



TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie

**Magnetresonanztomographische Bildgebung des akuten
Myokardinfarktes sowie des myokardialen Remodelings
im Mausmodell mit Hilfe eines Elastin-bindenden Kontrastmittels**

Isabella Naomi Bielicki

Dissertation

München 2014



TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny)

**Magnetresonanztomographische Bildgebung des akuten
Myokardinfarktes sowie des myokardialen Remodelings
im Mausmodell mit Hilfe eines Elastin-bindenden Kontrastmittels**

Isabella Naomi Bielicki

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

Doktors der Medizin (Dr. med.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. P. Henningsen

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny

2. apl. Prof. Dr. A. Huber

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

Die Dissertation wurde am 27.08.2014 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 13.05.2015 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Grundlagen.....	5
2.1	Koronare Herzerkrankung und Myokardinfarkt.....	5
2.1.1	Pathophysiologie des Myokardinfarktes.....	5
2.1.2	Myokardiale Wundheilung.....	6
2.2	Extrazelluläre Matrix im Herzen	7
2.3	Elastische Fasern im Herzen	9
2.4	Molekulare Bildgebung des Herzens.....	11
2.5	Kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie	12
2.5.1	Cine-Magnetresonanztomographie.....	12
2.5.2	Kontrastmittel in der kardiovaskulären Magnetresonanztomographie	13
2.5.3	Infarkt Diagnostik mittels „Late Enhancement“	14
2.5.4	Sequenztechniken zur Darstellung des „Late Enhancement“	15
2.6	Magnetresonanztomographie im Kleintiermodell	18
3	Fragestellung	19
4	Material und Methoden.....	21
4.1	Versuchstiere	21
4.2	Versuchsplanung	21
4.3	Magnetresonanztomographie.....	21
4.3.1	Kontrastmittel.....	22
4.4	Versuchsablauf	25
4.4.1	Myokardinfarktinduktion.....	25
4.4.2	Tierpräparation und Narkose	26
4.4.3	Magnetresonanztomographische Untersuchungen.....	28
4.5	Bildanalyse.....	32
4.5.1	Funktionsanalyse.....	32
4.5.2	Auswertung der „Late Enhancement“-Aufnahmen	32
4.6	Morphometrische und histologische Untersuchungen.....	36
4.6.1	Organentnahme.....	36

4.6.2	Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung.....	36
4.6.3	Histologie.....	37
4.6.4	Western-Blot-Analyse	37
4.7	Statistik.....	38
5	Ergebnisse	39
5.1	Etablierung der PSIR-Sequenz	39
5.2	Evaluation von Gd-ESMA in der Infarktdiagnostik.....	42
5.2.1	Late Enhancement	42
5.2.2	Kontrastmittelkinetik.....	43
5.2.3	Kompetitionsexperimente	46
5.2.4	Konsekutive Messungen an Tag 7 und 21 post Infarkt.....	47
5.2.5	Herzfunktion	52
6	Diskussion.....	55
6.1	Wahl des Tiermodells.....	55
6.2	Bildgebungsstrategien.....	56
6.2.1	Wahl der Feldstärke.....	56
6.2.2	Versuchsaufbau.....	57
6.2.3	Etablierung der PSIR-Sequenz.....	59
6.3	Gd-ESMA in der Infarktdiagnostik	61
6.3.1	Molekulare Zielstrukturen in der Bildgebung myokardialer Wundheilung ...	61
6.3.2	Elastin als Zielprotein myokardialer Wundheilung.....	63
6.3.3	Late Enhancement-Bildgebung mit Gd-ESMA	64
6.3.4	Darstellung myokardialer Wundheilung mit Gd-ESMA	66
6.4	Limitationen.....	67
6.5	Ausblick.....	68
7	Zusammenfassung	69
8	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	72
9	Literaturverzeichnis.....	73
10	Danksagung.....	83
11	Lebenslauf.....	84

Abkürzungsverzeichnis

A. U.	Arbitrary units
Abb.	Abbildung
ATP	Adenosintri-phosphat
Ca ²⁺	Calcium-Ion
CLIO	Cross linked iron oxide
CNR	Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (contrast to noise ratio)
d	Schichtdicke
EDV	Enddiastolisches Volumen
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiogramm
ESV	Endsystolisches Volumen
EvG	Elastica-van-Gieson Färbung
EZM	Extrazelluläre Matrix
FOV	Field of view
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
Gd	Gadolinium
Gd-DTPA	Gadolinium-Diethylentriaminpentaessigsäure, Gadopentetsäure
Gd-ESMA	Elastin-specific magnetic resonance contrast agent, BMS-753951
GE	Gradienten-Echo
H.E.	Hämatoxylin-Eosin Färbung
IC ₅₀	Mittlere inhibitorische Konzentration
ICAM-1	Intracellular adhesion molecule-1
ID	Injektionsdosis
IR	Inversion recovery
KG	Körpergewicht
La	Lanthanum
LAD	Linke Koronararterie
LCX	Linker Ramus circumflexus
LGE	Late gadolinium enhancement
LVV	Linksventrikuläres Volumen
MION	Monocrystalline iron oxide nanoparticles
MMF	Medetomidin, Midazolam, Fentanyl
MMP	Matrixmetalloproteinase
Mn ²⁺	Mangan-Ion
MPIO	Mircometer-sized iron oxide particles

MR	Magnetresonanz
MRT	Magnetresonanztomographie
NSA	Number of signal averages
O ₂	Sauerstoff
PSIR	Phase sensitive inversion recovery
RCA	Rechte Koronararterie
ROI	Region of interest
R-R-Intervall	Abstand zwischen einer und der nächsten R-Zacke im EKG
SNR	Signal-zu-Rausch-Verhältnis (signal to noise ratio)
SSFP	Steady-state free precession
SV	Schlagvolumen
T	Tesla
Tab.	Tabelle
TE	Echozeit
TFE-EPI	Turbo field echo-echo planar imaging
TI	Inversionszeit
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TR	Repetitionszeit
TTC	2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule-1
Vol	Volumen
VSOP	Very small iron oxid particle
2D	Zweidimensional

1 Einleitung

Weltweit verursachen kardiovaskuläre Erkrankungen die meisten Todesfälle [WHO (2012)]. Dabei bildet die koronare Herzkrankheit (KHK) eine besonders große Gruppe [Robert-Koch-Institut (2011)]. Zu diesem Erkrankungskomplex wird auch der akute Myokardinfarkt gezählt, der in Deutschland nach der chronisch ischämischen Herzkrankheit die zweithäufigste Todesursache ist [Statistisches Bundesamt (2012b)]. Dank verbesserter diagnostischer, therapeutischer sowie präventiver Maßnahmen ist die Sterblichkeit in den letzten 20 Jahren zwar deutlich gesunken, jedoch rückt dadurch der Krankheitsverlauf nach überlebtem Herzinfarkt weiter in den Fokus. Die ischämische Schädigung des Myokards kann neben anderen Komplikationen zu einer langfristig eingeschränkten Herzleistung führen, die sich im Symptomkomplex der Herzinsuffizienz widerspiegelt. Die ischämische Kardiomyopathie gehört mit einem attributablen Populationsrisiko von 62% zu den häufigsten Ursachen einer Herzinsuffizienz in den Industrienationen [He *et al.* (2001)]. Die Erkrankung ist mit einer hohen Morbidität und Mortalität verbunden [Wilson (2013)] und verursacht damit einen großen Anteil der Behandlungskosten in Deutschland [Statistisches Bundesamt (2012a)]. Faktoren wie der demographische Wandel und die Zunahme von Risikofaktoren für eine koronare Herzerkrankung in der Bevölkerung, wie Adipositas und Diabetes mellitus, tragen dazu bei, dass zukünftig mit einem weiteren Anstieg der Prävalenz kardiovaskulärer Erkrankungen in den Industrienationen gerechnet werden muss. Vor diesem Hintergrund erscheint es immer wichtiger, die pathophysiologischen Mechanismen der myokardialen Wundheilung und des konsekutiven ventrikulären Remodelings zu erforschen, um neue diagnostische und therapeutische Verfahren zu entwickeln, die dazu beitragen könnten die Morbidität und Mortalität der Erkrankung zu senken.

Die Magnetresonanztomographie (MRT) des Herzens ermöglicht nicht-invasiv Morphologie, Herzfunktion und Vitalität zu untersuchen. Sie verbindet eine hohe Sensitivität sowie eine hohe zeitliche und räumliche Auflösung mit der Möglichkeit funktioneller Untersuchungen des Herzens. In Bezug auf die Entwicklung einer Herzinsuffizienz nach akutem Herzinfarkt konnte gezeigt werden, dass das funktionelle und morphologische Muster linksventrikulären Remodelings zusammen mit dem Nachweis von myokardialem Narbengewebe im MRT einen hohen prognostischen Aussagewert haben [Konstam *et al.* (2011)]. Gleichzeitig bietet der Einsatz molekularer Kontrastmittel die Chance die Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankung besser zu verstehen und neue präventive, diagnostische und therapeutische Strategien zu entwickeln.

Die ischämische Schädigung des Myokards führt zum irreversiblen Untergang von Kardiomyozyten. Das abgestorbene Gewebe wird dann durch eine kollagenhaltige Narbe ersetzt. Als Spätkomplikation kann es im Folgenden zu ventrikulärem Remodeling kommen. Dieser Begriff beschreibt die reaktiven Umbauprozesse im infarzierten und angrenzenden vitalen Ventrikelmyokard nach einem Herzinfarkt. So kommt es zu Veränderungen der Ventrikelarchitektur und -funktion, im Sinne einer Ventrikeldilatation, eines Verlustes der elliptischen Form sowie zu einem Absinken der Auswurfleistung. Auf histologischer Ebene spiegelt sich ventrikuläres Remodeling in einer Kardiomyozytenhypertrophie, Myozytenapoptose, Myofibroblastenproliferation und progressiven Fibrose wieder [Konstam *et al.* (2011); Sutton *et al.* (2000)]. Klinisch kann bei den betroffenen Patienten eine zunehmende Herzinsuffizienz beobachtet werden. Bisher konnte der genaue Ablauf ventrikulären Remodelings und die zu diesem Prozess beitragenden Faktoren nicht abschließend geklärt werden. Bekannt ist, dass es während der myokardialen Wundheilung nach einem Herzinfarkt zu einer vermehrten Synthese extrazellulärer Matrixproteine kommt [Bowers *et al.* (2010); Zamilpa *et al.* (2010)]. Eines der dominierenden Proteine der in diesem Prozess entstehenden Narbe ist Kollagen Typ I. Jedoch spielen auch viele andere Proteine der extrazellulären Matrix (EZM) eine wichtige Rolle für die kardiale Wundheilung und nachfolgende Entwicklung eines ventrikulären Remodelings [Bowers *et al.* (2010); Zamilpa *et al.* (2010)]. Insbesondere elastische Fasern sind aufgrund ihrer mechanischen Eigenschaften für die Stabilisierung der Herzarchitektur und den Erhalt der ventrikulären Funktion nach einem Herzinfarkt von besonderer Bedeutung [Bassett *et al.* (2008); Mizuno *et al.* (2005a); Mizuno *et al.* (2005b)]. Während Elastin in gesundem Myokard nur in geringen Mengen im Interstitium und in den Gefäßwänden vorhanden ist, kommt es in den ersten Wochen nach einer Schädigung des Myokards zu einer vermehrten Synthese elastischer Fasern im Bereich des Myokardinfarkts [Dropmann (1960); Hort *et al.* (1965)]. Ein dichtes Netzwerk elastischer Fasern verbindet unbeschädigte Kardiomyozyten, Myofibroblasten und glatte Muskelzellen zu einer Narbe [Bassett *et al.* (2008)]. Damit trägt das extrazelluläre Protein Elastin dazu bei, inertes Narbengewebe in den restlichen Verband des kontraktiven Herzmuskels einzubinden. Therapeutisch konnte dieser Prozess bereits genutzt werden, um ventrikuläres Remodeling abzuschwächen und die Herzfunktion nach Herzinfarkt zu stabilisieren [Lichtenauer *et al.* (2011); Mizuno *et al.* (2005a); Mizuno *et al.* (2005b)].

Aufgrund des guten Weichteilkontrastes, der hohen räumlichen wie zeitlichen Auflösung und der Möglichkeit molekulare Sonden einzusetzen ist die MRT gut geeignet, um elastische Fasern im Bereich der Myokardnarbe darzustellen. Als extrazelluläres Protein ist Elastin für molekulare Sonden gut erreichbar. Aufgrund der vermehrten Synthese nach

einem Myokardinfarkt sollte es in einer ausreichend hohen Konzentration im Narbengewebe vorhanden sein, um eine molekulare Bildgebung mittels MRT zu ermöglichen.

Vor diesem Hintergrund soll in der vorliegenden Arbeit an einem Mausmodell mit permanentem Koronarverschluss das bereits in der Forschung zu vaskulärem Remodeling verwendete, Elastin-spezifische Kontrastmittel Gd-ESMA (BMS-753951) [Makowski *et al.* (2011)] zur Infarktdarstellung an einem klinischen 1.5 T MRT-Gerät eingesetzt werden. Basierend auf der Hypothese, dass es nach einem Herzinfarkt vermehrt zur Ablagerung elastischer Fasern im Bereich der myokardialen Narbe kommt und Gd-ESMA spezifisch an diese Fasern bindet und dadurch dort anreichert, soll in dieser Arbeit die Möglichkeit der Infarktbildgebung mittels Gd-ESMA im MRT evaluiert werden.

Da die Untersuchung des kardiovaskulären Systems im Mausmodell mit besonderen Herausforderungen an das MRT-Gerät in Bezug auf die Herzfrequenz und die Größe des zu untersuchenden Herzens verbunden ist, wird in dieser Studie zunächst eine für diesen Zweck optimierte Sequenztechnik etabliert. Mithilfe der 2D-phasensensitiven Inversion-Recovery-Sequenz (PSIR) soll der komplette linke Ventrikel des Mausherzens mittels „Late Enhancement“ in einer kurzen Periode von wenigen Minuten mit gutem Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR) untersucht werden.

Das neue Elastin-spezifische Kontrastmittel Gd-ESMA soll anschließend in seiner Eignung zur Darstellung elastischer Fasern im Bereich der Infarktnarbe an einem Mausmodell mit permanentem Koronarverschluss evaluiert werden. Zu diesem Zweck werden Kontrastmittelanreicherung im Infarkt und Kontrastmittelkinetik von Gd-ESMA mit denen des klinisch bereits etablierten extrazellulären Kontrastmittels Gadopentetsäure (Gd-DTPA) verglichen. Des Weiteren wird in einem Kompetitionsversuch die Bindungsspezifität des molekularen Kontrastmittels überprüft. In konsekutiven Messungen mit Gd-ESMA soll verifiziert werden, ob es mithilfe des molekularen Kontrastmittels möglich ist die vermehrte Synthese elastischer Fasern, im Rahmen myokardialer Wundheilung, abzubilden. Neben magnetresonanztomographischen Aufnahmen des infarzierten Myokards werden zusätzlich morphometrische und histologische Untersuchungen sowie Western-Blot-Analysen durchgeführt, um die in vivo erzielten Ergebnisse ex vivo zu überprüfen.

Insgesamt soll mit dieser Arbeit der Einsatz von Gd-ESMA in der Infarktdiagnostik untersucht werden. Es soll gezeigt werden, dass mithilfe des molekularen Kontrastmittels eine Darstellung und Quantifizierung des Elastins in der Myokardnarbe mittels MRT möglich ist. Darüber hinaus werden Kontrastmittelanreicherung und Kontrastmittelkinetik in Bezug auf die spezifischen Bindungseigenschaften von Gd-ESMA untersucht. Zuletzt soll geprüft werden, ob Gd-ESMA die myokardiale Wundheilung, im Sinne einer vermehrten

Elastinsynthese, abbilden kann und damit zukünftig dazu eingesetzt werden könnte, das Ausmaß ventrikulärer Strukturveränderungen nach einem Myokardinfarkt anhand des Elastingehalts zu quantifizieren. Dies wiederum könnte ein hilfreicher Marker in der Entwicklung und Überprüfung neuer Therapieverfahren im Bereich ventrikulären Remodelings sein.

2 Grundlagen

2.1 Koronare Herzerkrankung und Myokardinfarkt

Der Begriff der koronaren Herzerkrankung beschreibt die subjektiven, funktionellen und morphologischen Folgen eines relativen oder absoluten Durchblutungsmangels der Herzmuskulatur [Krams *et al.* (2010)]. Das Missverhältnis zwischen myokardialem O₂-Bedarf und Angebot nennt man Koronarinsuffizienz. Kommt es im Myokard aufgrund einer absoluten Koronarinsuffizienz zu einer Ischämie und damit zum unvermittelten Absterben von Herzmuskelzellen, so spricht man von einem akuten Herzinfarkt [Krams *et al.* (2010)].

Trotz großer Fortschritte in der Therapie des akuten Herzinfarktes, ist eine Schädigung myokardialen Gewebes meistens nicht zu verhindern. Diese wiederum ist der Auslöser für eine Reihe weiterer histopathologischer und struktureller Veränderungen des Ventrikelmyokards, die zu einer zunehmenden Einschränkung der linksventrikulären Funktion und Leistung führen können. So kommt es auf der Basis einer pathologischen Kardiomyozytenhypertrophie, -apoptose und -proliferation sowie einer interstitiellen Fibrose zu einer Ventrikeldilatation, zu einer verminderten systolischen Ventrikelfunktion sowie zu einem reduzierten Schlagvolumen. Dieser Prozess wird unter dem Begriff des „ventrikulären Remodelings“ zusammengefasst [Konstam *et al.* (2011); Sutton *et al.* (2000)]. Während ventrikuläres Remodeling den Umbau der ventrikulären Struktur auf pathophysiologischer Ebene beschreibt, wird der sich daraus klinisch ergebende Symptomkomplex unter dem Begriff der Herzinsuffizienz zusammengefasst [Dixon *et al.* (2010); Konstam *et al.* (2011)].

Entscheidend für die Ausprägung und den Verlauf des Remodeling sind unter anderem der zeitliche Ablauf, sowie das Gleichgewicht zwischen zerstörenden und reparativen Prozessen während der myokardialen Wundheilung [Dobaczewski *et al.* (2010); Zamilpa *et al.* (2010)]. Als Träger der strukturellen Integrität des Gewebes und wichtiger Signaltransduktor spielt die extrazelluläre Matrix (EZM) dabei eine zentrale Rolle [Dobaczewski *et al.* (2010); Zamilpa *et al.* (2010)].

2.1.1 Pathophysiologie des Myokardinfarktes

Der Herzinfarkt entspricht einer umschriebenen Koagulationsnekrose von Herzmuskel Fasern sowie des Interstitiums, infolge einer lang anhaltenden (≥ 30 min) Ischämie [Krams *et al.* (2010)]. Häufigste Ursache ist die Koronarsklerose im Rahmen eines metabolischen Syndroms mit einem akuten Verschluss einer Koronararterie durch einen aufgelagerten Thrombus (Koronarthrombose) [Krams *et al.* (2010)]. Sehr viel seltener kommt es durch

embolische, entzündliche oder spastische Ereignisse zu Einengungen der Gefäße [Krams *et al.* (2010)].

Die Obstruktion einer Koronararterie führt zum kritischen Abfall der Blutversorgung in dem von dem Gefäß versorgten Myokardabschnitt [Kumar *et al.* (2005b)]. Dies hat schwerwiegende funktionelle, biochemische und morphologische Konsequenzen. Die Depletion von ATP und Akkumulation toxischer Metabolite im Myokard führen schon nach 60 Sekunden zu einem Verlust an Kontraktilität. Diese ersten Veränderungen sind jedoch noch reversibel und führen nicht zum Zelltod. Erst nach etwa 20-40 Minuten kontinuierlicher Ischämie kommt es zum irreversiblen Absterben von Kardiomyozyten [Kumar *et al.* (2005b)]. Nach dem Prinzip der „letzten Wiese“ sind die subendokardialen Anteile des Herzens aufgrund ihrer schlechten Gefäßversorgung, davon als erstes betroffen. Von dort breitet sich bei fortbestehendem Koronarverschluss eine nekrotische Zone immer weiter in Richtung Epikard aus bis hin zu einem transmuralen Infarkt [Kumar *et al.* (2005b)]. Neben dem nekrotischen Absterben von Zellen kann es auch zum apoptotischen Absterben von Kardiomyozyten kommen [Kumar *et al.* (2005b); Steenbergen *et al.* (2012)]. Diese Form des Zelltodes wird insbesondere nach Reperfusion des ischämischen Myokards beobachtet. Das genaue Verhältnis zwischen Nekrose und Apoptose ist bisher noch nicht geklärt [Kumar *et al.* (2005b); Steenbergen *et al.* (2012)].

Die einzige Möglichkeit, ischämisches Gewebe vor dem Zelltod zu bewahren ist die umgehende Wiederherstellung der Perfusion innerhalb der ersten 6 Stunden nach Beginn der Ischämie [Kumar *et al.* (2005b)]. Dies kann mithilfe von medikamentöser Thrombolysen, perkutaner transluminaler Koronarangioplastie (PTCA) oder koronarem Bypass (CABG) gelingen. Je nachdem, ob und wann es zu einer Wiedereröffnung des verschlossenen Gefäßes kommt, ist die Menge an gerettetem Myokardgewebe und dessen Funktionalität unterschiedlich [Kumar *et al.* (2005b)].

2.1.2 Myokardiale Wundheilung

Im Gegensatz zu anderen Spezies wie Fischen und Amphibien ist das Herz von Säugtieren nach der Geburt zu keiner nennenswerten Regeneration von Kardiomyozyten in der Lage [Laflamme *et al.* (2011)]. Eine akute Stressinduktion führt zu einer Schädigung von Kardiomyozyten [Buja *et al.* (2008)]. Das Ausmaß kann durch Präkonditionierung und Reperfusion abgemildert werden, jedoch können abgestorbene Zellen bisher nicht ersetzt werden. Bei chronischem Stress kommt es vor allem zu einer Hypertrophie der Zellen und zu einem allgemeinen Umbau der Herzmuskelarchitektur [Buja *et al.* (2008)].

Der akuten ischämischen Schädigung des Myokards folgt der Prozess der kardialen Wundheilung. Tote Zellen im Bereich des Infarktes werden durch eine Narbe aus kollagenem Bindegewebe ersetzt. Die dabei ablaufenden Prozesse können in drei sich überlappende Phasen aufgeteilt werden: die Exsudationsphase, die reparative Phase bzw. Proliferationsphase und die Maturationsphase (s. Abb. 1).

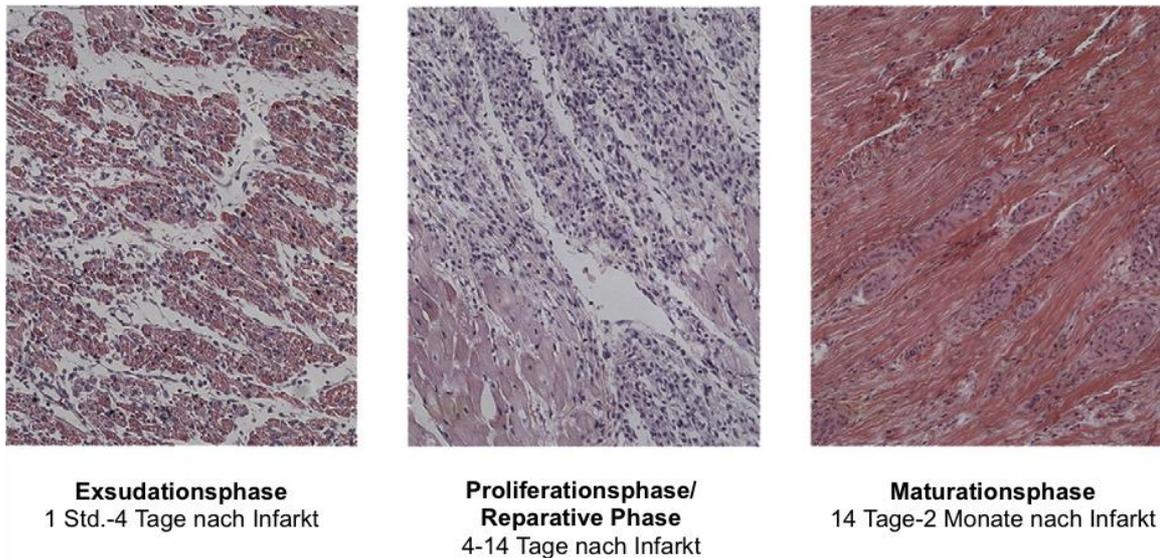


Abb. 1: Phasen der Infarktheilung. Gezeigt werden H.E. gefärbte Schnitte eines Myokardinfarktes beim Hund. Die Schnitte wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Reperfusion erstellt. (mit freundlicher Genehmigung von Elsevier [Dobaczewski *et al.* (2010)])

Die Exsudationsphase beginnt bereits mit dem ersten Absterben von Kardiomyozyten im Infarktreal. Es kommt zu einer inflammatorischen Reaktion. Bestandteile der EZM sowie nekrotische Zellen werden abgebaut [Dobaczewski *et al.* (2010); Liehn *et al.* (2011); Steenbergen *et al.* (2012)]. In der reparativen Phase kommt es zu einer Suppression inflammatorischer Signale. Parallel zu den noch ablaufenden, abbauenden Prozessen kommt es zu einer starken Proliferation von Zellen (Proliferationsphase). Sie produzieren neue extrazelluläre Matrix. Neben der Produktion von Narbengewebe kommt es zu einer verstärkten Neoangiogenese. Die neu eingesprossenen Gefäße versorgen das metabolisch aktive Granulationsgewebe mit Sauerstoff und anderen Nährstoffen. Zuletzt folgt die Maturationsphase. Es kommt unter anderem durch die Vernetzung kollagener Fasern zu einer Reifung des Narbengewebes. Letztendlich ersetzt eine Kollagen-dominierte Narbe das abgestorbene ischämische Herzgewebe [Dobaczewski *et al.* (2010); Liehn *et al.* (2011); Steenbergen *et al.* (2012)].

2.2 Extrazelluläre Matrix im Herzen

Gewebe unterscheiden sich nicht nur in der Art und der Zusammensetzung der Zellen, sondern auch im Aufbau des interstitiellen Raumes [Lüllmann-Rauch (2006a)]. Dieser

wird vor allem durch extrazelluläre Matrix (EZM) ausgefüllt. Zusammengesetzt ist diese aus Fibrillen, Proteoglykanen und Adhäsionsmolekülen, die lokal sezerniert und organisiert werden. Binde- und Stützgewebe bestehen zum größten Teil aus extrazellulärer Matrix [Lüllmann-Rauch (2006a)]. Dagegen dominieren im Herzen unter physiologischen Umständen Kardiomyozyten das Gewebe und nur sehr wenig EZM befindet sich zwischen den Zellen [Jourdan-Lesaux *et al.* (2010); Lüllmann-Rauch (2006a)].

Bereits 1975 konnte gezeigt werden, dass die EZM kein inaktives passives Gerüst ist. Vielmehr hat sie eine wichtige Signalfunktion [Meier *et al.* (1975)]. Unter anderem reguliert sie die Zellproliferation, -adhäsion und -migration [Holmes *et al.* (2005)]. Besonders im Falle einer myokardialen Schädigung, wie dem Herzinfarkt, spielt die EZM eine zentrale Rolle. Sie trägt entscheidend zur myokardialen Wundheilung bei und hat einen großen Einfluss auf die weitere Entwicklung und Prognose der Erkrankung.

Das Myokardgewebe besteht aus einer Vielzahl verschiedener Zellpopulationen, die die Herzfunktion unter physiologischen und pathologischen Umständen aufrechterhalten [Jourdan-Lesaux *et al.* (2010); Lüllmann-Rauch (2006b)]. Das ventrikuläre Myokard ist aus Schichten von Kardiomyozyten aufgebaut. Bindegewebe gliedert das Myokard in Bündel. Die hierin enthaltenen Fibroblasten interagieren mit den Kardiomyozyten (s. Abb. 2). Außerdem beherbergt das Bindegewebe die kardiale Mikrozirkulation, die Zellen mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt [Jourdan-Lesaux *et al.* (2010); Lüllmann-Rauch (2006b)]. Das Bindegewebe selbst besteht zu einem Großteil aus EZM, welche im Herzen vor allem von Fibroblasten produziert wird. Unter pathologischen Umständen, wie einem Herzinfarkt, können aber auch Myofibroblasten, neutrophile Granulozyten, Mastzellen und Makrophagen extrazelluläre Proteine produzieren [Bowers *et al.* (2010); MacKenna *et al.* (2000)].

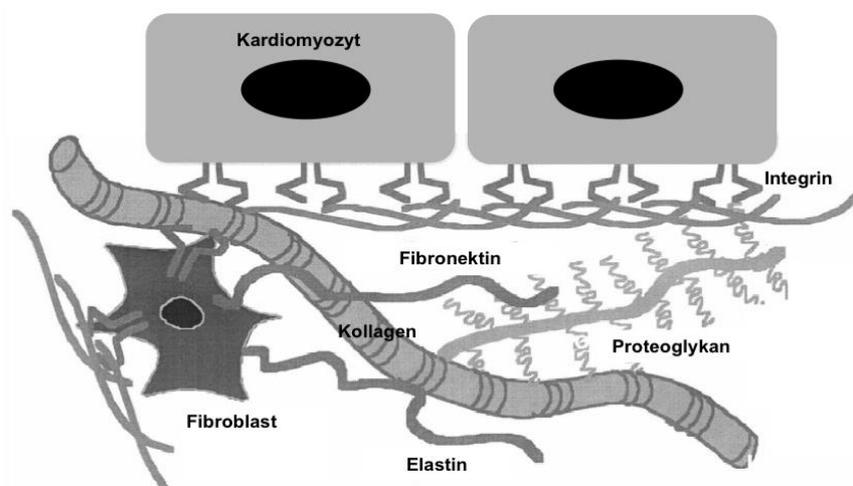


Abb. 2: Schematische Zeichnung: Zusammensetzung der Extrazellulären Matrix im Herzen. (mit freundlicher Genehmigung von Oxford University Press [MacKenna *et al.* (2000)])

Wichtig für die mechanischen Eigenschaften des Herzens sind kollagene Fasern, Elastin und Proteoglykane [Fomovsky *et al.* (2010)]. Kollagene und Elastin sind vor allem für die Stabilität des Herzens verantwortlich [Fomovsky *et al.* (2010)]. Sie interagieren mit dem restlichen Myokard und sind für die Architektur des Gewebes wichtig. Über Proteoglykane wird der Wassergehalt des Gewebes im Myokard kontrolliert [Fomovsky *et al.* (2010)]. Integrine ermöglichen interzelluläre Kommunikation und vermitteln Wechselwirkungen zwischen EZM, Kardiomyozyten und Fibroblasten [Bowers *et al.* (2010)]. Des Weiteren finden sich Proteasen, Wachstumsfaktoren und Zytokine in der EZM.

Die Zusammensetzung und das Verhältnis der einzelnen Bestandteile der EZM zueinander verändern sich nach einem Herzinfarkt. So kommt es im Rahmen des Entzündungsprozesses zu einer vermehrten Expression und Aktivierung von Proteasen und Zytokinen [Bowers *et al.* (2010)]. Dadurch werden Bestandteile der EZM abgebaut. Dies führt zu einer verminderten Belastbarkeit des Gewebes. Gleichzeitig sind die Spaltprodukte der EZM wichtige Botenstoffe und wirken proinflammatorisch [Bowers *et al.* (2010)]. Ist das Verhältnis zwischen EZM abbauenden und aufbauenden Faktoren nicht im Gleichgewicht, so kann es nach einem Herzinfarkt zu schweren Komplikationen, wie einer Ventrikeldilatation, einem Aneurysma oder im schlimmsten Fall einer Ventrikelruptur kommen [Bowers *et al.* (2010); Fomovsky *et al.* (2010)].

2.3 Elastische Fasern im Herzen

Elastin wird in Form von löslichen Tropoelastin-Molekülen von Fibroblasten, glatten Muskelzellen und einigen anderen Zellen sezerniert und bildet zusammen mit Mikrofibrillen ein Netz aus elastischen Fasern [Lüllmann-Rauch (2006a);(2006b)]. Mikrofibrillen bilden die Grundlage des elastischen Netzwerkes und ermöglichen eine geordnete Deposition, Orientierung und Anordnung von Tropoelastin [Mithieux *et al.* (2005)]. Eine Vernetzung des Tropoelastins durch die Lysyloxidase ist essentiell für die strukturelle Integrität und Funktionalität elastischer Fasern. Bei diesem Reifungsprozess entsteht amorphes, unlösliches Elastin, das die seltenen Aminosäuren Desmosin und Isodesmosin enthält. Im Gegensatz zum löslichen Tropoelastin wird es auch als „reifes“ Elastin bezeichnet. Es ist ein extrem haltbares und unlösliches Biopolymer und wird unter physiologischen Umständen kaum verstoffwechselt. Als Strukturprotein verleiht „reifes“ Elastin dem Gewebe Widerstandskraft und Elastizität (s. Abb. 3) [Mithieux *et al.* (2005)]. Außer Tropoelastin und Mikrofibrillen finden sich zahlreiche andere Proteine in elastischen Fasern, wie z.B. auch Fibullin-5. Dieses bindet an Integrine und vermittelt so die Anhaftung des elastischen Fasernetzes an umgebende Zellen [Lüllmann-Rauch (2006a)].

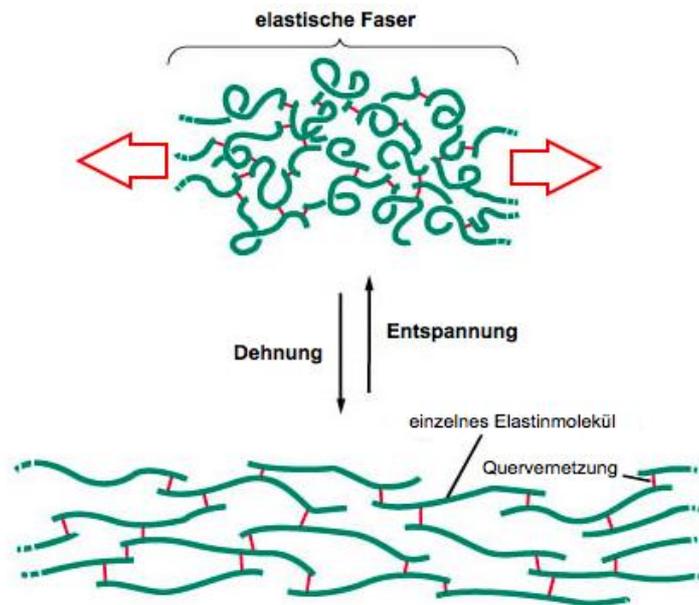


Abb. 3: Elastische Fasern - Funktionsweise. Die geringe Steifigkeit elastischer Fasern beruht auf der verknäuelten Anordnung der Proteinstränge. Wird Zug auf das Fasernetz ausgeübt richten sich die Proteinketten in Zugrichtung aus. Durch die Quervernetzung kehren die Proteinstränge bei Entspannung wieder in die Ausgangsposition zurück. (mit freundlicher Genehmigung von Elsevier [Chen *et al.* (2012)])

Trotz intensiver Forschung zur Zusammensetzung der EZM und deren Rolle in der myokardialen Wundheilung, wurde die Bedeutung von Elastin und elastischen (Elastin-haltiger) Fasern im Herzen nur ansatzweise untersucht. Unter physiologischen Umständen findet sich Elastin vor allem in den Gefäßwänden und im Endomysium. Dort bildet es ein Netzwerk um die einzelnen Kardiomyozyten [Farquharson *et al.* (1991)]. Es trägt damit zur strukturellen Integrität der Gewebearchitektur bei und unterstützt durch seine Eigenschaften den kardialen Kontraktionszyklus.

