.(Krettek, Sukhova et al. 2003).

Demnach könnte die Messung des Elastinanteils mittels MRT ein vielversprechender Ansatz zur Bewertung der Proliferation der EZM im Zuge des arteriellen Remodellings sein.

Elastin selbst kommt allerdings nicht nur in pathologisch veränderten Gefäßen vor. In großem Ausmaß liegt es in den elastischen Gefäßen wie zum Beispiel Aorta und Pulmonalarterien vor. Um die beobachtete Anreicherung von Elastin besser in den klinischen Alltag einordnen zu können, besteht daher die Notwendigkeit weiterer Studien, insbesondere an Patienten mit subklinischer oder fortgeschrittener KHK mit und ohne Intervention.

5.2.5 MRA mit BMS 753951

Die nichtinvasive Darstellung der Koronargefäße mittels MRT konnte bereits in Pilotstudien zur in vivo Risiko Stratifizierung mittels Quantifizierung subklinischer Plaques im Rahmen einer noch nicht relevanten Koronararteriosklerose gezeigt werden. Darunter fällt auch die Bewertung des exzentrischen Remodelings. (Botnar, Stuber et al. 2000; Yuan, Kerwin et al. 2002; Cai, Hatsukami et al. 2005)

Bei der Verwendung von BMS 753951 muss beachtet werden, dass dieses neuartige Kontrastmittel sowohl an reifes als auch als de novo gebildetes unreifes (Tropo)Elastin bindet. Das in dieser Studie beobachtete Enhancement nach Gabe von BMS 753951 hängt daher von der natürlich vorkommenden Verteilung des reifen Elastins in den Koronargefäßen ab. Im gestenteten Gefäßbereich lag die CNR signifikant (~20) höher, als im überdehnten oder nativen Gefäßbereich (~6-7), was die Bildung von de novo (Proto)Elastin nahelegt. Dies konnte in der Histologie bestätigt werden. Allerdings ist es mit BMS 753951 nicht möglich reifes Elastin von de novo (Proto)Elastin zu unterscheiden.

Ein spezifisches Kontrastmittel könnte dennoch eine deutliche Verbesserung von Sensitivität und Spezifität für die Untersuchung von Abläufen bei Gefäßwandreperaturvorgängen und Gefäßremodelling bei Arteriosklerose darstellen. Unter Verwendung geeigneter Stents könnten die Vorgänge im Rahmen der Ausbildung einer Instentrestenose nichtinvasiv näher untersucht werden.

Ein weiteres Einsatzgebiet könnte die Untersuchung der Plaquelast zur Risikostratifizierung bei Patienten mit hohem Risikoprofil und Verdacht auf subklinische Koronararteriosklerose sein.

5.2.6 Pharmakokinetik

Bis zwei Stunden nach Injektion war kein Auswaschen des Kontrastmittels ersichtlich. Demnach ergibt sich sowohl ein Vorteil im Bezug auf die erhöhte CNR, als auch ein größeres zeitliches Fenster für die Messungen mit BMS 753951 im Vergleich mit Gd-DTPA. BMS 753951 weist pro Zeiteinheit einen steileren Anstieg der CNR als Gd-DTPA auf. Somit kann die Bildgebung nach dem selben Zeitintervall zwischen Injektion und Scan wie bei der Verwendung von Gd-DTPA erfolgen, bietet jedoch eine besserer CNR. Darüber hinaus steht für die Bildgebung mit BMS 753951 auf Grund seiner Kinetik ein längeres Zeitfenster für die Durchführung der Untersuchung zur Verfügung.

5.2.7 Vergleich mit andern Untersuchungsverfahren

Sowohl die Röntgenangiographie als auch das Multidetektor-CT weisen eine hohe räumliche Auflösung auf. Ein zusätzlicher Vorteil im Vergleich zu MRT ist die deutlich kürzere Untersuchungszeit, dies bietet insbesondere bei der kardialen Bildgebung Vorteile.

Allerdings verfügen sie über eine nur geringe Empfindlichkeit im Bezug auf die Darstellbarkeit von Kontrastmittel und können daher nur beschränkt biologische Veränderungen der Gefäßwand erfassen. Nichtsdestotrotz konnten Studien zeigen, dass das MDCT wichtige Informationen über die Plaquezusammensetzung liefern kann. (Motoyama, Kondo et al. 2007). Ebenso sind Untersuchungen des Gefäßremodelings bei Patienten mit bekannter KHK möglich. (Motoyama, Kondo et al. 2007) Allerdings weisen die Autoren darauf hin, dass die Analyse der Plaques mittels MDCT allein auf ihrer Dichte basiert und nur schwer zwischen fibrotischen und thrombotischen Plaques unterscheiden kann. Möglicherweise könnte das MRT unter Verwendung eines spezifischen Kontrastmittels zur genaueren Untersuchung der Plaquelast dienen.

