

**Untersuchung des akuten Effektes der transmyokardialen  
Laserrevaskularisation am ischämischen Myokard  
des Schweines: Validierung des Laser- Dopplers  
als geeignete Messmethode**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Gerhard Roth  
aus Dettingen am Albuch

Gießen 2005

Aus dem  
Zentrum für Chirurgie, Anaesthesiologie und Urologie  
der Klinik für Herz-, Kinderherz- und Gefäßchirurgie des  
Universitätsklinikums Gießen  
Direktor: Prof. Dr. P. R. Vogt

Gutachter: Prof. Dr. D. Schranz

Gutachter: Prof. Dr. J. Neuzner

Tag der Disputation: 02.07.2007

**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1. EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
1.1 Einführung.....	1
1.2 Therapieansätze der therapierefraktären Angina pectoris.....	4
1.2.1 Spinale Nervenstimulation.....	4
1.2.2 Chronisch intermittierende Urokinasetherapie.....	4
1.2.3 Transmyokardiale Laserrevaskularisation.....	5
1.3 Patho-anatomische Aspekte der chronischen Myokardischämie.....	6
1.3.1 Kompensationsmechanismen der Koronargefäße.....	6
1.3.2 Anastomosen und Kollateralbildung.....	6
1.3.3 Neoangiogenese bei koronarer Herzkrankheit.....	7
1.3.4 Regulation der Neoangiogenese.....	8
1.3.5 Längerdauernde regionale Ischämie: Hibernating Myokard.....	8
1.4 Anfänge der Revaskularisationsverfahren.....	9
1.4.1 Grundlagen der Blutversorgung des Herzens.....	9
1.4.2 Anfänge der Revaskularisation.....	12
1.5 Versuchsvorhaben und Fragestellung der TMLR am Schweineherz.....	13
<b>2. METHODIK</b> .....	<b>15</b>
2.1 Versuchsvorhaben.....	15
2.2 Das Schwein als Versuchsmodell.....	16
2.3 Versuchsaufbau und Ablauf.....	16
2.3.1 Aufbau und Prämedikation mit Vorbereitung des Versuchstieres.....	16
2.3.2 Narkoseeinleitung.....	17
2.3.3 Durchführung der OP.....	18
2.4 Durchführung der Messungen sowie der Intervention mit dem Laser.....	19
2.4.1 Anzahl der Tiere und Aufteilung in die Gruppen.....	19
2.4.2 Messungen und Intervention mit dem Laser.....	19
2.5 Die Messgeräte.....	20
2.5.1 Messung des Sauerstoffpartialdruckes.....	20
2.5.2 Kontrastmitteluntersuchung mittels Echo.....	21
2.5.3 Methodik der transmyokardialen Laserrevaskularisation.....	22
2.6 Methodik der Messung der Mikrozirkulation mit dem Laser-Doppler.....	23
2.6.1 Grundlagen eines Laser-Dopplers.....	23
2.6.2 Beschreibung des Laser-Dopplers.....	24
2.6.3 Messsonde und Glasfaserbox.....	24

---

2.6.4	Messmethode des OptoFlow™.....	27
2.6.5	Blutflussanalyse (BFA) mit dem Laser-Doppler.....	27
2.6.6	Messparameter.....	30
2.6.7	Messungen am Schweineherzen.....	31
2.7	Versuchsende.....	32
<b>3.</b>	<b>ERGEBNISSE DER LASER-DOPPLERMESSUNGEN: MIKROZIRKULATION VOR UND NACH OKKLUSION SOWIE NACH LASERTHERAPIE.....</b>	<b>33</b>
3.1	Einleitung.....	33
3.2	Statistische Methoden.....	33
3.3	Einfluss der Lasertherapie im Ischämiegebiet: Lasergruppe 1.....	35
3.4	Einfluss der Lasertherapie im Ischämiegebiet: Lasergruppe 2.....	38
3.5	Mikrozirkulation im gesunden Gewebe: Lasergruppe 1.....	41
3.6	Mikrozirkulation im gesunden Gewebe: Lasergruppe 2.....	43
<b>4.</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>45</b>
4.1	Diskussion Laser-Doppler.....	45
4.1.1	Diskussion der Methode des Laser-Doppler.....	45
4.1.2	Diskussion der Anwendung des Laser-Doppler in vorliegender Arbeit..	47
4.1.3	Diskussion der Ergebnisse.....	48
4.2	Diskussion Laser.....	51
4.3	Diskussion TMLR.....	54
4.3.1	Tierexperimentelle Versuche.....	56
4.3.1.1	Mikrozirkulation und Funktion des Myokards.....	57
4.3.1.2	Histologie.....	59
4.3.2	Klinische Studien.....	60
<b>5.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>68</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATUR.....</b>	<b>72</b>

**ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS**

**Abbildungen**

Abb. 2.1: OptoFlow™ zur Messung der Hautdurchblutung .....24

Abb. 2.2: Sonde des Laser-Doppler .....25

Abb. 2.3: Sonde im Größenvergleich .....25

Abb. 2.4: Technische Daten des Lasermesskopfes .....26

Abb. 2.5: Display „Blood-Flow-Analysis“ .....29

Abb. 2.6: Ausschnitt von Abb. 2.5 .....29

Abb. 3.1: Zeitlicher Verlauf der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet  
(Gruppe 1) .....37

Abb. 3.2: Zeitlicher Verlauf der prozentualen Veränderungsrate der Laser-Doppler-  
Messdaten im Ischämiegebiet gegenüber dem Ausgangswert vor Okklusion  
(Lasergruppe 1) .....37

Abb. 3.3 Zeitlicher Verlauf der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet  
(Lasergruppe 2) .....40

Abb. 3.4: Zeitlicher Verlauf der prozentualen Veränderungsrate der Laser-Doppler-  
Messdaten im Ischämiegebiet gegenüber dem Ausgangswert vor Okklusion  
(Lasergruppe 2) .....40

**Tabellen**

Tab. 2.1: Eindringtiefen des Laser-Doppler bei Messungen der Hautdurchblutung .....28

Tab. 3.1: Deskriptive Darstellung der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet im  
zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 1 .....35

Tab. 3.2: Prozentuale Veränderungsrate gegenüber dem Ausgangswert vor  
Okklusion der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet im zeitlichen  
Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 1. ....35

Tab. 3.3: Deskriptive Darstellung der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet im  
zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 2 .....38

Tab. 3.4: Prozentuale Veränderungsrate der Laser-Doppler-Messdaten im  
Ischämiegebiet gegenüber dem Ausgangswert vor Okklusion im zeitlichen  
Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 2. ....38

Tab. 3.5: Deskriptive Darstellung der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet im  
zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 1 .....41

Tab. 3.6: Prozentuale Veränderungsrate der Laser-Doppler-Messdaten im .....  
Ischämiegebiet gegenüber dem Ausgangswert vor Okklusion im zeitlichen

---

	Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 1. ....	41
Tab. 3.7:	Deskriptive Darstellung der Laser-Doppler-Messdaten im zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 2.....	43
Tab. 3.8:	Prozentuale Veränderungsrate gegenüber dem Ausgangswert vor Okklusion der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet im zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 2. ....	43
Tab. 4.1:	Übersicht über die zur TMLR verwendeten Laser .....	53

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

Abb.	Abbildung
ACVB	Aortocoronarer Venenbypass
APS	Average-Power-Spektren
BFA	Blut-Fluss-Analyse; Blood-Flow-Analysis
bFGF	basic fibroblast growth factor
CCS	Canadian Cardiovascular Society
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
EDHF	Endothelium derived hyperpolarizing factor
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiogramm
FFT	Fast-Fourier-Transformation
FTD	Frequency-Time-Domain
i.v.	intravenös
ILM	Institut für Lasertechniken in der Medizin
KEPS	kilo Emphasis of Power Spectra
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAD	Left anterior descending
MOD	Magnetical optical disc
NBT-Lösung	Nitrobluetetrazoliumchlorid-Lösung
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PTCA	Perkutane transluminale Angioplastie
Tab.	Tabelle
TMLR	Transmyokardiale Laserrevaskularisation
TNF- $\alpha$	Tumor-Nekrose-Faktor-alpha
VEGF	Vascular endothelial growth factor

# 1. Einleitung

## 1.1 Einführung

Im Jahr 1997 starben in Deutschland über 93.000 Menschen an einer Form der chronisch ischämischen Herzkrankheit, die ursächlich durch die koronare Herzkrankheit (KHK) bedingt wird. Aufgrund dieser Tatsache sowie ihrer Morbidität, Verbreitung, medizinsoziologischer und gesundheitspolitischer Aspekte wird der koronaren Herzkrankheit in den westlichen Ländern eine zunehmende Bedeutung und Beachtung beigemessen. Die Vielzahl der Behandlungskonzepte sowie deren Weiterentwicklung und ihre Anwendungshäufigkeiten bestätigen diese Tendenz. Felix Unger schrieb im Jahr 1999 von einer Zunahme der kardiochirurgischen Eingriffe um 6,8% sowie der interventionellen Eingriffe um 14.1% (Unger 1999, 79 /id).

Nach Bruckenberg wurden 1998 in Deutschland 74.003 Bypass-Operationen und 146.663 Ballon-Dilatationen durchgeführt (Bruckenberg 1999, 10 /id).

Aufgrund zahlreicher Faktoren wie bessere Ernährung und Gesundheitsvorsorge sowie Reduzierung schädlicher Umwelteinflüsse und Risikofaktoren am Arbeitsplatz ist die Lebenserwartung in den hochentwickelten Industrienationen so hoch wie nie zuvor. Hinzu kommen große Fortschritte in der Medizin mit einer Verbesserung der Therapie, sei sie medikamentös konventionell oder operativ, sowie eine verfeinerte und genauere Diagnostik, die den Menschen mit koronarem Herzleiden zugute kommen. Dies zeigt sich zum Beispiel an der Entwicklung der Sterbeziffern des akuten Myokardinfarktes, die eine deutliche Rückläufigkeit aufweisen (Bruckenberg 1999, 10 /id).

Trotz dieser Fortschritte sowie der gesundheitsfördernden Faktoren sind die durch Arteriosklerose bedingten Krankheiten, allen voran die ischämische Herzkrankheit, die häufigsten Erkrankungs- und Todesursachen bei Männern über 40 Jahren und Frauen über 50 Jahren, mit steigender Tendenz, sowohl die



Inzidenz als auch das Erkrankungsalter betreffend. Diese Entwicklung liegt vor allem darin begründet, dass die Menschen aufgrund der höheren Lebenserwartung, kombiniert mit Risikofaktoren wie Hypertonus, Diabetes mellitus, Tabakrauchen, Hyperlipoproteinämie, Übergewicht und Stress, ein erhöhtes Erkrankungsrisiko haben. Gleichzeitig wurden die Indikationskriterien für Operationen sowie interventionelle Eingriffe in Hinblick auf Alter und Schwere der Erkrankung ausgedehnt. Heute sind selbst wiederholte Re-Eingriffe bei weiterer Progression der Erkrankung in der Bypasschirurgie möglich.

Die Entwicklung und Verfeinerung der medizinischen Verfahren und ihre häufige Anwendung führen in Verbindung mit einer guten medikamentösen Therapie dazu, dass immer mehr Patienten das Stadium einer diffusen und schweren Form der koronaren Herzkrankheit erreichen. In den meisten Fällen ist bei diesen Patienten keine interventionelle oder chirurgische Therapie zur Verbesserung der Myokarddurchblutung mehr möglich. Selbst mit adäquater Medikamententherapie sind die derzeitigen Möglichkeiten für eine Besserung der klinischen Beschwerden bei Patienten in diesem Stadium nahezu ausgeschöpft.

Sind medikamentöse Therapiemöglichkeiten ausgereizt und ineffektiv oder führen zu keinem Behandlungserfolg mehr, befinden sich die Patienten im Endstadium der koronaren Herzkrankheit. Klinisch bilden diese Patienten eine heterogene Gruppe, bei der die Symptome der ischämischen Herzinsuffizienz, oft verbunden mit ventrikulären Herzrhythmusstörungen und heftiger Angina pectoris, schon bei geringer Belastungsstufe oder, noch gravierender in Ruhe, im Vordergrund stehen.

Im Endstadium kann die therapierefraktäre koronare Herzkrankheit mit Angina pectoris entsprechend den Kriterien der Canadian Cardiovascular Society (CCS) in die Gruppen III und IV eingeteilt werden. Die Beschwerdesymptomatik besteht trotz maximaler medikamentöser Therapie fort.

Voraussetzung für eine Einteilung in die Gruppe IV der CCS ist der koronarangiographische Ausschluss einer therapeutischen Option auf ein direktes Revaskularisationsverfahren. Zugrunde liegt bei den meisten Patienten eine diffuse koronare 3-Gefäßerkrankung mit meist mehreren hintereinander

geschalteten hochgradigen Stenosen. Meist wurden im Vorfeld einige Bypass-Operationen oder PTCA`s (perkutane transluminale coronare Angioplastie) mit Stent-Einlage durchgeführt, wobei ein großer Anteil der Bypässe beziehungsweise der wiedereröffneten Gefäße sich erneut verschloss. Diese Patienten leiden unter einer erheblichen Einschränkung der Lebensqualität, da ihr Leben durch ständige Angst sowie durch Schmerzen bestimmt wird.

Für Herzranke, die sich in einem entsprechenden biologischen Alter befinden, besteht die Möglichkeit einer Herztransplantation. Allerdings stehen nach wie vor zu wenig Spenderorgane bereit. Zudem ist die Altersgrenze aus vielerlei Gründen sehr niedrig angesetzt. Patienten mit ausgeprägter Koronarinsuffizienz haben des Weiteren aufgrund eines noch relativ gesunden Myokardgewebes eine vergleichsweise geringe linksventrikuläre Funktionseinschränkung von ca. 47%, was sie in der Regel von der Therapiemöglichkeit einer Herztransplantation ausschließt (Leschke, Schoebel, et al. 1997, 48 /id).

Als weitere Option zur Behandlung der Patienten rücken daher wieder vermehrt die indirekten Revaskularisationsverfahren in das Interesse der klinischen sowie der experimentellen Forschung. Aufgrund der großen Erfolge der interkonventionellen sowie herzchirurgischen Methoden waren sie lange Zeit aus dem klinischen Alltag verschwunden.

Die dargestellte Problematik und die Tatsache, dass die darunter leidenden Patienten häufig keinen Ausweg aus ihrer belastenden Situation und keine Lösung zur Minderung ihres Leidens sehen, führen zur Forderung nach alternativen Behandlungsmethoden der therapierefraktären Angina pectoris.

## **1.2 Therapieansätze der therapierefraktären Angina pectoris**

Bislang sind zur Behandlung der koronaren Herzkrankheit im Endstadium die spinale Nervenstimulation, die chronisch intermittierende Urokinasetherapie und die transmyokardiale Laserrevaskularisation als Therapieansätze untersucht worden.

### **1.2.1 Spinale Nervenstimulation**

Die spinale Nervenstimulation ist ein effektiver und gut dokumentierter neurophysiologischer Therapieansatz. Sie bewirkt, vermutlich über die Modulation des Sympatikonus, eine Perfusionssteigerung in ischämischen Myokardgebieten. Bisher wird dieser Ansatz, auf neurophysiologischer Grundlage eine wirksame Therapie für die Behandlung der koronaren Herzkrankheit zu erzielen, nur selten gewählt. Dies beruht sicherlich auf der Komplexität der neuronalen Verschaltung auf der cerebralen, spinalen und kardialen Ebene, der fehlenden therapeutischen Wirksamkeit und den analgetischen Effekten, die eine Maskierung der klinischen Warnsignale drohender Koronarsyndrome bewirken.

### **1.2.2 Chronisch intermittierende Urokinasetherapie**

Werden die heutigen Erkenntnisse der Pathogenese zur thrombogenen Progression analysiert, so scheint es, dass die antithrombotische Intervention zur verringerten Neubildung oder sogar zur Auflösung von (kleineren) Thromben in der Mikro- und Makrostrombahn führen kann.

Diese Thromben entwickeln sich aufgrund poststenotischer Rezirkulationsstörung überwiegend bei multipel nacheinander geschalteten Stenosen und können beim herzkranken Patienten zu schweren Perfusionsstörungen führen. Die chronisch intermittierende Urokinasetherapie greift an dieser Stelle mit ihrer thrombolytischen Wirksamkeit ein. Zudem werden Mikrozirkulationsstörungen behoben, indem es urokinasebedingt zur Fibrinsenkung kommt und so die rheologischen Eigenschaften des Blutes verbessert werden (Leschke, Schoebel et al. 1997, 48 /id), (Leschke, Schoebel et al. 1997, 47 /id).

### 1.2.3 Transmyokardiale Laserrevaskularisation

Als Anfang der 70er Jahre die direkten Revaskularisationsverfahren wie beispielsweise der aortokoronare Bypass erfolgreich Einzug in den klinischen Alltag fanden, wurden die damals untersuchten indirekten Revaskularisationsverfahren nicht weiter erforscht. Erst mit der Einführung des Lasers zur transmyokardialen Revaskularisation Anfang der 80er Jahre durch Mirosheni (Mirhoseini & Cayton 1981, 56 /id) wurde die Forschung und Weiterentwicklung auf diesem Gebiet wieder vorangetrieben.

Dabei wird angenommen, dass durch laserinduzierte transmyokardiale Kanäle Blut direkt vom Ventrikellumen ins Myokardgewebe, insbesondere in die ischämischen Areale fließt, sei es primär durch Anastomosen mit intramyokardialen Blutgefäßen, die durch den Laser geschaffen wurden, oder sekundär durch laserinduzierte Neoangiogenese.

In bisher durchgeführten klinischen und experimentellen Studien wurden sowohl erfolgreiche klinische Ergebnisse als auch objektive perfusionssteigernde Effekte erzielt.

Die unter 1.2.1 bis 1.2.3 dargestellten Therapieansätze zur Behandlung der koronaren Herzkrankheit sind allerdings zur primären Behandlung dieser Krankheit ungeeignet. Sie zeigen jedoch auf unterschiedliche Weise, wie ein antiischämischer Effekt durch verbesserte Mikrozirkulation erzielt werden kann. Die Bedeutung der Mikrozirkulation bei der antiischämischen Behandlung der koronaren Herzkrankheit wird dadurch in den Blickpunkt des Interesses gestellt und erhält eine besondere Bedeutung.

Einige Therapieverfahren zur indirekten Revaskularisation, die in der Vergangenheit angewandt wurden, werden heute nicht mehr durchgeführt. Dazu zählt die Vinebergsche Operation, bei der Arteria und Vena thoracica interna mit dem angrenzenden Muskel- und Bindegewebe in einen Myokardtunnel in die linke Vorder- und Seitenwand des Herzens eingenäht wird (Vineberg & Miller 1951, 80 /id) sowie die Pondrage nach Beck und die Omentopexie sind heute nur noch von historischer Bedeutung.

## **1.3 Patho-anatomische Aspekte der chronischen Myokardischämie**

### **1.3.1. Kompensationsmechanismen der Koronargefäße**

Eine schwere koronare Herzkrankheit verursacht in der Regel chronische Durchblutungsstörungen im Myokard.

Unter physiologischen wie auch pathophysiologischen Bedingungen wird die Koronardurchblutung von der Geometrie des koronaren Gefäßbaumes sowie durch mechanische, metabolische, endotheliale, humorale und neuronale Faktoren bestimmt. Dadurch herrscht ein ausgewogenes Gleichgewicht zwischen Erfordernis und Versorgung, auch innerhalb eines Koronarastes, wodurch eine Koronarsklerose mit Lumeneinengung sehr lange kompensiert werden kann. Die arteriosklerotischen Ablagerungen entwickeln sich meist zirkulär. Bei allzu großer Einengung von mehr als 40% ist eine Kompensation nicht mehr möglich so dass es als Folge zu hämodynamischen Veränderungen kommt. Die *Elastica interna* der Arterie ist hierbei der limitierende Faktor.

Als humoraler Faktor sei hier der vom Endothel gebildete, vasodilatativ wirkende „endothelium derived hyperpolarizing factor“ (EDHF) erwähnt. Er wird bei erhöhter Durchblutung und Wandspannung aus dem Endothel zur Vasodilatation freigesetzt. Des Weiteren bewirkt Acetylcholin, als neurohumoraler Transmitter, eine Dilatation der Gefäße.

Es gibt keinen direkten Zusammenhang zwischen Lumeneinengung und histologischem Korrelat des ischämischen Versorgungsgebietes, wie beispielsweise bei einer Myokardfibrose. Klinisch zeigt sich dies in einer Diskrepanz zwischen Koronarstenose und Hypokinesie eines Myokardareals (Erdmann & Riecker 1996, 22 /id).

### **1.3.2 Anastomosen und Kollateralbildung**

Die Koronarsklerose darf nicht mit einem Koronarleiden gleichgesetzt werden, da es auf die Relation des Myokardgewebes zum versorgenden Gefäß ankommt. Ein hypertrophes Herz führt eher zu einer Ischämie als ein normal großes Herz.

Führt eine Koronarsklerose langsam zu einer erheblichen Lumeneinengung oder zu einem kompletten Verschluss eines Gefäßes, der ohne Folgen für das Versorgungsgebiet bleibt, so wird dieses Areal von Kollateralästen versorgt.

Im normalen Herzen kommen vorgebildete Kollateralen und Anastomosen vor. Sie sind unter physiologischen Bedingungen englumig und für den Kollateralkreislauf unwirksam. Falls sich die Verhältnisse ändern und über die Koronararterien nicht genügend Blut fließt, werden die Kollateralgefäße umgebaut zu funktionellen Gefäßen um die Myokarddurchblutung zu unterstützen.

In tierexperimentellen Versuchen mit Hunden führte ein Verschluss einer Koronararterie zu keiner Infarktausbildung. Bei Hunden ist bereits im gesunden Zustand eine hohe Anzahl dieser präformierten Kollateralen und Anastomosen vorhanden, so dass ein Koronarverschluss nicht zwangsläufig zu einem Infarkt führen muss.

Die Variationsbreite bei den einzelnen Tierarten ist groß. Schweine beispielsweise besitzen im gesunden Zustand keine funktionstüchtigen Kollateralen und sind darin dem Menschen ähnlich (Erdmann & Riecker 1996, 22 /id). Eine schwere chronische Hypoxie führt jedoch beim Schwein wie auch beim Menschen zur Ausbildung wirksamer Kollateralgefäße. Je schwerer die Koronarstenose, desto größer die Anzahl der Kollateralen. Diese verhält sich proportional zum Grad der Lumeneinengung.

### **1.3.3 Neoangiogenese bei koronarer Herzkrankheit**

Ischämie des Herzmuskels und Neoangiogenese spielen bei oben beschriebener Kollateralbildung eine wichtige Rolle. Hinzu kommen verschiedene molekulare Prozesse.

