Aus der Universitäts-Hautklinik Tübingen

Abteilung Dermatologie
(Allgemeine Dermatologie mit Poliklinik)

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. M. Röcken

Hämodynamische Parameter bei der initialen Atherogenese in-vivo beim cholesteringefütterten Kaninchen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Jean Rieber
aus
Bukarest in Rumänien

2003

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. M. Jünger
2. Berichterstatter: Professor Dr. H. Heinle

Für Elena Vasiliu und Jean Rieber sen.,
denen es leider nicht mehr vergönnt war
die Fertigstellung dieser Arbeit zu erleben

1 Inhaltsverzeichnis

1 Abkürzungsverzeichnis 4

2 Einleitung 5

2.1 Bedeutung der peripheren arteriellen Verschlusserkrankung 5

2.2 Pathogenese 6

2.2.1 Makroangiopathie 6

2.2.2 Mikroangiopathie 7

2.3 Symptomatik 8

2.4 Diagnostik 11

2.5 Therapeutische Verfahren 13

3 Material und Methoden 16

3.1 Tiermodell 16

3.1.1 Tiere 16

3.1.2 Klinisch-chemische Parameter 16

3.1.3 Narkose 17

3.2 Laser Doppler Fluxmetrie 17

3.3 CW-Doppler Ultraschall 21

3.4 EKG 21

3.5 Blutdruckmessung 21

3.6 Pulswellenlaufzeit (PWLZ) und Diastolische Ankunftszeit (diastolic arrival time, DAT) 21

3.7 Elektronische Datenverarbeitung 23

3.8 Messanordung und Studienverlauf 24

3.9 Grundlagen der Signalverarbeitung 24

3.9.1 Zeitreihen 24

3.9.2 Fourier-Analyse 25

3.9.3 Waveletanalyse 26

3.9.4 Biorthogonalzerlegung 29

3.9.5 Statistik 32

3.9.6 Morphometrie 32

4 Ergebnisse 34

4.1 Körpergewicht und Futteraufnahme 34

4.2 Laborchemische Parameter 37

4.2.1 Hämatologische Parameter 37

4.2.2 Klinische Chemie 38

4.3 Morphometrie 45

4.4 Hämodynamische Parameter 48

4.4.1 Pulswellenlaufzeit und Diastolische Ankunftszeit 48

4.4.2 Herzfrequenz und Blutdruck 51

4.4.3 Laser Doppler Flux (Mittelwert) 53

4.4.4 Waveletanalyse der LDF Zeitreihen 55

4.4.5 Biorthogonalzerlegung der LDF-Zeitreihen (nicht-lineare Analyse) 60

5 Diskussion 63

5.1 Laborchemische Parameter 63

5.1.1 Hämatologische Parameter 63

5.1.2 Klinische Chemie 64

5.2 Morphometrie 65

5.3 Hämodynamische Parameter 66

5.4 Laser Doppler Fluxmetrie (LDF) 67

5.5 Waveletanalyse 67

5.6 Biorthogonalzerlegung 69

6 Zusammenfassung 70

7 Literaturverzeichnis 72

8 Danksagung 81

9 Lebenslauf 82

10 Anhang A 83

10.1 Korrelationen 83

10.1.1 Stenosegrad und Pulswellenlaufzeit (PWLZ) bzw. diastolischer Ankunftszeit (DAT) 83

10.1.2 Prozentuale Stenosegrade und Anzahl der Stenosen in A. iliaca und A. femoralis rechts 84

10.1.3 Stenosegrad und Laser Doppler Fluxmetrie (LDF) 84

10.1.4 Laser Doppler Fluxmetrie und Waveletanalyse 84

10.1.5 Waveletanalyse mit Pulswellenlaufzeit und diastolischer Ankunftszeit 86

10.1.6 Biorthogonalzerlegung mit Pulswellenlaufzeit (PWLZ) und diastolischer Ankunftszeit (DAT) 89

10.1.7 Biorthogonalzerlegung und Waveletanalyse 90

2 Abkürzungsverzeichnis

A.	Arterie
AU	Arbitrary units
DAT	Diastolische Ankunftszeit
HF	Herzfrequenz
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDF	Laser Doppler Flux
NO	Stickstoffmonoxid
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PGE1	Prostaglandin E1
PU	Perimed units (arbitrarische Einheiten)
PWLZ	Pulswellenlaufzeit
RF	Risikofaktoren
SL	Scaling Level
$tcPO_2$	transkutaner Sauerstoffpartialdruck