Nach einem Herzinfarkt kommt es in der Exsudationsphase zunächst zu einer Spaltung von Elastin durch Proteasen und MMPs zu Matrikininen [Jourdan-Lesaux *et al.* (2010)]. Die daraus entstehende sehr heterogene Gruppe von Spaltprodukten vermittelt verschiedenste Prozesse während der myokardialen Wundheilung [Ibelgaufts (2013)]. Unter anderem konnte gezeigt werden, dass eines dieser Proteine, kappa-Elastin, Kardiomyozyten vor Reperfusionsschäden nach Ischämie schützt und damit kardioprotektiv wirkt [Robinet *et al.* (2007)]. Bunda *et al.* haben gezeigt, dass Aldosteron, ein für die myokardiale Wundheilung wichtiges Hormon, zu einer Induktion der Elastinproduktion im Herzen führt [Bunda *et al.* (2007)]. In Übereinstimmung damit konnte in mehreren Studien in einem Ratten-Tiermodell, sowie am Menschen gezeigt, dass es nach einem akuten Herzinfarkt bereits nach wenigen Tagen zu einer vermehrten Synthese elastischer Fasern kommt [Bassett *et al.* (2008); Dropmann (1960); Hort *et al.* (1965)]. Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen wurde außerdem festgestellt, dass diese neugebildeten elastischen Fasern in sehr engem Kontakt zu Fibroblasten und

nichtvaskulären Myofibroblasten stehen [Bassett *et al.* (2008)]. Eine Studie von Mizuno *et al.* ergab, dass es durch eine Überexpression elastischer Fragmente im infarzierten Myokard zu einer verminderten Narbenexpansion und geringeren Einschränkung der Herzfunktion kommt [Mizuno *et al.* (2005a)]. Des Weiteren stellte sich heraus, dass die Injektion apoptotischer mononukleärer Zellen aus dem Blut zu einer Akkumulation elastischer Fasern vor allem im Grenzbereich zwischen gesundem Myokard und Narbengewebe führte [Lichtenauer *et al.* (2011)]. Damit verbunden konnte ein vermindertes ventrikuläres Remodeling beobachtet werden [Lichtenauer *et al.* (2011)].

Auch wenn bisher noch nicht abschließend geklärt werden konnte, welche Rolle Elastin während und nach einer myokardialen Schädigung spielt, so gibt es viele Hinweise dafür, dass das Strukturprotein wichtige kardioprotektive Eigenschaften besitzt. Elastische Fasern tragen wesentlich dazu bei die Infarktarbe mechanisch in das restliche vitale Myokard einzubinden. Sie verleihen dem Gewebe Elastizität und erhalten damit die strukturelle und funktionelle Integrität des Ventrikels. Somit können elastische Fasern ventrikuläres Remodeling abmildern oder sogar verhindern.

2.4 Molekulare Bildgebung des Herzens

2007 wurde molekulare Bildgebung durch die Society of Nuclear Imaging (SNM) wie folgt definiert: „Molekulare Bildgebung ist die Visualisierung, Charakterisierung und Messung biologischer Prozesse auf molekularer und zellulärer Ebene im Menschen oder anderen lebenden Systemen. Meist besteht die Untersuchung aus einer 2- oder 3-dimensionalen Bildgebung sowie einer quantifizierenden Untersuchung über die Zeit. Bildgebende Techniken die zu diesem Zweck eingesetzt werden sind nuklearmedizinische Methoden, MRT-Bildgebung, magnetresonanztomographische Spektroskopie, optische Verfahren, Ultraschall sowie andere Verfahren“ [SNMMI (2012)]. Im Bereich der kardiovaskulären Erkrankungen können mithilfe der molekularen Bildgebung Einblicke in ablaufende Entzündungsreaktionen und den Umbau der EZM gewonnen werden. Molekulare Sonden wurden unter anderem eingesetzt um kardiale Ischämie, ventrikuläres Remodeling und Arteriosklerose zu untersuchen [Jaffer *et al.* (2007); Saraste *et al.* (2009)].

Der Wahl der bildgebenden Methode liegen verschiedenen Faktoren wie die Sensitivität einer Methode, die zeitliche und räumliche Auflösung, die Tiefeneindringung, die Invasivität sowie die Strahlenbelastung zu Grunde [Saraste *et al.* (2009)]. Ein in den letzten Jahren zunehmend an Relevanz gewinnendes Verfahren ist die MRT. Sie verbindet die Vorteile einer hohen räumlichen und zeitlichen Auflösung mit einem sehr guten Weichteilkontrast. Kardiale Anatomie und Funktion können mit dieser Methode, im Gegensatz zu nuklearmedizinischen Methoden wie der SPECT, ohne den Nachteil der Strahlenbelastung dargestellt werden. Das Problem der geringeren Sensitivität im

Vergleich zu anderen bildgebenden Verfahren konnte durch die Entwicklung von Nanopartikeln, wie Eisenoxidpartikeln, Mizellen, Liposomen und Emulsionen, die mehr kontrasterzeugende Moleküle pro Ligand enthalten, zum Teil gelöst werden. Darüber hinaus können Aufnahmen im Gegensatz zur sonographischen Untersuchung des Herzens in der MRT unabhängig von Untersucherqualifikation und anatomischen Gegebenheiten in beliebig im Raum angeordneten Schichten gemacht werden [Saraste *et al.* (2009)].

2.5 Kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie

In den letzten 20 Jahren hat sich die MRT des Herzens insbesondere in der Diagnostik der koronaren Herzerkrankung als nicht-invasives bildgebendes Untersuchungsverfahren etablieren können [Hundley *et al.* (2010)]. Mit einer hohen zeitlichen und räumlichen Auflösung können in einem Untersuchungsgang Informationen zur kardiovaskulären Morphologie, Vitalität und Funktion gewonnen werden. Eine Vielzahl an Parametern wie myokardiale Masse, Blutfluss in Gefäßen und über Herzklappen, Wanddicke, -spannung und -perfusion, Infarktgröße, Stenosegrad der Koronargefäße sowie endsystolisches und enddiastolisches Volumen, Schlagvolumen und Ejektionsfraktion können parallel bzw. in wenigen Untersuchungsschritten erfasst werden. Die Messwerte sind sicher reproduzierbar und verfügen über eine niedrige Varianz [Hundley *et al.* (2010)]. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die magnetresonanztomographische Untersuchung des Herzens nach einem Herzinfarkt auch für den weiteren Verlauf der Erkrankung einen hohen prognostischen Aussagewert in Bezug auf ventrikuläres Remodeling und die Entwicklung einer Herzinsuffizienz hat [Konstam *et al.* (2011)].

2.5.1 Cine-Magnetresonanztomographie

Die Funktionsanalyse mittels Cine-MRT zählt, neben der Echokardiographie, inzwischen zu den Standardverfahren in der Evaluation der Herzfunktion nach einem Myokardinfarkt. Globale linksventrikuläre sowie rechtsventrikuläre Wandbewegungsstörungen können beobachtet und quantifiziert werden [Chan *et al.* (2012)]. Gleichzeitig können das ventrikuläre Volumen, die Ejektionsfraktion und die ventrikuläre Masse bestimmt werden. Hierfür wird meistens eine zweidimensionale Gradientenechosequenz verwendet [Hombach *et al.* (2005c); Rehwald *et al.* (2010)]. Sie zeichnet sich durch einen sehr guten Kontrast zwischen Blut und Myokard aus. Das Ziel der Cine-Aufnahmen ist es, durch die Aufnahme schneller Folgeschnittbilder an derselben Stelle einen kinematographischen Film zu erzeugen, anhand dessen die Herzfunktion beurteilt werden kann [Hombach *et al.* (2005c); Rehwald *et al.* (2010)].

2.5.2 Kontrastmittel in der kardiovaskulären Magnetresonanztomographie

Die vielfältigen Möglichkeiten, Sequenzen bzw. Sequenzparameter abzuändern, ermöglichen es zwar auch ohne Kontrastmittel zwischen verschiedenen Organen und Geweben Kontraste in der MRT zu erzeugen; nach der Zulassung des ersten Kontrastmittels Gd-DTPA im Jahr 1988 wurde jedoch schnell deutlich, welches Potential diese Form der Untersuchung bietet [Hombach *et al.* (2005b)]. Neben der Gewinnung wichtiger Informationen über Vitalität, Funktionalität und Integrität von Geweben und Organen, wird durch die Gabe von Kontrastmitteln auch die Untersuchungsdauer wesentlich verkürzt. Die Einführung von Kontrastmitteln trug entscheidend dazu bei, dass die kardiale MRT heute zu den Standardverfahren in der kardiovaskulären Diagnostik zählt. Besonders in der Perfusionsdiagnostik und der Einschätzung myokardialer Vitalität und Integrität ermöglichen Kontrastmittel-unterstützte Techniken eine hohe diagnostische Genauigkeit bei der Differenzierung zwischen vitalem und nekrotischem Myokard bzw. Infarkt-narbe [Hombach *et al.* (2005b)].

Als Kontrastmittel in der MRT geeignete Moleküle müssen ungepaarte Elektronen besitzen, um die Relaxation von Protonen beeinflussen zu können [Hombach *et al.* (2005b); Rummeny *et al.* (2006b)]. Im Gegensatz zu Kontrastmitteln in anderen bildgebenden Verfahren ist der Einfluss von MRT-Kontrastmitteln auf die Signalintensität nicht linear [Hombach *et al.* (2005b)]. Verschiedene Faktoren wie die Kontrastmitteldosis und die Sequenztechnik beeinflussen zusätzlich das Ausmaß der Verkürzung der T1- bzw. der T2-Relaxationszeit [Ni (2005)].

Kontrastmittel können anhand verschiedener Eigenschaften klassifiziert werden. Sie unterscheiden sich in der Verteilung im Gewebe, ihrem Effekt auf die Signalintensität und ihrer Spezifität für bestimmte Zielstrukturen. Im Folgenden werden sie anhand ihrer Fähigkeit, an bestimmte Zielstrukturen zu binden, in unspezifische extrazelluläre und spezifische Kontrastmittel eingeteilt.

Das erste extrazelluläre Gadolinium (Gd) basierte Kontrastmittel Gd-DTPA kam 1988 auf den Markt [Hombach *et al.* (2005b)]. Das Gadolinium-Ion weist durch seine 7 ungepaarten Elektronen einen besonders starken paramagnetischen Effekt auf und wird deshalb sehr häufig als Zentralatom kontrastgebender Komplexe verwendet. Weitere ähnliche Kontrastmittel wurden inzwischen entwickelt. Es handelt sich bei allen um niedermolekulare, hydrophile Gadolinium-Chelate. In diesen Molekülen bildet das paramagnetische Zentralatom Gd^{3+} mit offenkettigen oder zyklischen Liganden stabile Komplexe mit einem Molekulargewicht $<1kDa$ [Hombach *et al.* (2005b)]. Die hohe thermodynamische und kinetische Stabilität senkt die toxische Wirkung von Gadolinium im Körper [Hombach *et al.* (2005b); Rummeny *et al.* (2006b)]. Nach intravenöser Gabe der Kontrastmittel verteilen

sie sich schnell in Gefäßen und im Interstitium. Bereits bei der ersten kapillären Passage treten ca. 50% der Kontrastmoleküle in den interstitiellen Raum über. Es werden jedoch keine Zellmembranen überwunden. Dies ist das wichtigste Charakteristikum extrazellulärer Kontrastmittel. Letztendlich werden die Substanzen nahezu ausschließlich über die Niere ausgeschieden [Hombach *et al.* (2005b); Rummeny *et al.* (2006b)].

Aufgrund ihrer Distributionseigenschaften werden extrazelluläre Kontrastmittel vor allem in der Diagnostik von Erkrankungen, mit Veränderungen des interstitiellen Raumes, eingesetzt [Ni (2005)]. Nach einem Herzinfarkt kann eine vermehrte Anreicherung extrazellulärer Kontrastmittel im Narbenbereich beobachtet werden, da es dort aufgrund der Ischämie zu einem ausgeprägten Absterben von Kardiomyozyten kommt und dadurch der Extrazellulärraum zunimmt. Auch wenn mithilfe extrazellulärer Kontrastmittel, wie Gd-DTPA, eine gute Darstellung des infarzierten Myokards möglich ist, so ist aufgrund der nichtselektiven Eigenschaften des Kontrastmittels keine Differenzierung des geschädigten Herzmuskels in ödematöse, teils noch vitale und abgestorbene narbige Bereiche möglich [Caravan (2010)].

Die Erzeugung von Bildkontrasten in konventionellen bildgebenden Verfahren beruht auf anatomischen, physiologischen oder metabolischen Unterschieden der einzelnen Gewebe. Im Gegensatz dazu werden in der molekularen Bildgebung Kontrastmittel verwendet, die spezifisch molekulare Zielstrukturen, Signalwege oder zelluläre Prozesse nutzen, um Kontraste zu erzeugen [Sosnovik (2008)]. Spezifische Kontrastmittel können in zwei Klassen unterteilt werden. Einerseits gibt es zielgerichtete Substanzen. Diese werden in der Regel durch die Kopplung eines Liganden an das kontrastgebende Molekül synthetisiert. Dieser bindet in Form eines Antikörpers, eines Peptides oder anderen kleinen Moleküls spezifisch an ein Zielprotein. Andererseits gibt es sogenannte aktivierbare Substanzen. Diese Moleküle durchlaufen physikochemische Veränderungen nach der Bindung an eine gewünschte Zielstruktur. Die neue Struktur des Moleküls führt dann zu einem Anstieg der Signalintensität im Gewebe [Sosnovik (2008)].

2.5.3 Infarkt Diagnostik mittels „Late Enhancement“

Die Beobachtung einer verlängerten myokardialen Kontrastmittelanreicherung wird mit dem Begriff des „Delayed“ oder „Late Enhancement“ beschrieben [Rummeny *et al.* (2006a)]. Nekrotisches Myokard, sowie Binde- und Narbengewebe zeigen nach Injektion eines niedermolekularen Gd-Chelats ein hyperintenses Signal, während das Kontrastmittel im gesunden Myokard bereits ausgewaschen worden ist [Rummeny *et al.* (2006a)]. Dies kann genutzt werden, um nekrotisches und ischämisches Myokard nach einem Herzinfarkt zu identifizieren [Chan *et al.* (2012)]. Die wahrscheinlichste Erklärung dieses Phänomens ist, dass es im akut infarzierten Myokard durch die Zerstörung zellulärer

Membranen zu einem vermehrten passiven Einstrom von Kontrastmittel, im Sinne einer Diffusion, in den interstitiellen Raum kommt [Rehwald *et al.* (2010)]. Zusätzlich ist in Binde- und Narbengewebe der extrazelluläre Raum insgesamt erhöht, so dass das Volumen, in dem sich das Kontrastmittel ausbreiten kann, in der Kollagen-dominierten Narbe im Vergleich zum gesunden Myokard erhöht ist [Rehwald *et al.* (2010)].

Mittels Late-Gadolinium-Enhancement (LGE) können Ausmaß und Lokalisation einer myokardialen Nekrose bei Patienten mit Verdacht auf eine chronische oder akute ischämische Herzerkrankung zuverlässig bestimmt werden [Hundley *et al.* (2010)]. In der frühen Phase nach einem Myokardinfarkt bildet das LGE den nekrotischen Myokardbereich ab. In der späten Phase, etwa 8 Wochen nach einem Infarkt, zeigt es den Bereich der Narbe [Hundley *et al.* (2010)]. LGE hat sich insgesamt als ein zuverlässiges Verfahren erwiesen, um kardiale Komplikationen zu prognostizieren und die Mortalität nach einem Herzinfarkt einzuschätzen [Konstam *et al.* (2011)]. Prädiktiver Parameter für die Entwicklung eines ventrikulären Remodelings ist die Anzahl transmural infarzierter Segmente in der LGE-Untersuchung [Konstam *et al.* (2011)]. Das Ausmaß des LGE hat darüber hinaus prognostischen Aussagewert in Bezug auf die Möglichkeit der Funktionswiederherstellung nach koronarer Revaskularisierung bzw. medikamentöser Therapie [Konstam *et al.* (2011)]. Folglich empfiehlt die American Heart Association das Verfahren des LGE für die Beurteilung des Myokards nach einem Infarkt [Hundley *et al.* (2010)].

2.5.4 Sequenztechniken zur Darstellung des „Late Enhancement“

Ziel der LGE-Bildgebung ist es Bilder zu erzeugen, die einen hohen Kontrast zwischen hyperintensem infarzierten Myokard und normalem vitalen Myokard zeigen. Sequenztechnisch gelingt dies durch eine T1-Gewichtung der mittels MRT aufgenommenen Bilder. Im Folgenden werden die Grundlagen zweier Sequenztechniken, die dies ermöglichen vorgestellt. Es handelt sich dabei um die im klinischen Alltag etablierte Inversion-Recovery-Sequenz (IR) [Simonetti *et al.* (2001)] und die daraus weiterentwickelte Phase-Sensitive-Inversion-Recovery-Sequenz (PSIR) [Kellman *et al.* (2002)].

Mithilfe der IR-Sequenz gelingt es folgendermaßen Bilder sensitiv für die T1-Relaxation spezifischer Gewebe zu machen [Arai (2008)]. Das magnetische Feld eines MRT ist stark genug, um Protonen entlang der Achse des Magnetfeldes auszurichten, so dass initial mehr Protonen parallel als antiparallel zum Magneten ausgerichtet sind. Dadurch entsteht ein Magnetisierungsvektor. Durch Einstrahlung eines hochfrequenten magnetischen Wechselfelds, in Form eines Radiofrequenzimpulses, kann die Orientierung der Protonen im Magnetfeld kurzfristig verändert werden, so dass die Protonen entlang eines Vektors ausgerichtet sind. Wird der Impuls wieder abgeschaltet, so fallen die Protonen langsam in

ihre ursprüngliche Orientierung im Magnetfeld zurück. Die T1-Relaxationsrate beschreibt diesen Prozess und folgt einem exponentiellen Zeitverlauf. Die Kurven der T1-Relaxation sind für verschiedene Gewebe spezifisch. Kontrast zwischen Geweben mit unterschiedlicher T1-Relaxation kann durch den Einsatz eines 180°-Inversionsimpulses erzeugt werden. Dieser führt zu einer Umkehr der Längsmagnetisierung in den negativen Bereich. Anschließend kommt es zur üblichen Longitudinalrelaxation. Diese führt über die Transversalebene in die Ausgangsposition zurück. Es kommt zunächst zu einem Abfall des Vektors bis in die Transversalebene, in der die Längsmagnetisierung 0 beträgt. Danach nimmt der Vektor weiter zu bis er 1 beträgt und wieder in der Ausgangsposition liegt. Insgesamt macht man sich den unterschiedlichen Zeitpunkt des Nulldurchlaufs der Längsmagnetisierung der einzelnen Gewebe zur Kontrasterzeugung zu Nutze (s. Abb. 4.). Das Verhältnis zwischen antiparallel und parallel ausgerichteten Protonen ist je nachdem wann die Bilder nach dem Inversionsimpuls aufgenommen werden unterschiedlich und das Signal damit insgesamt negativ, null oder positiv. Die Inversionszeit TI zwischen Inversionsimpuls und Anregungsimpuls, dem Zeitpunkt der Signalmessung, bestimmt das Maß der T1-Gewichtung. Mit dieser Bildgebungstechnik ist es somit möglich selektiv eine Signalauslöschung zu erzeugen [Arai (2008)]. Bei der IR-Sequenztechnik gehen nur Absolutwerte in die Berechnung der Bilder ein. Negative wie positive Signalintensitäten erscheinen im Bild hyperintens (s. Abb. 4). Für LGE-Bilder wird üblicherweise eine Inversionszeit gewählt, bei der die Signalintensität des normalen Myokards optimaler Weise gleich 0 ist, also hypointens erscheint [Arai (2008)]. Da mehr Kontrastmittel im myokardialen Infarkt akkumuliert, ist T1 dort kürzer als im normalen Myokard und das ischämische Gewebe erscheint im Gegensatz zum gesunden Gewebe hyperintens (s. Abb. 4) [Arai (2008)].

Die IR-Sequenz ist ein im tierexperimentellen und klinischen Setting etabliertes Verfahren [Arai (2008)]. Es wird jedoch diskutiert, ob das LGE dieses Verfahrens nekrotische Bereiche nach einem akuten Myokardinfarkt präzise quantifizieren kann [Saraste *et al.* (2007)]. Kinetische Eigenschaften der Gd-Chelate, speziesspezifische Unterschiede in der Aufnahme des Kontrastmittels im Infarkt, sowie die IR-Sequenz selbst können dazu beitragen, dass das Messergebnis des LGE fehlerhaft ist. So kann die Rekonstruktion der Signalintensität ohne Berücksichtigung der Phasenlage der transversalen Kernmagnetisierung zu einer ungenauen Größenbestimmung des Infarktes führen. Der Kontrast zwischen infarziertem und vitalen Myokard und damit die Qualität der Bilder ist sehr stark von der Inversionszeit abhängig. Das optimale Zeitfenster mit hohem Kontrast zwischen Infarkt und gesundem Myokard ist relativ klein, da sich die Inversionszeit mit dem Auswaschen des Kontrastmittels aus Blut und Myokard verändert. Wird die TI im Verlauf

der Untersuchung nicht angemessen angepasst, so kommt es aufgrund des geringeren Kontrastes zu einer Fehleinschätzung der Infarktgröße [Saraste *et al.* (2007)].

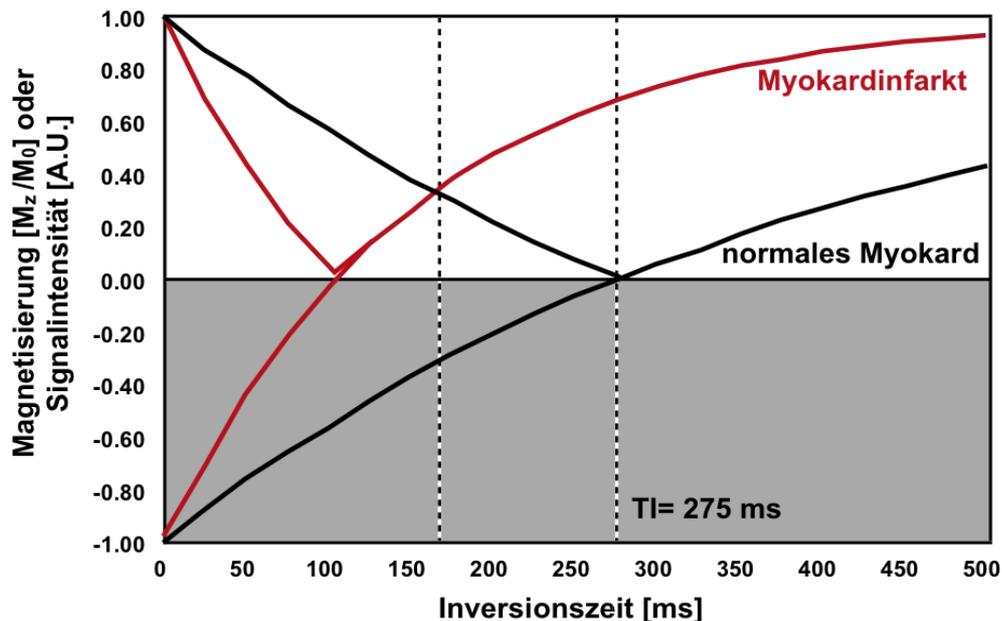


Abb. 4: Signalintensität als Funktion der Inversionszeit. Die rote Kurve beschreibt die Signalintensität in Abhängigkeit von der Inversionzeit des Myokardinfarktes, die schwarze Kurve die des normales Myokards. Bei einem Vorpuls-Delay von 275 ms schneidet die Kurve des normalen Myokards die x-Achse. Zu diesem Zeitpunkt erscheint das Gewebe schwarz. Im weißen Bereich des Graphen sind die Signalintensitäten abgebildet wie sie bei der Rekonstruktion der Bilder mit Absolutwerten zu beobachten sind.

Das Problem der inkorrekten Inversionszeit konnte durch die von Kellman *et al.* eingeführte phasensensitive Inversion-Recovery-Sequenz (PSIR) gelöst werden [Kellman *et al.* (2002)]. In dieser Sequenz geht die Information über die Phase des induzierten Signals in die Bildberechnung mit ein [Arai (2008)]. Diese enthält Informationen über die Ausrichtung der Protonen im Magnetfeld vor dem Inversionspuls. Mit der PSIR-Technik lassen sich im Gegensatz zur IR-Sequenz sowohl positive als auch negative Signalintensitäten messen (s. Abb. 4). Der Kontrast zwischen Infarkt und gesundem Myokard ist - wie in Abb. 4 anhand der Signalintensitätskurven zu sehen ist - bei dieser Sequenztechnik über eine große Spanne von Inversionszeiten gegeben. Dadurch kann bei der PSIR-Sequenz im Gegensatz zur IR-Sequenz eine voreingestellte, empirisch ermittelte Inversionszeit für die ganze Zeitspanne der Untersuchung verwendet werden [Arai (2008)]. In klinischen Studien konnte bereits gezeigt werden, dass die PSIR-Sequenz den infarzierten Bereich zuverlässig darstellt [Hsu *et al.* (2006a); Hsu *et al.* (2006b); Huber *et al.* (2005); Setser *et al.* (2005)]. Bisher wurde jedoch nur eine Studie zur Darstellung des LGE am Mausmodell mit einem klinischen MRT-Gerät durchgeführt [Voelkl *et al.* (2011)].

2.6 Magnetresonanztomographie im Kleintiermodell

Kardiovaskuläre Physiologie wird schon seit langem an Kleintiermodellen erforscht. Darunter ist insbesondere die Maus ein beliebtes Tiermodell für die kardiovaskuläre Forschung [Botnar *et al.* (2012); Hombach *et al.* (2005a)]. Sie teilt grundlegende biologische, physiologische und immunologische Mechanismen mit dem Menschen und bietet neben den Vorteilen der niedrigen Haltungskosten, kurzen Generationszeiten und hohen Reproduktionsraten, die Möglichkeit Manipulationen am Genom vorzunehmen. Aufgrund der genauen Charakterisierung des Mausgenoms ist es möglich, gezielt Gene zu verändern, auszuschalten (Knock-Out Mäuse) oder überzuexprimieren (transgene Mäuse). Dies ermöglicht, direkte Auswirkungen genetischer Veränderungen auf die kardiale Morphologie und Funktion zu untersuchen und somit pathophysiologische Mechanismen vieler Herz- und Gefäßerkrankungen zu analysieren. Im Gegensatz zu *ex vivo* Experimenten kann bei Untersuchungen am lebenden Tier das kardiovaskuläre System in seiner Gesamtheit abgebildet werden. Um Veränderungen in Morphologie und Funktion des Organs darzustellen, werden bevorzugt nicht-invasive bildgebende Verfahren genutzt [Botnar *et al.* (2012); Hombach *et al.* (2005a)].

3 Fragestellung

Nach aktuellem Stand der Forschung gibt es viele Hinweise dafür, dass das Strukturprotein Elastin, als Teil der EZM, eine wichtige Rolle während myokardialer Wundheilung und im konsekutiven ventrikulären Remodeling spielt [Jourdan-Lesaux *et al.* (2010); Lichtenauer *et al.* (2011); Robinet *et al.* (2007)]. Es wird nach einem Herzinfarkt vermehrt im Bereich der Narbe eingelagert [Bassett *et al.* (2008); Dropmann (1960); Hort *et al.* (1965)] und wirkt kardioprotektiv, indem es durch seine mechanischen Eigenschaften einer Ventrikeldilatation entgegen wirkt und das inerte Narbengewebe in den Verband vitaler Kardiomyozyten einbindet [Bassett *et al.* (2008); Lichtenauer *et al.* (2011); Mizuno *et al.* (2005a); Mizuno *et al.* (2005b)]. Als Strukturprotein der EZM ist Elastin für molekulare Sonden gut zugänglich. Insgesamt ist es ein viel versprechendes Target in der molekularen Bildgebung des Herzens.

Grundlage dieser Arbeit ist die Hypothese, dass sich das neue Elastin-spezifische Kontrastmittel Gd-ESMA, welches bereits erfolgreich zum Elastin-Targeting im Rahmen des vaskulären Remodelings in verschiedenen Tiermodellen eingesetzt [Makowski *et al.* (2011); Onthank D (2007); von Bary *et al.* (2011)] wurde, im Bereich der Infarktnarbe aufgrund der Bindung an elastische Fasern anreichert. Es konnte bereits gezeigt werden, dass die Menge elastischer Fasern im Bereich der Narbe eng mit ventrikulärem Remodeling korreliert [Lichtenauer *et al.* (2011); Mizuno *et al.* (2005a); Mizuno *et al.* (2005b)]. Basierend auf den kardioprotektiven Eigenschaften des Proteins könnte eine Quantifizierung von Elastin im Narbengewebe via molekularer MRT mit Gd-ESMA dazu beitragen, neue diagnostische Möglichkeiten zu entwickeln und Therapieansätze zu evaluieren. Somit soll in dieser Studie mit dem Einsatz von Gd-ESMA eine neue Möglichkeit eröffnet werden, um myokardiale Wundheilung und ventrikuläres Remodeling nach akutem Myokardinfarkt *in vivo* zu beobachten und zu bewerten.

Zu diesem Zweck soll anhand eines Mausmodells mit permanentem Koronararterienverschluss an einem 1.5 T MRT-Gerät in einer Reihe von Experimenten prospektiv Gd-ESMA für die *in vivo* Darstellung elastischer Fasern in Bereichen myokardialer Infarzierung evaluiert werden. Da die Untersuchung des kardiovaskulären Systems im Mausmodell mit besonderen Herausforderungen an das MRT-Gerät verbunden ist, wurde zunächst eine für das experimentelle Setting dieser Studie optimierte Sequenztechnik etabliert. Mithilfe der 2D-phasensensitiven Inversion-Recovery-Sequenz soll der gesamte linke Ventrikel des Mausherzens in wenigen Minuten auf infarziertes Myokard untersucht werden.

Das Kontrastverhalten sowie die Kontrastmittelkinetik Gd-ESMAs werden mit denen des bereits klinisch etablierten Kontrastmittels Gd-DTPA verglichen. In Anlehnung an die von

Makowski *et al.* [Makowski *et al.* (2011)] durchgeführten Experimente wird in dieser Arbeit zum Nachweis der Bindungsspezifität Gd-ESMAs ein Kompetitionsexperiment mit nicht paramagnetischem La-ESMA durchgeführt. Ventrikuläres Remodeling soll anhand konsekutiver Messungen mit Gd-ESMA beobachtet werden. Morphometrische und histologische Untersuchungen, sowie die quantitative Messung von Tropoelastin mittels Western-Blot-Analyse sollen die mit Gd-ESMA erzielten Ergebnisse auf der *ex vivo* Ebene bestätigen. Zuletzt soll die Entwicklung der Herzfunktion mit dem MRT-Signal für Elastin korreliert werden.

4 Material und Methoden

4.1 Versuchstiere

In der vorliegenden Studie wurden insgesamt 41 weibliche C57BL/6J Mäuse verwendet. Die Tiere wurden von Charles River Laboratories Germany GmbH, Sulzfeld, Deutschland bezogen. Das Tierversuchsvorhaben wurde unter dem AZ: 55.2-1-54-2531-79-09 von der Regierung von Oberbayern genehmigt. Das Alter der Versuchstiere betrug zwischen 8-14 Wochen.

4.2 Versuchsplanung

Zur Etablierung der PSIR-Sequenz erfolgten bildgebende Untersuchungen zur Darstellung des LGE am Herzinfarktmodell der Maus mit einem klinischen 1,5 T MRT-Gerät (Achieva, Philips Healthcare, Best, Niederlande) jeweils am 7. Tag nach Infarktinduktion. Nach der Injektion von Gd-DTPA wurde das LGE jeweils mit single-slice-standard IR- und PSIR-Sequenzen evaluiert. Danach wurden die Tiere getötet, die Herzen entnommen und mittels 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) angefärbt.

Anschließende Experimente dienten der Charakterisierung des molekularen Elastinbindenden Kontrastmittels Gd-ESMA (BMS753951) zur Infarktdarstellung, ebenfalls bei 1.5 T, mittels der im ersten Versuchsteil etablierten PSIR-Sequenztechnik. Untersuchungen zur Kontrastmittelkinetik wurden am 7. und 21. Tag nach Infarkt durchgeführt. Dabei wurde der ganze Ventrikel nach Injektion von Gd-DTPA bzw. Gd-ESMA mittels PSIR-Sequenztechnik abgebildet. In einem weiteren Experiment wurden die molekularen Bindungseigenschaften von Gd-ESMA untersucht. In diesem Kompetitionsversuch wurden die Kontrastmittelkinetik und das Late Enhancement von Gd-ESMA mit denen nach vorheriger Injektion des nicht Kontrast-erzeugenden Lanthanum-ESMA (La-ESMA) verglichen. Zusätzlich wurde mittels Cine-MRT die Herzfunktion an Tag 0, 7 und 21 nach Infarkt untersucht. Nach Tag 7 oder Tag 21 wurden die Versuchstiere geopfert und die Herzen anschließend für die TTC-Färbung bzw. für die histologische Färbung entnommen. In einem weiteren Experiment wurde nach der Opferung außerdem der Elastin-Gehalt im Myokard via Western-Blot-Analyse bestimmt.

4.3 Magnetresonanztomographie

Die MRT-Untersuchung von Kleintieren ist mit gewissen technischen Schwierigkeiten verbunden [Botnar *et al.* (2012); Brockmann *et al.* (2007)]. Die geringe Herzgröße (ca. 8-10 mm Längsdurchmesser des linken Ventrikels der erwachsenen Maus) und die hohe Herzfrequenz (bis zu 600/min) stellen hohe Anforderungen an die verwendeten

Magnetresonanzscanner [Brockmann *et al.* (2007); Hombach *et al.* (2005a)]. In der Kleintier-MRT ist das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) ein wichtiger Parameter für die Qualität der Bilder. Verschiedene Maßnahmen können getroffen werden, um das SNR bei der Bildgebung kleiner Objekte wie dem Mauserzen zu optimieren [Brockmann *et al.* (2007); Hombach *et al.* (2005a)]. Zum einen verbessert sich das SNR mit zunehmender Feldstärke des MRT-Scanners [Hombach *et al.* (2005a); Schneider *et al.* (2006)]. Zum anderen trägt eine schnelle Bildakquisition zu qualitativ hochwertigen Aufnahmen bei [Hombach *et al.* (2005a); Schneider *et al.* (2006)]. Eine weitere Möglichkeit, das SNR zu erhöhen, ist der Einsatz optimierter Empfängerspulen [Brockmann *et al.* (2007); Hombach *et al.* (2005a)]. Die Signalintensität fällt mit dem Abstand zur Empfängerspule ab. Deshalb sollten kleine Spulen verwendet werden, die das darzustellende Objekt genau abdecken [Brockmann *et al.* (2007); Hombach *et al.* (2005a)].

In dieser Arbeit wurden alle bildgebenden Untersuchungen an einem klinischen 1.5 T MRT-Gerät (Achieva, Philips Healthcare, Best, Niederlande) durchgeführt. Das Gerät weist eine maximale Gradientenamplitude von 30 mT/m und eine minimale Schaltzeit von 150 μ s auf. Die Versuchstiere wurden zur Ableitung der Signale auf einer 23 mm Oberflächenspule (Philips Healthcare, Best, Niederlande) platziert.

Neben den technischen Möglichkeiten zur Verbesserung der Bildqualität gibt es eine weitere einfache Möglichkeit das SNR zu verbessern [Brockmann *et al.* (2007)]. Wird die Anzahl an Aufnahmen erhöht, so steigt damit auch die Menge an auswertbarem Signal. Mit jeder zusätzlichen Aufnahme steigt aber auch die Akquisitionszeit. Insgesamt muss ein Mittelweg zwischen Signalgewinn und vertretbarer Messzeit gefunden werden [Brockmann *et al.* (2007)]. In dieser Arbeit wurde mit einer NSA (number of signal averages) von 4 in den Cine-/IR-Aufnahmen und 2 in den PSIR-Aufnahmen gearbeitet.

4.3.1 Kontrastmittel

Allen Versuchstieren wurde das klinisch und tierexperimentell etablierte Gd-DTPA als Referenzkontrastmittel (Gadopentetsäure, MagnoGRAF, Marotrust GmbH, Deutschland) gespritzt. Weiterhin wurde zusätzlich das neue Elastin-spezifische Kontrastmittel Gd-ESMA (BMS-753951, Lantheus Medical Imaging, USA) eingesetzt.

Zusammengesetzt ist das molekulare Kontrastmittel aus Gd-DTPA, welches mit D-Aminosäure D-Phenylalanin gekoppelt ist (s. Abb. 5) [von Bary *et al.* (2011)]. Bindet Gd-ESMA an Elastin, kommt es zu einem starken Anstieg der Relaxivität und damit zu einem Anstieg der Signalintensität der Zielstruktur gegenüber dem Hintergrundrauschen [Makowski *et al.* (2011); von Bary *et al.* (2011)]. Gd-ESMA hat eine ähnlich lange Bluthalbwertszeit wie andere gebräuchliche Gd-basierte Kontrastmittel (<2% ID/g nach 60 min) [von Bary *et al.* (2011)]. Es ist metabolisch stabil und bindet zu weniger als 50%

an Plasmaproteine [Makowski *et al.* (2011)]. In einer von Makowski *et al.* durchgeführten Studie am Mausmodell ist keine signifikante Anreicherung von Gd-ESMA in Herz, Lunge und Muskeln beobachtet worden. In der Leber sind die Konzentrationen des Kontrastmittels gering [Makowski *et al.* (2011)]. Gd-ESMA wird überwiegend renal ausgeschieden [Makowski *et al.* (2011); von Bary *et al.* (2011)].