Zwischen Zellen und Bestandteilen der extrazellulären Matrix spielen sich komplexe Interaktionen ab. Dies betrifft insbesondere die auf der Zelloberfläche liegenden Integrine. Für die Schaffung von neuen Zellprossen und die Zellmigration ist die Bindung der Endothelzellen an die extrazelluläre Matrix nötig. Zwei verschiedene angiogene Stoffwechselwege wurden hierfür gefunden,

1. durch „basic fibroblast growth factor“ (bFGF) oder durch „Tumor Nekrose Faktor alpha“ (TNF) $\alpha$  induzierte Neoangiogenese, von Proteinkinase C unabhängig, aber Integrin  $\alpha v\beta 3$  abhängig,
2. durch „vascular endothelial growth factor“ (VEGF), wobei Integrin  $\alpha v\beta 5$  eine potenzierende Funktion zukommt und die Aktivierung von Proteinkinase C abhängig ist (Yamamoto, Kohmoto et al. 2000; 90 /id).

### **1.3.4 Regulation der Neoangiogenese**

Eine regulierende Funktion haben vor allem parakrine Faktoren. Sie werden von Endothelzellen, Fibroblasten, Makrophagen und Mastzellen sezerniert und in der extrazellulären Matrix gespeichert. Die wichtigsten direkt angiogenen Faktoren sind VEGF und bFGF. VEGF wirkt dabei direkt stimulierend auf bFGF. VEGF hat somit eine zentrale Funktion zur Steigerung der Neoangiogenese. Ein starker Reiz, der zur Aktivierung von VEGF führt, ist die Hypoxie. Des Weiteren wird durch Ischämie die Produktion und Ausschüttung von VEGF im Myokard gesteigert (Banai & Jaklitsch 1994, 5 /id).

### **1.3.5 Längerdauernde regionale Ischämie: Hibernating Myokard**

Bei schwerer transmuraler Ischämie des Herzmuskels, zum Beispiel nach komplettem Verschluss einer Koronararterie, bildet sich nach ungefähr 30 Minuten ein irreversibler Schaden aus. Kommt es zu keiner transmuralen Ischämie, kann die Kontraktionsarbeit sowie die regionale Durchblutung bis auf ein Minimum, das zur Aufrechterhaltung der zellulären Strukturen nötig ist, reduziert werden, ohne irreversible Schäden zu verursachen. Bei einer nachfolgenden Reperfusion erholt sich das Gewebe.

Hält der Zustand der Minderperfusion länger an, schaltet die Myokardregion ihre Funktion komplett ab und bleibt in einem Ruhezustand, der auch als "Hibernating Myokard", ein im Winterschlaf befindliches Myokard, bezeichnet wird (Wijns, Vatner et al. 1998, 89 /id).

Zur Zeit ist noch unklar, wie lange dieser Zustand aufrechterhalten werden kann und inwieweit ein Zelluntergang im Gewebe stattfindet. Bei erfolgreicher Reperfusion des Gewebes konnte in bisherigen Untersuchungen eine völlige Wiederherstellung des physiologischen Zustandes dokumentiert werden.

Eine Abgrenzung des Hibernating Myokards zu ischämisch-infarzierten sowie anderen veränderten Gebieten des Herzmuskels ist mit folgenden Untersuchungen möglich, die sich jeweils auf eine bestimmte Fragestellung konzentrieren:

- Nachweis reduzierter kontraktile Funktion bei reduzierter Durchblutung:
  - Positronen-Emissions-Tomographie
  - 201 TI-Szintigraphie nach Redistribution oder Reinjektion
  - 99mTC-Sestamibi-Szintigraphie nach Redistribution oder Reinjektion
- Nachweis erhöhten Stoffwechsels bei reduzierter Durchblutung:
  - Positronen-Emissions-Tomographie (18FDG und 13N oder 15)
- Nachweis der Rekrutierung der inotropen Reserve bei Verschlechterung der metabolischen Situation:
  - Stressechokardiographie (medikamentös durchführbar mit Dobutamin oder Arbutamin) (Afridi, Main et al. 1996, 1 /id).

Mittels des letztgenannten Verfahrens können zudem Erfolge anderer Revaskularisationsverfahren nachgewiesen werden (Erdmann & Riecker 1996, 22 /id).

## **1.4 Anfänge der Revaskularisationsverfahren**

Das im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchte Verfahren zählt zu den indirekten Revaskularisationsverfahren. Im Folgenden werden die Hintergründe sowie die morphologischen Aspekte beschrieben, auf denen die Überlegungen für die im vorliegenden Fall beschriebene transmyokardiale Laserrevaskularisation, kurz TMLR genannt, basieren. Sie sind vielfältig und beruhen zum Teil auf Grundlagen, die schon vor ca. 300 Jahren erforscht wurden.

### **1.4.1 Grundlagen der Blutversorgung des Herzens**

Unter physiologischen Bedingungen wird das menschliche Herz durch die zwei Koronararterien versorgt. Zusätzlich gibt es noch vier weitere Versorgungswege, die beim gesunden Herzen eine untergeordnete Rolle einnehmen:



- Anastomosen mit extrakardialen Arterien
- blind endende Kanäle von der Kammerlichtung zum Myokard
- Diffusion von der Kammerlichtung her
- koronaro-ventrikuläre Anastomosen.

*Anastomosen mit extrakardialen Arterien:*

Sie existieren in Form von extrakardialen Arterien mit einer epikardialen Koronararterie und sind das Vorbild für die Bypass-Operationen. Zu diesen Anastomosen gehören zum Beispiel die vorderen mediastinalen, die phrenischen sowie die interkostalen Aortenäste. Es handelt sich um relativ kleine, im Normalfall hämodynamisch unwirksame Anastomosen.

*Blind endenden Kanäle von der Kammerlichtung zum Myokard:*

Sie stellen Entwicklungsrudimente dar und haben keine nennenswerte funktionelle Bedeutung mehr.

*Diffusion von der Kammerlichtung her:*

Während der Embryonalentwicklung durchläuft das Herz beim Menschen wie auch bei Tieren ein frühes spongiöses Stadium. Diese spongiösen Strukturen, die die innere Myokardschicht bilden, persistieren bei kleinen Amphibien und Reptilien. Dabei ragen feine, reich verzweigte Muskelsepten in das Ventrikelkavum hinein und werden vom umgebenden Blut durch Diffusion versorgt. Zusätzlich besitzen sie auch eine äußere kompakte Myokardschicht, die über Koronararterien versorgt wird. Das Verhältnis von äußerer zu innerer Schicht beträgt ca. 1:12. Dieses verschiebt sich bei größeren Reptilien hin zu einer kompakteren äußeren Schicht (Kohmoto, Argenziano, et al. 1997, 38 /id).

Die spongiösen Strukturen und die Sinusoide bilden sich normalerweise bei höheren Säugetieren zurück. Tritt bei einem Menschen ein Myokardinfarkt auf, so wird immer noch eine ungefähr 0,1 mm subendokardiale Schicht durch Diffusion vom Ventrikellumen her versorgt. Bei bestimmten angeborenen Herzfehlern können spongiöse Strukturen und Sinusoide in großem Umfang weiter persistieren, und Verbindungen zum Koronarsystem aufnehmen die zur Durchblutung des Herzes beitragen. Lenox und Briner beschrieben dies bei einem

Kind mit Pulmonalatresie bei intaktem Ventrikelseptum und Aplasie der Hauptstämme der Koronarien (Lenox & Briner 1972, 46 /id), (Lauer, Fink et al. 1964, 45 /id).

*Koronaro-ventrikuläre Anastomosen:*

Es handelt sich hierbei um kleine kanalikuläre Verbindungen, die den Ventrikel mit dem koronararteriellen System verbinden. Diese Verbindungswege sind Teil des physiologischen Aufbaus von Myokard und Koronarsystem mit individuell unterschiedlichen Ausprägungsformen.

In Anlehnung an diese physiologischen Verbindungen wird mit Hilfe der TMLR versucht, Blut einen Weg aus der Ventrikellichtung ins Myokardgewebe zu bahnen.

Diese Anastomosen werden je nach Erscheinungsart weiter unterteilt in:

- *Arterio-ventrikuläre Anastomosen:* Diese wurden von Wearn (Wearn, Mettier et al. 1933, 83 /id) in Abhängigkeit von ihrer Mündungsart ins Ventrikellumen, entweder über kleine Sinus oder über Lichtungen am Endokard, weiter unterteilt in arterio-sinusoidale und arterio-luminale Gefäße.
- *Veno-ventrikuläre Anastomosen:* Diese, auch als Thebesische Venen bezeichnet, sind die am längsten bekannten Verbindungswege, die mit Kapillaren in Verbindung stehen und untereinander anastomosieren. Das venöse Blut der Koronarien fließt nicht vollständig über den Koronarsinus ab, sondern teilweise über diesen Verbindungsweg direkt in das Ventrikellumen (beim Hund kann dieser Anteil bis zu 40% betragen).
- *Kapillaro-ventrikuläre Anastomosen:* Sie verbinden Kapillaren innerer Wandschichten direkt mit dem Ventrikel.

Bislang ist noch unklar, ob der durch die oben genannten Versorgungswege zustande kommende Blutfluss vom Ventrikellumen in das Koronarsystem oder direkt in das Myokard überhaupt von großer Bedeutung ist. Wearn konnte allerdings bei schwerer Artherosklerose eine Zunahme des Kollateralkreislaufes beobachten, der teilweise die Blutversorgung eines ischämischen Myokardareals übernahm (Wearn, Mettier et al. 1933, 83 /id).

### 1.4.2 Anfänge der Revaskularisation

Beck führte im Jahre 1935 nach zahlreichen experimentellen Untersuchungen einen der ersten Versuche zur indirekten Revaskularisation des ischämischen Myokards durch. Dabei versuchte er, durch Fixierung eines muskulären Schwenklappens (Muskulus pectoralis) am Epikard eine Kapillareinsprossung in das ischämische Gebiet zu stimulieren. Diese sogenannte Kardio-Myopexie konnte sich im klinischen Alltag nicht durchsetzen (Beck 1935, 6 /id), (Beck, Tichy et al. 1935, 7 /id).

Nachdem Vineberg und Miller 1951 erstmals die Implantation der Arteria mammaria interna in das Epikard durchführten, fand diese weltweite Verbreitung, zumal angiographisch eine Kapillareinsprossung in das Myokard zu sehen war (Vineberg & Miller 1951, 80 /id).

1965 wurde von Sen die Möglichkeit einer Revaskularisation mittels transmuralen Kanälen, ähnlich dem Modell der Reptilienherzen, aufgegriffen. Zunächst wurden im Tierversuch mittels einer Nadel feine, transmurale Kanäle in das Myokard gestochen, um eine Blutversorgung in ischämischem Gewebe zu erzeugen (Sen, Udwadia et al. 1965, 77 /id). Diesen Versuch führte Sen 1967 am Menschen durch, wobei er eine Verbesserung der pectangiösen Beschwerden operierter Patienten feststellte (Sen, Daultram et al. 1968, 76 /id).

Die Methode der indirekten Revaskularisation geriet mit der Einführung sowie den großen Erfolgen der direkten Revaskularisation in Vergessenheit. Als Anfang der 80er Jahre Lasersysteme Einzug in die Medizin fanden, waren Mirhosheini und Cayton die ersten, die sich der indirekten Revaskularisation erinnerten und in Anlehnung daran die transmyokardiale Laserrevaskularisation einführten. 1983 wurden erstmals einem Menschen transmurale Kanäle mittels eines Lasers in das Myokard „geschossen“.

## **1.5 Versuchsvorhaben und Fragestellung der TMLR am Schweineherz**

Die bisherigen Ergebnisse über die Effektivität und den Erfolg der TMLR werden in der Literatur sehr kontrovers beschrieben. Die durchgeführten Studien waren von klinischer oder tierexperimenteller Art. Bei den klinischen Studien war das Patientengut bezüglich der Anzahl und der Eignung für dieses Therapieverfahren sehr eingeschränkt. Zudem befanden sich alle Patienten im Endstadium der koronaren Herzkrankheit. Die bei diesen Patienten durchgeführte TMLR war meistens erfolgreich im Sinne einer subjektiven Besserung der Beschwerden sowie einer Verbesserung der Lebensqualität.

Die in der Literatur beschriebenen Versuche am Tier sind sehr zahlreich und sehr unterschiedlich bezüglich der untersuchten Tierarten, vom Kaninchen über Hunde bis zum Schwein.

Eine große Bandbreite gibt es auch hinsichtlich des Versuchsvorhabens. Dieses reicht von der Behandlung eines akuten Verschlusses einer Koronararterie mit anschließender Lasertherapie bis hin zur Revaskularisation eines chronisch ischämischen Myokards.

In Fall vorliegender Arbeit fiel die Entscheidung auf das Schwein als Versuchstier, da das Schweineherzen dem menschlichen Herzen bzgl. des Aufbaus und der Reaktion auf einen akuten Verschluss eines Koronarastes am ähnlichsten ist. In der Untersuchung sollte ergründet werden, was sich bei einem akuten Verschluss einer Koronarie am physiologischen, nicht ischämisch vorgeschädigten Myokard ereignet. Dieses Myokardareal sollte mit Hilfe des Lasers indirekt revaskularisiert werden, durch transmyokardial geschaffene Kanäle. Während des gesamten Versuches sollte über Messungen die Veränderung der Gewebedurchblutung bestimmt werden. Zum einen direkt mit Hilfe eines Laser-Dopplers, zum anderen indirekt durch den Sauerstoffpartialdruck des Gewebes oder durch Kontrastmittelanreicherung im Echo. Ziel des Versuches war, den Kurzzeiteffekt der TMLR auf ein akut ischämisches Myokard zu bestimmen, um darauf aufbauend die Methode zu etablieren und weiter ausbauen zu können.

Zusätzlich wurden die Herzen nach dem Versuch entnommen und histologisch untersucht. Dazu wurde dem Tier kurz vor dem Entnehmen des Herzens ein

---

Fluorescein-Farbstoff in ein großes Gefäß (Vena jugularis interna) injiziert. Nach Eintritt einer Gelbfärbung wurde es entnommen und gekühlt. Anschließend wurde das Herz in Tranchen von 4 - 5 mm Dicke geschnitten, von der Herzspitze bis zur Basis, und unter UV-Licht photographiert. Dabei zeigte sich das gesunde Gewebe hell leuchtend und das ischämische Gewebe, die Area of Risk (Region, die durch die Ligatur des Koronarastes nicht durchblutet wurde), dunkel. Anschließend wurden die Tranchen in „Nitrobluetetrazoliumchlorid“-Lösung (NBT-Lösung) eingelegt. Dies sollte, durch einen enzymatischen Umbauprozess bedingt, nekrotisches Gewebe aufzeigen. Nachdem diese Tranchen ebenfalls photographiert waren, konnten die beiden Flächen verglichen werden: Die Area of Risk, die eine Ischämie zeigte, mit der Nekrosefläche (nach NBT-Lösung). Eine Verkleinerung der Nekrosefläche sollte den Erfolg der Therapie nachweisen. In einigen Fällen zeigte sich eine optisch signifikante Verkleinerung der Nekrosefläche nach TMLR. Aufgrund der wenig standardisierten Durchführung und der großen Schwankungsbreite mehrerer Faktoren sind die Ergebnisse jedoch statistisch nicht gesichert und wenig aussagekräftig, so dass sie nicht in die Studie aufgenommen wurden.

## 2. Methodik

### 2.1 Versuchsvorhaben

Die Fragestellung im vorliegenden Versuch bezog sich auf messbare Veränderungen der Mikrozirkulation sowie der Funktion des Myokards nach einer Revaskularisation mittels eines Lasers in einem durch uns provozierten ischämischen Gebiet des Herzmuskels (herbeigeführt mittels Ligatur eines Astes der LAD).

Das Versuchstier wurde entsprechend den Standards einer Operation am Menschen behandelt und operiert. Intubation, Beatmung und Analgesie sowie Monitoring der Vitalparameter unter Bestimmung von Herzzeitvolumen, Blutgasanalyse, Sauerstoffpartialdruck und Ein- und Ausfuhrkontrolle entsprachen dabei höchsten Ansprüchen.

Die Versuchstiere wurden in Kontrollgruppe und Interventionsgruppe aufgeteilt. Bei allen Versuchstieren wurde ein Koronarast durch eine Ligatur unterbunden. Bei der Kontrollgruppe wurde dieser Zustand belassen, bei der Interventionsgruppe erfolgte nach 30 min die Laserung des ischämischen Areals. Zeitgleich wurden je nach Versuchsgruppe, d.h. Kontroll- oder Interventionsgruppe, verschiedene Messungen vor, während und nach der Okklusion sowie nach der Lasertherapie vorgenommen:

- Messungen mit einem *Laser-Doppler* zur Bestimmung der Mikrozirkulation des gesunden und des ischämisch infarzierten Myokardgewebes.
- Messungen des *Sauerstoffpartialdrucks (PO<sub>2</sub>)* direkt auf der Oberfläche des Herzmuskels als zusätzlichen Parameter zur Beurteilung der Mikrozirkulation.
- *Echokardiographische Messung*, bei der mit Hilfe von Microbubbles die Durchblutung im ischämischen und gesunden Gewebe gemessen werden konnte. Mittels des Echo konnte zudem die Wandmotilität des untersuchten Myokardareals beurteilt werden.

## **2.2 Das Schwein als Versuchsmodell**

Für die vorliegenden Untersuchungen fiel die Entscheidung auf das Schwein als Versuchstier. Das Schwein war im Hinblick auf Anatomie sowie Pathophysiologie ein geeignetes, geradezu prädestiniertes Tiermodell für die zu untersuchende Fragestellung. Versuchsergebnisse aus Untersuchungen lassen sich aufgrund der entwicklungsgeschichtlichen Ähnlichkeit ohne Probleme auf den Menschen übertragen.

Die Durchführung eines derartigen Tierversuches ist genehmigungspflichtig. Die Genehmigung wurde durch das Regierungspräsidium Gießen nach gründlicher Prüfung erteilt.

Als Versuchstiere wurden Schweine der Rasse Deutsches Landschwein herangezogen, die als besonders unempfindlich gegenüber Stress und Krankheiten gilt. Die Versuchstiere, kastrierte Eber sowie weibliche Tiere, stammten vom universitätseigenen Versuchsgut Oberer Hardthof und hatten alle ein Gewicht von 20-35 kg. Die Gesamtzahl der Tiere belief sich auf 39 Stück.

## **2.3 Versuchsaufbau und Ablauf**

### **2.3.1 Aufbau und Prämedikation mit Vorbereitung des Versuchstieres**

Die Tiere wurden einige Tage vorher vom Versuchsgut Oberer Hardthof in das Physiologische Institut, in dem die Versuche durchgeführt wurden, angeliefert. Damit konnten sie sich an die neue Umgebung gewöhnen und waren so vor dem Versuch völlig stressfrei.

Am Morgen des jeweiligen Versuchstages wurde im Tier-OP alles für den Versuch vorbereitet. Die Prämedikation in Form von 4 mg/kg KG Azaperon® (Stresnil® Fa. Janssen) sowie 5 mg/kg KG Midazolam® (Dormicum® Fa. Roche) wurde in einer Spritze aufzogen. Anschließend wurden die Tiere im Stall aufgesucht, um ein Tier für den Versuch auszuwählen. An die mit Sedativum aufgezogene Injektionsspritze wurde ein Schlauch mit einer Kanüle befestigt, um die i.m. Injektion besser im Bereich der gut durchbluteten Nackenmuskulatur verabreichen zu können.

Bis zum Eintritt der Wirkung der Prämedikation wurde das Tier 20-25 min alleine gelassen, so dass es sich wieder beruhigen und einschlafen konnte.

Das Tier wurde im Anschluss daran mit Seife und warmen Wasser gewaschen, am ventralen Thorax rasiert (dem späteren OP-Gebiet sowie den Ableitungsstellen für das EKG) und mit einem Handtuch abgetrocknet.

Für den Transport des Tieres wurde ein Rollcontainer verwendet, mit dem es vom Tierstall in den OP gefahren wurde.

### **2.3.2 Narkoseeinleitung**

Im OP wurden dem sedierten Schwein mehrere großlumige Venenverweilkanülen in periphere Venen der Ohren gelegt, die für die nachfolgenden Infusionen sowie die i.v. Narkose nötig waren.

Das Tier wurde auf dem OP-Tisch in Rückenlage fixiert. Für die Überwachung der Herzaktionen wurde ein EKG angebracht, des Weiteren eine separate EKG-Ableitung für die späteren Messungen mit dem Echo-Gerät. Zusätzlich fixierten wir ein Pulsoximeter zur Messung der Sauerstoffsättigung am Gaumen des Tieres.

Es folgte die Einleitung der Narkose. Nach Verabreichung von 0,2 mg Fentanyl® (Fa. Janssen) und einer kurzen Wartezeit bis zum Eintritt der Wirkung des Medikamentes, das Schmerzfreiheit bewirkte, konnte die Tracheotomie zum Einbringen des Tubus für die Beatmung durchgeführt werden. Eine Intubation war aufgrund der anatomischen Verhältnisse des Schweinrachens schwierig und riskant, so dass die Tracheotomie hierfür die Methode der Wahl war. Es wurde ein 8 mm Beatmungstubus eingebracht, geblockt und die richtige Lage mittels Auskultation überprüft. Der Tubus wurde an die Beatmungsmaschine (Engstöm 300) angeschlossen, das Beatmungsgas enthielt 30-40% Sauerstoff und 10-20% Lachgas. Das Atemminutenvolumen betrug 5 Liter, das Atemzugvolumen 500 ml, bei 5 mm Hg positiv endexpiratorischem Druck und einem inspiratorischen Spitzendruck von 20 mm Hg.

Für einen kontinuierlichen Spiegel an i.v. Narkose sorgten zwei Perfusoren, einer mit 10 mg/kg KG /h Ketamin (Ketanest®, Fa. Parke-Davis), einer mit 0,2 mg/kg KG/h Midazolam (Dormicum®, Fa. Roche) (Wegmann, Jensen et al. 1990, 84 /id). Um den arteriellen Druck blutig messen zu können, legten wir in die Arteria polplitea einen arteriellen Katheder, der zur Überwachung der Narkose an den



Überwachungsmonitor der Firma Siemens® angeschlossen wurde. Über diesen Zugang konnten des Weiteren arterielle Blutgasanalysen durchgeführt werden.

Anschließend legten wir ultraschallgesteuert einen zentralenvenösen Katheter in die Vena jugularis interna.

Abschließend wurde ebenfalls ultraschallgesteuert, ein suprapubischen Blasenkatheder zur Flüssigkeitsbilanzierung, gelegt.

### **2.3.3 Durchführung der OP**

Die Eingriffe und Interventionen sowie die Messungen wurden alle am offenen schlagenden Herzen vorgenommen.

Dazu wurde eine mediane Sternotomie mit Hautschnitt vom Jugulum bis Xiphoid durchgeführt. Es folgte eine scharfe, teils stumpfe Präparation bis zum Sternum. Dieses wurde mit einer kräftigen Schere gespalten. Anschließend erfolgte eine gründliche Blutstillung mittels Elektrokoagulation und das Öffnen des Thorax mit einem Spreizer.

Das sichtbare Perikard mit dem durchscheinenden schlagenden Herz eröffneten wir längs und fixierten es mit dicken Nähten am Thorax, wodurch das Herz aus der Tiefe des Thoraxraumes nach oben gezogen wurde und wir später leichter arbeiten konnten. Am zweiten Diagonalast des Ramus descendens anterior sollte die spätere Ligatur angebracht werden, um eine akute Ischämie des Myokards hervorzurufen.