3 Einleitung

3.1 Bedeutung der peripheren arteriellen Verschlusserkrankung

In den westlichen Industrienationen sind Arterienerkrankungen, in der überwiegenden Anzahl der Fälle in Form der Atherosklerose, die häufigste Ursache für Tod und Invalidität. Die Anzahl der Todesfälle durch Herz-Kreislauferkrankungen betrug 1999 ca. 410 000 und war damit doppelt so hoch wie die Mortalität durch bösartige Neubildungen und mehr als dreimal so hoch wie alle übrigen erfassten Todesursachen zusammen (Statistisches Bundesamt 2001).

Die arterielle Makroangiopathie stellt eine systemische Erkrankung dar, die sich hämodynamisch wirksam in allen Organen des Körpers manifestieren kann, führend bei der arteriellen Verschlusserkrankung sind mit 47,3% Stenosen im Bereich der hirnversorgenden Arterien, gefolgt von Verengungen der epikardialen Koronargefäße (KHK) in 40% der Fälle und der peripheren arteriellen Verschlusserkrankung (pAVK) mit einem Anteil von 12,3%. (Kiesewetter et al. 1984,Kiesewetter et al. 1987) Die pAVK geht mit einer Prävalenz zwischen 5,1% (Marshall 1986, Zimmermann 1995) und 11,9% (Criqui et al. 1992) jedoch nicht nur als eigenständige Erkrankung der befallenen Extremität mit einer erhöhten Mortalität einher, vielmehr stellen die KHK, die in 50% der Fälle bei pAVK II und praktisch immer bei pAVK IV vorliegt und die drohende zerebrale Ischämie aufgrund von stenosierenden Prozessen der Karotiden, die sich bei 70% der Patienten mit pAVK finden, ein erhebliches Risiko für die Patienten dar. Das relative Mortalitätsrisiko von Patienten mit pAVK liegt im Vergleich zu einem gesunden Kontrollkollektiv insgesamt bei 3,1; das Risiko an einem Myokardinfarkt zu versterben ist bei symptomlosen Patienten um das siebenfache erhöht. Kommt es bei schwerer pAVK zu Symptomen wie Claudicatio intermittens oder trophischen Störungen der betroffenen Extremität ist die Mortalität sogar um das 15fache erhöht (Criqui et al. 1992, Leng et al. 1996). Abgesehen von den kardiovaskulären Risiken ist bei fortgeschrittener pAVK im Stadium III und IV der Patient bei drohender

Amputation zusätzlich durch die Operationsrisiken gefährdet, die Letalität bei Amputation einer großen Gliedmaße beträgt immerhin 22-40% (Kretschmer et al. 1983, Tung et al. 1983Alexander 1984).

3.2 Pathogenese

3.2.1 Makroangiopathie

Grosse epidemiologische Studien (Criqui et al. 1992, Mosca et al. 1997, de Jong 1997) konnten zeigen, dass es bei der Existenz bestimmter Risikofaktoren (RF) häufiger zur Entwicklung einer pAVK kommt als bei Patienten ohne diese Merkmale.
Bei Vorliegen eines Risikofaktors erster Ordnung ist das Risiko einer pAVK um das Zweieinhalbfache erhöht und steigt bei Vorliegen von drei Risikofaktoren bis auf das sechsfache im Vergleich zu Personen ohne Risikofaktoren an **(**Criqui et al. 1992, Kuller et al. 1995, Mosca et al. 1997, de Jong 1997**)** .