Ob das MDCT, insbesondere mit neuen Entwicklungen die Dual Energy MDCT oder Multi-Spectral-CT, eine Rolle bei der Erforschung der Vorgänge in der Gefäßwand spielen wird, bleibt abzuwarten.

Gegenüber der reinen Angiographie bietet die MRT-Untersuchung den Vorteil, dass das positive vaskuläre Remodeling nach Gefäßverletzung erfasst werden kann.

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde mittels eines speziellen MRT-kompatiblen Stents an sechs Versuchstieren der Schweinegattung Landrasse eine endoluminale Gefäßverletzung der Koronarien durchgeführt. 28 und 30 Tage nach der Verletzung erfolgte die Untersuchung mittels MRT, dabei kamen die Kontrastmittel Gd-DTPA sowie BMS 753951 zum Einsatz. Die vorliegende Arbeit konnte zeigen, dass es möglich ist, nicht invasiv das arterielle Remodeling nach Gefäßwandverletzung durch MRT-kompatible Stents in einem Großtiermodell mittels des niedermolekularen elastinbindenden MRT-Kontrastmittels BMS 753951 darzustellen. Die Spezifität von BMS 753951 für Elastin konnte in verschiedenen Untersuchungsverfahren insbesondere gegenüber anderen Proteinen der EZM gezeigt werden. Gegenüber dem Einsatz des unspezifischen Kontrastmittels Gd-DTPA konnte BMS 753951 Vorteile im Bezug auf eine bessere CNR, eine höhere Spezifität und eine vorteilhafte Kinetik zeigen. Die verwendete Untersuchungsmethode könnte in Zukunft bei der Früherkennung der Instentrestenose zum Einsatz kommen. Zudem könnte sie für die Untersuchung und Bewertung von Veränderungen der EZM in Koronarplaques bei Patienten mit subklinischer oder fortgeschrittener KHK von Nutzen sein.

Weitere Studien insbesondere an einem Modell mit zu Grunde liegender Arteriosklerose und degenerativen Prozessen der EZM scheinen angebracht.

7 Referenzen

- Adamian, M., Colombo, A., Briguori, C., Nishida, T., Marsico, F., Di Mario, C., Albiero, R., Moussa, I. and Moses, J. W. (2001). "Cutting balloon angioplasty for the treatment of in-stent restenosis: a matched comparison with rotational atherectomy, additional stent implantation and balloon angioplasty." *J Am Coll Cardiol* **38**(3): 672-679.
- Baykal, D., Schmedtje, J. F., Jr. and Runge, M. S. (1995). "Role of the thrombin receptor in restenosis and atherosclerosis." *Am J Cardiol* **75**(6): 82B-87B.
- Beller, G. A. (2001). "Coronary heart disease in the first 30 years of the 21st century: challenges and opportunities: The 33rd Annual James B. Herrick Lecture of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association." *Circulation* **103**(20): 2428-2435.
- Bellin, M. F. and Van Der Molen, A. J. (2008). "Extracellular gadolinium-based contrast media: an overview." *Eur J Radiol* **66**(2): 160-167.
- Bermejo, J., Botas, J., Garcia, E., Elizaga, J., Osende, J., Soriano, J., Abeytua, M. and Delcan, J. L. (1998). "Mechanisms of residual lumen stenosis after high-pressure stent implantation: a quantitative coronary angiography and intravascular ultrasound study." *Circulation* **98**(2): 112-118.
- Bhargava, B., Karthikeyan, G., Abizaid, A. S. and Mehran, R. (2003). "New approaches to preventing restenosis." *BMJ* **327**(7409): 274-279.
- Block, P. C. (1990). "Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty--anatomic and pathophysiological mechanisms. Strategies for prevention." *Circulation* **81**(3 Suppl): IV2-4.
- Bornstedt, A. (2002). *Einführung in die Bewegungsunterdrückung bzw. -korrektur*. Darmstadt, Steinkopfverlag.
- Botnar, R. M., Buecker, A., Wiethoff, A. J., Parsons, E. C., Jr., Katoh, M., Katsimaglis, G., Weisskoff, R. M., Lauffer, R. B., Graham, P. B., Gunther, R. W., Manning, W. J. and Spuentrup, E. (2004). "In vivo magnetic resonance imaging of coronary thrombosis using a fibrin-binding molecular magnetic resonance contrast agent." *Circulation* **110**(11): 1463-1466.
- Botnar, R. M., Stuber, M., Kissinger, K. V., Kim, W. Y., Spuentrup, E. and Manning, W. J. (2000). "Noninvasive coronary vessel wall and plaque imaging with magnetic resonance imaging." *Circulation* **102**(21): 2582-2587.
- Brasselet, C., Durand, E., Addad, F., Al Haj Zen, A., Smeets, M. B., Laurent-Maquin, D., Bouthors, S., Bellon, G., de Kleijn, D., Godeau, G., Garnotel, R., Gogly, B. and Lafont, A. (2005). "Collagen and elastin cross-linking: a mechanism of constrictive remodeling after arterial injury." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **289**(5): H2228-2233.
- Bremerich, J., Saeed, M., Arheden, H., Higgins, C. B. and Wendland, M. F. (2000). "Normal and infarcted myocardium: differentiation with cellular uptake of manganese at MR imaging in a rat model." *Radiology* **216**(2): 524-530.
- Buecker, A., Spuentrup, E., Ruebben, A., Mahnken, A., Nguyen, T. H., Kinzel, S. and Gunther, R. W. (2004). "New metallic MR stents for artifact-free coronary MR angiography: feasibility study in a swine model." *Invest Radiol* **39**(5): 250-253.
- Burke, A. P., Kolodgie, F. D., Farb, A., Weber, D. and Virmani, R. (2002). "Morphological predictors of arterial remodeling in coronary atherosclerosis." *Circulation* **105**(3): 297-303.
- Cai, J., Hatsukami, T. S., Ferguson, M. S., Kerwin, W. S., Saam, T., Chu, B., Takaya, N., Polissar, N. L. and Yuan, C. (2005). "In vivo quantitative measurement of intact fibrous cap and lipid-rich necrotic core size in atherosclerotic carotid