In den ersten Versuchen wurde die LAD langstreckig abgebunden, was zur Folge hatte, dass die Tiere einen zu großen Infarkt mit Rhythmusstörungen entwickelten und trotz massiver Intervention mit Medikamenten und elektrischer Rhythmisierung verstarben.

## **2.4 Durchführung der Messungen sowie der Intervention mit dem Laser**

### **2.4.1 Anzahl der Tiere und Aufteilung in die Gruppen**

Die Gesamtzahl der Tiere im vorliegenden Versuch betrug 39. Es wurden zwei randomisierte Gruppen gebildet. Die Interventionsgruppe, bei der eine Laserung des Myokards durchgeführt wurde, umfasste 22 Tiere, die Kontrollgruppe mit Okklusion des Seitenastes der LAD ohne Laserbehandlung bestand aus 12 Tieren. Fünf Tiere verstarben während der Narkoseeinleitung oder an therapierefraktären Herzrhythmusstörungen während der OP, der Okklusion oder der Laserbehandlung und konnten so nicht in die Auswertung einbezogen werden. Die Einteilung der Tiere in die einzelnen Gruppen erfolgte jeweils am Tag des Versuchs nach dem Zufallsprinzip.

### **2.4.2 Messungen und Intervention mit dem Laser**

Im Rahmen der Vorbereitung der Messungen wurden die verschiedenen Messgeräte aufgebaut und vorbereitet und die Sauerstoffsonde für einen späteren sofortigen Einsatz geeicht. Die beiden Messelektroden des Laser-Doppler wurden auf das Myokard genäht, eine für das spätere Interventionsgebiet, die andere auf ein nach Okklusion noch normal durchblutetes (gesundes) Myokardgewebe für einen direkten Vergleich der Durchblutung.

Anschließend erfolgten die ersten Messungen mit den verschiedenen Geräten, um die Ausgangsmesswerte vor der Intervention zu erhalten.

Nach Abschluss der ersten Messungen wurde der Diagonalast der LAD ligiert. Das nicht mehr perfundierte Myokardgewebe ließ sich nach kurzer Zeit durch livide Verfärbung gut gegenüber dem gesunden Gewebe abgrenzen.

Bisherige Untersuchungen weisen darauf hin, dass bei einer Reperfusion eines ischämischen Myokardgewebes nach ca. 30 Minuten eine nahezu vollständige Erholung des Myokardgewebes erfolgt (Klein, Pich et al. 1998, 37 /id). Bei der Interventionsgruppe erfolgte deshalb nach 30 Minuten die Laserung des ischämischen Gewebes. Hierzu wurden in das ischämische Gewebe, das sich gut vom gesunden Gewebe abgrenzen ließ, ca. 20+/-5 Laserlöcher geschossen. Die

Fläche betrug ungefähr 10-13 cm<sup>2</sup>, das heißt die Dichte betrug 1-2 Kanäle pro cm<sup>2</sup>. Mit Hilfe des Echo konnte gezeigt werden, dass der Laser das Myokard vollständig perforierte, indem sich im Ventrikelkavum kleine echodichte Bläschen oder Bubbles darstellten.

Beim Laser-Doppler, dem Echo sowie der PO<sub>2</sub>-Messung erfolgten die Messungen im Anschluss an die Okklusion, nach der durchgeführten Laserung und mehr als eine Stunde nach der Laserung. Die Messungen erfolgten jeweils über mehrere Minuten, um den Verlauf der Mikrozirkulation im Gewebe genauer zu erfassen. Die Daten wurden bei der Auswertung zu einem Durchschnittswert verrechnet.

Bei der Kontrollgruppe wurden die beschriebenen Messungen analog durchgeführt, jedoch ohne die Messung nach der Laserung.

## **2.5 Die Messgeräte**

Neben dem Laser-Doppler waren noch zwei weitere Messverfahren im Einsatz, mit denen eine Mikrozirkulation im Myokard bestimmt werden kann.

Zum einen wurde der Sauerstoffpartialdruck im Gewebe gemessen, zum anderen konnte mit Hilfe des Kontrastechos die Perfusion im Gewebe bestimmt werden.

### **2.5.1 Messung des Sauerstoffpartialdruckes**

Mit der Bestimmung des Sauerstoffpartialdruckes im Gewebe kann ein direkter Rückschluss auf die Durchblutung des Gewebes gezogen werden. In der Physiologie wird dieses Verfahren seit langem eingesetzt.

Das Prinzip beruht auf der elektrochemischen Reduktion von Sauerstoffmolekülen an der Oberfläche einer Platinelektrode. Der durch die Elektrode fließende Strom ist proportional zur Anzahl der pro Zeitintervall reduzierten Sauerstoffmoleküle. Die an die Elektrode angelegte Spannung ist weitgehend unabhängig vom Stromfluss. Ein wichtiger Faktor bei der Messung des Stromes ist hingegen die Art und Stärke des Membranmaterials, das zum Überzug der Elektroden verwendet wurde.

Vor jeder Messung muss die Ableitelektrode kalibriert werden. Hierfür wurden zwei Eichgase mit unterschiedlichem Sauerstoffpartialdruck durch ein Wasserbad mit 37° C geleitet und gemessen.

Im vorliegenden Versuch wurde eine Mehrdraht-Oberflächen-Elektrode nach Kessler und Lübbers verwendet (Clark, Wolf et al. 1953, 14 /id), (Clark 1956, 15

/id), (Boekstegers, Fleckenstein et al. 1988, 8 /id), (Luebbers 1977, 49 /id). Diese von Clark entwickelte Elektrode besteht aus acht Platindrachtchen, kreisrund angeordnet im Abstand von einem Millimeter. Durch die Messung von acht Einzelwerten ergeben sich genauere Werte, Messfehler werden minimiert. Auf der Elektrodenoberfläche wurde eine gasdurchlässige Membran angebracht als Schutz vor Verunreinigungen, die die Messergebnisse verfälschen könnten. Die abgeleiteten Signale wurden über einen Analog-Digital-Wandler einem Computer zugeführt und ausgewertet. Dabei konnten sowohl kontinuierliche Messungen durchgeführt als auch Verteilungshistogramme der verschiedenen Gruppen von Partialdrücken erstellt werden.

Zur Validierung dieser Messmethode wurden im Vorfeld umfangreiche Untersuchungen durchgeführt, die einen engen Zusammenhang zwischen dem oberflächlich gemessenen Sauerstoffpartialdruck und dem Druck in tiefer liegenden Gewebeschichten aufzeigten. Die Aussagekraft dieser Messmethode über die Mikrozirkulation und den Sauerstoffpartialdruck des Myokardgewebes wurde dadurch bestätigt und validiert.

### **2.5.2 Kontrastmitteluntersuchung mittels Echo**

Für diese Messung wurde uns ein Echogerät neuesten Standards der Firma Hewlett-Packard zur Verfügung gestellt. Zu unseren Untersuchungen zählte die Beurteilung der Wandbeweglichkeit (Wall motion) der linken Ventrikelwand im Querschnitt. Des Weiteren wollten wir die Durchblutung des Myokards, ihr Verhalten und die Veränderungen messen, die sich bei Okklusion mit oder ohne nachfolgender TMLR einstellten. Verwendet wurde dazu ein echodichtes Kontrastmittel (Levovist® der Firma Schering), das über einen zentralen Zugang des Tieres am Hals injiziert wurde. So ließ sich die Anflutung, die Dichte im untersuchten Ventrikelquerschnitt sowie die Auswaschzeit messen und mit den verschiedenen Zeitpunkten vor Okklusion, nach Okklusion und nach TMLR vergleichen. Die Mikrozirkulation des Myokards im Querschnitt ließ sich hervorragend messen. Am Gerät konnten nachfolgend die auf Festplatte gespeicherten Daten ausgewertet werden und die Durchblutung in verschiedenen Schichttiefen getrennt voneinander bestimmt werden.

### 2.5.3 Methodik der transmyokardialen Laserrevaskularisation

Die Behandlung mittels eines Lasers ist die bisher einzige Methode zur transmyokardialen Revaskularisation, für die ein mittel- bis langfristiger positiver Effekt nachgewiesen werden konnte. Weltweit sind hierfür vier Laserarten im Einsatz: Der hochenergetische CO<sub>2</sub>-Laser, der Holmium-YAG- bzw. Neodym-YAG-Laser und, wie in unserem Fall, der Xenon-Chlorid-Excimer-Laser. Die Laser sind alle gepulst, jedoch unterscheiden sie sich hinsichtlich Pulsfrequenz, Pulslänge und der Energie des Einzelpulses. Der Excimer-Laser hat eine variable Pulsfrequenz von bis zu 40 Hz, eine Pulsenergie von 20 mJ bis 5 J bei einer sehr kurzen Pulslänge von 150 ns. Der Thermoschaden am Gewebe ist bei diesem Laser im Vergleich zu den anderen Laserarten am geringsten und reicht weniger als 50 µm in das Gewebe hinein. Beim Xenon-Chlorid-Excimer-Laser wird die Lichtenergie durch ein flexibles Glasfaserkabel an den Einsatzort geleitet.

Im Gegensatz zur mechanischen Punktion des Gewebes mit einer Nadel (Walter, Hundeshagen et al. 1971, 82 /id) kommt es beim Bohren mit dem Laserstrahl zu zusätzlichen Effekten: Zum einen kommt es durch die genau definierte Druckwelle zu einem mechanischen Schaden. Zusätzlich entsteht, abhängig von der Laserquelle, ein Thermoefekt.

#### *Laser-induzierte Stoßwellen:*

Die Stoßwellen, erzeugt durch die Druckamplitude des Laserschusses, durchbrechen die Wand des Schusskanals und öffnen sinusoidale Verbindungen oder kapilläre Strukturen, die zu einer Perfusion des Gewebes in unmittelbarer Umgebung des Kanals führt.

#### *Laser-induzierter Thermoschaden:*

Der Laserpuls führt zu einer hitzebedingten Nekrose an der Wand des Kanals. Das Ausmaß und die Tiefe der Nekrose hängt, wie oben beschrieben, vom Lasertyp ab. Durch die Nekrose, die im Grunde eine Brandnarbe darstellt, wird über lokale Gewebshypoxie eine Neoangiogenese des Gewebes induziert.

Beide Wirkmechanismen tragen höchstwahrscheinlich zu den positiven Effekten der TMLR bei, die bislang in der Literatur beschrieben wurden.

## **2.6 Methodik der Messung der Mikrozirkulation mit dem Laser-Doppler**

### **2.6.1 Grundlagen des Laser-Dopplers**

Der Doppler-Effekt (Christian Doppler 1803-1852) beschreibt in der Physik eine Frequenzverschiebung, die entsteht, wenn ein feststehender Beobachter Wellen eines relativ zu ihm bewegten Erregers empfängt. Ein Beispiel aus dem täglichen Leben soll dies verdeutlichen: Wenn wir auf der Straße stehen und ein schnell fahrendes Auto nähert sich uns, so wird die Frequenz höher, je näher das Auto kommt, hat seinen höchsten Punkt beim Vorbeifahren und wird sofort wieder niedriger beim Entfernen. Derselbe Effekt entsteht beim Auftreffen einer Lichtwelle auf bewegte Teilchen (z.B. korpuskuläre Blutbestandteile wie Erythrozyten) in Haut und Muskulatur. Dabei tritt die Lichtwelle in Wechselwirkung mit den bewegten Teilchen und erfährt eine Frequenzverschiebung, welche sich als Farbänderung messen lässt. Die Frequenz ist dabei direkt abhängig von der Geschwindigkeit. Im Falle des Laser-Doppler-Spektroskops wird Laserlicht eingesetzt, um Bewegungen im Körper sichtbar zu machen.

Die Grundlagen zur Messung des Blutflusses im Gewebe auf der Basis des Laser-Doppler-Effekts bei an den Erythrozyten gestreuten Laserlichts wurden vor über 20 Jahren erarbeitet (Bonner & Nossal 1981, 9 /id). Am Messprinzip und an der Datenauswertung hat sich seither nur wenig geändert. Weitere Forschungen folgten jedoch zum besseren Verständnis über die Ausbreitung des Laserlichts in verschiedenen Geweben sowie in Verbindung mit der Berechnung und experimentellen Bestimmungen der optischen Eigenschaften der Gewebearten in Abhängigkeit von der Wellenlänge des eingestrahlten Lichts mit dem Ziel einer Optimierung dieser Methode. Für die Laser-Doppler-Messung steht die maximale Eindringtiefe ins Gewebe in direktem Zusammenhang mit der Auswahl der verwendeten Laserwellenlänge. Darüber hinaus konnten die Detektorabstände zur lichtemittierenden Laserdiode für eine optimale Tiefeninformation des Gewebes bestimmt werden (Hülser, Ott et al. 1993, 32 /id).

### 2.6.2 Beschreibung des Laser-Doppler

Bei dem Laser-Doppler-System des OptoFlow™ handelt es sich um ein nicht invasives Diagnoseverfahren zur simultanen Messung eines relativen Blutflusswertes in verschiedenen Gewebetiefen.



**Abb. 2.1:** OptoFlow™ zur Messung der Hautdurchblutung

Mit Hilfe des Laserlichtes ist es dabei möglich, Bewegungen im menschlichen Körper darzustellen (Muskelbewegungen sowie Bewegungen der korpuskulären Blutbestandteile, insbesondere der Erythrozyten

Ziel der Laser-Doppler-Flussmessung ist die Messung der Geschwindigkeit von bewegten korpuskulären Teilchen. Der Laser-Doppler misst dabei alle fließenden Teilchen oder Zellen, neben Erythrozyten (99%) auch Leukozyten und andere Blutbestandteile. Der Vorteil des Laser-Dopplers gegenüber Ultraschall-Doppler-Geräten liegt in der sehr genauen Messung der Kapillardurchblutung sowie der Blutflussmessung auch bei langsam fließenden (Blutbestand) -Teilchen. Die Ultraschall-Geräte liefern unter diesen Bedingungen unzuverlässige, wenig aussagekräftige Werte. Der OptoFlow™ schließt diese Messlücke mit einem nicht invasiven und schmerzlosen Verfahren.

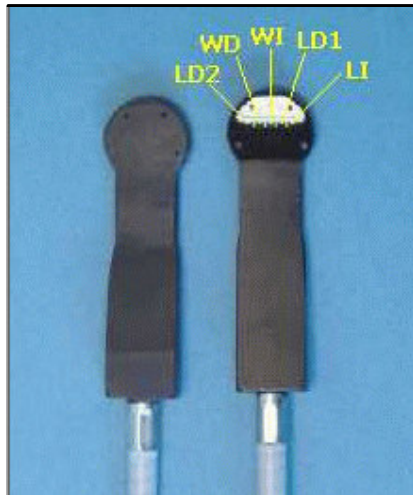
### 2.6.3 Messsonde und Glasfaserbox

Der in unserem Versuch verwendete Laser-Doppler ist ein Produkt der Firma LEA Medizintechnik GmbH (Gießen/Pirna). Diese hat in Zusammenarbeit mit dem Institut für Lasertechnologien in der Medizin (ILM) speziell für diesen Versuch eine tiefenselektive Flachsonde entwickelt. Die Flachsonde ist kreisrund, misst ca. 1 cm

im Durchmesser, ist ungefähr 1 mm dick und aufgrund der Verwendung eines dünnen Glasfaserkabels extrem flexibel, was für unsere Zwecke von Vorteil war.

Flachsonden wurden bisher nur für experimentelle Zwecke verwendet und sind durch das Medizinproduktegesetz noch nicht zugelassen. Die für den medizinischen Bereich zugelassene OptoFlow™-Sonde ist ungefähr so groß wie eine herkömmliche Ultraschall-Doppler-Sonde, mit der die Durchblutung an der Hautoberfläche gemessen wird. Für unsere Zwecke war OptoFlow™-Sonde jedoch nicht geeignet, da die Messung am offenen schlagenden Herzen zu ungenau und mit erheblichen Messfehlern verbunden gewesen wäre.

Der Aufbau der Flachsonde ist der folgenden Abbildung dargestellt.



**Abb. 2.2: Sonde des Laser-Doppler**



**Abb. 2.3: Sonde im Größenvergleich**

Beschreibung der Sonde:	LI	Austrittsöffnung für den Laser
	LD1	Detektionskanal für die oberflächennahe Laser-Doppler-Messung
	LD2	Detektionskanal für die oberflächenfernen Schichten der Laser-Doppler-Messung
	WI	Austrittsöffnung für das Weißlicht
	WD1	Detektionskanal für die oberflächennahe Weißlichtspektrometrie
	WD2	Detektionskanal für die Weißlichtspektrometrie in größeren Messtiefen

Das Weißlicht mit den Detektionskanälen ist für Sauerstoffpartialmessungen vorgesehen



Die Laserdiode des OptoFlow™ emittiert Licht mit einer Wellenlänge von 820 nm bei einer Laserleistung von 30 mW. Aufgrund der besonders hohen Kohärenzlänge der Laserdiode sind Messungen auch in großen Gewebetiefen möglich.

<b>Lasermesskopf</b>	
<b>Laser</b>	Diode
<b>Wellenlänge</b>	820 nm
<b>Kerndurchmesser</b>	400 µm
<b>Strahlendivergenz</b>	14°
<b>Impulsdauer</b>	kontinuierlich
<b>Leistung (opt.)</b>	15 mW
<b>Leistung (theor.)</b>	30 mW

**Abb. 2.4: Technische Daten des Lasermesskopfes**

Die Laserdiode besteht aus einer Illuminationsfaser, über die infrarotes Laserlicht in das zu untersuchende Gewebe eingekoppelt wird. Seitlich dieser Faser befinden sich im Abstand von je einem Millimeter vier Detektionsfasern, über die das aus dem Gewebe zur Sonde zurückgestreute Licht wieder aufgefangen wird. Die Photodiode sowie die vier Empfangsdioden sind in einer separat vom Hauptgerät befindlichen Glasfaserbox untergebracht. Dies hat den Vorteil, dass Artefakte durch die Signalübertragung unterdrückt werden und ein optimales Signal-zu-Rausch-Verhältnis zustande kommt. Über die Glasfaserbox werden die empfangenen Lichtsignale so weit verarbeitet, dass sie störungsfrei zum Hauptgerät weitergeführt werden können. Die Dopplerfrequenzen werden anschließend im Hauptgerät durch heterodyne Lichtschwebungstechnik vom Trägersignal extrahiert, das heißt, dass alle Lichtsignale, die aus dem Gewebe zurückgestreut werden und keine Wechselwirkung mit bewegten Teilchen (Erythrozyten) hatten, unterdrückt werden. Mit Hilfe dieser Technik lassen sich folglich Bewegungssignale genau detektieren.

Der Lichtstrahl der Laserdiode wird bei der Flachsonde über einen Umlenkspiegel in das Gewebe eingekoppelt, wodurch eine extrem flache Bauweise der Sonde möglich ist, was ihren Vorteil für diesen Versuch begründet.

Am Rand der Sonde befinden sich Befestigungslöcher, mit Hilfe derer die Sonde während des Versuchs genau auf das später ischämische bzw. gesunde Myokardareal fixiert werden konnte. Das zu messende Areal demarkierte sich ca. fünf Minuten nach Ligatur des Koronargefäßes.

#### **2.6.4 Messmethode des OptoFlow™**

Dieses Messverfahren beruht, wie in Kapitel 2.6.1 beschrieben, auf dem optischen Doppler-Effekt. Laserlicht, das an bewegten Teilchen gestreut wird, erfährt eine Frequenzverschiebung. Diese ist proportional zur Geschwindigkeit der Teilchen. Aus der Frequenzverschiebung sind somit Rückschlüsse auf die Geschwindigkeit und die relative Anzahl der Teilchen möglich.

Das Photonendiffusionsmodell geht vom korpuskulären Charakter des Lichtes aus. Mit dessen Hilfe lässt sich die optische Absorption und Streuung von Photonen im menschlichen Körper beschreiben. Es erklärt die Interaktionen im Gewebe als Stoßprozesse zwischen Streuzentren und Photonen. Photonen werden hiernach entweder elastisch ohne Energieverlust reflektiert oder durch Gewebebestandteile absorbiert. Streuungsprozesse ereignen sich häufiger und bevorzugt in Vorwärtsrichtung. Die Absorption des Lichts ist bei einer Wellenlänge zwischen 600 nm und 1200 nm am geringsten, so dass das Licht tief ins Gewebe eindringen kann. Experimentelle und theoretische Untersuchungen ergaben eine schalenförmige halbkugelige Ausbreitungsform des Lichts im Gewebe. Die Anordnung der Photodioden im Messkopf bestimmt die Detektionstiefe des Laser-Dopplers im Gewebe.

#### **2.6.5 Blut-Fluss-Analyse (BFA) mit dem Laser-Doppler**

Die Daten für die Blut-Fluss-Analyse stehen erst nach einer Fast-Fourier-Transformation zur Weiterverarbeitung zur Verfügung. Für eine Auswertung der Laser-Doppler-Daten in der Darstellungsart „Blood-Flow-Analysis“ müssen diese vorher in kEPS (kilo Emphasis of Power Spectra) umgerechnet werden. Das Berechnungsverfahren ermittelt den Schwerpunkt des Spektrums und gibt die Frequenz der Koordinate, auf der sich der Schwerpunkt befindet, an.

Mit dem Laser-Doppler ist es möglich, den Blutfluss direkt von der Oberfläche aus in verschiedenen Gewebetiefen zu messen und diesen im Zeitverlauf

aufzuzeichnen. Die aufgenommenen Werte werden in der Einheit kEPS gemessen. Es handelt sich hierbei zwar um keine SI-Einheit im eigentlichen Sinne mit quantitativem Aussagewert, die Werte ermöglichen aber einen semiquantitativen Vergleich von verschiedenen Perfusionszuständen im selben Gewebeareal.

Die Glasfaserbox des Laser-Doppler enthält acht unabhängige, unterschiedlich tiefenselektive Kanäle. Kanal 1 misst am oberflächlichsten, Kanal 8 am tiefsten. Die Eindringtiefe und somit die Messtiefe des Lasers hängt stark von den optischen Eigenschaften des Gewebes ab und beträgt maximal 20 mm. Die optischen Eigenschaften des Gewebes hängen wiederum ab vom Messort, der Gewebeart und auch dem Alter des Patienten. Die einzelnen Kanäle messen in einem Abstand von 1,5 mm bis 2 mm. Zu jedem Kanal gehört eine eigene Verstärkerstufe, eine Analog-Digitalwandlerstufe sowie ein separater Digital-Analogumsetzer. Aufgrund der baulichen Beschränkung der Messsonde konnten im vorliegenden Versuch nur die ersten vier Kanäle zur Detektion verwendet werden. Für die über die einzelnen Kanäle empfangenen Signale lassen sich die in Tab. 2.1 aufgeführten Richtwerte für die Eindringtiefen formulieren, wobei sie ggfs. im Einzelfall nachkonfiguriert werden müssen.