Tab. 1: Risikofaktoren erster Ordnung der obliterierenden Arteriosklerose

► arterielle Hypertonie
► Diabetes mellitus
► Rauchen
► Hyperlipoproteinämie
► familiäre Disposition

Nach der „response-to-injury“ Theorie stellt die Endothelläsion den initialen Faktor für den Beginn arteriosklerotischer Veränderungen in Gefäßen dar. Als mögliche Ursachen kommen neben erhöhten Serum-Cholesterin-Werten (v.a. LDL-Cholesterin) und chemischen Reizungen beispielsweise durch Kohlenmonoxid auch Strömungsunregelmäßigkeiten welche hauptsächlich in Gefäßaufzweigungen vorkommen in Frage. Nach dem Verlust der

Integrität des Endothels kommt es zum einen zur Aktivierung des lokalen Gerinnungssystems, zum anderen zur Intimaproliferation. Da alle an der Atherogenese beteiligten Zellarten (Endothelzellen, Myozyten, Thrombozyten und Zellen des Monozyten-Makrophagen Systems) Wachstumsfaktoren wie z.B. den „plateled derived growth factor“ (PDGF) ausschütten, kommt es im weiteren Verlauf zur Formation fibrinöser Plaques, zusätzlich ist bei gestörter Endothelfunktion die Ausschüttung vasoprotektiver Substanzen wie beispielsweise Prostazylin oder vasodilatierender Faktoren wie Stickstoffmonoxid (NO) gestört, so dass es hier zusätzlich zu einer Begünstigung der Thrombozytenaggregation kommt.
Durch Verdickung der Arterienwand bei Intimaödem und gleichzeitiger Proliferation glatter Muskelzellen kann es dann mit oder ohne intraluminalem Thrombus zum völligen Verschluss des Gefäßes kommen.
Kommt es bei zentralen Nekrosen aufgrund von Sauerstoffmangel und entzündlichen Prozessen zur Einlagerung von Kalk- und Cholesterinsalzen entsteht ein zunehmend instabiler Plaque, bestehend aus einem zentralen „Cholesterinsee“ mit einer fibrinösen Kappe, welche durch lymphozyten- und makrophagenvermittelte entzündliche Aktivität mit Freisetzung proteolytischer Substanzen zunehmend aufgebraucht wird (Libby 1991).
Bei einer Plaqueruptur kann es dann durch Kontakt der zentral nekrotischen Anteile mit dem Blut und Aktivierung der Gerinnungskaskade zur akuten Thrombosierung und somit zu einem akuten Verschluss des Gefäßes auch bei Stenosen unter 50% kommen, ein Pathomechanismus wie er beispielsweise beim akuten Myokardinfarkt gefunden wird.

3.2.2 Mikroangiopathie

Die Regulation der Mikrozirkulation hat im wesentlichen drei Aufgaben zu bewältigen. Erstens muss eine ausreichende Perfusion sichergestellt werden um die Funktion des Gewebes bis in den Bereich der „letzten Wiese“ aufrechtzuerhalten, zweitens muss der transmurale Druck klein genug bleiben um eine übermäßige Filtration in das umliegende Gewebe zu verhindern und drittens darf die Organperfusion im Rahmen eines hohen Bedarfes

nicht zu stark gesteigert werden, um eine Überlastung des kardiovaskulären Systems und/oder eine Minderperfusion anderer Organe zu verhindern (Groebe 1996).
Bisher ist nur wenig über die Veränderung der Hämodynamik in minderdurchbluteten Geweben bei Atherosklerose bekannt. Videomikroskopische Untersuchungen im Bereich der Zehen bei Patienten mit bekannter pAVK konnten zwar zeigen, dass es zu einer Erhöhung des kapillären Blutflusses in Ruhe und einer postocclusiv abgeschwächten reaktiven Hyperämie kommt (Schwarz et al. 1984), eine Quantifizierung der Einflüsse oder die Bestimmung einer Abhängigkeit der eingeschränkten Mikrozirkulation von den verschiedenen Stadien der Ischämie gelang bisher allerdings nicht (Jünger et al. 1988).
Unabhängig von der Hämodynamik kommt es in ischämischen Gebieten zusätzlich zu einer progredienten Erhöhung der kapillären Permeabilität bis hin zur Mikrohämorrhagie (Jünger et al. 1988). Eine Ursache für diese Entwicklung ist neben dem Auflösung der Wandintegrität von Kapillaren bei anhaltender Ischämie (Gidlöff et al. 1981) ein Verlust der Autoregulation in diesen Gebieten (Henriksen 1974), was zu einer Erhöhung der transkapillären Filtration bis auf das 13fache der Norm führen kann (Levick und Michel 1978). Gleichzeitig mit dieser Steigerung kommt es jedoch zu einer deutlichen Einschränkung des transkutanen Sauerstoffpartialdruckes als Ausdruck einer Gewebehypoxie (Jünger et al. 1988).