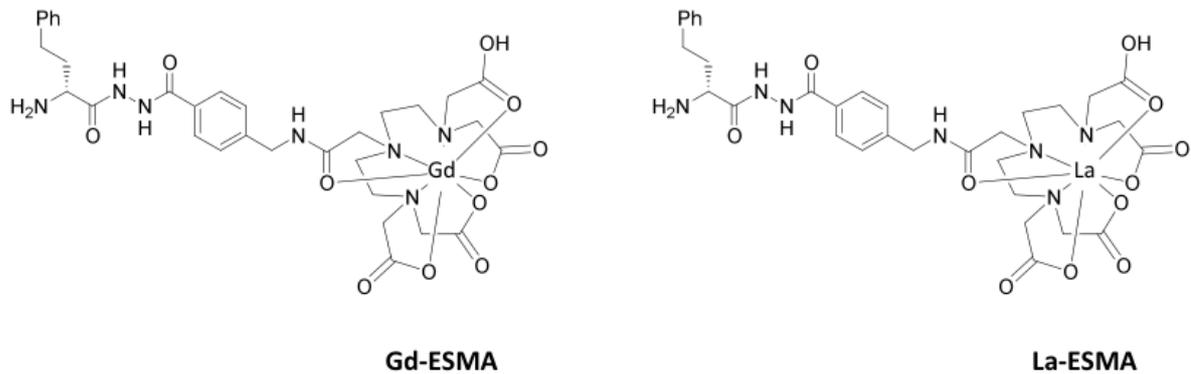


Abb. 5: Chemische Strukturen von Gd-ESMA und La-ESMA. (mit freundlicher Genehmigung der Nature Publishing Group [Makowski *et al.* (2011)])

Makowski *et al.* führten eine Reihe an Experimenten zur spezifischen Bindung Gd-ESMAs an elastische Fasern durch [Makowski *et al.* (2011)]. So ergab ein Kompetitions-experiment, bei dem nichtparamagnetischem La-ESMA vor Gd-ESMA injiziert wurde, signifikant niedrigere CNR-Werte. Des Weiteren wurde mit ESMA und radioaktivem ^{153}Gd -ESMA ein *ex vivo* Bindungsassay durchgeführt. Mit steigender ESMA-Konzentration kommt es konzentrationsabhängig zu einer Abnahme der Bindung Gd-ESMAs an elastische Fasern. Die IC_{50} für ESMA beträgt 0.33 mM und ist mit einer niedrigaffinen spezifischen Bindungsstelle vereinbar. Zuletzt ergab eine elektronenmikroskopische Untersuchung eine starke Anreicherung Gd-ESMAs im Bereich der elastischen Fasern. Insgesamt kann basierend auf den Ergebnissen von Makowski *et al.* von einer spezifischen Bindung Gd-ESMAs an elastische Fasern ausgegangen werden [Makowski *et al.* (2011)]. In dieser Arbeit wurde angelehnt an die Experimente von Makowski *et al.* zum Nachweis der spezifischen Bindung von Gd-ESMA an elastische Fasern im Bereich des Myokardinfarktes das Kompetitionsexperiment mit nicht-paramagnetischem La-ESMA (Lantheus Medical Imaging, USA) wiederholt. Das Grundgerüst von La-ESMA ist mit Gd-ESMA identisch. Das paramagnetische Gd-Ion ist lediglich durch ein nicht-paramagnetisches Lanthanum-Ion ersetzt worden (s. Abb. 5). Die wichtigsten Eigenschaften der Kontrastmittel werden in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tab. 1: Kontrastmitteleigenschaften

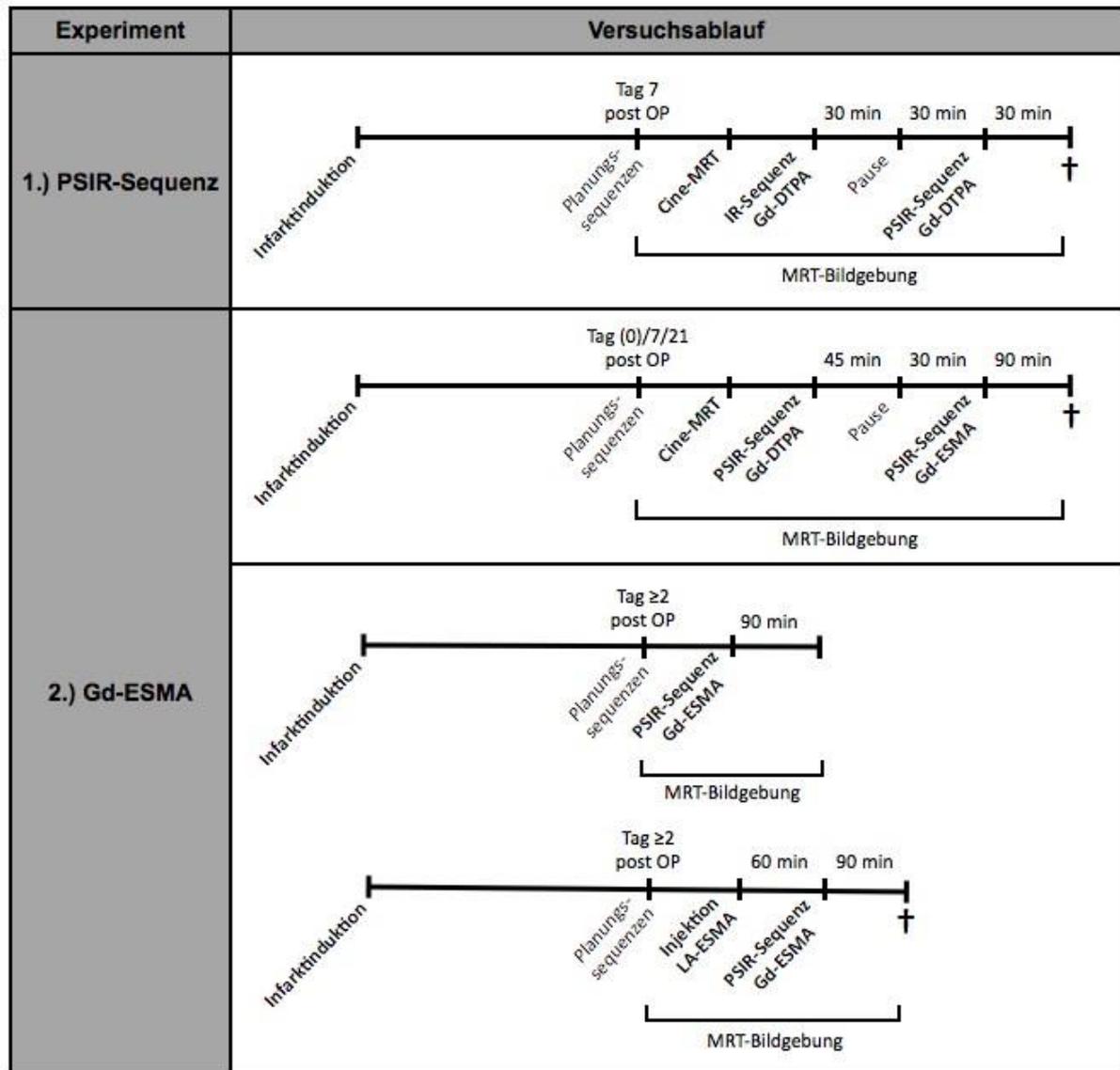
Kontrastmittel	Summenformel	Molare Masse [g/mol]	Injizierte Menge [mmol/kg KG]
Gd-DTPA (Magnograf, Marotrast GmbH, Deutschland)	$C_{28}H_{54}GdN_5O_{20}$	938.26	0.6
Gd-ESMA (BMS753951, Lantheus Medical Imaging, USA)	$C_{32}H_{40}GdN_7O_{11}$	855.95	0.2
La-ESMA (Lantheus Medical Imaging, USA)	$C_{32}H_{40}LaN_7O_{11}$	837.62	2

In den Experimenten zum Vergleich der Sequenztechniken wurde den Tieren Gd-DTPA in einer Konzentration von 0.6 mmol/kg KG injiziert. Nach Aufnahme der dynamischen IR-Bilder über 30 min erfolgte anschließend eine Pause von 30 min, um ein ausreichendes Auswaschen von Gd-DTPA vor erneuter Injektion des Kontrastmittels zu ermöglichen. Anschließend wurde nochmals die gleiche Menge Kontrastmittel gegeben, um in identischer Schichtführung die dynamischen PSIR-Untersuchungen durchzuführen.

Bei den Untersuchungen zum molekularen Kontrastmittel Gd-ESMA erhielten die Tiere zunächst eine Kontrastmittelinjektion mit Gd-DTPA in einer Konzentration von 0.6 mmol/kg KG. Nach erfolgter Untersuchung des LGE mittels PSIR-Sequenz und einer 30 min Pause wurde den Mäusen das Elastin-bindende Kontrastmittel Gd-ESMA in einer Konzentration von 0.2 mmol/kg KG injiziert. Auch hier erfolgten die Bildaufnahmen jeweils in identischer Schichtführung. Zusätzlich wurde ein Konkurrenzexperiment durchgeführt, in dem den Versuchstieren 60 min vor Gabe von Gd-ESMA das nicht-paramagnetische La-ESMA injiziert wurde. Dieses wurde zur Blockade möglichst vieler Bindungsstellen in einer 10-fach höheren Konzentration (2 mmol/kg KG) verabreicht.

4.4 Versuchsablauf

Tab. 2: Schematische Übersicht über den Ablauf der durchgeführten Experimente



4.4.1 Myokardinfarktinduktion

Mausmodelle myokardialer Ischämie erlauben eine intensive Analyse der an myokardialer Wundheilung und ventrikulärem Remodeling beteiligten pathophysiologischen Prozesse sowie die Evaluation neuer Therapieansätze in diesem Bereich. Um ein angemessenes Herzinfarktmodell bei der Maus zu erzeugen, können verschiedene Methoden angewendet werden. Neben dem Modell der permanenten Okklusion der linken Koronararterie [Christensen *et al.* (2004); Kumar *et al.* (2005a); Michael *et al.* (1995)], kann auch ein Verfahren gewählt werden, bei dem das Myokard nach einer definierten Zeit wieder reperfundiert wird, um z. B. Reperfusionsschäden nach Ischämie zu untersuchen [Michael *et al.* (2004)]. Eine weitere Methode einen Myokardinfarkt zu

induzieren ist die Induktion einer Nekrose des Herzmuskels via Kryoverletzung [van den Bos *et al.* (2005)]. In dieser Arbeit wurde zur Induktion eines Herzinfarktes die linke absteigende Koronararterie (LAD) ligiert. Diese Methode führt zuverlässig zur Entstehung großer Myokardinfarkte im anterolateralen, posterioren und apikalen Bereich des Mausherzens [Kumar *et al.* (2005a); Michael *et al.* (1995)]. Ein ventrikuläres Remodeling nach einem solchen Infarkt, ohne Reperfusion des ischämischen Gebiets, ist wahrscheinlich [Lutgens *et al.* (1999); Patten *et al.* (1998)]. Deshalb eignet sich das Modell gut zur Untersuchung der in dieser Arbeit vorliegenden Fragestellungen.

Vor der Durchführung der Thorakotomie wurde die Maus intubiert und anschließend mechanisch ventiliert (Harvard Inspirator Inspira asv, Hugo Sachs Elektronik-Harvard Aparatus GmbH, March-Hugstetten, Deutschland). Die Körpertemperatur wurde mithilfe einer Wärmematte (Beurer GmbH, Ulm, Deutschland) sowie eines Rotlichtes (Philips, Hamburg, Deutschland) reguliert. Eine adäquate Anästhesie wurde mittels einer intra-peritonealen Injektion von MMF erreicht (0.05 mg/kg Fentanyl, (Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland); 5.0 mg/kg Midazolam (Hoffmann-La Roche, Grenzbach-Wyhlen, Deutschland); 0.5 mg/kg Medetomidin (Pfizer, Karlsruhe, Deutschland)). Nach Thorakotomie in Höhe des 4. Interkostalraumes und Resektion des Perikards wurde die LAD etwa 2 mm unterhalb des Herzohres lokalisiert und mit einem 8-0 Ethilonfaden (Ethicon, Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Deutschland) verschlossen. Eine deutliche Abblassung des Myokards bestätigte die korrekt gesetzte Ligatur. Bevor nun der Thorax wieder verschlossen werden konnte, wurde unterhalb der 4. Rippe eine Thoraxdrainage (20 Gauge Venenverweilkanüle, VenisystemsTM, Hospira Inc., Irland) eingeführt. Der Thorax wurde nun in einzelnen Schichten mithilfe eines 6-0 Ethilonfadens (Ethicon Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Deutschland) wieder verschlossen. Zuletzt wurde die Thoraxdrainage mit einer 1 ml Insulinspritze (B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) unter Sog gezogen. Nach Beendigung der Operation wurde die Narkose mit 2.5 mg/kg Atipamezol (Pfizer Deutschland GmbH, Berlin, Deutschland), 0.5 mg/kg Flumazenil (Roche, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) und 1.2 mg/kg Naloxon (Inresa, Freiburg, Deutschland) antagonisiert und die Maus extubiert. Zur Schmerzbehandlung erhielten die Versuchstiere 0.05 mg/kg Buprenorphin (Essex Pharma, München, Deutschland) und 4 mg/kg Carprofen (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) subkutan.

4.4.2 Tierpräparation und Narkose

Damit es bei der MRT-Bildgebung nicht zu Qualitätseinbußen aufgrund von Bewegungsartefakten während der Datenakquisition am schlagenden Herzen kommt, ist eine EKG-Triggerung der Messung erforderlich [Hombach *et al.* (2005a); Schneider *et al.* (2006)].

Diese erlaubt eine Synchronisierung des Herzschlags mit der Datenakquisition. Zur Akquisitionstriggerung können Bewegungssensoren auf der Tieroberfläche, optische Sensoren oder fiberoptische Vorrichtungen verwendet werden. Am gebräuchlichsten ist jedoch die Ableitung des EKGs mittels subkutan platzierten Elektroden an den Vorderläufen oder am Thorax der Maus. Letztere Methode wurde in dieser Arbeit eingesetzt und für die Überwachung der Vitalparameter und prospektive EKG-Triggerung wurde ein MRT-kompatibles Monitoringsystem (Model 1025, SA instruments Inc., Stony Brook, USA) verwendet. Neben der Vermeidung von Bewegungsartefakten während der Bildaufnahme erfüllt die EKG-Triggerung einen weiteren wichtigen Zweck. Sie ist eine einfache Möglichkeit die Tiefe der Narkose und den allgemeinen Kreislaufzustand des Versuchstieres zu überwachen [Hombach *et al.* (2005a); Schneider *et al.* (2006)].

Die Vorbereitung der Versuchstiere für die MRT-Untersuchungen sowie die MRT-Aufnahmen selbst wurden unter allgemeiner Inhalationsnarkose (Isofluran 1.5-2.0 %Vol. bei 2 l O₂) durchgeführt. Vorteile der Inhalationsnarkose sind kurze Ein- und Ausleitungsphasen, sowie ein geringer Einfluss auf die Herzfrequenz und Kontraktilität des Herzens [Hombach *et al.* (2005a)]. Insgesamt sollte während der Untersuchung ein möglichst niedriges Narkoselevel angestrebt werden, um eine Einschränkung der Herzfunktion zu vermeiden [Vallee *et al.* (2004)]. Neben der Anästhesietiefe hat auch die Körpertemperatur einen Einfluss auf die Herzfrequenz [Hombach *et al.* (2005a); Vallee *et al.* (2004)]. Mithilfe einer wassergewärmten, MRT-kompatiblen Wärmematte (Bruker Biospin, Ettlingen, Germany) wurde sie in dieser Arbeit konstant bei 37°C gehalten. Die Kombination von optimaler Inhalationsnarkose und Kontrolle der Körpertemperatur ermöglichte Aufnahmezeiten von bis zu mehreren Stunden. Zur Kontrastmittelapplikation wurde den Versuchstieren ein Verweilkatheter in eine Schwanzvene gelegt. Die Elektroden für die EKG-Ableitung wurden subkutan links und rechts neben dem Herzen platziert und mit Pflasterstreifen fixiert. Mithilfe eines externen Computers konnte nun das EKG abgeleitet werden und der Triggerimpuls weiter an den Scanner geleitet werden. Neben der EKG-Triggerung war ein Gating-System notwendig, um die durchschnittlich sehr hohe Herzfrequenz der Versuchstiere an die Möglichkeiten eines klinischen MR-Gerätes (Herzfrequenz < 250/min) anzupassen. Nach Anbringen der EKG Elektroden wurden die Versuchstiere in Bauchlage auf der Spule positioniert, sodass der Thorax mittig auf Herzhöhe auflag. Anschließend wurde die Maus sowie die Injektionspritze mit Pflasterstreifen am Untersuchungstisch fixiert, damit es während der Untersuchung zu keiner Positionsänderung mehr kommen konnte (s. Abb. 6). Die Anästhesie wurde während den Untersuchungen kontinuierlich mit einer MRT-geeigneten Anästhesieeinheit (DRE Veterinary, Kentucky, USA) aufrechterhalten.

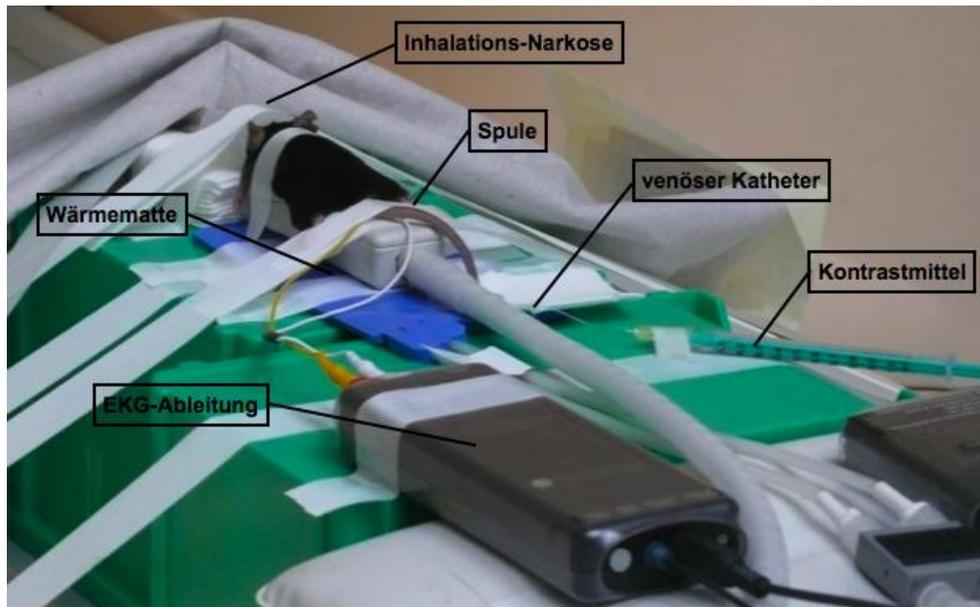


Abb. 6: Versuchsaufbau im MRT.

4.4.3 Magnetresonanztomographische Untersuchungen

Um Aussagen über die Herzfunktion und ein mögliches Late Enhancement zu machen, muss das Herz zunächst entlang seiner anatomischen Achsen abgebildet werden. Um dies durchführen zu können, wurden triplanare Scout-Aufnahmen gemacht. Mithilfe dieser Aufnahmen wurde das Zielvolumen festgelegt. Auf der Basis dieser Bilder wurde dann die weitere Planung des 2- und 4-Kammerblicks vorgenommen (s. Abb. 7). Diese Aufnahmen wiederum stellten die Grundlage für die Planung der Kurzachsenschnitte dar, die für die folgenden Untersuchungen der Herzfunktion und des Late Enhancement verwendet wurden.

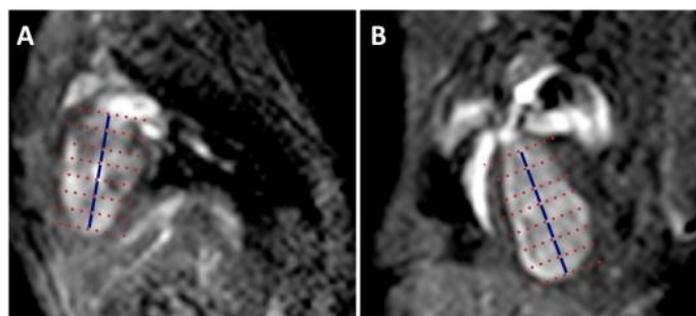


Abb. 7: Planungssequenzen. Abgebildet sind Aufnahmen des 2-Kammerblicks (A) sowie des 4-Kammerblicks (B) eines Mauserzens. Anhand dieser Bilder wurden die für die folgenden bildgebenden Untersuchungen benötigten Kurzachsenschnitte durch den linken Ventrikel geplant.

Da nach einem Herzinfarkt mit einer eingeschränkten Herzfunktion zu rechnen ist, wurden vor den Untersuchungen zum LGE, Cine-Aufnahmen in der kurzen Achse zur Bestimmung der Herzfunktion durchgeführt. Die Schichtdicke betrug jeweils 1 mm. Die Akquisition der Cine-Bilder erfolgte synchron mit der R-Zacke des QRS-Komplexes. Insgesamt wurde über 6-7 Schichten der ganze Ventrikel abgebildet. Weitere wichtige Sequenzparameter lauteten wie folgt: FOV 35 x 35 mm, Matrix 160 x 160, TR 18 ms, TE 7.4 ms, Flip Winkel 30°, 1 Linie/RR-Intervall, zeitliche Auflösung 18 ms, räumliche Auflösung 220 x 220 μm , NSA 4. Es wurden pro Schicht in 12 Phasen eines Herzzyklus Bilder des Ventrikels aufgenommen. Nach der Untersuchung der Herzfunktion wurden Aufnahmen zum Late Enhancement des Myokardinfarktes gemacht.

Für die Bestimmung des Late Enhancement wurden zunächst zwei verschiedene Sequenztechniken verglichen. Die IR-Sequenz wurde als bereits klinisch und tierexperimentell etabliertes Verfahren als Standardsequenz verwendet. Neben dieser Sequenz sollte die PSIR-Sequenz als Verfahren zur Untersuchung des Late Enhancement eingeführt werden. Sowohl im Vergleich der Sequenztechniken, als auch bei der Einführung von Gd-ESMA in die Infarkt Diagnostik wurden zur besseren Vergleichbarkeit jeweils an einem Versuchstier Aufnahmen in identischer Schichtführung durchgeführt. Nach erfolgter Planung der Schichtführung wurden zunächst zwei native IR- bzw. PSIR-Sequenzen in der Kurzachse angefertigt. Anschließend wurde das Kontrastmittel manuell als Bolus über eine Venenverweilkanüle in eine Schwanzvene injiziert.

Die Planung der IR-Sequenz wurde auf Grundlage des 2- und 4-Kammerblicks vorgenommen. Ein Kurzachsenschnitt wurde auf mittlerer Höhe durch den linken Ventrikel gelegt. Die Aufnahme der Bilder wurde mit jeder 4. R-Zacke synchronisiert. Um die korrekte Inversionszeit (TI) zu ermitteln, wurde eine Look-Locker-TFE-EPI-Sequenz verwendet. Wichtige Parameter der Look-Locker Sequenz lauteten wie folgt: EPI Faktor 3, FOV 25 x 25 mm, Matrix 64 x 64, Schichtdicke 1.5 mm, TR 21 ms, TE 9.6 ms, Flip Winkel α 10°, 3 Linien/RR-Intervall, räumliche Auflösung 390 x 390 μm , NSA 4. Die Untersuchung des LGE erfolgte nach Injektion des Kontrastmittels über 30 min. Hierfür wurde eine 2D-segmentierte-Inversion-Recovery-Gradientenechosequenz verwendet. Die optimale Inversionszeit für die Messpunkte wurde jeweils vor der IR-Sequenz mit der beschriebenen Look-Locker-Sequenz ermittelt. Aufnahmen wurden vor, sowie zu 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 25 und 30 min nach Injektion des Kontrastmittels angefertigt. Wichtige Parameter der IR-Sequenz lauteten wie folgt: FOV 25 x 25 mm, Matrix 60 x 64, Schichtdicke 1 mm, TR 13.0 ms, TE 6.2 ms, Flip Winkel 25°, 10 Linien/RR-Intervall, räumliche Auflösung 390 x 390 μm , NSA 4 (s. Abb. 8). Die Auswahl dieser Parameter ermöglichte Aufnahmen in der enddiastolischen Phase des Herzzyklus mit entsprechender Minimierung von Bewegungsartefakten.

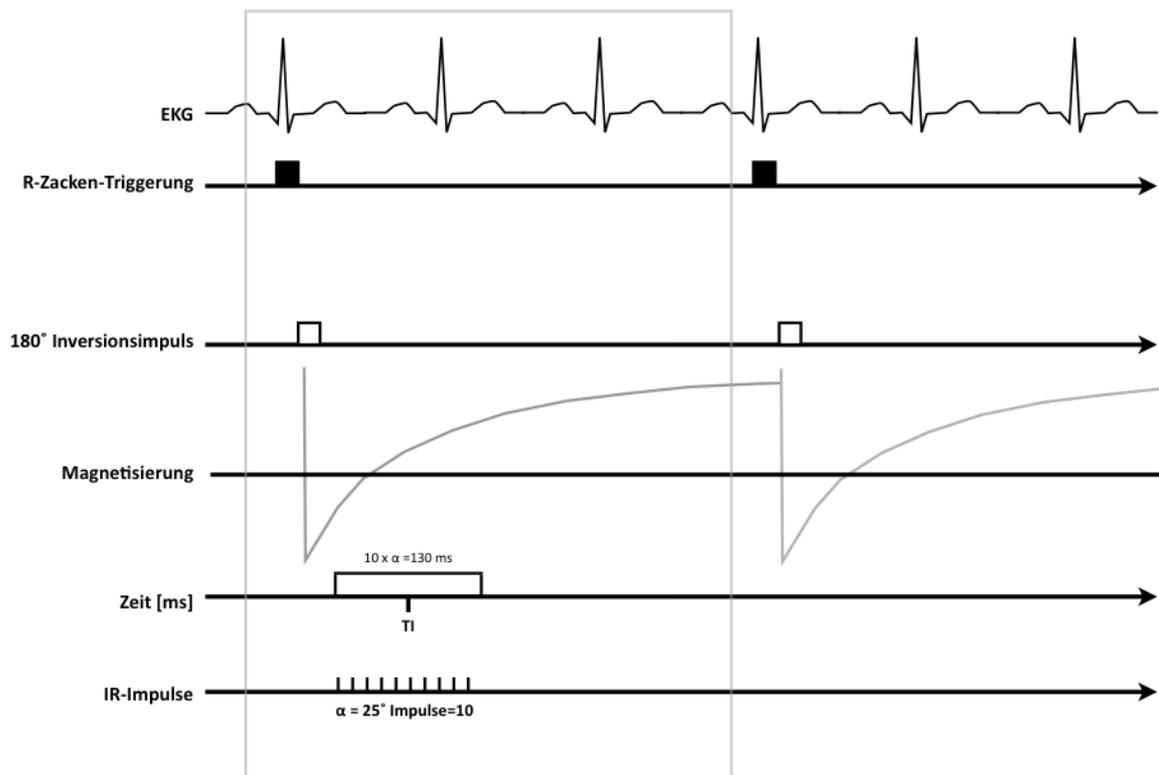


Abb. 8: Schematische Zeichnung der IR-Sequenz.

Die Schichtführung der PSIR-Aufnahmen erfolgte jeweils identisch zu den konventionellen IR-Aufnahmen. Die Aufnahmen der 2D-PSIR-Bilder wurden mit jeder dritten R-Zacke synchronisiert. Die nominelle Inversionszeit wurde mit 200 ms festgelegt. Weitere wichtige Parameter lauteten wie folgt: FOV 50 x 50 mm, Matrix 128 x 125, räumliche Auflösung 390 x 400 μm , Schichtdicke 1 mm, TR 13 ms, TE 6.1 ms, Flip Winkel $25^\circ/5^\circ$ (IR/Referenz), 10 Linien/RR-Intervall, NSA 2 (s. Abb. 9). Das Referenz-Segment enthielt zusätzlich ein Sensitivitätsprofil der Oberflächenspule. Zusammen mit den Informationen aus dem IR-Segment wurde durch komplex-konjugierte Multiplikation ein phasensensitiv rekonstruiertes Bild berechnet. Um eine homogene Signalverteilung des rekonstruierten Bildes zu erreichen, wurde eine Normalisierung der Bildinformationen entsprechend des Spulensensitivitätsprofils vorgenommen.

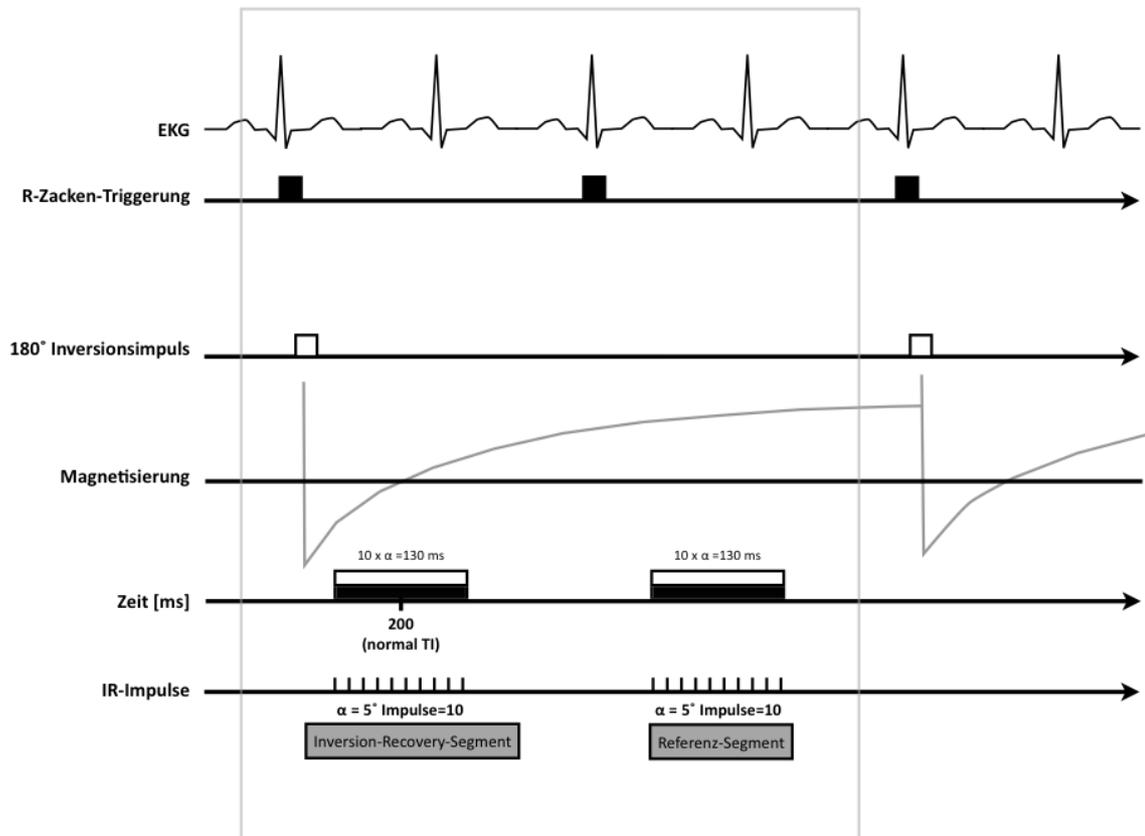


Abb. 9: Schematische Zeichnung der PSIR-Sequenz.

Zum Vergleich von IR- und PSIR-Sequenz wurde das LGE folgendermaßen analysiert. 30 min post Injektion des Kontrastmittels wurden mittels PSIR-Sequenz 60 Aufnahmen mit einer zeitlichen Auflösung von ~30 s akquiriert. Ausgewertet wurden Kurzachsenschnitte vor Kontrastmittelgabe sowie 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 25 und 30 min danach.

Da sich die PSIR-Sequenz im Laufe der Experimente als zuverlässige Untersuchungsmethode des Late Enhancement herausstellte, wurde für die weitere Evaluation von Gd-ESMA in der Infarkt Diagnostik ausschließlich diese Sequenzmethode verwendet. Um das gesamte Infarktvolumen zu erfassen, wurde der linke Ventrikel in einem Stapel von sieben 1 mm dicken Kurzachsenschnitten abgebildet. Wie zuvor erfolgte die Bildaufnahme jeweils in identischer Schichtführung. Die Datenakquisition erfolgte in einem Zeitfenster von etwa 150 s. Den Versuchstieren wurde in einer Reihe von Experimenten Gd-DTPA und Gd-ESMA bzw. Gd-ESMA und La-ESMA/Gd-ESMA injiziert. Für die Auswertung der Bilder wurden Kurzachsenschnitte zu den Zeitpunkten 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 25, 30, 40 und 45 min nach Gabe von Gd-DTPA, sowie davor verwendet. Für die Beurteilung des molekularen Kontrastmittels wurden Kurzachsenschnitte zu den Zeitpunkten 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80 und 90 min nach Gabe von Gd-ESMA, sowie vor Kontrastmittelgabe ausgewertet.

4.5 Bildanalyse

Die Auswertung der MRT-Bilder wurde mithilfe des Osirix DICOM Viewers (Osirix Foundation, Geneva, Switzerland, <http://www.osirix-viewer.com/>) durchgeführt.

4.5.1 Funktionsanalyse

Die Analyse der globalen Herzfunktion erfolgte anhand der Cine-Aufnahmen an Tag 0, 7 und 21 nach Infarktinduktion. Zur Bestimmung des endsystolischen und enddiastolischen linksventrikulären Volumens wurden zunächst anhand der Ventrikelausdehnung Systole und Diastole definiert. Der Zeitpunkt, an dem sich der linke Ventrikel am kleinsten darstellte, wurde als Ende der Systole festgelegt. Als Ende der Diastole wurde der Zeitpunkt der größten Ausdehnung des Ventrikels festgelegt. Zu diesen Zeitpunkten im Herzzyklus wurden die Konturen des Endokards und des Epikards über den ganzen Ventrikel hinweg in den einzelnen Kurzachsenschnitten semiautomatisch ermittelt. Dabei wurden Papillarmuskeln und endokardiale Trabeculae zum Blut-Pool gezählt. Die Schichtdicke (d) der Kurzachsenschnitte betrug jeweils 1 mm. Folgende auf den linken Ventrikel bezogene Parameter wurden dann berechnet, um die Herzfunktion zu beschreiben:

I. ESV (endsystolisches Volumen) = Summe der endsystolischen Endokardflächen $\times d$

II. EDV1 (enddiastolisches Volumen) = Summe der enddiastolischen Endokardflächen $\times d$

III. EDV2 (enddiastolisches Volumen) = Summe der enddiastolischen Epikardfläche $\times d$

IV. SV (Schlagvolumen) = EDV1 - ESV

V. Linksventrikuläre Masse = (EDV1 - EDV2) \times Dichte des Myokards ($\gamma=1.055 \text{ g/cm}^3$)

VI. EF (Ejektionsfraktion) = SV/EDV1 $\times 100$

4.5.2 Auswertung der „Late Enhancement“-Aufnahmen

Die Auswertung des Late Enhancement erfolgte zum einen nach Lokalisation und Größe des sich hyperintens darstellenden infarzierten Myokards. Zum anderen wurde über die Messzeit hinweg die Kontrastmittelkinetik anhand verschiedener Parameter untersucht.