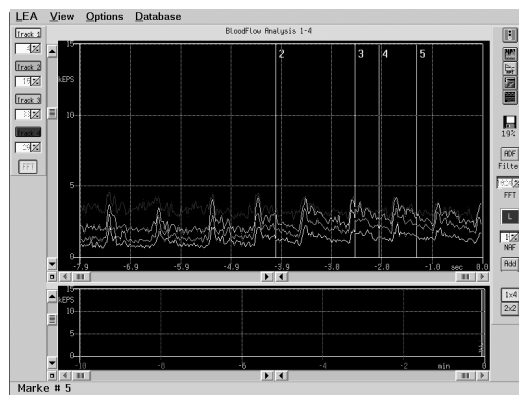
**Tab. 2.1: Eindringtiefen des Laser-Doppler bei Messungen der Hautdurchblutung**

Kanal	→	Verstärkung	→	Eindringtiefe
1		1		1,5 - 2 mm
2		3		3,0 - 4 mm
3		5		4,5 - 6 mm
4		7		6,5 - 8 mm

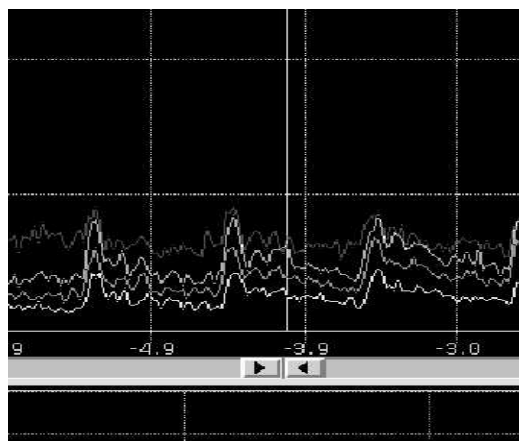
Die Wandlerrate des OptoFlow™ beträgt 50 Hz bei einer Datenbreite von 16 Bit und einer Echtzeit von 512/1024 Punkten. Die bei der Untersuchung verwendete Blockgröße von 1024 bedeutet, dass alle 30 ms ein Messwert aufgenommen wird und entspricht einem Maß für die zeitliche Auflösung.

Bei den Messungen zur Durchblutung des Gewebes sowie zur Untersuchung der Flussgeschwindigkeit des Blutes wurde die Darstellungsart „Blood-Flow-Analysis“ (BFA) verwendet. Dabei werden auf dem Monitor gleichzeitig zwei Diagramme mit unterschiedlichen Zeitachsen abgebildet, die den Blutfluss in Echtzeit sowie als Mittelwert mehrerer beliebig wählbarer Zeiteinheiten darstellt. Auf der Abszisse wird die Zeit aufgetragen, auf der Ordinate der Wert für die Höhe des Blutflusses angegeben in der Einheit kEPS (kilo Emphasis of Power Spectra).

Folgende Abbildungen verdeutlichen dies:



**Abb. 2.5:** Display von der „Blood-Flow-Analysis“. Im oberen Teil sind die Werte in Echtzeit aufgezeichnet, im unteren Abschnitt sind die Durchschnittswerte aufgezeichnet. Die Aufzeichnung umfasst in der Regel alle Wert je Versuchstier und Tag bzw. Untersuchung.



**Abb. 2.6:** Ausschnitt von Abb. 2.5 mit der Blood-Flow-Analysis der Kanäle 1-4 des OptoFlow™

Die in kEPS dargestellten Spektren werden mittels einer Formel berechnet. Der dabei ermittelte Schwerpunkt des Datenspektrums wird mit der dazugehörenden Frequenz auf der Koordinate abgebildet. Dadurch lassen sich die Informationen über den Blutfluss in verschiedenen Tiefen von Gewebearealen im Zeitverlauf ermitteln und darstellen (Kanal 1=rot, Kanal 2=hellblau, Kanal 3=grün, Kanal 4=gelb).

Wie oben erwähnt, werden keine quantitativen Absolutwerte erzeugt. Mit der semiquantitativen Einheit kEPS lassen sich jedoch Perfusionszustände zu unterschiedlichen Zeitpunkten in demselben Gewebeareal vergleichen. Die Datenaufnahme mit der Blockgröße 1024 führt in relativ kurzer Zeit zu erheblichen Datenmengen, die zur weiteren Auswertung komprimiert werden, um sie anschließend zur statistischen Ausarbeitung zum Beispiel in eine Excel-Tabelle importieren zu können.

### **2.6.6 Messparameter**

Die nach der Fast-Fourier-Transformation (FFT) umgewandelten Messwerte können auf unterschiedliche Weise am Hauptgerät analysiert und dargestellt werden. Neben der Blood-Flow-Analysis stehen die Frequency-Time-Domain (FTD) sowie die Average-Power-Spektren (APS) zur Verfügung.

In der Darstellungsart FTD wird die Frequenzverteilung des Dopplersignals über die Zeitachse (x-Achse) aufgetragen. Die Frequenzanteile werden als Amplitude über der Zeit entsprechend ihrer Signalintensität als Farbe in bis zu 96 Farbstufen auf der y-Achse codiert dargestellt.

Die detaillierteste Auswertung bietet die APS. Hier kann das Powerspektrum für jeden Kanal getrennt dargestellt und bezüglich seiner Amplituden- und Frequenzanteile analysiert werden.

Im vorliegenden Versuch beschränkten wir uns auf die Blood-Flow-Analysis (BFA). Die Datenmenge konnte bei dieser Darstellungsart geringer gehalten werden und war dadurch besser auszuwerten. Auf die Qualität der Versuchsergebnisse hatte dies keinerlei Einfluss.

### 2.6.7 Messungen am Schweineherzen

Wie in den vorangegangenen Kapiteln bereits beschrieben, ist es mit dem Laser-Doppler möglich, die Durchblutung und Mikrozirkulation eines Gewebeareals nicht invasiv direkt von der Oberfläche aus in mehreren Tiefen zu messen. Eine Messsonde wurde in unmittelbarer Nachbarschaft des Koronargefäßes angeheftet das später ligiert wurde. Die Erfahrungswerte vorhergehender Versuche nach Ligatur eines Koronargefäßes zeigten, dass die Sonde mitten im ischämischen Gebiet zu liegen kam. Eine zweite Messsonde sollte zeitgleich Daten von gesundem Myokardgewebe aufnehmen. Sie wurde in einiger Entfernung zum späteren ischämischen Gebiet angebracht, um von Störeinflüssen, die nach der Okklusion in unmittelbarer Nachbarschaft des ligierten Gefäßes auftraten, nicht beeinflusst zu werden. Nachdem die Sonden angenäht waren, musste vor jedem Versuch eine Kalibrierung der Sonden vorgenommen werden, um Überlagerungen und Störgrößen für eine exakte Messung zu unterdrücken.

In der Versuchsvorbereitung wurden fixe Messpunkte für die Durchführung der Messungen festgelegt. Von beiden Sonden wurden die Signale von jeweils vier Kanälen zeitgleich aufgenommen.

Die erste Messphase wurde nach Eröffnung des Thorax und der Herzfreilegung durchgeführt und stellte den Ausgangsbefund dar. Die Zeitspanne betrug zwischen 2 und 5 Minuten.

Die zweite Messphase wurde nach der Ligatur des zweiten Astes des Ramus descendens anterior durchgeführt.

Die dritte Messphase erfolgte nach Abschluss der Laserung bis ca. 1 Stunde nach Laserung.

Die vierte und letzte Phase erfolgte mehr als eine Stunde nach Laserung und dauerte fünf Minuten.

Die Daten der Messungen wurden auf eine MOD (Magnetical optical disc) gespeichert, um nachfolgend am Computer ausgewertet zu werden. Im Rahmen der Auswertung wurden die Werte zusammengefasst und zu einem Messwert gemittelt, um so Schwankungen der Durchblutung auszuschalten.

## **2.7 Ende des Versuchs**

Nach Abschluss der oben beschriebenen Eingriffe sowie der Messungen über die Mikrozirkulation des behandelten Myokards wurde das Tier für 12 +/- 2 Stunden weiterbeatmet und in Narkose belassen. Dieser Zeitraum war nötig, um den endgültigen Nekroseanteil des ischämischen Myokardgewebes in der histologischen Aufarbeitung bestimmen zu können. Anschließend wurde, wie in Kapitel 1.5 beschrieben, dem Versuchstier der Fluoroszeinfarbstoff injiziert und es anschließend aus dem Versuch genommen. Die Histologie wurde aus den in Kapitel 1.5 genannten Gründen nicht in die Ergebnisse aufgenommen.

### **3. Ergebnisse der Laser-Dopplermessungen: Mikrozirkulation vor und nach Okklusion sowie nach Lasertherapie**

#### **3.1 Einleitung**

Bei den 34 auswertbaren Schweinen wurde die Mikrozirkulation vor Okklusion und bis 40 Minuten nach Okklusion gemessen. 22 der 34 Schweine wurden nach der zweiten Messung 30 Minuten nach Okklusion gelasert (= Interventionsgruppe). 12 der Schweine wurden keiner weiteren Therapie unterzogen (= Kontrollgruppe). Für beide Kollektive (d.h. für gelaserte Schweine und Schweine ohne weitere Therapie) wurde des Weiteren die Mikrozirkulation im zeitlichen Abstand bis eine Stunde nach Lasertherapie sowie mehr als eine Stunde nach Laserbehandlung untersucht.

Alle Messungen wurden im Ischämiegebiet und im gesunden Gewebe durchgeführt. Die Daten, die in die Analyse eingingen, stellen die Mittelwerte aus den Messungen des ersten und zweiten Kanals dar. Die Werte von Kanal 3 und 4 flossen aufgrund erheblicher Artefakte nicht in das Ergebnis ein.

#### **3.2 Statistische Methoden**

In einem ersten Schritt wurden die Daten mit Hilfe der explorativen Datenanalyse untersucht. Diese beinhaltet ein Datencleaning, das insbesondere die Ausreißer in den Messreihen untersucht. Nach Abschluss des Datencleanings wurde das Kollektiv der 34 Schweine in drei Gruppen klassifiziert:

- 1.) Die erste Gruppe beinhaltet die Schweine, die bei der Baseline einen Wert kleiner als 3000 aufwiesen. Diese Gruppe liefert auch für die folgenden Messungen keine sinnvollen Ergebnisse, und es muss von Fehlern bei der experimentellen Durchführung ausgegangen werden. Diese Messreihen werden deshalb von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Die Anzahl der aus diesem Grund ausgeschlossenen Tiere beträgt  $n = 9$ . Davon gehören 8 Schweine zur Gruppe der gelaserten Tiere.



Der Stichprobenumfang reduziert sich dadurch bei den gelaserten Schweinen bzw. der Interventionsgruppe auf  $n = 14$ , bei der Kontrollgruppe auf  $n = 11$ .

Die verbleibenden 14 Schweine der Interventionsgruppe gliedern sich weiter in zwei Untergruppen:

2. a) Tiere, bei denen nach Lasertherapie ein Anstieg der Mikrozirkulation beobachtet wurde ( $n = 5$ ), im Folgenden „Laserguppe 1“ genannt.
  2. b) Tiere, bei denen nach Lasertherapie ein weiteres Absinken der Mikrozirkulation beobachtet wurde ( $n = 9$ ), im Folgenden als „Laserguppe 2“ bezeichnet.
- 3.) Tiere der Kontrollgruppe ( $n = 11$ ).

Sämtliche Messdaten des Laser-Dopplers werden nach Zeitpunkt und Gebiet der Messung in den Kapiteln 3.3 bis 3.6 sowohl in tabellarischer als auch in graphischer Form dargestellt. Als Lagemaße werden dabei der Mittelwert und der Median angegeben. Der Median bezeichnet den Wert des Datensatzes, unter dem 50% aller Fälle liegen (50%-Quartil). Als Maße für die Streuung sind die Standardabweichung sowie das 25% und 75%-Quartil angegeben. Die Definition dieser Quartile ist analog der des Medians.

Der Anpassungstest auf Normalverteilung wurde mit dem Kolmogoroff-Smirnoff-Test mit Lilliefors Korrektur durchgeführt. Da die Voraussetzungen der Normalverteilung nicht erfüllt waren, wurden stets nichtparametrische Testverfahren angewandt.

Für den Vergleich der Messdaten zwischen der Kontrollgruppe und der jeweiligen Laserguppe wurde der nichtparametrische Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben verwendet.

Um zu prüfen, ob sich im zeitlichen Verlauf Veränderungen der Mikrozirkulation innerhalb einer Untersuchungsgruppe ergeben haben, wurde der nichtparametrische Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben durchgeführt.

Das Signifikanzniveau dieser Studie liegt bei einem Wert von  $p < 0,05$ . Die statistische Auswertung erfolgte mit der SPSS Version 10. (Sachs 1997, 73 /id).

### 3.3 Einfluss der Lasertherapie im Ischämiegebiet: Lasergruppe 1

**Tab. 3.1: Deskriptive Darstellung der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet im zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 1.**

Ischämiegebiet							
	Kontrollgruppe			Lasergruppe 1			p
	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	
Vor Okklusion	4678,3 ± 1452,6	4967,4 [3404 ; 6046]	11	4393,3 ± 1378,8	3881,9 [3188 ; 5855]	5	p=0,827
20-30 Minuten nach Okklusion	3376,4 ± 779,0*	3253,9 [2742 ; 3687]*	11	3149,0 ± 1471,3*	2857,9 [1761 ; 4683]*	5	p=0,661
bis 1 Stunde nach Laserung	3208,5 ± 733,1	3152,7 [2623 ; 3891]	11	3205,7 ± 1301,7	2797,8 [2141 ; 4475]	5	p=0,995
> 1 Stunde nach Laser	3299,8 ± 927,9	3166,5 [2729 ; 3899]	10	3720,2 ± 1812,3	2707,6 [2341 ; 5605]	5	p=0,953

**Tab. 3.2: Prozentuale Veränderungsrate der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet gegenüber dem Ausgangswert vor Okklusion im zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 1.**

Ischämiegebiet							
	Kontrollgruppe			Lasergruppe 1			p
	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	
Vor Okklusion	100%	100%	11	100%	100%	5	
20-30 Minuten nach Okklusion	75,6% ± 15,2%*	77% [60% ; 89%]*	11	70,4% ± 20,0%*	76% [50% ; 88%]*	5	p=0,661
bis 1 Stunde nach Laserung	71,3% ± 13,8%	70% [60% ; 87%]	11	73,2% ± 20,2%	83% [53% ; 89%]	5	p=0,827
> 1 Stunde nach Laser	75,4% ± 19,9%	76,5% [62% ; 92%]	10	82,4% ± 20,7%	79% [68% ; 99%]	5	p=0,371

Hinweise zu Tab. 3.1 und 3.2:

„p“ = Signifikanzniveau des Mann-Whitney-U-Test für den Vergleich zwischen den Gruppen zum jeweiligen Zeitpunkt.

\* bezeichnet einen signifikanten Unterschied innerhalb einer Gruppe gegenüber dem vorangegangenen Messzeitpunkt.

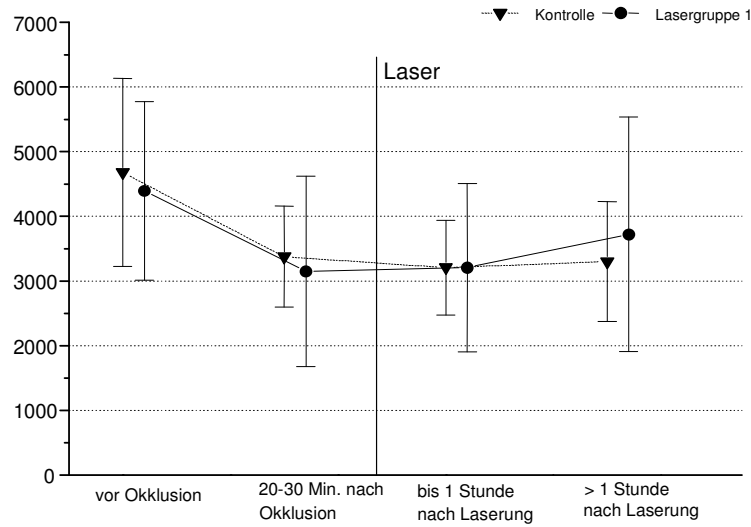
In Tabelle 3.1 und 3.2 sind die Ergebnisse der Laser-Doppler-Daten im Ischämiegebiet aufgeführt, gruppiert nach Messzeitpunkten und Untersuchungsgruppen (Interventionsgruppe bzw. Lasergruppe 1 und Kontrollgruppe). Wird zunächst nur die Lasergruppe 1 betrachtet, kommt es *nach der Okklusion* des Gefäßes zu einem Abfall der Durchblutung bzw. der Mikrozirkulation im betroffenen Gebiet auf Mittelwerte von  $70,4\% \pm 20,2\%$  des Ausgangswertes. *Nach der Laserung* ist ein Anstieg der Durchblutung festzustellen, der sich bis zur Messung *mehr als eine Stunde nach Laserung* fortgesetzt hat auf einen Mittelwert von  $82,4\% \pm 20,7\%$  des Ausgangswertes. Der Ausgangsmesswert wurde zwar nicht mehr erreicht, trotzdem ließ sich nach der Laserung (TMLR) ein signifikanter Anstieg der Durchblutung im zuvor ischämischen Myokardgebiet messen.

Im Gegensatz dazu zeigt der Verlauf der Durchblutung bei der Kontrollgruppe *nach der Okklusion des Gefäßes (mehr als eine Stunde nach Okklusion)* ohne nachfolgende Laserung eine stetig weiter abfallende Mikrozirkulation auf einen Mittelwert von  $75,4\% \pm 19,9\%$  des Ausgangswertes

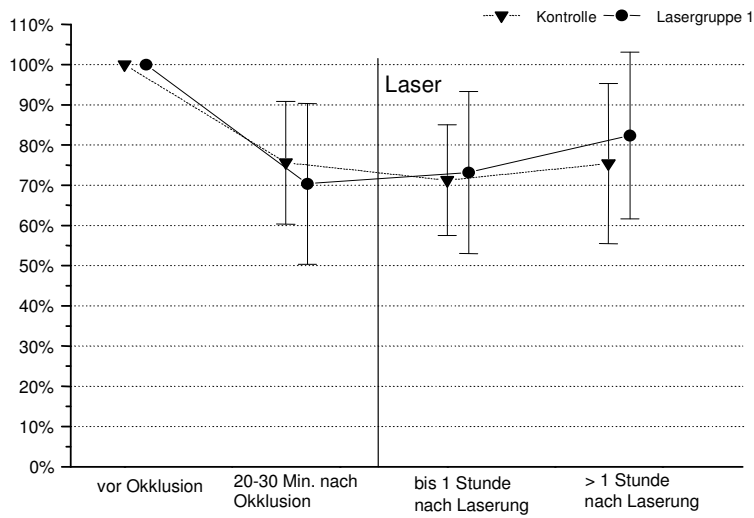
Obwohl für beide Gruppen deskriptiv ein tendenzieller Unterschied der Messwerte der Mikrozirkulation nach Laserung festzustellen ist, ergeben sich mit dem Mann-Whitney-U-Test keine signifikanten Unterschiede zu den jeweiligen Messzeitpunkten. Ein Grund hierfür liegt sicher im geringen Stichprobenumfang der Lasergruppe 1 ( $n = 5$ ).

Innerhalb der Gruppen ergeben sich nach Durchführung des Wilcoxon-Tests lediglich signifikante Unterschiede zwischen den Zeitpunkten vor und nach Okklusion (siehe \*).

Die nachfolgenden Abbildungen zeigen die Werte in Diagrammform.



**Abb. 3.1:** Zeitlicher Verlauf der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet (Lasergruppe 1)



**Abb. 3.2:** Zeitlicher Verlauf der prozentualen Veränderungsrate der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet gegenüber dem Ausgangswert vor Okklusion (Lasergruppe 1)

### 3.4 Einfluss der Lasertherapie im Ischämiegebiet: Lasergruppe 2

**Tab. 3.3: Deskriptive Darstellung der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet im zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 2.**

Ischämiegebiet							
	Kontrollgruppe			Lasergruppe 2			p
	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	
Vor Okklusion	4678,3 ± 1452,6	4967,4 [3404 ; 6046]	11	4850,4 ± 1158	5031,4 [4115 ; 5572]	9	p=0,999
20.30 Minuten nach Okklusion	3376,4 ± 779,0*	3253,9 [2742 ; 3687]*	11	3983,2 ± 989,1*	4242,6 [3059 ; 4790]*	9	p=0,175
bis 1 Stunde nach Laserung	3208,5 ± 733,1	3152,7 [2623 ; 3891]	11	3222,4 ± 1100,4*	3150,1 [2159 ; 4246]*	8	p=0,904
> 1 Stunde nach Laser	3299,8 ± 927,9	3166,5 [2729 ; 3899]	10	2552,4 ± 1018,8	2166,1 [1662 ; 3636]	5	p=0,165

**Tab. 3.4: Prozentuale Veränderungsrate der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet gegenüber dem Ausgangswert vor Okklusion im zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 2.**

Ischämiegebiet							
	Kontrollgruppe			Lasergruppe 2			p
	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	
Vor Okklusion	100%	100%	11	100%	100%	9	
20-30 Minuten nach Okklusion	75,6% ± 15,2%*	77,0% [60% ; 89%]*	11	82,8% ± 10,1%*	84% [77% ; 90%]*	9	p=0,456
bis 1 Stunde nach Laserung	71,3% ± 13,8%	70,0% [60% ; 87%]	11	67,5% ± 15,8%*	68% [52% ; 83%]*	8	p=0,600
> 1 Stunde nach Laser	75,4% ± 19,9%	76,5% [62% ; 92%]	10	56,0% ± 10,7%	53% [47% ; 67%]	5	p=0,075

Hinweis zu Tab. 3.3 und 3.4:

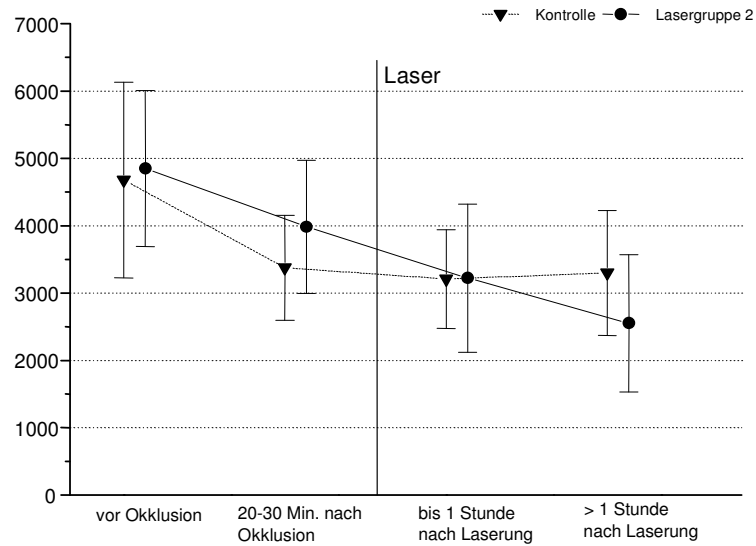
„p“ = Signifikanzniveau des Mann-Whitney-U-Test für den Vergleich zwischen den Gruppen zum jeweiligen Zeitpunkt.