3.3 Symptomatik

Körpereigene Kompensationsmechanismen sorgen für ein langes symptomarmes bzw. sogar symptomloses Intervall, da die Ruhedurchblutung erst bei einem Stenosegrad über 80% gemindert wird. Poststenotisch kommt es zur Vasodilatation mit Senkung des Strömungswiderstandes und damit zur Perfusionssteigerung, ferner werden bei chronischem Prozess Kollateralarterien gebildet, die bei ausreichend langer Laufzeit der Erkrankung die Durchblutung der betroffenen Extremität zumindest in Ruhe vollständig übernehmen können, zusätzlich wird der Sauerstoff in minderperfundierten Regionen vermehrt aus dem Blut extrahiert (Bohr-Effekt), während in den Zellen selbst eine vermehrte anaerobe Energiebereitstellung und Optimierung der mitochondrialen Sauerstoffausschöpfung erfolgt. Erst

nach Versagen all dieser Kompensationsmechanismen kommt es zunächst unter Belastung zu den ersten Beschwerden.

Die heute gebräuchlichste Einteilung der klinischen Schweregrade wurde 1954 von Fontaine erstellt und ist in Tabelle 2 dargestellt.

Das Stadium I stellt aufgrund der fehlenden Symptome in der Regel einen Zufallsbefund dar (Hoffmann und Bollinger 2000). Erste Beschwerden manifestieren sich im Stadium II nach Fontaine typischerweise zunächst als belastungsabhängige Schmerzen, welche bei Auftreten in den Armen Dyspraxia intermittens und bei Auftreten in den Beinen Claudicatio intermittens genannt werden, wobei die Verschlüsse bei der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit zu 85-90% in den unteren Extremitäten liegen. Je nach Lokalisation der Stenose kommt es hierbei nach einer bestimmten Gehstrecke bei den Patienten zu typischen Schmerzen im Bereich der Beine, am häufigsten in den Waden (Hoffmann und Bollinger 2000), die zum Stehen bleiben zwingen und dabei vollständig abklingen („Schaufensterkrankheit“). Eine Einteilung der pAVK nach Verschlusslokalisation und die damit verbundene typische Projektion der Schmerzen ist in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tab. 2: Einteilung der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit nach Fontaine

Stadium	Definition
I	objektivierbare Verschlusskrankheit ohne klinische Symptome
IIa	Claudicatio intermittens, Gehstrecke über 200m
IIb	Claudicatio intermittens, Gehstrecke unter 200m
III	Ruheschmerzen
IV	trophische Störungen (Nekrose, Gangrän)

Tab. 3: Einteilung der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit nach Lokalisation

Typ	**Verschlusslokalisation**	**Schmerzlokalisation**	**Pulsausfall**	**Häufigkeit [%]**
Beckentyp	Aorta abdominalis A. iliaca	Gesäß- und Oberschenkel- muskulatur	A. femoralis A. poplitea Fußarterien	4,8-21,6
Oberschenkel- typ	A. femoralis A. poplitea	Wadenmuskulatur	A. poplitea Fußarterien	47-71,4
Peripher -akraler Typ	A. tibialis anterior und posterior A. dorsalis pedis	Fußsohle	A. tibialis posterior A. dorsalis pedis	15,6-35