Um die Lokalisation und Ausdehnung des mit Gd-DTPA bzw. Gd-ESMA erzeugten Late Enhancements besser einschätzen zu können, wurde eine Auswertung nach dem 17-Segment-Modell der American Heart Association [Cerqueira *et al.* (2002)] vorgenommen (s. Abb. 10/11). Der linke Ventrikel wurde entsprechend der Auswertungsmethode in 3 Kurzachsenebenen aufgeteilt. Nur Schnitte, auf denen der Ventrikel ganz abgebildet war wurden in die Auswertung aufgenommen. Das Myokard der

Kurzachsenschnitte wurde dann in Abschnitte von 60° bzw. 90° eingeteilt. Der letzte Schnitt ohne ventrikuläre Kavität wurde als Apex definiert. Durch diese Einteilung ergaben sich 17 verschiedene Segmente. Diese konnten anschließend den Versorgungsgebieten der Koronararterien (LAD, LCX, RCA) zugeordnet werden. Die Auswertung nach dem 17-Segment Modell wurde am 7. postoperativen Tag durchgeführt. Es erfolgte eine visuelle Segmentation von Late Enhancement Aufnahmen, die zum Zeitpunkt 7.5 min nach Injektion von Gd-DTPA bzw. Gd-ESMA akquiriert wurden. Randsegmente des Infarktes, deren Fläche sich zu $\geq 50\%$ hyperintens darstellte, wurden als infarziert gewertet.

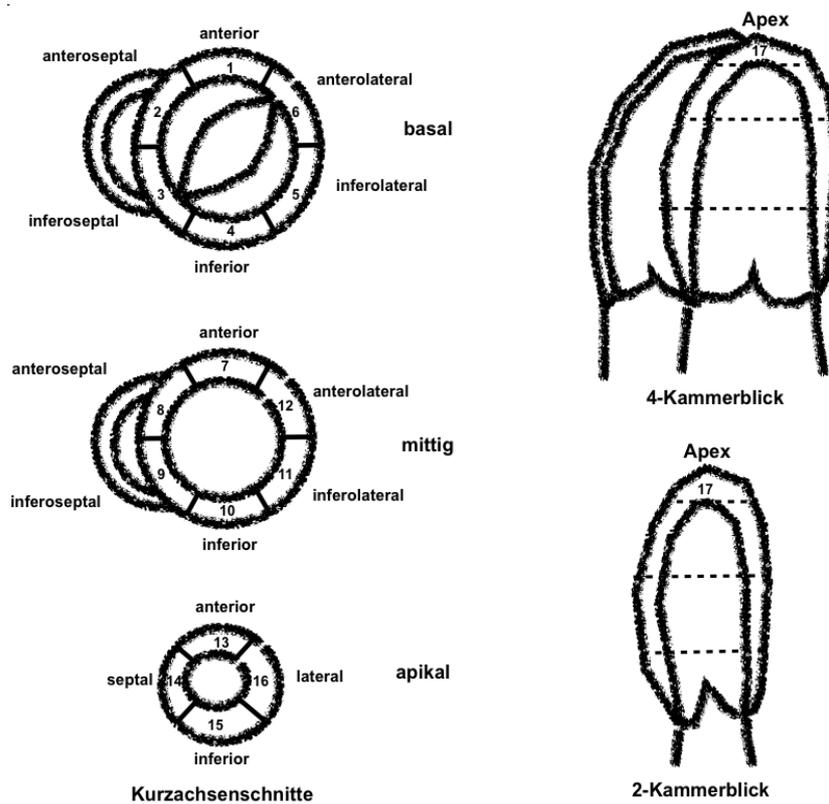


Abb. 10: 17-Segment Modell. Einteilung der ventrikulären Ebenen und Segmente nach den Vorgaben der American Heart Association.

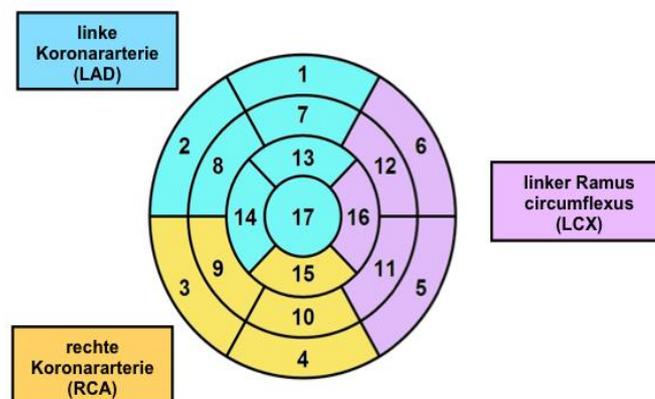


Abb. 11: 17-Segment Modell Bullseye-Plot. Zuordnung der Segmente zu den jeweils versorgenden Koronararterien

Zur Bestimmung der Infarktfläche wurde der Kurzachsenschnitt mit der deutlichsten Kontrastmittelanreicherung zum Zeitpunkt von 7.5 min nach Kontrastmittelinjektion ausgewählt. Die Bilder wurden so gefenstert, dass der hyperintense Bereich mit gutem Kontrast zum gesunden Myokard abgrenzbar war. Dieser Bereich wurde dann mithilfe von Osirix durch eine ROI (region of interest) semi-automatisch markiert und in seiner Größe ausgemessen. Wurde der linke Ventrikel durch einen Stapel von Kurzachsenschnitten ganz abgebildet, konnte nach der Messung des Late Enhancement das Infarktvolumen bestimmt werden. Die Bestimmung der Infarktfläche wurde parallel zur Messung in Einzelschichten in allen Kurzachsenschnitten durchgeführt. Anschließend wurden die Infarktflächen addiert und mit der Schichtdicke multipliziert. Das Infarktvolumen wurde am 7. und 21. Tag nach Infarktinduktion zu den Zeitpunkten 7.5, 10, 15, 30 min und 45 min nach Kontrastmittelinjektion bestimmt. Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse wird das Infarktvolumen relativ zum linksventrikulären Volumen in Prozent (%LVV) angegeben. Dieses wurde wie folgt berechnet:

$$\%LVV = \text{Infarktvolumen} / \text{linksventrikuläres Volumen}$$

Die Anreicherung von Gd-DTPA im Infarktareal wurde über 30 bzw. 45 min und die von Gd-ESMA bzw. Gd-ESMA/La-ESMA über 90 min untersucht. Beurteilt wurde anschließend der zeitliche Verlauf der Signalintensität in verschiedenen Bereichen des Herzens. Ebenfalls wurde der Kontrast zwischen infarziertem und gesundem Myokard sowie zwischen infarziertem Myokard und Blut-Pool über die Messzeit hinweg berechnet.

Die Auswertung des Late Enhancement erfolgte für alle Teile der Arbeit nach dem gleichen Schema (s. Abb. 12). Während im Vergleich der Sequenztechniken nur eine Schicht auf mittventrikulärer Ebene aufgenommen und ausgewertet wurde, konnte nach Etablierung der PSIR-Sequenz unter Verwendung des molekularen Kontrastmittels Gd-ESMA jeweils das ganze Infarktvolumen bestimmt werden. Zur Auswertung der Kontrastmittelkinetik wurde dann die Schicht, mit der deutlichsten visuellen Ausprägung des Late Enhancement 7.5 min nach Injektion des jeweiligen Kontrastmittels aus dem siebenschichtigen Bildstapel ausgewählt und für alle weiteren Messzeitpunkte ausgewertet.

7.5 min nach Kontrastmittelinjektion wurde der auszuwertende Kurzachsenschnitt so gefenstert, dass der hyperintense Bereich mit gutem Kontrast zum gesunden Myokard abgrenzbar war. Alle zur Auswertung benötigten ROIs wurden semi-automatisch mittels Osirix eingezeichnet und wenn nötig manuell korrigiert. Diese wurden für alle weiteren Messzeitpunkte übernommen. Zunächst wurde der Bereich des Late Enhancement, also des Infarktes umfahren. Gegenüber von dem hyperintensiven Areal wurde eine ROI in das sich hypointens darstellende gesunde Myokard platziert. Außerdem wurde eine stets

gleich große ROI (20 mm²) in den Blut-Pool gelegt. Zur Berechnung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses (SNR) und des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses (CNR) ist eine Quantifizierung des Hintergrundrauschens notwendig. Bei der PSIR-Sequenz ist dies problematisch. Die Korrektur der rekonstruierten Bilder mithilfe des Spulensensitivitätsprofils führt zu einer Amplifikation des Rauschsignals in signalarmen Bereichen, die sonst zur Bestimmung des Rauschens genutzt werden. Von Kellman *et al.* [Kellman *et al.* (2002)] wurde deshalb vorgeschlagen diese ROI in die Nähe der Infarktregion zu setzen. Diesem Ansatz folgend wurde in allen Messungen eine 50 mm² ROI zur Quantifizierung des Rauschens in die Nähe des Herzens in die Leber gelegt. Die Standardabweichung dieser ROI wurde aus den ersten zwei Leermessungen gemittelt und anschließend für die Berechnung von SNR bzw. CNR verwendet.

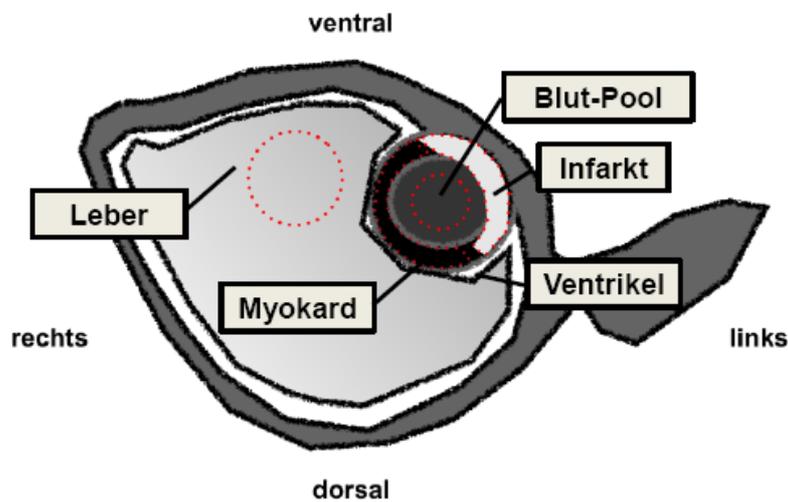


Abb. 12: Zeichnung eines Kurzachsenschnitts zur Auswertung des Late enhancement. In diesem Kurzachsenschnitt wird beispielhaft anhand der rot gestrichelten Linien die Anordnung der ROIs zur Auswertung des Late enhancement gezeigt.

Für die Bestimmung der Kontrastmittelkinetik wurden jeweils folgende Parameter bestimmt:

I. $SNR_{Blut} = \text{mittlere Signalintensität}_{Blut} / \text{Standardabweichung}_{Rauschen}$

II. $SNR_{Myokard} = \text{mittlere Signalintensität}_{Myokard} / \text{Standardabweichung}_{Rauschen}$

III. $SNR_{Infarkt} = \text{mittlere Signalintensität}_{Infarkt} / \text{Standardabweichung}_{Rauschen}$

IV. $CNR_{Infarkt/Myokard} = SNR_{Infarkt} - SNR_{Myokard}$

V. $CNR_{Infarkt/Blut-Pool} = SNR_{Infarkt} - SNR_{Blut-Pool}$

4.6 Morphometrische und histologische Untersuchungen

Um die mittels MRT in vivo gemessenen Ergebnisse zu überprüfen, wurden die Herzen nach der Tötung der Tiere für die ex vivo Validierung entnommen und weiter verarbeitet.

4.6.1 Organentnahme

Nach Beendigung der letzten MRT-Untersuchung wurden die Versuchstiere mit einer Überdosis Pentobarbitol 500 mg/kg KG intraperitoneal (Narcoren, Merial GmbH, Hallbergmoos) getötet. Anschließend wurde der Thorax des Versuchstieres eröffnet und das Herz entnommen. Dieses wurde dann für die im Folgenden beschriebenen Verfahren entsprechend konserviert.

4.6.2 Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung

Die Triphenyltetrazoliumchlorid-Färbung (TTC) ist ein Standardverfahren, um infarziertes Myokardgewebe morphometrisch darzustellen [Vivaldi *et al.* (1985)]. In dieser Arbeit wurde es verwendet, um die Ergebnisse, die mittels Late Enhancement in vivo erzielt wurden, zu validieren.

Nach Entnahme des Herzens wurde dieses bei -20°C für 45 min eingefroren. Das Herz wurde danach mithilfe einer gekühlten Schneidevorlage für Maus Herzen (Zivic Instruments, Pittsburgh PA, USA) in 1 mm Scheiben analog zu den Kurzachsen in der MRT geschnitten. Dadurch war eine gute Vergleichbarkeit der Schnitte mit den MRT-Bildern möglich. Die 1 mm dicken Herzschnitte wurden in einer Lösung von 2,3,5 Triphenyltetrazoliumchlorid (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland) bei 37°C für ca. 30 min unter regelmäßigem Aufschütteln in einem Blockheizier (Stuart, Bibby Scientific Ltd., UK) inkubiert. Dann wurden die Schnitte entnommen und auf einer Glasplatte in der Reihenfolge Basis-Apex platziert. Nach einer 10-minütigen Inkubation mit Formalin setzt sich das infarzierte Myokard deutlich hell-gelb gegen das ehemals vitale dunkelrote Herzgewebe ab (s. Abb. 13).

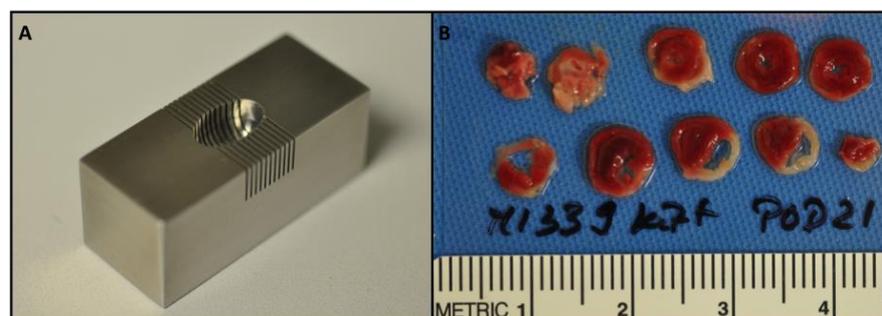


Abb. 13: TTC-Färbung. (A) Abbildung der Herzschneidevorlage (B) Beispiel einer TTC-Färbung eines Mausherzens mit Myokardinfarkt. Infarziertes Myokard zeichnet sich blass gegenüber vitalem, rotem Myokard ab.

Mit einer Spiegelreflexkamera Nikon D90 (Nikon GmbH, Düsseldorf, Deutschland), welche mit einem Makroobjektiv von 70 mm ausgestattet war (Sigma Deutschland GmbH, Roedermark, Deutschland) wurden die Schnitte abfotografiert und anschließend mittels Image J die Infarktflächen planimetriert. Des Weiteren wurden die Gesamtflächen des linken und rechten Ventrikels für jeden Schnitt ermittelt. Daraus wurde die Infarktfläche analog zur LGE Analyse in % LVV berechnet:

$$\%LVV = \text{Infarktfläche aller Schnitte} \times 100 / \text{Ventrikelfläche aller Schnitte}$$

4.6.3 Histologie

Die Erstellung histologischer Färbungen des Herzens wurde mit Unterstützung des Instituts für Pathologie am Helmholtz Zentrum München angefertigt.

Zur histologischen Aufarbeitung wurden die Herzen mit Formalin und Paraffin fixiert. Danach wurden die Gewebelöcke in 4 µm dicke Schichten geschnitten und auf Poly-L-Lysin beschichteten Objektträgern platziert. Hämatoxylin-Eosin- (H.E.) sowie Elastica-van-Gieson- (EvG) Färbungen wurden nach üblichem Prozedere angefertigt. Alle gefärbten Präparate wurden bei 20x Objektivvergrößerung mithilfe von Mirax Desk digitalem Bild-Scanner (Carl Zeiss Microimaging, München, Deutschland) digitalisiert. Für jedes Dia wurden anschließend die Probenregionen von Interesse im Bereich myokardialer Infarzierung markiert und mithilfe kommerziell erhältlicher Software (Definiens Enterprise Image Intelligence Suite, Definiens AG, München, Deutschland) analysiert. Basierend auf Färbeintensität, Morphologie, Nachbarumgebung und spezifischen Farbeigenschaften wurden Regeln entwickelt, um in der Elastica-van-Gieson-Färbung elastische Fasern und weiße Bereiche im Gewebe zu erfassen und zu quantifizieren. Die relative Fläche weißer Bereiche im Vergleich zur Gesamtoberfläche des Gewebes und die relative Intensität der Rotfärbung elastischer Fasern wurden anschließend berechnet.

4.6.4 Western-Blot-Analyse

Für die Western-Blot-Analyse wurde infarziertes sowie nicht infarziertes gesundes Myokard an Tag 7 bzw. 21 nach Infarktinduktion nach der Tötung der Tiere entnommen. Das Gewebe wurde auf Eis geschnitten und sofort mit flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -80°C aufbewahrt. Gewebelysate wurden anschließend in NDBL-Proteinlysepuffer (150 mM Tris HCl, pH 7; 100 mM NaCl, 1%NP 40) hergestellt und in Laemmli-puffer denaturiert. Danach wurde eine Standard-Gelelektrophorese auf 10%igem SDS-PAGE-Gel durchgeführt. Die Western-Blot-Analyse wurde mit einem Tank-Blotting-System durchgeführt, wobei Elastin mit einem polyklonalen Kaninchen-anti-Maus-Elastin-Antikörper (Abcam; ab21600) markiert wurde. Als Kontrollantikörper wurde Anti-GAPDH eingesetzt.

4.7 Statistik

Die statistische Auswertung wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Dipl.-Stat. Bernhard Haller vom Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie der Technischen Universität München mit der Software Prism für Macintosh Version 4.0c durchgeführt. Für alle Ergebnisse wurden jeweils arithmetischer Mittelwert (M), Standardabweichung (SD) und Standardfehler (standard error of mean, SEM) berechnet. Unterschiede im zeitlichen Verlauf der SNR- bzw. CNR-Werte zwischen den einzelnen Sequenzmethoden bzw. Kontrastmitteln wurden mithilfe einer einfaktoriellen Varianz-Analyse für Messwiederholungen auf statistische Signifikanz überprüft. Zu diesem Zweck wurde jeweils die Differenz zwischen zwei zu vergleichenden Messreihen gebildet und anschließend analysiert. Ein zweiseitiger student's t-Test wurde eingesetzt, um Mittelwerte einzelner Messzeitpunkte zu vergleichen und um Korrelationen auf Signifikanz zu überprüfen. Bland-Altman Analysen wurden durchgeführt, um die Übereinstimmung von mit verschiedenen Methoden gemessenen Infarktgrößen miteinander zu überprüfen. Ein p-Wert von < 0.05 wurde als signifikant gewertet. In der Analyse des Late Enhancement von Gd-ESMA wurden falsch negative und falsch positive Ereignisse ausgeschlossen, da sowohl visuell intraoperativ sowie mithilfe des LGE vor der Untersuchung mit Gd-ESMA sicher gestellt werden konnte, dass bei den in die Studie eingeschlossenen Tieren ein Herzinfarkt vorlag.

5 Ergebnisse

5.1 Etablierung der PSIR-Sequenz

Zunächst sollte die PSIR-Sequenz als zweidimensionales Verfahren zur Untersuchung des Herzinfarktes an einem Mausmodell mit permanentem Verschluss der Koronararterie an einem 1.5 T MRT-Gerät etabliert werden. Das Verfahren ist schnell und einfach durchzuführen und versprach deshalb eine gute Alternative zu der in der Infarkt Diagnostik etablierten segmentierten IR-Sequenz zu sein. Um die Vorteile der neuen Sequenztechnik herauszuarbeiten, wurde das mit der PSIR-Sequenztechnik aufgenommene Late Gadolinium Enhancement (LGE) mit dem aus der konventionellen segmentierten Inversion-Recovery-Sequenz verglichen. Im Vergleich zwischen PSIR- und IR-Sequenz wurden, neben dem Vorhandensein eines LGE, jeweils die zeitliche Auflösung der Bilder, sowie die Kontrastmittelkinetik von Gd-DTPA untersucht. Zuletzt wurde die Infarktgröße in parallelen Kurzachsenschnitten bestimmt und korreliert.

Bei allen untersuchten Tieren (n=8) konnte sowohl mit der IR-Sequenz als auch mit der PSIR-Sequenz der experimentell induzierte Infarkt anhand eines positiven LGE identifiziert werden (s. Abb. 14).

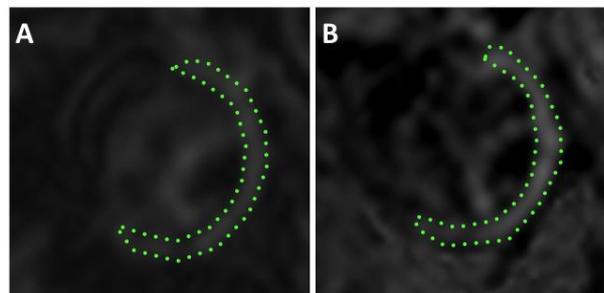


Abb. 14: Beispielbilder eines positiven LGE am Tag 7 nach Infarktinduktion. Abgebildet sind mit IR (A) bzw. PSIR (B) in identischer Schichtführung an einem Versuchstier aufgenommene Bilder des LGE, jeweils zum Zeitpunkt 7.5 min nach Kontrastmittelinjektion. Die Bereiche der Kontrastmittelanreicherung erscheinen hyperintens und spiegeln das infarzierte Myokard wieder.

Für die IR- und die PSIR-Sequenz wurde eine identische Schichtdicke von 1 mm gewählt. Die Aufnahmen erfolgten pro Versuchstier immer in gleicher Schichtführung, sodass der abgebildete infarzierte Bereich jedes Mal der gleiche war. Es resultierte für beide Sequenztechniken jeweils eine räumliche Auflösung pro Schicht von 0.4 x 0.4 mm. Ein vergleichbar guter Kontrast konnte sowohl mit der PSIR- als auch mit der IR-Sequenz, bei der eine manuelle Bestimmung der Inversionszeit vorgenommen wurde, erzielt werden (s. Abb. 14).

Die Akquisitionszeit von Bildern ohne Berücksichtigung der Phase war vergleichbar mit der von PSIR-Bildern (~27 s vs. ~33 s). Jedoch kam bei der IR-Sequenz die zusätzliche Messzeit hinzu, die für die Bestimmung der korrekten Inversionszeit mithilfe der Look-Locker-Sequenz nötig war (~115 s). Insgesamt war die PSIR-Sequenz somit weniger zeitaufwendig, da aufgrund der nominell gesetzten Inversionszeit (TI 200 ms) dieser Schritt entfiel. Dies ermöglichte in den durchgeführten Messungen insgesamt eine höhere zeitliche Auflösung. So konnten in den 30 min Messzeit nach Kontrastmittelinjektion mittels PSIR etwa 60 LGE-Aufnahmen gemacht werden (s. Abb. 15A). Im Gegensatz dazu musste bei der IR-Sequenz eine regelmäßige Anpassung der Inversionszeit erfolgen. Die Inversionszeiten variierten zwischen ~180 ms direkt nach Injektion von Gd-DTPA und ~300 ms nach 20 min (s. Abb. 15B). Somit musste die TI regelmäßig (ca. alle 5 min) mittels Look-Locker bestimmt werden, um den Kontrast zwischen infarziertem und vitalem Myokard aufrechtzuerhalten. Dies resultierte insgesamt in einer geringeren zeitlichen Auflösung der IR-Sequenz im Vergleich zur PSIR-Sequenz über die Messzeit von 30 min.

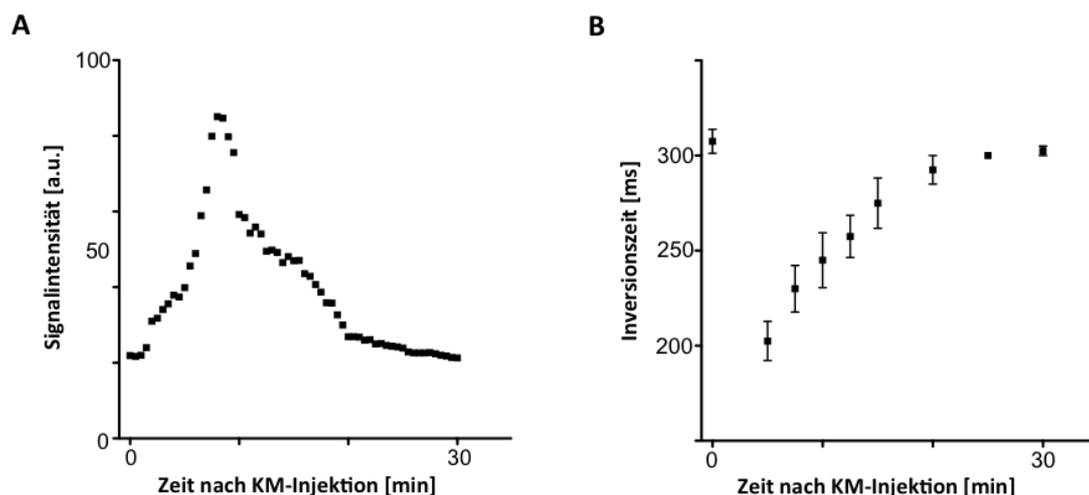


Abb. 15: Zeitliche Auflösung der PSIR-Sequenz und Inversionszeit bei IR-Sequenz. Links (A) wird in einer Beispielmessung anhand der einzelnen Messungen der Signalintensität die hohe zeitliche Auflösung der PSIR-Sequenz deutlich (60 Messungen in 30 min). Nach Injektion des Kontrastmittels kommt es im Verlauf der Messung zu einem Anstieg der Inversionszeit (B). Wiederholte Messungen der Inversionszeit mittels Look-Locker-Sequenz sind für die IR-Bildgebung notwendig und führen insgesamt zu einer niedrigeren zeitlichen Auflösung des Verfahrens.

Das CNR zwischen gesundem und infarziertem Myokard wurde über 30 min zu verschiedenen Messzeiten am 7. Tag nach Infarktinduktion für die IR-Sequenz und die PSIR-Sequenz berechnet. Das maximale Enhancement ließ sich bei beiden Untersuchungstechniken 7.5 min nach Kontrastmittelgabe beobachten (CNR[IR]= 5.8 ± 3.02 ; CNR[PSIR]= 7.09 ± 3.12). Jeweils nach 30 min war Gd-DTPA fast komplett ausgewaschen und das CNR näherte sich wieder dem Ausgangswert vor Kontrastmittelgabe an. Insgesamt zeigten beide Sequenztechniken vergleichbare CNR Werte (s. Abb. 16). Es

konnte kein signifikanter Unterschied im dynamischen Verlauf des CNRs über die Zeit zwischen IR- und PSIR-Sequenz nach Kontrastmittelinjektion festgestellt werden ($p > 0.05$) (s. Abb. 16).

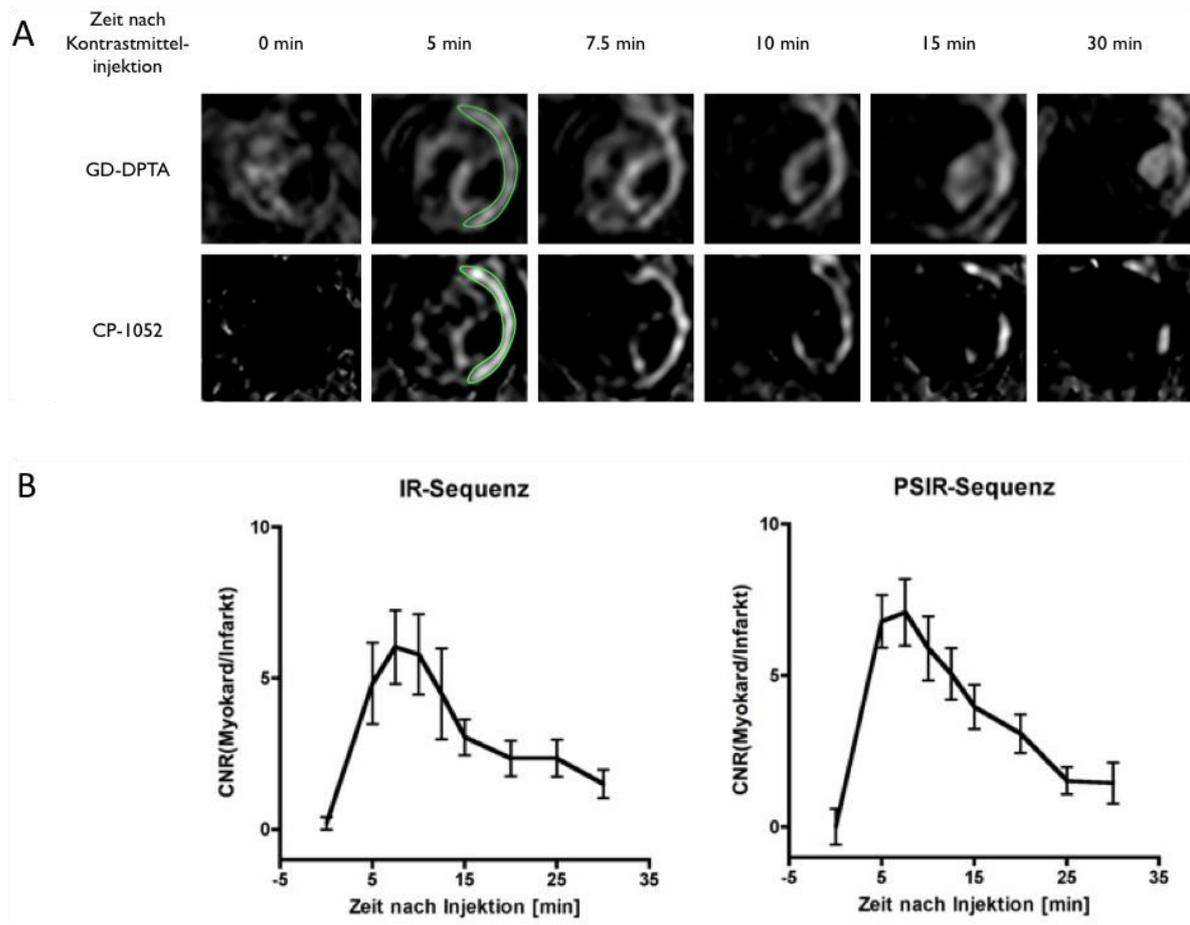


Abb. 16: Kontrastmittelkinetik. Beispielbilder (A) eines Versuchstieres für IR- und PSIR-LGE an Tag 7 nach Infarktinduktion. Der Bereich der Kontrastanreicherung, bzw. des Infarktes wurde zum Zeitpunkt 5 min farblich hervorgehoben. Das CNR (B) in IR- und PSIR-Sequenz ($n=8$) folgt einem ähnlichen dynamischen Verlauf über die Messzeit von 30 min.

Die Genauigkeit mit der die Infarktgröße bestimmt werden kann wurde 7.5 min nach Kontrastmittelinjektion auf mittlerer ventrikulärer Ebene, jeweils in parallelen Kurzschnitten, bestimmt und miteinander verglichen. Die mittlere Infarktgröße betrug $5.09 \pm 1.9 \text{ mm}^2$ mit der IR- und $5.36 \pm 2.7 \text{ mm}^2$ mit der PSIR-Sequenztechnik. Es zeigte sich eine hohe Korrelation ($r=0.92$, $p=0.0013$) sowie eine sehr geringe Differenz von nur 0.3% in der Bland-Altman-Analyse zwischen beiden Untersuchungsmethoden (s. Abb. 17). Die Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls lagen zwischen -2.52 (-2SD) und 2.16 ($+2\text{SD}$).

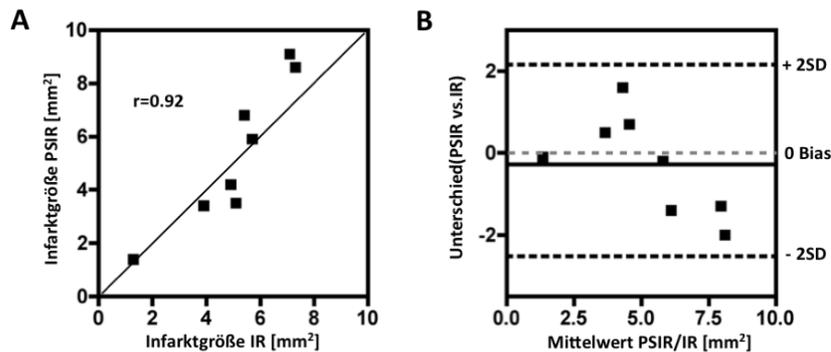


Abb. 17: Infarktgröße. In der statistischen Analyse ergab sich eine enge Korrelation (A) der gemessenen Infarktgrößen ($n=8$) zwischen IR- und PSIR-Aufnahmen. Eine Bland-Altman-Analyse (B) ergab eine geringe Abweichung der Ergebnisse vom Mittelwert.

Insgesamt bildete die PSIR-Sequenz den Bereich myokardialer Infarzierung zuverlässig und realitätsgetreu ab. Der wesentliche Vorteil der PSIR-Sequenz, im Hinblick auf den Wegfall aufwendiger Inversionszeitmessungen, spiegelte sich in einer hohen zeitlichen Auflösung wieder. Vor dem Hintergrund der durchgeführten Experimente wurde die PSIR-Sequenz als schnelles, robustes und Benutzer freundliches Verfahren zur folgenden Untersuchung myokardialer Schädigung mit einem molekularen Kontrastmittel eingesetzt. Die hohe zeitliche Auflösung der Sequenztechnik wurde genutzt um infarzierte Bereiche über den gesamten Ventrikel abzubilden.

5.2 Evaluation von Gd-ESMA in der Infarkt Diagnostik

In den folgenden Experimenten sollte das Elastin-bindende molekulare Kontrastmittel Gd-ESMA in der MRT-Diagnostik von myokardialer Infarzierung und ventrikulärem Remodeling etabliert werden.

5.2.1 Late Enhancement

Bei allen untersuchten Mäusen ($n=16$) kam es bei der Verwendung von Gd-ESMA nach Infarktinduktion zu einer Anreicherung des Kontrastmittels im Bereich des infarzierten Myokards, im Sinne eines Late enhancement (s. Abb. 18).

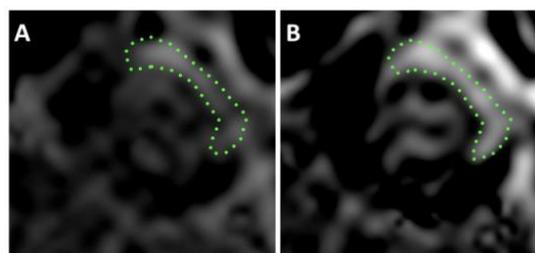


Abb. 18: Beispielbilder Late Enhancement. Kurzachsenansichten des Late Enhancement nach Injektion von Gd-DTPA (A) und korrespondierender Schicht in derselben Maus nach Injektion von Gd-ESMA (B) 7.5 min nach Kontrastmittelinjektion. Areale mit Kontrastmittelanreicherung sind mittels grüner Linie markiert.

Anhand des 17-Segment-Modells wurde zunächst überprüft, ob Gd-ESMA Ort und Ausdehnung des Myokardinfarktes ähnlich wiedergibt wie Gd-DTPA. Die Auswertung ergab für beide Kontrastmittel eine ähnliche Verteilung und Lokalisation der infarzierten Bereiche. Anreicherungen wurden wie erwartet im Versorgungsbereich der linken Koronararterie (LAD, LCX) lokalisiert. Am häufigsten waren Segmente auf mittlerer Ebene des Ventrikels im antero- und inferoseptalen Bereich (AHA Segmente 7, 11 und 12), sowie am apikalen Ende des Ventrikels im anterioren und lateralen Bereich (AHA Segmente 13 und 16) betroffen. Der Apex (AHA Segment 17) war bei allen Mauserzen infarziert. Die Verteilungsmuster des Late Enhancement nach Gd-DTPA- und Gd-ESMA-Injektion zeigen nur diskrete Variationen (s. Abb. 19).