\* bezeichnet einen signifikanten Unterschied innerhalb einer Gruppe gegenüber dem vorangegangenen Zeitpunkt der Messung.

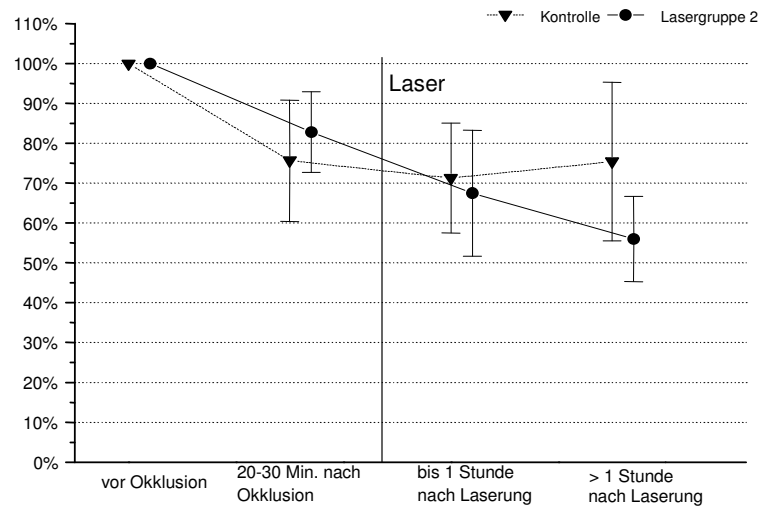
Wieder ist deskriptiv ein tendenzieller Unterschied der Mikrozirkulation zwischen der beiden Gruppen nach der Laserung festzustellen. Für die Lasergruppe 2 ist jedoch ein weiterer Abwärtstrend *nach der Laserung* hinsichtlich der Mikrozirkulation zu beobachten. Trotzdem ergeben sich mit dem Mann-Whitney-U-Test keine signifikanten Unterschiede zu den korrespondierenden Messzeitpunkten der Kontrollgruppe. Eine Begründung ist der mit  $n = 5$  geringe Stichprobenumfang in der Lasergruppe 2 zum Messzeitpunkt *mehr als eine Stunde nach Laserung*. Das Signifikanzniveau zu diesem Zeitpunkt liegt mit  $p=0,075$  auch nur knapp an der Grenze zur Signifikanz.

Innerhalb der Kontrollgruppe ergeben sich nach Durchführung des Wilcoxon-Tests lediglich signifikante Unterschiede zwischen den Zeitpunkten *vor und nach Okklusion* (siehe „\*“). In der Lasergruppe 2 ergibt sich zusätzlich ein signifikanter Unterschied zwischen den Messzeitpunkten *20-30 Minuten nach Okklusion* und *mehr als eine Stunde nach Laserung*.

Fazit: Die Lasergruppe 2 kann die bei der Lasergruppe 1 festgestellten positiven Ergebnisse bzgl. der Mikrozirkulation nach Laserung nicht bestätigen. Es kommt nach der Intervention mit dem Laser zu keinem Wiederanstieg der Durchblutung des betroffenen Gebietes. Die Mikrozirkulation stagniert und bleibt auf dem Niveau von vor der Laserung. Die Gründe für dieses Ergebnis liegen zum einen sicher am geringen Stichprobenumfang. Andererseits ist davon auszugehen, dass hierfür weitere Faktoren eine Rolle spielen. Erheblichen Einfluss auf die Mikrozirkulation des Gewebes haben insbesondere die Viskosität, die Blutgerinnung und der Blutdruck.



**Abb.3.3** Zeitlicher Verlauf der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet (Lasergruppe 2)



**Abb. 3.4:** Zeitlicher Verlauf der prozentualen Veränderungsrate der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet gegenüber dem Ausgangswert vor Okklusion (Lasergruppe 2)

### 3.5 Mikrozirkulation im gesunden Gewebe: Lasergruppe 1

**Tab. 3.5: Deskriptive Darstellung der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet im zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 1.**

Ischämiegebiet							
	Kontrollgruppe			Lasergruppe 1			p
	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	
Vor Okklusion	4282,1 ± 1281,1	4352,5 [3406 ; 4953]	9	4046,9 ± 1060,5	3920,6 [3103 ; 5117]	4	p=0,999
20 30 Minuten nach Okklusion	4091,6 ± 1021	4513 [2968 ; 4621]	11	4000,1 ± 1230,9	4503,9 [2597 ; 4899]	3	p=0,885
bis 1 Stunde nach Laserung	4793,7 ± 851,3	4639,2 [4167 ; 5257]	6	3961,1 ± 1135,1	3852,7 [2965 ; 5066]	4	p=0,171
> 1 Stunde nach Laser	3799,8 ± 802	3864,3 [3399 ; 4422]	9	3998,3 ± 644,8	4288,9 [3381 ; 4470]	5	p=0,699

**Tab. 3.6: Prozentuale Veränderungsrate der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet gegenüber dem Ausgangswert vor Okklusion im zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 1.**

Ischämiegebiet							
	Kontrollgruppe			Lasergruppe 1			p
	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	
Vor Okklusion	100%	100%	9	100%	100%	4	
20 30 Minuten nach Okklusion	97,9% ± 12,0%	100% [93% ; 107%]	9	97,5% ± 16,3%	97,5% [86% ; 109%]	2	p=0,909
bis eine Stunde nach Laserung	97,4% ± 20,9%	92% [81% ; 117%]	5	94,3% ± 24,4%	89% [73% ; 121%]	3	p=0,786
> 1 Stunde nach Laser	97,5% ± 38,3%	84,5% [76% ; 109%]	8	99,0% ± 20,3%	91,5% [85% ; 121%]	4	p=0,461



Im gesunden Gewebe ergeben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Messwerten der beiden Gruppen zu den einzelnen Messzeitpunkten. Auch innerhalb der Gruppen ergeben sich keine signifikanten Unterschiede im zeitlichen Verlauf der Messungen.

Aufgrund der gleichförmigen Ergebnisse wird auf eine graphische Darstellung verzichtet.

Die Ergebnisse entsprechen unseren dahingehenden Erwartungen, dass es zu keiner signifikanten Veränderung der Mikrozirkulation im gesunden Myokardgewebe nach der Okklusion und der Intervention im benachbarten ischämischen Myokardgewebe kommt.

Diese für Lasergruppe 1 gemachten Feststellungen treffen auch für Lasergruppe 2 zu, wie die im nachfolgenden Kapitel 3.6 aufgeführten Ergebnisse zeigen.

### 3.6 Mikrozirkulation im gesunden Gewebe: Lasergruppe 2

**Tab. 3.7: Deskriptive Darstellung der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet im zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 2.**

Ischämiegebiet							
	Kontrollgruppe			Lasergruppe 2			p
	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	
Vor Okklusion	4282,1 ± 1281,1	4352,5 [3406 ; 4953]	9	3700,3 ± 1168,9	3609,6 [2627 ; 4881]	9	p=0,436
20 30 Minuten nach Okklusion	4091,6 ± 1021	4513 [2968 ; 4621]	11	4032,8 ± 1312,6	4316,2 [2727 ; 5220]	8	p=0,840
bis 1 Stunde nach Laserung	4793,7 ± 851,3	4639,2 [4167 ; 5257]	6	3903,5 ± 1526,2	3891 [2397 ; 5453]	8	p=0,491
> 1 Stunde nach Laser	3799,8 ± 802	3864,3 [3399 ; 4422]	9	3114,2 ± 1177,2	3604,9 [1872 ; 4111]	5	p=0,298

**Tab. 3.8: Prozentuale Veränderungsrate aufgrund der Laser-Doppler-Messdaten im Ischämiegebiet gegenüber dem Ausgangswert vor Okklusion im zeitlichen Verlauf: Kontrollgruppe und Lasergruppe 2.**

Ischämiegebiet							
	Kontrollgruppe			Lasergruppe 2			p
	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	MW ± SD	Median [Quartilbereich]	n	
Vor Okklusion	100%	100%	9	100%	100%	9	
20 30 Minuten nach Okklusion	97,9% ± 12,0%	100% [93% ; 107%]	9	106,3% ± 17,8%	106,7 [97% ; 114%]	8	p=0,200
bis 1 Stunde nach Laserung	97,4% ± 20,9%	92% [81% ; 117%]	5	104,4% ± 17,6%	109,5% [96% ; 118%]	8	p=0,435
> 1 Stunde nach Laser	97,5% ± 38,3%	84,5% [76% ; 109%]	8	90,2% ± 20,1%	85% [75% ; 108%]	5	p=0,943

Wie zu erwarten war, zeigten sich im gesunden Gewebe keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Auch innerhalb der Gruppen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede im zeitlichen Verlauf der Messungen.

Fazit: Die Ergebnisse sind wie die der Lasergruppe 1 zu bewerten. Es kommt zu keiner signifikanten Veränderung des wiederum gesunden Myokardgewebes.

## **4. Diskussion**

### **4.1 Diskussion Laser-Doppler**

#### **4.1.1 Diskussion des Laser-Doppler als Methode zur Messung der Mikrozirkulation**

Der Laser-Doppler ist ein neues hochentwickeltes Messgerät zur Messung der Durchblutung im Gewebe. Das Prinzip des Laser-Doppler – wie auch des Ultraschall-Doppler - beruht auf dem Doppler-Effekt (siehe Methodik Kapitel 2.6). Mit Hilfe des Doppler-Prinzips ist es möglich, den Blutfluss in perfundierten Geweben zu messen.

Der Einsatz des Laser-Doppler beschränkt sich bisher auf wenige klinische bzw. tierexperimentelle Studien. Bonner und Nossal waren Anfang der 80er Jahre unter den Ersten, die sich mit Laserlicht als Mittel zur Messung der Gewebedurchblutung befassten und entsprechende Versuche durchführten (Bonner & Nossal 1981, 9 /id).

Die Untersuchung und Weiterentwicklung dieses Ansatzes wurde in den 90er Jahren fortgesetzt. Weitere Forschungen wurden unternommen, insbesondere zur Evaluierung, inwieweit die Messergebnisse mit der tatsächlichen Mikrozirkulation des Gewebes übereinstimmen. Die Schwierigkeiten bei der „Eichung“ des Messgerätes und der Bewertung der Messergebnisse bzgl. ihrer Aussagekraft und Zuverlässigkeit bestanden vor allem darin, die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Laserlichtes sowie die Gewebetiefe zu bestimmen, da die verschiedenen Gewebeschichten beispielsweise der Haut, des Unterhautgewebes und der Muskulatur unterschiedliche Brechungswinkel und Absorptionskoeffizienten aufweisen. Zunächst war es wichtig, eine optimale Wellenlänge des Laserlichtes zu finden, um eine bestmögliche Tiefenwirkung zu erzielen. Mito zeigte in seinem Versuch, dass ein Laser mit der Wellenlänge von 780 nm eine größere Tiefenausleuchtung erreicht als ein Laser mit 632 nm. (Mito, 1992, 60 /id).

In weiteren Forschungen und Versuchsreihen zeigte sich, dass es bei einer Wellenlänge von 820 nm zu einer sehr guten Tiefenausleuchtung kommt. Dies

entspricht auch der Wellenlänge des in vorliegender Arbeit eingesetzten OptoFlow®-Lasers.

Ein wesentlicher Vorteil des Laser-Dopplers gegenüber dem Ultraschall-Doppler ist, dass mit dem Laser-Doppler gleichzeitig Daten in mehreren Messtiefen aufgenommen werden können. Hinzu kommt, dass der Laser-Doppler eine bessere Auflösung aufweist, wodurch die Mikrozirkulation in viel feineren Gefäßen sowie in Gefäßen mit langsamerer Flussgeschwindigkeit gemessen werden kann. Studien zeigten des Weiteren, dass der Laser-Doppler gut mit der gepulsten Duplex-Sonographie verglichen werden kann. So konnte zum Beispiel Weigand eine sehr gute Übereinstimmung bei der Messung einer laminaren gepulsten Strömung mit beiden o.g. Verfahren nachweisen (Weigand & Liepsch, 1997, 85 /id).

Zur Sicherung der Messmethode wurden weitere experimentelle Forschungen an Gehirnen im Tierexperiment durchgeführt. Dabei wurde die Mikrozirkulation eines Gehirnabschnittes mit dem Laser-Doppler gemessen. Zur Validierung der Messwerte wurden dem Tier Farb-Mikrospheres in ein Gehirngefäß injiziert. Anschließend wurde das Tier aus dem Versuch genommen und die Anreicherung der Mikrospheres bestimmt. Die gemessene Anreicherung wurde mit den Messergebnissen des Laser-Dopplers verglichen. Dabei zeigte sich eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse beider Messmethoden (Walter, Bauer et al. 2002, 81 /id).

Der in vorliegender Arbeit verwendete OptoFlow®-Laser basiert auf den Erkenntnissen der bisherigen Untersuchungen. Vor Versuchsbeginn wurde durch verschiedene Versuchsaufbauten der optimale Abstand zwischen der Lichtquelle und den Detektionskanälen bestimmt. Die Tiefenausleuchtung ist mit 820 nm optimal. Die Messsonde kann den Blutfluss in vier Messtiefen und bis maximal 20 mm tief messen. Die für die Messung am Myokard verwendete Flachsonde hat mit 8 mm eine geringere maximale Messtiefe. Diese war jedoch für den Versuch ausreichend, da die Dicke des Myokards der Schweine nur maximal 12 mm beträgt.

#### **4.1.2 Diskussion der Anwendung des Laser-Doppler in vorliegender Arbeit**

Von den 39 Versuchstieren konnten letztlich 25 Tiere in die statistische Auswertung aufgenommen werden, davon gehörten 14 Tiere in die Interventionsgruppe und 11 Tiere in die Kontrollgruppe. Fünf Tiere verstarben zu Beginn des Versuches, bei neun Tieren gab es zu starke Schwankungen der Messwerte, so dass diese nicht in die Auswertung einbezogen wurden.

Die Ergebnisse der Interventionsgruppe zeigten nach der Laserung eines akut ischämisch gewordenen Myokardgebietes zwei unterschiedliche Entwicklungen bezüglich der Mikrozirkulation des gelaserten Gewebes auf: Bei fünf Tieren kam es zu einer Steigerung der Mikrozirkulation, bei neun Tieren war dieser Effekt nicht nachzuweisen und die Durchblutung blieb auf dem Niveau nach Okklusion des Koronargefäßes. Die Ergebnisse der Kontrollgruppe zeigten keine Veränderung der Werte, die Durchblutung blieb nach Okklusion konstant auf dem selben niedrigen Niveau. Bei beiden Versuchsgruppen zeigte sich bei der Untersuchung des gesunden Gewebes keine signifikante Veränderung der Durchblutung, sie blieb auf dem gleichen Niveau wie vor Okklusion.

Auf die Frage, warum von den 34 Tieren, die den Versuch überlebten, nur 25 in die Auswertung kamen, wurde in Kapitel 3.2 bereits kurz eingegangen. Bei den nicht in die Auswertung einbezogenen neun Tieren lag bei der Durchblutung die Baseline der Messwerte unter 3000, wodurch die Auswertung keine sinnvollen Ergebnisse liefern würde. Ursache für diese Abweichungen der Messwerte waren Fehler in der Versuchsdurchführung, die insbesondere bei den ersten Versuchstieren gemacht wurden. So wurde bei Versuchsbeginn zum Beispiel nicht darauf geachtet, dass die Detektoren der Messsonde sensibel auf optische Einstreuungen reagieren, die zum Beispiel von Neonleuchten mit Vorschaltgeräten ausgesandt werden, und dass diese deshalb vor der Messung ausgeschaltet werden sollten. Genauso verhält es sich mit der Tatsache, dass die Sonde vor jeder Messung neu kalibriert werden muss, was bei den ersten Messungen nicht oder nur ungenügend durchgeführt worden war. Weiter war es wichtig, auf den Anpressdruck der Sonde zu achten und dass diese nicht zu straff auf das Myokardgewebe aufgenäht wurde, was Einfluss auf die Durchblutung nahm. Diese Fehler allein oder in Kombination sowie weitere nicht bekannte Faktoren führten

letzlich zu den oben genannten Messfehlern und damit zum Ausschluss der neun Tiere.

Der Laser-Doppler liefert, wie bereits beschrieben, keine absoluten Werte der regionalen Mikrozirkulation. Die Messwerte werden in der Einheit „kilounits per second“ angegeben. Dabei werden alle bewegten Teilchen, in der Hauptsache Erythrozythen, angelotet und gemessen. Durch Auswertung der Messergebnisse und Beurteilung von Veränderungen kann auf die Mikrozirkulation geschlossen und diese dadurch bestimmt werden. Mit dem Laser-Doppler können folglich die Veränderungen der Mikrozirkulation bei einer akuten Ischämie eines Myokardareals sowie nach der Intervention dieses Areals mit dem Laser gemessen werden. Dies bestätigen Erfahrungen und Vergleiche mit anderen Messmethoden (siehe 4.1).

Die drei im Versuch angewandten Messmethoden Laser-Doppler, Kontrast-Echo und PO<sub>2</sub>-Messung zeigten übereinstimmende Ergebnisse bezüglich der Mikrozirkulation des Gewebes. Nach der Okklusion kam es zu einem Abfall der Durchblutung und nach der Laserung zu einem Wiederanstieg der Durchblutung die auch mittels PO<sub>2</sub>-Messung und Kontrast-Echo nachzuweisen war.

Dadurch konnte auch mit vorliegender Untersuchung bestätigt werden, dass der Laser-Doppler zur Messung der Mikrozirkulation im Gewebe geeignet ist.

#### **4.1.3 Diskussion der Ergebnisse des Laser-Doppler**

Die Daten *vor Okklusion* stehen für den Zeitpunkt null, d.h. vor einer Intervention jeglicher Art. Nach der Okklusion fällt die Mikrozirkulation auf einen „Nullpunkt“ ab, d.h. es ist keine Mikrozirkulation mehr messbar, und bleibt konstant auf diesem Wert. Folgt keine Intervention mit dem Laser, bleibt der Wert auf demselben Niveau, ohne signifikante Veränderung.

Nach der Laserung war in der Lasergruppe 1 (n=5) ein signifikanter Anstieg der Durchblutung im vorher ischämischen Gebiet zu verzeichnen. Dieser Wert war auch mehr als eine Stunde nach Laserung auf demselben Niveau, das heißt die Laserung war bei diesen Tieren erfolgreich und hat zur Steigerung der Durchblutung geführt. Diese Ergebnisse bestätigen, dass die Anwendung des Lasers zur Behandlung eines ischämischen Gewebes geeignet sein kann. Hierzu sind weitergehende Forschungen notwendig, insbesondere zur Untersuchung, ob

die verbesserte Mikrozirkulation längere Zeit anhält und ob sie für das Überleben der Zellen ausreicht.

Da die Messung mit einem Laser-Doppler durch die experimentelle Physiologie als valide Methode bestätigt wurde (Walter, Bauer, et al. 2002, 81 /id), (Weigand & Liepsch 1997, 85 /id), reihen sich diese Ergebnisse in die in der Literatur aufgeführten ein (siehe Kapitel 4.4). Der der Verbesserung der Mikrozirkulation zugrundeliegende Wirkmechanismus lässt sich mit dieser Methode allerdings nicht erklären. Da die Durchblutungssteigerung unmittelbar nach der Laserung beginnt, kann die Neoangiogenese als Ursache für die beobachteten positiven Effekte der TMLR ausgeschlossen werden.

Nicht geklärt bleibt die Tatsache, weshalb dieser Effekt nur bei 35% der Versuchstiere festzustellen war. Bei den Tieren der Lasergruppe 2 (n=9) war kein signifikanter Unterschied der Mikrozirkulation vor und nach Laserung festzustellen. Die fehlende Reaktion lässt sich bisher nicht sicher erklären. Hierüber können nur Vermutungen geäußert werden. Unter Umständen hängt die Reaktion der Tiere auf die Laserung mit deren physiologischen und hämodynamischen Eigenschaften zusammen. So ist der Blutdruck von großer Bedeutung für die Offenheit der Kanäle, da bei niedrigem Blutdruck und verringerter Flussgeschwindigkeit des Blutes die Blutgerinnung schneller einsetzt, wodurch die Gefahr besteht, dass die Kanäle kurz nach der TMLR verschlossen werden. Um die Blutgerinnung zu reduzieren, war den Tieren Heparin injiziert worden, wobei die Dosis vom Gewicht und Stoffwechsel der Tiere abhängig war. Es davon auszugehen, dass trotz dieser Anpassung und der Verabreichung in zeitlich gleichem Abstand die einzelnen Tiere unterschiedliche Gerinnungszustände aufwiesen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass bei 35% der Tiere der Interventionsgruppe eine Verbesserung der Durchblutung statistisch abzusichern war und der Nutzen der TMLR nicht rein zufällig entstand. Die erhöhte Durchblutung eines akut ischämischen Myokardareals nach Laserung konnte mit den Ergebnissen der PO<sub>2</sub>-Messungen sowie der Kontrastechokardiographie bestätigt werden.

Bislang hatte keine Forschungsgruppe die Wirkung der TMLR auf das akut ischämische Myokard mit einem Laser-Doppler gemessen. Die von uns angestellte Untersuchung und die dabei gewonnenen Ergebnisse sollten ein Einstieg in die Erforschung dieser interessanten Messmethode sein und weitere



Forschungsgruppen anregen, die Vielzahl der noch offenen Fragen zum Wirkmechanismus der TMLR zu bearbeiten.

## 4.2 Diskussion Laser

Der erste Laser wurde im Jahr 1960 vom amerikanischen Physiker T.H. Maimann entwickelt mit einem Rubinkristall als Kernstück. Ein Jahr später folgte der erste medizinische Einsatz in der Augenheilkunde und drei Jahre später wurde er in der Dermatologie eingesetzt.

Seither folgten rege Forschungen und Experimente, um den Laser als das so genannte Wunderwerkzeug in der Medizin zu etablieren. Wie bereits beschrieben, war es Mirosheni Anfang der 80er Jahre, der einen CO<sub>2</sub>-Laser zur TMLR zunächst am Tier, später am Menschen einsetzte. Damals war dies der mit Abstand stärkste Laser, der mühelos Gewebe durchdringen konnte. Mittlerweile sind weitere Systeme und Laserarten auf dem Markt, die für eine TMLR verwendet werden können.

Unterschieden wird zwischen Infrarot- und Ultraviolett-Lasern. In den infraroten Bereich gehören der häufig eingesetzte CO<sub>2</sub>-Laser, der Holmium-YAG-Laser und der Neodym-YAG-Laser sowie einige andere Lasersysteme (Hartman & Whittaker 1997, 28 /id).