Im Laufe der Zeit kommt es bei ca. 10% der Patienten mit Claudicatio intermittens zu einer kritischen Ischämie mit Auftreten von Ruheschmerzen, welche durch Reduktion des hydrostatischen Druckes und der damit verbundener Senkung des Perfusionsdruckes häufig zunächst nachts bei Horizontallagerung des Beines auftreten (pAVK III). Linderung erfahren hierbei die Patienten indem sie die betroffene Extremität nachts aus dem Bett hängen lassen oder aufstehen. Rasch kommt es infolge einer Minderdurchblutung der Haut zu trophischen Störungen (Stadium IV), die häufig zuerst an druckexponierten Stellen wie Groß- und Kleinzehballen oder am Nagelfalz nach Mikrotraumatisierung beispielsweise im Rahmen einer Pediküre auftreten und zu Nekrosen, Gangrän oder Ulcera führen.

3.4 Diagnostik

Wie in Tabelle 3 bereits beschrieben, erlaubt die sorgfältige Erhebung des Pulsstatus in Verbindung mit einer genauen Schmerzanamnese bereits eine approximative Lokalisierung des Strombahnhindernisses. Nach dem Stellen der Verdachtsdiagnose stehen eine Reihe von weiteren apparativen Diagnostikmöglichkeiten zur Verfügung, die in Tabelle 4 erläutert werden.

Tab. 4: Diagnostische Verfahren zur Erkennung und Quantifizierung der pAVK

Methode	Durchführung	Vorteile	Nachteile
nicht-invasive Untersuchungen			
Dopplersonographische Untersuchungen			
Arterielle Verschlussdruckmessung	Bestimmung des postocclusiven Blutflusses bei Kompression mittels einer Blutdruckmanschette	· Einfache Durchführung Störungen der · Perfusion im gesamten Gefäßbaum werden erfasst · In Kombination mit Belastungsuntersuchungen dynamische Messungen möglich	· Keine morphologische Darstellung · Genaue Lokalisation der Stenose nicht möglich
Farbkodierte Duplexsonographie	Kombination eines zweidimensionalen Ultraschallschnittbildes mit der Doppler-Sonographie	· Genaue Morphologie eines Gefäßes mit den darin herrschenden Strömungsverhältnisse darstellbar (damit hämodynamische Relevanz einer Stenose abschätzbar) · Hohe Sensitivität (80%) und Spezifität (90-100%)	· Hoher apparativer Aufwand · Hohe Abhängigkeit von der Erfahrung des Untersuchers · Veränderungen der Unterschenkelarterien nicht zuverlässig darstellbar (Donelly et al. 2000).
Transkutane Sauerstoffpartialdruckmessung	Messung des Sauerstoffpartialdruckes im Bereich der oberen 100µm der Haut	Darstellung des Nutrifikationzustandes der Haut, damit Aussage über die Mikrozirkulation möglich	Quantifizierung einer Störung der Makrohämodynamik nicht möglich

Tab. 5: Diagnostische Verfahren zur Erkennung und Quantifizierung der pAVK

Methode	Durchführung	Vorteile	Nachteile
invasive Untersuchungen			
Angiographie und digitale Subtraktionsangiographie	Radiologische Kontrastmitteldarstellung mit oder ohne anschließende elektronische Datenverarbeitung	· Hohe Sensitivität und Spezifität · Detailinformationen über Lokalisation, Ausdehnung und Morphologie einer Stenose · Darstellung der Art bzw. des Umfanges einer evtl. vorliegenden Kollateralversorgung	· Sehr hoher apparativer Aufwand · Funktionelle Darstellungen, wie z.B. Strömungsprofile/-geschwindigkeiten nicht möglich

3.5 Therapeutische Verfahren

Eine Vielfalt von medikamentös-konservativen, interventionellen und operativen Behandlungsmöglichkeiten stehen heute zur Behandlung der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit zur Verfügung.

Einen wesentlichen Gesichtspunkt bei der Auswahl des geeigneten Verfahrens stellt das Stadium der Erkrankung dar, da sich die Therapiekonzepte und -ziele je nach Fortschritt der Erkrankung erheblich voneinander unterscheiden. Während im Stadium I und II nach Fontaine die Verhütung einer weiteren Progression und die Verbesserung der Lebensqualität im Vordergrund steht ist im Stadium III und IV der Erhalt der betroffenen Extremität vordergründig. Dabei sind im Stadium II die Verlängerung der Gehstrecke, im Stadium III die Verminderung des Ruheschmerzes und im Stadium IV die Abheilung der trophischen Läsionen Ziel der Bemühungen.

