

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Zentrum für Radiologie und Endoskopie

Klinik und Poliklinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie und Nuklearmedizin

Direktor: Prof. Dr. med. G. Adam

Untersuchung des pulmonalarteriellen Blutflusses sowie kardialer Parameter mittels Magnetresonanztomographie im Mausmodell einer pulmonalen Hypertonie

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von

Maria Carola Wienand
aus Hamburg

Hamburg 2021

Angenommen von der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 23.07.2021

Veröffentlicht mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Stefan Kluge

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. Kersten Peldschus

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Anatomie der Lunge und des Lungenkreislaufs.....	1
1.2	Physiologie des Lungenkreislaufs.....	2
1.3	Pathophysiologie der pulmonalen Hypertonie	3
1.4	Tiermodelle zur Untersuchung der pulmonalen Hypertonie.....	6
1.5	Bildgebungsmethoden	9
1.5.1	Magnetresonanztomographie.....	9
2	Arbeitshypothese und Fragestellung	14
3	Material und Methoden	15
3.1	Untersuchung von EKG- und Pulsoxymetrie zur Triggerung von pulmonalarteriellen Flussmessungen mittels MRT	15
3.1.1	Mausmodell	15
3.1.2	Versuchsaufbau.....	15
3.1.3	MRT-Untersuchung	17
3.1.4	Auswertung der MRT-Bilder	19
3.1.5	Statistische Auswertung	20
3.2	Untersuchung des pulmonalarteriellen Blutflusses und kardialer Parameter im Mausmodell der pulmonalen Hypertonie mittels MRT	21
3.2.1	Mausmodell	21
3.2.2	Versuchsaufbau.....	22
3.2.3	MRT-Bildgebung.....	22
3.2.4	Auswertung der MRT-Bilder	23
3.2.5	Quantitative Bestimmung der Herzgewichte	25
3.2.6	Statistische Auswertung	26
4	Ergebnisse	27
4.1	Untersuchung von EKG- und Pulsoxymetrie zur Triggerung von pulmonalarteriellen Flussmessungen mittels MRT	27
4.1.1	EKG-getriggerte Messungen	27
4.1.2	Pulsoxymetrie-getriggerte Messungen	29
4.1.3	Vergleich von Puls- und EKG-getriggerten Messungen.....	32
4.2	Untersuchung des pulmonalarteriellen Blutflusses und kardialer Parameter im Mausmodell der pulmonalen Hypertonie mittels MRT	39
4.2.1	Flussmessungen	39
4.2.2	Volumetrie und Wanddicke des rechten Ventrikels	47
4.2.3	Volumetrie und Wanddicke des linken Ventrikels.....	51
4.2.4	Korrelation der MRT-Messwerte und Herzgewichte.....	55

5	Diskussion	57
5.1	Untersuchung einzelner Triggermethoden und deren Einfluss auf pulmonalarterielle Flussmessungen mittels MRT	57
5.2	Untersuchung des pulmonalarteriellen Blutflusses und kardialer Parameter im Mausmodell der pulmonalen Hypertonie mittels MRT	61
6	Zusammenfassung	67
7	Abstract	68
8	Abkürzungsverzeichnis	69
9	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	71
10	Literaturverzeichnis	74
11	Danksagung	79
12	Lebenslauf	80
13	Eidesstattliche Versicherung	81

1 Einleitung

1.1 Anatomie der Lunge und des Lungenkreislaufs

Das Gefäßsystem des Menschen wird unterteilt in den Lungen- und in den Körperkreislauf (Abbildung 1). Nachdem das Blut den Körper mit Sauerstoff versorgt hat, fließt es durch den rechten Vorhof in die rechte Herzkammer und von dort in den Pulmonalarterienhauptstamm, auch Truncus pulmonalis genannt. Der Pulmonalarterienhauptstamm spaltet sich in eine rechte und linke Pulmonalarterie auf, die in den rechten bzw. linken Lungenflügel münden. Im Kapillarbett der Lunge wird das Blut mit Sauerstoff angereichert und gelangt schließlich über die Lungenvenen in den linken Vorhof und damit in den Körperkreislauf. (Schünke et al., 2018)

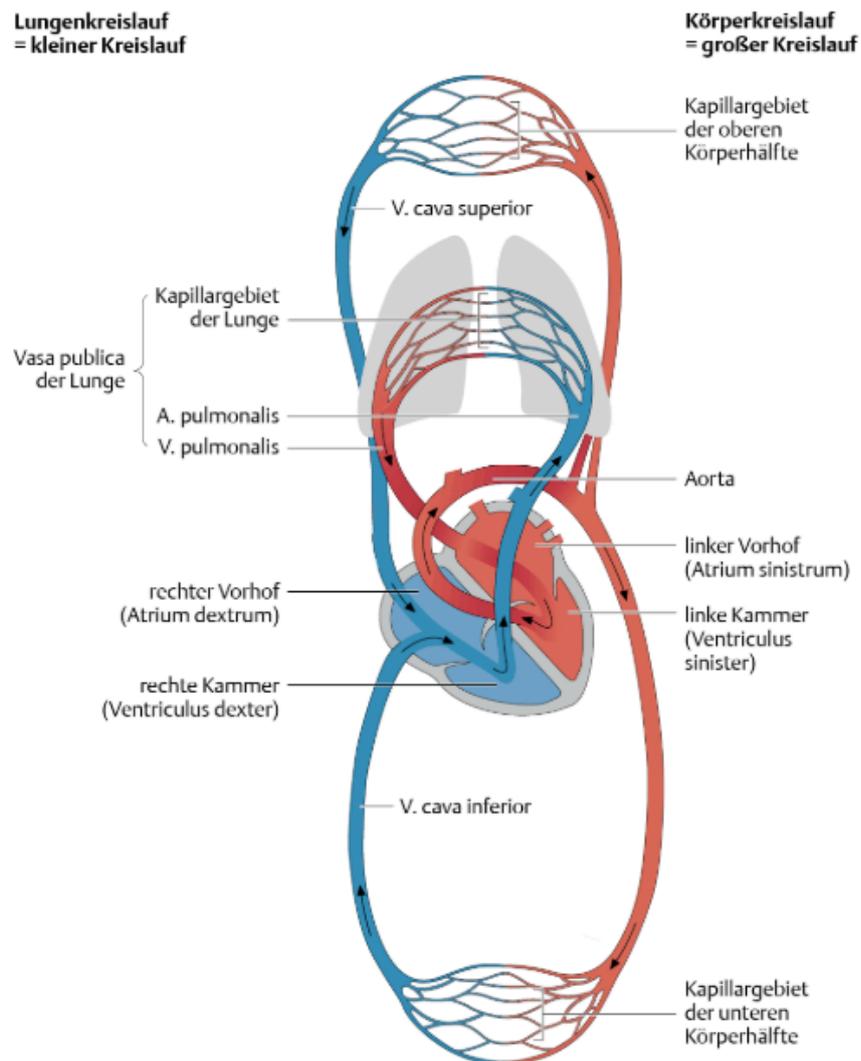


Abbildung 1: Blutkreislauf (Aumüller et al., 2017)

Die Luft fließt über die Atemwege in die Trachea, welche sich in die beiden Hauptbronchien aufteilt. Den Hauptbronchien folgt eine immer kleiner werdende Aufzweigung in Segmentbronchien, kleinere Bronchioli und schließlich in die Alveolen, welche sich wie Weintrauben an einer Rebe den Bronchioli respiratorii anlagern (Abbildung 2). Die Bronchien und Bronchioli besitzen eine glatte Muskulatur, sodass durch Kontraktion das Lumen verengt werden kann und der Luftstrom behindert wird. Die Wand der Alveolen besteht aus nur einer Zellschicht und ist dadurch sehr dünn. Für den Gasaustausch haben die Alveolen direkten Kontakt mit den Kapillaren und ermöglichen so eine sehr kurze Diffusionsstrecke. (Schünke et al., 2018)

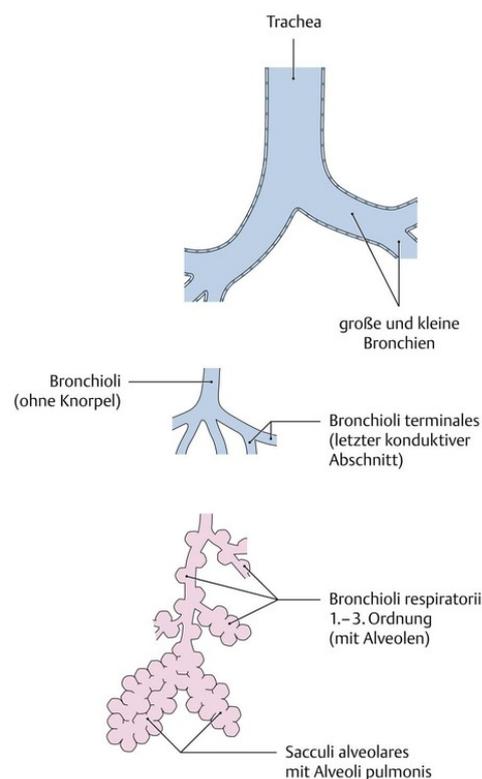


Abbildung 2: Funktioneller Aufbau des Bronchialbaums (Schünke et al., 2018)

1.2 Physiologie des Lungenkreislaufs

Anders als der Körperkreislauf, hat der Lungenkreislauf einen sehr geringen Druck. Der Pulmonalarteriendruck, welcher als PAP (Pulmonary Artery Pressure) abgekürzt wird, beträgt in der Systole etwa 20 mmHg, in der Diastole 7 mmHg und der pulmonalarterielle Mitteldruck (mPAP) etwa 12 mmHg. Die zu überwindende Druckdifferenz zwischen dem rechten Ventrikel und dem Lungenkreislauf ist sehr gering und benötigt einen geringeren Kraftaufwand, als es bei dem linken Ventrikel und dem Körperkreislauf der Fall ist. So fließt das Blut nahezu passiv durch den Lungenkreislauf. (Pape et al., 2014)

Die Lungendurchblutung wird durch den pulmonalen Perfusionsdruck und den lokalen Sauerstoffpartialdruck gesteuert. Der schon geringe Gefäßwiderstand nimmt bei einer Erhöhung des PAP weiter ab, da es zu einer „druckpassiven Änderung der Gefäßweite“ (Pape et al., 2014) kommt. So kann die Durchblutung der Lunge schnell gesteigert werden. Bei einer Senkung des Sauerstoffpartialdrucks in der Atemluft kommt es zu einer hypoxischen Vasokonstriktion der betroffenen Areale. Man nennt dieses Phänomen den von Euler-Liljestrand-Mechanismus (von Euler and Liljestrand, 1946). Dieser führt zu einer Zunahme des pulmonalen Strömungswiderstandes und zu einer Minderperfusion der Areale mit niedrigerem Sauerstoffpartialdruck. Von Vorteil ist dies zur Optimierung des Ventilations-Perfusions-Verhältnisses. Beispielsweise wenn bestimmte Areale bei einer Pneumonie schlechter ventilert werden als andere, kann die Durchblutung dieser Areale so verringert werden, zugunsten der Durchblutung besser durchlüfteter Areale (Pape et al., 2014, Sommer et al., 2016).

Betrifft die hypoxische Vasokonstriktion die ganze Lunge, z.B. bei einem Höhengaufenthalt oder dem Aufenthalt in einer hypoxischen Umgebung, führt dies zu einem deutlichen Anstieg des PAP. Langfristig führt dies zu einer Vermehrung der glatten Gefäßmuskulatur in den Pulmonalarterien und es kommt zu einem chronisch erhöhten Druck bzw. zur pulmonalen Hypertonie PH). (Pape et al., 2014, Sommer et al., 2016)

Der von Euler-Liljestrand-Mechanismus setzt bei einem Sauerstoffpartialdruck von 60 bis 70 mmHg ein (Pape et al., 2014). Der Sauerstoffpartialdruck in der Umgebungsluft auf Meereshöhe beträgt etwa 150 mmHg.

Dieses Phänomen betrifft nicht nur Menschen, sondern alle Wirbeltiere und wird im Laufe dieser Arbeit noch weiter anhand der Maus behandelt.

1.3 Pathophysiologie der pulmonalen Hypertonie

Es gibt verschiedene Mechanismen, die zu einer pulmonalen Hypertonie (PH) führen. Wie bereits erwähnt, ist die hypoxische Vasokonstriktion, aufgrund von einem zu niedrigem Sauerstoffpartialdruck in der Atemluft, ein möglicher Entstehungsweg.

In aktuellen Empfehlungen wird von einer PH ab einem mPAP von > 20 mmHg gesprochen (Condon et al., 2019). Ein normwertiger mPAP entspricht etwa 14 mmHg und die obere Grenze des 95% Intervalls beträgt 20 mmHg (Simonneau et al., 2019). Gemessen wird der Druck mittels Rechtsherzkatheteruntersuchung, dem Goldstandard in der Diagnostik der PH (Galie et al., 2015). Um zwischen präkapillärer und postkapillärer PH zu unterscheiden, wird die pulmonale vaskuläre Resistenz gemessen. Ab ≥ 3 Wood Units wird von einer präkapillären PH gesprochen und bei < 3 Wood Units von einer postkapillären PH (Simonneau et al., 2019).

Aufgrund der vielfältigen Entstehungsmöglichkeiten der PH hat sich eine Klassifizierung in fünf Gruppen etabliert. Die Klassifizierung fand anhand von „ähnlichem klinischen Erscheinungsbild, pathologischen Auffälligkeiten, hämodynamischen Eigenschaften oder der Behandlungsstrategie“ (Galie et al., 2015) statt.

Man klassifiziert die PH in folgende Gruppen:

1. Pulmonal arterielle Hypertonie (PAH)
2. PH infolge von Linksherzerkrankungen
3. PH infolge von Lungenerkrankungen und/oder Hypoxie
4. Chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie (CTEPH) und andere Pulmonalarterien-Obstruktionen
5. Pulmonale Hypertonie mit unklarem oder multifaktoriellem Mechanismus

Die pulmonal arterielle Hypertonie (PAH), welche in Gruppe 1 zusammengefasst wird, hat charakteristische histopathologische Auffälligkeiten. Bei dem Krankheitsprozess kommt es in der Lunge zu einer proliferativen Vaskulopathie und zu einem Umbau im distalen arteriellen Gefäßbett und dadurch zu Verengungen des Gefäßlumens (Kim and George, 2019). Diese Veränderungen der Lunge führen zu einem erhöhten Widerstand und damit zu einer PH. Am häufigsten ist die idiopathische PAH (Kim and George, 2019). Viele systemische Grunderkrankungen erhöhen das Risiko eine PAH zu entwickeln, z.B. systemische Sklerose oder das Humane-Immundefizienz Virus (Foris, 2017). Da der erhöhte Druck sich schon vor dem Kapillarbett aufbaut, spricht man auch von präkapillärer PH.

Die PH aufgrund von Linksherzerkrankungen (Gruppe 2), wie beispielsweise angeborene Herzfehler, führen häufig zu einem erhöhten Druck im linken Vorhof (Cajigas and Awdish, 2016). Dies überträgt sich rückwirkend auf die Lungen und führt hier ebenfalls zu einem erhöhten Druck. In diesem Fall spricht man von postkapillärer PH, da die vom erhöhten Druck betroffenen Teile des Lungengefäßsystems sich nach dem Kapillarbett befinden (Cajigas and Awdish, 2016).

In der Gruppe 3 der PH werden Erkrankungen infolge von Hypoxie oder Lungenerkrankungen kategorisiert. Diese entstehen, wie im Abschnitt oben erwähnt, aufgrund der hypoxischen Vasokonstriktion. Erkrankungen, die zu diesem Prozess führen, sind beispielsweise chronisch obstruktive Lungenerkrankungen, interstitielle Lungenerkrankungen, pulmonale Entwicklungsstörungen oder alveoläre Hypoxie, z.B. durch obstruktive Schlafapnoe (Cajigas and Awdish, 2016, Foris, 2017). Durch die

chronische hypoxische Vasokonstriktion kommt es zu Umbauprozessen in den Pulmonalarterien und einer Vermehrung der glatten Muskulatur. Dies führt bei einem langfristig erhöhten mPAP zur PH (Pape et al., 2014). Die genauen Prozesse, die zu diesen Veränderungen führen, sind fortlaufend Gegenstand der Forschung. Man geht derzeit davon aus, dass die Hypoxie den Kalziumgehalt im Zytosol erhöht und damit die Vasokonstriktion auslöst (Dunham-Snary et al., 2017). Zudem wird vermutet, dass bei Hypoxie der Transkriptionsfaktor Hypoxie-induzierter Faktor 1-alpha ausgeschüttet wird, der zu einem Gefäßumbau und so zur PH führt (Dunham-Snary et al., 2017).

Bei der chronisch thromboembolischen pulmonalen Hypertonie (CTEPH) (Gruppe 4) kommt es zu einer Blockade in den Pulmonalarterien durch Thromben aus dem venösen System. Nur in 50-75% der Fälle wird dabei von einer Lungenembolie in der Vorgeschichte berichtet (Opitz and Ulrich, 2018). Wenn der Thrombus sich nicht vollständig auflöst und es zusätzlich zu einer Fibrosierung im Gefäßbett kommt, wird der Blutfluss zunehmend beeinträchtigt und es entsteht eine CTEPH (Opitz and Ulrich, 2018). Faktoren, die diesen Prozess begünstigen, sind Entzündungen, Infektionen, hämatologische Erkrankungen oder eine gestörte Angiogenese (Simonneau et al., 2017).

In der Gruppe 5 werden Erkrankungen zusammengefasst, die ebenfalls zu einer PH führen. Hier findet man Erkrankungen wie die chronisch hämolytische Anämie, Systemerkrankungen wie die Sarkoidose oder metabolische Erkrankungen, sowie viele weitere Erkrankungen, die zu einer PH führen, jedoch keiner der anderen Gruppen zugeordnet werden können (Foris, 2017). Die Pathophysiologien der Erkrankungen der Gruppe 5 sind sehr unterschiedlich. In den meisten Fällen kommt es jedoch zu einer chronischen Hypoxie der Lunge, die zu einer PH führt (Humbert et al., 2013).

Die Charakteristiken der PH, die man in der Bildgebung der thorakalen Organe sieht, sind je nach Ätiologie sehr unterschiedlich. Bei einem längeren Bestehen der Krankheit sieht man jedoch häufig einen strukturellen Umbau des rechten Ventrikels (RV). Der RV arbeitet gegen den erhöhten Druck im Lungenkreislauf, wodurch es zu einer Hypertrophie des RV kommt. Dies führt zu einer erhöhten Wanddicke im Vergleich zu gesunden Herzen. Durch den erhöhten Druck steigt außerdem die Nachlast des RV. Um dies zu kompensieren und das Schlagvolumen zu halten, wird die Vorlast gesteigert und mehr Blut im RV gesammelt. Im Verlauf führt dies zu einer Dilatation des RV. Die Dilatation kann so weit voranschreiten, dass das Septum nicht wie üblicherweise in Richtung RV gebogen ist, sondern in Richtung des linken Ventrikels (Abbildung 3).

Um eine Hypertrophie des rechten Ventrikels zu quantifizieren, wird der Fulton-Index angewendet. Dieser setzt das Gewicht des rechten Ventrikels mit dem Gewicht des linken Ventrikels (LV) inklusive des Septums (S) ins Verhältnis ($RV/(LV+S)$). Je größer der Wert

ist, desto größer ist der rechte Ventrikel im Vergleich zum linken Ventrikel und dem Septum. (Ma et al., 2016)

Außerdem ist bei einer chronischen PH eine Dilatation der Pulmonalarterien zu beobachten. Langfristig führen die strukturellen Veränderungen zu einem Herzversagen, was letztendlich die Todesursache, für Menschen die an PH erkranken, darstellt.

(Franco, 2012)

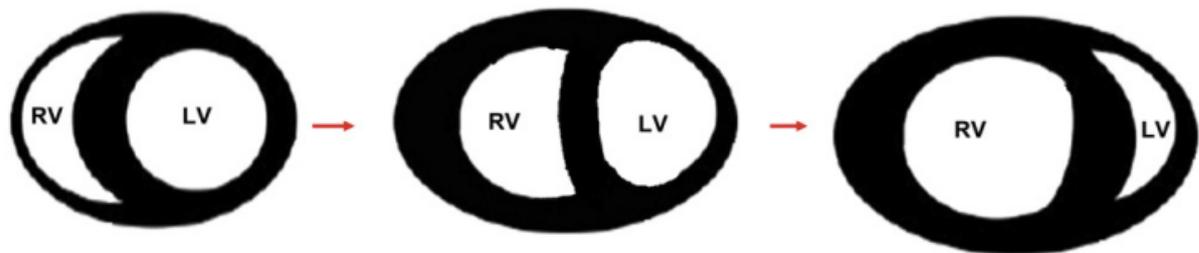


Abbildung 3: Dilatation des rechten Ventrikels (Franco, 2012)

1.4 Tiermodelle zur Untersuchung der pulmonalen Hypertonie

Die ersten Untersuchungen zu den Druckverhältnissen der Lunge fanden bereits Mitte des 19. Jahrhunderts durch Adolf Beutner im Katzenmodell statt. Dieser führte zum ersten Mal Messungen zur Bestimmung des PAP durch und ermittelte einen durchschnittlichen mPAP von 17,6 mmHg (Beutner, 1852).

Den Durchbruch erlangten von Euler und Liljestrand 1946, indem sie erstmals beschrieben, wie die Druckverhältnisse in der Lunge durch Sauerstoffmangel beeinflusst werden können (von Euler and Liljestrand, 1946). In ihren Versuchen mit Katzen führten sie einen Katheter in die Pulmonalarterie ein, zur Messung des PAP. Bei einer Verringerung des Sauerstoffgehalts in der Atemluft auf ca. 10% in Stickstoff, war ein deutlicher Anstieg des PAP zu sehen. Dieser wurde als direkter Effekt der Lungengefäße auf einen geringen Sauerstoffgehalt in der Atemluft gedeutet. Das Atmen von 100% Sauerstoff wiederum senkte den PAP. Dargestellt wird dies in Abbildung 4. (von Euler and Liljestrand, 1946)

Auf diese Versuche bezieht sich der bereits beschriebene von Euler-Liljestrand-Effekt. Durch die Hypoxie in der Atemluft kommt es zu einer Konstriktion der davon betroffenen Lungengefäße, sodass das Blut umverteilt werden kann, in die Bereiche, die besser durchlüftet werden, bzw. mehr Sauerstoff erhalten. Unter längeren hypoxischen Verhältnissen entwickelt sich, durch Umbauprozesse der Lunge, eine chronische PH.

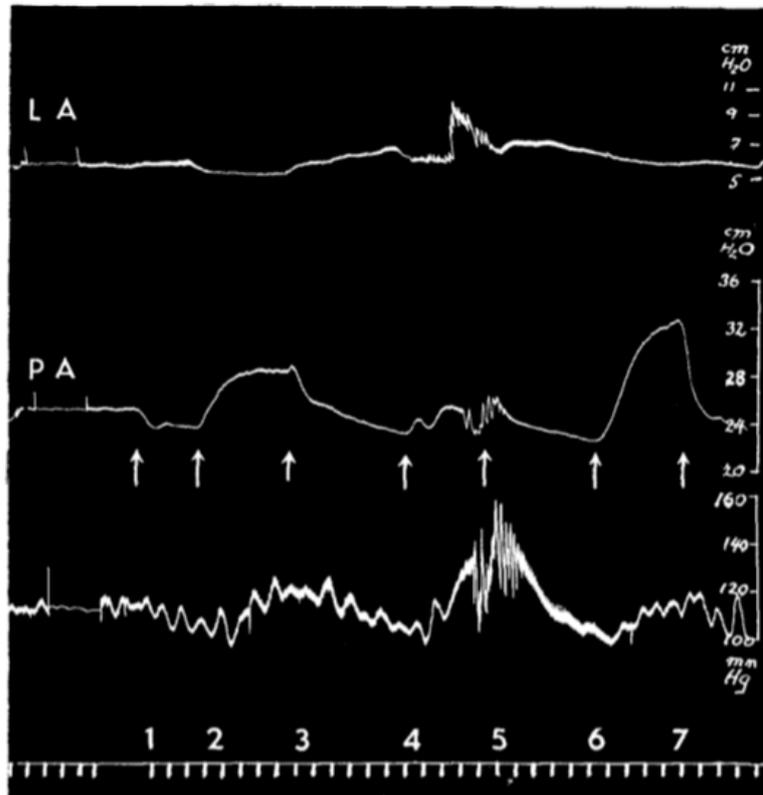


Fig. 6. Cat. 3.9 kg. Chloralose. Uppermost curve pressure in left auricle, middle curve pulmonary arterial pressure, lower curve systemic blood pressure. 1. O₂ (from air). 2. 6.5 p. c. CO₂ in O₂. 3. O₂. 4. 18.7 p. c. CO₂ in O₂. 5. O₂. 6. 10.5 p. c. O₂ in N₂. 7. O₂. Artificial respiration, open thorax. Time 30 sec.

Abbildung 4: Protokoll der Versuche von von Euler und Liljestrand (von Euler and Liljestrand, 1946)

Zur weiteren Untersuchung der PH wurden zahlreiche Versuche an Tiermodellen durchgeführt. Neben Versuchen an Schweinen (Ananthkrishnan et al., 2009, Roehl et al., 2009) oder Schafen (Abman et al., 1989), wurden vor allem Versuche an Nagetieren, insbesondere an Ratten und Mäusen, durchgeführt (Stenmark et al., 2009).

Um eine PH im Tiermodell zu induzieren, gibt es mehrere Möglichkeiten. Diese unterteilt man in chemische, physische und genetische Modelle (Nogueira-Ferreira et al., 2016).

Chemisch induziert wird die PH insbesondere durch Monocrotalin, ein Alkaloid welches Umbauprozesse in der Lunge induziert (Mathew and Lakshminrusimha, 2018, Urboniene et al., 2010).

Es gibt drei verschiedene Arten von physischen Modellen, um eine PH zu verursachen: Mikroembolien, chirurgische Verfahren und chronische Hypoxie (Nogueira-Ferreira et al., 2016). Durch die wiederholte Gabe von synthetischen Mikropartikeln werden kleine Embolien verursacht, wodurch der Druck in den Pulmonalarterien steigt und eine PH entsteht. Dies entspricht dem Pathomechanismus der Gruppe 4 der PH. Chirurgische Verfahren beinhalten das Verengen der Pulmonalarterie mit einem Band, sowie einen

Aorto-Cavalen-Shunt. Beide Verfahren führen zwangsläufig zu einem Druckanstieg im Lungenkreislauf und somit zur PH. Für kleinere Tiere, wie Mäuse, sind diese Operationen jedoch sehr schwierig, bzw. nicht durchführbar. Alternativ kann, wie bereits erläutert, eine PH durch chronische Hypoxie induziert werden. (Nogueira-Ferreira et al., 2016)

Im Modell der chronischen Hypoxie werden die Tiere bei ca. 10% Sauerstoff für mehrere Wochen gehalten bis es, durch die Hypoxie induziert, zu einem strukturellen Umbau der Lungengefäße und somit zu einer chronischen PH kommt (Breen et al., 2017).

Wird der Sauerstoffgehalt in der Atemluft stark verringert, z.B. auf etwa 10% in 90% Stickstoff, kann der PAP auch akut gesteigert werden. Der im Körper synthetisierte Botenstoff Stickstoffmonoxid (NO) wirkt als Gegenspieler und kann durch Vasodilatation den Druck wieder ausgleichen. Wird die Synthese von NO jedoch gehemmt, kann der durch akute Hypoxie ausgelöste Druckanstieg gesteigert werden (Rees et al., 1989). Mit N-Nitro-L-Arginin-Methylester-Hydrochlorid (L-NAME) wird die Synthese von NO gehemmt, sodass der Anstieg des PAP durch akute Hypoxie (10% O₂ in der Atemluft) gesteigert werden kann (Champion et al., 2000, Rees et al., 1989). So war der PAP unter Hypoxie bei Mäusen mit Applikation von L-NAME etwa 5 mmHg höher als in der Kontrollgruppe ohne L-NAME (Champion et al., 2000).

In genetischen Modellen kann durch Überexpression von Molekülen oder durch Knock-Out-Verfahren eine PH induziert werden (Nogueira-Ferreira et al., 2016). Oft werden mehrere Modelle miteinander kombiniert, um einen höheren PAP zu erreichen (Nogueira-Ferreira et al., 2016)

Darüber hinaus existieren genetische Modelle, um die Entstehung der PH zu variieren. Hierfür wurde unter anderem der TMEM16A Knock-Out (KO) verwendet. TMEM16A ist ein Mediator für vaskuläre Umbauprozesse und Hypertrophie (Ma et al., 2017). In Studien fand man heraus, dass eine Überexpression des Chlorid-Kanal-TMEM16A-Genes verantwortlich für die Umbauprozesse in der Lunge unter chronischer Hypoxie ist und somit eine PH begünstigt, während ein KO für TMEM16A die Proliferation in den Lungengefäßen reduziert (Papp et al., 2019). Zudem haben Mäuse, denen das TMEM16A-Gen fehlt, einen niedrigeren systemischen Blutdruck, sodass dies ein mögliches Ziel für die antihypertensive Therapie darstellt (Heinze et al., 2014).

1.5 Bildgebungsmethoden

In der klinischen Routine gilt die Rechtsherzkatheteruntersuchung als Referenzstandard zur Diagnosesicherung der PH (Galie et al., 2015). Da es sich hierbei jedoch um ein invasives Verfahren handelt, werden bei klinischem Verdacht primär bildgebende Verfahren eingesetzt, um andere Erkrankungen, die ähnliche Symptome verursachen, auszuschließen und um die Ätiologie einer PH einzugrenzen.

Je nach Untergruppe der PH sind unterschiedliche bildgebende Verfahren von Vorteil und es wird in aktuellen Leitlinien empfohlen, sich an diagnostischen Algorithmen zu orientieren (Galie et al., 2015). Die transthorakale Echokardiographie (TTE) und das Röntgen des Thorax werden als primäre Untersuchungen verwendet. Die Echokardiographie bietet hierbei die Möglichkeit den Druck im Lungenkreislauf indirekt abzuschätzen (Dayeh et al., 2018).

Zur weiteren Abklärung können Computertomographie (CT), Ventilations-/Perfusionsszintigraphie und Magnetresonanztomographie (MRT) eingesetzt werden.