Zur Gruppe der Ultraviolett-Laser gehört der Xenon-Chlorid-Laser oder Excimer-Laser. Dieser kam im vorliegenden Versuch zum Einsatz. Die vom ultravioletten Laserlicht ausgehende Energie ist nahezu identisch der Energie der Kohlenstoffbindungen des organischen Gewebes. Der Laser greift die Kohlenstoffbindungen an und spaltet sie, wodurch ein Kanal im Gewebe, hier speziell Myokardgewebe, entsteht. In anderen organischen Strukturen tritt ein vergleichbarer Effekt auf. Die Energie wird, sobald sie im Ventrikelkavum ankommt, vom dort befindlichen Blut absorbiert, dabei entstehen Gasblasen, auch „Bubbles“ genannt.

Infrarot-Laser zerstören das Gewebe auf eine andere Art. Die Energie wird von im Gewebe befindlichen Flüssigkeiten stärker absorbiert, die Flüssigkeiten heizen sich dadurch so stark auf, dass sie kochen und es nachfolgend zum Zerplatzen der Zellen kommt. Dieser Vorgang bleibt für das umliegende Gewebe nicht ohne Folgen.

Laserlicht verursacht nachfolgend aufgeführte Schäden im Gewebe (Hartman & Whittaker 1997, 28 /id):

Die Laserenergie führt zu

- Schäden durch Druckwellen
- Produktion von freien Radikalen, die imstande sind, Myozyten zu verändern,
- direktem Auftreten von myokardialer Dysfunktion
- thermaler Schädigung.

Die ganze Bandbreite der Schäden, die durch den „Beschuss“ des Gewebes mit einem Laser auftreten können, ist bis heute noch nicht vollständig bekannt. Das Ausmaß der Gewebeschäden hängt ab von der Energie, der Frequenz sowie der Pulsart des Lasers. Energiereiche Laser durchdringen das Gewebe schneller und mit geringeren thermalen Schäden als solche mit weniger Energie. Beim gepulsten Laser kommt es ebenfalls nur zu kleineren Gewebeschäden, da sich das Gewebe im Zeitintervall abkühlen und zum Teil „regenerieren“ kann (falls man dies so nennen kann). Dies wird auch „thermal relaxation“ genannt.

Im vorliegenden Versuch fiel die Entscheidung zugunsten eines Excimer-Lasers. Mit diesem gepulsten hochenergetischen Laser können nach Whittaker und Kohmoto (Whittaker 1997, 88 /id), (Kohmoto, Fisher et al. 1996, 41 /id) Kanäle mit geringerem thermalen Begleitschaden im umliegenden Gewebe erzeugt werden. Nach Mirhoseini wäre der CO<sub>2</sub>-Laser mit seiner ultravioletten Wellenlänge der geeignetste für die TMLR (Mirhoseini & Cayton 1997, 57 /id).

Zwischen den beiden Laserarten, Ultraviolet- und Infrarotlaser, gibt es im Hinblick auf den Durchmesser der Kanäle sowie den Kurzzeiteffekt der Histologie und der etwaigen Offenheit der Kanäle laut Angaben der Literatur keine Unterschiede. Bei beiden Laserarten kommt es nach Beschuss zu entzündlichen Reaktionen im Bereich der Geweberegionen, die durch den Laser beschädigt wurden (Kohmoto, DeRosa et al. 1998, 39 /id), (Spanier, Smith et al. 1997, 78 /id).

**Tab. 4.1: Übersicht über die bisher zur TMLR verwendeten Laser**

Lasertyp	Wellenlänge	Pulslänge	Thermoschaden	Pulsenergie/ Leistung	Pulsfrequenz
Excimer	308 nm	150 ns	<50 $\mu\text{m}$	20 mJ/5 J 0,8 W/25 W	<40 Hz
Nd:YAG	1,44 $\mu\text{m}$	600 $\mu\text{s}$	<350 $\mu\text{m}$	2 J/40 J 10 W/800 W	5 Hz
Ho:YAG	2,08 $\mu\text{m}$	500 $\mu\text{s}$	<300 $\mu\text{m}$	2 J/40 J 10 W/800 W	5 Hz
CO <sub>2</sub>	10,6 $\mu\text{m}$	50 ms	<200 $\mu\text{m}$	40 J 800 W	Einzelschuss

### 4.3 Diskussion TMLR

Als Anfang der 70er Jahre die direkten Revaskularisationsverfahren zur Therapie der medikamentös-therapeutisch ausgereizten koronaren Herzkrankheit mit zunächst vor allem der aortokoronaren Bypass-Operation, später auch der PTCA soweit etabliert waren, gerieten die indirekten Revaskularisationsverfahren (TMLR) in Vergessenheit. Die rapide Verbesserung der medikamentösen Therapie unterstützte diese Entwicklung zusätzlich (Mirhoseini & Cayton 1997, 57 /id).

Die Anzahl der Eingriffe mit den beiden Verfahren zur direkten Revaskularisation bei koronarer Herzkrankheit nahm in den letzten Jahren stetig zu. In Europa wurden 1997 nach dem Bericht des European Heart Institute of the European Academy of Science and Arts 328.073 Bypass-Operationen durchgeführt, die Steigerung betrug 5,9% gegenüber dem Vorjahr mit weiter steigender Tendenz. Die Anzahl der Eingriffe in Deutschland betrug 1.126 Operationen/1.000.000 Einwohner. Europaweit ist dies nach Monaco und Belgien die höchste Zahl. Mit den interventionellen Eingriffen verhielt es sich ähnlich. So wurden in Europa 1997 381.402 PTCA's, davon 220.047 mit Stenteinbringung durchgeführt, wobei hier eine Steigerung von 14,1% gegenüber dem Vorjahr zu verzeichnen war.

Trotz der jährlich häufiger werdenden Eingriffe und der immer besser werdenden medikamentösen Therapie gab es im Jahr 1997 von weltweit 1,5 Mio Menschen, die einen Herzinfarkt erlitten hatten, zwischen 50.000 und 60.000 Patienten, bei denen weder chirurgisch interventionell noch medikamentös eine Therapie möglich war (Ballard, Wood et al. 1997, 4 /id).

Patienten mit terminaler koronarer Herzkrankheit haben in der Regel eine lange Krankheitsgeschichte hinter sich. Oft finden sich in der Vorgeschichte mehrere Herzinfarkte sowie ein oder mehrere chirurgische oder interventionelle Eingriffe. Die antiischämisch medikamentöse Therapie mit Nitraten, Betarezeptorenblockern, Diuretika und ACE-Hemmern ist dabei ebenfalls meist schon am Limit und ausgereizt. Die Patienten sind schwer krank, haben bei geringster Belastung sowie zum Teil in Ruhe starke pectangiöse Beschwerden, die einen negativen Einfluss auf die Lebensqualität haben. Diese Patienten sind in den CCS-Klassen III und IV eingeteilt. Hinzu kommen Funktionseinschränkungen mit herabgesetzter Ejektionsfraktion des Herzmuskels, Herzrhythmusstörungen

und Herzinsuffizienz. Der Gefäßstatus zeigt langstreckige und diffuse Verengungen der Koronargefäße die bis in die Endstrombahn reichen. Alle Faktoren zusammen stellen ein erhebliches Risiko für einen weiteren konventionellen Eingriff zur direkten Revaskularisation dar, so dass diese Patienten als therapierefraktär bezeichnet werden. Haben die Patienten dieses Stadium erreicht, bleibt nur noch die Herztransplantation oder ein indirektes Revaskularisationsverfahren wie zum Beispiel die TMLR. Um für diesen Eingriff in Frage zu kommen, sollen oder müssen bei den Patienten die oben genannten Faktoren vorliegen (Maisch, Funck et al. 1996, 53 /id), (Funck, Rybinski et al. 1997 24 /id), (Nägele, Stubbe et al. 1998, 67 /id), (Moosdorf, Schoebel et al. 1997, 62 /id), (Moosdorf 1997, 63 /id), (Nägele, Kalmar et al. 1997 66 /id), (Krabatsch, Tameur et al. 1998, 44 /id), (Anderson & Gonzales 1998, 3 /id).

In den USA wurden 1998 mehr als 500 Patienten mit der TMLR behandelt, weltweit waren es über 1500.

Die Idee der indirekten Revaskularisation eines ischämischen Myokards ist nicht neu. Sie basiert auf der Physiologie der alternativen Blutversorgung über Sinusoide und Anastomosen (siehe Einleitung, Kapitel 1.4.1). Als Modell wurde die Art und Weise der Blutversorgung des Myokards herangezogen, wie sie bei einigen Reptilienarten vorkommt, wodurch der Begriff der „Reptilealisierung“ des Myokards aufkam. Bevor der Laser entwickelt wurde und für diesen Zweck zur Verfügung stand, war es Sen 1965 sowie 1968, der im Tierversuch mit Hunden das Myokard, nach vorheriger Ligatur eines Koronargefäßes, mit Nadeln und Trokaren perforierte. Es zeigten sich nach 3-8 Wochen offene, mit Blut perfundierte Kanäle ohne Endothelauskleidung. Die Größe des Infarktes war bei den behandelten Herzen gegenüber den nicht behandelten Herzen erheblich kleiner, zudem verstarben ca. 60% weniger Tiere als ohne Punktion (Sen, Udwadia et al. 1965, 77 /id), (Sen, Daultram et al. 1968, 76 /id).

Andere wie Walter (1971) folgten seinem Vorgehen (Walter, Hundeshagen et al. 1971, 82 /id).

Nach diesen Pionierarbeiten war es Mirhoseini Anfang der 80er Jahre (Mirhoseini & Cayton 1981, 56 /id), der sich dieser Methode erinnerte. Die Gründe hierfür wurden oben schon erwähnt, zudem war es jetzt möglich, mit einem Laser transmyokardiale Kanäle zu schaffen. Der Weiterentwicklung dieser Methode der indirekten Revaskularisation nahmen sich seither viele Forschungsteams an. Es

folgten zahlreiche Versuche am Tiermodell, in der Klinik war der Einsatz des Lasers in der Regel mit der Durchführung von Studien verbunden. Die bisherigen Ergebnisse sind in vielerlei Hinsicht erfolgversprechend, insbesondere auch bezüglich einer Verbesserung der Lebensqualität und der Angina Pectoris-Symptomatik der Patienten. Klinisch messbare Parameter wie die Perfusions- sowie Funktionsverbesserung des Myokards werden in der Literatur allerdings widersprüchlich diskutiert. Im Folgenden soll auf die unterschiedlichen Studien sowie die verschiedenen Ergebnisse der einzelnen Versuche eingegangen werden.

#### **4.3.1 Tierexperimentelle Versuche**

Grundsätzlich ist festzuhalten, dass die tierexperimentell gewonnenen Ergebnisse nicht direkt mit den Ergebnissen der klinischen Studien verglichen werden können. Bei den Patienten der klinischen Studien handelt es sich, wie oben beschrieben, um multimorbide Patienten, die eine große Anzahl verschiedener Medikamente einnimmt. Im Gegensatz dazu handelt es sich bei den Tiermodellen um junge gesunde Tiere ohne arteriosklerotische Gefäßveränderungen, somit auch ohne Kollateralkreislaufbildung eines ischämischen Bezirkes.

Die Auswahl des Versuchstieres, ob Hund, Schwein, Schaf oder Ratte, spielt ebenfalls eine wichtige Rolle. Das Schweineherz ist, wie bereits beschrieben, dem menschlichen Herzen am ähnlichsten. Die Blutversorgung des Hundeherzens ist hingegen durch spontan auftretende Kollateralkreisläufe so angelegt, dass der Verschluss eines Gefäßes kompensiert werden kann (Erdmann & Riecker 1996, 22 /id). Die mit Ratten oder Schweinen gewonnenen Daten eines Versuches zur TMLR des Herzens sind am besten auf den Menschen übertragbar. Gute Ergebnisse bei Versuchen mit Hunden oder Schafen lassen hingegen offen, ob diese durch TMLR oder durch schon vorhandene Kollateralgefäße bedingt sind (Lutter, Yoshitake et al. 1998, 52 /id), (Mueller, Tevæarai et al. 1998, 64 /id).

Die Versuche waren in ihrem Aufbau ähnlich: Das Tierkollektiv wurde in zwei Gruppen unterteilt, die Kontrollgruppe und die Interventionsgruppe, bei der die Laserung stattfinden soll. Bei beiden Gruppen wurde ein Koronargefäß von unterschiedlicher Größe komplett oder nahezu komplett verschlossen. Nach einer gewissen Zeit erfolgte bei der Interventionsgruppe der Eingriff. Anschließend

wurden Messungen durchgeführt, wobei diese sich auf die Durchblutung und Mikrozirkulation des Myokards sowie die Funktion und Wandmotilität des Ventrikels bezogen. Am Ende wurden die Herzen histologisch untersucht und aufgearbeitet.

#### **4.3.1.1 Mikrozirkulation und Funktion des Myokards**

Die einzelnen Studien zur Mikrozirkulation und Funktion des Myokards kamen zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen.

Mirohseini und Cayton (1997), die als erste Versuche mit der TMLR durchführten, fassten 1997 ihre Ergebnisse einer Reihe von Versuchen mit Schweinen folgendermaßen zusammen: Nach einer Laserung eines durch Verschluss eines Koronargefäßes ischämisch gewordenen Myokardareals erfolgte eine linksventrikuläre Funktionsverbesserung gegenüber dem Zustand vor einer Intervention. Weiter beobachteten sie bei einem chronisch ischämischen Myokard ungefähr zwei Monate nach einem Gefäßverschluss und nachfolgender TMLR einen signifikanten Anstieg der myokardialen Perfusion bei den gelaserten Tieren. Zusätzliche Untersuchungen zur linksventrikulären Ejektionsfraktion, dem endsystolischen und enddiastolischen Volumen sowie der ventrikulären Füllungsrate stützten die Ergebnisse (Mirhoseini & Cayton 1997, 57 /id).

Okada (1998) kam ebenfalls zu positiven Ergebnissen. Er führte einen Versuch mit Hunden durch, bei denen alle Tiere aus der Kontrollgruppe eine Stunde nach Gefäßverschluss an medikamentös refraktären Arrhythmien verstarben, im Gegensatz zur Interventionsgruppe, bei der nur 17% der Versuchstiere starben. Bei den verbleibenden überlebenden Tieren stellte Okada einen Anstieg des myokardialen Blutflusses um 60% fest (Okada 1998, 69 /id).

Die Gruppe um Yano (1993) kam bei ihren Versuchen zu vergleichbaren Ergebnissen, nämlich der Erhaltung der Kontraktilität des Ventrikels bei Laserung und dys- und akinetische Ventrikel bei den Tieren der Kontrollgruppe (Yano, Bielefeld et al. 1993, 91 /id).

Horvarth (1998) stellte bei einem ähnlichen Versuch bei den Interventionstieren eine Funktionsverbesserung des Ventrikels 6 und 12 Wochen nach TMLR fest (Horvath, Greene et al. 1998, 29 /id). Weitere Forscher berichten ebenfalls von positiven Ergebnissen im Hinblick auf Perfusion und Funktion des Myokards nach



TMLR (Donovan, Landolfo et al. 1997, 20 /id), (Whittaker, Rakusan et al. 1996, 87 /id), (De Carlo, Milano et al. 2000, 19 /id).

Andere Forschergruppen konnten diese positiven Ergebnisse nicht stützen. In den meisten Fällen wurden Untersuchungen des Herzmuskels im Hinblick auf akute Ischämie mit nachfolgender Laserung des minder durchbluteten Gewebes vorgenommen. Misfeld (1998) zeigte bei Versuchen am Schwein, dass es nach Laserung eines akut ischämischen Myokardgewebes zu keinem Wiederanstieg des Sauerstoffpartialdrucks im Gewebe kam (Misfeld, Szabo et al. 1998, 59 /id). Eckstein (1999), der zur Messung der Perfusion bei Schafherzen eine Wärmekamera verwendete, konnte hierbei ebenfalls keine Reperfusion eines akut ischämischen Areals nachweisen (Eckstein, Scheule et al. 1999, 21 /id). Dieselben oder ähnlich negative Ergebnisse fanden sich bei Lutter (1998) und Whittaker (1993) in einem Versuch mit Hunden (Lutter, Yoshitake et al. 1998, 52 /id), (Whittaker, Kloner et al. 1993, 86 /id). Kanellopoulos (1999) konnte bei minderperfundierten Schweineherzen weder eine Perfusionsverbesserung noch eine sich erholende Ventrikelfunktion von ischämischem Gewebe feststellen (Kanellopoulos, Svindland et al. 1999, 36 /id). Mueller (1998) fand auch im Versuch mit Hunden keine Funktionsverbesserung des Myokards (Mueller, Tevaearai et al. 1998, 64 /id). Reuthebuch beschreibt in seinem 1999 veröffentlichten Artikel keine Reperfusion eines gelaserten ischämischen Myokardareals von Schweineherzen (Reuthebuch, Podzuweit et al. 1999, 71 /id). Lutter (1999) beschreibt sogar eine Funktionsverschlechterung des linken Ventrikels nach einer Laserung von gesundem nicht ischämischen Myokardgewebes bei einem Versuch mit Schweinen (Lutter, Martin et al. 1999, 50 /id).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die bisherigen Versuche zur TMLR zu sehr unterschiedlichen und auch gegensätzlichen Ergebnissen kamen. Die Gründe hierfür sind vielfältig und nicht vollständig erklärbar. Zum einen liegen sie in der Auswahl der Versuchstiere, und auch die Laserart wird in der Literatur als Einflussgröße genannt. Zum andern spielen sicher auch Faktoren wie Versuchsaufbau, Messinstrumente, Messfehler sowie weitere noch nicht diskutierte Faktoren eine Rolle.

#### 4.3.1.2 Histologie

Die Ergebnisse bei den histologischen Untersuchungen der Tierversuche waren ebenso vielfältig wie die zur Mikrozirkulation und Funktion des Myokards.

Bei Mirhoseini und Cayton (1997) war die Nekrosezone nach TMLR eines ischämischen Gebietes kleiner als die Area of Risk. Ebenso verringerte sich die Mortalität bei den gelaserten Tieren gegenüber den Tieren der Kontrollgruppe, die nicht gelasert worden waren (Mirhoseini & Cayton 1997, 57 /id). Horvath (1995) fand bei Versuchen mit Hunden ein verkleinertes Infarktgebiet 30 Tage nach TMLR. Lutter kam 1998 zum selben Ergebnis bei Versuchen mit Schweinen (Horvath, Smith et al. 1995, 31 /id), (Lutter, Yoshitake et al. 1998, 52 /id).

Eine große Anzahl von Versuchen beschäftigte sich mit der Frage, was sich im Gewebe nach einer Laserbehandlung makroskopisch wie mikroskopisch abspielt. Dazu wurde einerseits gesundes nicht ischämisches Gewebe behandelt und untersucht, andererseits Gewebe, das nach Ligatur eines Koronargefäßes gelasert worden war. Die dabei festgestellten Ergebnisse waren sehr unterschiedlich. Bei gesundem gelaserten Gewebe zeigte sich in der Peripherie des Kanals eine Entzündungsreaktion und das Einwandern von Granulationszellen, die das Entstehen von Granulationsgewebe initiierten (Jansen, Frenz et al. 1997, 33 /id), (Kadipasaoglu, Sartori et al. 1999, 35 /id), (Whittaker 1997, 88 /id). Im Weiteren Verlauf nach ca. 2-4 Wochen, wurden im Bereich des ehemaligen Kanals Granulationsgewebe, Fibrinzellen und mit Endothelzellen ausgekleidete Lagunen oder Inseln gefunden. Zudem fanden sich auch kleine Blutgefäße mit Anschluss an das umliegende Gewebe. Kohmoto (1998) fand selbst feine Muskelzellen innerhalb dieser Region. Bei keinem der Versuche wurde nach einer Zeitspanne von zwei Wochen ein offener Kanal gefunden, die Durchtrittstellen an Endo-/Epikard waren mit Narbengewebe verschlossen (Chu, Giaid et al. 1999, 13 /id), (Malekan, Reynolds et al. 1998, 54 /id), (Pelletier, Giaid et al. 1998, 70 /id), (Kohmoto, DeRosa et al. 1998, 39 /id). Laut Hardy (1987) beginnt der oben beschriebene Umwandlungs- und Heilungsprozess in der Zeit zwischen dem 3. und 10. Tag nach TMLR (Hardy, Bove et al. 1987, 27 /id).

Die im gesunden Gewebe festgestellten Befunde konnte Kohmoto (1997) im ischämischen Areal nach TMLR nicht feststellen. Um die Kanäle befand sich nekrotisches Gewebe und im Kanal gab es keine oder nur geringe Anzeichen für

eine Organisation des koagulierten Gewebes durch Granulationsgewebe (Kohmoto, Fisher et al. 1997, 40 /id).

Offene Kanäle wurden bei den Versuchen, bei denen ischämisches Gewebe gelasert wurde, selten beschrieben. Whittaker (1996) fand bei Ratten nach zwei Monaten welche, allerdings mit kleinerem Durchmesser als ursprünglich, Kohmoto (1998) beschreibt offene Kanäle mit sehr geringem Blutdurchfluss (Whittaker, Rakusan et al. 1996, 87 /id), (Kohmoto, DeRosa et al. 1998, 39 /id).

Alle Forscher waren der einhelligen Meinung, dass der positive Effekt der TMLR beim Menschen nicht durch eine Perfusion und Offenheit der Kanäle bedingt ist. Die meisten Kanäle verschlossen sich nach kurzer Zeit oder waren für eine effiziente Durchblutung ungeeignet. Die Forscher nennen hierfür als Gründe die Umbauprozesse, die sich in einem Kanal nach einer gewissen Zeit abspielen, die Einwanderung von Granulationsgewebe und die Auskleidung mit Endothel sowie die Bildung von Kapillaren und kleinen Blutgefäßen, die Anschluss an das Gefäßnetzwerk des Myokard haben.

#### **4.3.2 Klinische Studien**

Die in den klinischen Studien gewonnenen Ergebnisse nach TMLR zeigten kein einheitliches Bild, wie dies auch bei den Ergebnissen der Tierversuche festzustellen war. Hierbei wurden Untersuchungen zur Myokardperfusion, der Ventrikelfunktion, der postoperativen Belastung und der klinischen subjektiv festgestellten Verbesserung der Beschwerden, die sich aus der KHK ergaben (CCS-Vergleich vor und nach TMLR), gemacht. Zudem wurden histologische Untersuchungen der Herzen durchgeführt von während oder nach der Operation verstorbenen Patienten.

Mirhoseini (1988) war einer der ersten, der Versuche zur TMLR am Menschen durchgeführt hat. Zu Beginn wurde die TMLR nur in Kombination mit Bypass-Operationen angewandt. Mirhoseini konnte nach der Durchführung dieser Operation eine Verbesserung der Myokardperfusion sowie eine verbesserte Myokardfunktion nachweisen, wobei allerdings nicht eindeutig war, ob es sich dabei um einen Effekt der Bypass-Operation oder der TMLR handelte (Mirhoseini,

Shelgikar et al. 1988, 58 /id). Es folgten zahlreiche klinische Studien zur TMLR am menschlichen Herzen.

Die Indikation zur Durchführung der TMLR als ein indirektes Revaskularisationsverfahren wird häufig in Zusammenhang mit der Möglichkeit und Durchführbarkeit eines direkten Revaskularisationsverfahrens (Bypass-Operation und PTCA) gestellt. Waren eine Bypass-Operation oder eine PTCA bei schwer kranken Patienten nicht mehr möglich, wurde zunehmend die TMLR als indirektes Revaskularisationsverfahren zur Therapie eingesetzt.