- plaque: comparison of high-resolution, contrast-enhanced magnetic resonance imaging and histology." *Circulation* **112**(22): 3437-3444.
- Caixeta, A. M., Arie, S., Sandoli de Brito, F., Jr., Piva de Albuquerque, C., Fukushima, J. T., Garcia, D. P., Bellotti, G. and Pileggi, F. (1996). "[Analysis of elastic retraction in the 1st 15 minutes after coronary balloon angioplasty]." *Arq Bras Cardiol* **66**(1): 5-9.
- Caravan, P. (2009). "Protein-Targeted Gadolinium-Based Magnetic Resonance Imaging (MRI) Contrast Agents: Design and Mechanism of Action." *Acc Chem Res*.
- Cardoza and Herfkens (1999). *Bildaufbau und Bildanalyse*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- Chesebro, J. H., Lam, J. Y., Badimon, L. and Fuster, V. (1987). "Restenosis after arterial angioplasty: a hemorrhheologic response to injury." *Am J Cardiol* **60**(3): 10B-16B.
- Chiu, C. W., So, N. M., Lam, W. W., Chan, K. Y. and Sanderson, J. E. (2003). "Combined first-pass perfusion and viability study at MR imaging in patients with non-ST segment-elevation acute coronary syndromes: feasibility study." *Radiology* **226**(3): 717-722.
- Christov, A., Korol, R. M., Dai, E., Liu, L., Guan, H., Bernards, M. A., Cavers, P. B., Susko, D. and Lucas, A. (2005). "In vivo optical analysis of quantitative changes in collagen and elastin during arterial remodeling." *Photochem Photobiol* **81**(2): 457-466.
- Clark, R. A., Watanabe, A. T., Bradley, W. G., Jr. and Roberts, J. D. (1990). "Acute hematomas: effects of deoxygenation, hematocrit, and fibrin-clot formation and retraction on T2 shortening." *Radiology* **175**(1): 201-206.
- Crick, S. J., Sheppard, M. N., Ho, S. Y., Gebstein, L. and Anderson, R. H. (1998). "Anatomy of the pig heart: comparisons with normal human cardiac structure." *J Anat* **193 (Pt 1)**: 105-119.
- Davies, M. J. (1997). "The composition of coronary-artery plaques." *N Engl J Med* **336**(18): 1312-1314.
- de Smet, B. J., van der Zande, J., van der Helm, Y. J., Kuntz, R. E., Borst, C. and Post, M. J. (1998). "The atherosclerotic Yucatan animal model to study the arterial response after balloon angioplasty: the natural history of remodeling." *Cardiovasc Res* **39**(1): 224-232.
- Detre, K., Holubkov, R., Kelsey, S., Cowley, M., Kent, K., Williams, D., Myler, R., Faxon, D., Holmes, D., Jr., Bourassa, M. and et al. (1988). "Percutaneous transluminal coronary angioplasty in 1985-1986 and 1977-1981. The National Heart, Lung, and Blood Institute Registry." *N Engl J Med* **318**(5): 265-270.
- Dorros, G., Cowley, M. J., Simpson, J., Bentivoglio, L. G., Block, P. C., Bourassa, M., Detre, K., Gosselin, A. J., Gruntzig, A. R., Kelsey, S. F., Kent, K. M., Mock, M. B., Mullin, S. M., Myler, R. K., Passamani, E. R., Stertz, S. H. and Williams, D. O. (1983). "Percutaneous transluminal coronary angioplasty: report of complications from the National Heart, Lung, and Blood Institute PTCA Registry." *Circulation* **67**(4): 723-730.
- Emanuel, E. J. and Emanuel, L. L. (1998). "The promise of a good death." *Lancet* **351 Suppl 2**: SII21-29.
- Fayad, Z. A., Fuster, V., Fallon, J. T., Jayasundera, T., Worthley, S. G., Helft, G., Aguinaldo, J. G., Badimon, J. J. and Sharma, S. K. (2000). "Noninvasive in vivo human coronary artery lumen and wall imaging using black-blood magnetic resonance imaging." *Circulation* **102**(5): 506-510.