Da mittels MRT ebenfalls Flussverhältnisse dargestellt und dadurch Rückschlüsse auf die Druckverhältnisse im kleinen Kreislauf gemacht werden können, bietet dieses Verfahren interessante Anwendungsmöglichkeiten, insbesondere im Rahmen der Forschung zur PH. Im Mausmodell kann die Bestimmung des PAP ebenfalls mittels Rechtsherzkatheteruntersuchung durchgeführt werden (Champion et al., 2000). Allerdings ist diese Untersuchung bei der Maus technisch sehr anspruchsvoll und stellt meistens einen terminalen Eingriff dar, daher ist das Bestreben nach alternativen Verfahren groß. Häufig wird hierfür die Echokardiographie der Maus verwendet, um nicht-invasiv den Druck im Lungenkreislauf abzuschätzen (Thibault et al., 2010, Dayeh et al., 2018). MRT-Untersuchungen zur Beurteilung einer PH in der Maus sind dagegen nur wenig beschrieben. Beispielsweise konnten Breen et al. 2017 in Versuchen an Mäusen mit chronischer PH mittels funktionaler MRT-Bildgebung strukturelle Umbauprozesse des RV nachweisen (Breen et al., 2017). Ebenso nutzten Rai et al. die MRT zur Beurteilung von strukturellen Veränderung des Herzens in Mäusen mit induzierter PH (Barbosa et al., 2012)

1.5.1 Magnetresonanztomographie

Die MRT ist ein Schnittbildverfahren, bei dem durch starke Magnetfelder Anregungen im zu untersuchenden Objekt erzeugt werden, sodass ein messbares Signal entsteht.

Als Basis dienen hierfür die Wasserstoffprotonen, welche auch im Körper reichlich vorhanden sind. Diese besitzen einen Spin, bzw. die Eigenschaft sich ständig um sich selbst zu drehen. Man kann sich dies wie bei einem Kreisel vorstellen, der nie aufhört sich zu drehen. Durch die positive elektrische Ladung kann das Proton von magnetischen Feldern beeinflusst werden, sodass sich alle Wasserstoffprotonen wie Kompassnadeln

entlang des Magnetfeldes ausrichten. In einer Empfangsspule kann die Bewegung als Signal gemessen werden. (Weishaupt et al., 2013)

Die MRT kann so ohne Strahlenbelastung Aufnahmen mit einem guten Weichteilkontrast akquirieren.

Im Rahmen der kardialen MRT können durch die Herzaktion getriggerte MRT-Aufnahmen, sogenannte Cine-Sequenzen, erstellt werden. Diese entsprechen kurzen dynamischen Bildfolgen, die den kompletten Herzzyklus darstellen und so Einsicht über funktionelle Aspekte des Herzens bieten (Freed et al., 2016). Man kann in den Cine-Sequenzen das Volumen in Systole und Diastole ermitteln und damit das Schlagvolumen und die Ejektionsfraktion errechnen.

Um mittels der MRT Cine-Sequenzen anzufertigen, die den Herzzyklus darstellen, wird die Aufnahme mit der Bewegung des Herzens synchronisiert. Hierfür kann eine Elektrokardiographie (EKG)-Triggerung erfolgen. Dadurch kann jeweils der Beginn eines Herzzyklus anhand der R-Zacke im EKG bestimmt werden (Mahnken et al., 2004). So entspricht eine Cine-Sequenz einem R-R-Zyklus. Dies ist ein gängiges Verfahren beim Menschen und findet häufig Anwendung in der funktionellen MRT-Bildgebung des Herzens. Als alternatives Verfahren kann die periphere Pulsoxymetrie angewendet werden. Hierfür wird ein Photoplethysmograph meist am Finger angebracht, der den Puls bzw. „herzzyklusabhängige Änderungen des Blutvolumens in den Kapillaren misst“ (Mahnken et al., 2004). So beginnt zwar der Herzzyklus nicht, wie beim EKG mit der R-Zacke, sondern mit einer Verzögerung, es kann aber dennoch der komplette Herzzyklus dargestellt werden (Mahnken et al., 2004).

Die Phasenkontrast-MRT stellt eine Methode zur Untersuchung des Blutflusses dar. Das Blut, welches in die Richtung eines Gradientenfeldes fließt, wird hierbei signalreich dargestellt. Dies gelingt durch ein bipolares Gradientenimpulspaar, welches eine Veränderung der Signalphase von sich bewegenden Spins bewirkt, während stationäre Spins unverändert bleiben (Weishaupt et al., 2013). Mit der Auswahl der richtigen Schicht und Achse, können die Flussrichtung und Flussgeschwindigkeiten in Gefäßen bestimmt werden. Hierfür legt man eine „Region of Interest“ (ROI) in den Bereich des Gefäßes, welches man untersuchen möchte.

Die Planung eines Phasenkontrast-MRT ist in Abbildung 5 dargestellt. Dabei wurde die Ebene, in der die Flussgeschwindigkeit bestimmt werden soll, auf Höhe des Truncus pulmonalis kurz vor der Bifurkation ausgewählt. Dies wurde in zwei Ebenen in einfachen Planungssequenzen durchgeführt (Abbildung 5 (a, b)). Schließlich wird die Phasenkontrast-Sequenz erstellt und jeweils in den Magnituden-Bildern (Abbildung 5 (c)), als auch in den

Phasenkontrast-Bildern (Abbildung 5 (d)), eine ROI eingezeichnet, um die Flusskurve zu erstellen (Reiter et al., 2016). In Abbildung 6 ist exemplarisch eine Flusskurve dargestellt.

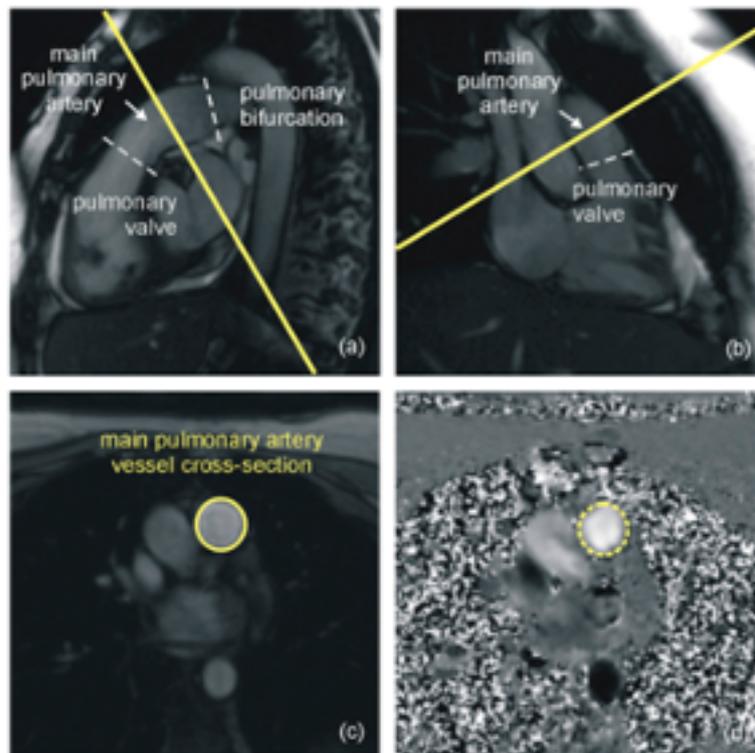


Abbildung 5: Planung eines Phasenkontrast-MRT (Reiter et al., 2016)
 (a, b) Zweidimensionale Planung der Aufnahmeebene im Truncus pulmonalis sowie Magnitude- (c) und Phasenkontrast-Bild (d) mit ROI in der Pulmonalarterie

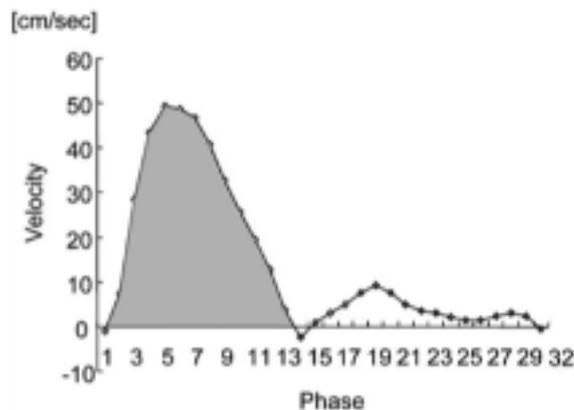


Abbildung 6: MRT-Flusskurve (Nogami et al., 2009)

Anhand dieser Flusskurven können Parameter bestimmt werden, die mit einem erhöhten PAP korrelieren. Beispielsweise die Time to Peak (TTP), die der Zeit vom Beginn bis zum Maximum der Flusskurve in der Pulmonalarterie entspricht. Bei einem erhöhten PAP schließt die Pulmonalklappe früher, sodass das Maximum früher erreicht wird und die TTP abnimmt. Dadurch nimmt auch der Wert der Steigung der Flusskurve zu. Zudem wird das Verhältnis der Time to Peak zur Pulmonary Ejection Time (TTP/PET) bestimmt, welches

bei steigendem Druck abnimmt (Thibault et al., 2010). Oftmals sieht man in Flusskurven an Patienten, die eine PH haben, einen sogenannten „notch“, einen Knick in der absteigenden Flusskurve (Reiter et al., 2016). Die Parameter TTP, PET bzw. Ejection Time (ET) und der notch sind in Abbildung 7 dargestellt.

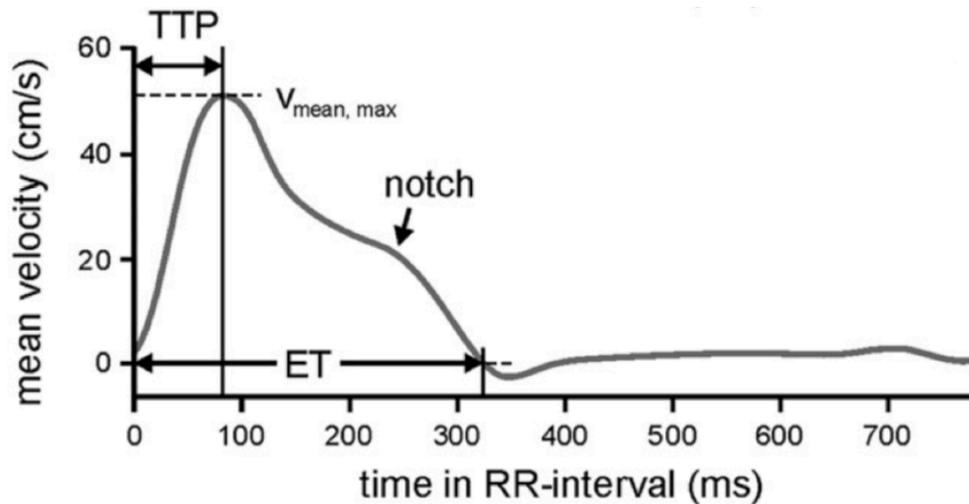


Abbildung 7: Mittlere Flussgeschwindigkeit im Phasenkontrast-MRT (Reiter et al., 2016)

TTP (Time to Peak), ET (Ejection Time)

In der MRT wird der PAP mithilfe der Regurgitationsgeschwindigkeit über der Trikuspidalklappe geschätzt. Dies ist ein gängiges Verfahren, welches Rückschlüsse über den systolischen PAP liefert. Hierfür werden ROIs proximal der Trikuspidalklappe und im Bereich der Regurgitationsströmung gelegt. Mithilfe der Bernoulli-Gleichung wird aus der maximalen Flussgeschwindigkeit und der maximalen Regurgitationsgeschwindigkeit der Druckgradient der Trikuspidalklappe errechnet und so der systolische PAP geschätzt. (Nogami et al., 2009)

Die daraus resultierenden Druckwerte korrelieren mit den mittels Rechtsherzkatheteruntersuchung gemessenen Werten (Nogami et al., 2009).

Diese Werte können ebenfalls mittels Doppler-Echokardiographie gemessen werden. Beide Untersuchungen korrelieren mit dem systolischen Druck im rechten Ventrikel, bzw. dem PAP. Insgesamt bieten nicht-invasive Methoden wie MRT und Echokardiographie beim Menschen inzwischen vergleichbare Ergebnisse, wie die Rechtsherzkatheteruntersuchung, dem derzeitigen Goldstandard (Nogami et al., 2009, Bossone et al., 2015).

Im Mausmodell sind die diagnostischen Möglichkeiten der PH jedoch limitiert und das Bestreben nach nicht-invasiven Verfahren ist groß. Die Echokardiographie findet häufig

Anwendung, um die PH im Mausmodell zu untersuchen (Thibault et al., 2010, Egemnazarov et al., 2019). Die Möglichkeiten bleiben jedoch eingeschränkt und die Ergebnisse variieren untersucherabhängig. MRT-Untersuchungen zur PH im Mausmodell sind bisher nur wenig beschrieben und wesentlicher Gegenstand dieser Arbeit.

2 Arbeitshypothese und Fragestellung

Die PH ist ein häufiges Krankheitsbild des Menschen, insbesondere im fortgeschrittenen Alter. Die Ursachen, die zu einer PH führen, sind sehr vielfältig. Da die Symptome anfangs sehr gering sind, oder teilweise den Symptomen einer Herzinsuffizienz ähneln, bleibt die PH oft lange unentdeckt. Die Diagnostik ist meist langwierig und folgt speziellen Algorithmen. Der derzeitige Referenzstandard ist die invasive Rechtsherzkatheteruntersuchung. Nicht-invasive Bildgebungsverfahren wie die Echokardiographie, die MRT und die CT finden meist im Vorfeld der invasiven Diagnostik Anwendung.

Um die Pathophysiologie sowie die Therapie der PH zu erforschen, kann die PH im Mausmodell induziert werden. Ein gängiges Verfahren ist hierbei die Induktion der PH durch chronische Hypoxie mit daraus resultierenden strukturellen Umbauprozessen der Lunge. Die Möglichkeiten eine PH am lebenden Mausmodell mittels nicht-invasiven Bildgebungsverfahren zu untersuchen sind jedoch aufgrund der Anatomie und der Physiologie der Maus eingeschränkt. Neben der Echokardiographie steht hierfür die MRT zur Verfügung. Deren Anwendung an Mausmodellen der PH wurde bislang jedoch nur in Bezug auf Veränderungen des Herzens beschrieben. Das Ziel dieser Arbeit bestand in der Evaluation sowohl der pulmonalarteriellen Flussverhältnisse als auch der kardialen Funktion und der strukturellen Veränderungen des Herzens im Mausmodell einer PH. Hierfür war ein geeignetes MRT-Untersuchungsprotokoll, insbesondere zur Realisierung der pulmonalarteriellen Flussmessungen, zu etablieren und im Mausmodell einer chronischen PH zu untersuchen.

Bezüglich dieser Zielsetzung resultieren die folgenden konkreten Fragestellungen:

1. Ergeben sich für pulmonalarterielle Flussmessungen mittels MRT im Mausmodell Unterschiede bei der Verwendung verschiedener Triggermethoden?
2. Kann anhand von pulmonalarteriellen Flussmessungen sowie Bestimmung von Parametern der kardialen Morphologie und Funktion mittels MRT die Detektion einer PH im Mausmodell erfolgen?

3 Material und Methoden

3.1 Untersuchung von EKG- und Pulsoxymetrie zur Triggerung von pulmonalarteriellen Flussmessungen mittels MRT

3.1.1 Mausmodell

Die Durchführung des Tierversuches erfolgte nach Genehmigung durch die Behörde für Gesundheit und Verbraucherschutz der Freien und Hansestadt Hamburg (Tierversuchsvorhaben mit der Nr. 46/17).

Für die Versuche wurden fünf gesunde Wildtypmäuse (C57Bl6) über die Versuchstierhaltung des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) bezogen. Diese wurden in individuell ventilierten Käfigen im Campus Forschung des UKE unter keimarmen Bedingungen und Normoxie gehalten. Zur Evaluierung des Wohlbefindens der Mäuse wurde täglich ein Scoresheet ausgefüllt, um rechtzeitig eine geringe, mittel- oder hochgradige Belastung der Mäuse zu erkennen, bzw. zu verhindern.

3.1.2 Versuchsaufbau

Für die Triggerung und das Monitoring der Versuchstiere während der MRT-Untersuchungen stand ein MRT-kompatibles Kleintier-Gerät der Firma SA Instruments Inc. (Model 1025 MR-compatible Small Animal Monitoring and Gating System, Stony Brook, NY, USA) mit EKG-, Pulsoxymetrie- und Atmungsmodul, sowie der Software PC-SAM zur Verfügung.

Um die EKG-Triggerung an der Maus abzuleiten wurden zwei Säuglings-EKG-Elektroden an die Vorderpfoten angebracht (Abbildung 8). Diese sind deutlich kleiner als die herkömmlichen Elektroden, welche man beim Menschen verwendet. Wie das EKG der Maus auf dem Monitor dargestellt wird ist in Abbildung 9 zu sehen. Dabei ist die obere gelbe Linie das EKG-Signal (auf der Abbildung ECG) mit 413 Schlägen pro Minute (beats per minutes, BPM). Die jeweils am höchsten ausragenden Zacken, sind die R-Zacken, die das Signal zum Triggern geben.

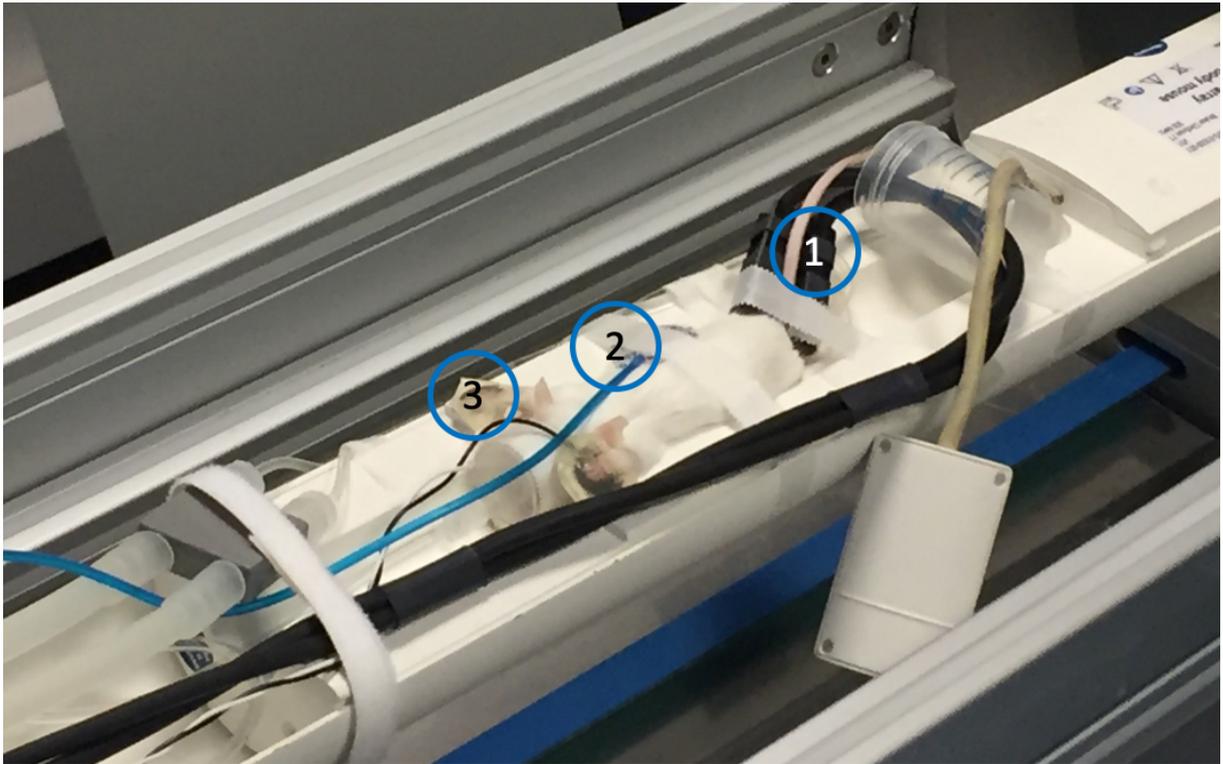


Abbildung 8: Positionierung einer Maus für die MRT-Untersuchung

- 1) Pulsoxymeter angebracht am Schwanz
- 2) Kabel des Atemkissens, welches sich unter der Maus befindet
- 3) Rechte Vorderpfote der Maus mit Säuglings-EKG-Elektrode

Das Pulsoxymeter wurde am Schwanz der Maus angebracht (Abbildung 8), sodass das Signal der Pulswelle gemessen wurde. Dies ist in Abbildung 9 mit der grünen Linie dargestellt. Als Trigger-Beginn des Herzzyklus wurde jeweils das Maximum der Amplitude verwendet.

Da die Atmung der Maus häufig zu Artefakten führt, wurde zusätzlich ein Gating für die Atmung verwendet. Dieses gelingt durch ein kleines Atemkissen, welches die Thoraxexkursion während der Atmung der Maus registriert, sodass man diesen Zeitraum bei der Datenakquisition aussparen kann. Die Atmung ist auf Abbildung 9 als weiße Linie dargestellt mit 37 Atmungen pro Minute (Breaths/min), wobei die Kurvenausschläge nach unten jeweils die Atembewegung darstellen.

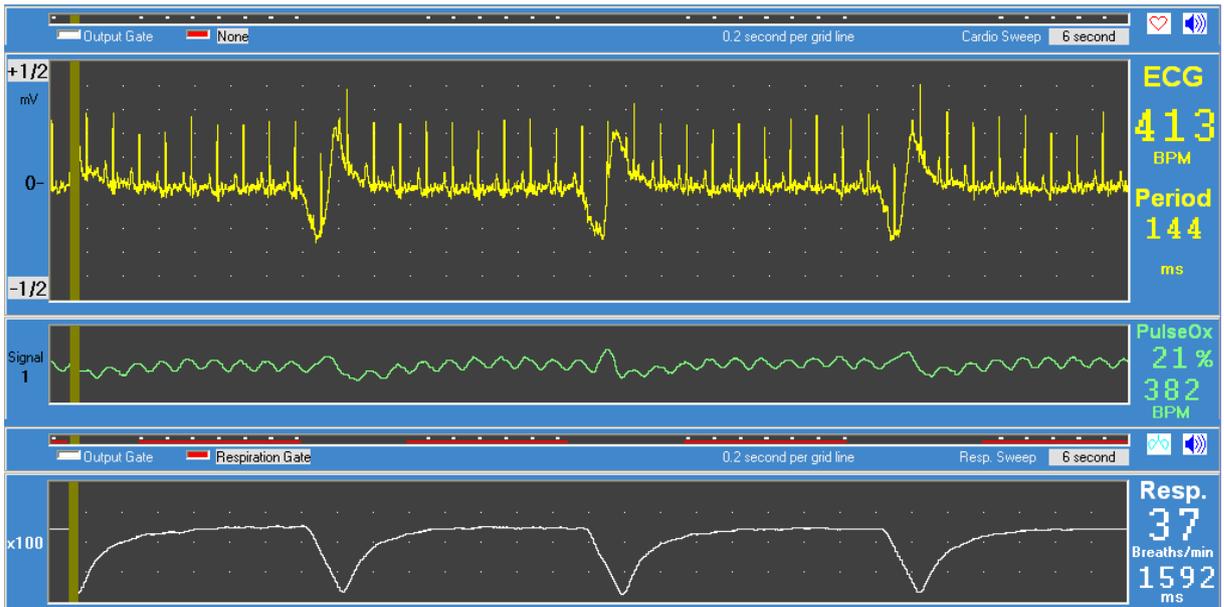


Abbildung 9: Monitorarstellung der Triggermethoden

3.1.3 MRT-Untersuchung

Die MRT-Untersuchungen wurden mit einem 7 Tesla Kleintier-MRT der Firma Bruker (Clinscan, Bruker Biospin GmbH, Ettlingen, Deutschland) mit 20 cm Öffnung durchgeführt. Als Sendespule diente eine „¹H transmit-receive volume coil“ der Firma Bruker, als Empfangsspule eine „¹H phased array for whole body mouse“ 8 Kammer-Spule, eine Sonderanfertigung der Firma RAPID Biomedical (Rimpar, Deutschland).

Für die Narkose der Mäuse während der MRT-Untersuchungen wurde Isofluranas verwendet. Die Einleitung erfolgte mit ca. 1,5% Isofluran in 100% O₂, die Narkoseaufrechterhaltung mit ca. 1% Isofluran in 100% O₂, wobei dies je nach Gewicht der Maus etwas variierte. Zum Monitoring der Narkosetiefe wurde insbesondere die Atemfrequenz genutzt, mit dem Zielbereich von ca. 40 Atemzügen pro Minute während der MRT-Untersuchungen.

Zur Planung der MRT-Untersuchungen wurde zunächst eine Localizer-Sequenz durchgeführt. Anschließend konnte eine sagittale, eine transversale und ggf. eine koronare Planungssequenz durchgeführt werden.

Für die Phasenkontrast-Sequenz wurde ein Velocity Encoding (VENC) von 80 cm/s gewählt, um die bestmögliche Flusskodierung zu erreichen. Die Parameter der Phasenkontrast-MRT-Sequenz sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: MRT-Parameter der Phasenkontrast-Sequenz

TR (ms)	14,5
TE (ms)	5
Sichtdicke (mm)	1,5
FOV (mm)	25
Mittelungen	2
Flipwinkel (Grad)	15
Aquisitionsfenster (ms)	230

Time of Repetition (TR), Time of Echo (TE), Field of View (FOV)

Der Truncus pulmonalis wurde anhand der Planungssequenzen im Querschnitt aufgesucht. Die besten Ergebnisse lieferte eine Einstellung kurz vor der Bifurkation in die rechte und linke Pulmonalarterie.

Bei der Phasenkontrastbildung entstehen jeweils eine Cine-Bildserie, eine Magnitude-Bildserie und eine Phasenkontrast-Bildserie, wie in Abbildung 10 dargestellt.

Da die Sequenz mit einer Time of Repetition (TR) von 14,5 ms und 15 Messpunkten pro Herzzyklus eine zu geringe zeitliche Auflösung liefert, wurde die Sequenz insgesamt fünf Mal hintereinander akquiriert mit einer Trigger-Verzögerung von null, drei, sechs, neun und zwölf ms. So entstanden insgesamt 75 Datenpunkte pro Herzzyklus mit einer zeitlichen Auflösung von 3 ms.

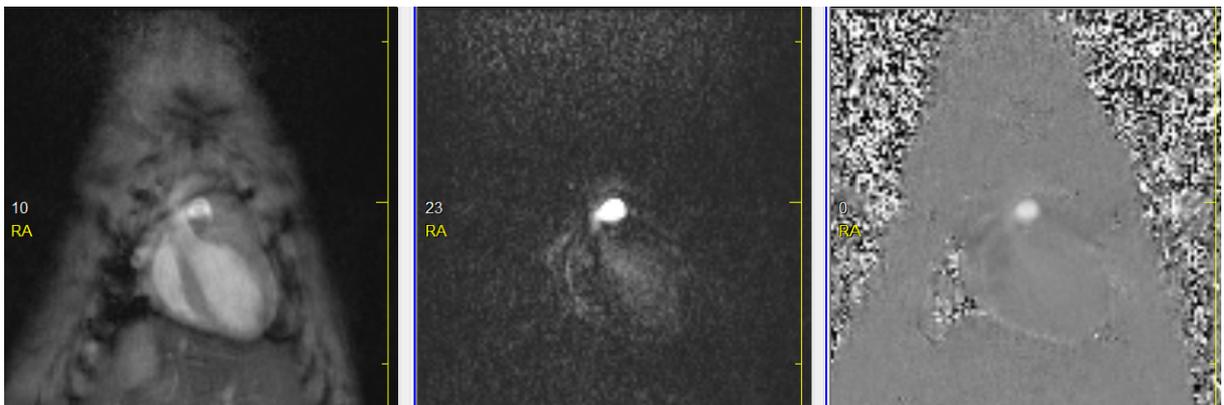


Abbildung 10: Cine-Bild (links), Magnitudebild (Mitte), Phasenkontrastbild (rechts)

Bei jeder Maus wurden jeweils sechs Messungen hintereinander durchgeführt, welche alternierend EKG-getriggert und pulsoxymetrisch getriggert waren. So entstanden pro Maus sechs Flussmessungen mit insgesamt jeweils 15 EKG-getriggerten und 15 pulsoxymetrisch getriggerten Messsequenzen. Das Versuchsprotokoll wird in Tabelle 2 veranschaulicht.