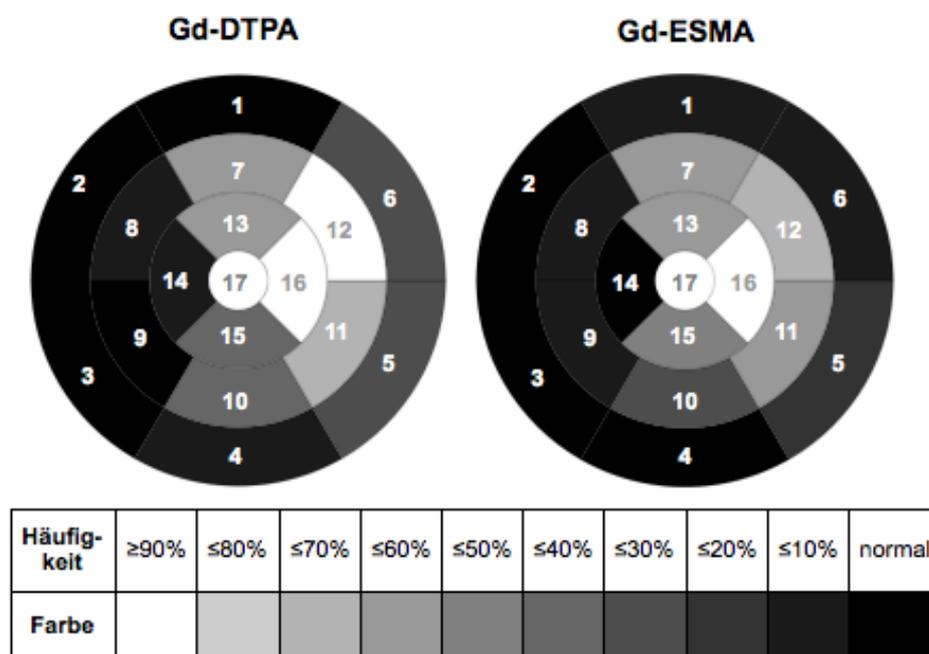


Abb. 19: Verteilung und Lokalisation des Infarktes an Tag 7 post OP (Gd-DTPA/Gd-ESMA).

Eine ähnliche Verteilung des Late Enhancement im Bereich der LAD und LCX zwischen Gd-DTPA (linker Bull's Eye Plot) und Gd-ESMA (rechter Bull's Eye Plot) ist am 7. Tag (n=16) nach Infarkt-induktion zu beobachten. Die Farbskala kodiert die Häufigkeit mit der ein AHA-Segment durch vermehrte Kontrastmittelanreicherung infarziert dargestellt wurde.

5.2.2 Kontrastmittelkinetik

Um die Anreicherungskinetik von Gd-ESMA im infarzierten Gewebe näher zu charakterisieren, wurden SNR- und CNR-Messungen über den dynamischen Verlauf von 90 min durchgeführt. Die Ergebnisse wurden mit dem Anreicherungsverhalten von Gd-DTPA verglichen. Die Dynamik der Kontrastmittelanreicherung im Infarkt wurde am 7. post-operativen Tag untersucht (n=16).

Im Gegensatz zu den mit Gd-DTPA erzielten Aufnahmen, konnte nach der Injektion von Gd-ESMA im gleichen Versuchstier jeweils eine länger anhaltende Kontrastmittelanreicherung im Bereich des Myokardinfarktes beobachtet werden (s. Abb. 20).

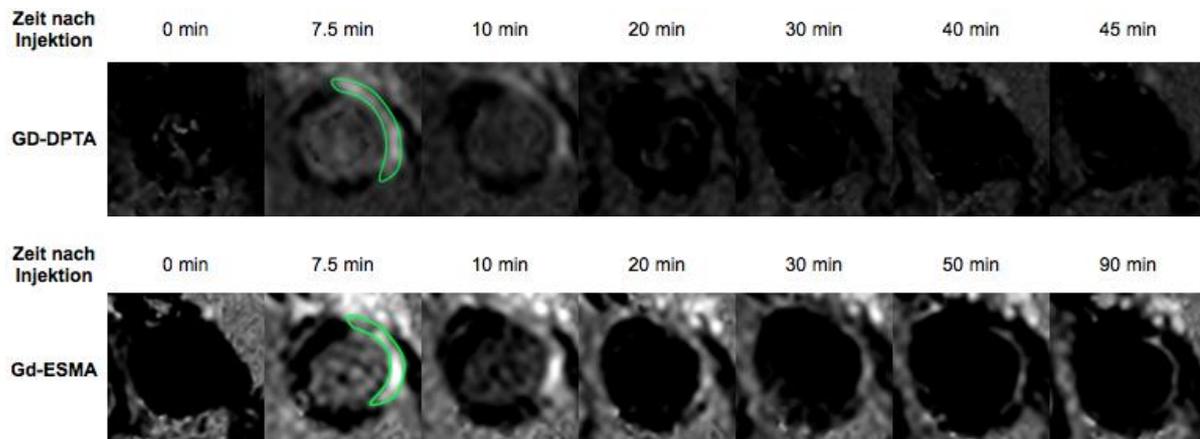


Abb. 20: Beispielaufnahmen Kontrastmittelkinetik Gd-DTPA versus Gd-ESMA. Im Gegensatz zu Aufnahmen mit Gd-DTPA lässt sich in Aufnahmen mit Gd-ESMA an Tag 7 nach Infarktinduktion ein wesentlich länger anhaltendes Late Enhancement beobachten. Der Bereich der Kontrastmittelanreicherung 7.5 min nach Kontrastmittelinjektion ist farblich markiert.

Im Folgenden wurde das SNR für Narbengewebe, Blut-Pool und gesundes Myokard jeweils für Gd-DTPA und Gd-ESMA über einen Messzeitraum von 45 bzw. 90 min berechnet. Der dynamische Verlauf gibt Aufschluss über die Kontrastmittelkinetik.

Im Infarktbereich konnte 5 min nach Injektion von Gd-DTPA eine maximale Anreicherung mit einem SNR von 2.2 ± 3.96 beobachtet werden. Danach wurde das Kontrastmittel in einem Zeitraum von 45 min mit einem entsprechenden Absinken der Signalintensität aus dem Bereich der Infarktnarbe ausgewaschen (s. Abb.22). Zum Zeitpunkt 5 min nach Kontrastmittelgabe konnte im Blut-Pool ebenfalls eine Anreicherung von Gd-DTPA ($\text{SNR}=1.2 \pm 4.16$) beobachtet werden. Im gesunden Myokard betrug der Anstieg des SNR im Vergleich zum infarzierten Bereich 5 min nach Kontrastmittelinjektion nur etwa die Hälfte ($\text{SNR}=-3.74 \pm 2.61$). Parallel zum Signal im Infarkt, kam es im weiteren Verlauf der Messung zu einem Abfall des MR-Signals in Blut-Pool und gesundem Myokard (s. Abb. 21). Auch bei Gabe von Gd-ESMA kam es nach Kontrastmittelinjektion zu einem maximalen Enhancement nach 5 min ($\text{SNR}=4.45 \pm 5.35$). Verglichen mit dem MR-Signal nach Gabe von Gd-DTPA nahm die Signalintensität im Bereich der Infarktnarbe im weiteren Verlauf jedoch deutlich langsamer ab. Ab 60 min nach Injektion von Gd-ESMA bis zum Ende der Messzeit verblieb das SNR auf dem gleichen Niveau (s. Abb. 21). Im Myokard ($\text{SNR}=-3.65 \pm 3.82$) sowie im Blut-Pool ($\text{SNR}=4.37 \pm 6.23$) konnten 5 min nach Injektion ebenfalls eine Anreicherung von Gd-ESMA beobachtet werden. Im Gegensatz zur Infarktnarbe sanken die SNR-Werte dort jedoch innerhalb von etwa 20-30 min auf das Ausgangsniveau vor Kontrastmittelgabe ab (s. Abb. 21).

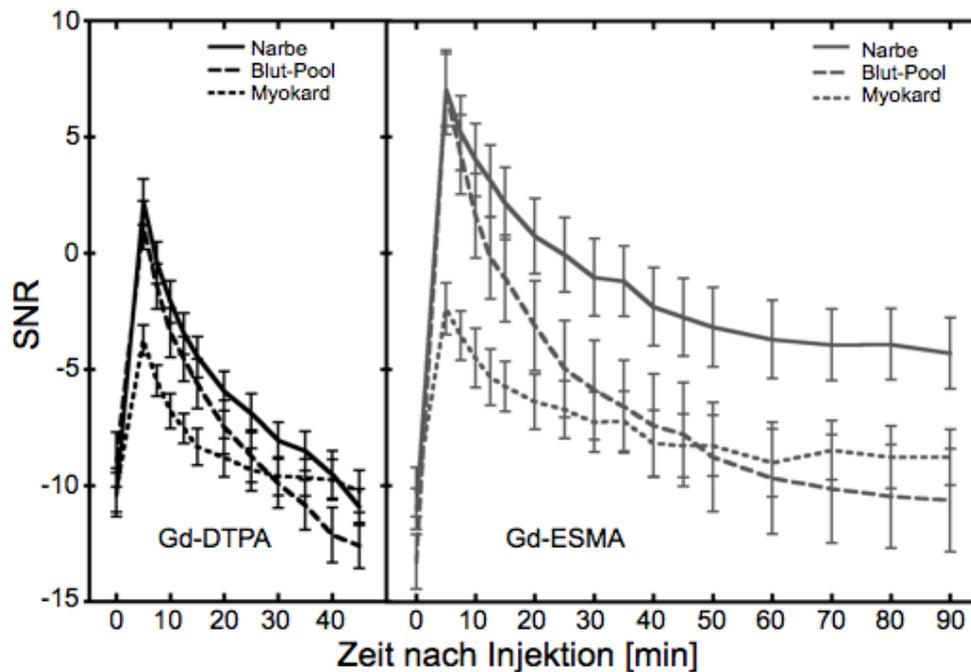


Abb. 21: Signal-zu-Rausch-Verhältnis Tag 7 nach Infarkt. Gd-DTPA und Gd-ESMA unterscheiden sich wesentlich im dynamischen Verlauf des SNR im infarzierten Myokard. Im vitalen Herzgewebe sowie im Blutpool verhalten sich die Kontrastmittel ähnlich (n=16).

Die statistische Analyse der SNR-Werte ergab folgende Ergebnisse. Ab 7.5 min nach Kontrastmittelinjektion wurden im Infarkt mit Gd-ESMA signifikant höhere Signalintensitäten gemessen als mit Gd-DTPA ($\text{SNR}[\text{Gd-ESMA}] = 2.85 \pm 5.52$; $\text{SNR}[\text{Gd-DTPA}] = -0.42 \pm 3.61$; $p = 0.0332$). Ebenfalls unterscheidet sich der dynamische Verlauf der SNR-Werte signifikant zwischen Gd-DTPA und Gd-ESMA ($p < 0.0001$). So sanken bei Verwendung von Gd-ESMA die SNR-Werte im Infarkt ab dem Zeitpunkt des maximalen Enhancements 5 min nach Kontrastmittelinjektion über die 45 min Messzeit wesentlich langsamer ab als bei Gd-DTPA. Dagegen zeigte eine Anova-Analyse des dynamischen Verlaufs der SNR-Werte im Myokard und Blut-Pool keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kontrastmitteln.

Danach wurde das CNR für Infarkt/Myokard und Infarkt/Blut-Pool jeweils an Tag 7 nach Infarktinduktion über die Messzeit für beide Kontrastmittel bestimmt und verglichen.

Der maximale Kontrast zwischen Infarkt und gesundem Myokard ließ sich bei beiden Kontrastmitteln nach 5 min beobachten ($\text{CNR} [\text{Gd-DTPA}] = 5.95 \pm 2.99$; $\text{CNR} [\text{Gd-ESMA}] = 8.37 \pm 2.84$), wobei das mit Gd-ESMA erzielte CNR signifikant höher war als mit Gd-DTPA ($p = 0.0017$). Danach kam es jeweils zu einem Abfall des Kontrastes. Die statistische Analyse ergab, dass sich der dynamische Verlauf der CNR-Werte ab 5 min nach Kontrastmittelinjektion signifikant voneinander unterschied ($p < 0.0179$). So war der Abfall des Kontrastes zwischen Infarktnarbe und Myokard nach Injektion von Gd-ESMA signifikant niedriger und langsamer als nach Injektion von Gd-DTPA (s. Abb. 22).

Ab 5 min nach Gabe des Kontrastmittels konnte mit beiden Kontrastmitteln ein stetiger Anstieg des Kontrastes zwischen Infarkt und Blut-Pool beobachtet werden. Der statistische Vergleich des dynamischen Verlaufs der CNR-Werte ergab, dass es nach der Gabe von Gd-ESMA über die Messzeit zu einem stärkeren Anstieg des Kontrastes zwischen Infarktzone und Blut-Pool kam als nach der Gabe von Gd-DTPA ($p < 0.0001$) (s. Abb. 22).

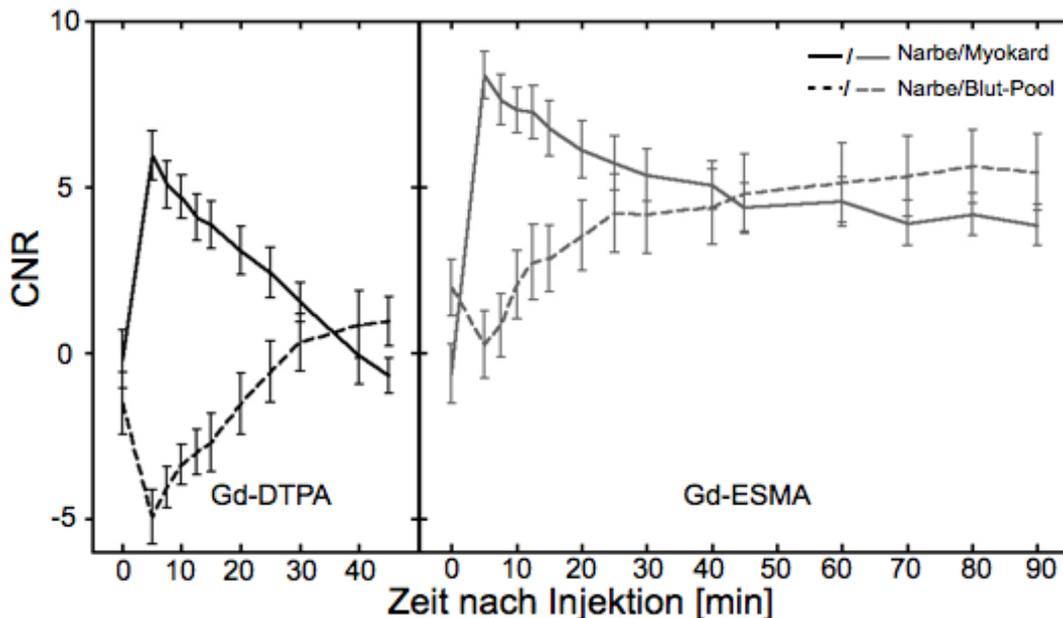


Abb. 22: $CNR_{\text{Infarkt/Myokard}}$ sowie $CNR_{\text{Infarkt/Blut-Pool}}$ am Tag 7 nach Infarktinduktion. Abgebildet ist der dynamische Verlauf des CNR von Narbengewebe und Myokard, sowie von Narbengewebe und Blut-Pool nach Injektion von Gd-DTPA (links) bzw. Gd-ESMA (rechts) ($n=16$).

5.2.3 Konkurrenzexperimente

Zur Überprüfung der in vivo Spezifität von Gd-ESMA wurde zusätzlich, angelehnt an die Experimente von Makowski *et al.* [Makowski *et al.* (2011)], ein Konkurrenzexperiment mit nicht-paramagnetischem lanthanumhaltigen La-ESMA durchgeführt ($n=7$). Zu diesem Zweck wurde 60 min vor Gabe von Gd-ESMA nicht-paramagnetisches La-ESMA injiziert. Wie anhand der Beispielbilder zu sehen ist (s. Abb. 23) kam es zu einer sehr viel niedrigeren Anreicherung von Elastin-bindendem Gd-ESMA im Narbengewebe nach vorheriger Gabe von La-ESMA. Die geringe Anreicherung von Gd-ESMA im Infarktbereich nach vorheriger Gabe von La-ESMA spiegelt sich in signifikant niedrigeren CNR-Werten über den gesamten Verlauf der Messung wieder ($p=0.0001$) (s. Abb. 23).

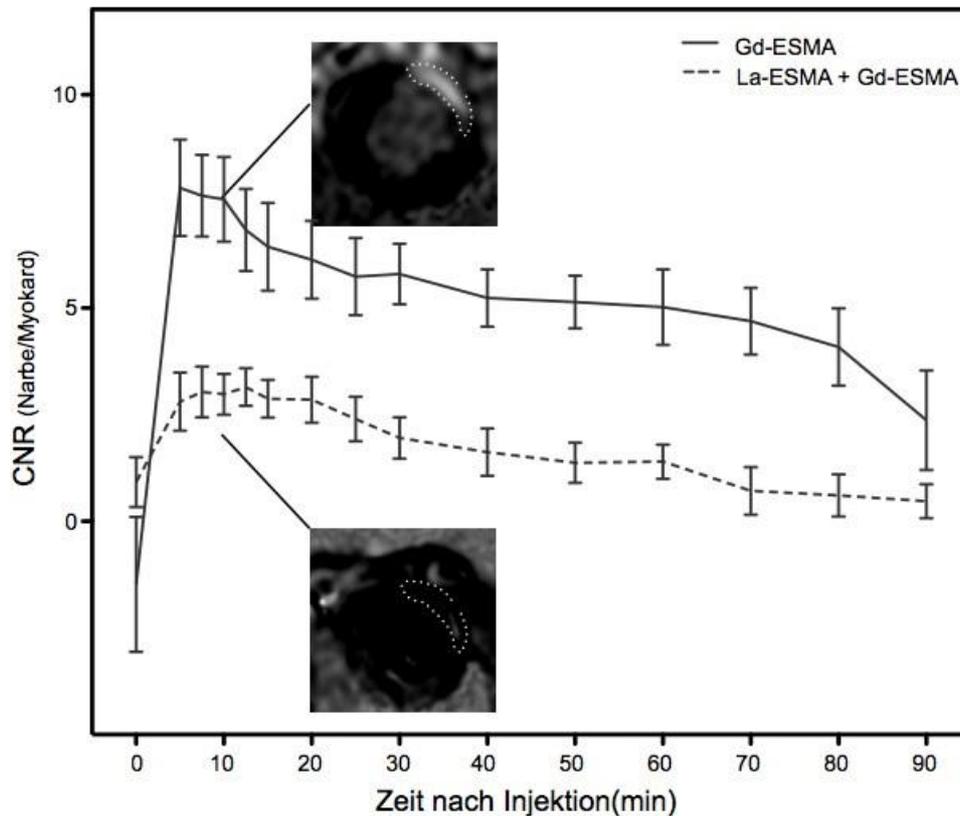


Abb. 23: Konkurrenzexperiment. Wie Beispielbilder einer Maus in korrespondierenden Schichten 10 min nach Kontrastmittelinjektion zeigen, wird bei der Injektion von La-ESMA vor Gd-ESMA in der folgenden bildgebenden Untersuchung, im Gegensatz zur Untersuchung mit Gd-ESMA allein, ein nur sehr geringes Late Enhancement beobachtet. Dies spiegelt sich in signifikant niedrigeren CNR-Werten zwischen Narbe und Myokard wieder (n=7).

5.2.4 Konsekutive Messungen an Tag 7 und 21 post Infarkt

Nachdem gezeigt wurde, dass sich Gd-ESMA prinzipiell für die Darstellung eines Myokardinfarkts im Mausmodell mittels PSIR-Sequenz an einem 1.5 T MRT-Scanner eignet, wurden konsekutive Messungen zur Infarktdarstellung an Tag 7 und 21 nach Infarktinduktion durchgeführt. Neben der MRT-Bildgebung wurden zusätzlich nach Komplettierung der Bildgebung anhand von H.E.- und Elastica-van-Gieson-Färbungen histologische und anhand von TTC-Färbungen morphometrische Untersuchungen an den infarzierten Herzen durchgeführt. Des Weiteren wurden Western-Blot-Analysen zur Bestimmung des Tropoelastin-Gehaltes im Narbengewebe durchgeführt. Anschließend wurden die in vivo Daten der MR-Bildgebung mit den Ergebnisse der ex-vivo Validierungen verglichen.

Mit beiden Kontrastmitteln konnte bei allen Versuchstieren an Tag 7 als auch an Tag 21 nach Infarktinduktion ein eindeutiges Late Enhancement im Infarktareal nachgewiesen werden (n=6). Der Vergleich zwischen TTC- und MRT-Ergebnissen an Tag 21 nach Infarktinduktion ergab, dass die in gleichen Schichtebenen gemessene Infarktgröße für beide Kontrastmittel gut mit den TTC-Färbungen übereinstimmte (s. Abb. 24). Die mittlere

Infarktgröße betrug $3.3 \pm 1.4 \text{ mm}^2$ für Gd-DTPA, $3.5 \pm 1.1 \text{ mm}^2$ für Gd-ESMA und $3.6 \pm 1.7 \text{ mm}^2$ für die TTC-Färbung.

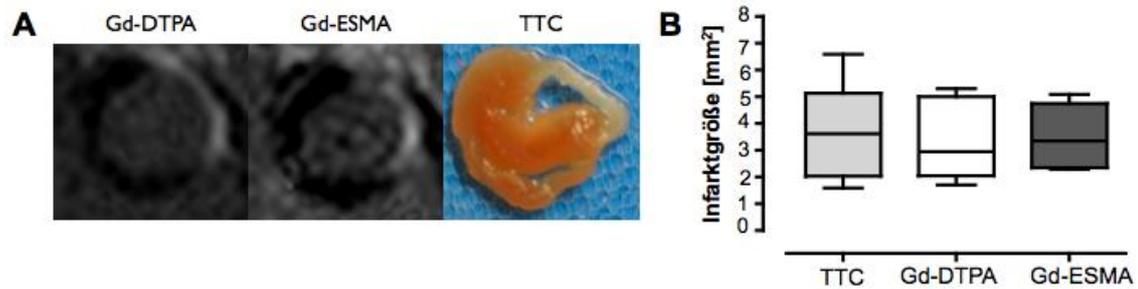


Abb. 24: Infarktgröße Tag 21 nach Infarktinduktion. Der Bereich der Kontrastmittelanreicherung stimmte für beide Kontrastmittel gut mit dem blassen Bereich in der TTC-Färbung überein (A). Auch die Darstellung der Ergebnisse in Boxplot-Diagrammen (B) zeigt eine gute Übereinstimmung von MRT- und TTC-Ergebnissen (n=6).

In der statistischen Analyse zeigte sich eine sehr gute Korrelation zwischen der mittels Gd-DTPA und Gd-ESMA ermittelten Infarktgröße ($r=0.92$, $p=0.0094$) (s. Abb. 25A). Die Bland-Altman-Analyse ergab eine durchschnittliche Differenz von nur 0.2% zwischen beiden Untersuchungsmethoden (s. Abb. 25B). Die Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls lagen zwischen -1.30 (-2SD) und 1.00 (+2SD).

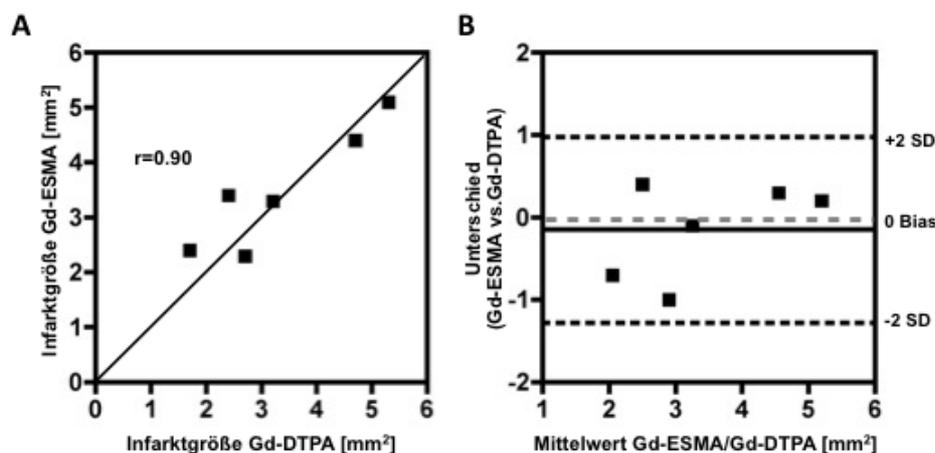


Abb. 25: Korrelation der Infarktgröße zwischen Gd-DTPA und Gd-ESMA. Die Korrelationsanalyse (A) der mit Gd-ESMA und Gd-DTPA gemessenen Infarktgrößen (n=6) ergab eine enge Übereinstimmung der Messergebnisse miteinander. Die Bland-Altman-Analyse (B) zeigte außerdem eine geringe Abweichung der Werte vom Mittelwert.

Neben der Infarktgröße wurde auch das Infarktvolumen anhand von LGE-Aufnahmen und TTC-Färbungen bestimmt (s. Abb. 26). Um die Ergebnisse zwischen den MRT-Aufnahmen und TTC-Färbungen besser vergleichen zu können, wurde das Infarktvolumen in dieser Arbeit jeweils im Verhältnis zum gesamten linksventrikulären Volumen in Prozent wiedergegeben. Das Ventrikelvolumen wurde hierfür jeweils für eine Maus anhand von Cine-Aufnahmen in vivo sowie mittels morphometrischer Messungen anhand von TTC-Bildern nach Opfung des Versuchstieres bestimmt (s. Abb. 26).

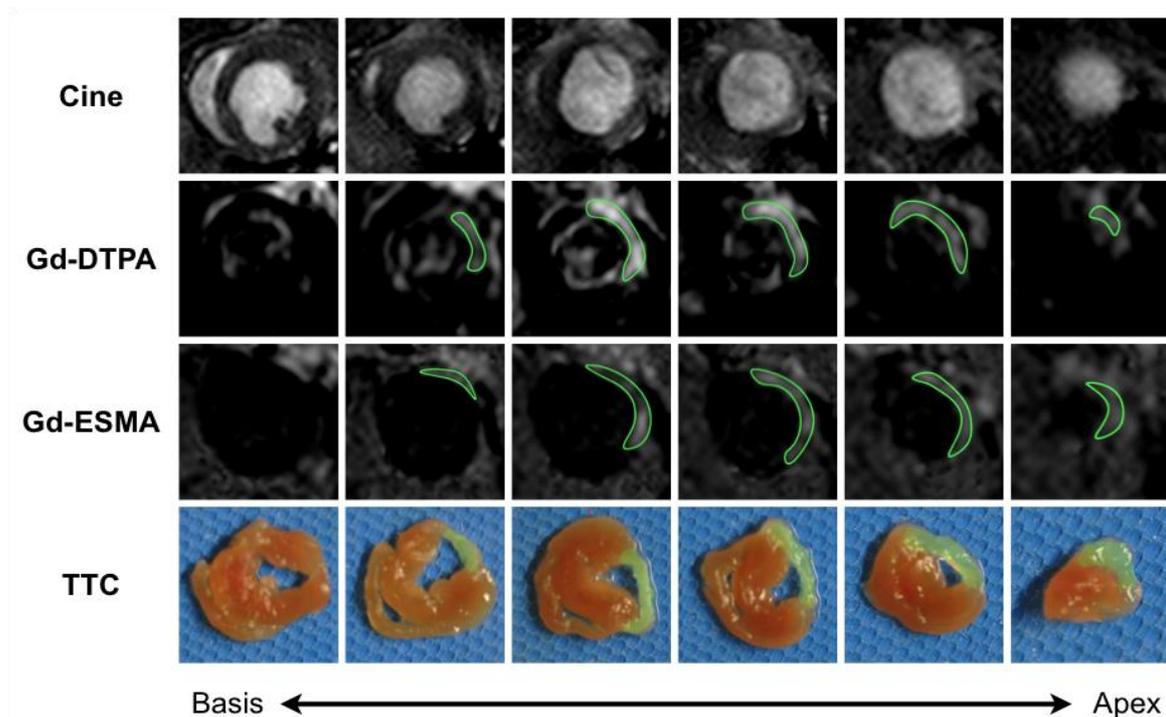


Abb. 26: Bestimmung des Infarkt volumens. Repräsentative Bilder eines Versuchstieres anhand derer das Infarkt volumen als % des linksventrikulären Volumens (%LVV) bestimmt wurde. Von oben nach unten werden Cine-Bilder, Gd-DTPA- und Gd-ESMA-Aufnahmen sowie TTC-Färbungen des gleichen Herzens gezeigt. Die Schichtdicke betrug jeweils 1 mm.

Das Infarkt volumen wurde mittels Late Enhancement mit Gd-ESMA und Gd-DTPA an Tag 7 (n=4) und 21 (n=5) zu verschiedenen Zeiten nach Kontrastmittelinjektion (7.5, 10, 15, ggf. 30 und 45 min) gemessen. Das mittels TTC bestimmte Infarkt volumen diente als Referenzwert.

Der Vergleich von in vivo und ex vivo Ergebnissen der Infarkt volumina zeigte, dass der optimale Messzeitpunkt nach Kontrastmittelgabe für Gd-DTPA 10 min betrug (s. Abb. 27). Zu diesem Zeitpunkt stimmten die Ergebnisse am engsten mit den durch TTC-Färbung ermittelten Infarkt volumina überein. Dagegen ergab sich bei Gd-ESMA die beste Übereinstimmung von in vivo und ex vivo Ergebnissen 15 min nach Injektion des Kontrastmittels (s. Abb. 27). Die Ergebnisse von Gd-DTPA und Gd-ESMA 7.5 min nach Kontrastmittelgabe korrelierten gut miteinander (Tag 7 nach Infarktinduktion: $r=0.99$; $p=0.0141$, Tag 21 nach Infarktinduktion: $r=0.97$; $p=0.0064$) (s. Abb. 27). Zwischen Tag 7 und Tag 21 konnten weder mit Gd-DTPA, noch mit Gd-ESMA signifikante Veränderungen des Infarkt volumens festgestellt werden (s. Abb. 27).

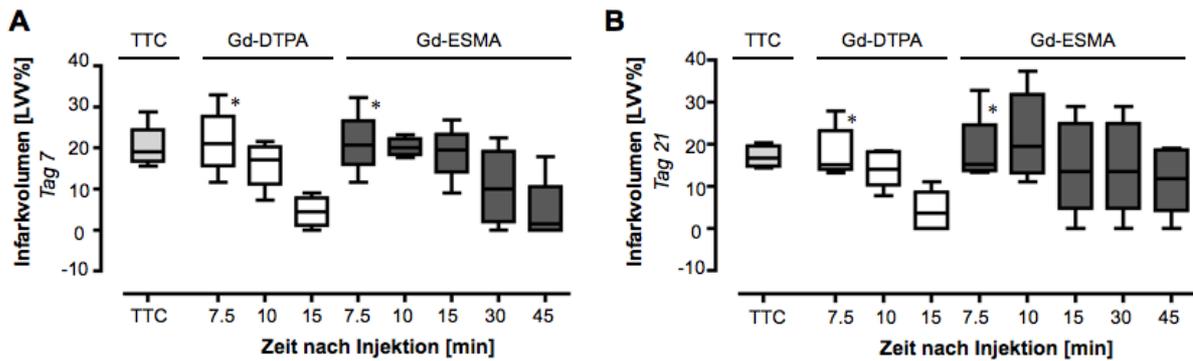


Abb. 27: Infarktvolume. Das mittels Late Enhancement an Tag 7 (n=4) (A) und 21 (n=5) (B) nach Infarktinduktion gemessene Infarktvolume stimmte gut mit dem durch TTC-Färbung ermittelten Infarktvolume überein. 7.5 min nach Kontrastmittelinjektion korrelierten die Ergebnisse von Gd-DTPA und Gd-ESMA jeweils signifikant miteinander.

Da das Anreicherungsverhalten von Gd-ESMA im Infarkt in Verbindung mit den Ergebnissen des Konkurrenzexperimentes für eine spezifische Bindung des Kontrastmittels an elastische Fasern spricht, wurde in einer weiteren Reihe von Experimenten der Einsatz von Gd-ESMA für die Untersuchung des ventrikulären Remodelings evaluiert.

Zu diesem Zweck wurde das Kontrastverhalten im Infarkt in einer Gruppe von 6 Tieren zwischen Tag 7 und 21 nach Infarktinduktion verglichen. Während bei Gd-DTPA keine signifikanten Unterschiede zwischen Tag 7 und 21 festgestellt werden konnten, ergaben sich mit Gd-ESMA an Tag 21 über die gesamte Messzeit hinweg signifikant erhöhte CNR-Werte zwischen Infarktnarbe und Myokard ($p=0.0001$) (s. Abb. 28).

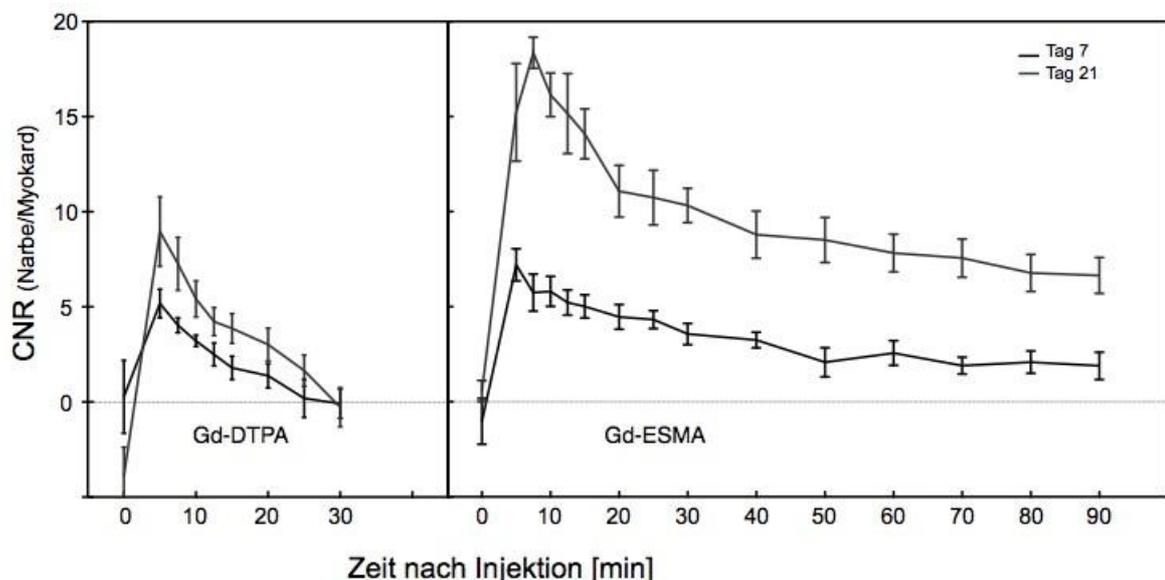


Abb. 28: Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis an Tag 7 und Tag 21 nach Infarkt. Bei der Verwendung von Gd-ESMA konnte an Tag 21 nach Infarktinduktion (n=6) im Gegensatz zu Gd-DTPA ein signifikant höheres CNR beobachtet werden als an Tag 7.

Die mit Gd-ESMA gemessenen höheren CNR-Werte zwischen Infarkt und Myokard an Tag 21 nach Infarktinduktion weisen, aufgrund der spezifischen Bindung des molekularen

Kontrastmittels, auf eine vermehrte Elastineinlagerung im infarzierten Myokard hin. Zur Verifizierung dieser Beobachtung wurden Western-Blot-Analysen vor sowie an Tag 7 und 21 nach Infarktinduktion durchgeführt. Diese bestätigten die Ergebnisse aus der MRT-Bildgebung und zeigten im Vergleich zur Ladekontrolle mit Anti-GAPDH-Antikörper an Tag 7 eine vermehrte Tropoelastin-Synthese im Infarktbereich an Tag 21 (s. Abb. 29).

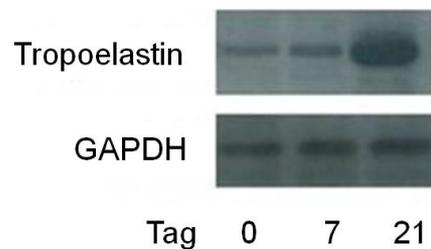


Abb. 29: Western-Blot-Analyse. An Tag 21 konnte in der Western-Blot-Analyse im Vergleich zum Tropoelastin-Gehalt vor Infarktinduktion und an Tag 7 nach Infarkt eine vermehrte Synthese von Tropoelastin festgestellt werden.

Neben den Western-Blot-Analysen wurden histologische Anfärbungen angefertigt um dynamische Veränderungen im Elastingehalt des Narbengewebes sichtbar zu machen. So konnte in der histologischen Aufarbeitung der Herzen an Tag 21 nach Infarktinduktion in der Elastica-van-Gieson-Färbung (EvG) eine Zunahme elastischer Fasern im infarzierten Myokard beobachtet werden (s. Abb. 30). Des Weiteren war in der 650x Vergrößerung im Vergleich zu Tag 7 (n=4) an Tag 21 (n=3) eine zunehmende Organisation der elastischen Fasern entlang der Myokardnarbe zu sehen (s. Abb. 30).