- Fayad, Z. A., Fuster, V., Nikolaou, K. and Becker, C. (2002). "Computed tomography and magnetic resonance imaging for noninvasive coronary angiography and plaque imaging: current and potential future concepts." Circulation **106**(15): 2026-2034.
- Fuster, V., Falk, E., Fallon, J. T., Badimon, L., Chesebro, J. H. and Badimon, J. J. (1995). "The three processes leading to post PTCA restenosis: dependence on the lesion substrate." Thromb Haemost **74**(1): 552-559.
- Gallo, R., Padurean, A., Toschi, V., Bichler, J., Fallon, J. T., Chesebro, J. H., Fuster, V. and Badimon, J. J. (1998). "Prolonged thrombin inhibition reduces restenosis after balloon angioplasty in porcine coronary arteries." Circulation **97**(6): 581-588.
- Glagov, S., Weisenberg, E., Zarins, C. K., Stankunavicius, R. and Kolettis, G. J. (1987). "Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries." N Engl J Med **316**(22): 1371-1375.
- Goldman, M. R., Pohost, G. M., Ingwall, J. S. and Fossel, E. T. (1980). "Nuclear magnetic resonance imaging: potential cardiac applications." Am J Cardiol **46**(7): 1278-1283.
- Hansi, C. (2006). Untersuchung der In-Stent-Restenose bei CYPHER™ Stent mit angiographischen und sonographischen Methoden, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Harker, L. A., Hanson, S. R. and Kelly, A. B. (1995). "Antithrombotic benefits and hemorrhagic risks of direct thrombin antagonists." Thromb Haemost **74**(1): 464-472.
- Harms, S. E. and Kramer, D. M. (1985). "Fundamentals of magnetic resonance imaging." Crit Rev Diagn Imaging **25**(1): 79-111.
- Hausleiter, J., Sebastian, M., Li, A. N., Abbey, C. K., Honda, H., Makkar, R., Whiting, J. S. and Eigler, N. (2002). "A porcine coronary stent model of increased neointima formation in the left anterior descending coronary artery." Z Kardiol **91**(8): 614-619.
- Hombach, V., Grebe, O., Botnar, R. and Jerosch-Herold, M. (2005). Die wichtigsten Begriffe der MRT. Stuttgart, Schattauer Verlag.
- Horstick, G., Petersen, S. E., Voigtlander, T., Mohrs, O. K. and Schreiber, W. G. (2004). "[Cardio-MRT. The multimodal functional analysis of the future]." Z Kardiol **93 Suppl 4**: IV36-47.
- Ip, J. H., Fuster, V., Badimon, L., Badimon, J., Taubman, M. B. and Chesebro, J. H. (1990). "Syndromes of accelerated atherosclerosis: role of vascular injury and smooth muscle cell proliferation." J Am Coll Cardiol **15**(7): 1667-1687.
- Karnik, S. K., Brooke, B. S., Bayes-Genis, A., Sorensen, L., Wythe, J. D., Schwartz, R. S., Keating, M. T. and Li, D. Y. (2003). "A critical role for elastin signaling in vascular morphogenesis and disease." Development **130**(2): 411-423.
- Katsuda, S. and Kaji, T. (2003). "Atherosclerosis and extracellular matrix." J Atheroscler Thromb **10**(5): 267-274.
- Kerwin, W., Hooker, A., Spilker, M., Vicini, P., Ferguson, M., Hatsukami, T. and Yuan, C. (2003). "Quantitative magnetic resonance imaging analysis of neovasculature volume in carotid atherosclerotic plaque." Circulation **107**(6): 851-856.
- Kerwin, W. S., Oikawa, M., Yuan, C., Jarvik, G. P. and Hatsukami, T. S. (2008). "MR imaging of adventitial vasa vasorum in carotid atherosclerosis." Magn Reson Med **59**(3): 507-514.