Tabelle 2: Protokoll der MRT-Messungen

Maus	328	329	330	331	332
1. Messung	EKG	Pulsoxymetrie	EKG	Pulsoxymetrie	EKG
2. Messung	Pulsoxymetrie	EKG	Pulsoxymetrie	EKG	Pulsoxymetrie
3. Messung	EKG	Pulsoxymetrie	EKG	Pulsoxymetrie	EKG
4. Messung	Pulsoxymetrie	EKG	Pulsoxymetrie	EKG	Pulsoxymetrie
5. Messung	EKG	Pulsoxymetrie	EKG	Pulsoxymetrie	EKG
6. Messung	Pulsoxymetrie	EKG	Pulsoxymetrie	EKG	Pulsoxymetrie

3.1.4 Auswertung der MRT-Bilder

Die Auswertung der MRT-Bilder erfolgte mit der JAVA-basierten Bildverarbeitungsplattform ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, USA). Hierbei wurde in das Phasenkontrast-Bild eine ROI (Region of Interest) in den Truncus pulmonalis gezeichnet

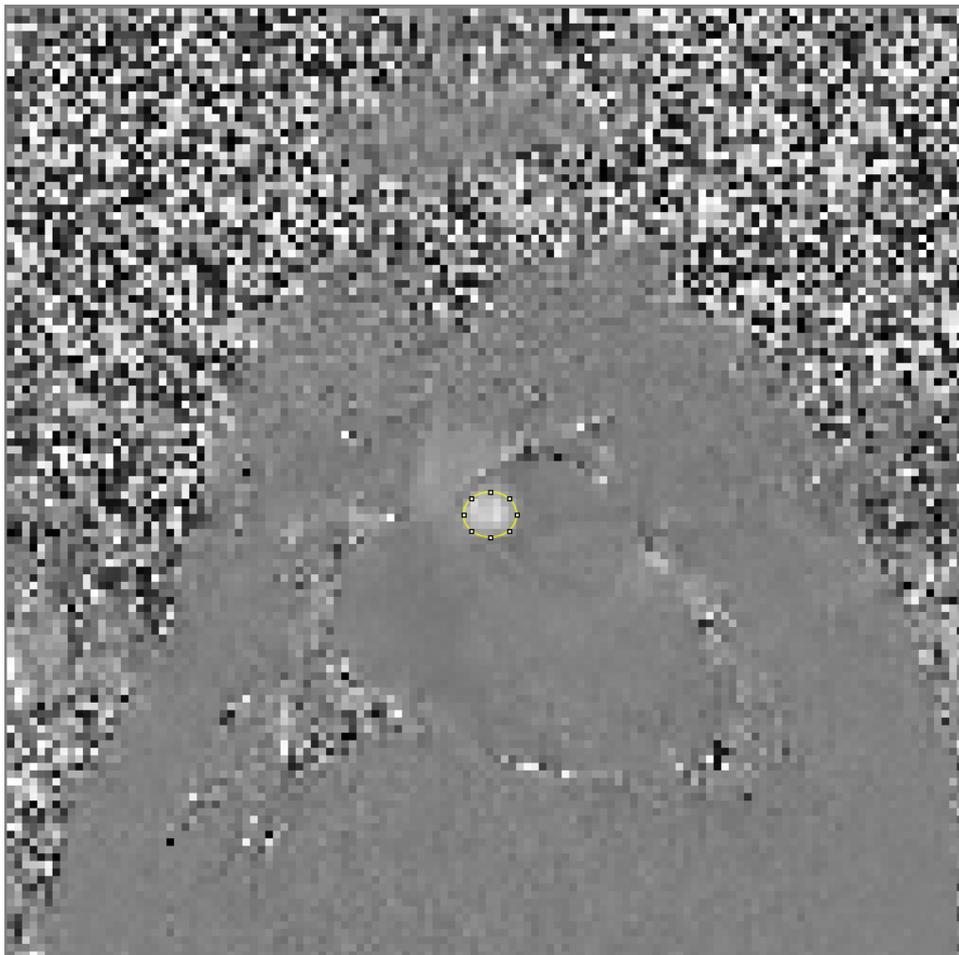


Abbildung 11: Phasenkontrastbild mit ROI (Region of Interest)

(Abbildung 11), um so eine Flusskurve zu erstellen. Zur Vereinfachung der Auswertung wurden die Flusskurven in Excel exportiert. Bei der Auswertung wurde die Flusskurve geglättet, indem ein gleitender Durchschnitt bestimmt wurde ($0,25 \times B1 + 0,5 \times B2 + 0,25$

x B3). Als nächstes wurde eine Baseline anhand der Mittelwerte der Datenpunkte vor der Auswurfkurve errechnet (rote Linie in Abbildung 12), um den Start- und Endpunkt besser bestimmen zu können. So wurde anhand des Startpunkts und des Maximums der Auswurfkurve durch Subtraktion die TTP errechnet, genauso durch Start- und Endpunkt der Auswurfkurve die PET. Zudem wurde die Steigung der TTP errechnet. Dies wird exemplarisch anhand einer Flusskurve in Abbildung 12 dargestellt.

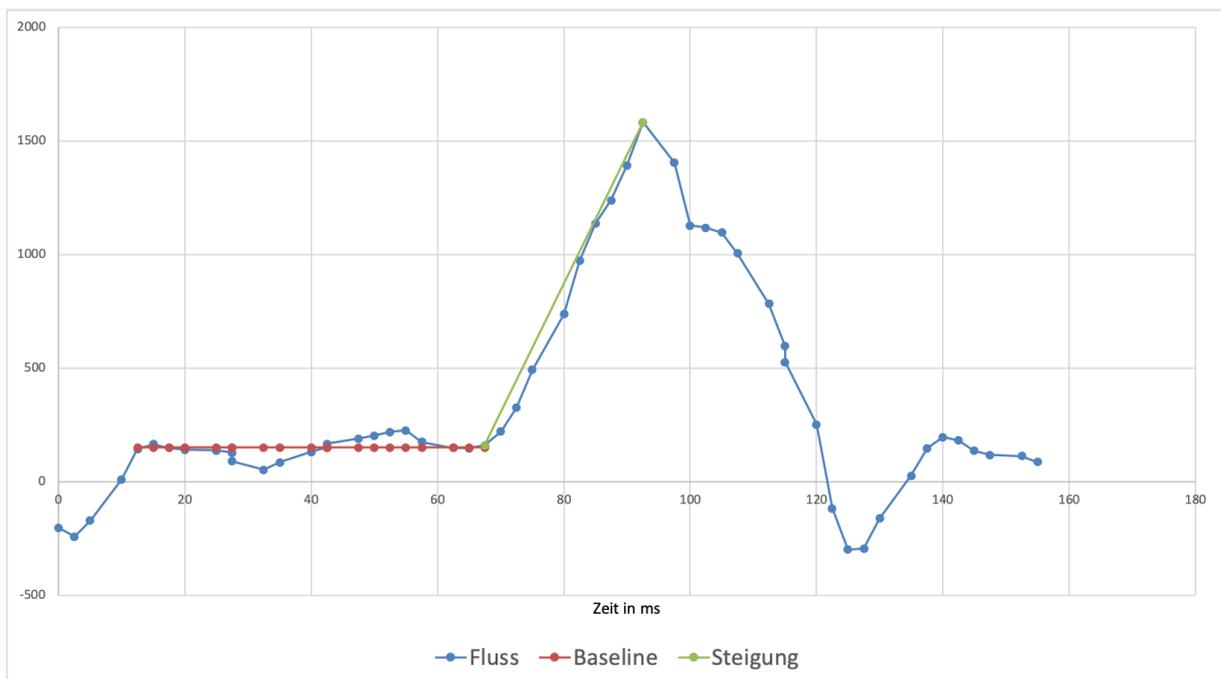


Abbildung 12: MRT-Flusskurve mit TTP, PET, Steigung und Baseline

3.1.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit IBM SPSS Statistics Version 25 (Armonk, USA). Als Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ festgelegt. Die Werte wurden mit dem Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung hin untersucht.

Zum Vergleich zwischen den beiden Triggermethoden wurde ein generalisiertes lineares gemischtes Modell (Generalized Linear Mixed Models, GLMM) für die Variablen PET, TTP und Steigung aufgrund der Messwiederholung bei den Mäusen durchgeführt. Das GMLL gehört zu den Regressionsmodellen und findet Anwendung bei zeitlich sich wiederholenden Beobachtungen von Individuen. Die Werte der fünf Mäuse, die Individuen, werden dabei in Cluster eingeteilt, um zufällige Effekte durch die Maus mit in die Berechnung einzubeziehen. Die Methoden EKG und Pulsoxymetrie sind dabei feste Effekte. Ziel der Testung ist Gleichheit oder Ungleichheit zwischen den Methoden zu bestimmen. (Fahrmeir et al., 2007)

Anschließend wurde ein Mittelwertvergleich der beiden Triggermethoden für die Variablen PET, TTP und Steigung mithilfe eines gepaarten T-Tests untersucht. Dieser vergleicht die

Mittelwerte zweier Gruppen miteinander und findet häufiger Anwendung als das GMLL, weswegen er verständlichere Ergebnisse liefert, auch wenn es nicht das geeignetste statistische Verfahren ist.

Des Weiteren wurde eine Korrelationsanalyse nach Pearson durchgeführt. Die graphische Darstellung erfolgte mittels Boxplots und Bland-Altman-Plots.

3.2 Untersuchung des pulmonalarteriellen Blutflusses und kardialer Parameter im Mausmodell der pulmonalen Hypertonie mittels MRT

3.2.1 Mausmodell

Die Versuche fanden in Kooperation mit dem Institut für Zelluläre und Integrative Physiologie des UKE (Direktor Prof. Dr. med. Heimo Ehmke) statt. Die Zusammenarbeit bestand insbesondere mit Frau Dr. med. Anika Senjuk und Herrn cand. med. Philipp Tessmer. Die Durchführung des Tierversuches erfolgte nach erteilter Genehmigung durch die Behörde für Gesundheit und Verbraucherschutz der Freien und Hansestadt Hamburg (Tierversuchsvorhaben mit der Nr. 80/14). Die im Weiteren beschriebenen Methoden stellen hierbei nur einen Teilbereich des Tierversuches am Institut für Zelluläre und Integrative Physiologie dar.

Insgesamt wurden 48 Tiere untersucht, von denen fünf im Verlauf des Tierversuches verstarben.

Die Versuchstiere waren zu einer Hälfte glattemuskelspezifische TMEM16A Knock-Out-Mäuse (KO-Mäuse) und zur anderen Hälfte Mäuse vom Wildtyp als Kontrollgruppe.

Die Tierhaltung erfolgte im Campus Forschung des UKE. Der TMEM16A KO wurde, bei den 6-7 Wochen alten Tieren, durch Tamoxifenfutter über vier Wochen induziert. Nach einer zweiwöchigen anschließenden Latenzzeit kamen die Tiere in IVC-Käfige (Individual Ventilated Cages). Um einen Sauerstoffgehalt von 10% in der Käfigluft zu erreichen, wurde die Luft mit Stickstoff angereichert. Es wurde in jedem Käfig ein Sauerstoffmessgerät installiert, um den Sauerstoffgehalt der Luft zu überprüfen. Die Mäuse, welche in die Normoxie-Kohorten eingeteilt wurden, wurden unter Raumluft gehalten. Die MRT-Bildgebung fand unmittelbar vor der hypoxischen Tierhaltung sowie nach den 4 Wochen in Hypoxie statt.

3.2.2 Versuchsaufbau

Für die Versuche wurden die Mäuse in vier Gruppen eingeteilt. Von den Wildtyp (WT)-Mäusen wurden jeweils 12 in Hypoxie und 12 in Normoxie gehalten. Von den KO-Mäusen waren es 13, die in Hypoxie und 11, die in Normoxie gehalten wurden. Abbildung 13 veranschaulicht die Einteilung der Mäuse in die einzelnen Gruppen. Während der Versuche starben insgesamt fünf Tiere, zwei aus der Wildtyp-Normoxie-Gruppe, eine aus der KO-Normoxie-Gruppe, eine aus der Wildtyp-Hypoxie-Gruppe und eine aus der KO-Gruppe.

Unmittelbar bevor die Tiere in die Hypoxiekammern gebracht wurden, fand die erste MRT-Untersuchung statt. Die Tiere wurden für vier Wochen in Hypoxie gehalten und direkt im Anschluss fand die zweite MRT-Untersuchung statt.

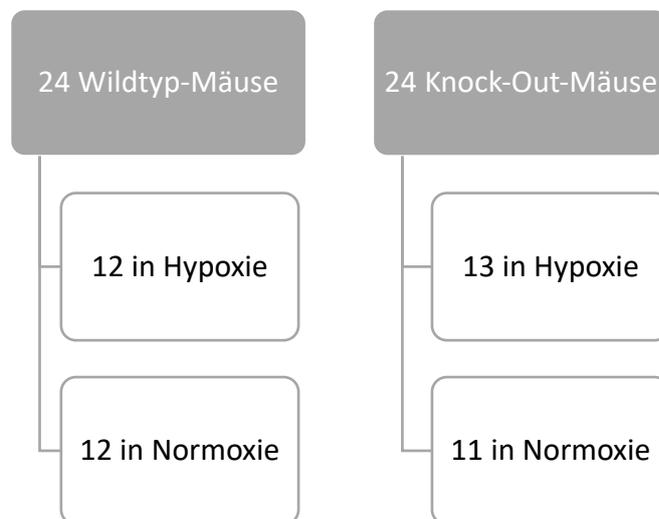


Abbildung 13: Übersicht der Versuchsguppen

3.2.3 MRT-Bildgebung

Die MRT-Messungen wurden, wie im Versuchsaufbau unter Punkt 3.1.3 bereits beschrieben, durchgeführt. Zur Triggerung wurde, aufgrund der leichteren Handhabung, die Pulsoxymetrie verwendet.

Zusätzlich zu den Flussmessungen im Truncus pulmonalis wurden T2-gewichtete Cine-Bilder der kurzen Herzachse aufgenommen. Hierfür waren, je nach Herzgröße der Maus, 8-10 Schichten notwendig, um das komplette Herz zu erfassen. Anhand dieser wurde eine Volumetrie im Querschnitt der kurzen Herzachse sowie Messungen der Wanddicke des rechten und linken Ventrikels durchgeführt. Die Parameter der Cine-Sequenz sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: MRT-Parameter der Cine-Sequenz in kurzer Herzachse

TR (ms)	6
TE (ms)	2,8
Sichtdicke (mm)	1,0
FOV (mm)	32
Mittelungen	2
Flipwinkel (Grad)	25
Aquisitionsfenster (ms)	200

Time of Repetition (TR), Time of Echo (TE), Field of View (FOV)

3.2.4 Auswertung der MRT-Bilder

Die Flussmessungen wurden wie in Punkt 3.1.4 beschrieben ausgewertet. Als Programm diente erneut ImageJ. Es wurden die Pulmonary Ejection Time (PET), Time to Peak (TTP), die Steigung sowie das Verhältnis der TTP zur PET bestimmt.

Zur Volumetrie wurde manuell in jede Schicht der kurzen Herzachse die Fläche des rechten und des linken Ventrikels, unter Einbezug der Trabekel bzw. Papillarmuskeln als ROIs, eingezeichnet und aus diesen die Fläche in mm² errechnet (Abbildung 14). Bei einer Schichtdicke von 1 mm erhält man somit das Volumen in mm³ bzw. µl. Dies wurde jeweils enddiastolisch und endsystolisch bestimmt, sodass das Schlagvolumen und die Ejektionsfraktion berechnet werden konnten. Ausgewertet und unter den Gruppen verglichen wurden anschließend das enddiastolische Volumen (Diastole) und die Ejektionsfraktion (EF), die wie folgt errechnet wird: (Enddiastolisches Volumen – Endsystolisches Volumen) / Enddiastolisches Volumen x 100. Die EF wird in Prozent angegeben.

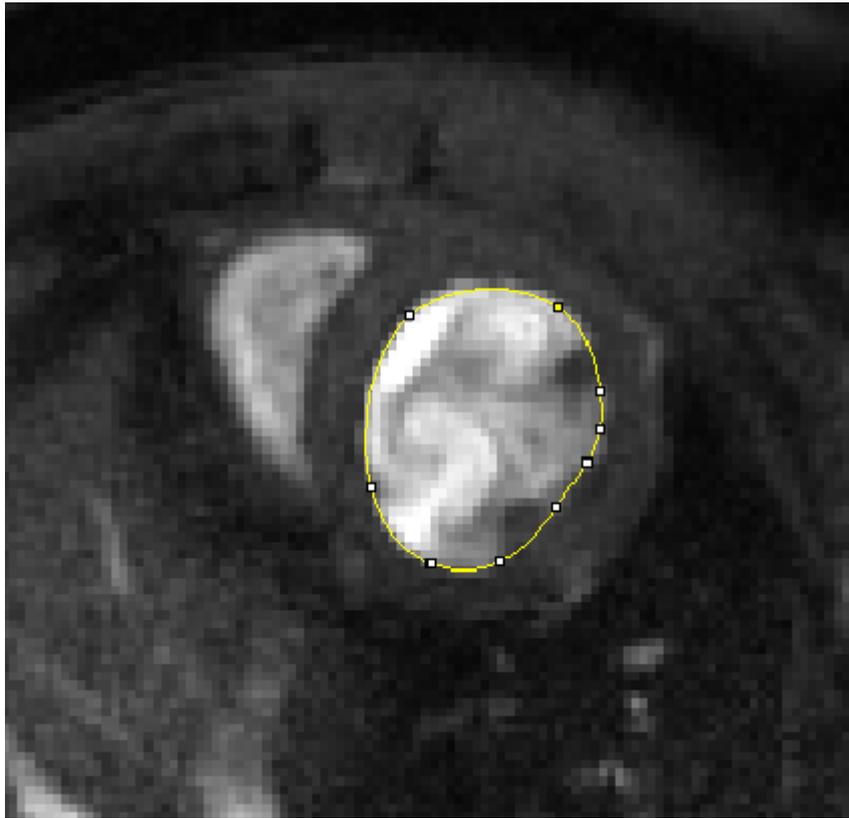


Abbildung 14: Volumetrie des linken Ventrikels

Die Wanddicke des Herzens wurde an zwei verschiedenen Stellen gemessen. Zum einen die freie Wand des rechten Ventrikels angrenzend an die ventrale Thoraxwand (Abbildung 15) und zum anderen die Wand des linken Ventrikels in Form des Septums zwischen den Ventrikeln (Abbildung 16). Dies wurde jeweils auf der Höhe der Papillarmuskelansätze des linken Ventrikels enddiastolisch gemessen.

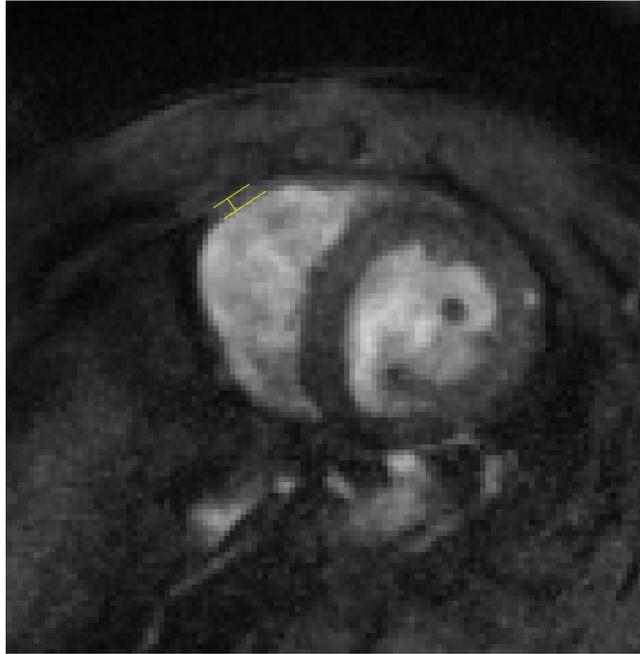


Abbildung 15: Ausmessung der Wanddicke des rechten Ventrikels

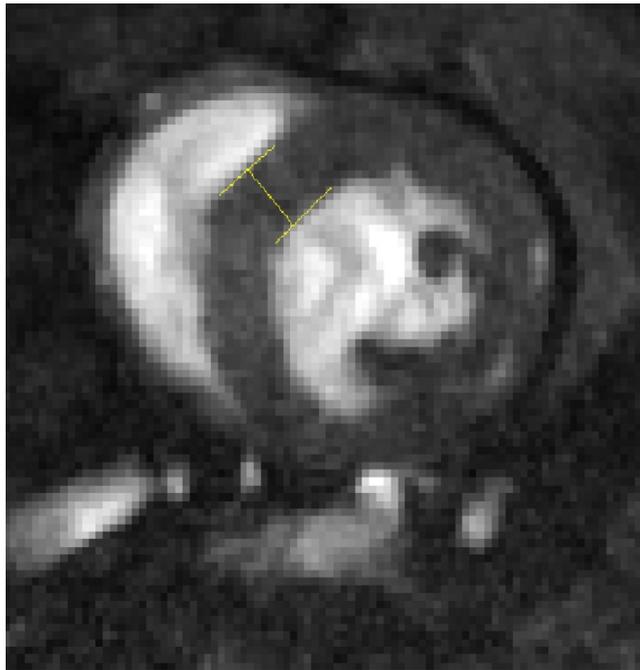


Abbildung 16: Ausmessung der Wanddicke des Septums

3.2.5 Quantitative Bestimmung der Herzgewichte

Nach Beendigung der Tierversuche wurde die Herzmorphologie der Mäuse postmortal untersucht. Diese Analyse fand im Institut für Zelluläre und Integrative Physiologie des UKE statt.

Bei der blutleeren Sektion der Tiere wurde das Herz von den zum Herzen hin- und wegführenden Gefäßen getrennt. Anschließend wurde der linke Ventrikel samt Septum sowie der rechte Ventrikel einzeln präpariert und gewogen.

Die Parameter, die bei der postmortalen Analyse bestimmt wurden, sind das Gewicht des gesamten Herzens, das Gewicht des rechten Ventrikels, das Gewicht des linken Ventrikels inklusive des Septums, sowie der Fulton-Index ($RV/(LV+S)$) und das Verhältnis des Gewichts des rechten Ventrikels zum Körpergewicht der Maus. Diese Parameter wurden mit den Ergebnissen der MRT-Untersuchungen korreliert.

3.2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte ebenfalls mit IBM SPSS Statistics Version 25. Als Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ festgelegt. Zu Beginn der Auswertung wurde anhand des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung hin untersucht.

Die Ergebnisse der MRT-Messungen der zwei Hauptgruppen jeweils vor und nach Hypoxie oder Normoxie wurden mit einem gepaarten T-Tests verglichen. Dies wurde wiederholt mit den Untergruppen Wildtyp-Hypoxie, Wildtyp-Normoxie, Knock-Out-Hypoxie und Knock-Out-Normoxie.

Die grafische Darstellung erfolgte mittels Boxplots und Balkendiagrammen.

Schließlich wurde eine einseitige Korrelationsanalyse nach Pearson, für die Ergebnisse der MRT-Messung mit den Werten der postmortalen Herzgewichte, durchgeführt. Diese misst den Grad des linearen Zusammenhangs zwischen zwei Variablen. Die Stärke der Korrelation wird nach Cohen eingeteilt. Bei einem Korrelationskoeffizienten $r \geq 0,1$ spricht man von einer geringen Korrelation, ab einem Korrelationskoeffizienten von $r \geq 0,3$ von einer moderaten Korrelation und bei einem Korrelationskoeffizienten $r \geq 0,5$ von einer starken Korrelation (Cohen, 1988).

4 Ergebnisse

4.1 Untersuchung von EKG- und Pulsoxymetrie zur Triggerung von pulmonalarteriellen Flussmessungen mittels MRT

Die Durchführung des in Kapitel 3.1 genannten Untersuchungsablaufes war bei allen Tieren erfolgreich. Hieraus ergaben sich 30 Messwerte der Phasenkontrast-MRT, jeweils 15 in EKG-Triggerung und 15 in Pulsoxymetrie-Triggerung. In der Auswertung wurden aus der Flusskurve die Variablen PET, TTP und die Steigung ermittelt. Die Mäuse waren zum Zeitpunkt der Untersuchung ca. 6 Monate alt und wogen im Durchschnitt 30,3 Gramm. Die Atemfrequenz betrug während der Versuche im Durchschnitt 37 Atemzüge pro Minute und die Herzfrequenz 434 Schläge pro Minute.

4.1.1 EKG-getriggerte Messungen

In Tabelle 4 sind die Ergebnisse der EKG-getriggerten Messungen zusammengefasst. Aufgeführt sind jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung, der Median, das Minimum, das Maximum sowie die Stichprobengröße N für die Variablen PET, TTP und Steigung. Alle Messungen konnten in die Auswertung einfließen.

Tabelle 4: Darstellung der ermittelten Variablen bei EKG-Triggerung

	EKG		
	PET [ms]	TTP [ms]	Steigung
Mittelwert	51,00	17,17	90,18
Standardabweichung	4,51	5,08	28,34
Median	52,50	15,00	80,33
Minimum	37,5	10	51,2
Maximum	55,0	30	153,0
Gültige N	15	15	15

Unterteilt in die fünf verschiedenen Mäuse sind in Tabelle 5 die Ergebnisse zusammengefasst. Zu beachten ist hierbei insbesondere die starke Abweichung des Mittelwertes der Steigung bei den EKG-Messungen von Maus 332 mit einem Wert von 138,72. Dieser ist deutlich höher als die Werte der gleichen Maus unter pulsoxymetrischer Triggerung oder die Steigungen der anderen Mäuse. Alle anderen Werte entsprechen den in Tabelle 4 erfassten Mittelwerten.

Tabelle 5: Übersicht der Variablen der EKG-Messungen aufgeteilt nach Maus

Maus	Triggerung	Variable	Mittelwert	Std.-Abw.	Minimum	Maximum
328	EKG	PET [ms]	50	2,5	47,5	52,5
		TTP [ms]	25	5	20	30
		Steigung	63,33	11,68	51,23	74,53
329	EKG	PET [ms]	52,5	2,5	50	55
		TTP [ms]	18,33	1,44	17,5	20
		Steigung	76,30	9,45	69,08	87
330	EKG	PET [ms]	53,33	2,89	50	55
		TTP [ms]	15,84	1,44	15	17,5
		Steigung	81,94	9,53	69,08	92,94
331	EKG	PET [ms]	53,33	1,44	52,5	55
		TTP [ms]	12,5	2,5	10	15
		Steigung	90,63	11,96	80,33	103,74
332	EKG	PET [ms]	45,83	7,64	37,5	52,5
		TTP [ms]	14,17	1,44	12,5	15
		Steigung	138,72	12,41	130,96	153,04

In Abbildung 17 bis 19 sind die Messwerte von der PET, TTP und Steigung unter EKG-Triggerung in Boxplots dargestellt. In den Abbildungen ist zu erkennen, dass die Streuung der Werte der PET und TTP relativ gering ist, während die Werte der Steigung eine höhere Varianz zeigen.

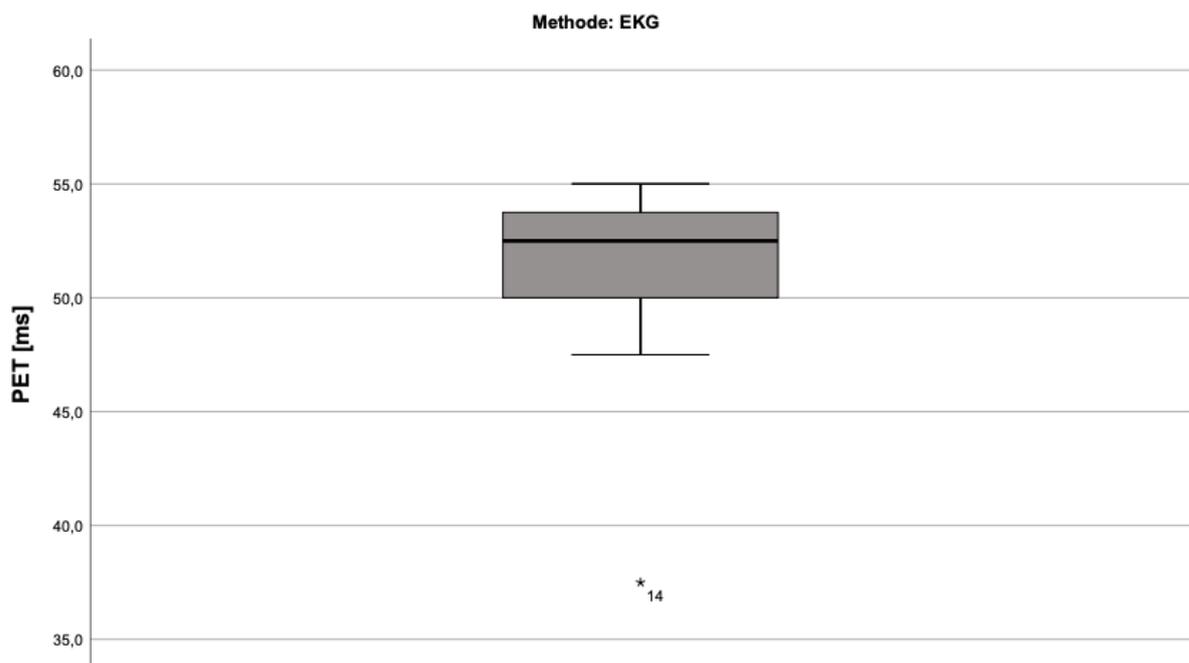


Abbildung 15: Boxplot der EKG-getriggerten PET-Messungen

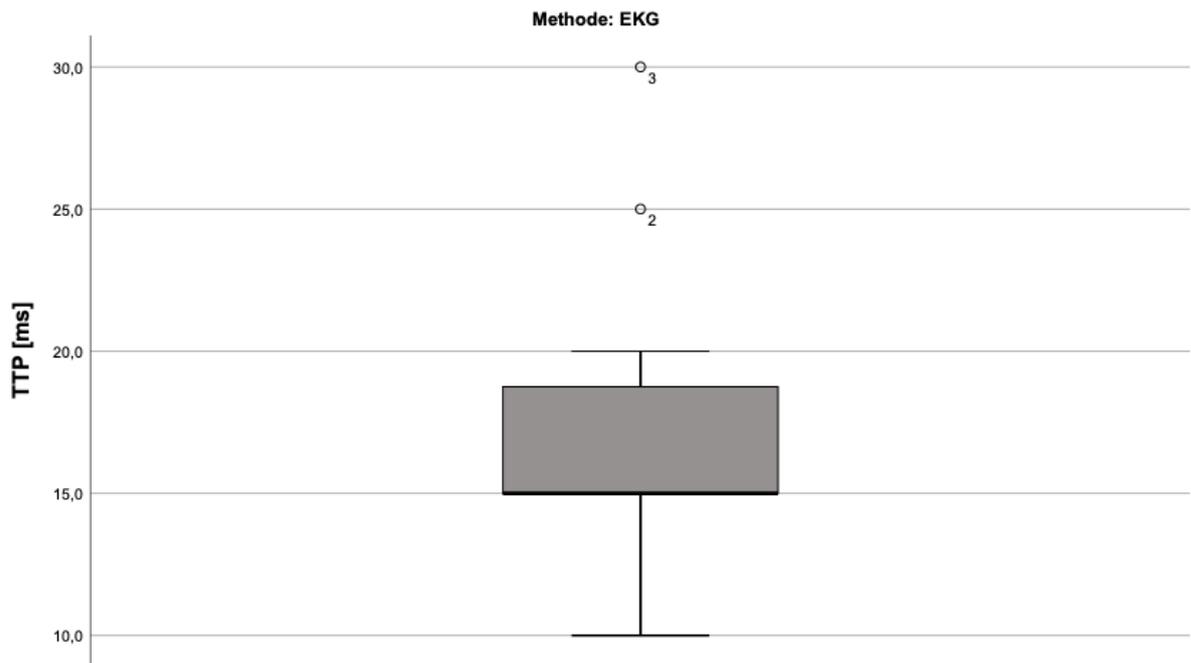


Abbildung 16: Boxplot der EKG-getriggerten TTP-Messungen

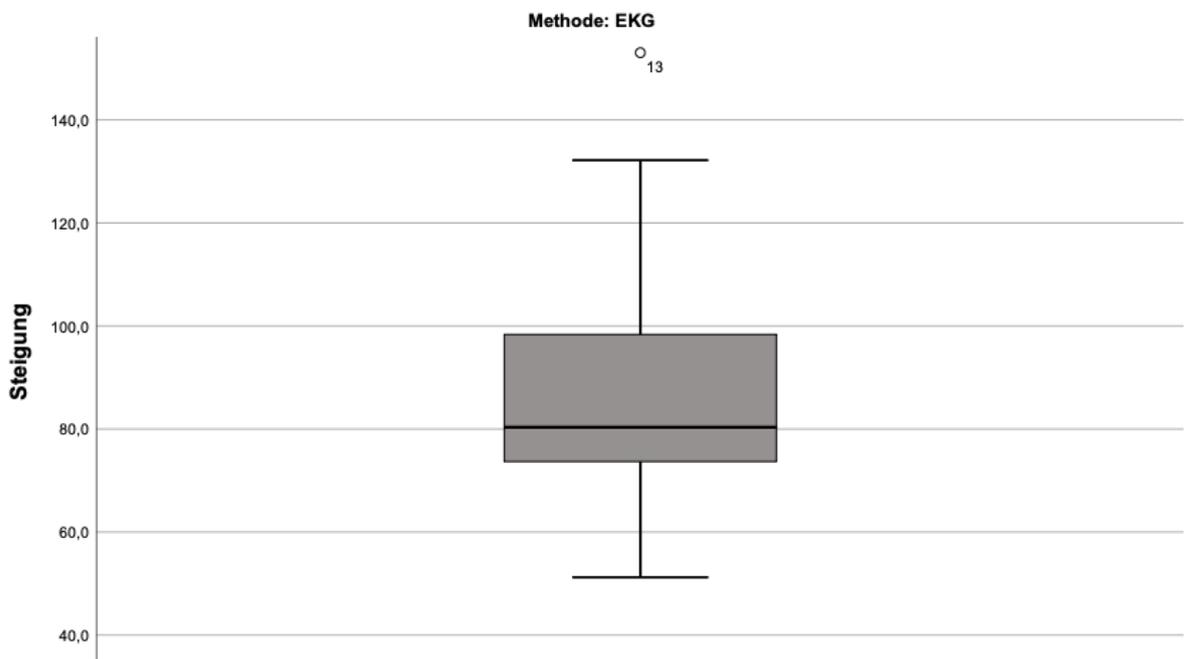


Abbildung 17: Boxplot der EKG-getriggerten Werte der Steigung

4.1.2 Pulsoxymetrie-getriggerte Messungen

Die Mittelwerte der einzelnen Variablen (PET, TTP und Steigung) der Pulsoxymetrie-getriggerten Messungen werden in Tabelle 6 gezeigt. Ebenso ist die Standardabweichung, der Median, das Minimum und das Maximum der Tabelle 6 zu entnehmen. Auch hier konnten alle Messungen mit in die Auswertung einfließen, daher ist N erneut bei 15.