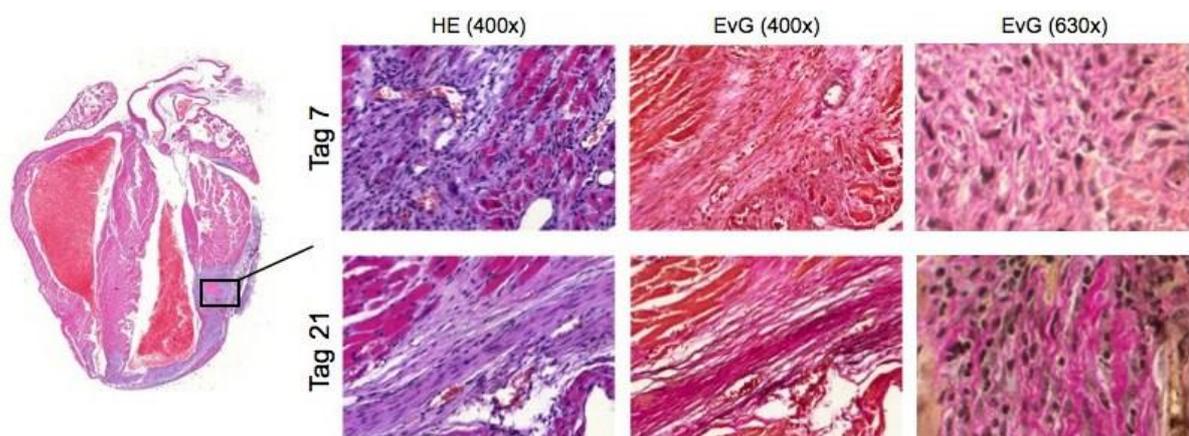


Abb. 30: Histologische Aufarbeitung der Infarktnarbe an Tag 7 und 21 nach Infarkt. Dargestellt sind repräsentative histologische Bilder verschiedener Vergrößerung aus dem Bereich der Infarktnarbe an Tag 7 (n=4) und 21 (n=3) nach Infarktinduktion. In der EvG-Färbung kann im Verlauf eine Zunahme elastischer Fasern, sowie eine zunehmende Organisation der Fasern beobachtet werden.

Zur Quantifizierung der histologischen Beobachtungen wurden anhand der EvG-Färbungen an Tag 7 und 21 nach Infarktinduktion die relative Rot-Intensität, als Ausdruck

des Elastingehalts des Narbengewebes und der prozentuale weiße Flächenanteil, als Ausdruck des Organisationsgrades der elastischen Fasern in der Narbe, berechnet. Die Auswertung der relativen Rot-Intensität ergab im Vergleich zu Tag 7 nach Infarktinduktion signifikant höhere Werte an Tag 21 ($p=0.0498$) (s. Abb. 31 links). Parallel dazu ergab die Quantifizierung der weißen Flächenanteile zwischen den elastischen Fasern in den Präparaten eine signifikante Abnahme zwischen Tag 7 und 21 (s. Abb. 31 rechts). Insgesamt konnte in den ex vivo Untersuchungen zwischen Tag 7 nach Infarkt, an dem die Struktur des Tropoelastins/Elastins noch unstrukturiert erscheint, und Tag 21 eine progressive Organisation der elastischen Fasern, im Sinne einer dynamischen Narbenreifung, beobachtet werden.

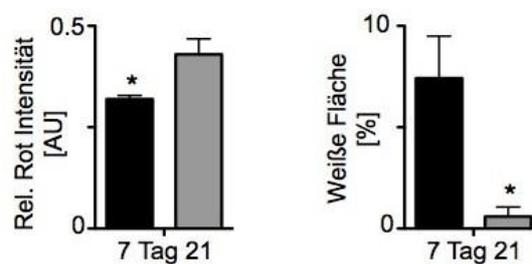


Abb. 31: Quantifizierung und Organisationsgrad elastischer Fasern. An Tag 7 und 21 nach Infarkt konnte in den EvG-Präparaten eine signifikante Zunahme der relativen Rot-Intensität festgestellt werden (links). Außerdem sank der prozentuale weiße Flächenanteil im beobachteten Zeitraum signifikant (rechts).

5.2.5 Herzfunktion

Nachdem es mit Gd-ESMA gelang elastische Fasern im infarzierten Myokard zu quantifizieren, sollte im Folgenden anhand von Korrelationsanalysen überprüft werden, ob ein Zusammenhang zwischen MR-Signal im infarzierten Myokard und allgemeiner Herzfunktion besteht.

Hierfür wurden zunächst anhand der Cine-Aufnahmen wichtige Parameter der linksventrikulären Funktion an Tag 7 und 21 nach Infarktinduktion bestimmt ($n=6$). Während sich das enddiastolische Volumen im beobachteten Zeitraum nicht veränderte (Tag 0: $69.8 \pm 9.7 \mu\text{l}$, Tag 7: $62.9 \pm 6.8 \mu\text{l}$, Tag 21: $64.3 \pm 24.8 \mu\text{l}$), kam es zu einem Anstieg des endsystolischen Volumens (Tag 0: $21.3 \pm 3.2 \mu\text{l}$, Tag 7: $37.7 \pm 11.1 \mu\text{l}$, Tag 21: $40.6 \pm 18.9 \mu\text{l}$). Ein Absinken der Ejektionsfraktion (Tag 0: $69.3 \pm 3.8\%$, Tag 7: $40.8 \pm 12.4\%$, Tag 21: $37.9 \pm 7.8\%$) und des Schlagvolumens (Tag 0: $42.3 \pm 8,1 \mu\text{l}$, Tag 7: $25.3 \pm 6.7 \mu\text{l}$, Tag 21: $20.7 \pm 10.5 \mu\text{l}$) konnte beobachtet werden. Dagegen kam es nur zu einem moderaten Abfall der linksventrikulären Masse (Tag 0: $121.7 \pm 15.7 \text{ mg}$, Tag 7: $109.2 \pm 17.8 \text{ mg}$, Tag 21: $98.5 \pm 15.0 \text{ mg}$). Insgesamt konnte eine zunehmende Einschränkung der linksventrikulären Herzfunktion direkt nach Herzinfarkt und im weiteren Verlauf zwischen Tag 7 und 21 nach Infarktinduktion beobachtet werden (s. Abb. 32).

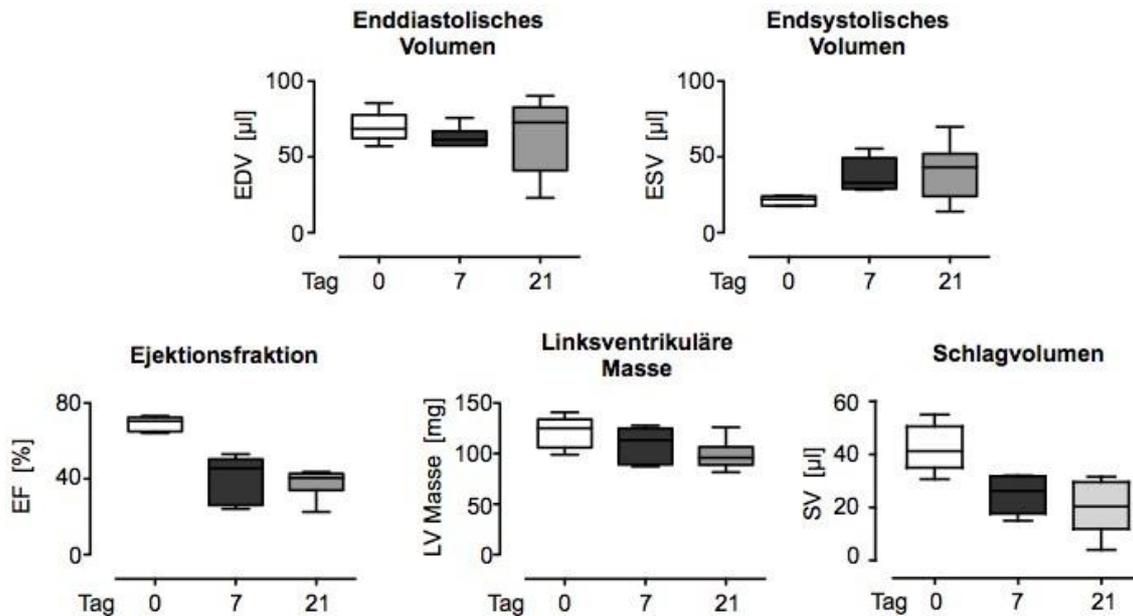


Abb. 32: Boxplot-Diagramme der Herzfunktion vor sowie 7 und 21 Tage nach Infarkt. Eine zunehmende Verschlechterung der linksventrikulären Funktion direkt nach Herzinfarkt und im weiteren Verlauf konnte beobachtet werden (n=6).

In einer Korrelationsanalyse wurde anschließend der Zusammenhang zwischen Infarktverhalten und Schlagvolumen bzw. Ejektionsfraktion 7.5 min nach Injektion von Gd-ESMA an Tag 7 nach Infarktinduktion untersucht. Die Auswertung ergab für das Schlagvolumen ($r=0.60$, $p=0.0223$) sowie für die Ejektionsfraktion ($r=0.58$, $p=0.0309$) einen negativen Zusammenhang mit dem über das Late Enhancement gemessenen Infarktverhalten (s. Abb. 33). Das mittlere Schlagvolumen betrug $24.0 \pm 8.0 \mu\text{l}$. Die mittlere Ejektionsfraktion lag bei $38.0 \pm 16.4\%$ (s. Abb. 33).

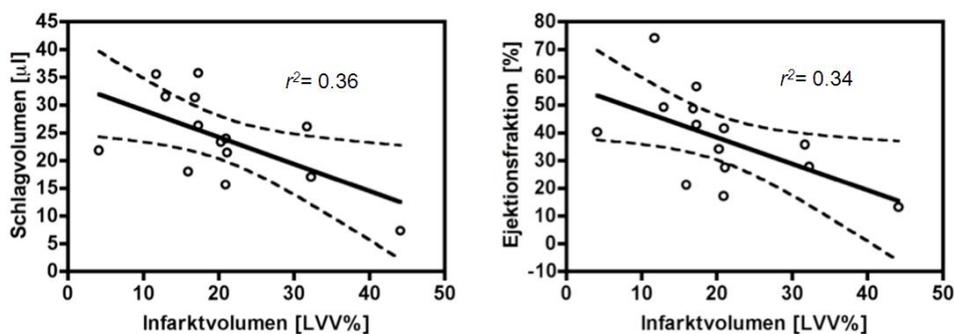


Abb. 33: Korrelation der globalen Herzfunktion mit der Infarktgröße. Die Korrelationsanalyse zeigte eine negative Beziehung zwischen Schlagvolumen (Steigung= -0.49 ± 0.19) bzw. Ejektionsfraktion (Steigung= -0.95 ± 0.39) und Infarktverhalten (n=14). Lineare Regression (schwarze Linie), sowie 95% Konfidenzintervall (gestrichelte Linie) sind eingezeichnet.

Zuletzt wurde überprüft, ob ein Zusammenhang zwischen dem mit Gd-ESMA bzw. Gd-DTPA gemessenen CNR zwischen Infarkt und Myokard und allgemeiner Herzfunktion im zeitlichen Verlauf, als Hinweis für abgeschwächtes ventrikuläres Remodeling bei vermehrter Elastinsynthese, besteht. Hierfür wurde für Gd-DTPA und Gd-ESMA jeweils

an Tag 7 und 21 nach Infarktinduktion die Ejektionsfraktion mit den 15 min nach Kontrastmittelinjektion gemessenen CNR-Werten Narbe/Myokard korreliert (n=6). Wie zu erwarten ergab sich mit Gd-DTPA weder an Tag 7 ($r^2 = 0.38$, $p=0.186$) noch an Tag 21 ($r^2 = 0.07$, $p=0.602$) ein Zusammenhang zwischen CNR und Ejektionsfraktion (s. Abb. 34). Bei der Verwendung von Gd-ESMA konnte dagegen an Tag 7 eine schwache ($r^2 = 0.33$, $p=0.229$) und an Tag 21 nach Myokardinfarkt eine signifikante Korrelation beobachtet werden ($r^2 = 0.70$, $p=0.037$) (s. Abb. 35).

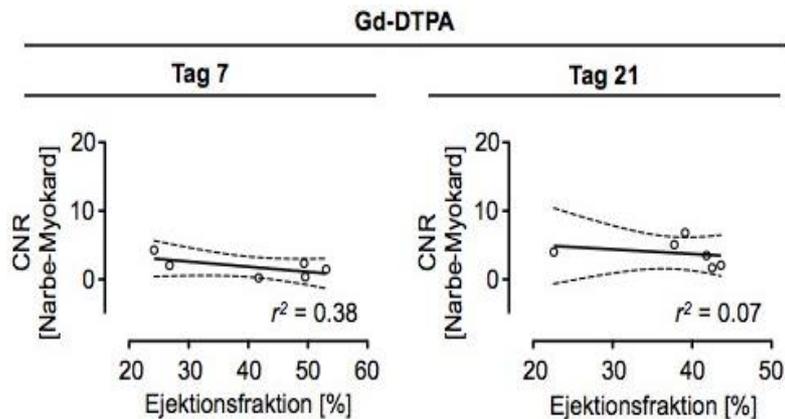


Abb. 34: Korrelation des CNR mit der globalen Herzfunktion nach Injektion von Gd-DTPA. Wurde Gd-DTPA eingesetzt, konnte weder an Tag 7 noch an Tag 21 nach Infarktinduktion ein Zusammenhang zwischen CNR und EF beobachtet werden. Lineare Regression (schwarze Linie), sowie 95% Konfidenzintervall (gestrichelte Linie) sind eingezeichnet.

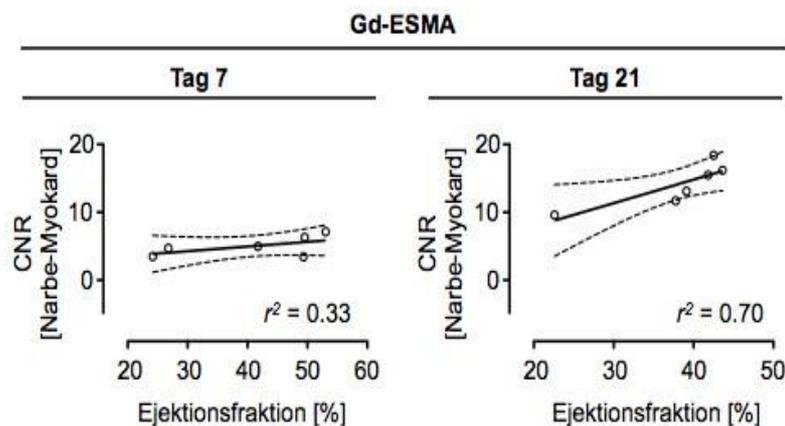


Abb. 35: Korrelation des CNR mit der globalen Herzfunktion nach Injektion von Gd-ESMA. Beim Einsatz von Gd-ESMA konnte an Tag 7 eine schwache, an Tag 21 nach Infarktinduktion eine starke Korrelation zwischen CNR und Herzfunktion beobachtet werden. Lineare Regression (schwarze Linie), sowie 95% Konfidenzintervall (gestrichelte Linie) sind eingezeichnet.

6 Diskussion

Ausgehend von dem Ziel Gd-ESMA in die molekulare Infarkt Diagnostik mittels MRT an einem Mausmodell einzuführen, wurde in dieser Arbeit zunächst die PSIR-Sequenz als ein schnelles und robustes Verfahren zur Untersuchung des Late Enhancement am Mausmodell an einem klinischen 1.5 T MRT-Gerät etabliert. Im nächsten Schritt wurde Gd-ESMA in einer prospektiven Studie als Elastin-spezifisches Kontrastmittel, in seiner Fähigkeit myokardiale Infarzierung und ventrikuläres Remodeling darzustellen, evaluiert. Im Folgenden werden die Methoden und Ergebnisse der Arbeit vor dem Hintergrund aktueller Forschungsergebnisse diskutiert und interpretiert.

6.1 Wahl des Tiermodells

In dieser Arbeit wurden für die Evaluation magnetresonanztomographischer Pulssequenz-techniken und des Elastin-bindenden Kontrastmittels Mäuse des Typs C57BL/6J als Tiermodell gewählt. Es handelt sich hierbei um die am häufigsten in der tierexperimentellen Forschung verwendete Inzuchtlinie [Jackson Laboratory (2012)]. Das Genom dieses Modells ist komplett sequenziert und die Mausrasse bietet einen permissiven genetischen Hintergrund für die Erzeugung von kongenen Tieren mit spontanen und induzierten Mutationen. Die Anfälligkeit dieses Tiermodells für ernährungsbedingte Adipositas, Diabetes Typ 2 und Arteriosklerose ermöglicht darüber hinaus die Induktion und Beobachtung pathophysiologischer Prozesse in der Erforschung kardiovaskulärer Erkrankungen [Jackson Laboratory (2012)]. Vor diesem Hintergrund eignet sich der Maustyp gut als Basismodell für die Einführung neuer Sequenztechniken und Kontrastmittel in die kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie [Linder *et al.* (2004)].

Die Erzeugung eines murinen Herzinfarktmodells erfolgte durch Ligatur der linken absteigenden Koronararterie. Mit dieser Methode können zuverlässig Infarkte im anterioren und linksventrikulären Myokard erzeugt werden [Michael *et al.* (2004)]. Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigten dies. So konnten mit diesem Verfahren bei allen Tieren in Ausdehnung und Größe vergleichbare Infarkte im Versorgungsbereich der linken Koronararterie erzeugt werden. Es wurde bereits gezeigt, dass es bei der verwendeten Methode der Koronararterienligatur in diesem Mausmodell, parallel zu den beim Menschen nach einem Herzinfarkt zu beobachtenden pathophysiologischen Prozessen, ebenfalls zu typischen Abläufen der myokardialen Wundheilung, wie Entzündung, Abbau von Zelldebris, Neoangiogenese und Kollagensynthese kommt [Lygate (2006)]. So wird auch bei der Maus im Rahmen der myokardialen Wundheilung das abgestorbene ischämische Myokard durch eine Narbe aus kollagenen Fasern ersetzt. Im weiteren Verlauf der Erkrankung kommt es ebenfalls zu charakteristischen Veränderungen der

Herzarchitektur im Sinne eines ventrikulären Remodelings [Lygate (2006); Patten *et al.* (1998)]. Vor diesem Hintergrund können die Ergebnisse der Arbeit in Bezug auf Elastinsynthese nach einem Herzinfarkt potentiell auf den Menschen übertragen werden. Hierbei gilt es jedoch zu beachten, dass Unterschiede in der Anatomie der koronaren Herzgefäße der Maus zu einem anderen Verteilungsmuster des infarzierten Myokards führen als beim Menschen [Geelen *et al.* (2012)]. Des Weiteren läuft ventrikuläres Remodeling bei der Maus wesentlich schneller ab als beim Menschen [Geelen *et al.* (2012)].

6.2 Bildgebungsstrategien

Die MRT verbindet eine hohe räumliche und zeitliche Auflösung der funktionellen Untersuchung des Herzens mit einem exzellenten Weichteilkontrast. Zusätzlich zur nativen MRT können (molekulare) Kontrastmittel eingesetzt werden, um spezifische pathophysiologische Prozesse sichtbar zu machen. Aus diesen Gründen etablierte sich die MRT als zuverlässiges und vielseitig einsetzbares bildgebendes Verfahren in der Untersuchung des kardiovaskulären Systems der Maus [Geelen *et al.* (2012)]. Verschiedene Faktoren haben Einfluss auf die Qualität der Untersuchung des Mausherzens mittels MRT. Im Folgenden werden die in dieser Arbeit verwendeten Bildgebungsstrategien im Bereich des MRT-Equipments, der Tierbehandlung, der Triggerung sowie der Sequenztechnik diskutiert.

6.2.1 Wahl der Feldstärke

Die magnetresonanztomographische Untersuchung des Mausherzens ist aufgrund der kleinen Herzgröße und der hohen Herzfrequenz mit Herausforderungen an das MRT-Equipment verbunden. Deshalb werden in der bildgebenden Diagnostik des Mausherzens mittels MRT vor allem Geräte mit Feldstärken ≥ 4.7 T und Hochleistungsgradientensystemen eingesetzt [Hombach *et al.* (2005a)]. Nichtsdestotrotz steigt das Interesse an Kleintierstudien mit klinischen MRT-Geräten (Feldstärke ≤ 3 T).

Ein Problem, das sich bei hohen Feldstärken ergibt, ist die Veränderung der Relaxivität molekularer Kontrastmittel. Die Relaxivität ($R1=1/T1$ oder $R2=1/T2$) ist ein Maß für die Relaxationszeitverkürzung eines Kontrastmittels [Hombach *et al.* (2005b)]. Ein wichtiger Mechanismus für die Verkürzung der T1-Relaxationszeit hängt mit der Rotationszeit der Kontrastmittelmoleküle zusammen [Caravan (2010); Caravan *et al.* (2009)]. Je mehr diese im Bereich der Larmorfrequenz liegt, umso höher ist die Wahrscheinlichkeit der Energieübertragung zwischen dem kontrastgebenden Molekül und umliegenden Protonen und somit deren Relaxation. Kleine Moleküle wie Gd-DTPA haben eine sehr hohe Rotationsfrequenz, die die Larmorfrequenz der Protonen im Bereich der klinisch

verwendeten Feldstärken (≤ 1.5 T) bei weitem übersteigt. Dadurch ist die Relaxation (R1) nicht so effizient, wie sie sein könnte. Man hat sich diesen Effekt bei der Entwicklung neuer molekularer Kontrastmittel zu Nutze gemacht, in dem diese so entworfen wurden, dass ihre Rotationsfrequenz näher an der Larmorfrequenz der Protonen liegt. So kann die Frequenz z.B. durch eine nicht kovalente Bindung an ein Zielprotein oder eine Vergrößerung des Kontrastmittelmoleküls gesenkt werden. Hierdurch ist die R1 molekularer Kontrastmittel im Vergleich zu extrazellulären Kontrastmitteln wie Gd-DTPA deutlich größer [Caravan (2010); Caravan *et al.* (2009)]. Mit steigender Feldstärke geht dieser Effekt jedoch wieder verloren und R1 sinkt bei höheren Feldstärken, wie sie im experimentellen Setting üblich sind [Caravan *et al.* (2009); Rinck *et al.* (1999); Rohrer *et al.* (2005)]. Dies führt zu einer eingeschränkten Übertragbarkeit von Ergebnissen zwischen Geräten unterschiedlicher Feldstärke und somit von Ergebnissen aus tierexperimentellen Studien in den klinischen Alltag [Caravan *et al.* (2009); Protti *et al.* (2010)].

An klinischen MRT-Geräten (Feldstärke ≤ 3 T) wurden neben der Evaluation der kardialen Funktion [Franco *et al.* (1998); Franco *et al.* (1999); Gilson *et al.* (2007); Voelkl *et al.* (2011)] weitere Studien zur First-Pass-Perfusion [Makowski *et al.* (2010)] sowie zum Zelltracking [Arai *et al.* (2006)] bereits erfolgreich durchgeführt. Nur wenige Studien untersuchten jedoch das Late Enhancement in diesem Setting [Gilson *et al.* (2007); Voelkl *et al.* (2011)]. Es wurden zu diesem Zweck bisher nur unspezifische Gd-basierte Kontrastmittel verwendet [Gilson *et al.* (2007); Voelkl *et al.* (2011)].

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine Untersuchung des Late Enhancements mit Gd-DTPA am Mausmodell an einem klinischen MRT-Gerät bei einer Feldstärke von 1.5 T möglich ist. Neben der im experimentellen Setting dieser Arbeit bereits etablierten IR-Sequenz wurde eine weitere Sequenztechnik, die Phase-Sensitive-Inversion-Recovery-Sequenz, als alternatives, effizienteres Verfahren in den tierexperimentellen Bereich eingeführt. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass mithilfe dieser Methode die Evaluation molekularer Kontrastmittel in Bezug auf Anreicherungsverhalten und Infarktdarstellung möglich ist. Entscheidender Vorteil der Verwendung eines klinischen Scanners mit der genannten Feldstärke ist die potenzielle Translation der Ergebnisse in den klinischen Alltag.

6.2.2 Versuchsaufbau

Um qualitativ hochwertige MRT-Untersuchungen am Mausherzen durchzuführen, sind stabile Untersuchungsbedingungen besonders wichtig. Die Körpertemperatur hat einen direkten Einfluss auf die Herzfrequenz und sollte deshalb eine Temperatur von 36-37°C nicht unterschreiten [Coolen *et al.* (2012)]. Des Weiteren kann die Art des Narkosemittels

und die Narkosetiefe die Atemfrequenz und die myokardiale Perfusion beeinflussen [Coolen *et al.* (2012)]. Dank einer kontinuierlichen Wärmung mithilfe einer Wärmematte während der magnetresonanztomographischen Untersuchungen und einer engen Narkoseüberwachung, kam es jedoch zu keiner wesentlichen Einschränkung der Herzfunktion durch diese Einflussgrößen. Ein weiterer Faktor, der zu einem instabilen Kreislauf und damit zu einer veränderten Herzfunktion führen kann, ist die Menge und die Injektionsform (intravenös oder intraperitoneal) des Kontrastmittels. In dieser Arbeit wurde das Kontrastmittel intravenös appliziert. Dies ist für den Kreislauf der Maus aufgrund des Volumenbolus und der sich daraus ergebenden Risiken für hämodynamische Veränderungen und ein pulmonales Ödem belastender als die intraperitoneale Gabe des Kontrastmittels [Shimizu (2004)]. Eine intravenöse Gabe des Kontrastmittels hat aber auch wesentliche Vorteile. Zum einen kann ein möglicher hepatischer First-Pass-Effekt bei komplexeren Kontrastmitteln vermieden werden, zum anderen spiegelt die intravenöse Kontrastmittelinjektion die klinischen Untersuchungsbedingungen besser wieder. Durch kleine Injektionsvolumina und eine möglichst langsame Injektion des Kontrastmittels konnten Komplikationen weitgehend vermieden werden.

Auch bei stabilen Untersuchungsbedingungen beeinflusst die Kontraktion des Herzens die Aufnahmequalität von MRT-Bildern wesentlich. Eine gute Möglichkeit, um dadurch entstehende Artefakte zu minimieren, ist eine prospektive EKG-Triggerung bei der durch eine R-Zackendetektion das Aquisitionsfenster für MRT-Aufnahmen definiert wird [Coolen *et al.* (2012)], wie sie in dieser Arbeit bei allen MRT-Untersuchungen eingesetzt wurde. Die Auswahl entsprechender Parameter ermöglichte Aufnahmen in der enddiastolischen Phase des Herzzyklus mit einer Minimierung von Bewegungsartefakten. Insgesamt kam es nur sehr selten zu einem Abbruch der Sequenz aufgrund von Ableitungsschwierigkeiten, wie sie z.B. durch Herzrhythmusstörungen entstehen können. Um weiterhin Bildartefakte zu vermeiden wird allgemein zusätzlich zur EKG-Triggerung eine Atemtriggerung der Bildaufnahmen empfohlen [Coolen *et al.* (2012)]. Kommt es während der Untersuchungen jedoch zu Änderungen in der Atemfrequenz, wie sie in Stresssituationen oder unter Narkose häufig vorkommen, kann es zu Störungen des Triggerintervalls kommen [Coolen *et al.* (2012)]. Diese wiederum führen zu einer gestörten Aufnahme der Signalintensitäten und zu Ghost-Artefakten [Coolen *et al.* (2012)]. Es wurde bereits gezeigt, dass eine gute Bildqualität auch ohne Atemfrequenz-Triggerung im Mausmodell möglich ist [Feintuch *et al.* (2007); Ruff *et al.* (2000)]. Deshalb wurde in dieser Arbeit auf eine Atemtriggerung verzichtet. Insgesamt war die Bildqualität in allen Fällen ausreichend, um das Late Enhancements sowie das infarzierte Myokard abzugrenzen und die Herzfunktion auszuwerten.

6.2.3 Etablierung der PSIR-Sequenz

In der Darstellung des Late Enhancement mittels MRT spielt die Sequenztechnik eine wichtige Rolle, da sie wesentlich für den Kontrast zwischen Infarkt und Myokard bzw. Infarkt und Ventrikelvolumen nach Kontrastmittelgabe verantwortlich ist [Coolen *et al.* (2012)]. Die am häufigsten benutzte Sequenztechnik in der Darstellung des LGE ist eine segmentierte IR-Gradienten-Echo-Sequenz. Sie ist in der klinischen Diagnostik des Herzinfarktes etabliert [Simonetti *et al.* (2001)] und wurde auch schon erfolgreich am Mausmodell [Gilson *et al.* (2007)] an klinischen MRT-Geräten angewendet. Jedoch ist der Kontrast zwischen Infarkt und gesundem Myokard, der mithilfe der IR-Sequenz erzielt werden kann, stark von der Inversionszeit abhängig. Es wurde gezeigt, dass es bei einer fehlerhaften Wahl der TI zu einem unzureichenden Kontrast zwischen vitalem Myokard und Infarkt narbe [Gupta *et al.* (2004)] sowie zu Bildartefakten [Kellman *et al.* (2002)] kommt. Besonders problematisch ist die Wahl einer inkorrekten Inversionszeit bei kleinen Feldstärken. Im Vergleich zu höheren Feldstärken ist die T1-Zeit allgemein verkürzt. Gleichzeitig wirkt sich eine niedrigere Feldstärke negativ auf die Effektivität T1-verkürzender Kontrastmittel, wie Gd-DTPA, aus. Dies verkleinert das Zeitfenster optimalen Kontrastes zwischen gesundem Myokard und Infarkt. In der Bildgebung des Musherzens stellt außerdem die schnelle und häufig arrhythmische Herzfrequenz eine zusätzliche Herausforderung dar. Die IR-Sequenz benötigt ein konstantes Zeitintervall zwischen nacheinander folgenden Inversionsimpulsen. Dies wird auf der Basis der EKG-Triggerung bestimmt. Bei einem schlecht ableitbaren bzw. unregelmäßigen EKG wird aufgrund einer variierenden optimalen Inversionszeit der Kontrast zwischen gesundem Myokard und Infarkt kleiner [Protti *et al.* (2010)].

Inzwischen wurde die ursprüngliche IR-Sequenztechnik in verschiedenen Formen modifiziert und weiterentwickelt, um die genannten Probleme bzgl. EKG-Triggerung und Inversionszeit zu lösen [Fogel (2010); Hashemi *et al.* (2012)]. So können mit Hilfe besonders schneller Aufnahmetechniken, wie der Single-Shot-Sequenz, Bildartefakte durch Herzrhythmusstörungen reduziert werden. Dies geschieht jedoch zum Nachteil einer reduzierten räumlichen Auflösung und eines niedrigeren Kontrastes zwischen Infarkt und Myokard bzw. Blut-Pool. Der zusätzliche Einsatz von SSFP-Techniken in der IR-Sequenz verbessert durch ein höheres SNR die Differenzierung zwischen vitalem und ischämischem Myokard. Das Problem der inkorrekten Inversionszeit bei längeren Aufnahmezeiten, wie z.B. bei der Bestimmung des Infarktvolumens über den gesamten Ventrikel, besteht jedoch weiterhin [Fogel (2010); Hashemi *et al.* (2012)]. Die von Kellman *et al.* [Kellman *et al.* (2002)] eingeführte phasensensitive IR-Sequenz umgeht das Problem der optimalen TI-Wahl. In dieser Sequenz geht die Information über die Phase des induzierten Signals nach dem Inversionsimpuls nicht verloren. Dies führt zu einer

niedrigeren Sensitivität der Sequenz für Veränderungen des T1-Wertes mit zunehmender Zeit nach Kontrastmittelinjektion. Mit einem fix eingestellten nominellen TI-Wert kann dadurch über eine lange Messzeit ein stabiler Kontrast zwischen infarziertem und gesundem Myokard erzielt werden. Dadurch können mit dieser Sequenztechnik im Gegensatz zu anderen IR-Sequenztechniken ohne weiteres mehrschichtige sowie dynamische Untersuchungen des Ventrikels durchgeführt werden [Kellman *et al.* (2002)]. Als robustes Verfahren stellt die PSIR-Sequenz deshalb auch im Mausmodell in der Infarkt Diagnostik und insbesondere in der Infarktvolumenbestimmung eine vielversprechende Alternative zu anderen Sequenztechniken dar.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die PSIR-Sequenz den Bereich myokardialer Schädigung mit einer vergleichbaren räumlichen Auflösung von $400 \times 400 \mu\text{m}$ wie die IR-Sequenz abbildet. Die Akquisitionszeit für einen Kurzachsenschnitt war für beide Methoden vergleichbar, jedoch mussten bei der IR-Sequenz zusätzlich zeitaufwendige Look-Locker-Sequenzen (Akquisitionszeit bis zu 2 min) zur Bestimmung der Inversionszeit im Laufe der Untersuchung durchgeführt werden. Über den Messzeitraum von 30 min war deshalb mit der PSIR-Sequenz insgesamt eine höhere zeitliche Auflösung möglich als mit der IR-Sequenz. Des Weiteren ergaben vergleichende Untersuchungen im Hinblick auf die Kontrastmittelkinetik von Gd-DTPA, dass das Zeitfenster mit optimalem Kontrast für eine Bestimmung des Late Enhancements für beide Sequenztechniken zwischen etwa 5 und 12.5 min nach Kontrastmittelinjektion lag. Danach wurde das Kontrastmittel mit einem entsprechenden Abfall des CNRs rasch ausgewaschen. Insgesamt sind die Kinetik des LGEs sowie das berechnete CNR zwischen infarziertem und vitalem Myokard für beide Sequenztechniken vergleichbar. Darüber hinaus ergab sich eine enge Übereinstimmung der jeweils gemessenen Infarktgröße zwischen den beiden Methoden. Die gute zeitliche Auflösung der PSIR-Sequenz konnte im Weiteren genutzt werden, um statt nur eines Kurzachsenschnitts auf mittlerer ventrikulärer Ebene einen ganzen Stapel von 6-7 Kurzachsenschichten aufzunehmen. Somit konnte neben der Infarktgröße auf einer Schichtebene auch das Infarktvolumen des gesamten linken Ventrikels berechnet werden. Die Akquisitionszeit eines Kurzachsenstapels mit sieben 1 mm dicken Schichten betrug mit nur ~ 3.5 min weit weniger Zeit als in anderen Studien angegeben wurde [Gilson *et al.* (2007); Voelkl *et al.* (2011)].

Insgesamt konnte in dieser Arbeit die PSIR-Sequenz als Methode zur Untersuchung des LGE an einem Mausmodell myokardialer Schädigung mit einem klinischen MRT-Equipment (Feldstärke 1.5 T) etabliert werden. Der wesentliche Vorteil der PSIR-Sequenz, im Hinblick auf den Wegfall aufwendiger Inversionszeitmessungen, spiegelte sich in einer hohen zeitlichen Auflösung wieder und konnte genutzt werden, um das Infarktvolumen über den gesamten Ventrikel zu bestimmen. Die PSIR-Sequenz erwies

sich im experimentellen Setting dieser Arbeit als schnelles, robustes und benutzerfreundliches Verfahren zur Darstellung der induzierten Infarkttnarbe. Sowohl mit einem extrazellulären unspezifischen (Gd-DTPA) als auch mit einem molekularen Kontrastmittel (Gd-ESMA) ließ sich das Late Enhancement zuverlässig und präzise abbilden. Somit eignet sich die in dieser Arbeit etablierte Sequenztechnik gut, um den Einsatz neuer molekularer Kontrastmittel in der Infarktdarstellung am Mausmodell mittels klinischen MRT-Scannern zu evaluieren.

6.3 Gd-ESMA in der Infarktdiagnostik

Myokardiale Wundheilung nach ischämischer Schädigung ist die Grundlage ventrikulären Remodelings. Die makroskopisch zu beobachtenden Veränderung der Ventrikelstruktur und -architektur sind auf histologischer Ebene mit einer Kardiomyozytenhypertrophie, Myozytenapoptose, Myofibroblastenproliferation, vermehrten Synthese extrazellulärer Matrix und einer progressiven Fibrose verbunden. [Sutton *et al.* (2000)]. Molekulare Bildgebung kann dazu beitragen diese Prozesse in vivo sichtbar zu machen und sie besser zu verstehen. Dadurch können wiederum kardioprotektive Faktoren identifiziert werden und für die Entwicklung neuer diagnostischer Marker oder Therapieansätze genutzt werden. Vor diesem Hintergrund wurde das Elastin-spezifische Kontrastmittel Gd-ESMA eingesetzt, um eine weitere Komponente im Prozess myokardialer Wundheilung nach ischämischer Schädigung zu untersuchen.