Die Indikationskriterien zur Anwendung der TMLR beim schwer kranken Patienten sind sehr wichtig und genau definiert. Nach Nägele (1998) sollten die Patienten in den CCS-Klassen III und IV eingestuft sein und mindestens in einem Herzzentrum für ein indirektes Verfahren abgelehnt worden sein. Des Weiteren sollte die medikamentöse Therapie genau überprüft und gegebenenfalls intensiviert worden sein, bevor ein Eingriff durchgeführt wird. Als Kontraindikationen sollten Begleiterkrankungen der Nieren, der Leber, eine COPD sowie Gerinnungsstörungen ausgeschlossen werden können. Die Ejektionsfraktion (EF) muss mindestens 40% betragen, da das Operationsrisiko mit abnehmender EF steigt (Nägele, Stubbe et al. 1998, 67 /id). Derselben Meinung sind auch Moosdorf, Cooley und andere (Cooley, Frazier et al. 1996, 16 /id), (Moosdorf, Maisch et al. 1996, 61 /id).

Das Anliegen für die Durchführung der TMLR ist, diesen Patienten die pectanginösen Beschwerden zu lindern. Diese Verbesserung der Angina Pectoris-Symptomatik war bei fast allen klinischen Studien nachzuweisen. Zur Beurteilung der Angina Pectoris-Symptomatik wurden die Patienten in die CCS-Klassen prä- und postoperativ eingeteilt. Die CCS-Klasse fiel dabei von präoperativ 3,4-3,8 auf postoperativ 1,5-2,2. Eine erhebliche Verbesserung der Beschwerden war unmittelbar postoperativ festzustellen, wobei in der Folgezeit bis auf wenige Ausnahmen kaum eine Verschlechterung der Beschwerdesymptomatik auftrat. Die Bewertung des Erfolgs wurde über einen Zeitraum von ein bis zwei Jahren in regelmäßigen Abständen (3, 6, 9, 12 Monaten) vorgenommen. Zu den klinischen Verbesserungen zählten außerdem eine erhöhte postoperative Belastbarkeit,

Verringerung der Schmerzen und damit insgesamt eine Verbesserung der Lebensqualität, worüber sich alle Autoren einig waren. Nur 10-15% der Patienten sprachen schlecht oder gar nicht auf die Behandlung mit der TMLR an (Nägele, Kalmar et al. 1997, 66 /id), (Milano, Pratali et al. 1998, 55 /id), (Moosdorf 1997 63 /id), (Cooley, Frazier et al. 1996, 16 /id), (Jones, Schmidt et al. 1999, 34 /id), (Gassler & Stubbe 1997, 25 /id), (Frazier, Cooley et al. 1995, 23 /id), (Moosdorf, Maisch et al. 1996, 61 /id), (Lutter, Sarai et al. 2000, 51 /id).

Im Hinblick auf die Veränderung der Ventrikelfunktion nach TMLR haben die Forscher unterschiedliche Ergebnisse festgestellt. Mirhoseini (1998) konnte nach TMLR, allerdings wie oben beschrieben in Kombination mit einer Bypass-Operation, eine Funktionsverbesserung des Ventrikels nachweisen (Mirhoseini, Shelgikar et al. 1988, 58 /id). Frazier (1995) berichtet von einer Verbesserung der Ventrikelfunktion nach alleiniger TMLR am ischämischen Herzen (Frazier, Cooley et al. 1995, 23 /id).

Nägele (1997), Cooley (1995) und weitere unabhängig voneinander arbeitende Gruppen konnten dagegen keine signifikante Verbesserung der Herzfunktion feststellen (Nägele, Kalmar et al. 1997, 65 /id), (Cooley, Frazier et al. 1996, 16 /id), (Lutter, Martin et al. 1999, 50 /id).

Moosdorf (1996) berichtet aus seinem Versuch von einer erhöhten peri- und postoperativen Mortalität. Dabei ist von Bedeutung, dass ein Großteil seiner Patienten bereits vor Versuchsbeginn eine erheblich eingeschränkte Funktion des Ventrikels hatten. Diese Patienten besaßen nur noch einen geringen Anteil an funktionsfähigem Myokardgewebe. Eine Funktionsverbesserung war dadurch kaum möglich. Diese Vorbelastung der Patienten hat das postoperative Ergebnis sicherlich negativ beeinflusst (Moosdorf, Maisch et al. 1996, 61 /id).

Die Ergebnisse zur Verbesserung der Mikrozirkulation und Myokardperfusion nach TMLR spiegeln sich größtenteils in den oben beschriebenen Ergebnissen einer verbesserten Myokardfunktion nach der TMLR wieder.

Frazier (1995) berichtet von einer erhöhten subendokardialen Mikrozirkulation (Frazier, Cooley et al. 1995, 23 /id). Horvath (1996) konnte eine Perfusionssteigerung in einem reversibel ischämischen Areal nachweisen (Horvath, Mannting et al. 1996, 30 /id). Bei Moosdorf (1997) zeigten 50% der

Patienten eine verbesserte Perfusion des Myokards, wobei diese nach seiner Aussage keiner normalen Durchblutung des Myokards entsprach. Zudem kam es zu einem Wiederauftreten der Ischämie bei erhöhter Belastung (Moosdorf 1997, 63 /id), (Moosdorf, Maisch et al. 1996, 61 /id).

Rimoldi (1999), Milano (1998), Krabatsch (1998), Nägele (1997), Lutter (2000) und andere konnten keine verbesserte Durchblutung des Myokards nach Durchführung einer TMLR nachweisen (Rimoldi, Burns et al. 1999, 72 /id), (Krabatsch, Tambeur et al. 1998, 44 /id), (Milano, Pratali et al. 1998, 55 /id), (Nägele, Kalmar et al. 1997, 65 /id), (Lutter, Sarai et al. 2000, 51 /id). Rimoldi (1999) zweifelt sogar die Ergebnisse von Frazier und Horvath an, da diese mit einer semiquantitativen Messmethode mittels PET bzw. 99mTc-MIBI SPECT gewonnen wurden. Er bestimmte die Mikrozirkulation durch PET mit H215O, das heute zum Goldstandard zählt.

Weitere wichtige Ergebnisse und Erkenntnisse aus klinischen Studien resultieren aus den histologischen Befunden von den Herzen verstorbener Patienten. Hierbei wurden insbesondere die durch Laserung geschaffenen Kanäle untersucht sowie das in der Peripherie der Kanäle gelegene Myokardgewebe.

Es war zunächst ein hypothetischer Ansatz, dass die Reperfusion eines ischämischen Myokardareals direkt durch die Laserkanäle geschieht. Wie in der Einleitung beschrieben, bezogen sich die Forscher dabei auf die Reptilealisierung des menschlichen Herzens durch die Laserkanäle (siehe Einleitung Kapitel 1.4.1.). Werden zunächst nur die ersten Stunden und Tage nach der TMLR betrachtet, so scheint diese Hypothese möglich, da in diesem Zeitraum ein Großteil der Kanäle offen und durchblutet war.

Moosdorf (1996) fand bei Patienten, die in den ersten postoperativen Tagen nach TMLR verstarben waren, offene mit Blut gefüllte Kanäle, die mit einem Karbonisierungssaum ausgekleidet waren. Zusätzlich fand er im rechten Winkel zum Kanal verlaufende Spalten, die mit diesem in Verbindung standen. Untersuchungen der Herzen von Patienten, die zwei Wochen nach TMLR verstorben waren, zeigten randständige Fibrinauflagerungen des Kanals mit ausgeprägter Neokapillarisation, die Anschluss an das umliegende Gewebe aufwies. Die Kanäle waren noch offen und hatten direkten Zugang zum Endokard (Moosdorf, Maisch et al. 1996, 61 /id). Schweitzer (1997) fand ebenfalls

offene Kanäle mit Anschluss an Myokardgefäße 12 Tage nach TMLR (Schweitzer, Schneider et al. 1997, 75 /id). Gassler (1997) konnte mit Hilfe von Ultraschall offene Kanäle zwei Tage nach der OP beim Patienten nachweisen (Gassler & Stubbe 1997, 25 /id). Crew (1991) beschrieb ein vergleichbares Ergebnis mit offenen Kanälen im Myokard, die er mit Hilfe der Ventrikulographie nachwies (Crew 1991, 18 /id). Cooley (1994) berichtete von offenen, mit Endothel ausgekleideten Kanälen, die Erythrozyten enthielten und Anschluss an das intramyokardiale Gefäßsystem aufwiesen, bei einem Patienten, der drei Monate nach TMLR verstarb (Cooley, Frazier et al. 1994, 17 /id). Okada (1991) und Mirhoseini (1997) konnten offene Kanäle noch nach Monaten und Jahren feststellen (Okada, Shimizu et al. 1991, 68 /id), (Mirhoseini & Cayton 1997, 57 /id).

Dem gegenüber stehen Aussagen und Ergebnisse von anderen Autoren, die keine offenen Kanäle fanden, weder kurzfristig noch längerfristig nach der TMLR. Burkhoff (1996), Hardy (1987), Gassler (1997) und Krabatsch (1996) fanden bei Patienten, die in den ersten 150 Tagen nach TMLR verstarben, keine offenen Kanäle (Gassler, Wintzer et al. 1997, 26 /id), (Krabatsch, Schaper et al. 1996, 42 /id), (Burkhoff, Fisher et al. 1996, 11 /id), (Hardy, Bove et al. 1987, 27 /id). Nägele (1997) fand ebenfalls keine offenen Kanäle bei einem kurz nach TMLR Verstorbenen. Dies ließ ihn vermuten, dass die postoperativ überlebenden Patienten unter Umständen offene Kanäle haben und deshalb noch leben (Nägele, Kalmar et al. 1997, 66 /id). Dies steht allerdings im Widerspruch zu den oben genannten Berichten von postmortal offen aufgefundenen Kanälen. Eine vollständige Klärung dieses Sachverhalts wird sicher noch einige Zeit und weitere Forschungsarbeit in Anspruch nehmen.

Alle Autoren machten bei der histologischen Untersuchung der Herzen die Feststellung, dass die Laserkanäle nach ihrer Entstehung einem Umbauprozess unterliegen. Dies ist darauf zurückzuführen, dass der Laser eine „Wunde“ schafft, die im Folgenden Entzündungsreaktionen hervorruft. Krabatsch (1997) und Schweitzer (1997) beschrieben die Vorgänge sehr detailliert und in chronologischer Reihenfolge nach Durchführung der Laserung. In der Frühphase, ca. 1.-7. Tag nach TMLR, fanden sich offene, teilweise thrombosierte Laserkanäle. Durch diesen Schaden kam es zu einem Myozytenverlust im Myokard, der durch

ein lockeres Netzwerk aus Fibrin, Granulozyten und Erythrozyten aufgefüllt wurde. Ausgekleidet waren die Kanäle mit einem Karbonisierungssaum sowie einer Nekrosezone. Krabatsch (1997) fand Partikel dieser Nekrosezone auch in Venolen, die sich peripher des Kanals befanden, was auf einen ehemaligen Anschluss eines Myokardgefäßes an diesen Kanal schließen lässt. In der Spätphase, ab der zweiten Woche, wurde das intrakanalikuläre Gerinnsel durch Granulationsgewebe ersetzt. Hohe Konzentrationen von Makrophagen und Monozyten wurden gefunden, als Ausdruck einer intensiven Phagozytose des nekrotischen Gewebes. Zudem fanden sich Endothelzellen, die anfangen, den Kanal auszukleiden, sowie reichlich Kollagengewebe, das ein dichtes Netzwerk von Kapillaren enthielt, die sich in Längsrichtung des Kanals ausbreiteten. Eine Verbindung dieser Kapillaren zum umliegenden Gewebe bestand zu diesem Zeitpunkt noch nicht, folgte aber später. Die Öffnung des Kanals zum Endothel war mit einem Pfropf oder einer Membran verschlossen. Dies zeigt, dass, falls die Kanäle eine spätere Funktion übernehmen sollten, diese nicht mit Blut vom Ventrikellumen, sondern über die neuen intramyokardialen Gefäßverbindungen gespeist werden (Krabatsch, Schaper et al. 1997, 43 /id), (Schweitzer, Schneider et al. 1997, 75 /id).

Zusammenfassend kann aus diesen Erkenntnissen der Schluss gezogen werden, dass zunächst offene Kanäle mit Anschluss an das Ventrikellumen keine oder nur einen geringen Anteil an den positiven Veränderungen nach TMLR haben. Vielmehr ist der Umbauprozess dieser Kanäle von entscheidender Bedeutung für das Verständnis des Effekts der TMLR auf die Linderung der Beschwerden der Patienten.

Die Denervation des Herzmuskels, vor allem der schmerzleitenden Fasern, wird von manchen Autoren ebenfalls als Grund für den positiven Effekt der TMLR in Betracht gezogen (Moosdorf 1997, 63 /id), (Horvath, Mannting et al. 1996, 30 /id), (Frazier, Cooley et al. 1995, 23 /id). Diese Theorie soll hier jedoch nicht weiter verfolgt werden, da sie zu sehr auf Spekulationen beruht und im vorliegenden Versuch nicht relevant war.

Ein herausragendes positives Ergebnis nach durchgeführter TMLR am Menschen



wurde von Okada (1998) beschrieben. Er berichtet von einem verstorbenen Patienten, der 12 Jahre zuvor eine transmyokardiale Laserrevaskularisation erhalten hatte. Der Patient hatte zu diesem Zeitpunkt eine schwere koronare Herzkrankheit mit 90%iger Stenose der LAD sowie eine schlechte linksventrikuläre Herzfunktion. Aufgrund einer im Vorfeld durchgeführten Perikardotomie war das Perikard mit dem Epikard so stark verwachsen, dass eine Bypass-Operation nicht mehr möglich war und der Patient nur mit dem Laser behandelt werden konnte. Er erholte sich nach der OP rasch, hatte eine erheblich verbesserte Herzfunktion und lebte daraufhin in gutem Allgemeinzustand noch 12 Jahre (Okada, Shimizu et al. 1991, 68 /id).

In den letzten Jahren wurden ergänzend Studien durchgeführt, die die TMLR mit einer medikamentösen Therapie der koronaren Herzkrankheit verglichen. Wie bei den bereits diskutierten Fragestellungen zu den Wirkungen der TMLR waren auch hier die Meinungen über ihren Nutzen sehr unterschiedlich. Allen (1999) beschrieb eine Verbesserung der Beschwerden, weniger Angina Petoris-Anfälle sowie eine Reduzierung der Krankenhausaufenthalte bei den Patienten, die TMLR erhielten. In der Vergleichsgruppe der Patienten, die eine medikamentöse Therapie erhielten, stellten sich diese Verbesserungen nicht ein (Allen, Dowling et al. 1999, 2 /id). Burkhoff (1999) kam zu einem ähnlichen Ergebnis mit einer Verbesserung der CCS-Skala, erhöhter Belastbarkeit sowie einer Verbesserung der Lebensqualität bei mit TMLR behandelten Patienten (Burkhoff, Schmidt et al. 1999, 12 /id). Schofield (1999) konnte diese Ergebnisse nicht bestätigen: In seinen Untersuchungen waren die festgestellten Unterschiede zwischen den beiden Therapieformen im Hinblick auf die Belastbarkeit der Patienten sowie die Verbesserung der CCS-Skala nicht signifikant (Schofield, Sharples et al. 1999, 74 /id).

Zusammenfassend lassen die bisherigen Ergebnisse keine einheitliche Aussage zu. Die positiven Ergebnisse nach einer TMLR wie eine Verbesserung der Lebensqualität, Verminderung der Angina Pectoris-Beschwerden und Steigerung der Belastbarkeit überwiegen. Es steht außer Frage, dass die TMLR die etablierten Verfahren der direkten Revaskularisation nicht ersetzen, aber in den oben genannten Fällen doch ihren Teil zur Therapie der koronaren Herzkrankheit

beitragen kann.

Die Erfolge und die Vorteile der TMLR lassen sich so wie folgt zusammenfassen:

- Reduktion der Angina Pectoris-Beschwerden und Verbesserung der Lebensqualität.
- Myokardiale Perfusions- sowie Funktionssteigerung.
- TMLR ist ein einfaches OP-Verfahren mit einfacher Technik und einem relativ geringen OP-Risiko (Milano, Pratali et al. 1998, 55 /id) und kann minimal invasiv durchgeführt werden.
- Kurze Operationszeit und geringes Trauma, wodurch die Patienten schneller aus dem Krankenhaus entlassen werden können; bei erfolgreicher Behandlung Kosteneinsparung und damit Entlastung für das Gesundheitssystem, was insbesondere im Hinblick auf die heutige Situation des Gesundheitssystems nicht außer acht gelassen werden darf.

Die transmyokardiale Laserrevaskularisation ist auf dem Vormarsch. Gründe hierfür sind die bisherigen positiven Erfahrungen mit der TMLR als Behandlungsmethode für Patienten mit endständiger koronarer Herzkrankheit sowie die Tatsache, dass sie für diese Patienten meist die letzte Therapiemöglichkeit darstellt. Sie wird in den nächsten Jahren weiter ausgebaut werden und häufiger zum Einsatz kommen, sowohl in Ergänzung zur ACVB oder PTCA als auch als alleinige Therapieform bei konventionell austherapierten Patienten (Mirhoseini & Cayton 1997, 57 /id). Dies erfordert, dass der vollständige Wirkmechanismus der TMLR als Basis für eine Etablierung als alternative Behandlungsmethode durch weitere Untersuchungen erforscht wird. Positive Ergebnisse wie in vorliegender Forschungsarbeit sind ein Schritt auf diesem Weg.

## 5. Zusammenfassung

Die koronare Herzkrankheit (KHK) und ihre Folgen zählen heute immer noch zu den häufigsten Todesursachen in den Industrienationen. Die bisher angewendeten direkten Revaskularisationsverfahren, wie die Bypass-Operation und die „Perkutane transluminale coronare Angioplastie“ (PTCA), haben in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht, so dass auch Patienten mit einer schweren Form der Erkrankung noch erfolgreich behandelt werden können.

Die Zahl der Patienten, bei denen keine Form der direkten Revaskularisation mehr möglich ist, nimmt jedoch stetig zu. Bei diesen Patienten bieten sich indirekte Revaskularisationsverfahren wie die transmyokardiale Laserrevaskularisation (TMLR) an. Die TMLR sorgt für eine alternative Blutversorgung des Myokards, wobei der genaue Wirkmechanismus bislang noch nicht vollständig geklärt ist. In Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass die TMLR- Behandlung zu einer Kapillareinsprossung in das ischämische Myokard führt, wobei diese Neoangiogenese die Gewebsdurchblutung nicht messbar verbessern konnte.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, durch die Messung der Mikrozirkulation und der Myokardperfusion am Modell der akuten myokardialen Ischämie am Schweineherzen, einen möglichen Wirkmechanismus der TMLR, der unmittelbar nach der Durchführung der TMLR auftritt, nachzuweisen.

Da das Schweineherz über keine oder nur wenige Kollateralen verfügt, konnte eine Verbesserung der Durchblutung nach TMLR aufgrund von Kollateralen weitgehend ausgeschlossen werden. Eine Perfusionsverbesserung durch die Neoangiogenese ist ebenfalls nicht möglich, da diese erst zu einem späteren Zeitpunkt nach TMLR auftritt.

Für die Messungen wurde der neu entwickelte Laser-Doppler OptoFlow® (LEA Medizintechnik) verwendet, mit dem die Mikrozirkulation an der Myokardoberfläche des schlagenden Herzens bis in eine Tiefe von 4 mm semiquantitativ bestimmt werden konnte. Bei der Studie wurden 35 Versuchstiere randomisiert in Kontrollgruppe und Interventionsgruppe aufgeteilt. In Vollnarkose wurde durch Ligatur des ersten Seitenastes der absteigenden Herzkranzarterie bei allen Tieren ein Vorderwandinfarkt hervorgerufen. Bei der Interventionsgruppe erfolgte ca. 30 Minuten nach Ligatur des Gefäßes die Laserung des ischämisch

---

gewordenen Myokardareals, wobei 20 Kanäle in das Areal eingebracht wurden. Die Messungen mit dem Laser- Doppler erfolgten zu genau definierten Zeitpunkten vor und nach der Ligatur des Gefäßes.

Wie die vorliegenden Untersuchungen zeigten, konnte als positiver Kurzzeiteffekt der TMLR ein Wiederanstieg der Durchblutung in einem zuvor ischämischen Gebiet nachgewiesen werden. Der zugrunde liegende Wirkmechanismus konnte allerdings nur ansatzweise interpretiert werden. Weitere Untersuchungen sollten angeschlossen werden.

## **Summary**

Coronary heart disease and its consequences still rank among the most frequent causes of death in the industrial nations. The so far used direct revascularisation procedures, like the bypass operation and PTCA, have made large progress in the past few years. Thus, also patients with a heavy form of the disease can still be successfully treated.

Nevertheless, the number of patients, in which no form of direct revascularisation is possible anymore, constantly increases. For these patients (bieten sich an) indirect revascularisation procedures like the transmural laserrevascularisation (TMLR) are an option. TMLR provides an alternative myocardial blood supply, the exact mechanism however remains unclear. Animal studies have shown, that TMLR-treatment leads to capillary ingrowth into the ischemic myocardial tissue, this neoangiogenesis however could not improve the tissue perfusion measurably.

The aim of the present work was to prove a possible effect mechanism, which occurs immediately after the execution of the TMLR, by measuring the microcirculation and the myocardial perfusion, using the acute myocardial ischemia of the pig heart as a model. Since the pig heart possesses no or only few collateral vessels, an improvement of the blood circulation by collateral vessels after TMLR could be excluded. An ameliorated microcirculation due to neoangiogenesis could also be excluded, since this occurs at a later time after TMLR.

For the measurements the newly developed laser-doppler OptoFlow (medical technology company LEA) was used, which was capable of measuring the microcirculation at the myocardial surface at the striking heart up to a depth of 4 mm semiquantitatively. The 35 experimental animals were randomized in a control group and an intervention group. To achieve an anterior myocardial infarction in all generally anesthetized animals, the first lateral vessel of the descending coronary artery was ligated. In the intervention group the laser procedure of the ischemic myocardium took place approx. 30 minutes after ligation, whereby 20 channels were brought into the area. The measurements with the laser-doppler were performed at exactly defined times before and after the ligation.

In the present study a rerise of the blood circulation in a before ischemic area could be proven as a positive short time effect of the TMLR. However, the fundamental mechanism of this effect could only be partially illucidated. Further investigations are necessary.