Tabelle 6: Darstellung der ermittelten Variablen der Pulsoxymetrie-Messungen

	Pulsoxymetrie		
	PET [ms]	TTP [ms]	Steigung
Mittelwert	53,50	19,17	69,31
Standardabweichung	3,64	5,40	10,50
Median	55,00	17,50	68,45
Minimum	47,5	15	45,7
Maximum	60	30	89,2
Gültige N	15	15	15

In Tabelle 7 werden die einzelnen Mittelwerte für die Variablen PET, TTP und Steigung jeweils nach Maus zusammengefasst. Die Werte der verschiedenen Mäuse zeigen insgesamt eine natürliche Varianz und entsprechen den Mittelwerten, die in Tabelle 6 zu sehen sind.

Tabelle 7: Übersicht der Variablen der Pulsoxymetrie-Messungen aufgeteilt nach Maus

Maus	Triggerung	Variable	Mittelwert	Std.-Abw.	Minimum	Maximum
328	Pulsoxymetrie	PET [ms]	56,57	1,44	55	57,5
		TTP [ms]	26,67	5,77	20	30
		Steigung	60,46	12,89	45,66	69,21
329	Pulsoxymetrie	PET [ms]	51,66	3,82	47,5	55
		TTP [ms]	19,17	3,82	15	22,5
		Steigung	75,49	12,07	66,54	89,21
330	Pulsoxymetrie	PET [ms]	50	2,5	47,5	52,5
		TTP [ms]	15	0	15	15
		Steigung	75,39	9,77	66,54	85,06
331	Pulsoxymetrie	PET [ms]	52,5	2,5	50	55
		TTP [ms]	16,67	1,44	15	17,5
		Steigung	66,12	2,47	63,53	68,45
332	Pulsoxymetrie	PET [ms]	56,57	2,89	55	60
		TTP [ms]	18,33	5,77	15	25
		Steigung	69,10	10,59	56,90	75,89

In Abbildung 20 bis 22 sind die Messwerte von der PET, TTP und Steigung unter Pulsoxy-Triggerung in Boxplots dargestellt. Zu sehen ist, dass die Werte insgesamt relativ gleichmäßig um die jeweiligen Mittelwerte der Variablen verteilt sind.

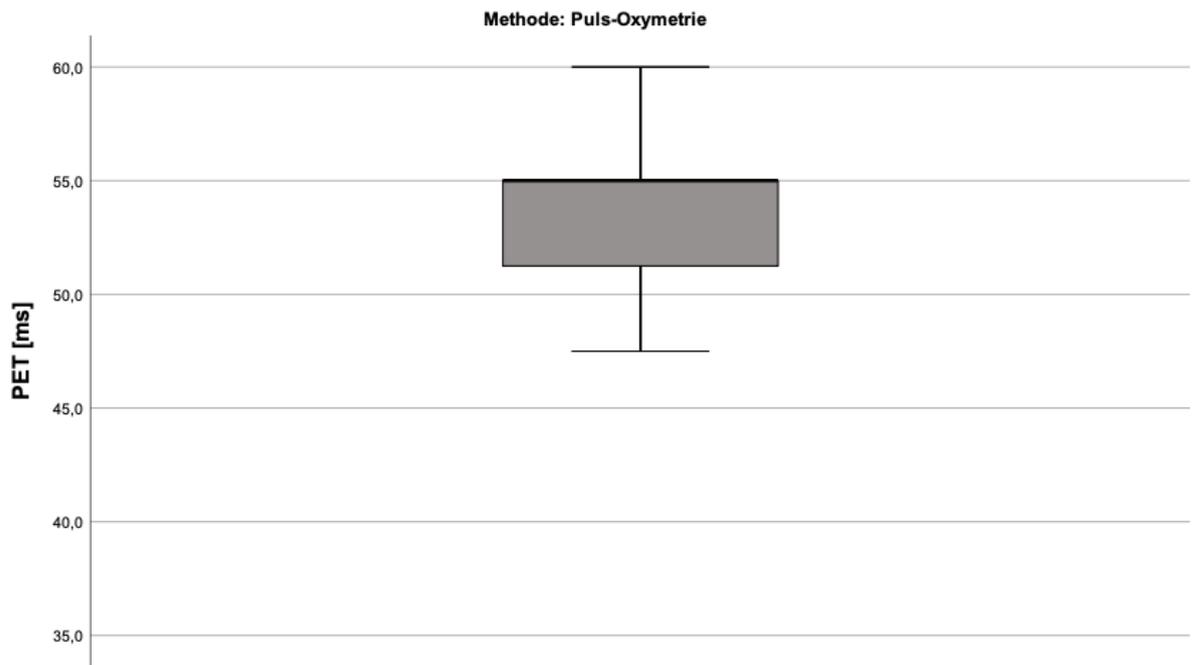


Abbildung 18: Boxplot der Pulsoxy-getriggerten PET-Werte

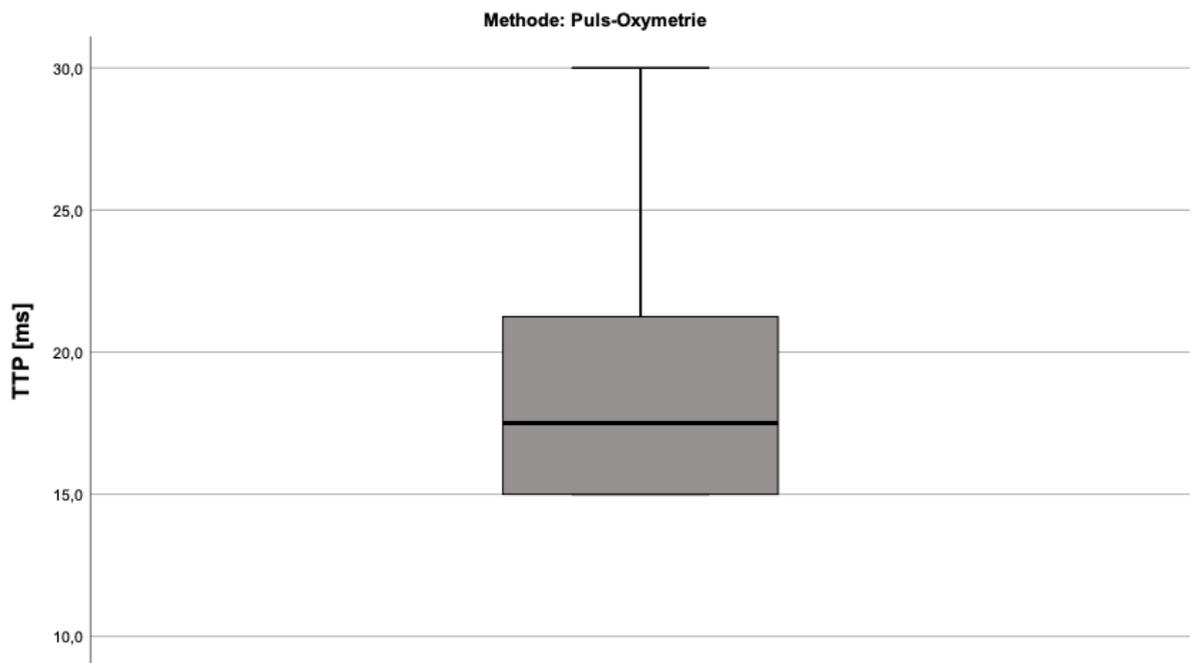


Abbildung 19: Boxplot der Pulsoxy-getriggerten TTP-Werte

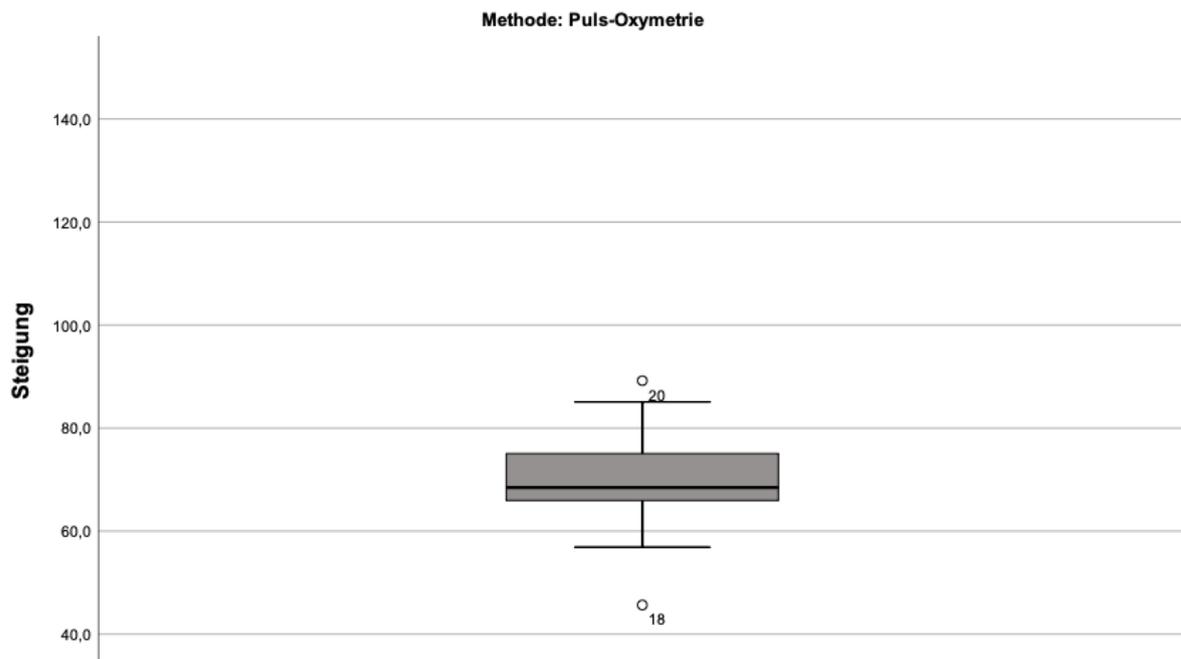


Abbildung 20: Boxplot der Pulsoxy-getriggerten Werte der Steigung

4.1.3 Vergleich von Puls- und EKG-getriggerten Messungen

Zunächst wurden die Ergebnisse der Flussmessungen mithilfe des Shapiro-Wilk-Tests hinsichtlich einer Normalverteilung untersucht. Die Werte sind, bis auf zwei Ausnahmen, mit einem Signifikanzniveau $p > 0,05$ normalverteilt. Lediglich die EKG-getriggerten PET-Werte und die pulsoxymetrisch getriggerten TTP-Werte sind mit einer Signifikanz $p = 0,002$ nicht normalverteilt. Aufgrund der besseren Teststärke von parametrischen Verfahren und den ausschließlich metrischen Werten, wurden dennoch parametrische Tests durchgeführt.

Die Verteilung der Werte PET, TTP und Steigung werden in den Abbildungen 23 bis 25, aufgeteilt nach Triggermethode, mithilfe von Boxplots dargestellt. Anhand dieser Abbildungen wird deutlich, in welchem Bereich die Werte der beiden Triggermethoden liegen.

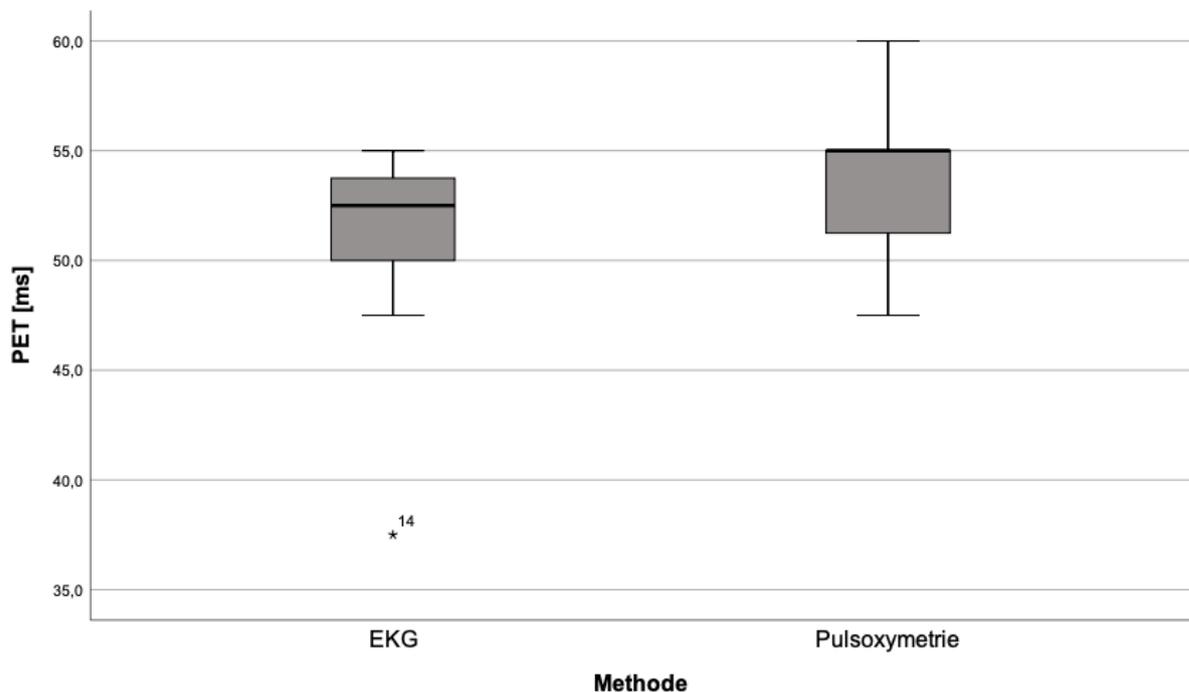


Abbildung 21: Box Plots der beiden Triggermethoden für die PET (Pulmonary Ejection Time)

Wie in Abbildung 23 zu sehen ist, liegen 50% der PET-Werte beider Methoden im Bereich zwischen 50 und 60 ms. Die Whisker der Pulsoxymetrie sind etwas länger, als der Whisker des Boxplots der EKG-Triggerung. Einen Ausreißer gibt es bei den EKG-Messungen, mit einem Wert von 37,5 ms.

In Abbildung 24 sind die Boxplots der TTP-Werte für beide Triggermethoden aufgetragen. Der Median der EKG-Triggerung ist etwas geringer mit 15 ms, als der der Pulsoxymetrie mit 17,5 ms. Die Werte streuen bei der EKG-Triggerung zwischen 10 und 30 ms und bei der Pulsoxymetrie-Triggerung zwischen 15 und 30 ms.

Die Boxplots der Steigung sind in Abbildung 25 zu sehen. Hierbei sind die Werte der EKG-Triggerung deutlich gestreuter, als die Werte der Pulsoxymetrie-Triggerung. Bei der EKG-Triggerung entspricht der Median einem Wert von 80,33 und bei der Pulsoxymetrie-Triggerung einem Wert von 68,45. Die Unterschiede zwischen den Methoden, sowie der Ausreißer im EKG-Boxplot, sind teilweise auf die hohe Steigung bei der Maus 332 zurückzuführen.

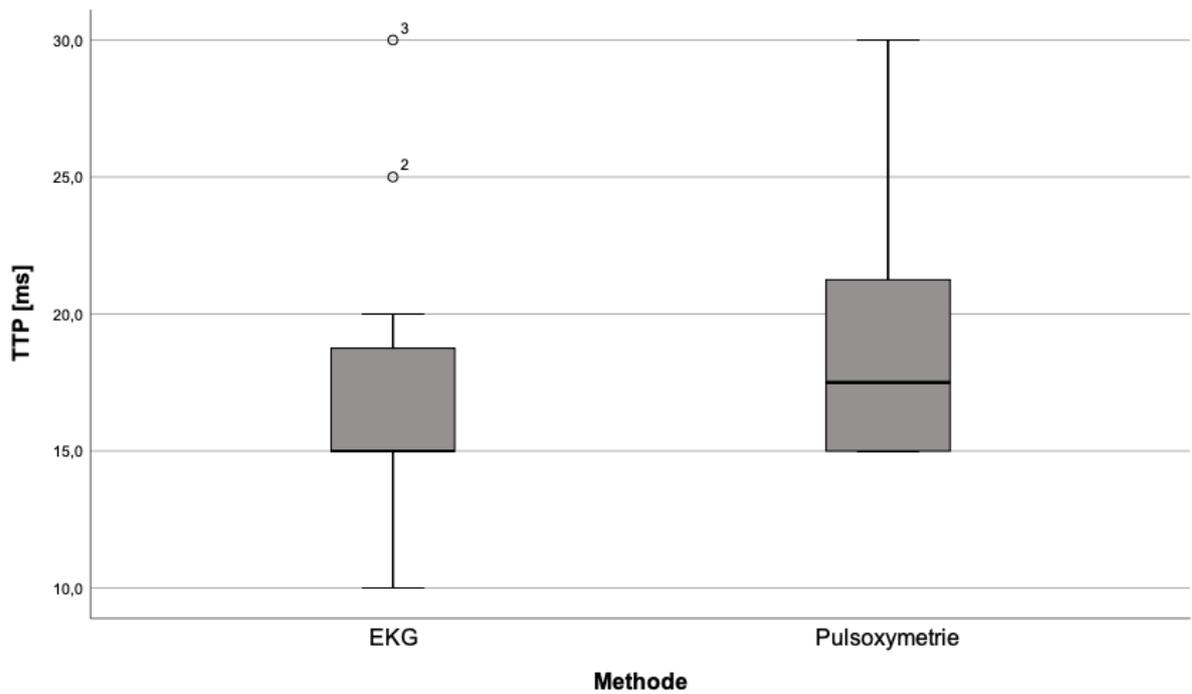


Abbildung 22: Box Plots der beiden Triggernethoden für die TTP (Time to Peak)

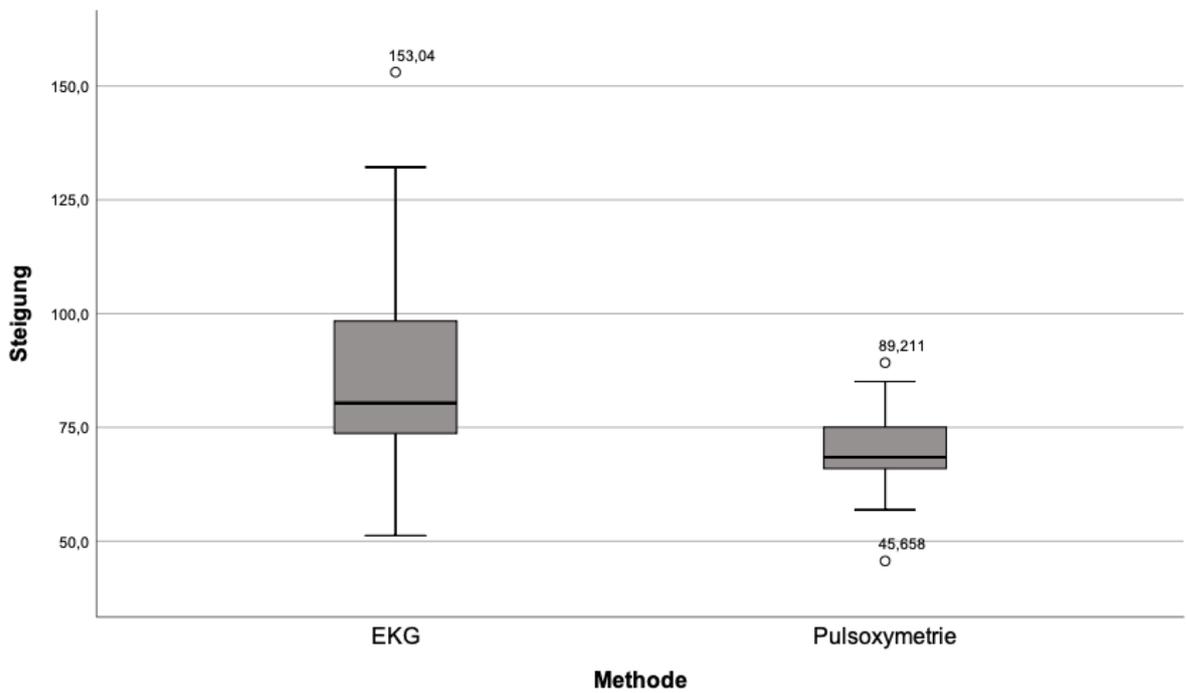


Abbildung 23: Box Plots der beiden Triggernethoden für die Steigung

Die Ergebnisse des Tests für generalisierte lineare gemischte Modelle (GLMM) können der Tabelle 8 entnommen werden. Die Messungen für PET und TTP der beiden Triggermethoden unterscheiden sich nicht signifikant voneinander, da die p-Werte mit 0,106 für PET und 0,116 für TTP jeweils $> 0,05$ sind. Somit kann für diese Variablen von keiner Ungleichheit zwischen den beiden Triggermethoden ausgegangen werden.

Die Werte für die Steigung sind jedoch mit einem p-Wert von 0,003, d.h. $< 0,05$ signifikant unterschiedlich. Durch Wiederholung des Tests für die Steigung ohne Maus 332 beträgt der p-Wert 0,067. Dies lässt darauf schließen, dass die signifikanten Unterschiede vor allem durch die Ausreißer der Maus 332 bedingt sind. Ohne diese Werte unterscheiden sich die Steigungen beider Triggermethoden nicht signifikant voneinander. Die Untersuchung der Werte hinsichtlich zufälliger Effekte durch die Messwiederholungen bei den fünf Mäusen ergab, mit einem $p < 0,005$ bei allen drei Variablen, dass keine zufälligen Effekte die Ergebnisse beeinflussen.

Tabelle 8: Ergebnisse des Tests für generalisierte lineare gemischte Modelle für die Triggermethoden EKG und Pulsoxymetrie

Testvariable	Differenz der Mittelwerte	Standardfehler	Signifikanz des paarweisen Vergleichs *	Signifikanz des zufälligen Effektes **
PET	-2,500 ms	1,496	0,106	0,000
TTP	-2,000 ms	1,225	0,116	0,001
Steigung	20,873	6,351	0,003	0,000

* Vergleich von EKG mit Pulsoxymetrie

** Zufälliger Effekt durch Messwiederholung pro Maus

Der T-Test für gepaarte Stichproben wurde ergänzend zum GLMM durchgeführt. Die Ergebnisse von diesem sind in Tabelle 9 zusammengefasst. Wie auch beim GLMM sind die Unterschiede der PET- und TTP-Werte beider Triggermethoden nicht signifikant. Die p-Werte sind jeweils $> 0,05$, mit $p = 0,173$ für PET und $p = 0,061$ für TTP. Die Werte der Steigung unterschieden sich bei diesem Test ebenfalls mit einer Signifikanz von 0,013. Allerdings erhöht sich der p-Wert auf 0,051, wenn die Werte der Maus 332 erneut nicht mit in die Testung einbezogen werden. Die Steigung der übrigen Mäuse unterscheidet sich damit nicht signifikant voneinander.

Tabelle 9: Ergebnisse des gepaarten T-Tests für die Triggermethoden EKG und Pulsoxymetrie

Testvariable	Differenz der Mittelw.	Std.-Abw.	T-Wert	df	Signifikanz
PET	-2,500 ms	6,75 ms	-1,44	14	0,173
TTP	-2,000 ms	3,80 ms	-2,04	14	0,061
Steigung	20,873	28,41	2,85	14	0,013

df = Freiheitsgrade

In Abbildungen 26 bis 28 sind die Bland-Altman-Plots für die PET-Werte, die TTP-Werte und die Steigung aufgetragen. Die Differenz der Werte wurde bestimmt, indem die Werte der EKG-Triggerung mit den Werten der Pulsoxymetrie-Triggerung subtrahiert wurden (Differenz = EKG – Pulsoxymetrie). Von diesen Werten wurde jeweils der Mittelwert bestimmt und als rote Linie in den Diagrammen eingezeichnet. Die grünen Linien sind die oberen und unteren 95%-Intervalle. Zu beachten ist hierbei, dass die 95%-Intervalle relativ groß sind. Ob dies nun an den Triggermethoden liegt oder an physiologischen Messvariationen, bleibt Bestandteil der Diskussion.

Die Punkte der Differenzen der Werte beider Triggermethoden sind, mit wenigen Ausnahmen, innerhalb der Limits of Agreement bzw. innerhalb des 95%-Intervalls. Die Mittelwerte der Differenzen für PET, TTP und Steigung weichen in allen drei Fällen von 0 ab. Der Mittelwert der Differenzen für PET beträgt -2,5 ms (Abbildung 26) und der Mittelwert der Differenzen für TTP beträgt -2 ms (Abbildung 27). Dies bedeutet, dass die mit Pulsoxymetrie getriggerten Werte im Durchschnitt etwas höher sind. Am stärksten weicht der Mittelwert der Differenzen der Steigung mit einem Wert von 20,87 von 0 ab (Abbildung 28). Dies bedeutet, dass die Werte der Steigung bei der EKG-Triggerung im Durchschnitt um 20 Einheiten größer waren, als die der Pulsoxymetrie-Triggerung. Die Punktwolken verteilen sich relativ gleichmäßig um die rote Linie, dies spricht für eine Normalverteilung.