6.3.1 Molekulare Zielstrukturen in der Bildgebung myokardialer Wundheilung

Mithilfe der molekularen Bildgebung ist es inzwischen gelungen viele zelluläre und molekulare Prozesse, die während myokardialer Wundheilung und ventrikulärem Remodeling eine wichtige Rolle spielen, zu identifizieren und im MRT zu visualisieren. So wurden spezifische Kontrastmittel entwickelt, um das apoptotische und nekrotische Absterben von Kardiomyozyten in der akuten Phase des Herzinfarktes darzustellen. Noch ist umstritten, zu welchen Anteilen die beiden Formen des Zelltodes zum Absterben myokardialer Zellen beitragen [Geelen *et al.* (2012)]. Der Einsatz Apoptose- bzw. Nekrose-spezifischer Kontrastmittel im MRT könnte dazu beitragen, diese Frage zu klären. In vitro wird Apoptose üblicherweise mithilfe des Proteins Annexin A5 identifiziert [Geelen *et al.* (2012)]. Um eine in vivo Darstellung der Apoptose mittels MRT zu erzielen, wurden Eisenoxid-Nanopartikel mit Annexin A5 konjugiert. In verschiedenen Studien war mit diesem Kontrastmittel eine spezifische Darstellung apoptotischer Bereiche im infarzierten Myokard erfolgreich [Sosnovik *et al.* (2009); Sosnovik *et al.* (2005)]. Neben der Darstellung apoptotischer Zellen konnten inzwischen auch nekrotische Zellen im MRT mit

einem spezifischen Kontrastmittel im infarzierten Myokard identifiziert werden [Garanger *et al.* (2009); Huang *et al.* (2011)]. Das entwickelte Kontrastmittel besteht aus Gd-DTPA, welches mit dem DNA bindenden Liganden TO-PRO-1 konjugiert wurde [Geelen *et al.* (2012)].

Über die Markierung aktivierten Endothels und inflammatorischer Zellen gelang es mithilfe molekularer Sonden den Grad myokardialer Entzündung während der Wundheilung abzubilden und zu quantifizieren [Geelen *et al.* (2012)]. Zur Darstellung dieser Entzündungsprozesse wurden ein MPIO- (micrometer-sized iron oxide particle) basiertes Kontrastmittel, das über einen Antikörper spezifisch an VCAM-1 bindet [Geelen *et al.* (2012); Hoyte *et al.* (2010)], sowie Anti-ICAM-1-Antikörper markierte paramagnetische Liposomen entwickelt [Geelen *et al.* (2012)]. Weiterhin wurden unter Ausnutzen ihrer Phagozytoseaktivität Eisenoxidpartikel wie MPIOs [Yang *et al.* (2011); Yang *et al.* (2010)], VSOPs (very small iron oxide particles) [Geelen *et al.* (2012)] und CLIOs (cross linked iron oxides) [Sosnovik *et al.* (2007)] eingesetzt, um inflammatorische Zellen zu markieren. Neben dieser Form entzündliche Zellen im MRT zu markieren, wurden auch Gd-basierte Kontrastmittel zu diesem Zweck entwickelt [Geelen *et al.* (2012)]. So konnte gezeigt werden, dass es bei einer Markierung der Makrophagen mit paramagnetischen Liposomen nach einem Infarkt zu einer signifikanten Zunahme der Relaxivität im geschädigten Myokard kommt [Geelen *et al.* (2012)]. Neben der direkten Markierung inflammatorischer Zellen können auch deren Zellprodukte zur Identifizierung entzündlicher Prozesse genutzt werden. Hierfür eignet sich insbesondere die Myeloperoxidase. Querol *et al.* entwickelten ein Gd-basiertes Kontrastmittel, dessen Polymerisation durch die enzymatische Aktivität der Myeloperoxidase, die von Monozyten, Makrophagen und Neutrophilen sezerniert wird, ausgelöst wird. Dadurch wird die Relaxivität des Kontrastmittels bei Vorhandensein des Enzyms deutlich erhöht [Querol *et al.* (2005)]. Es gelang mit diesem Kontrastmittel erstmals die myokardiale Aktivität der Myeloperoxidase *in vivo* zu bestimmen und damit die entzündliche Aktivität im geschädigten Myokard einzuschätzen [Nahrendorf *et al.* (2008)].

Ein weiterer Prozess, der im Interesse molekularer Kontrastmittel steht, ist Neoangiogenese [Geelen *et al.* (2012)]. Das Einsprießen neuer Gefäße ist essentieller Bestandteil der Heilungsprozesse im infarzierten Myokard und ermöglicht die Versorgung des metabolisch aktiven Granulationsgewebes mit Sauerstoff und Nährstoffen. So wurden spezifische Nanopartikel entwickelt, um in der molekularen MRT die Angiogenese zu visualisieren [Geelen *et al.* (2012)]. Oostendorp *et al.* konnten mit einem cNRG-markierten Gd-basierten Kontrastmittel Angiogenese im infarzierten Myokard am Mausmodell nachweisen [Oostendorp *et al.* (2010a); Oostendorp *et al.* (2010b)].

Von besonderem Interesse für ventrikuläres Remodeling sind die Bestandteile der extrazellulären Matrix. Caravan *et al.* gelang es durch ein Kollagen Typ I-spezifisches Gd-basiertes Kontrastmittel (EP3533) die Infarktnarbe in vivo darzustellen [Caravan *et al.* (2007); Helm *et al.* (2008)]. Die Quantifizierung kollagener Fasern nach einem Herzinfarkt ist ein Marker für den Fibrosegrad des Gewebes. Eine zunehmende Fibrosierung der Infarktnarbe hat zwar einerseits einen stabilisierenden Effekt, andererseits kommt es dadurch aber auch zu einer Abnahme der myokardialen Compliance [Sutton *et al.* (2000)]. Dies wiederum treibt den Prozess des ventrikulären Remodelings voran [Sutton *et al.* (2000)]. Damit kann der Fibrosegrad zwar als diagnostischer und therapeutischer Marker verwendet werden. Er hat aber vor allem negativen prognostischen Aussagewert.

6.3.2 Elastin als Zielprotein myokardialer Wundheilung

In tierexperimentellen Studien konnten mittels molekularer Bildgebung pathophysiologische Prozesse der myokardialen Wundheilung und des ventrikulären Remodelings auf zellulärer und molekularer Ebene in vivo visualisiert werden. Elastin ist im Gegensatz zu Kollagen [Helm *et al.* (2008)], welches ein Marker für die Vernarbung des Myokards nach einem Infarkt ist, ein kardioprotektives Protein. So gibt es viele Hinweise dafür, dass es nach einem ischämischen Ereignis im Herzen eine wichtige Rolle in der Wundheilung und im strukturellen Umbau der Herzarchitektur spielt. Es konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden, dass es kurz nach einer ischämischen Schädigung des Myokards zu einer vermehrten Synthese elastischer Fasern kommt [Bassett *et al.* (2008); Dropmann (1960); Hort *et al.* (1965)]. Darüber hinaus kommt es durch elastische Fasern zu einer Vernetzung des Narbengewebes mit vitalen Kardiomyozyten [Bunda *et al.* (2007)]. Damit verleiht Elastin dem Narbengewebe Elastizität und führt zu einer besseren Einbindung des nicht kontraktiven Gewebes in den Verband vitaler Kardiomyozyten. Studien zur Zusammensetzung der EZM nach Myokardinfarkt bestätigen die kardioprotektiven Eigenschaften von Elastin. Wird der Anteil elastischer Fasern im Verhältnis zu kollagenen Fasern im Narbengewebe erhöht, so stabilisiert dies die Herzfunktion [Mizuno *et al.* (2005a); Mizuno *et al.* (2005b)] nach einem Myokardinfarkt und mildert ventrikuläres Remodeling [Lichtenauer *et al.* (2011)] ab.

Elastin erfüllt als Extrazellulärprotein im Myokard mit seinem Einfluss auf die ventrikuläre Funktion und Architektur alle Voraussetzungen für ein gutes biologisches Target in der molekularen Bildgebung. Es ist somit gut für die Untersuchung kardialer Wundheilung unter dem Aspekt des ventrikulären Remodelings geeignet.

6.3.3 Late Enhancement-Bildgebung mit Gd-ESMA

In dieser Arbeit wurde Gd-ESMA als neues molekulares MRT-Kontrastmittel an einem Mausmodell mit permanentem Verschluss einer Koronararterie evaluiert. Im jeweils gleichen Tier wurden die mit Gd-ESMA erzielten Ergebnisse mit denen des bereits etablierten extrazellulären Kontrastmittels Gd-DTPA verglichen. Gd-DTPA gehört aufgrund seiner vorteilhaften pharmakodynamischen Eigenschaften zu den am häufigsten verwendeten Kontrastmitteln in der Darstellung myokardialer Infarkte am Mausmodell [Coolen *et al.* (2012)]. Es wird vor allem benutzt, um mittels LGE die Infarktgröße zu bestimmen. Es ähnelt in seinem Aufbau dem molekularen Kontrastmittel Gd-ESMA und eignet sich deshalb gut als Referenz zum Vergleich von Kinetik und Ausprägung des Late Enhancement.

Die Dosierung von Gd-DTPA (0.6 mmol/kg KG) erfolgte vergleichbar zur Standarddosierung bei Kleintierexperimenten [Bohl *et al.* (2009); Voelkl *et al.* (2011)]. Die Dosierung von Gd-ESMA (0.2 mmol/kg KG) wurde aus den Vorarbeiten von Makowski *et al.* [Makowski *et al.* (2011)], in denen eine Darstellung elastischer Fasern in atherosklerotischen Plaques bereits erfolgreich war, übernommen. Für die Prüfung der in vivo Spezifität von Gd-ESMA, in Bezug auf die Bindung an elastische Fasern im Infarktbereich, wurde ebenfalls parallel zu den Experimenten von Makowski *et al.* [Makowski *et al.* (2011)] nicht-paramagnetisches La-ESMA in einer zehnfach höheren Dosierung (2 mmol/kg KG) als Gd-ESMA verwendet. Dies sollte gewährleisten, dass möglichst viele Bindungsstellen des Zielproteins durch La-ESMA besetzt werden und es im Falle einer spezifischen Bindung nur zu einer geringen Anreicherung von Gd-ESMA kommt. Es wurde zwischen der Injektion von Gd-DTPA und Gd-ESMA nach Ende der Bildaufnahmen jeweils eine 30 minütige Pause eingehalten, um eine weitgehende Eliminierung des primär injizierten Kontrastmittels zu gewährleisten.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Makowski *et al.* [Makowski *et al.* (2011)] wurde im gesunden Myokard keine Anreicherung von Gd-ESMA festgestellt. Nach Infarktinduktion konnte jedoch immer eine Kontrastmittelanreicherung im Bereich der Narbe beobachtet werden.

Gd-ESMA zeigt im Gegensatz zu Gd-DTPA nach der Bindung an Elastin einen starken Anstieg der Relaxivität (16 vs $4.1 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$) [von Bary *et al.* (2011)] und somit einen Anstieg der Signalintensität der Zielstruktur gegenüber dem Hintergrundrauschen. Da sich Gd-ESMA und Gd-DTPA in ihrer Struktur sonst kaum unterscheiden, kann anhand der Signalintensitäten zwischen Kontrastmittelanreicherung im Sinne eines extrazellulären Kontrastmittels und molekularer Bindung differenziert werden. Am 7. postoperativen Tag konnte bei allen Tieren nach Infarktinduktion mit beiden Kontrastmitteln ein positives Late

Enhancement beobachtet werden. Die Verteilung und Lokalisation des infarzierten Myokards im Versorgungsbereich der linken Koronararterie war für Gd-DTPA und Gd-ESMA vergleichbar. Dies zeigt, dass Gd-ESMA ähnlich wie Gd-DTPA den Bereich myokardialer Schädigung abbildet. Aufgrund des ähnlichen Aufbaus beider Kontrastmittel konnte damit jedoch noch nicht bestätigt werden, dass das mit Gd-ESMA erzeugte Late Enhancement aufgrund der spezifischen Bindung des molekularen Kontrastmittels an Elastin zustande kam. Vielmehr könnte es ähnlich wie bei Gd-DTPA aufgrund des erhöhten extrazellulären Raums nach einem Herzinfarkt zur Anreicherung von Gd-ESMA im geschädigten Myokard gekommen sein. Die dynamische Analyse des Kontrastverhaltens ergab jedoch wesentliche Unterschiede zwischen Gd-DTPA und Gd-ESMA. Während das SNR in Myokard und Blut-Pool nach Gabe von Gd-ESMA vergleichbare Werte erreichte und einem ähnlichen Verlauf während der Messzeit folgte wie nach der Gabe von Gd-DTPA, konnten im Infarkt ab 7.5 min nach Gabe von Gd-ESMA höhere SNR-Werte gemessen werden. Dies weist auf eine verstärkte Bindung von Gd-ESMA im infarzierten Myokard hin. Vor dem Hintergrund der niedrigeren Dosierung von Gd-ESMA (0.2 mg/kg KG) im Vergleich zu Gd-DTPA (0.6 mg/kg KG) kann diese Beobachtung nur mit dem Anstieg der Relaxivität von Gd-ESMA nach Bindung an das Zielprotein Elastin erklärt werden und bestätigt damit die spezifischen Bindungseigenschaften des Kontrastmittels. Die Bindung von Gd-ESMA an Elastin im Bereich der Infarktnarbe führte des Weiteren zu einer prolongierten Anreicherung im weiteren Verlauf der Messungen mit einem erhöhten und länger anhaltenden Kontrast zwischen Infarkt und Myokard. In Anlehnung an das von Makowski *et al.* durchgeführte Wettbewerbsexperiment [Makowski *et al.* (2011)] wurde zur weiteren Bestätigung der spezifischen Bindungseigenschaften von Gd-ESMA in dieser Arbeit ebenfalls der gleiche Versuch für die Infarktnarbe mit Gd-ESMA und La-ESMA durchgeführt. Nach vorausgegangener Injektion von nicht-paramagnetischem La-ESMA kam es zu einer signifikant niedrigeren Akkumulation von Gd-ESMA in der Infarktnarbe. Damit konnte eine spezifische Bindung von Gd-ESMA an ein Zielprotein in diesem Bereich bestätigt werden.

Neben den *in vivo* Untersuchungen des Late Enhancement wurden zusätzlich nach der Bildgebung *ex vivo* TTC-Färbungen der explantierten Herzen angefertigt. Die mit Gd-ESMA gemessene Infarktgröße stimmte gut mit den Ergebnissen aus der *ex vivo* TTC-Färbung überein und korrelierte mit den Ergebnissen der Gd-DTPA Messungen. Dies galt auch für die Bestimmung des Infarktvolumens. Das mit Gd-ESMA und Gd-DTPA gemessene Infarktvolumen korrelierte zum Zeitpunkt 7.5 min nach Kontrastmittelinjektion miteinander. Aufgrund der prolongierten Anreicherung von Gd-ESMA im Bereich der Infarktnarbe konnte bis 45 min nach Injektion, und damit wesentlich länger als mit Gd-DTPA, das Infarktvolumen bestimmt werden.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sich Gd-ESMA gut zur Darstellung myokardialer Infarzierung eignet. Aufgrund der spezifischen Bindungseigenschaften von Gd-ESMA ist eine bessere und über die Messzeit längere Differenzierbarkeit zwischen Infarkt und vitalem Myokard bzw. Blut-Pool im Vergleich zum unspezifischen extrazellulären Kontrastmittel Gd-DTPA gegeben. Darüber hinaus steht dem Untersucher mit Gd-ESMA ein deutlich längeres Zeitfenster zur Untersuchung des Late Enhancements zur Verfügung (7.5-45 min nach Injektion) als mit Gd-DTPA (5-12.5 min nach Injektion).

6.3.4 Darstellung myokardialer Wundheilung mit Gd-ESMA

Neben den Messungen an Tag 7 nach Infarktinduktion wurden auch konsekutive Messungen an einer Gruppe von Mäusen über 3 Wochen zur Darstellung myokardialer Wundheilung durchgeführt. Im Vergleich zu Tag 7 konnte an Tag 21 nach Infarktinduktion mit Gd-ESMA eine signifikante Zunahme des maximalen Kontrastes zwischen Infarktnarbe und Myokard über den Verlauf der Messzeit beobachtet werden. Dies spiegelte sich in einer Zunahme von Tropoelastin in der Western-Blot-Analyse und in einer vermehrten Einlagerung elastischer Fasern in der Infarktnarbe in der Elastica-van-Gieson-Färbung wieder. Darüber hinaus konnte zwischen Tag 7 und 21 nach Infarktinduktion in den histologischen Präparaten eine zunehmende Organisation der elastischen Fasern entlang der Myokardnarbe beobachtet werden. Somit konnten in dieser Studie die Ergebnisse von Bassett *et al.* [Bassett *et al.* (2008)] sowie weiteren Autoren [Dropmann (1960); Hort *et al.* (1965)] bezüglich einer vermehrten Elastinsynthese nach Myokardinfarkt bestätigt werden. Bassett *et al.* beobachteten mittels elektronenmikroskopischer Aufnahmen innerhalb eines Zeitraumes von 4 bis 24 Tagen nach Infarktinduktion in einem Rattenmodell eine zunehmende Synthese elastischer Fasern im Bereich der Infarktnarbe mit einer Vernetzung sowohl kollagener, wie auch elastischer Fasern mit den Enden vitaler Kardiomyozyten [Bassett *et al.* (2008)]. Diese Vernetzung trägt zur Einbindung der inerten Kollagen-dominierten Narbe in den Rest des vitalen, kontrahierenden Myokards bei. Vor diesem Hintergrund ist die in dieser Arbeit im Verlauf zu beobachtende Ausrichtung der elastischen Fasern entlang der Narbe als Ausdruck eines wichtigen Reifungsprozesses des Narbengewebes zu werten. Insgesamt konnte in dieser Studie erstmalig eine vermehrte Elastinsynthese im Rahmen myokardialer Wundheilung im Mausmodell mit einem nicht-invasiven Verfahren *in vivo* dargestellt und quantifiziert werden.

Ventrikuläres Remodeling wurde in dieser Arbeit einerseits auf molekularer und histologischer Ebene beobachtet. Andererseits spiegelte sich ventrikuläres Remodeling ebenfalls auf funktioneller Ebene in der Auswertung der Cine-Aufnahmen in einem Absinken der allgemeinen Herzleistung nach induziertem Herzinfarkt wieder. Das an Tag 7 nach Infarktinduktion mithilfe von Gd-ESMA ermittelte Infarktvolumen korrelierte erwartungs-

gemäß negativ mit Parametern der linksventrikulären Funktion wie dem Schlagvolumen und der Ejektionsfraktion [Gilson *et al.* (2007); Nahrendorf *et al.* (2000); Nahrendorf *et al.* (2001)]. Die mit Gd-ESMA zu beobachtende positive Korrelation zwischen CNR und Ejektionsfraktion an Tag 21 nach Infarktinduktion weist darauf hin, dass ein höheres MR-Signal für Elastin mit einer besseren allgemeinen Herzfunktion einhergeht. Diese Beobachtung steht im Einklang mit den von Mizuno *et al.* durchgeführten Experimenten am Rattenmodell, in denen gezeigt werden konnte, dass eine vermehrte Elastinsynthese nach ischämischer Schädigung des Herzens zum Erhalt der allgemeinen Herzfunktion und einer geringeren Mortalität führt [Mizuno *et al.* (2005a); Mizuno *et al.* (2005b)].

6.4 Limitationen

Um das Late Enhancement zwischen IR- und PSIR-Sequenz bzw. zwischen verschiedenen Kontrastmitteln auf parallelen Kurzachsenschnitten vergleichen zu können, wurde in einem Untersuchungsblock mehrfach Kontrastmittel in die gleiche Maus injiziert. Gd-ESMA wurde aufgrund der vermehrten Anreicherung und der prolongierten Kinetik stets nach Gd-DTPA gegeben. Obwohl immer ein Abfall der SNR/CNR-Werte zum Ausgangsniveau zu beobachten war, ist es möglich, dass Gd-DTPA nur inkomplett bis zur nächsten Injektion von Gd-ESMA ausgewaschen wurde.

Bei der *ex vivo* Untersuchung der Mausherzen mittels TTC kam es aufgrund der Färbemethode zu Veränderungen des Myokards, im Sinne von Schrumpfungs- bzw. Quellungsartefakten, die eine genaue Zuordnung einzelner Schnittebenen zu den MRT-Bildern nach der Anfertigung der Schnitte nicht ermöglichten. Vor dem Hintergrund sehr kleiner Versuchsgruppen ergab eine Korrelationsanalyse keine signifikanten Ergebnisse. Es wurde jedoch bereits gezeigt, dass TTC- und Gd-DTPA-Messungen der Infarktgröße bzw. des Infarktolumens in dem in dieser Arbeit gewählten Setting gut miteinander korrelieren [Voelkl *et al.* (2011); Wildgruber *et al.* (2012)].

Während bei den meisten Untersuchungen Gruppengrößen von >8 Tieren möglich waren, wurde insbesondere in den konsekutiven Messungen mit kleineren Versuchsgruppen (3-5 Versuchstiere) gearbeitet. Eine kleine Zahl an Versuchstieren führt dazu, dass Messfehler einen sehr viel größeren Einfluss auf das statistische Endergebnis haben und zu Verzerrungen, im Sinne eines β -Fehlers, führen können. Eine Wiederholung der Experimente mit größeren Gruppengrößen wäre in diesen Fällen wünschenswert.

Neben den Limitationen in Bezug auf den Versuchsaufbau wäre es wünschenswert weitere immunhistologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen durchzuführen, um zu bestätigen, dass es im Verlauf neben der vermehrten Synthese elastischer Fasern auch zu einer Reifung von Elastin im Bereich des Narbengewebes kommt. Außerdem

könnten solche Untersuchungen klären, an welche Form von Elastin (unreif/reif) Gd-ESMA bindet.

6.5 Ausblick

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass mit einem Elastin-bindenden molekularen Kontrastmittel Gd-ESMA die Darstellung infarzierten Myokards möglich ist. Zusammen mit den histologischen Ergebnissen konnte bestätigt werden, dass es nach einem Herzinfarkt neben einer Fibrose auch zu einer verstärkten Synthese elastischer Fasern im Infarkt-bereich kommt. Bisher konnte beim Einsatz von Gd-ESMA in der Infarktdiagnostik, in der Diagnostik vaskulären Remodelings [Makowski *et al.* (2011); von Bary *et al.* (2011)] und in der Diagnostik hepatischer Fibrose [Ehling *et al.* (2013)] keine relevante Toxizität beobachtet werden. Somit erscheint eine klinische Translation der Studie, in der der Gehalt elastischer Fasern im Narbengewebe eines Herzinfarktes mithilfe von Gd-ESMA detektiert und quantifiziert wird, prinzipiell möglich. Gd-ESMA könnte dazu beitragen die Rolle der EZM während myokardialer Wundheilung und konsekutivem ventrikulären Remodeling beim Menschen weiter aufzuklären. Dies könnte wiederum von hohem prognostischem Wert für den Verlauf ventrikulären Remodelings und die Entwicklung einer Herzinsuffizienz sein. Des Weiteren könnte mithilfe von Gd-ESMA die Entwicklung und Evaluation neuer therapeutischer Maßnahmen, wie der Gentherapie unterstützt werden. Ein großer Vorteil von Gd-ESMA gegenüber anderen molekularen Kontrastmitteln ist, dass es zwei pathophysiologische Prozesse der koronaren Herzkrankheit abbildet. Zum einen können damit atherosklerotische Plaques aufgefunden und in ihrer Zusammensetzung bewertet werden. Zum anderen ist mit diesem Kontrastmittel eine Infarktdiagnostik möglich. Somit könnte in einer Untersuchung simultan die Plaquebelastung der Koronararterien erfasst werden und das Myokard nach Orten myokardialer Wundheilung bzw. ventrikulären Remodelings abgesucht werden. Eine frühzeitige Erkennung von Risikopatienten wäre damit nicht-invasiv möglich und therapeutische Maßnahmen könnten gegebenenfalls frühzeitig eingeleitet werden. Damit könnte der Einsatz von Gd-ESMA dazu beitragen, möglichst individualisierte Therapie-regime zu entwickeln.

7 Zusammenfassung

Der ischämischen Schädigung des Herzens nach einem Herzinfarkt folgt der Prozess der myokardialen Wundheilung. In diesem Rahmen kann es zu Veränderungen der ventrikulären Struktur und Funktion kommen, die unter dem Begriff des ventrikulären Remodelings zusammengefasst werden [Konstam *et al.* (2011); Sutton *et al.* (2000)]. Diese können zu einer progredienten Herzinsuffizienz führen, welche mit einer hohen Morbidität und Mortalität verbunden ist [Wilson (2013)].

Mithilfe der Magnetresonanztomographie (MRT) lassen sich nicht-invasiv Morphologie, Herzfunktion und Vitalität des Herzens untersuchen. Wird in der Untersuchung myokardiales Narbengewebe zusammen mit dem funktionellen und morphologischen Muster ventrikulären Remodelings nachgewiesen, so hat dies einen hohen prognostischen Aussagewert für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz und das Überleben nach einem Herzinfarkt [Konstam *et al.* (2011)]. Darüber hinaus bietet die MRT durch den Einsatz molekularer Kontrastmittel die Möglichkeit die Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen wie dem ventrikulären Remodeling besser zu verstehen und neue präventive, diagnostische und therapeutische Strategien zu entwickeln. Insgesamt eignet sich die MRT gut zur in vivo Darstellung und Quantifizierung der reparativen Umbauvorgänge im infarzierten Myokard

Trotz erheblicher Anstrengungen konnten die genauen pathophysiologischen Prozesse der myokardialen Wundheilung und des darauf folgenden ventrikulären Remodelings noch nicht abschließend geklärt werden. Insbesondere die Rolle der extrazellulären Matrix ist noch nicht ausreichend erforscht. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass im Rahmen der Narbenbildung die Synthese extrazellulärer Matrixproteine nach einem Herzinfarkt gesteigert ist [Bowers *et al.* (2010); Zamilpa *et al.* (2010)]. Neben Kollagen Typ I konnte Elastin als ein weiteres Strukturprotein identifiziert werden, welches dem Narbengewebe Elastizität und Widerstandsfähigkeit verleiht [Bassett *et al.* (2008); Mizuno *et al.* (2005a); Mizuno *et al.* (2005b)]. Während in gesundem Myokard Elastin nur in geringen Mengen in den Gefäßen und im Interstitium nachweisbar ist, kommt es in den ersten Wochen nach einem Herzinfarkt zu einer starken Zunahme elastischer Fasern im Narbengewebe [Bassett *et al.* (2008); Dropmann (1960); Hort *et al.* (1965)]. Sie bilden in der Reifungsphase des Narbengewebes ein Netzwerk mit vitalen Kardiomyozyten, Myofibroblasten und glatten Muskelzellen. Gleichzeitig konnte gezeigt werden, dass eine experimentell gesteigerte Elastinexpression nach Myokardinfarkt im Tiermodell das ventrikuläre Remodeling deutlich reduziert und damit die Entwicklung einer Herzinsuffizienz verhindern kann [Lichtenauer *et al.* (2011); Mizuno *et al.* (2005a); Mizuno *et al.* (2005b)]. Im Gegensatz zu Kollagen Typ I hat Elastin somit kardioprotektive Eigen-

schaften und eignet sich gut als biologischer Marker für die Verfolgung der myokardialen Wundheilung sowie der Einschätzung eines möglichen ventrikulären Remodelings.

Vor diesem Hintergrund war es das Ziel der vorliegenden Arbeit das Elastin-bindende Kontrastmittel Gd-ESMA, welches bereits erfolgreich zur Elastinbildgebung des vaskulären Remodeling im Rahmen der Atherosklerose verwendet wurde [Makowski *et al.* (2011)], in einem murinen Myokardinfarktmodell zur Darstellung von myokardialem Elastin mittels MRT zu testen.

Zu diesem Zweck wurde zunächst eine 2D-PSIR-Sequenz zur Durchführung der Late Enhancement Aufnahmen an einem klinischen Scanner bei 1.5T etabliert. Wesentlicher Vorteil der PSIR-Sequenz gegenüber der in diesem Bereich standardmäßig verwendeten 2D-IR-Sequenz ist die insgesamt höhere zeitliche Auflösung und die geringe Abhängigkeit der Bildqualität von einer korrekt gewählten Inversionszeit. Die mit Gd-DTPA gemessene Kontrastmittelkinetik und Infarktgröße der PSIR-Sequenz stimmten gut mit den Ergebnissen der konventionellen IR-Sequenz überein. Die durch Vermeidung repetitiver Look-Locker Sequenzen zur regelmäßigen Anpassung der Inversionszeit erzielte hohe zeitliche Auflösung konnte genutzt werden, um das Infarktvolumen nach induziertem Herzinfarkt mittels MRT genau zu quantifizieren. Insgesamt wurde die PSIR-Sequenz als robustes, effizientes und Benutzer freundliches Verfahren zur Untersuchung des Mausherzens mit einem 1.5 T MRT-Gerät etabliert und zur weiteren Evaluierung des Gd-ESMA eingesetzt.

Im Anschluss an die erfolgreiche Methodenerweiterung im Bereich der Sequenztechnik konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass mithilfe des molekularen Elastin-bindenden Kontrastmittels Gd-ESMA (BMS753951) eine Untersuchung des Late Enhancements nach Myokardinfarkt mittels MRT möglich ist. Gd-ESMA bildete den Bereich myokardialer Infarzierung zuverlässig an Tag 7 und Tag 21 nach Infarktinduktion ab. Das mit Gd-ESMA gemessene Infarktvolumen stimmte gut mit den Ergebnissen der TTC-Färbung überein. Im Vergleich zum etablierten extrazellulären Kontrastmittel Gd-DTPA konnte mit Gd-ESMA ein besserer Kontrast zwischen Infarkt und gesundem Myokard bzw. Blut-Pool erzielt werden. Des Weiteren stand dem Untersucher bei der Verwendung von Gd-ESMA ein längeres Zeitfenster von 7.5-45 min nach Kontrastmittelinjektion zur Bestimmung des Late Enhancements und des Infarktvolumens zur Verfügung. Das im Vergleich zu Gd-DTPA prolongierte Anreicherungsverhalten im Infarkt, erhöhte SNR- bzw. CNR-Werte im Bereich myokardialer Infarzierung, sowie ein erfolgreich durchgeführtes Kompetitions-experiment mit La-ESMA bestätigten die bereits zuvor [Makowski *et al.* (2011)] gezeigte spezifische Bindung von Gd-ESMA. Die durch Gd-ESMA ermöglichte spezifische Darstellung elastischer Fasern im Myokardinfarkt wurde im Folgenden dazu genutzt, die ventrikulären Umbauprozesse nach Infarkt zu untersuchen. Es gelang in konsekutiven

Messungen anhand eines erhöhten MR-Signals im Infarkt an Tag 21 nach Infarktinduktion eine vermehrte Elastinsynthese im Bereich myokardialer Infarzierung zu quantifizieren. Die Zunahme elastischer Fasern im Narbengewebe nach Myokardinfarkt ließ sich parallel zu den in vivo Untersuchungen auch in ex vivo Untersuchungen anhand von Western-Blot-Analysen und histologischen Färbungen bestätigen. Neben einer allgemeinen Zunahme elastischer Fasern im Bereich der Infarktnarbe, konnte in der Elastica-van-Gieson-Färbung im Verlauf eine zunehmende Organisation der elastischen Fasern, im Sinne einer Reifung des Narbengewebes, beobachtet werden. Zuletzt konnten die kardioprotektiven Eigenschaften elastischer Fasern nach einem Herzinfarkt durch Korrelation mit der Herzfunktion bestätigt werden. Diese zeigte einen positiven Zusammenhang zwischen MR-Signal im Infarkt nach Injektion von Gd-ESMA und der Ejektionsfraktion an Tag 21 nach Infarktinduktion, sodass ein erhöhtes Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis für Gd-ESMA möglicherweise prädiktive Aussagen über die Herzfunktion und Wundheilung nach Infarkt erlaubt.

Insgesamt konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass sich das Elastin-bindende Kontrastmittel Gd-ESMA sehr gut für die Infarktdiagnostik eignet. Es ist erstmalig gelungen die vermehrte Synthese elastischer Fasern nach myokardialer Infarzierung in vivo nicht-invasiv darzustellen und zu quantifizieren. Das molekulare Kontrastmittel Gd-ESMA verspricht damit in der weiteren Erforschung des Herzinfarktes und des darauf folgenden ventrikulären Remodelings ein wichtiges Diagnostikum zu sein. Darüber hinaus könnte Gd-ESMA in der Entwicklung und Evaluation neuer therapeutischer Maßnahmen, wie der Gentherapie eingesetzt werden. Gd-ESMA lässt sich neben der Infarktdiagnostik auch in der Diagnostik vaskulären Remodelings einsetzen. Somit könnten mit diesem Kontrastmittel simultan Plaquebelastung der Koronararterien und ischämische Myokardschädigung erfasst und Risikopatienten mit einer nicht-invasiven Bildgebungsmethode früh erkannt werden. Letztendlich könnte Gd-ESMA dazu beitragen individualisierte Therapieregime zu entwickeln und damit die Morbidität und Mortalität des ventrikulären Remodelings zu senken.

8 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tab. 1: Kontrastmitteleigenschaften	24
Tab. 2: Schematische Übersicht über den Ablauf der durchgeführten Experimente	25
Abb. 1: Phasen der Infarktheilung	7
Abb. 2: Schematische Zeichnung: Zusammensetzung der Extrazellulären Matrix im Herzen.	8
Abb. 3: Elastische Fasern - Funktionsweise.	10
Abb. 4: Signalintensität als Funktion der Inversionszeit.....	17
Abb. 5: Chemische Strukturen von Gd-ESMA und La-ESMA.....	23
Abb. 6: Versuchsaufbau im MRT.....	28
Abb. 7: Planungssequenzen.	28
Abb. 8: Schematische Zeichnung der IR-Sequenz.	30
Abb. 9: Schematische Zeichnung der PSIR-Sequenz.	31
Abb. 10: 17-Segment Modell.....	33
Abb. 11: 17-Segment Modell Bullseye-Plot.....	33
Abb. 12: Zeichnung eines Kurzachsenschnittes zur Auswertung des Late enhancement.	35
Abb. 13: TTC-Färbung.....	36
Abb. 14: Beispielbilder eines positiven LGE am Tag 7 nach Infarktinduktion.	39
Abb. 15: Zeitliche Auflösung der PSIR-Sequenz und Inversionszeit bei IR-Sequenz.	40
Abb. 16: Kontrastmittelkinetik.....	41
Abb. 17: Infarktgröße.....	42
Abb. 18: Beispielbilder Late Enhancement.	42
Abb. 19: Verteilung und Lokalisation des Infarktes an Tag 7 post OP (Gd-DTPA/Gd-ESMA).	43
Abb. 20: Beispielaufnahmen Kontrastmittelkinetik Gd-DTPA versus Gd-ESMA.....	44
Abb. 21: Signal-zu-Rausch-Verhältnis Tag 7 nach Infarkt.....	45
Abb. 22: $CNR_{\text{Infarkt/Myokard}}$ sowie $CNR_{\text{Infarkt/Blut-Pool}}$ am Tag 7 nach Infarktinduktion.	46
Abb. 23: Konkurrenzexperiment.	47
Abb. 24: Infarktgröße Tag 21 nach Infarktinduktion.	48
Abb. 25: Korrelation der Infarktgröße zwischen Gd-DTPA und Gd-ESMA.	48
Abb. 26: Bestimmung des Infarktvolumens.....	49
Abb. 27: Infarktvolumen.	50
Abb. 28: Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis an Tag 7 und Tag 21 nach Infarkt.	50
Abb. 29: Western-Blot-Analyse.	51
Abb. 30: Histologische Aufarbeitung der Infarktnarbe an Tag 7 und 21 nach Infarkt.....	51
Abb. 31: Quantifizierung und Organisationsgrad elastischer Fasern.....	52
Abb. 32: Boxplot-Diagramme der Herzfunktion vor sowie 7 und 21 Tage nach Infarkt.	53
Abb. 33: Korrelation der globalen Herzfunktion mit der Infarktgröße.....	53
Abb. 34: Korrelation des CNR mit der globalen Herzfunktion nach Injektion von Gd-DTPA.	54
Abb. 35: Korrelation des CNR mit der globalen Herzfunktion nach Injektion von Gd-ESMA.	54

9 Literaturverzeichnis

Arai, A. E.