## 6. Literatur

- (1) Afridi I, Main ML, Grayburn PA: Accuracy of dobutamine echocardiography for detection of myocardial viability in patients with an occluded left anterior descending coronary artery. *J Am Coll Cardiol*, 28(2): 455-459, 1996.
- (2) Allen KB, Dowling RD, Fudge TL, Schoettle P, Selinger SL, Gangahar DM, Angell WW, Petracek MR, Shaar CJ, and O'Neill WW: Comparison of transmyocardial revascularization with medical therapy in patients with refractory angina. *N.Engl.J.Med.* 341, Nr. 14: 1029-1036, 1999.
- (3) Anderson JJ and Gonzales RV: Transmyocardial laser revascularization: old theory, new technology. *Crit Care Nurs.Q.* 20 (4): 53-59, 1998.
- (4) Ballard JC and Wood LL: Transmyocardial revascularization: Criteria for selecting patients, treatment and nursing care. *Crit Care Nurs.Q.* 17: 42-49, 1997.
- (5) Banai S, Jaklitsch MT: Angiogenetic-induced enhancement of collateral flow to ischemic myocardium by vascular endothelial growth factor in dogs. *Circulation* 89: 2183-2189. 1994.
- (6) Beck CS: The development of a new blood supply to the heart by operation. *Ann. Surg.* 102: 801-813, 1935b
- (7) Beck CS, Tichy VL: The production of a collateral circulation of the heart. An experimental study. *Am. Heart J.* 10: 849-873, 1935a.
- (8) Boekstegers P, Fleckenstein W, Rosport A, Ruschewsky W, Braun U: Überwachung der Sauerstoffversorgung des Skelettmuskels und der Gesamtsauerstoffaufnahme bei koronarchirurgischen Eingriffen. *Anaesthesist* 15: 57-66. 1988.
- (9) Bonner R and Nossal R: Model for laser Doppler measurements of blood flow in tissue. *Applied Optics* 20 (12): 2097-2107, 1981.
- (10) Bruckenberger E: Herzbericht 1998 mit Transplantationschirurgie, 1999.

- 
- (11) Burkhoff D, Fisher PE, Apfelbaum M, Kohmoto T, DeRosa CM, and Smith CR: Histologic appearance of transmural laser channels after 4 1/2 weeks. *Ann.Thorac.Surg.* 61 (5): 1532-1534, 1996.
  - (12) Burkhoff D, Schmidt SE, Schulmann SP, Myers J, Resar JR, Becker LC, and Jones J Weiss JW: Transmural laser revascularisation compared with continued medical therapy for treatment of refractory angina pectoris: a prospective randomised trial. *Lancet* 354: 885-890, 1999.
  - (13) Chu VF, Giaid A, Kuang JQ, McGinn AN, Li CM, Pelletier MP, and Chiu RCJ: Angiogenesis in transmural revascularization: Comparison of laser versus mechanical punctures. *Ann.Thorac.Surg.* 68 (2): 301-308, 1999.
  - (14) Clark LC, Wolf R, Granger D, Taylor Z: Continuous Recording of Blood Oxygen Tensions by Polarography. *J Appl Physiology*; 6(189): 193, 1953.
  - (15) Clark LC: Monitor and control of blood and tissue oxygen tensions: *Transactions American Society for Artificial Internal Organs*, 2: 41-48, 1956.
  - (16) Cooley DA, Frazier OH, Kadipasaoglu KA, Lindenmeir MH, Pehlivanoglu S, Kolff JW, Wilansky S, and Moore WH: Transmural laser revascularization: clinical experience with twelve-month follow-up. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 111 (4): 791-797, 1996.
  - (17) Cooley DA, Frazier OH, Kadipasaoglu KA, Pehlivanoglu S, Shannon RL, and Angelini P: Transmural laser revascularization. Anatomic evidence of long-term channel patency. *Tex.Heart Inst.J.* 21 (3): 220-224, 1994.
  - (18) Crew JR: Transmural revascularization by CO<sub>2</sub> laser. *Surg.Technol.Intern.* 1: 236-238, 1991.
  - (19) De Carlo M, Milano A, Pratali S, Levantino M, Mariotti R, and Bortolotti U: Symptomatic Improvement After Transmural Laser Revascularization: How Long Does It Last? *Ann.Thorac.Surg.* 70: 1130-1133, 2000.



- 
- (20) Donovan CL, Landolfo KP, Lowe JE, Clements F, Coleman RB, and Ryan T: Improvement in inducible ischemia during dobutamine stress echocardiography after transmymocardial laser revascularization in patients with refractory angina pectoris. *J.Am.Coll.Cardiol.* 30 (3): 607-612, 1997.
- (21) Eckstein FS, Scheule AM, Pauncz Y, Schmid ST, Zucker M, and Ziemer G: Transmymocardial Laser Revascularisation with the Holium:YAG Laser does not improve Myocardial Perfusion in the Acutely Ischemic Heart: an Experimental study measuring myocardial Perfusion by a Thermal Imagig Camera. *Thorac.Cardiovasc.Surg.* 47: 293-297, 1999.
- (22) Erdmann E, and Riecker G: Sonderdruck aus Klinische Kardiologie. *Klinische Kardiologie*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 1996.
- (23) Frazier OH, Cooley DA, Kadipasaoglu K, Pehlivanoglu S, Lindenmeir MH, Barasch E, Conger JL, Wilansky S, and Moore WH: Myocardial revascularization with laser. Preliminary findings. *Circulation* 92, Suppl.II: 58-65, 1995.
- (24) Funck RC, Rybinski L, Konig H, Welzel K, Holland A, Ketteler K, Farokhzad F, Hoffken H, Bethge C, Moosdorf R, and Maisch B: Patients profiles in end stage coronary artery disease. Indications for treatment with transmymocardial laser revascularisation. *Herz* 22 (4): 190-197, 1997.
- (25) Gassler N and Stubbe HM: Clinical data and histological features of transmymocardial revascularization with CO2-laser. *Eur.J.Cardiothorac.Surg.* 12 (1): 25-30, 1997.
- (26) Gassler N, Wintzer HO, Stubbe HM, Wullbrand A, and Helmchen U: Transmymocardial laser revascularization. Histological features in human nonresponder myocardium. *Circulation* 95 (2): 371-375, 1997.
- (27) Hardy RI, Bove KE, James FW, Kaplan S, and Goldman L: A histologic study of laser-induced transmymocardial channels. *Lasers in Surgery and Medicine* 6: 563-573, 1987.

- 
- (28) Hartman RA, Whittaker P: The physics of transmyocardial laser revascularization. *J Clin Laser Med Surg*, 15(6): 255-259, 1997.
- (29) Horvath KA, Greene R, Belkind N, Kane B, McPherson DD, and Fullerton DA: Left ventricular functional improvement after transmyocardial laser revascularization. *Ann.Thorac.Surg.* 66 (3): 721-725, 1998.
- (30) Horvath KA, Mannting F, Cummings N, Shernan SK, and Cohn LH: Transmyocardial laser revascularization: operative techniques and clinical results at two years. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 111 (5): 1047-1053, 1996.
- (31) Horvath KA, Smith WJ, Schoen FJ, Appleyard RF, and Cohn LH: Recovery and viability of an acute myocardial infarct after transmyocardial laser revascularization. *J.Am.Coll.Cardiol.* 25 (1): 258-263, 1995.
- (32) Hülser PJ, Ott L, Steiner R, and Kornhuber HH: Detection of single muscle fiber contractions by laser Doppler spectroscopy a noninvasive method challenging conventional EMG. *Neurology, Psychiatry and Brain Research* 1: 228-231, 1993.
- (33) Jansen ED, Frenz M, Kadipasaoglu KA, Pfefer TJ, Altermatt HJ, Motamedi M, and Welch AJ: Laser-tissue interaction during transmyocardial laser revascularization. *Ann.Thorac.Surg.* 63 (3): 640-647, 1997.
- (34) Jones JW, Schmidt SE, Richman BW, Miller CC, Sapire KJ, Burkhoff D, and Baldwin JC: Holmium-YAG laser transmyocardial revascularization relieves angina and improves functional status. *Ann.Thorac.Surg.* 67 (6): 1596-1601, 1999.
- (35) Kadipasaoglu KA, Sartori M, Masai T, Cihan HB, Jr Clubb-FJ, Conger JL, and Frazier OH: Intraoperative arrhythmias and tissue damage during transmyocardial laser revascularization. *Ann.Thorac.Surg.* 67 (2): 423-431, 1999.
- (36) Kanellopoulos GK, Svindland A, Ilebekk A, Gouverud I, and Kvernebo K: Transventricular non-transmural laser treatment of hypoperfused porcine

- myocardium acutely reduces left ventricular contractile function. *Eur.J.CardiThorac.Surg.* 16: 135-143, 1999.
- (37) Klein HH, Pich S, Lindert-Heimburg St, Nebendahl K, and Bohle RM: Experimentelle Myokardischämie. *Pathologe*: 13-20, 1998.
- (38) Kohmoto T, Argenziano M, Yamamoto N, Vliet KA, Gu A, DeRosa C, Fisher PE, Spotnitz HM, Burkhoff D, and Smith C: Assessment of Transmyocardial Perfusion in Alligator Hearts. *Circulation* 95: 1585-1591, 1997.
- (39) Kohmoto T, DeRosa CM, Yamamoto N, Fisher PE, Failey P, Smith CR, and Burkhoff D: Evidence of vascular growth associated with laser treatment of normal canine myocardium. *Ann.Thorac.Surg.* 65 (5): 1360-1367, 1998.
- (40) Kohmoto T, Fisher PE, Gu A, Zhu SM, DeRosa CM, Smith CR, and Burkhoff D: Physiology, histology, and 2-week morphology of acute transmyocardial channels made with a CO<sub>2</sub> laser. *Ann.Thorac.Surg.* 63 (5): 1275-1283, 1997.
- (41) Kohmoto T, Fisher PE, Gu A, Zhu SM, Yano OJ, Spotnitz HM, Smith CR, and Burkhoff D: Does blood flow through holmium-YAG transmyocardial laser channels? *Ann.Thorac.Surg.* 61 (3): 861-868, 1996.
- (42) Krabatsch T, Schaper F, Leder C, Tulsner J, Thalmann U, and Hetzer R: Histological findings after transmyocardial laser revascularization. *J.Card Surg.* 11 (5): 326-331, 1996.
- (43) Krabatsch T, Schaper F, Tamber L, Leder C, Thalmann U, and Hetzer R: Histomorphology after transmyocardial laser revascularization. *Herz* 22 (4): 205-210, 1997.
- (44) Krabatsch T, Tamber L, Lieback E, Shaper F, and Hetzer R: Transmyocardial laser revascularization in the treatment of end-stage coronary artery disease. *Ann.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 4 (2): 64-71, 1998.
- (45) Lauer RM, Fink HP, Petry RL, Dunn MI, and Diehl AM: Angiographic demonstration of intramyocardial sinusoids in pulmonary-valve atresia with

- intact ventricular septum and hypoplastic right ventricle. *N.Engl.J.Med.* 271 (68): 72, 1964.
- (46) Lenox CC and Briner J: Absent proximal coronary arteries associated with pulmonic atresia. *Am.J.Cardiol.* 30: 666-669, 1972.
- (47) Leschke M, Schoebel FC, Jax TW, Schannwell CW, Marx R, Strauer BE: Long-term Urokinase treatment in end-stage coronary artery disease. *Herz*, 22, No.5: 262-271, 1997.
- (48) Leschke M, Schoebel FC, Strauer BE: Therapierefraktäre Angina pectoris im Endstadium der koronaren Herzkrankheit. Eine klinische Herausforderung. *Z.Kardiol* 86, 1997.
- (49) Luebbers DW: Die Bedeutung des lokalen Gewebssauerstoffdruckes und des PO<sub>2</sub>-Histogrammes für die Beurteilung der Sauerstoffversorgung eines Organes. *Praktische Anaesthesie*, 12: 184-153, 1977.
- (50) Lutter G, Martin J, Takahashi N, Yoshitake M, Schwarzkopf J, Nitzsche N, and Beyersdorf F: Transmyocardial laser revascularization: experimental studies in healthy porcine myocardium. *Ann.Thorac.Surg.* 67 (6): 1708-1713, 1999.
- (51) Lutter G, Sarai K, Nitzsche E, Saubier B, Frey M, Hoegerle S, Martin J, Zipfel M. G. Spillner, and F. Beyersdorf: Evaluation of Transmyocardial Laser Revascularisation by Following Objective Parameters of Perfusion and Ventricular Function. *Thorac.Cardiovasc.Surg.* 48 (79): 85, 2000.
- (52) Lutter G, Yoshitake M, Takahashi N, Nitzsche E, Martin J, Sarai K, Lutz C, Beyersdorf F, Iskandrian AE, Sink JD, and VanDecker W: Transmyocardial laser-revascularization: experimental studies on prolonged acute regional ischemia. *Eur.J.Cardiothorac.Surg.* 13 (6): 694-701, 1998.
- (53) Maisch B, Funck RC, Schönian U, and Moosdorf R: Indikationen zur transmyokardialen Lasertherapie. *Z.Kardiol.* 85: 269-279, 1996.

- 
- (54) Malekan R, Reynolds C, Narula N, Kelley ST, Suzuki Y, and Bridges CR: Angiogenesis in transmyocardial laser revascularization. A nonspecific response to injury. *Circulation* 98 (19 Suppl): II62-II65, 1998.
- (55) Milano A, Pratali S, Tartarini G, Mariotti R, De Carlo M, Paterni G, Boni G, and Bortolotti U: Early results of transmyocardial revascularization with a holmium laser. *Ann.Thorac.Surg.* 65 (3): 700-704, 1998.
- (56) Mirhoseini M and Cayton MM: Revascularization of the heart by laser. *Micosurgery* 2: 253-260, 1981.
- (57) Mirhoseini M and Cayton MM: Transmyocardial laser revascularization: historical background and future directions. *J.Clin.Laser Med.Surg.* 15 (6): 245-253, 1997.
- (58) Mirhoseini M, Shelgikar S, and Cayton MM: New Concepts in Revascularisation of the Myocardium. *Ann.Thorac.Surg.* 45: 415-420, 1988.
- (59) Misfeld M, Szabo K, Kraatz EG, Grossherr M, Schmidtke C, Pilgrim M, Kuhnel W, and Sievers HH: Electron-microscopic findings after transmyocardial laser revascularization in an acute ischemic pig model. *Eur.J.Cardiothorac.Surg.* 13 (4): 398-403, 1998.
- (60) Mito K: Characteristics of laser Doppler flowmeters with differing optical arrangements. *Journal of medical Engineering and Technology* 16 (6): 236-242, 1992.
- (61) Moosdorf R, Maisch B, and Höffken H: Transmyokardiale Laserrevaskularisation-Grenzen und Möglichkeiten. *Z.Kardiol.* 85: 281-285, 1996.
- (62) Moosdorf R, Schoebel FC, and Hort W: Transmyocardial laser revascularization morphologic, pathophysiologic and historical principles of indirect revascularization of the heart muscle. *Z.Kardiol.* 86 (3): 149-164, 1997.

- 
- (63) Moosdorf R: Transmyocardial revascularization. *Z.Kardiol.* 86 Suppl 1: 115-124, 1997.
- (64) Mueller XM, Tevaeearai HH, Genton CY, Bettex D, and von Segesser LK: Transmyocardial laser revascularisation in acutely ischaemic myocardium. *Eur.J.Cardiothorac.Surg.* 13 (2): 170-175, 1998.
- (65) Nägele H, Kalmar P, Lubeck M, Marcsek P, Nienaber CA, Rodiger W, Stiel GM, and Stubbe HM: Transmyocardial laser revascularization--a treatment option for coronary heart disease?. *Z.Kardiol.* 86 (3): 171-178, 1997.
- (66) Nägele H, Kalmar P, Nienaber CA, Rodiger W, and Stubbe HM: Place of trans-myocardial laser revascularization in treatment-resistant coronary heart disease. *Dtsch.Med.Wochenschr.* 122 (37): 1117-1120, 1997.
- (67) Nägele H, Stubbe HM, Nienaber C, and Rodiger W: Results of transmyocardial laser revascularization in non-revascularizable coronary artery disease after 3 years follow-up [see comments]. *Eur.Heart J.* 19 (10): 1525-1530, 1998.
- (68) Okada M, Shimizu K, Ikuta H, Horli H, and Nakamura K: A new Method of myocardial revascularization by laser. *Thorac.Cardiovasc.Surg.* 39: 1-4, 1991.
- (69) Okada M: Transmyocardial laser revascularization (TMLR): a long way to the first successful clinical application in the world. *Ann.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 4 (3): 119-124, 1998.
- (70) Pelletier MP, Giaid A, Sivaraman S, Dorfman J, Li CM, Philip A, and Chiu RC: Angiogenesis and growth factor expression in a model of transmyocardial revascularization. *Ann.Thorac.Surg.* 66 (1): 12-18, 1998.
- (71) Reuthebuch O, Podzuweit T, Thomas S, Binz K, Roth M, Kloevekorn W, and Bauer EP: Transmyocardial laser revascularization has no beneficial effect on high energy phosphates and lactate content during acute myocardial ischemia in pigs. *Eur.J.Cardiothorac.Surg.* 16: 144-149, 1999.

- 
- (72) Rimoldi O, Burns SM, Rosen SD, Wistow TE, Schofield PM, Taylor G, and Camici PG: Measurement of myocardial blood flow with positron emission tomography before and after transmyocardial laser revascularization. *Circulation* 100 (19): 134-138, 1999.
- (73) Sachs L: *Angewandte Statistik*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1997.
- (74) Schofield PM, Sharples LD, Caine N, Burns SM, Tait S, Wistow TE, Buxton M, and Wallwork J: Transmyocardial laser revascularization in patients with refractory angina: a randomised controlled trial. *Lancet* 353: 519-524, 1999.
- (75) Schweitzer W, Schneider J, Maass D, and Hardmeier T: Transmyocardial laser revascularization. Histopathology of laser channels in 10 postoperatively deceased patients 1 to 18 days after treatment with a CO2 laser. *Pathologe* 18 (5): 374-384, 1997.
- (76) Sen PK, Daultram J, Kinare SG, and Udwadia TE: Further studies in multiple transmyocardial acupuncture as a method of myocardial revascularisation. *Surgery* 64 (5): 861-870, 1968.
- (77) Sen PK, Udwadia TE, and Kinare SG: Transmyocardial acupuncture; A new approach to myocardial revascularisation. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 50: 181-189, 1965.
- (78) Spanier T, Smith CR, and Burkhoff D: Angiogenesis: a possible mechanism underlying the clinical benefits of transmyocardial laser revascularization. *J.Clin.Laser Med.Surg.* 15 (6): 269-273, 1997.
- (79) Unger F: Cardiac Interventions in Europe 1997: Coronary revascularization procedures and open heart surgery. *Cor Europaeum* 1999; 7: 177-189.
- (80) Vineberg A and Miller G: Internal Mammary coronary Anastomosis in the Surgical treatment of coronary Artery Insufficiency. *Canadian medical association Journal* 64: 204-210, 1951.
- (81) Walter B, Bauer R, Krug A, Derfuss Th, Traichel F, and Sommer N: Simultaneous Measurement of Local Cortical Blood Flow and Tissue

- Oxygen Saturation by Near infrared-red Laser Doppler Flowmetry and Remission Spectroscopy in the Pig Brain. *Acta Neurochir.Suppl.* 81: 197-199, 2002.
- (82) Walter P, Hundeshagen H, and Borst,HG: Treatment of acute myocardial infarction by transmural blood supply from the ventricular cavity. *Eur.Surg.Res.* 3: 130-138, 1971.
- (83) Wearn JT, Mettier SR, Klumpp TG, and Ziesche IJ: The nature of the vascular communications between the coronary arteries and the chambers of the heart. *Am.Heart J.* 9: 143-164, 1933.
- (84) Wegmann FJ, Jensen TH, Valentin N: Universelle intravenöse Anästhesie mit Ketamin und Midazolam. *Anaesthesist*, 39: 367-370, 1990.
- (85) Weigand C and Liepsch D: Vergleich von gepulster Duplex-Sonographie und hochauflösender Laser-Doppler-Anemometrie bei Messung instationärer Strömungsfelder. *Biomedizinische Technik* 42 (Supplement): 225-226, 1997.
- (86) Whittaker P, Kloner RA, and Przyklenk K: Laser-Mediated Transmural Myocardial Channels do Salvage Acutely Ischemic Myocardium. *J.Am.Coll.Cardiol.* 22 (1): 302-309, 1993.
- (87) Whittaker P, Rakusan K, and Kloner RA: Transmural channels can protect ischemic tissue. Assessment of long-term myocardial response to laser- and needle-made channels. *Circulation* 93 (1): 143-152, 1996.
- (88) Whittaker P: Detection and assessment of laser-mediated-injury in transmural revascularization. *J Clin Laser Med Surg*, 15: 261-267, 1997.
- (89) Wijns W, Vatner SF, and Camici PG: Hibernating myocardium. *N.Engl.J.Med.* 339 (3): 173-181, 1998.
- (90) Yamamoto N, Kohmoto T, Roethy W, Gu A, DeRosa C, Rabbani LE, Smith CR, Burkhoff D: Histologic evidence that basic fibroblast growth factor



enhances the angiogenic effects of transmyocardial laser revascularization. *Basic Res Cardiol*; 95(1): 55-63, 2000.

- (91) Yano OJ, Bielefeld MR, Jeevanandam V, Treat MR, Marboe CC, Spotnitz HM, and Smith CR: Prevention of acute regional ischemia with endocardial laser channels. *Ann.Thorac.Surg.* 56: 46-53, 1993.

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Heidt für die stets freundliche Unterstützung, sowie für die konstruktiven Anregungen bei der Durchführung und Erstellung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. Vogt möchte ich für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit und seiner freundlichen Unterstützung danken.

Mein Dank gebührt auch all den lieben Menschen, die mir bei der Erstellung meiner Dissertation sowohl fachlich als auch menschlich hilfreich zur Seite standen.

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

# Lebenslauf

## Persönliche Angaben

Name: Gerhard Roth  
Geburtstag und –ort: 12.03.1972 in Dettingen am Albuch  
Eltern: Hans und Emma Roth, geb. Rau

## Schulbildung

1978 – 1982 Grundschule Dettingen  
1982 – 1989 Hellenstein-Gymnasium Heidenheim  
1989 – 1992 Technisches-Gymnasium Heidenheim  
17.06.1992 Abitur

## Zivildienst

1992 – 1993 Krankenpflegehelfer Kreiskrankenhaus Heidenheim

## Studium

Oktober 1993 Beginn des Studiums an der Justus-Liebig-Universität in Gießen  
05.09.1995 Ärztliche Vorprüfung in Gießen  
29.08.1996 1.Staatsexamen in Gießen  
17.09.1999 2.Staatsexamen in Gießen  
Oktober 1999 Fortsetzung des Medizinstudiums an der Universität in Ulm  
Praktisches Jahr an der Klinik am Eichert in Göppingen  
26.10.2000 3.Staatsexamen in Göppingen (Universität Ulm)

## **Ärztliche Tätigkeit**

01.01.2002 – 30.06.2002 Arzt im Praktikum in der Chirurgischen Abteilung des  
Kreiskrankenhauses in Nürtingen

01.07.2002 – 30.11.2002 Fortführung der Dissertation

Seit 01.12.2002 Assistenzarzt in der Allgemein- und  
Visceralchirurgischen Klinik im Städtischen Klinikum  
Esslingen