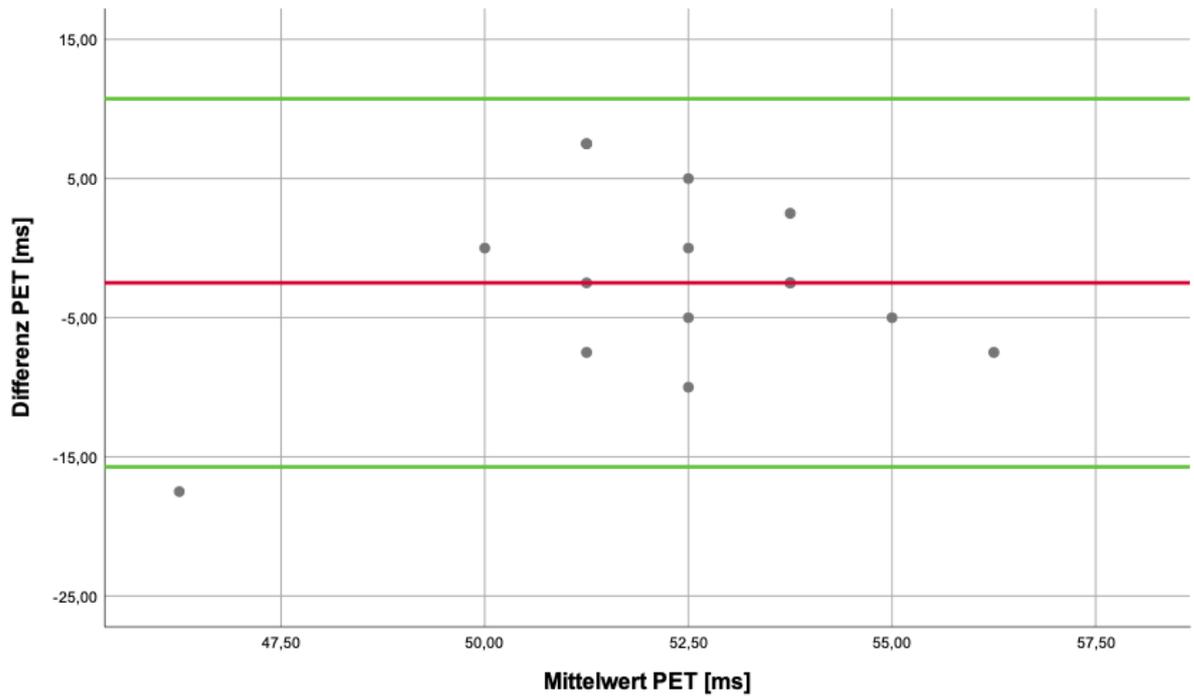


Abbildung 24: Bland-Altman-Plot der PET-Werte

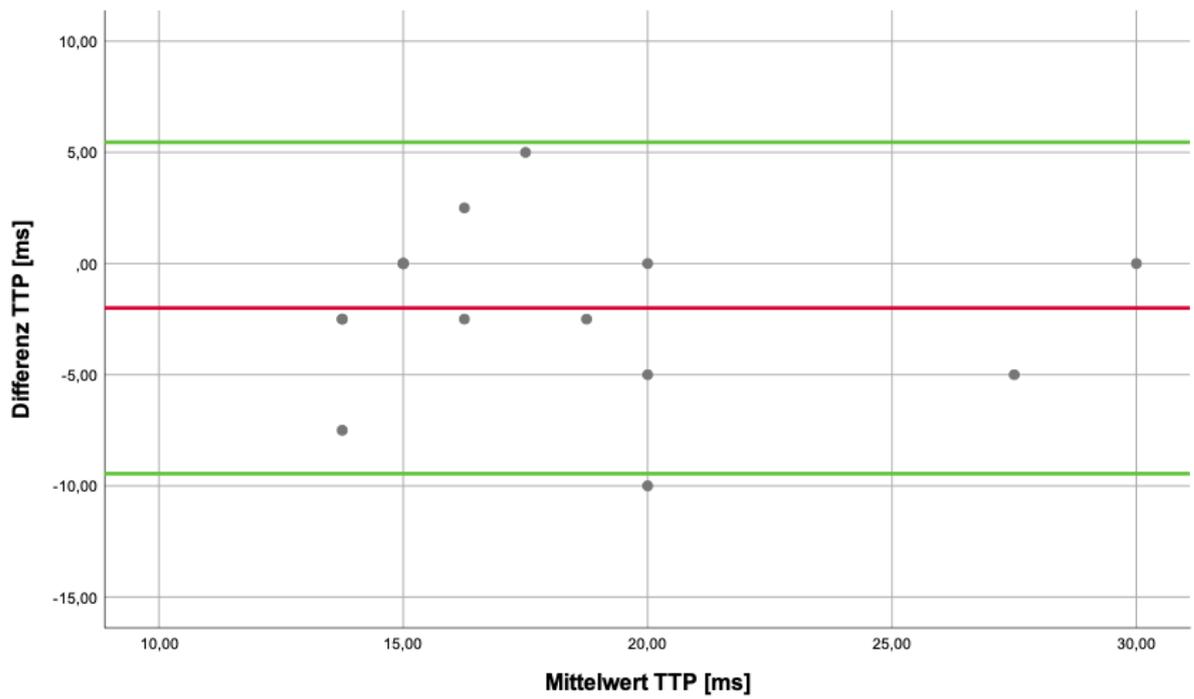


Abbildung 25: Bland-Altman-Plot der TTP-Werte

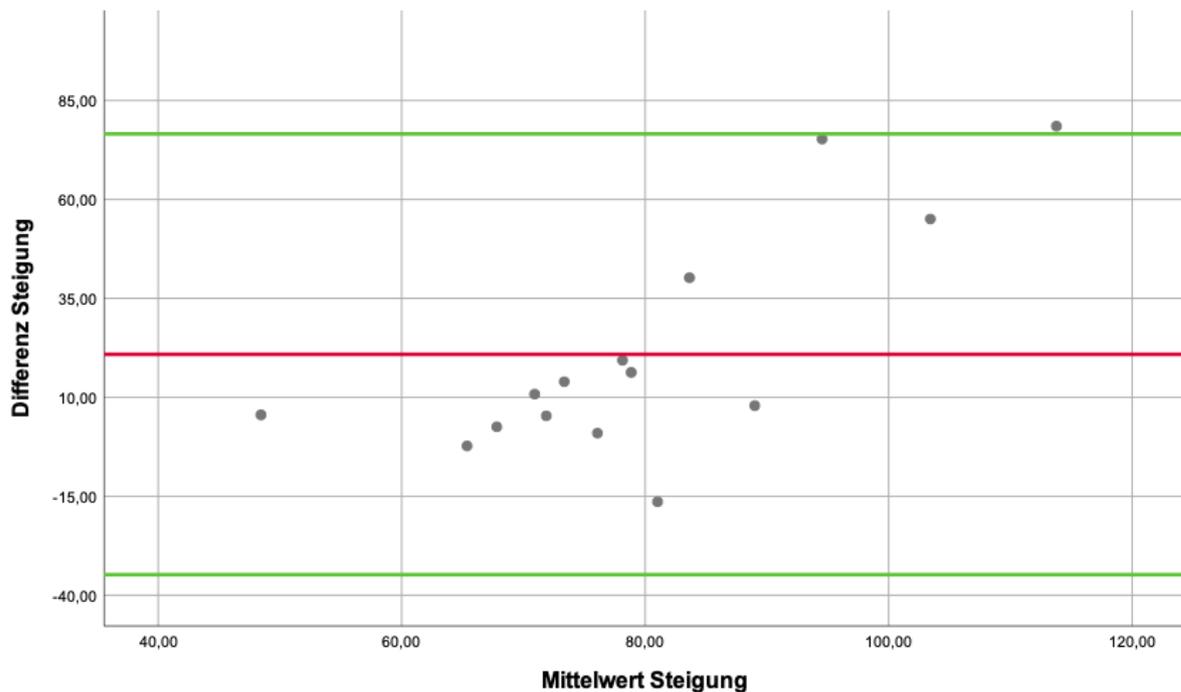


Abbildung 26: Bland-Altman-Plot der Steigung

Zuletzt wurde eine Korrelationsanalyse nach Pearson durchgeführt. Die Ergebnisse befinden sich in Tabelle 10. Bei der Analyse aller Werte findet sich eine signifikante Korrelation von 0,000. Außerdem Korrelieren die TTP-Werte mit $p = 0,002$ signifikant. Die PET-Werte und die Steigung dagegen korrelieren nicht signifikant miteinander.

Tabelle 10: Korrelationsanalyse der Messwerte beider Triggernethoden nach Pearson

Analysierte Werte	Signifikanz
Alle Werte	0,000
PET-EKG mit PET-Pulsoxymetrie	0,181
TTP-EKG mit TTP-Pulsoxymetrie	0,002
Steigung-EKG mit Steigung-Pulsoxymetrie	0,526

4.2 Untersuchung des pulmonalarteriellen Blutflusses und kardialer Parameter im Mausmodell der pulmonalen Hypertonie mittels MRT

Insgesamt wurden 48 Mäuse untersucht, von denen 5 innerhalb des vierwöchigen Versuchszeitraums verstarben. Letztendlich wurden von 43 Mäusen MRT-Bilder akquiriert. Von diesen konnten nicht alle ausgewertet werden, da die Bilder teilweise artefaktbelastet waren oder nicht genügend Schichten durchgeführt werden konnten. Zum Zeitpunkt der ersten und zweiten MRT-Untersuchung waren die Mäuse etwa 4 bzw. 5 Monate alt und wogen durchschnittlich 29,8 Gramm während der ersten Messung und 31,5 Gramm während der zweiten Messung. Bei den MRT-Aufnahmen wurde durchschnittlich eine Herzfrequenz von etwa 420 Schlägen pro Minute gemessen.

Die Ergebnisse der MRT-Messungen lassen sich in drei Untergruppen unterteilen. Zum einen die Flussmessungen und zum anderen die Volumetrie und Wanddicke des rechten Ventrikels, sowie Volumetrie und Wanddicke des linken Ventrikels.

Zu Beginn wurden die insgesamt 24 Variablen mithilfe des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung hin untersucht. Dieser ergab, dass 6 der Variablen mit einem $p < 0,05$ nicht normalverteilt sind. Im Gegensatz dazu sind 18 mit einem $p > 0,05$ normalverteilt. Da hier die Mehrzahl der Werte normalverteilt sind und da parametrische Tests eine höhere Teststärke aufweisen, wurden parametrische Tests durchgeführt.

4.2.1 Flussmessungen

Die Ergebnisse der Flussmessungen der Hypoxie-Gruppe und der Kontrollgruppe in Normoxie sind in Tabelle 11 zu sehen. Die Mittelwerte, die Standardabweichung, der Median, das Minimum, das Maximum und das N der Variablen PET, TTP, Steigung und TTP/PET sind jeweils für die prä Hypoxie- bzw. Normoxiemessungen und für die post Hypoxie- bzw. Normoxiemessungen angegeben.

Bei der ersten Untersuchung beträgt die PET in der Hypoxie-Gruppe im Mittel $51,20 \pm 3,60$ ms und steigt nach der Hypoxie auf $56,93 \pm 15,72$ ms an. Die PET steigt weniger stark in der Normoxie mit $54,74 \pm 7,16$ ms bei der ersten Untersuchung und mit $56,63 \pm 7,75$ ms bei der zweiten Untersuchung an. Die TTP bleibt mit $19,13 \pm 5,27$ ms bei der ersten Messung und $18,75 \pm 2,75$ ms bei der zweiten Messung in der Normoxie-Gruppe relativ konstant. In der Hypoxie-Gruppe ist bei der TTP eine Abnahme von $18,85 \pm 3,71$ ms auf $15,11 \pm 5,26$ ms zu sehen. Während die Steigung in der Normoxie-Gruppe mit $81,49 \pm 32,75$ und $82,06 \pm 28,02$ konstant bleibt, ist in der Hypoxie-Gruppe ein Anstieg von $78,21 \pm 28,18$ in der ersten Messung auf $95,26 \pm 35,68$ in der zweiten Messung zu sehen. Das

Verhältnis TTP/PET nimmt bei der Normoxie-Gruppe von $34,25 \pm 8,91$ auf $31,50 \pm 8,92$ und in der Hypoxie-Gruppe von $35,39 \pm 6,57$ auf $24,50 \pm 9,17$ ab.

Tabelle 11: Ergebnisse der Flussmessungen unterteilt nach prä bzw. post Hypoxie und Normoxie

Gruppe		Variable	Mittelw.	Std.-Abw.	Median	Min.	Max.	N
Normoxie	prä	PET [ms]	54,74	7,16	55,00	45,00	67,50	19
		TTP [ms]	19,13	5,27	18,75	10,00	30	20
		Steigung	81,49	32,76	71,23	34,92	187,74	20
		TTP/PET	34,25	8,91	33,33	15,38	50	19
	post	PET [ms]	56,63	7,75	56,25	45,00	67,50	20
		TTP [ms]	18,75	2,75	17,50	15,00	22,50	20
		Steigung	82,06	28,02	81,16	43,89	150,56	20
		TTP/PET	31,50	8,92	31,70	11,11	50	20
Hypoxie	prä	PET [ms]	51,20	3,60	50,00	42,50	57,50	23
		TTP [ms]	18,15	3,71	20,00	10,00	25,00	23
		Steigung	78,21	28,18	72,97	43,26	155,18	23
		TTP/PET	35,39	6,57	35,29	20	50	23
	post	PET [ms]	56,93	15,72	52,50	40,00	120,00	22
		TTP [ms]	15,11	5,26	15,00	7,50	25,00	22
		Steigung	95,26	35,68	93,63	37,59	166,66	22
		TTP/PET	24,50	9,17	24,16	11,54	47,37	22

In Tabelle 12 sind die Werte der Variablen PET, TTP, Steigung und TTP/PET aufgeteilt nach prä und post Hypoxie bzw. Normoxie, sowie in den Gruppen KO-Mäuse und WT-Mäuse zusammengefasst. Insbesondere fällt der Unterschied zwischen den Gruppen WT-Hypoxie und KO-Hypoxie auf. Während die TTP in der KO-Hypoxie-Gruppe von $18,96 \pm 3,10$ ms auf $14,38 \pm 4,41$ ms abnimmt, nimmt die TTP in der WT-Hypoxie-Gruppe mit $17,27 \pm 4,25$ ms auf $16,00 \pm 6,26$ ms weniger stark ab. Die Steigung nimmt in der KO-Hypoxie-Gruppe mit $73,10 \pm 17,42$ auf $109,58 \pm 37,92$ zu. In der WT-Hypoxie-Gruppe kommt es zu keiner nennenswerten Veränderung der Steigung.

Tabelle 12: Ergebnisse der Flussmessungen aufgeteilt nach Knock-Out (KO), Wildtyp sowie prä bzw. post Hypoxie und Normoxie

Gruppe		Variable	Mittelw.	Std.-Abw.	Median	Min.	Max.	N
KO Normoxie	prä	PET [ms]	53,00	5,87	51,25	45,00	65,00	10
		TTP [ms]	18,25	4,42	18,75	10,00	25,00	10
		Steigung	88,75	36,56	80,42	63,41	187,74	10
		TTP/PET	34,59	8,47	33,41	20,00	44,44	10
	post	PET [ms]	55,50	8,32	53,75	45,00	67,50	10
		TTP [ms]	18,50	2,69	17,50	15,00	22,50	10
		Steigung	94,83	30,32	86,21	59,51	150,56	10
		TTP/PET	29,61	10,19	31,17	11,11	50,00	10
WT Normoxie	prä	PET [ms]	56,67	8,29	55,00	45,00	67,50	9
		TTP [ms]	20,00	6,12	20,00	10,00	30,00	10
		Steigung	74,24	28,50	66,26	34,92	132,85	10
		TTP/PET	33,87	9,90	33,33	15,38	50,00	9
	post	PET [ms]	57,75	7,40	57,50	45,00	67,50	10
		TTP [ms]	19,00	2,93	18,75	15,00	22,50	10
		Steigung	69,28	19,38	70,70	43,89	94,33	10
		TTP/PET	33,39	6,55	33,97	22,22	45,00	10
KO Hypoxie	prä	PET [ms]	52,50	3,69	52,50	42,50	57,50	12
		TTP [ms]	18,96	3,10	20,00	15,00	25,00	12
		Steigung	73,10	17,47	76,59	43,95	99,78	12
		TTP/PET	36,07	5,00	36,36	28,57	47,62	12
	post	PET [ms]	55,63	7,99	55,00	40,00	67,50	12
		TTP [ms]	14,38	4,41	13,75	7,50	22,50	12
		Steigung	109,58	37,92	107,69	45,87	166,66	12
		TTP/PET	21,64	8,32	21,97	11,54	33,33	12
WT Hypoxie	prä	PET [ms]	49,77	3,05	50,00	45,00	57,50	11
		TTP [ms]	17,27	4,25	17,50	10,00	25,00	11
		Steigung	83,79	36,68	71,13	43,26	155,18	11
		TTP/PET	34,66	8,14	43,78	20,00	50,00	11
	post	PET [ms]	58,50	22,21	51,25	47,50	120,00	10
		TTP [ms]	16,00	6,26	15,00	10,00	25,00	10
		Steigung	78,08	24,71	80,67	37,59	116,61	10
		TTP/PET	27,92	9,37	24,81	20,00	47,37	10

Die Ergebnisse der gepaarten T-Tests der Variablen PET, TTP, Steigung und TTP/PET, aufgeteilt nach Normoxie und Hypoxie, sind in Tabelle 13 zusammengefasst. Gepaart wurden jeweils die Werte der prä Hypoxie- und Normoxie-Messung mit den Werten der post Hypoxie- und Normoxie-Messung. Ein signifikanter Unterschied liegt bei den gemessenen Werten bei den Mäusen, die in Hypoxie waren, bei den Variablen TTP ($p = 0,029$), Steigung ($p = 0,021$) und TTP/PET ($p = 0,000$) vor. Die Werte der Normoxie-Gruppe unterscheiden sich nicht signifikant.

Tabelle 13: Gepaarter T-Test der Flussvariablen unterteilt nach Normoxie und Hypoxie

Gruppe	Testvariable	Diff. der Mittelw.	Std.-Abw.	T-Wert	df*	Signifikanz
Normoxie	PET	-2,11 ms	9,83 ms	-0,933	18	0,363
	TTP	0,38 ms	4,39 ms	0,382	19	0,707
	Steigung	-0,56	38,58	-0,065	19	0,949
	TTP/PET	3,10	11,92	1,133	18	0,272
Hypoxie	PET	-5,68 ms	16,73 ms	-1,593	21	0,126
	TTP	3,41 ms	6,84 ms	2,339	21	0,029
	Steigung	-20,55	38,60	-2,497	21	0,021
	TTP/PET	11,60	11,28	4,820	21	0,000

df = Freiheitsgrade

Die Werte des gepaarten T-Tests aufgeteilt nach KO-Normoxie, WT-Normoxie, KO-Hypoxie und WT-Hypoxie sind in Tabelle 14 zusammengefasst. Signifikante Unterschiede der prä- und post-Messungen der KO-Hypoxie-Gruppe sind in den Variablen TTP ($p = 0,020$), Steigung ($p = 0,004$) und TTP/PET ($p = 0,000$) vorhanden. In den Gruppen KO-Normoxie, WT-Normoxie und WT-Hypoxie sind keine signifikanten Unterschiede in den Messungen zu erkennen.

Tabelle 14: Gepaarter T-Test nach Kohorte der Flussvariablen unterteilt nach KO, WT, Hypoxie und Normoxie

Gruppe	Testvariable	Diff. der Mittelw.	Std.-Abw.	T-Wert	df	Signifikanz
KO Normoxie	PET	-2,5 ms	8,82 ms	-0,896	9	0,393
	TTP	-0,25 ms	3,81 ms	-0,208	9	0,840
	Steigung	-6,09	49,67	-0,388	9	0,707
	TTP/PET	4,98	13,16	1,197	9	0,262
WT Normoxie	PET	-1,67 ms	11,89 ms	-0,439	8	0,672
	TTP	1,00 ms	5,03 ms	0,629	9	0,545
	Steigung	4,96	24,66	0,636	9	0,541
	TTP/PET	1,01	10,75	0,281	8	0,786
KO Hypoxie	PET	-3,13 ms	10,23 ms	-1,058	11	0,313
	TTP	4,58 ms	5,82 ms	2,727	11	0,020
	Steigung	-36,48	34,70	-3,642	11	0,004
	TTP/PET	14,43	8,77	5,697	11	0,000
WT Hypoxie	PET	-8,75 ms	22,49 ms	-1,230	9	0,250
	TTP	2,00 ms	7,98 ms	0,793	9	0,448
	Steigung	-1,43	35,49	-0,127	9	0,901
	TTP/PET	8,20	13,40	1,935	9	0,085

df = Freiheitsgrade

Die Unterschiede der Werte der Flussmessungen von prä sowie post Hypoxie bzw. Normoxie sind in Abbildung 29 bis 31 als Balkendiagramme dargestellt. Dabei bildet der Mittelwert aus den Messungen jeweils einen Balken. Aufgeteilt wurde zum einen nach Hypoxie und Normoxie und zum anderen nach KO-Normoxie, WT-Normoxie, KO-Hypoxie und WT-Hypoxie. In Abbildung 29 ist zu sehen, dass die TTP in der Hypoxie-Gruppe nach der vierwöchigen Hypoxie deutlich geringer ist, als in der Normoxie-Gruppe. Die Steigung nimmt nach der Hypoxie, insbesondere in der KO-Gruppe zu (Abbildung 30). Die PET nimmt in beiden Gruppen ab, jedoch stärker in der Hypoxie-Gruppe (Abbildung 31).

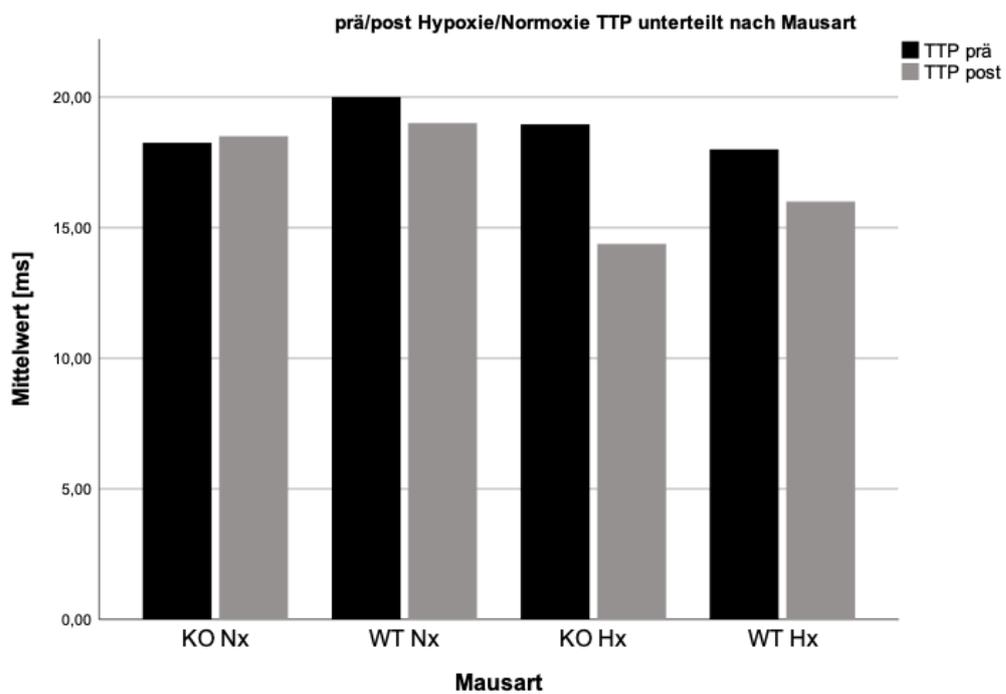
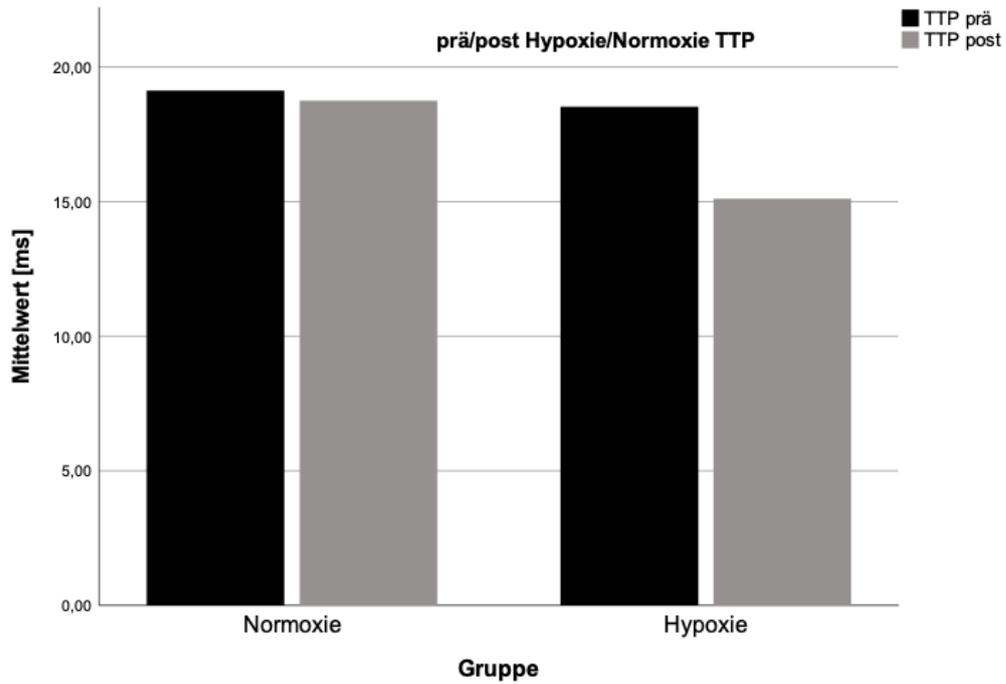


Abbildung 27: Balkendiagramme der TTP

TTP: Time to Peak; KO Nx: Knock-Out Normoxie; WT Nx: Wildtyp Normoxie; KO Hx: Knock-Out Hypoxie; WT Hx: Wildtyp Hypoxie

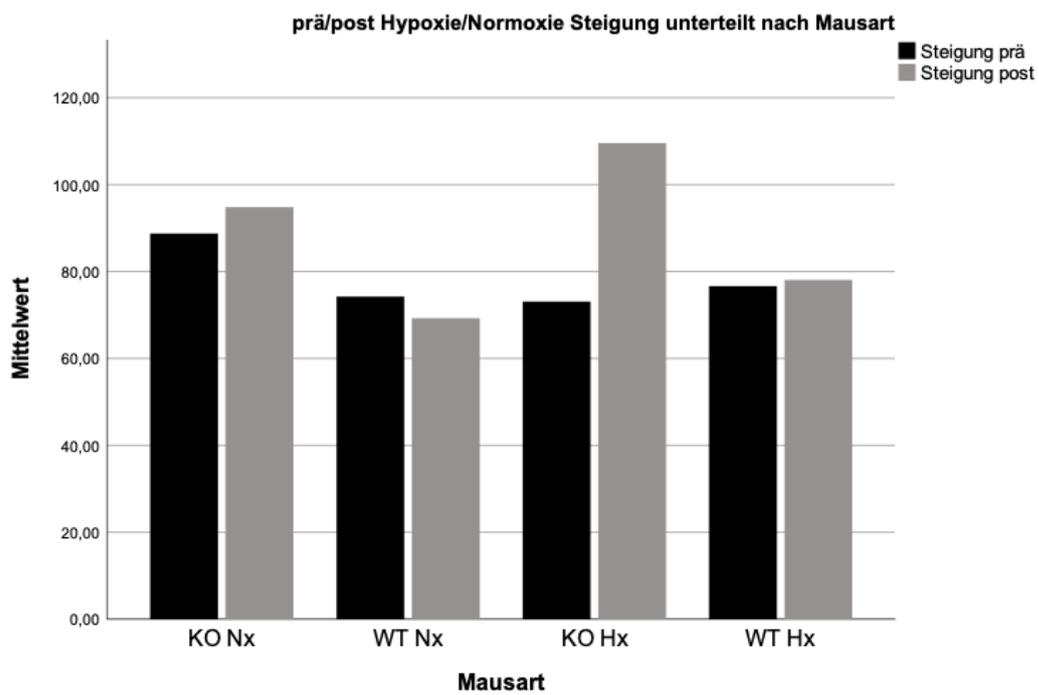
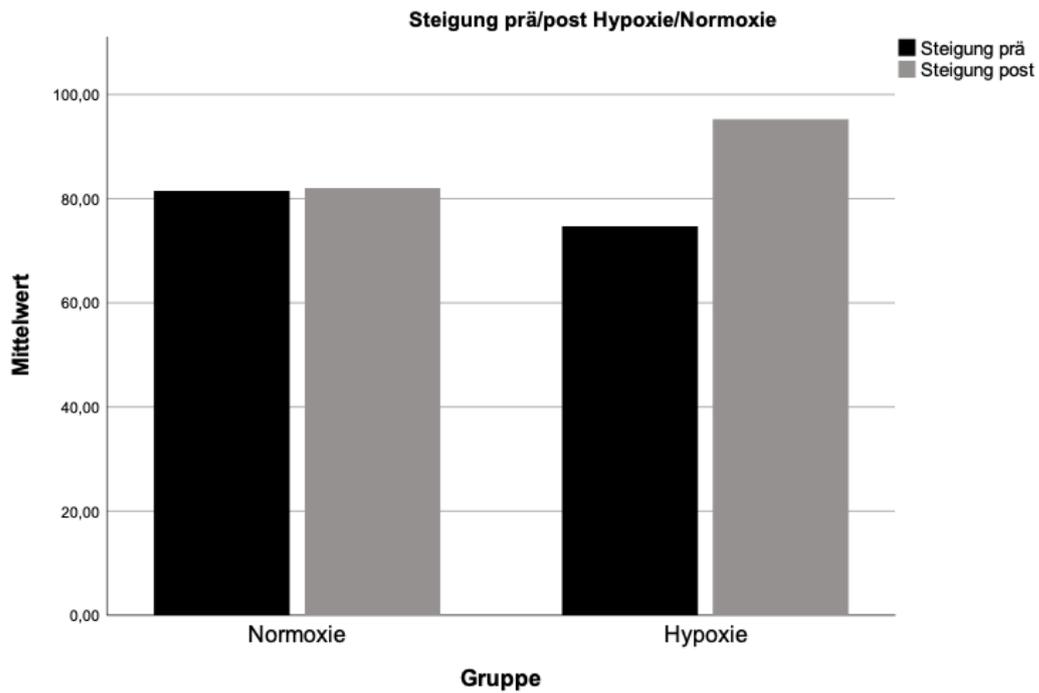


Abbildung 28: Balkendiagramme der Steigung

KO Nx: Knock-Out Normoxie; WT NX: Wildtyp Normoxie; KO Hx: Knock-Out Hypoxie; WT Hx: Wildtyp Hypoxie

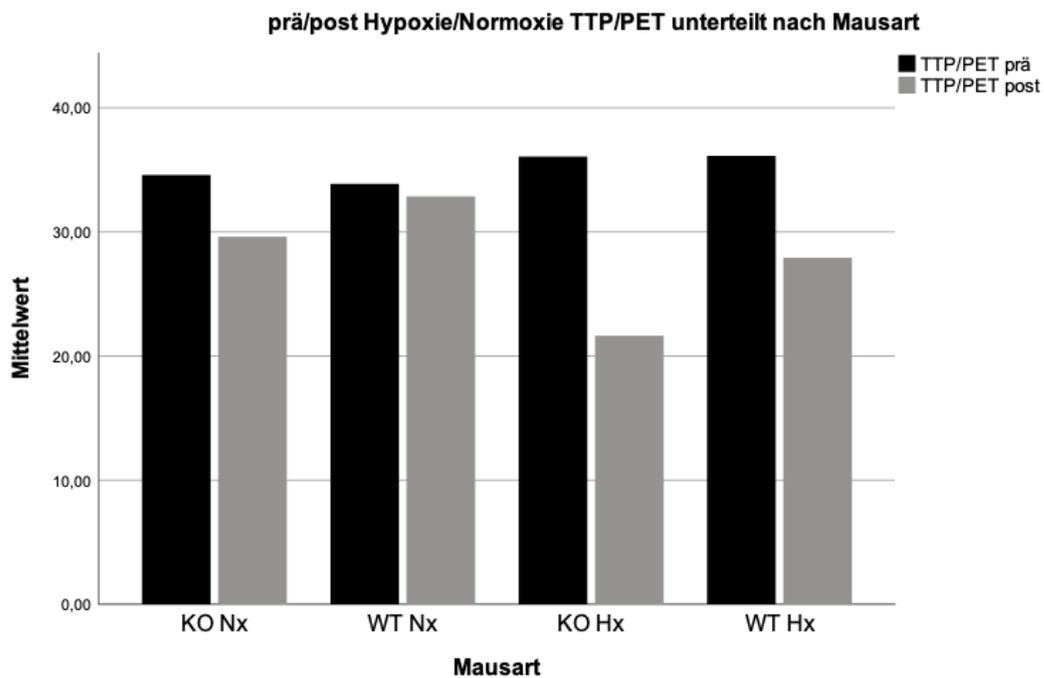
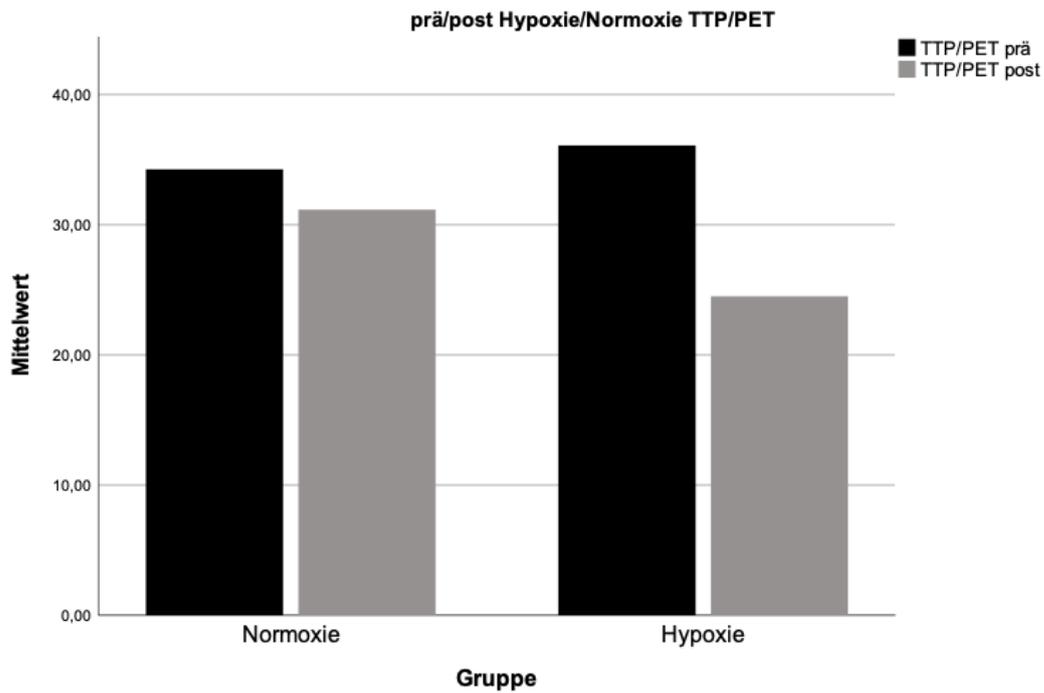


Abbildung 29: Balkendiagramme des Verhältnisses TTP/TEP

TTP/PET: Time to Peak/Pulmonary Ejection Time; KO Nx: Knock-Out Normoxie; WT NX: Wildtyp Normoxie; KO Hx: Knock-Out Hypoxie; WT Hx: Wildtyp Hypoxie

4.2.2 Volumetrie und Wanddicke des rechten Ventrikels

Die Ergebnisse der Volumetrie des rechten Ventrikels sind in Tabelle 15 zusammengefasst. Gemessen wurde das enddiastolische Volumen (Diastole), die Ejektionsfraktion (EF), sowie die Wanddicke (Wand). In Tabelle 15 finden sich die Mittelwerte, die Standardabweichung, der Median, das Minimum, das Maximum sowie die Gruppengröße N. Die Ergebnisse sind unterteilt in prä bzw. post Normoxie sowie prä bzw. post Hypoxie. Im Mittel blieben die Werte der Variablen relativ konstant, lediglich die Wanddicke nimmt in beiden Gruppen zu. In der Normoxie-Gruppe von $0,41 \pm 0,06$ mm auf $0,46 \pm 0,06$ mm und in der Hypoxie-Gruppe von $0,39 \pm 0,05$ mm auf $0,47 \pm 0,06$ mm.