- Koyama, H. and Reidy, M. A. (1998). "Expression of extracellular matrix proteins accompanies lesion growth in a model of intimal reinjury." *Circ Res* **82**(9): 988-995.
- Krettek, A., Sukhova, G. K. and Libby, P. (2003). "Elastogenesis in human arterial disease: a role for macrophages in disordered elastin synthesis." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **23**(4): 582-587.
- Krombach, G. A., Higgins, C. B., Gunther, R. W., Kuhne, T. and Saeed, M. (2002). "[MR contrast media for cardiovascular imaging]." *Rofo* **174**(7): 819-829.
- Lafont, A., Guzman, L. A., Whitlow, P. L., Goormastic, M., Cornhill, J. F. and Chisolm, G. M. (1995). "Restenosis after experimental angioplasty. Intimal, medial, and adventitial changes associated with constrictive remodeling." *Circ Res* **76**(6): 996-1002.
- Libby, P. and Aikawa, M. (2002). "Stabilization of atherosclerotic plaques: new mechanisms and clinical targets." *Nat Med* **8**(11): 1257-1262.
- Lin, S. P. and Brown, J. J. (2007). "MR contrast agents: physical and pharmacologic basics." *J Magn Reson Imaging* **25**(5): 884-899.
- Lowe, H. C., Oesterle, S. N. and Khachigian, L. M. (2002). "Coronary in-stent restenosis: current status and future strategies." *J Am Coll Cardiol* **39**(2): 183-193.
- Mahnken, A. H., Gunther, R. W. and Krombach, G. A. (2004). "[The basics of left ventricular functional analysis with MRI and MSCT]." *Rofo* **176**(10): 1365-1379.
- Maintz, D., Botnar, R. M., Fischbach, R., Heindel, W., Manning, W. J. and Stuber, M. (2002). "Coronary magnetic resonance angiography for assessment of the stent lumen: a phantom study." *J Cardiovasc Magn Reson* **4**(3): 359-367.
- Maintz, D., Ozgun, M., Hoffmeier, A., Fischbach, R., Kim, W. Y., Stuber, M., Manning, W. J., Heindel, W. and Botnar, R. M. (2006). "Selective coronary artery plaque visualization and differentiation by contrast-enhanced inversion prepared MRI." *Eur Heart J* **27**(14): 1732-1736.
- Makowski, M. and Botnar, R. (2009). Molecular MRI of vascular remodeling in atherosclerosis using an elastin specific contrast agent. ISMRM.
- McKenzie, J. E., Scandling, D. M., Ahle, N. W., Bryant, H. J., Kyle, R. R. and Abbrecht, P. H. (1996). "Effects of soman (pinacolyl methylphosphonofluoridate) on coronary blood flow and cardiac function in swine." *Fundam Appl Toxicol* **29**(1): 140-146.
- Mehran, R., Dangas, G., Abizaid, A. S., Mintz, G. S., Lansky, A. J., Satler, L. F., Pichard, A. D., Kent, K. M., Stone, G. W. and Leon, M. B. (1999). "Angiographic patterns of in-stent restenosis: classification and implications for long-term outcome." *Circulation* **100**(18): 1872-1878.
- Mercator Study Group, t. (1992). "Does the new angiotensin converting enzyme inhibitor cilazapril prevent restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty? Results of the MERCATOR study: a multicenter, randomized, double-blind placebo-controlled trial. Multicenter European Research Trial with Cilazapril after Angioplasty to Prevent Transluminal Coronary Obstruction and Restenosis (MERCATOR) Study Group." *Circulation* **86**(1): 100-110.
- Motoyama, S., Kondo, T., Anno, H., Sugiura, A., Ito, Y., Mori, K., Ishii, J., Sato, T., Inoue, K., Sarai, M., Hishida, H. and Narula, J. (2007). "Atherosclerotic plaque characterization by 0.5-mm-slice multislice computed tomographic imaging." *Circ J* **71**(3): 363-366.
- Motoyama, S., Kondo, T., Sarai, M., Sugiura, A., Harigaya, H., Sato, T., Inoue, K., Okumura, M., Ishii, J., Anno, H., Virmani, R., Ozaki, Y., Hishida, H. and