Kapitel 17: Myocardial Infarction and Viability With an Emphasis on Imaging Delayed Enhancement
In: "Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging"; Kwong, R. Y. (Hrsg.)
Humana Press; New York City; 2008; S. 351-375

Arai, T.; Kofidis, T.; Bulte, J. W.; de Bruin, J.; Venook, R. D.; Berry, G. J.; McConnell, M. V.;
Quertermous, T.; Robbins, R. C. und Yang, P. C.
*Dual in vivo magnetic resonance evaluation of magnetically labeled mouse embryonic stem cells
and cardiac function at 1.5 t*
Magn. Reson. Med.; Band 55; 2006; S. 203-209

Bassett, E. G. und Wakefield, J. S.

Elastic fibers in myocardial scars in rats: development teraction with other components
Connect. Tissue Res.; Band 49; 2008; S. 321-327

Bohl, S.; Lygate, C. A.; Barnes, H.; Medway, D.; Stork, L. A.; Schulz-Menger, J.; Neubauer, S. und
Schneider, J. E.

*Advanced methods for quantification of infarct size in mice using three-dimensional high-field late
gadolinium enhancement MRI*
Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.; Band 296; 2009; S. 1200-1208

Botnar, R. und Makowski, M.

Kapitel 8: Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Small Animals
In: "Progress in Molecular Biology and Translational Science"; Conn, P. Michael (Hrsg.)
Academic Press; 2012; S. 227-261

Bowers, S. L.; Banerjee, I. und Baudino, T. A.

The extracellular matrix: at the center of it all
J. Mol. Cell. Cardiol.; Band 48; 2010; S. 474-482

Brockmann, M. A.; Kemmling, A. und Groden, C.

*Current issues and perspectives in small rodent magnetic resonance imaging using clinical MRI
scanners*
Methods; Band 43; 2007; S. 79-87

Buja, M. und Vela, L.

Cardiomyocyte death and renewal in the normal and diseased heart
Cardiovascular Pathology; Band 17; 2008; S. 349-374

Bunda, S.; Liu, P.; Wang, Y.; Liu, K. und Hinek, A.

*Aldosterone induces elastin production in cardiac fibroblasts through activation of insulin-like
growth factor-1 receptors in a mineralocorticoid receptor-independent manner*
Am. J. Pathol.; Band 171; 2007; S. 809-819

Caravan, P.

Kapitel 6: Cardiovascular Magnetic Resonance Contrast Agents
In: "Cardiovascular Magnetic Resonance ";
Churchill Livingstone; Philadelphia; 2010; 2. Aufl.; S. 76-90

Caravan, P.; Das, B.; Dumas, S.; Epstein, F. H.; Helm, P. A.; Jacques, V.; Koerner, S.; Kolodziej,
A.; Shen, L.; Sun, W. C. und Zhang, Z.

Collagen-targeted MRI contrast agent for molecular imaging of fibrosis
Angew. Chem. Int. Ed. Engl.; Band 46; 2007; S. 8171-8173

Caravan, P.; Farrar, C. T.; Frullano, L. und Uppal, R.

*Influence of molecular parameters and increasing magnetic field strength on relaxivity of
gadolinium- and manganese-based T1 contrast agents*
Contrast Media Mol. Imaging; Band 4; 2009; S. 89-100

Cerqueira, Manuel D.; Weissman, Neil J.; Dilsizian, Vasken; Jacobs, Alice K.; Kaul, Sanjiv; Laskey, Warren K.; Pennell, Dudley J.; Rumberger, John A.; Ryan, Thomas und Verani, Mario S.
Standardized Myocardial Segmentation and Nomenclature for Tomographic Imaging of the Heart: A Statement for Healthcare Professionals From the Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association
Circulation; Band 105; 2002; S. 539-542

Chan, W.; Ellims, A. H.; Duffy, S. J.; Kaye, D. M. und Taylor, A. J.
Principles, current status and clinical implications of ischaemic heart disease assessment by cardiac magnetic resonance imaging
Intern. Med. J.; Band 42; 2012; S. 7-17

Chen, Po-Yu; McKittrick, Joanna und Meyers, Marc André
Biological materials: Functional adaptations and bioinspired designs
Progress in Materials Science; Band 57; 2012; S. 1492-1704

Christensen, G.; Chen, J.; Ross Jr, J. und Chien, K. R.
Kapitel 5: Mouse Models of Human Cardiovascular Disease
In: "Molecular Basis of Cardiovascular Disease"; Chien, K. R. (Hrsg.)
W.B. Saunders; Philadelphia; 2004; S. 72-106

Coolen, B. F.; Paulis, L. E.; Geelen, T.; Nicolay, K. und Strijkers, G. J.
Contrast-enhanced MRI of murine myocardial infarction - part II
NMR Biomed.; Band 25; 2012; S. 969-984

Dixon, J. A. und Spinale, F. G.
Pathophysiology of myocardial injury and remodeling: implications for molecular imaging
J. Nucl. Med.; Band 51 Suppl 1; 2010; S. 102-106

Dobaczewski, M.; Gonzalez-Quesada, C. und Frangogiannis, N. G.
The extracellular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction
J. Mol. Cell. Cardiol.; Band 48; 2010; S. 504-511

Dropmann, K.
On the arrangement, the fine structure and the origin of connective tissue fibers in myocardial cicatrix with special reference to the formation of elastic fibers
Frankf. Z. Pathol.; Band 70; 1960; S. 311-323

Ehling, J.; Bartneck, M.; Fech, V.; Butzbach, B.; Cesati, R.; Botnar, R.; Lammers, T. und Tacke, F.
Elastin-based molecular MRI of liver fibrosis
Hepatology; 2013; S. 1517-1518

Farquharson, C. und Robins, S. P.
Immunolocalization of collagen types I, III and IV, elastin and fibronectin within the heart of normal and copper-deficient rats
J. Comp. Pathol.; Band 104; 1991; S. 245-255

Feintuch, A.; Zhu, Y.; Bishop, J.; Davidson, L.; Dazai, J.; Bruneau, B. G. und Henkelman, R. M.
4D cardiac MRI in the mouse
NMR Biomed.; Band 20; 2007; S. 360-365

Fogel, M.A.
Kapitel Contrast cardiac MR - anatomy, physiology, viability and perfusion
In: "Principles and Practice of Cardiac Magnetic Resonance in Congenital Heart Disease: Form, function and flow";
Wiley; Hoboken, New Jersey; 2010; S. S.75-92

Fomovsky, G. M.; Thomopoulos, S. und Holmes, J. W.
Contribution of extracellular matrix to the mechanical properties of the heart
J. Mol. Cell. Cardiol.; Band 48; 2010; S. 490-496

- Franco, F.; Dubois, S. K.; Peshock, R. M. und Shoheit, R. V.
Magnetic resonance imaging accurately estimates LV mass in a transgenic mouse model of cardiac hypertrophy
Am. J. Physiol.; Band 274; 1998; S. 679-683
- Franco, F.; Thomas, G. D.; Giroir, B.; Bryant, D.; Bullock, M. C.; Chwialkowski, M. C.; Victor, R. G. und Peshock, R. M.
Magnetic resonance imaging and invasive evaluation of development of heart failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-alpha
Circulation; Band 99; 1999; S. 448-454
- Garanger, E.; Hilderbrand, S. A.; Blois, J. T.; Sosnovik, D. E.; Weissleder, R. und Josephson, L.
A DNA-binding Gd chelate for the detection of cell death by MRI
Chem. Commun.; 2009; S. 4444-4446
- Geelen, T.; Paulis, L. E.; Coolen, B. F.; Nicolay, K. und Strijkers, G. J.
Contrast-enhanced MRI of murine myocardial infarction - part I
NMR Biomed.; Band 25; 2012; S. 953-968
- Gilson, W. D. und Kraitchman, D. L.
Cardiac magnetic resonance imaging in small rodents using clinical 1.5 T and 3.0 T scanners
Methods; Band 43; 2007; S. 35-45
- Gupta, A.; Lee, V. S.; Chung, Y. C.; Babb, J. S. und Simonetti, O. P.
Myocardial infarction: optimization of inversion times at delayed contrast-enhanced MR imaging
Radiology; Band 233; 2004; S. 921-926
- Hashemi, R.H.; Bradley, W.G. und Lisanti, C.J.
Kapitel 28: Cardiac MRI
In: "MRI: The Basics";
Wolters Kluwer Health; Alphen aan den Rijn; 2012; S. S. 327-341
- He, J.; Ogden, L. G.; Bazzano, L. A.; Vupputuri, S.; Loria, C. und Whelton, P. K.
Risk factors for congestive heart failure in us men and women: Nhanes i epidemiologic follow-up study
Arch. Intern. Med.; Band 161; 2001; S. 996-002
- Helm, P. A.; Caravan, P.; French, B. A.; Jacques, V.; Shen, L.; Xu, Y.; Beyers, R. J.; Roy, R. J.; Kramer, C. M. und Epstein, F. H.
Postinfarction Myocardial Scarring in Mice: Molecular MR Imaging with Use of a Collagen-targeting Contrast Agent¹
Radiology; Band 247; 2008; S. 788-796
- Holmes, J. W.; Borg, T. K. und Covell, J. W.
Structure and mechanics of healing myocardial infarcts
Annu. Rev. Biomed. Eng.; Band 7; 2005; S. 223-253
- Hombach, V. ; Grebe, O. ; Botnar, R. M. und Beerbaum, P.
Kapitel Kardiovaskuläre MR im Tierexperiment
In: "Kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie : Grundlagen, Technik, klinische Anwendung";
Hombach, V. ; Barkhausen, J. J. (Hrsg.)
Schattauer; Stuttgart; 2005a; S. 119-129
- Hombach, V. ; Grebe, O. ; Botnar, R. M. und Beerbaum, P.
Kapitel MRT-Kontrastmittel
In: "Kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie : Grundlagen, Technik, klinische Anwendung ";
Hombach, V. ; Barkhausen, J. J. (Hrsg.)
Schattauer; Stuttgart; 2005b; S. 59-74

- Hombach, V. ; Grebe, O. ; Botnar, R. M. und Beerbaum, P.
Kapitel Technische Grundlagen
In: "Kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie : Grundlagen, Technik, klinische Anwendung";
Hombach, V. ; Barkhausen, J. J. (Hrsg.)
Schattauer; Stuttgart [u.a.]; 2005c; S. 1-130
- Hort, W. und Canalis, S.
Untersuchungen an Rattenherzen mit Dauerligatur der linken Kranzarterie unter besonderer Berücksichtigung der Infarktgröße
Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.; Band 339; 1965; S. 53-60
- Hoyte, L. C.; Brooks, K. J.; Nagel, S.; Akhtar, A.; Chen, R.; Mardiguian, S.; McAteer, M. A.; Anthony, D. C.; Choudhury, R. P.; Buchan, A. M. und Sibson, N. R.
Molecular magnetic resonance imaging of acute vascular cell adhesion molecule-1 expression in a mouse model of cerebral ischemia
J. Cereb. Blood Flow Metab.; Band 30; 2010; S. 1178-1187
- Hsu, L. Y.; Ingkanisorn, W. P.; Kellman, P.; Aletras, A. H. und Arai, A. E.
Quantitative myocardial infarction on delayed enhancement MRI. Part II: Clinical application of an automated feature analysis and combined thresholding infarct sizing algorithm
J. Magn. Reson. Imaging; Band 23; 2006a; S. 309-314
- Hsu, L. Y.; Natanzon, A.; Kellman, P.; Hirsch, G. A.; Aletras, A. H. und Arai, A. E.
Quantitative myocardial infarction on delayed enhancement MRI. Part I: Animal validation of an automated feature analysis and combined thresholding infarct sizing algorithm
J. Magn. Reson. Imaging; Band 23; 2006b; S. 298-308
- Huang, S.; Chen, H. H.; Yuan, H.; Dai, G.; Schuhle, D. T.; Mekkaoui, C.; Ngoy, S.; Liao, R.; Caravan, P.; Josephson, L. und Sosnovik, D. E.
Molecular MRI of acute necrosis with a novel DNA-binding gadolinium chelate: kinetics of cell death and clearance in infarcted myocardium
Circulation. Cardiovascular imaging; Band 4; 2011; S. 729-737
- Huber, A. M.; Schoenberg, S. O.; Hayes, C.; Spannagl, B.; Engelmann, M. G.; Franz, W. M. und Reiser, M. F.
Phase-sensitive inversion-recovery MR imaging in the detection of myocardial infarction
Radiology; Band 237; 2005; S. 854-860
- Hundley, W. G.; Bluemke, D. A.; Finn, J. P.; Flamm, S. D.; Fogel, M. A.; Friedrich, M. G.; Ho, V. B.; Jerosch-Herold, M.; Kramer, C. M.; Manning, W. J.; Patel, M.; Pohost, G. M.; Stillman, A. E.; White, R. D. und Woodard, P. K.
ACCF/ACR/AHA/NASCI/SCMR 2010 expert consensus document on cardiovascular magnetic resonance: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Expert Consensus Documents
J. Am. Coll. Cardiol.; Band 55; 2010; S. 2614-2662
- Ibelgaufts, H.
Elastokines
(URL:<http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?key=elastokines>)
Stand: 17.09.2013
- Jackson Laboratory
JAX Mice Database - 000664 C57BL/6J
(URL:<http://jaxmice.jax.org/strain/000664.html>)
Stand: 5.12.2012
- Jaffer, F. A.; Libby, P. und Weissleder, R.
Molecular imaging of cardiovascular disease
Circulation; Band 116; 2007; S. 1052-1061

- Jourdan-Lesaux, C.; Zhang, J. und Lindsey, M. L.
Extracellular matrix roles during cardiac repair
Life Sci.; Band 87; 2010; S. 391-400
- Kellman, P.; Arai, A. E.; McVeigh, E. R. und Aletras, A. H.
Phase-sensitive inversion recovery for detecting myocardial infarction using gadolinium-delayed hyperenhancement
Magn. Reson. Med.; Band 47; 2002; S. 372-383
- Konstam, M. A.; Kramer, D. G.; Patel, A. R.; Maron, M. S. und Udelson, J. E.
Left Ventricular Remodeling in Heart Failure Current Concepts in Clinical Significance and Assessment
JACC: Cardiovascular Imaging; Band 4; 2011; S. 98-108
- Krams, M.; Frahm, S. O.; Kellner, U. und Mawrin, C
Kapitel Koronare Herzerkrankung und Herzinfarkt
In: "Kurzlehrbuch Pathologie";
Georg Thieme Verlag; Stuttgart [u.a.]; 2010; 1. Aufl.; S. 93-97
- Kumar, D.; Hacker, T. A.; Buck, J.; Whitesell, L. F.; Kaji, E. H.; Douglas, P. S. und Kamp, T. J.
Distinct mouse coronary anatomy and myocardial infarction consequent to ligation
Coron. Artery Dis.; Band 16; 2005a; S. 41-44
- Kumar, V. K.; Abbas, A. K.; Fausto, N.; Robbins, S. L. und Cotran, R. S.
Kapitel The Heart, Ischemic Heart Disease: Robbins and Cotran pathologic basis of disease
In: "Robbins and Cotran pathologic basis of disease";
Elsevier; Philadelphia; 2005b; 7. Aufl.; S. 571-586
- Laflamme, M. A. und Murry, C. E.
Heart regeneration
Nature; Band 473; 2011; S. 326-335
- Lichtenauer, M.; Mildner, M.; Baumgartner, A.; Hasun, M.; Werba, G.; Beer, L.; Altmann, P.; Roth, G.; Gyongyosi, M.; Podesser, B. K. und Ankersmit, H. J.
Intravenous and intramyocardial injection of apoptotic white blood cell suspensions prevents ventricular remodelling by increasing elastin expression in cardiac scar tissue after myocardial infarction
Basic Res. Cardiol.; Band 106; 2011; S. 645-655
- Liehn, E. A.; Postea, O.; Curaj, A. und Marx, N.
Repair after myocardial infarction, between fantasy and reality: the role of chemokines
J. Am. Coll. Cardiol.; Band 58; 2011; S. 2357-2362
- Linder, C. C. und Davisson, M. T.
Kapitel 3: Strains, Stocks, and Mutant Mice
In: "The Laboratory Mouse"; Hedrich, H. J. und Bullock, G. (Hrsg.)
Academic Press; London; 2004; S. 25-46
- Lüllmann-Rauch, R.
Kapitel Binde- und Stützgewebe
In: "Taschenlehrbuch Histologie";
Thieme; Stuttgart; 2006a; 2., komplett bearb. Aufl.; S. 112-129
- Lüllmann-Rauch, R.
Kapitel Herz
In: "Taschenlehrbuch Histologie";
Thieme; Stuttgart; 2006b; 2., komplett bearb. Aufl.; S. 254-259

- Lutgens, Esther; Daemen, Mat J.A.P; de Muinck, Ebo D; Debets, Jacques; Leenders, Peter und Smits, Jos F.M
Chronic myocardial infarction in the mouse: cardiac structural and functional change
Cardiovasc. Res.; Band 41; 1999; S. 586-593
- Lygate, C.
Surgical models of hypertrophy and heart failure: Myocardial infarction and transverse aortic constriction
Drug Discovery Today: Disease Models; Band 3; 2006; S. 283-290
- MacKenna, D.; Summerour, S. R. und Villarreal, F. J.
Role of mechanical factors in modulating cardiac fibroblast function and extracellular matrix synthesis
Cardiovasc. Res.; Band 46; 2000; S. 257-263
- Makowski, M.; Jansen, C.; Webb, I.; Chiribiri, A.; Nagel, E.; Botnar, R.; Kozerke, S. und Plein, S.
First-pass contrast-enhanced myocardial perfusion MRI in mice on a 3-T clinical MR scanner
Magn. Reson. Med.; Band 64; 2010; S. 1592-1598
- Makowski, M.; Wiethoff, A. J.; Blume, U.; Cuello, F.; Warley, A.; Jansen, C. H.; Nagel, E.; Razavi, R.; Onthank, D. C.; Cesati, R. R.; Marber, M. S.; Schaeffter, T.; Smith, A.; Robinson, S. P. und Botnar, R. M.
Assessment of atherosclerotic plaque burden with an elastin-specific magnetic resonance contrast agent
Nat. Med.; Band 17; 2011; S. 383-388
- Meier, L. und Hay, E. D.
Stimulation of corneal differentiation by interaction between cell surface and extracellular matrix. I. Morphometric analysis of transfilter "induction"
J. Cell Biol.; Band 66; 1975; S. 275-291
- Michael, L. H.; Entman, M. L.; Hartley, C. J.; Youker, K. A.; Zhu, J.; Hall, S. R.; Hawkins, H. K.; Berens, K. und Ballantyne, C. M.
Myocardial ischemia and reperfusion: a murine model
Am. J. Physiol.; Band 269; 1995; S. H2147-2154
- Michael, L. H.; Taffet, G. E.; Frangogiannis, N. G.; Entman, M. L. und Hartley, C. J.
Kapitel 13: The Cardiovascular System
In: "The Laboratory Mouse"; Hedrich, H. J. und Bullock, G. (Hrsg.)
Academic Press; London; 2004; S. 207-224
- Mithieux, S. M. und Weiss, A. S.
Kapitel Elastin
In: "Adv. Protein Chem."; Parry, A. D. und Squire, J. M. (Hrsg.)
Academic Press; London; 2005; S. 437-461
- Mizuno, T.; Mickle, D. A.; Kiani, C. G. und Li, R. K.
Overexpression of elastin fragments in infarcted myocardium attenuates scar expansion and heart dysfunction
Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.; Band 288; 2005a; S. 2819-2827
- Mizuno, T.; Yau, T. M.; Weisel, R. D.; Kiani, C. G. und Li, R. K.
Elastin stabilizes an infarct and preserves ventricular function
Circulation; Band 112; 2005b; S. 81-88
- Nahrendorf, M.; Sosnovik, D.; Chen, J. W.; Panizzi, P.; Figueiredo, J. L.; Aikawa, E.; Libby, P.; Swirski, F. K. und Weissleder, R.
Activatable magnetic resonance imaging agent reports myeloperoxidase activity in healing infarcts and noninvasively detects the antiinflammatory effects of atorvastatin on ischemia-reperfusion injury
Circulation; Band 117; 2008; S. 1153-1160

Nahrendorf, M.; Wiesmann, F.; Hiller, K. H.; Han, H.; Hu, K.; Waller, C.; Ruff, J.; Haase, A.; Ertl, G. und Bauer, W. R.

In vivo assessment of cardiac remodeling after myocardial infarction in rats by cine-magnetic resonance imaging

J. Cardiovasc. Magn. Reson.; Band 2; 2000; S. 171-180

Nahrendorf, M.; Wiesmann, F.; Hiller, K. H.; Hu, K.; Waller, C.; Ruff, J.; Lanz, T. E.; Neubauer, S.; Haase, A.; Ertl, G. und Bauer, W. R.

Serial cine-magnetic resonance imaging of left ventricular remodeling after myocardial infarction in rats

J. Magn. Reson. Imaging; Band 14; 2001; S. 547-555

Ni, Y.; Dymarkowski, S.

Kapitel Contrast Agents for Cardiac MRI

In: "Clinical Cardiac MRI"; Bogaert, J.; Dymarkowski, S. und Taylor, A. J. (Hrsg.)

Springer; Berlin, Heidelberg; 2005; S. 33-50

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, Robinson S

BMS753951: a novel low molecular weight magnetic resonance contrast agent selective for arterial wall imaging [abstract]

Circulation; Band 116; 2007; S. 411-412

Oostendorp, M.; Douma, K.; Hackeng, T. M.; Post, M. J.; van Zandvoort, M. A. und Backes, W. H.
Gadolinium-labeled quantum dots for molecular magnetic resonance imaging: R1 versus R2 mapping

Magn. Reson. Med.; Band 64; 2010a; S. 291-298

Oostendorp, M.; Douma, K.; Wagenaar, A.; Slenter, J. M.; Hackeng, T. M.; van Zandvoort, M. A.; Post, M. J. und Backes, W. H.

Molecular magnetic resonance imaging of myocardial angiogenesis after acute myocardial infarction

Circulation; Band 121; 2010b; S. 775-783

Patten, Richard D.; Aronovitz, Mark J.; Deras-Mejia, Luz; Pandian, Natesa G.; Hanak, George G.; Smith, John J.; Mendelsohn, Michael E. und Konstam, Marvin A.

Ventricular remodeling in a mouse model of myocardial infarction

American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology; Band 274; 1998; S. 1812-1820

Protti, A.; Sirker, A.; Shah, A. M. und Botnar, R.

Late gadolinium enhancement of acute myocardial infarction in mice at 7T: cine-FLASH versus inversion recovery

J. Magn. Reson. Imaging; Band 32; 2010; S. 878-886

Querol, M.; Chen, J. W.; Weissleder, R. und Bogdanov, A., Jr.

DTPA-bisamide-based MR sensor agents for peroxidase imaging

Org. Lett.; Band 7; 2005; S. 1719-1722

Rehwald, W. G.; Wagner, A.; Albert, T. S. E.; Sievers, B.; Dyke, C. K.; Elliott, M. I. D.; Grizzard, J. D.; Kim, R. J. und Judd, R. M.

Kapitel 2: Clinical Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging Techniques

In: "Cardiovascular Magnetic Resonance";

Churchill Livingstone; Philadelphia; 2010; S. 19-36

Rinck, P. A. und Muller, R. N.

Field strength and dose dependence of contrast enhancement by gadolinium-based MR contrast agents

Eur. Radiol.; Band 9; 1999; S. 998-1004

Robert-Koch-Institut

Kapitel 5.11: Prävalenz der koronaren Herzkrankheit

In: "Daten und Fakten: Ergebnisse der Studie "Gesundheit in Deutschland aktuell 2009""; Lange, C.; Ziese, J. (Hrsg.)

Robert Koch-Institut; Abteilung für Epidemiologie und Gesundheitsberichterstattung; Berlin; 2011; S. 82-84

Robinet, A.; Millart, H.; Oszust, F.; Hornebeck, W. und Bellon, G.

Binding of elastin peptides to S-Gal protects the heart against ischemia/reperfusion injury by triggering the RISK pathway

FASEB J.; Band 21; 2007; S. 1968-1978

Rohrer, M.; Bauer, H.; Mintorovitch, J.; Requardt, M. und Weinmann, H. J.

Comparison of magnetic properties of MRI contrast media solutions at different magnetic field strengths

Invest. Radiol.; Band 40; 2005; S. 715-724

Ruff, J.; Wiesmann, F.; Lanz, T. und Haase, A.

Magnetic resonance imaging of coronary arteries and heart valves in a living mouse: techniques and preliminary results

J. Magn. Reson.; Band 146; 2000; S. 290-296

Rummeny, E. J. und Allkemper, T.

Kapitel Herz

In: "Ganzkörper MR-Tomographie ";

Thieme; Stuttgart; 2006a; 2., vollst. bearb. und erw. Aufl.; S. 70-86

Rummeny, E. J. und Allkemper, T.

Kapitel MR-Kontrastmittel

In: "Ganzkörper MR-Tomographie ";

Thieme; Stuttgart; 2006b; 2., vollst. bearb. und erw. Aufl.; S. 25-30

Saraste, A.; Nekolla, S. G. und Schwaiger, M.

Cardiovascular molecular imaging: an overview

Cardiovasc. Res.; Band 83; 2009; S. 643-652

Saraste, A.; Nekolla, S. und Schwaiger, M.

Contrast-enhanced magnetic resonance imaging in the assessment of myocardial infarction and viability

J. Nucl. Cardiol.; 2007; S. 105-117

Schneider, J. E. und Neubauer, S.

Kapitel Experimental Cardiovascular MR in Small Animals

In: "Modern Magnetic Resonance"; Webb, Graham A. (Hrsg.)

Springer; Netherlands; 2006; S. 835-853

Setser, R. M.; Chung, Y. C.; Weaver, J. A.; Stillman, A. E.; Simonetti, O. P. und White, R. D.

Effect of inversion time on delayed-enhancement magnetic resonance imaging with and without phase-sensitive reconstruction

J. Magn. Reson. Imaging; Band 21; 2005; S. 650-655

Shimizu, S.

Kapitel 32: Routes of Administration

In: "The Laboratory Mouse"; Hedrich, H. J. und Bullock, G. (Hrsg.)

Academic Press; London; 2004; S. 527-542

Simonetti, O. P.; Kim, R. J.; Fieno, D. S.; Hillenbrand, H. B.; Wu, E.; Bundy, J. M.; Finn, J. P. und Judd, R. M.

An improved MR imaging technique for the visualization of myocardial infarction

Radiology; Band 218; 2001; S. 215-223

SNMMI, (Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging)

What is Molecular Imaging(URL:<http://interactive.snm.org/index.cfm?PageID=11202>)

Stand: 7.12.2012

Sosnovik, D. E.

Molecular imaging in cardiovascular magnetic resonance imaging: current perspective and future potential

Top. Magn. Reson. Imaging; Band 19; 2008; S. 59-68

Sosnovik, D. E.; Garanger, E.; Aikawa, E.; Nahrendorf, M.; Figueiredo, J. L.; Dai, G.; Reynolds, F.; Rosenzweig, A.; Weissleder, R. und Josephson, L.

Molecular MRI of cardiomyocyte apoptosis with simultaneous delayed-enhancement MRI distinguishes apoptotic and necrotic myocytes in vivo: potential for midmyocardial salvage in acute ischemia

Circulation. Cardiovascular imaging; Band 2; 2009; S. 460-467

Sosnovik, D. E.; Nahrendorf, M.; Deliollanis, N.; Novikov, M.; Aikawa, E.; Josephson, L.;

Rosenzweig, A.; Weissleder, R. und Ntziachristos, V.

Fluorescence tomography and magnetic resonance imaging of myocardial macrophage infiltration in infarcted myocardium in vivo

Circulation; Band 115; 2007; S. 1384-1391

Sosnovik, D. E.; Schellenberger, E. A.; Nahrendorf, M.; Novikov, M. S.; Matsui, T.; Dai, G.;

Reynolds, F.; Grazette, L.; Rosenzweig, A.; Weissleder, R. und Josephson, L.

Magnetic resonance imaging of cardiomyocyte apoptosis with a novel magneto-optical nanoparticle

Magn. Reson. Med.; Band 54; 2005; S. 718-724

Statistisches Bundesamt

Herz-Kreislauf-Erkrankungen verursachen die höchsten Krankheitskosten(URL:<https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Krankheitskosten/Aktuell.html>)

Stand: 18.08.2012

Statistisches Bundesamt

Staat & Gesellschaft - Todesursachen - Todesursachen - Statistisches Bundesamt (Destatis)(URL:<https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/SterbefaelleInsgesamt.html>)

Stand: 6.1.2013

Steenbergen, C. und Frangogiannis, N. G.

Kapitel Chapter 36 - Ischemic Heart Disease: Chapter 36 - Ischemic Heart Disease

In: "Muscle"; Joseph, Hill (Hrsg.)

Academic Press; Boston/Waltham; 2012; S. 495-521

Sutton, M. G. und Sharpe, N.

Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy

Circulation; Band 101; 2000; S. 2981-2988

Vallee, J. P.; Ivancevic, M. K.; Nguyen, D.; Morel, D. R. und Jaconi, M.

Current status of cardiac MRI in small animals

MAGMA; Band 17; 2004; S. 149-156

van den Bos, E. J.; Mees, B. M. E.; de Waard, M. C.; de Crom, R. und Duncker, D. J.

A novel model of cryoinjury-induced myocardial infarction in the mouse: a comparison with coronary artery ligation

American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology; Band 289; 2005; S. 1291-1300

Vivaldi, M. T.; Kloner, R. A. und Schoen, F. J.

Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats

Am. J. Pathol.; Band 121; 1985; S. 522-530

Voelkl, J. G.; Haubner, B. J.; Kremser, C.; Mayr, A.; Klug, G.; Loizides, A.; Muller, S.; Pachinger, O.; Schocke, M. und Metzler, B.

Cardiac imaging using clinical 1.5 t MRI scanners in a murine ischemia/reperfusion model

Journal of biomedicine & biotechnology; Band 2011; 2011; S. 1-8

von Bary, C.; Makowski, M.; Preissel, A.; Keithahn, A.; Warley, A.; Spuentrup, E.; Buecker, A.; Lazewatsky, J.; Cesati, R.; Onthank, D.; Schickl, N.; Schachoff, S.; Hausleiter, J.; Schomig, A.; Schwaiger, M.; Robinson, S. und Botnar, R.

MRI of coronary wall remodeling in a swine model of coronary injury using an elastin-binding contrast agent

Circulation. Cardiovascular imaging; Band 4; 2011; S. 147-155

WHO

WHO | Cardiovascular diseases (CVDs)

(URL:<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>)

Stand: 23.16.2012

Wildgruber, M.; Settles, M.; Kosanke, K.; Bielicki, I.; Ntziachristos, V.; Rummeny, E. J.; Botnar, R. M. und Huber, A. M.

Evaluation of phase-sensitive versus magnitude reconstructed inversion recovery imaging for the assessment of myocardial infarction in mice with a clinical magnetic resonance scanner

J. Magn. Reson. Imaging; Band 36; 2012; S. 1372-1382

Wilson, S. C.

Kapitel Prognosis of heart failure

In: "UpToDate"; Gottlieb, S. (Hrsg.)

Yeon, S. B.; 2013

Yang, Y.; Liu, J.; Yang, Y.; Cho, S. H. und Hu, T. C.

Assessment of cell infiltration in myocardial infarction: a dose-dependent study using micrometer-sized iron oxide particles

Magn. Reson. Med.; Band 66; 2011; S. 1353-1361

Yang, Y.; Yang, Y.; Yanasak, N.; Schumacher, A. und Hu, T. C.

Temporal and noninvasive monitoring of inflammatory-cell infiltration to myocardial infarction sites using micrometer-sized iron oxide particles

Magn. Reson. Med.; Band 63; 2010; S. 33-40

Zamilpa, R. und Lindsey, M. L.

Extracellular matrix turnover and signaling during cardiac remodeling following MI: causes and consequences

J. Mol. Cell. Cardiol.; Band 48; 2010; S. 558-563

10 Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei Prof. Dr. Ernst Rummeny, Direktor des Instituts für diagnostische und interventionelle Radiologie an der Technischen Universität München, für die Möglichkeit bedanken, diese Arbeit unter seiner Leitung durchführen zu können.

Darüber hinaus danke ich besonders Dr. Moritz Wildgruber für die interessante Themenstellung und die hervorragende und intensive Betreuung.

Herrn Dr. Marcus Settles danke ich für die regelmäßige Unterstützung bei der Sequenzoptimierung und der Durchführung der MRT-Experimente.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn PD Dr. Armin Huber für die konstruktive Kritik und Anregungen zu Fragen der Sequenztechnik und molekularer Bildgebung bedanken.

Herzlichen bedanken möchte ich mich auch bei Prof. Dr. René Botnar, King's College London, der diese Arbeit durch seine große Expertise und Erfahrung im Bereich molekularer Bildgebung sowie detaillierte Kenntnisse über das elastinbindende Kontrastmittel Gd-ESMA unterstützt hat.

Eine große Hilfe bei statistischen Fragen und Problemen war Herr Dipl.-Stat. Bernhard Haller vom Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie der Technischen Universität München.

Die Anfertigung histologischer Färbungen wurde wesentlich durch Frau Dr. Michaela Aichler vom Institut für Pathologie am Helmholtz-Zentrum München unterstützt. Ich möchte mich an dieser Stelle nochmals herzlich dafür bedanken.

Besonderen Dank möchte ich auch der gesamten Arbeitsgruppe am Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie, für die gute Arbeitsatmosphäre und stete Hilfsbereitschaft aussprechen. Vor allem Frau Dr. Katja Kosanke möchte ich für die gute Zusammenarbeit und Unterstützung danken, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Weiterhin möchte ich mich bei Benedikt Niepötter für die Durchsicht meiner Arbeit sowie für die vielseitige Unterstützung bedanken.

11 Lebenslauf

Isabella Naomi Bielicki

geboren am 01. Juli 1987 in Frankfurt am Main

Bildungsweg

- 1998-2007 Carl-Schurz-Schule, Gymnasium, Frankfurt
- Abitur Frühjahr 2007
- 2007-2010 Humanmedizin an der Universität zu Lübeck
- 1. Staatsexamen Sommer 2009
- 2011- 2014 Humanmedizin an der Technischen Universität München
- 2. Staatsexamen Frühjahr 2014
- 2011-2014 Promotion am Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie
Thema: Magnetresonanztomographische Bildgebung des akuten Myokardinfarktes sowie des myokardialen Remodelings im Mausmodell mit Hilfe eines Elastin-bindenden Kontrastmittels
Doktorvater: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny, Klinikum Rechts der Isar, München

Veröffentlichungen

- 2012 "Evaluation of phase-sensitive versus magnitude reconstructed inversion recovery imaging for the assessment of myocardial infarction in mice with a clinical magnetic resonance scanner."
Wildgruber, M., M. Settles, K. Kosanke, I. Bielicki, V. Ntziachristos, E. J. Rummeny, R. M. Botnar and A. M. Huber.
Journal of Magnetic Resonance Imaging
- 2013 "Cardioprotective C-kit(+) bone marrow cells attenuate apoptosis after acute myocardial infarction in mice - in-vivo assessment with fluorescence molecular imaging."
Ale, A., F. Siebenhaar, K. Kosanke, M. Aichler, K. Radrich, S. Heydrich, M. Schiemann, I. Bielicki, P. B. Noel, R. Braren, M. Maurer, A. K. Walch, E. J. Rummeny, V. Ntziachristos and M. Wildgruber.
Theranostics
"Assessment of Myocardial Infarction and Post-infarction Scar Remodeling with an Elastin-specific Magnetic Resonance Agent."
Wildgruber, M., I. Bielicki, M. Aichler, K. Kosanke, A. Feuchtinger, M. Settles, D. C. Onthank, R. R. Cesati, S. P. Robinson, A. M. Huber, E. J. Rummeny, A. K. Walch and R. M. Botnar.
Circulation: Cardiovascular Imaging

Stipendien

- 2007-2014 Stipendium der Studienstiftung des deutschen Volkes

Sprachkenntnisse

Kompetente Sprachverwendung: Deutsch, Englisch

Selbstständige Sprachverwendung: Polnisch, Französisch