Tabelle 15: Deskriptive Statistik der Variablen des rechten Ventrikels unterteilt in prä bzw. post Normoxie und Hypoxie

Gruppe		Variable	Mittelw.	Std.-Abw.	Median	Min.	Max.	N
Normoxie	prä	Diastole [μ l]	48,02	11,17	48,95	30,44	73,33	20
		EF [%]	69,17	10,22	68,81	48,40	89,07	20
		Wand [mm]	0,41	0,06	0,42	0,30	0,52	19
	post	Diastole [μ l]	46,74	6,98	48,45	34,84	56,53	19
		EF [%]	69,26	9,55	66,42	54,33	88,62	19
		Wand [mm]	0,46	0,06	0,46	0,34	0,54	19
Hypoxie	prä	Diastole [μ l]	43,66	5,64	43,34	33,23	55,31	23
		EF [%]	65,45	8,00	65,45	50,59	78,58	23
		Wand [mm]	0,39	0,05	0,37	0,31	0,48	23
	post	Diastole [μ l]	42,80	4,61	42,10	34,15	53,86	22
		EF [%]	63,40	9,68	65,64	41,40	84,47	22
		Wand [mm]	0,47	0,06	0,49	0,33	0,59	23

In Tabelle 16 sind die Variablen erneut dargestellt, jedoch diesmal unterteilt in KO, WT sowie prä und post Hypoxie bzw. Normoxie. Der Tabelle ist zu entnehmen, dass die Werte insgesamt denen in Tabelle 15 ähneln.

Tabelle 16: Deskriptive Statistik der Variablen des rechten Ventrikels unterteilt in WT, KO sowie prä bzw. post Hypoxie und Normoxie

Gruppe		Variable	Mittelw.	Std.-Abw.	Median	Min.	Max.	N
KO Normoxie	prä	Diastole [μ l]	50,17	7,77	50,71	36,11	60,05	10
		EF [%]	65,39	6,35	66,69	56,40	75,64	10
		Wand [mm]	0,41	0,06	0,44	0,30	0,48	10
	post	Diastole [μ l]	47,72	7,15	48,95	34,84	56,53	10
		EF [%]	67,02	11,28	66,12	54,33	88,62	10
		Wand [mm]	0,47	0,04	0,48	0,39	0,53	10
WT Normoxie	prä	Diastole [μ l]	45,88	13,88	41,52	30,44	73,33	10
		EF [%]	72,96	12,19	72,43	48,40	89,07	10
		Wand [mm]	0,40	0,05	0,40	0,34	0,52	9
	post	Diastole [μ l]	45,65	7,04	47,94	36,39	55,06	9
		EF [%]	71,75	6,98	69,69	65,61	83,60	9
		Wand [mm]	0,44	0,08	0,46	0,34	0,54	9
KO Hypoxie	prä	Diastole [μ l]	45,14	6,87	45,70	33,23	55,31	12
		EF [%]	63,49	6,97	62,28	51,68	74,62	12
		Wand [mm]	0,39	0,05	0,37	0,33	0,48	12
	post	Diastole [μ l]	44,08	4,41	42,69	38,55	53,86	12
		EF [%]	61,49	10,45	64,35	41,40	75,59	12
		Wand [mm]	0,47	0,06	0,48	0,33	0,59	12
WT Hypoxie	prä	Diastole [μ l]	42,05	3,54	42,36	34,22	47,81	11
		EF [%]	67,59	8,82	67,81	50,49	78,58	11
		Wand [mm]	0,39	0,06	0,41	0,31	0,46	11
	post	Diastole [μ l]	41,26	4,59	41,84	34,15	50,13	10
		EF [%]	65,69	8,62	66,36	55,34	84,47	10
		Wand [mm]	0,47	0,07	0,49	0,38	0,59	10

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse des gepaarten T-Tests aufgeteilt nach Hypoxie und Normoxie ist in Tabelle 17 dargestellt. Jeweils gepaart wurden dabei die prä Hypoxie- bzw. Normoxie-Werte mit den post Hypoxie- bzw. Normoxie-Werten. In Tabelle 18 wurden die Ergebnisse des gepaarten T-Tests noch weiter in WT-Normoxie, KO-Normoxie, WT-Hypoxie und KO-Hypoxie unterteilt. Den Tabellen 17 und 18 ist zu entnehmen, dass die Werte der Wanddicke von prä und post Hypoxie bzw. Normoxie sich in allen Gruppen, außer der WT-Normoxie-Gruppe, signifikant voneinander unterscheiden. Die höchste Signifikanz erreicht dabei die KO-Hypoxie-Gruppe mit $p = 0,001$. Die Werte der übrigen Variablen unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

Tabelle 17: Gepaarter T-Test der Variablen des rechten Ventrikels unterteilt in Normoxie und Hypoxie

Gruppe	Testvariable	Diff. der Mittelw.	Std.-Abw.	T-Wert	df	Signifikanz
Normoxie	Diastole	-0,05 µl	7,61 µl	-0,029	18	0,977
	EF	-0,06 %	13,95 %	-0,019	18	0,985
	Wand	-0,47 mm	0,06 mm	-3,596	18	0,002
Hypoxie	Diastole	0,87 µl	6,89 µl	0,589	21	0,562
	EF	2,73 %	10,90 %	1,175	21	0,253
	Wand	-0,08 mm	0,08 mm	-4,643	22	0,000

df = Freiheitsgrade

Tabelle 18: Gepaarter T-Test der Variablen des rechten Ventrikels unterteilt in KO, WT, Normoxie sowie Hypoxie

Gruppe	Testvariable	Diff. der Mittelw.	Std.-Abw.	T-Wert	df	Signifikanz
KO Normoxie	Diastole	2,44 µl	4,68 µl	1,65	9	0,133
	EF	-1,63 %	13,60 %	-0,38	9	0,713
	Wand	-0,06 mm	0,06 mm	-3,12	9	0,012
WT Normoxie	Diastole	-2,82 µl	9,45 µl	-0,90	8	0,397
	EF	1,68 %	14,94 %	0,34	8	0,744
	Wand	-0,04 mm	0,06 mm	-1,89	8	0,096
KO Hypoxie	Diastole	1,05 µl	8,27 µl	0,44	11	0,668
	EF	2,00 %	11,05 %	0,63	11	0,543
	Wand	-0,09 mm	0,06 mm	-4,83	11	0,001
WT Hypoxie	Diastole	0,64 µl	5,21 µl	0,39	9	0,706
	EF	3,61 %	11,24 %	1,01	9	0,337
	Wand	-0,08 mm	0,11 mm	-2,39	10	0,038

df = Freiheitsgrade

In Abbildung 32 sind die Mittelwerte der Wanddicke als Balkendiagramme grafisch dargestellt. Dabei wurde zum einen unterteilt in Normoxie und Hypoxie und zum anderen in KO-Normoxie, WT-Normoxie, KO-Hypoxie und WT-Hypoxie. Zu sehen ist, dass die Wanddicke des RV in der Hypoxie-Gruppe im Vergleich zur Normoxie-Gruppe etwas stärker an Größe zunimmt.

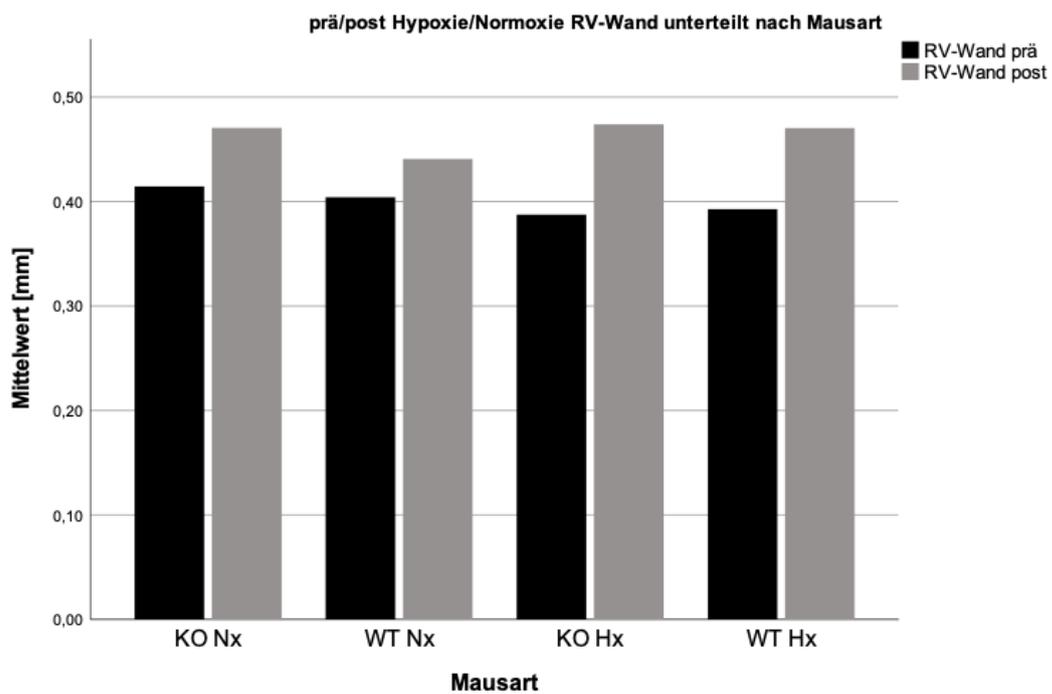
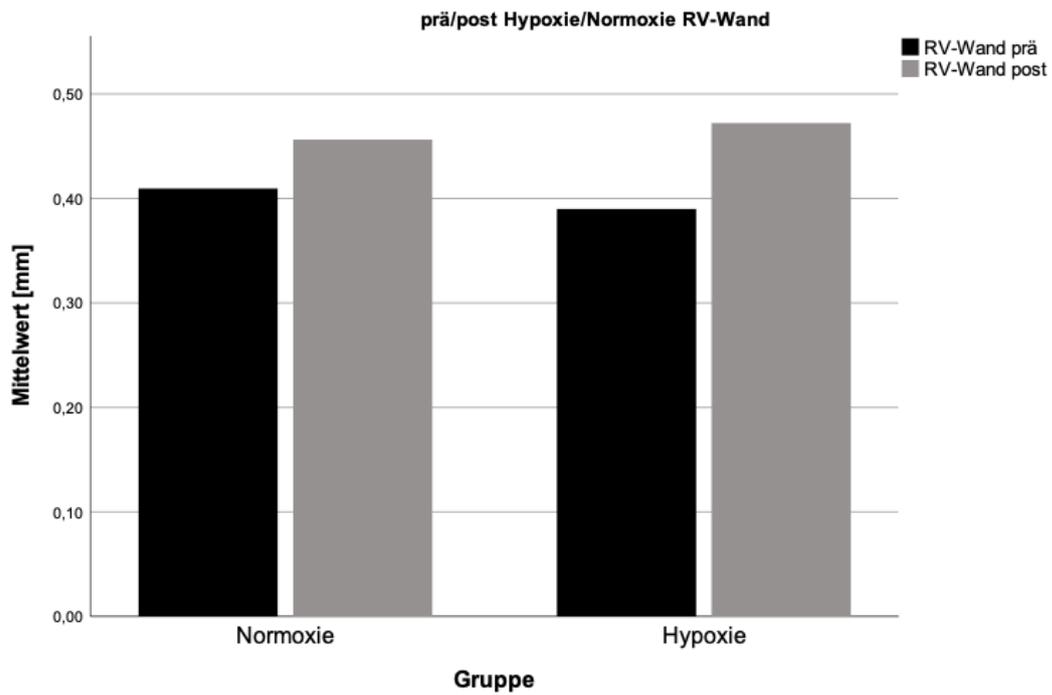


Abbildung 30: Balkendiagramme der rechtsventrikulären Wanddicke

RV-Wand: rechtsventrikuläre Wanddicke; KO Nx: Knock-Out Normoxie; WT Nx: Wildtyp Normoxie; KO Hx: Knock-Out Hypoxie; WT Hx: Wildtyp Hypoxie

4.2.3 Volumetrie und Wanddicke des linken Ventrikels

Die Ergebnisse der Volumetrie des linken Ventrikels wurden wie die Ergebnisse des rechten Ventrikels ausgewertet. Verglichen wurden die Variablen enddiastolisches Volumen (Diastole), Ejektionsfraktion (EF) und die Wanddicke (Wand). Eine deskriptive Zusammenfassung der Ergebnisse zeigen Tabelle 19 und 20. Dabei wurden die Werte in Tabelle 19 unterteilt in prä bzw. post Hypoxie und Normoxie. Im Mittel haben in der Normoxie-Gruppe die Werte der Diastole leicht abgenommen, während die EF und die Wanddicke zugenommen haben. In der Hypoxie-Gruppe bleiben die Werte der Diastole und der EF im Mittel nahezu konstant, jedoch nimmt die Wanddicke ab.

Tabelle 19: Deskriptive Statistik der Variablen des linken Ventrikels unterteilt in prä bzw. post Normoxie und Hypoxie

Gruppe		Variable	Mittelw.	Std.-Abw.	Median	Min.	Max.	N
Normoxie	prä	Diastole [μ l]	60,76	11,30	58,30	41,69	87,31	20
		EF [%]	70,73	6,33	70,85	58,34	84,60	20
		Wand [mm]	0,97	0,08	0,97	0,83	1,12	20
	post	Diastole [μ l]	56,51	10,57	56,33	39,55	80,44	19
		EF [%]	73,36	6,86	74,48	58,96	81,14	19
		Wand [mm]	1,02	0,10	1,01	0,86	1,25	19
Hypoxie	prä	Diastole [μ l]	49,32	6,83	47,47	38,56	63,81	23
		EF [%]	72,15	6,01	69,03	61,75	81,80	23
		Wand [mm]	0,97	0,08	0,96	0,86	1,14	23
	post	Diastole [μ l]	49,20	9,96	47,69	31,03	63,11	23
		EF [%]	69,16	10,48	71,44	48,97	84,94	23
		Wand [mm]	0,82	0,09	0,82	0,69	0,99	23

In Tabelle 20 wurden die Ergebnisse weiter unterteilt in prä/post KO-Normoxie, WT-Normoxie, KO-Hypoxie und WT-Hypoxie. Bemerkenswert ist auch hier erneut, dass die Wanddicke in den Gruppen KO-Normoxie und WT-Normoxie zunimmt, jedoch in der KO-Hypoxie und WT-Hypoxie abnimmt.

Tabelle 20: Deskriptive Statistik des linken Ventrikels unterteilt in prä bzw. post Normoxie, Hypoxie sowie WT und KO

Gruppe		Variable	Mittelw.	Std.-Abw.	Median	Min.	Max.	N
KO Normoxie	prä	Diastole [μ l]	63,77	12,65	62,34	45,38	87,31	10
		EF [%]	67,55	4,74	67,17	58,34	75,25	10
		Wand [mm]	1,00	0,07	0,98	0,91	1,12	10
	post	Diastole [μ l]	57,17	10,51	54,82	45,35	80,44	10
		EF [%]	72,84	7,11	74,19	59,72	80,37	10
		Wand [mm]	1,05	0,10	1,01	0,93	1,25	10
WT Normoxie	prä	Diastole [μ l]	57,76	9,46	58,30	41,69	73,33	10
		EF [%]	73,91	6,30	71,78	64,81	84,60	10
		Wand [mm]	0,95	0,08	0,97	0,83	1,05	10
	post	Diastole [μ l]	55,78	11,23	56,33	39,55	79,42	9
		EF [%]	73,94	6,94	74,13	58,96	81,14	9
		Wand [mm]	0,99	0,10	0,99	0,86	1,18	9
KO Hypoxie	prä	Diastole [μ l]	51,32	7,12	53,06	38,56	63,81	12
		EF [%]	72,68	5,49	71,53	66,86	81,80	12
		Wand [mm]	0,98	0,09	0,99	0,85	1,06	12
	post	Diastole [μ l]	49,70	11,20	50,36	31,03	63,11	12
		EF [%]	67,55	12,41	71,63	48,97	84,94	12
		Wand [mm]	0,84	0,10	0,88	0,71	0,99	12
WT Hypoxie	prä	Diastole [μ l]	47,15	6,08	45,74	39,17	61,13	11
		EF [%]	71,57	6,75	69,03	61,75	80,31	11
		Wand [mm]	0,96	0,08	0,95	0,83	1,14	11
	post	Diastole [μ l]	48,65	8,93	45,39	34,09	61,86	11
		EF [%]	70,92	8,11	71,44	59,47	83,28	11
		Wand [mm]	0,81	0,06	0,81	0,69	0,94	11

Zum statistischen Vergleich der Mittelwerte wurde ein gepaarter T-Test durchgeführt, bei dem jeweils die prä mit den post Hypoxie- bzw. Normoxie-Werten gepaart wurden. Die Ergebnisse des gepaarten T-Tests sind in Tabelle 21 zusammengefasst. Signifikante Unterschiede sind dabei jeweils für die Wanddicke errechnet worden, mit $p = 0,020$ in der Normoxie-Gruppe und $p = 0,000$ in der Hypoxie-Gruppe. Die restlichen Werte unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.

Tabelle 21: Gepaarter T-Test der Variablen des linken Ventrikels unterteilt in Normoxie und Hypoxie

Gruppe	Testvariable	Diff. der Mittelw.	Std.-Abw.	T-Wert	df	Signifikanz
Normoxie	Diastole	3,59 µl	10,32 µl	1,52	18	0,147
	EF	-2,53 %	7,02 %	-1,57	18	0,134
	Wand	-0,05 mm	0,09 mm	-2,55	18	0,020
Hypoxie	Diastole	0,13 µl	10,69 µl	0,06	22	0,955
	EF	2,99 %	12,85 %	1,12	22	0,277
	Wand	0,14 mm	0,12 mm	5,62	22	0,000

df = Freiheitsgrade

In Tabelle 22 wurde der gepaarte T-Test für die weiteren Untergruppen KO-Normoxie, WT-Normoxie, KO-Hypoxie und WT-Hypoxie zusammengefasst. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte ergeben sich hierbei für die EF in der KO-Normoxie-Gruppe mit $p = 0,034$, sowie für die Wanddicke in der KO-Hypoxie-Gruppe mit $p = 0,009$ und die Wanddicke in der WT-Hypoxie-Gruppe mit $p = 0,000$. Die übrigen Werte, ebenso wie die Wanddicke der beiden Normoxie-Untergruppen, unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.

Tabelle 22: Gepaarter T-Test der Variablen des linken Ventrikels unterteilt in Normoxie, Hypoxie sowie WT und KO

Gruppe	Testvariable	Diff. der Mittelw.	Std.-Abw.	T-Wert	df	Signifikanz
KO Normoxie	Diastole	6,60 µl	9,76 µl	2,14	9	0,061
	EF	-5,30 %	6,72 %	-2,49	9	0,034
	Wand	-0,05 mm	0,09 mm	-1,91	9	0,088
WT Normoxie	Diastole	0,25 µl	10,42 µl	0,07	8	0,944
	EF	0,54 %	6,31 %	0,26	8	0,802
	Wand	-0,05 mm	0,09 mm	-1,59	8	0,150
KO Hypoxie	Diastole	1,62 µl	13,01 µl	0,43	11	0,674
	EF	5,13 %	13,94 %	1,28	11	0,228
	Wand	0,14 mm	0,16 mm	3,14	11	0,009
WT Hypoxie	Diastole	-1,50 µl	7,73 µl	-0,65	10	0,533
	EF	0,65 %	11,75 %	0,18	10	0,858
	Wand	0,14 mm	0,07 mm	6,38	10	0,000

df = Freiheitsgrade

In Abbildung 33 wurden die Mittelwerte der Wanddicke des linken Ventrikels als Balkendiagramme grafisch dargestellt. Hier wurde erneut in Hypoxie und Normoxie unterteilt sowie in die weiteren Untergruppen WT und KO. Anhand der Abbildung lässt sich visualisieren, dass in der Normoxie-Gruppe die Wanddicke jeweils zunimmt und in den Hypoxie-Gruppen die Wanddicke abnimmt.

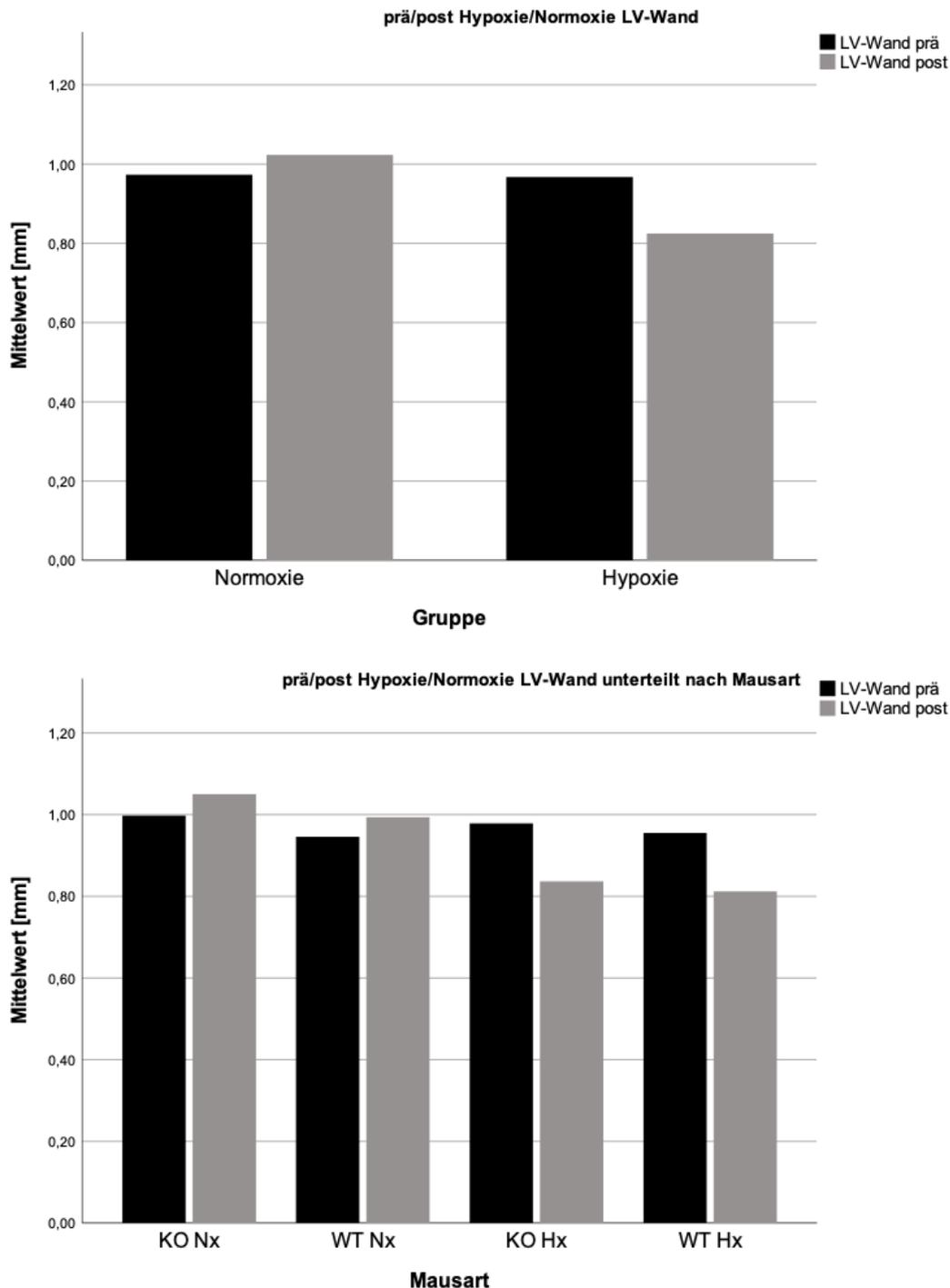


Abbildung 31: Balkendiagramme der linksventrikulären Wanddicke

LV-Wand: linksventrikuläre Wanddicke; KO Nx: Knock-Out Normoxie; WT NX: Wildtyp Normoxie; KO Hx: Knock-Out Hypoxie; WT Hx: Wildtyp Hypoxie

4.2.4 Korrelation der MRT-Messwerte und Herzgewichte

Zum Vergleich der Daten der MRT-Messung mit den Herzgewichten erfolgte eine Korrelationsanalyse nach Pearson. Hierfür wurden die MRT-Parameter TTP, TTP/PET, RV-Diastole, RV-Wanddicke, LV-Diastole sowie LV-Wanddicke, jeweils aus der Messung nach der vierwöchigen Hypoxie bzw. Normoxie, mit dem Gewicht des LV inklusive Septum (LV+S), dem Gewicht des RV, dem Fulton-Index (FI), dem Verhältnis vom RV-Gewicht zum Körpergewicht (BW) und dem Verhältnis des Gewichts von LV+S zum Körpergewicht korreliert.

Die Ergebnisse der einseitigen Korrelationsanalyse nach Pearson sind in Tabelle 23 zusammengefasst. Es wurden alle Ergebnisse, unabhängig davon welcher Kohorte die Mäuse zugehörig waren, miteinander korreliert. Dabei war das N zwischen 40 und 43.

Eine starke positive Korrelation besteht zwischen dem LV+S-Gewicht mit der RV-Diastole ($r = 0,578$) und zwischen dem LV+S-Gewicht und der LV-Wanddicke ($r = 0,721$). Eine starke negative Korrelation existiert zwischen dem FI und der LV-Wanddicke ($r = -0,654$) und zwischen dem Verhältnis von RV-Gewicht/BW mit der LV-Wanddicke ($r = -0,549$).

Eine mittlere positive Korrelation liegt zwischen LV+S-Gewicht und der TTP ($r = 0,366$), LV+S-Gewicht und TTP/PET ($r = 0,340$), dem RV-Gewicht und der RV-Wanddicke ($r = 0,343$), LV+S-Gewicht und der LV-Diastole ($r = 0,459$), sowie zwischen dem Verhältnis von LV+S-Gewicht/BW und der LV-Wanddicke ($r = 0,369$) vor. Eine mittlere negative Korrelation besteht zwischen dem FI und der RV-Diastole ($r = -0,362$), sowie dem Verhältnis von RV-Gewicht/BW und der RV-Diastole ($r = -0,328$).

Eine geringe positive Korrelation existiert zwischen den Verhältnissen von LV+S-Gewicht/BW und der TTP ($r = 0,15$), LV+S-Gewicht/BW und TTP/PET ($r = 0,15$), LV+S-Gewicht/BW und der RV-Diastole ($r = 0,169$). Ebenfalls existiert eine geringe positive Korrelation bei dem FI und der RV-Wanddicke ($r = 0,218$), dem Verhältnis von RV-Gewicht/BW und der RV-Wanddicke ($r = 0,254$), sowie dem Verhältnis von LV+S-Gewicht/BW und der LV-Diastole ($r = 0,144$). Eine geringe negative Korrelation besteht zwischen dem FI und der TTP ($r = 0,217$), dem Verhältnis von RV-Gewicht/BW und der TTP ($r = 0,167$), dem Verhältnis von RV-Gewicht/BW zu TTP/PET ($r = -0,233$), dem FI und der LV-Diastole ($r = -0,285$), dem Verhältnis von RV-Gewicht/BW und der LV-Diastole ($r = -0,268$), sowie zwischen dem RV-Gewicht und der LV-Wanddicke ($r = -0,241$).