- Narula, J. (2007). "Multislice computed tomographic characteristics of coronary lesions in acute coronary syndromes." *J Am Coll Cardiol* **50**(4): 319-326.
- Neumann, F. J. and Schomig, A. (1998). "Glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade with coronary stent placement." *Semin Interv Cardiol* **3**(2): 81-90.
- Newby, A. C. (2005). "Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture." *Physiol Rev* **85**(1): 1-31.
- Nikol, S., Huehns, T. Y. and Hofling, B. (1996). "Molecular biology and post-angioplasty restenosis." *Atherosclerosis* **123**(1-2): 17-31.
- Nili, N., Zhang, M., Strauss, B. H. and Bendeck, M. P. (2002). "Biochemical analysis of collagen and elastin synthesis in the balloon injured rat carotid artery." *Cardiovasc Pathol* **11**(5): 272-276.
- Okuhata, Y. (1999). "Delivery of diagnostic agents for magnetic resonance imaging." *Adv Drug Deliv Rev* **37**(1-3): 121-137.
- Onthank, D., Yalamanchili, P., Cesati, R., Lazewatsky, J., Azure, M., Hayes, M., Kavosi, M., Spencer, K., Sousa, D., Wexler, E., Lamoy, M., Harris, T., Hu, C., Jones, R., Dwyer, G., Casebier, D. and Robinson, S. (2007). "Abstract 1914: BMS753951: A Novel Low Molecular Weight Magnetic Resonance Contrast Agent Selective For Arterial Wall Imaging." *Circulation* **116**(16_MeetingAbstracts): II_411-c-412.
- Pakala, R., Willerson, J. T. and Benedict, C. R. (1997). "Effect of serotonin, thromboxane A₂, and specific receptor antagonists on vascular smooth muscle cell proliferation." *Circulation* **96**(7): 2280-2286.
- Pasterkamp, G., de Kleijn, D. P. and Borst, C. (2000). "Arterial remodeling in atherosclerosis, restenosis and after alteration of blood flow: potential mechanisms and clinical implications." *Cardiovasc Res* **45**(4): 843-852.
- Pasterkamp, G., Hillen, B. and Borst, C. (1997). "Arterial remodelling by atherosclerosis." *Semin Interv Cardiol* **2**(3): 147-152.
- Redpath, T. W. (1998). "Signal-to-noise ratio in MRI." *Br J Radiol* **71**(847): 704-707.
- Rodriguez, A. E., Palacios, I. F., Fernandez, M. A., Larribau, M., Giraud, M. and Ambrose, J. A. (1995). "Time course and mechanism of early luminal diameter loss after percutaneous transluminal coronary angioplasty." *Am J Cardiol* **76**(16): 1131-1134.
- Roemer, P. B., Edelstein, W. A., Hayes, C. E., Souza, S. P. and Mueller, O. M. (1990). "The NMR phased array." *Magn Reson Med* **16**(2): 192-225.
- Roger, V. L., Weston, S. A., Killian, J. M., Pfeifer, E. A., Belau, P. G., Kottke, T. E., Frye, R. L., Bailey, K. R. and Jacobsen, S. J. (2001). "Time trends in the prevalence of atherosclerosis: a population-based autopsy study." *Am J Med* **110**(4): 267-273.
- Rozenman, Y., Gilon, D., Welber, S., Sapoznikov, D. and Gotsman, M. S. (1993). "Clinical and angiographic predictors of immediate recoil after successful coronary angioplasty and relation to late restenosis." *Am J Cardiol* **72**(14): 1020-1025.
- Saeed, M., Higgins, C. B., Geschwind, J. F. and Wendland, M. F. (2000). "T1-relaxation kinetics of extracellular, intracellular and intravascular MR contrast agents in normal and acutely reperfused infarcted myocardium using echo-planar MR imaging." *Eur Radiol* **10**(2): 310-318.
- Saeed, M., Wendland, M. F. and Higgins, C. B. (1994). "Contrast media for MR imaging of the heart." *J Magn Reson Imaging* **4**(3): 269-279.

- Saeed, M., Wendland, M. F., Watzinger, N., Akbari, H. and Higgins, C. B. (2000). "MR contrast media for myocardial viability, microvascular integrity and perfusion." *Eur J Radiol* **34**(3): 179-195.
- Schar, M., Kim, W. Y., Stuber, M., Boesiger, P., Manning, W. J. and Botnar, R. M. (2003). "The impact of spatial resolution and respiratory motion on MR imaging of atherosclerotic plaque." *J Magn Reson Imaging* **17**(5): 538-544.
- Schwartz, R. S., Chronos, N. A. and Virmani, R. (2004). "Preclinical restenosis models and drug-eluting stents: still important, still much to learn." *J Am Coll Cardiol* **44**(7): 1373-1385.
- Schwartz, R. S., Holmes, D. R., Jr. and Topol, E. J. (1992). "The restenosis paradigm revisited: an alternative proposal for cellular mechanisms." *J Am Coll Cardiol* **20**(5): 1284-1293.
- Schwartz, R. S., Huber, K. C., Murphy, J. G., Edwards, W. D., Camrud, A. R., Vlietstra, R. E. and Holmes, D. R. (1992). "Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model." *J Am Coll Cardiol* **19**(2): 267-274.
- Schwartz, R. S., Murphy, J. G., Edwards, W. D., Camrud, A. R., Vlietstra, R. E. and Holmes, D. R. (1990). "Restenosis after balloon angioplasty. A practical proliferative model in porcine coronary arteries." *Circulation* **82**(6): 2190-2200.
- Sigwart, U., Puel, J., Mirkovitch, V., Joffre, F. and Kappenberger, L. (1987). "Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty." *N Engl J Med* **316**(12): 701-706.
- Simons, M., Edelman, E. R., DeKeyser, J. L., Langer, R. and Rosenberg, R. D. (1992). "Antisense c-myc oligonucleotides inhibit intimal arterial smooth muscle cell accumulation in vivo." *Nature* **359**(6390): 67-70.
- Smith, M. A. (1985). "The technology of magnetic resonance imaging." *Clin Radiol* **36**(6): 553-559.
- Spuentrup, E., Bornert, P., Botnar, R. M., Groen, J. P., Manning, W. J. and Stuber, M. (2002). "Navigator-gated free-breathing three-dimensional balanced fast field echo (TrueFISP) coronary magnetic resonance angiography." *Invest Radiol* **37**(11): 637-642.
- Spuentrup, E., Ruebben, A., Mahnken, A., Stuber, M., Kolker, C., Nguyen, T. H., Gunther, R. W. and Buecker, A. (2005). "Artifact-free coronary magnetic resonance angiography and coronary vessel wall imaging in the presence of a new, metallic, coronary magnetic resonance imaging stent." *Circulation* **111**(8): 1019-1026.
- Strauss, B. H., Chisholm, R. J., Keeley, F. W., Gotlieb, A. I., Logan, R. A. and Armstrong, P. W. (1994). "Extracellular matrix remodeling after balloon angioplasty injury in a rabbit model of restenosis." *Circ Res* **75**(4): 650-658.
- Stuber, M., Botnar, R. M., Danias, P. G., Kissinger, K. V. and Manning, W. J. (1999). "Submillimeter three-dimensional coronary MR angiography with real-time navigator correction: comparison of navigator locations." *Radiology* **212**(2): 579-587.
- van Buuren, F. and Horstkotte, D. (2006). "[21st report about the statistics of the heart catheterization laboratory in the German Federal Republic. Results of the joint inquiry of the Commission for Clinical Cardiology and of the Working Groups for Interventional Cardiology and Angiology of the German Society for Cardiology and Circulatory Research in the year 2004]." *Clin Res Cardiol* **95**(7): 383-387.

- van Geuns, R. J., Wielopolski, P. A., de Bruin, H. G., Rensing, B. J., van Ooijen, P. M., Hulshoff, M., Oudkerk, M. and de Feyter, P. J. (1999). "Basic principles of magnetic resonance imaging." *Prog Cardiovasc Dis* **42**(2): 149-156.
- Vilahur, G., Padro, T. and Badimon, L. (2011). "Atherosclerosis and thrombosis: insights from large animal models." *J Biomed Biotechnol* **2011**: 907575.
- von Birgelen, C., Mintz, G. S., de Vrey, E. A., Kimura, T., Popma, J. J., Airoli, S. G., Leon, M. B., Nobuyoshi, M., Serruys, P. W. and de Feyter, P. J. (1998). "Atherosclerotic coronary lesions with inadequate compensatory enlargement have smaller plaque and vessel volumes: observations with three dimensional intravascular ultrasound in vivo." *Heart* **79**(2): 137-142.
- Wagenseil, J. E., Johansson, L. O. and Lorenz, C. H. (1999). "Characterization of t1 relaxation and blood-myocardial contrast enhancement of NC100150 injection in cardiac MRI." *J Magn Reson Imaging* **10**(5): 784-789.
- Wasserman, B. A., Smith, W. I., Trout, H. H., 3rd, Cannon, R. O., 3rd, Balaban, R. S. and Arai, A. E. (2002). "Carotid artery atherosclerosis: in vivo morphologic characterization with gadolinium-enhanced double-oblique MR imaging initial results." *Radiology* **223**(2): 566-573.
- Weaver, M. E., Pantely, G. A., Bristow, J. D. and Ladley, H. D. (1986). "A quantitative study of the anatomy and distribution of coronary arteries in swine in comparison with other animals and man." *Cardiovasc Res* **20**(12): 907-917.
- Weintraub, W. S. (2007). "The Pathophysiology and Burden of Restenosis." *The American Journal of Cardiology* **100**(5, Supplement 1): S3-S9.
- Weishaupt, Köchli and Marinček (2006). *Wie funktioniert MRI? Eine Einführung in die Physik und Funktionsweise der Magnetresonanzbildgebung*. Berlin, Springer Verlag.
- Welt, F. G. and Rogers, C. (2002). "Inflammation and restenosis in the stent era." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **22**(11): 1769-1776.
- Yeon, S. B., Sabir, A., Clouse, M., Martinezclark, P. O., Peters, D. C., Hauser, T. H., Gibson, C. M., Nezafat, R., Maintz, D., Manning, W. J. and Botnar, R. M. (2007). "Delayed-enhancement cardiovascular magnetic resonance coronary artery wall imaging: comparison with multislice computed tomography and quantitative coronary angiography." *J Am Coll Cardiol* **50**(5): 441-447.
- Yuan, C., Kerwin, W. S., Ferguson, M. S., Polissar, N., Zhang, S., Cai, J. and Hatsukami, T. S. (2002). "Contrast-enhanced high resolution MRI for atherosclerotic carotid artery tissue characterization." *J Magn Reson Imaging* **15**(1): 62-67.
- Zamora, C. A., Sugimoto, K., Yamaguchi, M. and Sugimura, K. (2005). "Effect of stent oversizing on in-stent stenosis and lumen size in normal porcine veins." *J Endovasc Ther* **12**(4): 495-502.