Tabelle 23: Korrelation der Ergebnisse der MRT-Messung mit der postmortalen Analyse der Herzmorphologie

		TTP	TTP/ PET	RV- Diast	RV-W	LV- Diast	LV-W	LV+S Gw	RV Gw	FI	RV/ BW	LV+S/ BW
TTP	Korrelation nach Pearson	1	,771**	0,159	0,067	,265*	,297*	,366**	0,065	-0,217	-0,167	0,15
TTP/PET	Korrelation nach Pearson	,771**	1	0,211	0,029	-0,033	,423**	,340*	-0,021	-,279*	-0,223	0,15
RV-Diast	Korrelation nach Pearson	0,159	0,211	1	0,019	,348*	,331*	,578**	-0,013	-,362*	-,328*	0,169
RV-W	Korrelation nach Pearson	0,067	0,029	0,019	1	0,222	-0,077	0,092	,343*	0,218	0,254	0,085
LV-Diast	Korrelation nach Pearson	,265*	-0,033	,348*	0,222	1	0,157	,459**	-0,012	-,285*	-,268*	0,144
LV-W	Korrelation nach Pearson	,297*	,423**	,331*	-0,077	0,157	1	,721**	-0,241	-,654**	-,549**	,369**
LV+S Gw	Korrelation nach Pearson	,366**	,340*	,578**	0,092	,459**	,721**	1	-0,004	-,664**	-,488**	,575**
RV Gw	Korrelation nach Pearson	0,065	-0,021	-0,013	,343*	-0,012	-0,241	-0,004	1	,740**	,818**	0,141
FI	Korrelation nach Pearson	-0,217	-,279*	-,362*	0,218	-,285*	-,654**	-,664**	,740**	1	,939**	-,275*
RV/BW	Korrelation nach Pearson	-0,167	-0,223	-,328*	0,254	-,268*	-,549**	-,488**	,818**	,939**	1	0,065
LV+S/BW	Korrelation nach Pearson	0,15	0,15	0,169	0,085	0,144	,369**	,575**	0,141	-,275*	0,065	1

** Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (1-seitig) signifikant.

* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (1-seitig) signifikant

TTP = Time to Peak, TTP/PET = Time to Peak/Pulmonary Ejection Time, RV-Diast = diastolisches Volumen des rechten Ventrikels, RV-W = rechtsventrikuläre Wanddicke, LV-Diast = diastolisches Volumen des linken Ventrikels, LV-W = linksventrikuläre Wanddicke, LV+S-Gw = Gewicht des linken Ventrikels inklusive des Septums, RV-Gw = Gewicht des rechten Ventrikels, FI = Fulton-Index (RV/(LV+S)), RV/BW = Gewicht des rechten Ventrikels im Verhältnis zum Körpergewicht (BW), LV+S/BW = Verhältnis des Gewichts des linken Ventrikels inklusive des Septums zum Körpergewicht

5 Diskussion

5.1 Untersuchung einzelner Triggermethoden und deren Einfluss auf pulmonalarterielle Flussmessungen mittels MRT

Die Möglichkeiten zur Darstellung des pulmonalarteriellen Blutflusses und der Diagnostik der PH im Mausmodell sind bisher im Wesentlichen auf die invasive Rechtsherzkatheteruntersuchung sowie die TTE beschränkt. Das Etablieren einer weiteren Alternative mittels MRT ist vielversprechend und könnte die Erfassung zusätzlicher Untersuchungsparameter ermöglichen. Für die technische Realisierung derartiger MRT-Untersuchungen im Mausmodell ist allerdings eine Triggerung der Datenakquisition mit der Herzfrequenz notwendig. Hierfür stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung, insbesondere die Pulsoxymetrie und das EKG. Ein Ziel dieser Arbeit war es, die Anwendung beider Triggermethoden für pulmonalarterielle Flussmessungen zu evaluieren.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass es bei den Parametern TTP und PET keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Triggermethoden gibt. Die Messwerte der Steigung lieferten jedoch unterschiedliche Werte. Auf diese Auffälligkeit wird im Verlauf weiter eingegangen. Im Bland-Altman-Plot sind nahezu alle Messpunkte innerhalb der Limits of Agreement. In der Korrelationsanalyse ergibt sich eine signifikante Korrelation aller Werte der EKG-Triggerung mit allen Werten der Pulsoxymetrie-Triggerung. Außerdem besteht eine signifikante Korrelation der EKG-getriggerten TTP-Werte mit den pulsoxymetrisch-getriggerten Werten.

Daraus lässt sich schlussfolgern, dass es keine bedeutende Ungleichheit zwischen den Triggermethoden EKG und Pulsoxymetrie in Bezug auf pulmonalarterielle Flussmessungen in der Maus gibt.

Die Steigung zeigt signifikante Unterschiede zwischen den beiden Triggermethoden. Dies ist jedoch insbesondere auf die überdurchschnittlich hohe Steigung im Rahmen der EKG-Triggerung bei der Maus 332 zurückzuführen. Veranschaulicht wird dies anhand des Boxplots in Abbildung 34. Zu sehen ist, dass die Werte der Steigung ausschließlich bei Maus 332 eine hohe Spannbreite aufweisen. Weshalb es zu diesen Messvariationen kam, bleibt unklar.

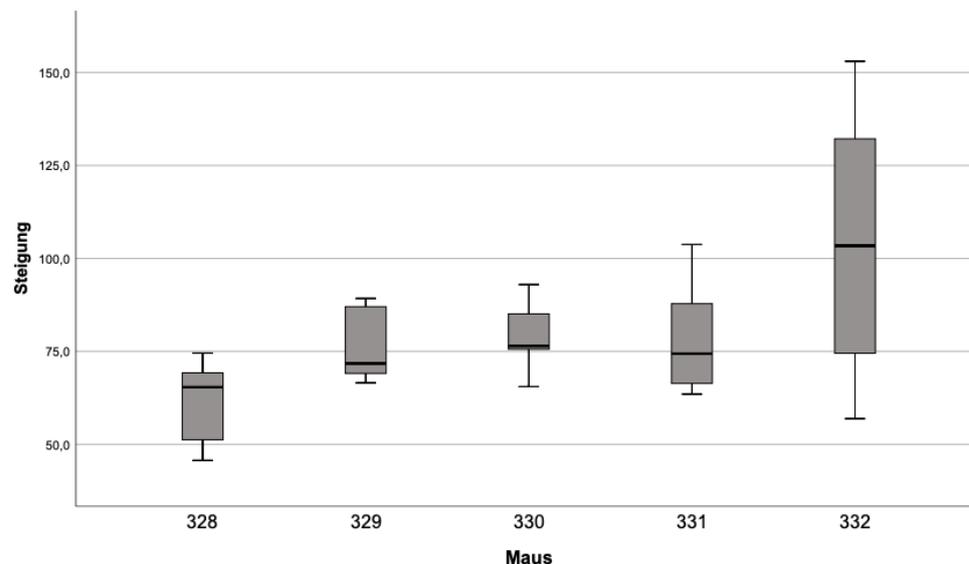


Abbildung 32: Boxplot der Werte für die Steigung beider Triggermethoden zusammen

Anhand der Bland-Altman-Plots (siehe Kapitel 4.1.3) kann gezeigt werden, dass nahezu alle Werte innerhalb der Limits of Agreement liegen, bzw. innerhalb der 95%-Konfidenzintervalle. Als Hauptgrund für die relativ breiten Konfidenzintervalle wird der kleine Stichprobenumfang und eine natürliche Messvariation vermutet. Bei einer erhöhten Stichprobenzahl würde sich vermutlich die Größe des 95%-Intervalls verringern. Jedoch lässt sich nicht ausschließen, dass die breiten 95%-Intervalle durch Ungenauigkeiten der Triggermethoden verursacht werden.

Zudem ist in den Bland-Altman-Plots zu sehen, dass die Ergebnisse der Pulsoxymetrie durchschnittlich um einige Messpunkte höher sind. Dies könnte durch die zeitlich etwas versetzten Referenzpunkte beider Triggermethoden bedingt sein.

Zu einer erhöhten Messvariation kann es unter anderem dadurch gekommen sein, dass die Messwerte der Flusskurven aus mehreren Herzzyklen bestehen. Dies war technisch nicht anders umzusetzen, da aufgrund der hohen Herzfrequenz der Maus die zeitliche Auflösung der MRT-Flussmessung keine ausreichende Anzahl an Messpunkten pro Herzzyklus lieferte. Die Sequenz zur Flussmessung wurde daher fünffach hintereinander mit einer Triggerverzögerung von je 3 ms aufgenommen. Die Datenpunkte der 5 Sequenzen wurden in einer Flusskurve zusammengetragen, um anschließend eine ausreichende Anzahl von Datenpunkten, verteilt über den Herzzyklus, zur Analyse zu haben. Insgesamt besteht eine Flusskurve somit aus Daten von fünf verschiedenen Herzzyklen, die natürliche Variationen aufweisen. Zur besseren Beurteilbarkeit wurden die Flusskurven geglättet und eine Baseline über die Datenpunkte vor dem Anstieg der Flusskurve gelegt. Insgesamt gestaltete sich die exakte Bestimmung von Beginn und Maximum der Auswurfphase anhand der Flusskurve anspruchsvoll. Dies macht sich unter anderem darin bemerkbar,

dass die Werte der Steigung variieren (siehe Abbildung 34). Ein weiterer Aspekt, der für die Analysen der Flusskurven eine Rolle spielte, war das Planen der Flussmessungen anhand der Sequenzen zur Darstellung des Truncus pulmonalis sowie das korrekte Festlegen der ROI innerhalb des Gefäßes.

Die Wahl eines geeigneten statistischen Verfahrens stellte sich als Schwierigkeit heraus, da es bei den fünf Mäusen zu Messwiederholungen kam. Diese Messwiederholungen können einen Effekt auf die Ergebnisse haben und sind daher nicht zu vernachlässigen. Daher wäre ein alleiniger Mittelwertvergleich mittels T-Test nicht ausreichend gewesen, um die beiden Triggermethoden zu vergleichen. Zur Lösung dieses Problems stellte sich das Generalisierte Lineare Gemischte Modell als geeignetes Verfahren dar. Dieses teilt die Ergebnisse der fünf Mäuse jeweils pro Maus in ein Cluster ein. So können die Ergebnisse hinsichtlich zufälliger Effekte aufgrund der Messwiederholungen pro Maus untersucht werden.

Zu den generellen Limitationen des Versuchsaufbaus zählen zum einen die geringe Stichprobenzahl und zum anderen, dass ausschließlich ein Mausstamm mit gleichaltrigen Versuchstieren verwendet wurde. Ein ähnliches Vorgehen findet sich jedoch auch bei anderen experimentellen Arbeiten mit der Anzahl von untersuchten Mäusen zwischen 4 und 10 (Sablong et al., 2014, Cassidy et al., 2004, Kinchesh et al., 2018).

In anderen experimentellen Arbeiten wurde bereits nach Alternativen zum EKG als Trigger für die Untersuchung des Herzens gesucht, da dies im MRT oft artefaktanfällig ist. Hierdurch ist es insbesondere schwer den R-R-Abstand genau zu detektieren. Artefakte entstehen insbesondere durch Radiofrequenz-Impulse und ein Umschalten der Gradienten (Sablong et al., 2014). Eine Alternative zum EKG stellt das optische Gating dar. Dabei wird ein Lichtsignal auf die sich, durch Atmung und Herzschlag, bewegende Maus projiziert. Das detektierte Licht wird in ein elektrisches Signal umgewandelt, welches bei der Bewegung variiert. Durch einen sensitiven Sensor können selbst die geringsten Bewegungen durch den Herzschlag auf der Brustwand detektiert werden. Die Ergebnisse der MRT-Untersuchungen mit dieser Methode sind vergleichbar mit EKG-getriggerten Aufnahmen. (Sablong et al., 2014)

Jedoch gestaltet sich die Durchführung eines optischen Gatings als schwierig in engen MRT-Spulen, wie sie bei Mäusen häufig angewendet werden (Herrmann et al., 2014).

Eine weitere Alternative ist das retrospektive Gating mittels eines Navigator-Echos zur Detektion der Organe während der MRT-Sequenz, wobei ein zusätzlicher Radiofrequenz-

Impuls notwendig wird. Diese Bewegungsinformation wird im Anschluss aus den eigentlichen Sequenzen herausgerechnet. Die Sequenzen und die Triggerdaten werden im Nachhinein rekonstruiert. Von Vorteil ist, dass die MRT-Aufnahme nicht unterbrochen wird. So entstehen ein besserer Kontrast und ein robusteres Bild. (Heijman et al., 2007)

Da man jedoch auf ein Monitoring zur Überprüfung der Vitalparameter nicht verzichten sollte und die Länge der Untersuchung durch retrospektives Gating verlängert wird, sind andere Methoden vorzuziehen (Kinchesh et al., 2018). Des Weiteren eignet sich dieses Gating nicht um Cine- oder Phasenkontrast-Messungen zu akquirieren, da hierfür der Herzzyklus genau bestimmt werden muss.

Durch weitere Verarbeitung kann auch aus der EKG-Kurve das Atemsignal detektiert werden, sodass mit einem EKG ein kardiorespiratorisches Gating gelingt und auf spezielles Monitoring der Atmung verzichtet werden kann (Sablong et al., 2014). Zudem können die Artefakte im EKG durch einen speziellen EKG-Filteralgorithmus reduziert werden, wodurch die Triggerung erleichtert wird (Abi-Abdallah et al., 2007). Des Weiteren können spezielle Platin-Elektroden dem Switchen der Gradienten standhalten und liefern dadurch weniger Artefakte (Kinchesh et al., 2018).

Zuletzt wurde jedoch vermehrt das prospektive Gating mit einer verbesserten Software und dadurch besserten Datenakquirierung verwendet. Inzwischen kann auch hier eine ununterbrochene („steady state“) Aufnahme erfolgen, indem während der Atembewegung zusätzliche Impulse stattfinden, die nicht in Bilder umgewandelt werden. Dadurch können Artefakte, die durch ein Pausieren der Sequenzen entstehen, vermieden werden. Zudem ist ein derartiges Gating einfacher in der Anwendung und liefert eine schnellere Bildaufnahme. (Kinchesh et al., 2018)

Im Menschen kann auch mittels Doppler-Echokardiographie eine MRT-Triggerung erfolgen, welche vergleichbare Ergebnisse wie die EKG-Triggerung liefert (Kording et al., 2015). Dies könnte auch in Zukunft eine Alternative zur Triggerung im Mausmodell sein, jedoch sind auch hier die Enge der Spule und die allgemeinen anatomischen Schwierigkeiten bei der Echokardiographie der Maus zu beachten.

Insgesamt bieten die Pulsoxymetrie und das EKG zuverlässige, MRT-kompatible und in sich kohärente Verfahren zur Triggerung der Herzaktion im Mausmodell, für die Phasenkontrast-MRT. Aus Gründen der Praktikabilität, insbesondere durch die Verwendung nur eines Sensors mit unkomplizierter Anbringung am Schwanz der Maus,

wurde für die weiteren Versuche im Rahmen dieser Arbeit die Triggerung mittels Pulsoxymetrie favorisiert.

5.2 Untersuchung des pulmonalarteriellen Blutflusses und kardialer Parameter im Mausmodell der pulmonalen Hypertonie mittels MRT

Die Untersuchung der PH im Mausmodell wird üblicherweise mittels TTE und Rechtsherzkatheteruntersuchung durchgeführt. Beide Untersuchungen sind jedoch technisch sehr anspruchsvoll und die damit erzielten Ergebnisse vielfach vom Kenntnisstand des Untersuchers abhängig. Des Weiteren birgt die Rechtsherzkatheteruntersuchung als invasives Verfahren das Risiko eines größeren Blutverlustes der Maus, wodurch aufgrund der geänderten Hämodynamik die Ergebnisse der Untersuchung zusätzlich beeinträchtigt werden. Daher bietet sich die MRT als nicht-invasives und vom Untersucher relativ unabhängiges Messverfahren zur Diagnostik der PH im Mausmodell an. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit bestand folglich in der Evaluation der MRT zur Bestimmung der pulmonalarteriellen Flussverhältnisse als auch der kardialen Funktion und der strukturellen Veränderungen des Herzens im Mausmodell einer PH. Im Rahmen dieser Untersuchung fanden Versuche an 48 Mäusen statt, von denen 25 Tiere während einer 4-wöchigen Hypoxiephase eine PH entwickelten.

Die Ergebnisse der MRT-Untersuchungen lassen sich in die Flussmessungen, die strukturelle und Funktionsanalyse des rechten und die strukturelle und Funktionsanalyse des linken Ventrikels unterteilen. Insgesamt konnten zwischen der Hypoxie- und der Normoxie-Gruppe deutliche Unterschiede festgestellt werden. Insbesondere die Parameter der Flussmessung lassen eine Aussage bezüglich der Entwicklung einer PH in der Maus zu. Durch die anschließende Korrelation der Daten, mit den postmortal bestimmten Herzgewichten, konnten die Ergebnisse der MRT-Untersuchungen validiert werden.

Das Modell zur Induktion einer PH in Mäusen durch die Haltung unter hypoxischen Bedingungen über mehrere Wochen ist bereits seit langem etabliert und findet häufig Anwendung. Die Tierhaltung bei 10 % Sauerstoff über 3 bis 4 Wochen erbringt anhand von Angaben in der Literatur einen signifikanten Anstieg des rechtsventrikulären systolischen Blutdrucks mit invasiv gemessenen Werten von 36 +/- 4 mmHg, sowie einen signifikanten Anstieg des Gewichtes des RV im Verhältnis zum Gewicht des LV inklusive des Septums (Hales et al., 1983, Steudel et al., 1998).

Während der Versuche im Rahmen dieser Arbeit verstarben 4 von 48 Tieren, was einer Drop-Out-Rate von 8,3 % entspricht. Die Hypoxie-Tiere nahmen im Durchschnitt während der 4 Wochen in hypoxischer Tierhaltung 1 g an Gewicht ab, während die Tiere in Normoxie im Durchschnitt etwa 1 g zunahmen.

In den Flussmessungen mittels MRT konnten signifikante Unterschiede im Vergleich der Werte von prä und post Hypoxie bei den Variablen TTP, Steigung und TTP/PET gemessen werden. Dagegen unterschieden sich die Werte der beiden Messungen der Normoxie-Gruppe nicht signifikant voneinander. Bei dem Betrachten der Untergruppen zeigte allein die KO-Hypoxie-Gruppe signifikante Unterschiede. Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse der Flussmessungen, dass die Hypoxie einen signifikanten Effekt auf die TTP, die Steigung der Flusskurve und das Verhältnis von TTP zu PET hat. Dies war besonders in der KO-Hypoxie-Gruppe zu sehen, jedoch auch wenn man die KO-Hypoxie-Gruppe und WT-Hypoxie-Gruppe zusammenfasst. Mutmaßlich wären die Ergebnisse der WT-Hypoxie-Gruppe bei einer größeren Stichprobe ebenfalls signifikant gewesen. Die Ergebnisse entsprechen der allgemeinen Annahme, die bereits in der Einleitung beschrieben wurde: Unter chronischer Hypoxie und daraus resultierender pulmonaler Hypertonie nimmt die TTP ab, das Verhältnis von TTP zu PET nimmt bei gleichbleibender PET ab und die Steigung der Flusskurve nimmt zu (Thibault et al., 2010).

Die strukturelle und Funktionsanalyse des rechten Ventrikels zeigte signifikante Unterschiede zwischen beiden Messungen der Wanddicke in der Hypoxie als auch in der Normoxie-Gruppe. Jedoch nahm die Wanddicke in der Hypoxie-Gruppe stärker zu als in der Normoxie-Gruppe. Eventuell ist diese Zunahme durch die natürliche Größenzunahme des Herzens beim Auswachsen der Maus bedingt und eine deutliche Hypertrophie der Wanddicke des rechten Ventrikels, wie sie in der Literatur beschrieben ist (Franco, 2012), entwickelt sich erst im weiteren Verlauf bei länger andauernder Hypoxie. Andererseits würde man, bei einem physiologischen Wachstum des Herzens, auch eine Zunahme des enddiastolischen Volumens im RV vermuten. Dies konnte in der Normoxie-Gruppe im Untersuchungszeitraum jedoch nicht beobachtet werden.

Die Werte der Wanddicke des linken Ventrikels bzw. des Septums zeigten sowohl in der Normoxie- als auch in der Hypoxie-Gruppe signifikante Unterschiede zueinander auf. Dabei ist besonders interessant, dass die Wanddicke in der Normoxie-Gruppe zunimmt, während sie in der Hypoxie-Gruppe abnimmt. Ein dünneres ventrikuläres Septum, sowie Zeichen einer Atrophie wurde bereits in Untersuchungen zur PH mittels MRT festgestellt (Homsí et al., 2017, Hardziyenka et al., 2011). Dabei beruht die Hypotrophie des Myokards im LV

vermutlich auf dem dauerhaft verringerten Blutfluss durch die linke Herzkammer im Rahmen der PH (Meyer, 2014). In Versuchen mit Ratten, bei denen durch Monocrotalin eine PH induziert wurde, konnte ebenfalls eine geringere Masse des LV im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen werden (Hardziyenka et al., 2011).

Die Korrelationsanalyse der Daten der MRT-Messungen mit der postmortalen Analyse der Herzmorphologie zeigt, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Daten besteht. Die Signifikanz der Korrelation konnte durch eine Normierung des Gewichtes des rechten Ventrikels bzw. des linken Ventrikels auf das Körpergewicht gesteigert werden. Die Werte der Wanddicke des rechten Ventrikels und die Dicke des Septums korrelieren mit dem Gewicht des rechten Ventrikels und dem Gewicht des linken Ventrikels inklusive des Septums. Auch hier wurde ein deutlich geringeres Gewicht des linken Ventrikels inklusive des Septums in der Hypoxie-Gruppe im Vergleich zur Normoxie-Gruppe gemessen.

Die MRT-Untersuchung der Maus hinsichtlich einer pulmonalen Hypertonie ist ein neues Verfahren und stößt dabei an einige Limitationen, die hier weiter aufgeführt werden. Bei dem Gating der Tiere während der MRT-Messung ist, insbesondere bei den post-Hypoxie-Messungen, eine Varianz der Atmung festgestellt worden. Diese äußerte sich in teilweise deutlich längeren und unregelmäßigeren Atemzügen. Dadurch war es erschwert die Narkose zu steuern und die MRT-Messdauer verlängerte sich meist. Zudem variierte abhängig von der Narkosetiefe auch die Herzfrequenz, wodurch Veränderungen der pulmonalen Hämodynamik und somit auch der Flusskurven bedingt sein könnten.

Weiterhin war es mitunter schwierig während der Planung der Cine-Sequenzen genau festzulegen wie viele Schichten für die Volumetrie der Ventrikel benötigt werden, sodass diese zwischen 8 und 10 variierten. Dies mag unter anderem auch daran gelegen haben, dass die Bilder nicht optimal entlang der langen Herzachse geplant wurden. Zwar wurde bei der anschließenden Auswertung darauf geachtet, dass in den Messungen von prä und post Hypoxie bzw. Normoxie jeweils gleich viele Schichten ausgewertet wurden, dennoch ist hierdurch eine Beeinflussung der Ergebnisse zu vermuten.

Herausfordernd war ebenfalls die Wanddickenmessung des rechten Ventrikels, da die Wand teilweise schwer vom Parenchym der Leber bzw. dem Diaphragma abgrenzbar war. Demgegenüber bereitete die Messung der Wanddicke des Septums, aufgrund der signalreichen Darstellung der blutgefüllten Herzhöhlen, keine Probleme.

Beim Menschen wird zur Diagnostik der PH häufig der Durchmesser des Truncus pulmonalis hinzugezogen, da dieser meist aufgrund des erhöhten Drucks im rechten

Ventrikel dilatiert und dann mitunter im Röntgen-Thorax deutlich zu erkennen ist (Ascha et al., 2017). Auf das Ausmessen der Weite des Truncus pulmonalis wurde im Rahmen dieser Arbeit verzichtet, da hierfür die Magnituden-Bilder der Phasen-Kontrast-MRT eine zu eingeschränkte Bildqualität aufwiesen und dadurch die Ausmessung nicht valide hätte durchgeführt werden können. Alternativ hätte eine weitere MRT-Sequenz akquiriert werden müssen, wobei sich hierdurch das Untersuchungsprotokoll zusätzlich verlängert hätte. Vermutlich wäre zudem eine deutliche Vergrößerung des Truncus pulmonalis erst im späteren Krankheitsverlauf des Mausmodells messbar.

Bei der statistischen Auswertung wurde sich bewusst dafür entschieden die Gruppen zum einen in Normoxie und Hypoxie zu unterteilen und zum anderen noch weiter hinsichtlich KO-Modell oder Wildtyp aufzuteilen. Auch wenn die Untersuchung des KO-Modells bezüglich der eingangs genannten Fragestellungen nicht der Schwerpunkt dieser Arbeit war, sollten dennoch mögliche Einflüsse auf die Ergebnisse untersucht und analysiert werden. Anhand der ermittelten Daten zeigte sich, dass die KO-Tiere wohl stärker auf die Hypoxie reagierten, was nicht den allgemeinen Annahmen zum TMEM16A-KO-Modell entspricht (Papp et al., 2019). Eventuell kann dieser Umstand am generell schwächeren Organismus der KO-Tiere liegen. Bei den Wildtyp-Mäusen konnte insgesamt eine geringere Signifikanz der Veränderungen der MRT-Messwerte nach Hypoxie festgestellt werden. Bei einer größeren Stichprobe wäre vermutlich die Signifikanz deutlicher ausgefallen. Dennoch sind die Ergebnisse sehr anschaulich und belegen die Hypothese, dass man mittels der durchgeführten MRT-Untersuchungen eine PH im Mausmodell feststellen kann.

Die Korrelation der MRT-Untersuchungen mit invasiven Messungen einer Rechtsherzkatheter-Untersuchung konnten im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt werden. Alternativ erfolgte in Kooperation mit den Kollegen des Institutes für Zelluläre und Integrative Physiologie eine Korrelation der Ergebnisse der MRT-Untersuchungen mit der postmortalen Analyse der Herzgewichte. Eine Messung der Wanddicke des RV, sowie des Gewichtes des RV im Verhältnis zum Körpergewicht, finden häufig in Mausmodellen zur PH statt. Dabei zeigen die Werte von Mäusen nach hypoxischer Haltung mit nachgewiesenem erhöhtem PAP in verschiedenen Versuchen einen Anstieg der Wanddicke des RV sowie des RV-Gewichtes im Verhältnis zum Körpergewicht (Steudel et al., 1998, Chen et al., 2012). Die bestimmten morphologischen Parameter können als indirekte Zeichen der PH gewertet werden und lassen damit eine Abschätzung des PAP und damit der PH zu. Um darüber hinaus die Ergebnisse der MRT-Untersuchungen besser bewerten zu können, wäre allerdings die Korrelation mit invasiven Druckwerten sinnvoll.

In Versuchen von Urboniene et al. (2010) wurde eine pulmonalarterielle Hypertonie in Ratten mittels Monocrotalin induziert. Anschließend wurden die Werte von nicht-invasiven Untersuchungen mittels MRT und Echokardiographie mit den Werten einer invasiven Rechtsherzkatheteruntersuchung korreliert. Insgesamt wurden die Versuche an 31 Ratten durchgeführt, hiervon 6 in einer Kontrollgruppe ohne Monocrotalin-Injektion. Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl die Werte der MRT mit denen des Herzkatheters als auch mit denen der Echokardiographie korrelieren. Hierbei wurde ebenfalls die TTP („Pulmonary Artery Acceleration Time“), sowie die PET („RV Ejection Time“) bestimmt und mit dem systolischen sowie mittleren PAP korreliert. Dabei ergab die Korrelationsanalyse nach Pearson der TTP- mit den PAP-Werten jeweils Werte von $r > 0,7$, was einer hohen Korrelation entspricht. Zudem erfolgte eine Korrelationsanalyse des Gewichts des RV mit der durch MRT bestimmten Masse des RV, welche ebenfalls eine hohe Korrelation aufwies. Eine Messung der Wanddicke fand lediglich in der Echokardiographie und nicht in der MRT statt. Insgesamt zeigen die Versuche, dass nicht-invasive Messungen mit invasiven Messungen sehr gut korrelieren, sodass eine Aussage bezüglich der Schwere der pulmonalarteriellen Hypertonie bereits durch eine nicht-invasive Methode getroffen werden kann. (Urboniene et al., 2010)

Bisher gibt es kaum Korrelationsanalysen von invasiven mit nicht-invasiven Messwerten der PH im Mausmodell. Die durch nicht-invasive Methoden bestimmten Werte sind indirekte Parameter für die PH und es kann keine genaue Aussage über die Höhe des PAP gemacht werden. Mit einer hohen Anzahl an nicht-invasiven und invasiven Messwerten im Mausmodell könnte jedoch eine Regressionsanalyse durchgeführt werden, wodurch anhand eines oder mehrerer nicht-invasiver Parameter ein relativ genauer Rückschluss über den PAP getroffen werden kann. Dies findet bereits beim Menschen zur Diagnostik der PH mittels Echokardiographie (Parasuraman et al., 2016) und MRT (Swift et al., 2013, Zhang et al., 2017) Anwendung. Insbesondere mittels der Masse des RV, dem Durchmesser der Pulmonalarterie sowie der mittleren Flussgeschwindigkeit, gemessen mittels der MRT, können mit hoher Genauigkeit der PAP abgeschätzt werden (Johns et al., 2018, Sanz et al., 2007).

Um auch im Mausmodell mittels Regressionsanalysen eine Schätzung des Druckes durch die MRT ermöglichen zu können, bedarf es noch weiterer Studien mit invasiven, sowie nicht-invasiven Messwerten. Zudem sollten, zusätzlich zum Modell der chronischen Hypoxie, Modelle mit akuter Hypoxie in die Analyse einbezogen werden. Damit werden nicht nur ausschließlich Parameter, die durch Umbauprozesse am Herzen aufgrund der lang andauernden Hypoxie entstehen, mit in die Berechnungen einbezogen, sondern auch

sich akut verändernde Parameter zur Charakterisierung einer PH. Bei Modellen mit akuter Hypoxie spielen vor allem die mittels Phasenkontrast-MRT gemessenen Flussparameter eine wichtige Rolle.

Letztendlich ist die MRT eine vielversprechende Alternative zur Diagnostik der PH im Mausmodell. Sie ist trotz technisch hohem Aufwand vergleichsweise einfach und standardisiert durchführbar, schonend für das Versuchstier und kann, neben den Messungen von Flussparametern, auch frühzeitig Veränderungen der Herzmorphologie feststellen. Dadurch stellt die MRT ein interessantes nicht-invasives Untersuchungsverfahren für Modelle der PH in der Maus dar, insbesondere für Versuche, bei denen der Schweregrad der PH im Verlauf repetitiv beurteilt werden soll. Um eine genauere Abschätzung des Druckes zu ermöglichen, müssen allerdings weitere Versuche durchgeführt werden, die die Werte der MRT-Untersuchungen mit Ergebnissen einer invasiven Rechtsherzkatheteruntersuchung korrelieren.

6 Zusammenfassung

Die induzierte PH in der Maus findet häufig Anwendung, um die Diagnostik und Therapie der PH weiter zu erforschen. Da die Diagnostik und Quantifizierung der PH im Mausmodell schwierig ist und die gängigen Verfahren nur Teilaspekte der PH zeigen, war es Ziel dieser Arbeit, ein geeignetes Verfahren mittels MRT für die Diagnostik der PH im Mausmodell zu entwickeln. Dazu wurden zum einen zwei verschiedene MRT-Triggermethoden verglichen, zum anderen fanden Versuche einer chronischen PH im Mausmodell mit Messung des pulmonalarteriellen Blutflusses sowie kardialer Parameter statt.

Verglichen wurde die Triggerung mittels EKG und Pulsoxymetrie. Es fanden jeweils wiederholte Messungen mit anschließendem Vergleich der mittels Phasenkontrast-MRT gemessenen Parameter der Flusskurven im Truncus pulmonalis statt. Dabei konnte zwischen den beiden Triggermethoden keine Ungleichheit festgestellt werden. Aufgrund der einfacheren Durchführung ist jedoch die Anwendung der Pulsoxymetrie zu bevorzugen.

Für das Mausmodell der chronischen Hypoxie wurden 25 Mäuse über vier Wochen in Hypoxie mit 10% Sauerstoff gehalten. Eine Kontrollgruppe von 23 Mäusen wurde in Normoxie gehalten. Dabei hatte etwa die Hälfte der Mäuse einen TMEM16A-KO. Die MRT-Untersuchungen fanden jeweils unmittelbar vor und nach dem Aufenthalt in Hypoxie bzw. Normoxie statt und es wurden mittels MRT der pulmonalarterielle Blutfluss, sowie kardiale Parameter bestimmt.

In den Versuchen konnte gezeigt werden, dass sich die Flusskurve im Truncus pulmonalis sowie die Wanddicke des rechten Ventrikels und die Wanddicke des linken Ventrikels bei den Mäusen mit PH signifikant verändert hat im Vergleich zu den Mäusen, die in Normoxie gehalten wurden. Dabei nahm die Wanddicke des rechten Ventrikels im Rahmen der Rechtsherzhypertrophie zu und die Wanddicke des linken Ventrikels ab. Zudem verringerte sich die TTP, die Steigung der Flusskurve nahm zu und das Verhältnis von TTP/PET nahm ab. Eine Korrelation der Ergebnisse mit den postmortalen Herzgewichten der Tiere konnte einen signifikanten Zusammenhang der Gewichte mit den MRT-Daten zeigen.

In der MRT konnten durch die Flussmessungen, als auch durch die Bestimmung kardialer Parameter, Anzeichen einer PH nachgewiesen werden. Somit kann die MRT als eine geeignete Methode zur Diagnostik und zum Monitoring der PH im Mausmodell angesehen werden.

7 Abstract

Induced PH in mice is frequently applied to further explore the diagnosis and therapy of PH. Since the diagnosis and quantification of PH in the mouse model is difficult and current methods show only partial aspects of PH, the aim of this work was to develop a suitable method using MRI for the diagnosis of PH in the mouse model. For this purpose, two different MRI trigger methods were compared on the one hand. On the other hand, experiments of chronic PH in a mouse model with measurement of pulmonary arterial blood flow as well as cardiac parameters were performed.

Triggering by ECG and pulse oximetry was compared. Repeated measurements were performed in each case with subsequent comparison of the parameters of the flow curves in the truncus pulmonalis measured by phase-contrast MRI. No disparity was found between the two trigger methods. However, because of the simpler performance, the use of pulse oximetry is preferable.

For the mouse model of chronic hypoxia, 25 mice were maintained in hypoxia with 10% oxygen for four weeks. A control group of 23 mice was kept in normoxia. In this case, approximately half of the mice had TMEM16A-KO. MRI examinations were performed immediately before and after each stay in hypoxia and normoxia, respectively, and pulmonary arterial blood flow and cardiac parameters were determined by MRI.

The experiments showed that the flow curve in the pulmonary trunk as well as the wall thickness of the right ventricle and the wall thickness of the left ventricle changed significantly in the mice with PH compared with the mice kept in normoxia. Here, the wall thickness of the right ventricle increased and the wall thickness of the left ventricle decreased in the context of right ventricular hypertrophy. In addition, TTP decreased, the slope of the flow curve increased, and the TTP/PET ratio decreased. Correlation of the results with the postmortem heart weights of the animals could show a significant correlation of the weights with the MRI data.

In MRI, signs of PH could be detected by the flow measurements, as well as by the determination of cardiac parameters. Thus, MRI can be considered a suitable method for diagnosis and monitoring of PH in the mouse model.

8 Abkürzungsverzeichnis

BPM	Beats per Minute
BW	Körpergewicht
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie
CTEPH	Chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiographie
ET	Ejection Time
FI	Fulton-Index
FOV	Field of View
g	Gramm
GLMM	Generalized Linear Mixed Model
IVC	Individual Ventilated Cages
KO	Knock-Out
L-NAME	N-Nitro-L-Arginin-Methylester-Hydrochlorid
LV	Linker Ventrikel
mm ³	Kubikmillimeter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mPAP	Mean Pulmonary Artery Pressure
MRT	Magnetresonanztomographie
ms	Millisekunden
NO	Stickstoffmonoxid
O ₂	Sauerstoff
PAH	Pulmonalerterielle Hypertonie
PAP	Pulmonary Artery Pressure
PET	Pulmonary Ejection Time
PH	Pulmonale Hypertonie
ROI	Region of Interest
RV	Rechter Ventrikel

S	Septum
s	Sekunde
TE	Time of Echo
TR	Time of Repetition
TTE	Transthorakale Echokardiographie
TTP	Time to Peak
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
VENC	Velocity Encoding
WT	Wildtyp
μl	Mikroliter

9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Blutkreislauf (Aumüller et al., 2017).....	1
Abbildung 2: Funktioneller Aufbau des Bronchialbaums (Schünke et al., 2018).....	2
Abbildung 3: Dilatation des rechten Ventrikels (Franco, 2012)	6
Abbildung 4: Protokoll der Versuche von von Euler und Liljestrand (von Euler and Liljestrand, 1946)	7
Abbildung 5: Planung eines Phasenkontrast-MRT (Reiter et al., 2016) (a, b) Zweidimensionale Planung der Aufnahmeebene im Truncus pulmonalis sowie Magnitude- (c) und Phasenkontrast-Bild (d) mit ROI in der Pulmonalarterie	11
Abbildung 6: MRT-Flusskurve (Nogami et al., 2009).....	11
Abbildung 7: Mittlere Flussgeschwindigkeit im Phasenkontrast-MRT (Reiter et al., 2016)	12
Abbildung 8: Positionierung einer Maus für die MRT-Untersuchung.....	16
Abbildung 9: Monitorarstellung der Triggermethoden	17
Abbildung 10: Cine-Bild (links), Magnitudebild (Mitte), Phasenkontrastbild (rechts).....	18
Abbildung 11: Phasenkontrastbild mit ROI (Region of Interest).....	19
Abbildung 12: MRT-Flusskurve mit TTP, PET, Steigung und Baseline.....	20
Abbildung 13: Übersicht der Versuchsgruppen	22
Abbildung 14: Volumetrie des linken Ventrikels	24
Abbildung 15: Ausmessung der Wanddicke des Septums.....	25
Abbildung 16: Ausmessung der Wanddicke des rechten Ventrikels	25
Abbildung 17: Boxplot der EKG-getriggerten PET-Messungen.....	28
Abbildung 18: Boxplot der EKG-getriggerten TTP-Messungen.....	29
Abbildung 19: Boxplot der EKG-getriggerten Werte der Steigung	29
Abbildung 20: Boxplot der Pulsoxy-getriggerten PET-Werte.....	31
Abbildung 21: Boxplot der Pulsoxy-getriggerten TTP-Werte.....	31
Abbildung 22: Boxplot der Pulsoxy-getriggerten Werte der Steigung	32
Abbildung 23: Box Plots der beiden Triggermethoden für die PET (Pulmonary Ejection Time)	33
Abbildung 24: Box Plots der beiden Triggermethoden für die TTP (Time to Peak).....	34
Abbildung 25: Box Plots der beiden Triggermethoden für die Steigung.....	34
Abbildung 26: Bland-Altman-Plot der PET-Werte.....	37
Abbildung 27: Bland-Altman-Plot der TTP-Werte.....	37
Abbildung 28: Bland-Altman-Plot der Steigung	38
Abbildung 29: Balkendiagramme der TTP.....	44
Abbildung 30: Balkendiagramme der Steigung	45
Abbildung 31: Balkendiagramme des Verhältnisses TTP/TEP	46

Abbildung 32: Balkendiagramme der rechtsventrikulären Wanddicke	50
Abbildung 33: Balkendiagramme der linksventrikulären Wanddicke	54
Abbildung 34: Boxplot der Werte für die Steigung beider Triggermethoden zusammen.	58
Tabelle 1: MRT-Parameter der Phasenkontrast-Sequenz.....	18
Tabelle 2: Protokoll der MRT-Messungen	19
Tabelle 3: MRT-Parameter der Cine-Sequenz in kurzer Herzachse	23
Tabelle 4: Darstellung der ermittelten Variablen bei EKG-Triggerung.....	27
Tabelle 5: Übersicht der Variablen der EKG-Messungen aufgeteilt nach Maus.....	28
Tabelle 6: Darstellung der ermittelten Variablen der Pulsoxymetrie-Messungen	30
Tabelle 7: Übersicht der Variablen der Pulsoxymetrie-Messungen aufgeteilt nach Maus	30
Tabelle 8: Ergebnisse des Tests für generalisierte lineare gemischte Modelle für die Triggermethoden EKG und Pulsoxymetrie	35
Tabelle 9: Ergebnisse des gepaarten T-Tests für die Triggermethoden EKG und Pulsoxymetrie	36
Tabelle 10: Korrelationsanalyse der Messwerte beider Triggermethoden nach Pearson	38
Tabelle 11: Ergebnisse der Flussmessungen unterteilt nach prä bzw. post Hypoxie und Normoxie	40
Tabelle 12: Ergebnisse der Flussmessungen aufgeteilt nach Knock-Out (KO), Wildtyp sowie prä bzw. post Hypoxie und Normoxie.....	41
Tabelle 13: Gepaarter T-Test der Flussvariablen unterteilt nach Normoxie und Hypoxie	42
Tabelle 14: Gepaarter T-Test nach Kohorte der Flussvariablen unterteilt nach KO, WT, Hypoxie und Normoxie	43
Tabelle 15: Deskriptive Statistik der Variablen des rechten Ventrikels unterteilt in prä bzw. post Normoxie und Hypoxie	47
Tabelle 16: Deskriptive Statistik der Variablen des rechten Ventrikels unterteilt in WT, KO sowie prä bzw. post Hypoxie und Normoxie.....	48
Tabelle 17: Gepaarter T-Test der Variablen des rechten Ventrikels unterteilt in Normoxie und Hypoxie.....	49
Tabelle 18: Gepaarter T-Test der Variablen des rechten Ventrikels unterteilt in KO, WT, Normoxie sowie Hypoxie	49
Tabelle 19: Deskriptive Statistik der Variablen des linken Ventrikels unterteilt in prä bzw. post Normoxie und Hypoxie	51
Tabelle 20: Deskriptive Statistik des linken Ventrikels unterteilt in prä bzw. post Normoxie, Hypoxie sowie WT und KO.....	52

Tabelle 21: Gepaarter T-Test der Variablen des linken Ventrikels unterteilt in Normoxie und Hypoxie.....	53
Tabelle 22: Gepaarter T-Test der Variablen des linken Ventrikels unterteilt in Normoxie, Hypoxie sowie WT und KO.....	53
Tabelle 23: Korrelation der Ergebnisse der MRT-Messung mit der postmortalen Analyse der Herzmorphologie	56

10 Literaturverzeichnis

- ABI-ABDALLAH, D., DROCHON, A., ROBIN, V. & FOKAPU, O. 2007. Cardiac and respiratory MRI gating using combined wavelet sub-band decomposition and adaptive filtering. *Ann Biomed Eng*, 35, 733-43.
- ABMAN, S. H., SHANLEY, P. F. & ACCURSO, F. J. 1989. Failure of postnatal adaptation of the pulmonary circulation after chronic intrauterine pulmonary hypertension in fetal lambs. *J Clin Invest*, 83, 1849-58.
- ANANTHAKRISHNAN, M., BARR, F. E., SUMMAR, M. L., SMITH, H. A., KAPLOWITZ, M., CUNNINGHAM, G., MAGARIK, J., ZHANG, Y. & FIKE, C. D. 2009. L-Citrulline ameliorates chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in newborn piglets. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 297, L506-11.
- ASCHA, M., RENAPURKAR, R. D. & TONELLI, A. R. 2017. A review of imaging modalities in pulmonary hypertension. *Ann Thorac Med*, 12, 61-73.
- AUMÜLLER, G., AUST, G., CONRAD, A., ENGELE, J. & KIRSCH, J. 2017. *Duale Reihe Anatomie*.
- BARBOSA, E. J., JR., GUPTA, N. K., TORIGIAN, D. A. & GEFTER, W. B. 2012. Current role of imaging in the diagnosis and management of pulmonary hypertension. *AJR Am J Roentgenol*, 198, 1320-31.
- BEUTNER, A. 1852. Ueber die Strom- und Druckkräfte des Blutes in der Arteria und Venia pulmonalis. *Zeitschrift für rationelle Medicin*.
- BOSSONE, E., FERRARA, F. & GRUNIG, E. 2015. Echocardiography in pulmonary hypertension. *Curr Opin Cardiol*, 30, 574-86.
- BREEN, E. C., SCADENG, M., LAI, N. C., MURRAY, F. & BIGBY, T. D. 2017. Functional magnetic resonance imaging for in vivo quantification of pulmonary hypertension in the Sugen 5416/hypoxia mouse. *Exp Physiol*, 102, 347-353.
- CAJIGAS, H. R. & AWDISH, R. 2016. Classification and diagnosis of pulmonary hypertension. *Heart Fail Rev*, 21, 229-37.
- CASSIDY, P. J., SCHNEIDER, J. E., GRIEVE, S. M., LYGATE, C., NEUBAUER, S. & CLARKE, K. 2004. Assessment of motion gating strategies for mouse magnetic resonance at high magnetic fields. *J Magn Reson Imaging*, 19, 229-37.
- CHAMPION, H. C., VILLNAVE, D. J., TOWER, A., KADOWITZ, P. J. & HYMAN, A. L. 2000. A novel right-heart catheterization technique for in vivo measurement of vascular responses in lungs of intact mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 278, H8-H15.
- CHEN, Y., GUO, H., XU, D., XU, X., WANG, H., HU, X., LU, Z., KWAK, D., XU, Y., GUNTHER, R., HUO, Y. & WEIR, E. K. 2012. Left ventricular failure produces profound lung remodeling and pulmonary hypertension in mice: heart failure causes severe lung disease. *Hypertension*, 59, 1170-8.
- COHEN, J. 1988. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*, New York Lawrence Erlbaum Associates

- CONDON, D. F., NICKEL, N. P., ANDERSON, R., MIRZA, S. & DE JESUS PEREZ, V. A. 2019. The 6th World Symposium on Pulmonary Hypertension: what's old is new. *F1000Res*, 8.
- DAYEH, N. R., TARDIF, J. C., SHI, Y., TANGUAY, M., LEDOUX, J. & DUPUIS, J. 2018. Echocardiographic validation of pulmonary hypertension due to heart failure with reduced ejection fraction in mice. *Sci Rep*, 8, 1363.
- DUNHAM-SNARY, K. J., WU, D., SYKES, E. A., THAKRAR, A., PARLOW, L. R. G., MEWBURN, J. D., PARLOW, J. L. & ARCHER, S. L. 2017. Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction: From Molecular Mechanisms to Medicine. *Chest*, 151, 181-192.
- EGEMNAZAROV, B., KWAPISZEWSKA, G. & MARSH, L. M. 2019. Echocardiographic Measurement of Right Ventricular Diastolic Parameters in Mouse. *J Vis Exp*.
- FAHRMEIR, L., KNEIB, T. & LANG, S. 2007. *Regression Modelle, Methoden und Anwendungen* Heidelberg, Springer, Berlin.
- FORIS, K., OLSCHESKI 2017. Pulmonale Hypertonie. *Der Pneumologe*.
- FRANCO, V. 2012. Right ventricular remodeling in pulmonary hypertension. *Heart Fail Clin*, 8, 403-12.
- FREED, B. H., COLLINS, J. D., FRANCOIS, C. J., BARKER, A. J., CUTTICA, M. J., CHESLER, N. C., MARKL, M. & SHAH, S. J. 2016. MR and CT Imaging for the Evaluation of Pulmonary Hypertension. *JACC Cardiovasc Imaging*, 9, 715-32.
- GALIE, N., HUMBERT, M., VACHIERY, J. L., GIBBS, S., LANG, I., TORBICKI, A., SIMONNEAU, G., PEACOCK, A., VONK NOORDEGRAAF, A., BEGHETTI, M., GHOFRANI, A., GOMEZ SANCHEZ, M. A., HANSMANN, G., KLEPETKO, W., LANCELLOTTI, P., MATUCCI, M., MCDONAGH, T., PIERARD, L. A., TRINDADE, P. T., ZOMPATORI, M. & HOEPER, M. 2015. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Respir J*, 46, 903-75.
- HALES, C. A., KRADIN, R. L., BRANDSTETTER, R. D. & ZHU, Y. J. 1983. Impairment of hypoxic pulmonary artery remodeling by heparin in mice. *Am Rev Respir Dis*, 128, 747-51.
- HARDZIYENKA, M., CAMPION, M. E., REESINK, H. J., SURIE, S., BOUMA, B. J., GROENINK, M., KLEMENS, C. A., BEEKMAN, L., REMME, C. A., BRESSER, P. & TAN, H. L. 2011. Right ventricular failure following chronic pressure overload is associated with reduction in left ventricular mass: evidence for atrophic remodeling. *J Am Coll Cardiol*, 57, 921-8.
- HEIJMAN, E., DE GRAAF, W., NIESSEN, P., NAUERER, A., VAN EYS, G., DE GRAAF, L., NICOLAY, K. & STRIJKERS, G. J. 2007. Comparison between prospective and retrospective triggering for mouse cardiac MRI. *NMR Biomed*, 20, 439-47.

- HEINZE, C., SENIUK, A., SOKOLOV, M. V., HUEBNER, A. K., KLEMENTOWICZ, A. E., SZIJARTO, I. A., SCHLEIFENBAUM, J., VITZTHUM, H., GOLLASCH, M., EHMKE, H., SCHROEDER, B. C. & HUBNER, C. A. 2014. Disruption of vascular Ca²⁺-activated chloride currents lowers blood pressure. *J Clin Invest*, 124, 675-86.
- HERRMANN, K. H., PFEIFFER, N., KRUMBEIN, I., HERRMANN, L. & REICHENBACH, J. R. 2014. MRI compatible small animal monitoring and trigger system for whole body scanners. *Z Med Phys*, 24, 55-64.
- HOMSI, R., LUETKENS, J. A., SKOWASCH, D., PIZARRO, C., SPRINKART, A. M., GIESEKE, J., MEYER ZUR HEIDE GEN MEYER-AREND, J., SCHILD, H. H. & NAEHLE, C. P. 2017. Left Ventricular Myocardial Fibrosis, Atrophy, and Impaired Contractility in Patients With Pulmonary Arterial Hypertension and a Preserved Left Ventricular Function: A Cardiac Magnetic Resonance Study. *J Thorac Imaging*, 32, 36-42.
- HUMBERT, M., MONTANI, D., EVGENOV, O. V. & SIMONNEAU, G. 2013. Definition and classification of pulmonary hypertension. *Handb Exp Pharmacol*, 218, 3-29.
- JOHNS, C. S., RAJARAM, S., CAPENER, D. A., ORAM, C., ELLIOT, C., CONDLIFFE, R., KIELY, D. G., WILD, J. M. & SWIFT, A. J. 2018. Non-invasive methods for estimating mPAP in COPD using cardiovascular magnetic resonance imaging. *Eur Radiol*, 28, 1438-1448.
- KIM, D. & GEORGE, M. P. 2019. Pulmonary Hypertension. *Med Clin North Am*, 103, 413-423.
- KINCHESH, P., GILCHRIST, S., BEECH, J. S., GOMES, A. L., KERSEMANS, V., NEWMAN, R. G., VOJNOVIC, B., ALLEN, P. D., BRADY, M., MUSCHEL, R. J. & SMART, S. C. 2018. Prospective gating control for highly efficient cardio-respiratory synchronised short and constant TR MRI in the mouse. *Magn Reson Imaging*, 53, 20-27.
- KORDING, F., SCHOENNAGEL, B., LUND, G., UEBERLE, F., JUNG, C., ADAM, G. & YAMAMURA, J. 2015. Doppler ultrasound compared with electrocardiogram and pulse oximetry cardiac triggering: A pilot study. *Magn Reson Med*, 74, 1257-65.
- MA, M. M., GAO, M., GUO, K. M., WANG, M., LI, X. Y., ZENG, X. L., SUN, L., LV, X. F., DU, Y. H., WANG, G. L., ZHOU, J. G. & GUAN, Y. Y. 2017. TMEM16A Contributes to Endothelial Dysfunction by Facilitating Nox2 NADPH Oxidase-Derived Reactive Oxygen Species Generation in Hypertension. *Hypertension*, 69, 892-901.
- MA, Z., MAO, L. & RAJAGOPAL, S. 2016. Hemodynamic Characterization of Rodent Models of Pulmonary Arterial Hypertension. *J Vis Exp*.
- MAHNKEN, A. H., GUNTHER, R. W. & KROMBACH, G. A. 2004. [The basics of left ventricular functional analysis with MRI and MSCT]. *Rofo*, 176, 1365-79.
- MATHEW, B. & LAKSHMINRUSIMHA, S. 2018. Pathophysiology of Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn—Cellular Basis and Lessons from Animal Studies. *Hemodynamics and Cardiology (Third Edition) Neonatology Questions and Controversies*. Philadelphia: Elsevier.

- MEYER, M. 2014. Left ventricular atrophy in pulmonary arterial hypertension: a sinister dexter conundrum. *J Am Coll Cardiol*, 64, 38-40.
- NOGAMI, M., OHNO, Y., KOYAMA, H., KONO, A., TAKENAKA, D., KATAOKA, T., KAWAI, H., KAWAMITSU, H., ONISHI, Y., MATSUMOTO, K., MATSUMOTO, S. & SUGIMURA, K. 2009. Utility of phase contrast MR imaging for assessment of pulmonary flow and pressure estimation in patients with pulmonary hypertension: comparison with right heart catheterization and echocardiography. *J Magn Reson Imaging*, 30, 973-80.
- NOGUEIRA-FERREIRA, R., FARIA-COSTA, G. & HENRIQUES-COELHO, T. 2016. Animal Models for the Study of Pulmonary Hypertension: Potential and Limitations. *Cardiology and Cardiovascular Medicine*, 1, 1-22.
- OPITZ, I. & ULRICH, S. 2018. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Swiss Med Wkly*, 148, w14702.
- PAPE, H.-C., KURTZ, A. & SILBERNAGL, S. 2014. *Physiologie*, Stuttgart; New York, Georg Thieme Verlag
- PAPP, R., NAGARAJ, C., ZABINI, D., NAGY, B. M., LENGYEL, M., SKOFIC MAURER, D., SHARMA, N., EGEMNAZAROV, B., KOVACS, G., KWAPISZEWSKA, G., MARSH, L. M., HRZENJAK, A., HOFER, G., DIDIASOVA, M., WYGRECKA, M., SIEVERS, L. K., SZUCS, P., ENYEDI, P., GHANIM, B., KLEPETKO, W., OLSCHESKI, H. & OLSCHESKI, A. 2019. Targeting TMEM16A to reverse vasoconstriction and remodelling in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*, 53.
- PARASURAMAN, S., WALKER, S., LOUDON, B. L., GOLLOP, N. D., WILSON, A. M., LOWERY, C. & FRENNEAUX, M. P. 2016. Assessment of pulmonary artery pressure by echocardiography-A comprehensive review. *Int J Cardiol Heart Vasc*, 12, 45-51.
- REES, D. D., PALMER, R. M. & MONCADA, S. 1989. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86, 3375-8.
- REITER, U., REITER, G. & FUCHSJAGER, M. 2016. MR phase-contrast imaging in pulmonary hypertension. *Br J Radiol*, 89, 20150995.
- ROEHL, A. B., STEENDIJK, P., BAUMERT, J. H., SCHNOOR, J., ROSSAINT, R. & HEIN, M. 2009. Comparison of 3 methods to induce acute pulmonary hypertension in pigs. *Comp Med*, 59, 280-6.
- SABLONG, R., RENGLE, A., RAMGOLAM, A., SAINT-JALMES, H. & BEUF, O. 2014. An optical fiber-based gating device for prospective mouse cardiac MRI. *IEEE Trans Biomed Eng*, 61, 162-70.
- SANZ, J., KUSCHNIR, P., RIUS, T., SALGUERO, R., SULICA, R., EINSTEIN, A. J., DELLEGROTTAGLIE, S., FUSTER, V., RAJAGOPALAN, S. & POON, M. 2007. Pulmonary arterial hypertension: noninvasive detection with phase-contrast MR imaging. *Radiology*, 243, 70-9.
- SCHÜNKE, M., SCHULTE, E., SCHUMACHER, U., VOLL, M. & WESKER, K. 2018. *PROMETHEUS Innere Organe* Stuttgart

- SIMONNEAU, G., MONTANI, D., CELERMAJER, D. S., DENTON, C. P., GATZOULIS, M. A., KROWKA, M., WILLIAMS, P. G. & SOUZA, R. 2019. Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Eur Respir J*, 53.
- SIMONNEAU, G., TORBICKI, A., DORFMULLER, P. & KIM, N. 2017. The pathophysiology of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir Rev*, 26.
- SOMMER, N., STRIELKOV, I., PAK, O. & WEISSMANN, N. 2016. Oxygen sensing and signal transduction in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Eur Respir J*, 47, 288-303.
- STENMARK, K. R., MEYRICK, B., GALIE, N., MOOI, W. J. & MCMURTRY, I. F. 2009. Animal models of pulmonary arterial hypertension: the hope for etiological discovery and pharmacological cure. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 297, L1013-32.
- STEUDEL, W., SCHERRER-CROSBIE, M., BLOCH, K. D., WEIMANN, J., HUANG, P. L., JONES, R. C., PICARD, M. H. & ZAPOL, W. M. 1998. Sustained pulmonary hypertension and right ventricular hypertrophy after chronic hypoxia in mice with congenital deficiency of nitric oxide synthase 3. *J Clin Invest*, 101, 2468-77.
- SWIFT, A. J., RAJARAM, S., HURDMAN, J., HILL, C., DAVIES, C., SPROSON, T. W., MORTON, A. C., CAPENER, D., ELLIOT, C., CONDLIFFE, R., WILD, J. M. & KIELY, D. G. 2013. Noninvasive estimation of PA pressure, flow, and resistance with CMR imaging: derivation and prospective validation study from the ASPIRE registry. *JACC Cardiovasc Imaging*, 6, 1036-1047.
- THIBAUT, H. B., KURTZ, B., RAHER, M. J., SHAIK, R. S., WAXMAN, A., DERUMEAUX, G., HALPERN, E. F., BLOCH, K. D. & SCHERRER-CROSBIE, M. 2010. Noninvasive assessment of murine pulmonary arterial pressure: validation and application to models of pulmonary hypertension. *Circ Cardiovasc Imaging*, 3, 157-63.
- URBONIENE, D., HABER, I., FANG, Y. H., THENAPPAN, T. & ARCHER, S. L. 2010. Validation of high-resolution echocardiography and magnetic resonance imaging vs. high-fidelity catheterization in experimental pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 299, L401-12.
- VON EULER, U. S. & LILJESTRAND, G. 1946. Observations on the Pulmonary Arterial Blood Pressure in the Cat. *Acta Physiologica Scandinavica*, 12, 301-320.
- WEISHAUPT, D., KÖCHLI, V. D. & MARINCEK, B. 2013. *Wie funktioniert MRI?*, Zürich, Springer.
- ZHANG, Z., WANG, M., YANG, Z., YANG, F., LI, D., YU, T. & ZHANG, N. 2017. Noninvasive prediction of pulmonary artery pressure and vascular resistance by using cardiac magnetic resonance indices. *Int J Cardiol*, 227, 915-922.

11 Danksagung

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater PD Dr. Kersten Peldschus, der immer für Fragen da war, mich maßgeblich bei der Doktorarbeit betreut hat und mir immer sofort auf Nachrichten geantwortet hat. Vielen Dank dafür, dass du stundenlang mit mir die MRT-Daten aufgenommen hast und mir so sehr beim Schreiben geholfen hast. Danke für die vielen Ideen und die Organisation. Eine bessere Betreuung hätte ich mir nicht vorstellen können.

Außerdem danke ich Dr. Micheal Kaul für die Einarbeitung in das MRT-Gerät und die Software zum Auswerten meiner Daten. Vielen Dank auch für das Erstellen der Sequenzen, für die Plug-Ins bei ImageJ und die Einweisung in all die Kleinigkeiten, die während der Untersuchungen zu beachten waren.

Über die Zusammenarbeit mit dem Institut für Zelluläre und Integrative Physiologie, insbesondere mit Dr. Anika Seniuk und Philipp Tessmer, bin ich sehr dankbar. Durch diese Möglichkeit wurde uns eine große Tür geöffnet.

Tobias Mummert danke ich für die freundliche Unterstützung während der Datenerhebung und Auswertung.

Ich danke den Mäusen, die diese Arbeit möglich gemacht haben und die eine maßgebliche Rolle in der Wissenschaft spielen.

Ein sehr großer Dank gilt auch meiner Familie und meinen Freunden, die mir in so vielerlei Hinsicht geholfen haben. Sei es Korrekturlesen, die Formatierung oder die mentale Unterstützung. Insbesondere danke ich meinem Freund Milan Wulf, der immer mehr an mich glaubt als ich an mich selbst. Außerdem danke ich Behnam Dilmeghany, ohne den das Medizinstudium für mich nie vorstellbar gewesen wäre und der mich zu dem Menschen gemacht hat, der ich heute bin.

12 Lebenslauf

Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

13 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Maria Wienand