8 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1 ZEITLICHE GLIEDERUNG DER RESTENOSEFAKTOREN NACH NIKOL, HUEHNS ET AL (1996), MODIFIZIERT NACH WEINTRAUB 2007.....	12
ABBILDUNG 2 PATHOPHYSIOLOGIE DER RESTENOSE	14
ABBILDUNG 3: PHYSIKALISCHE GRUNDLAGEN DES MRT	19
ABBILDUNG 4 T1 UND T2 WERTE VERSCHIEDENER GEWEBE BEI 1,5 T IN MS	21
ABBILDUNG 5 NAVIGATOR UND GATING FENSTER.....	25
ABBILDUNG 6 VERSUCHSABLAUF OHNE AUSWERTUNG.....	30
ABBILDUNG 7 VERSUCHSTIER MIT AUSGELAGERTEN EXTREMITÄTEN	34
ABBILDUNG 9 EKG GETRIGGERTER MESSUNG MIT INVERSIONSDelay	38
ABBILDUNG 10 GD-DTPA (MAGNEVIST, BAYER-SCHERING HEALTH CARE, BERLIN).....	39
ABBILDUNG 11 STRUKTURFORMEL VON BMS 753951 (LANTHEUS MEDICAL IMAGING, NORTH BILLERICA, USA)	41
ABBILDUNG 12 AKKUMULATION IN ELASTINREICHEM GEWEBE EX VIVO	42
ABBILDUNG 13 VERGLEICH BINDUNG BMS 753951 AORTA VS VENE	42
ABBILDUNG 14 PHYSIKALISCHE WIRKUNG VON BMS 753951.....	43
FORMEL 2	45
ABBILDUNG 15 CNR IN DER AORTA NACH KM-GABE	49
ABBILDUNG 16 KORONARES MRT DER LAD MIT (C & D) UND OHNE KONTRASTMITTEL (A & B).....	50
ABBILDUNG 17 KORONARES MRT DER LAD MIT (C & D) UND OHNE KONTRASTMITTEL (A & B).....	51
ABBILDUNG 18 ÜBERSICHT CNR IM STENTBEREICH MIT BMS 753951	52
ABBILDUNG 19 VERGLEICH ZWISCHEN GESTENTETER LAD (A,B), ÜBERDEHNTER LCX UND NATIVER RCA (D,E), PET-CT ÄHNLICHE FUSION VON MRA UND DELAYED ENHANCEMENT (C,F) MIT FARBBALKEN ZUR VERANSCHAULICHUNG DER STÄRKE DER SIGNALANHEBUNG	53
ABBILDUNG 20 ZEITLICHER VERLAUF CNR NACH BMS 753951 30 MINUTEN P< 0,05; 60-120 MINUTEN: P<0,01	54
ABBILDUNG 21 ZEITLICHER VERLAUF DER CNR	55
ABBILDUNG 22 ERGEBNISSE KONTROLLKORONARANGIOGRAPHIE	56
ABBILDUNG 23 HISTOLOGISCHE AUFARBEITUNG	57

ABBILDUNG 24 HISTOLOGISCHER VERGLEICH KONTROLLE VS PTCA VS STENT	58
ABBILDUNG 25 ELASTICA-VAN-GIESON FÄRBUNG DES KONTROLLGEFÄßES	59
ABBILDUNG 26 ELASTICA-VAN-GIESON FÄRBUNG DER GESTENTETEN LAD	59
ABBILDUNG 27 BEWERTUNG DER GEFÄßVERLETZUNG IM GESTENTETEN BEREICH.....	60
ABBILDUNG 28 CNR DER GEFÄßWAND VS PLANIMETRIE	61
ABBILDUNG 29 VERGLEICH DER CO-LOKALISIERUNG VON BMS 753951 MIT DEN ELASTISCHEN FASERN.....	62
ABBILDUNG 30 BINDUNGSVERHALTEN VON BMS 753951	63