Tabelle 6 zeigt eine Übersicht der heute hauptsächlich zur Verfügung stehenden therapeutischen Maßnahmen.

Tab. 6: Therapeutische Maßnahmen zur Behandlung der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit.
HAES Hydroxyäthylstärke PGE1 Prostaglandin E1

Konservative Maßnahmen	**Semi-operative Maßnahmen**	**Operative Maßnahmen**
1. Medikamentöse Therapie ▶ rheologisch PGE1 (Prostavasin®) Pentoxifyllin (Trental®) Naftidrofuryl (Dusodril®) HAES® 3/6/10% ▶ analgetisch ▶ antibiotisch (bei infiziertem Stadium IV) **2. Lokale Therapie** ▶ Vermeidung von Druckstellen ▶ Debridement ▶ Wundverbände ▶ Kompressionsbehandlung bei poststenotischen Blutdruckwerten >70mmHg ▶ apparative oder manuelle Lymphdrainage **3. Ergotherapie** ▶ Gefäßsport ▶ Einübung eines physiologischen Gangbildes	**1. Periphere Transkutane Angioplastie (PTA)** **2. lokale Lyse** **3. epidurale Elektostimulation**	**1. Thrombendarterektomie** **2. lumbale Sympatikolyse** **3. Bypassimplantation** **4. Amputation**

Da die Therapie ebenso wie die Prognose bei der pAVK maßgeblich vom Stadium der Erkrankung abhängen, wird es bei einem immer umfangreicherem Angebot an konservativen, semikonservativen und auch operativen Maßnahmen zunehmend wichtiger neue Methoden zur präzisen Früherkennung bzw. zur genauen Stadieneinteilung zu finden. Für die Erforschung des Krankheitsbildes gibt es unterschiedliche Modelle, die das Ziel haben atherosklerotische Prozesse auf zellulärer und genetischer Ebene zu verstehen und neue pharmakotherapeutische Ansätze zu finden. Ein etabliertes Modell stellt das cholesteringefütterte, weiße Neuseelandkaninchen dar (Moore und Williams 1964, Vles et al. 1964, Albrecht und Schuler 1965, Heinle und Liebich 1980, Heinle et al. 1982, Betz und Hammerle 1986, Heinle 1987, Betz und Quack 1990)

Es liegt daher nahe an einem so definierten und standardisiertem Atherosklerosemodell die Makro- und Mikrohämodynamik zu bestimmen, da die physikalischen Eigenschaften, die exakte Plaquesausdehnung und die biologischen Merkmale bei der Sektion quantifiziert und mit den gemessenen hämodynamischen Größen korreliert werden können.

In der vorliegenden Arbeit wird dies mit der Anwendung der Laser Doppler Fluxmetrie und der anschließenden Analyse der erworbenen Daten mittels neuer semi-linearer und nichtlinearer Methoden versucht. Es soll durch den Verlauf der an den verschiedenen Messterminen erhobenen und analysierten Daten ein neuer Parameter zur intravitalen Beschreibung und Quantifizierung der Atherogenese anhand der Hautdurchblutung gefunden werden, insbesondere soll untersucht werden, ob durch Analyse der LDF Zeitreihen mittels Wavelets und Biorthogonalzerlegung die frühzeitige Erkennung der Atherosklerose möglich ist.

4 Material und Methoden

4.1 Tiermodell

4.1.1 Tiere

Als Versuchstiere wurden 15 männliche weiße Neuseelandkaninchen (Charles River, Kißleg) mit einem durchschnittlichen Körpergewicht (KG) von 2902±118 g verwendet. Sie wurden bei einer Durchschnittstemperatur von 16°C, einer durchschnittlichen relativen Luftfeuchtigkeit von 35% und bei natürlichem Tag-/ Nachtrhythmus in Einzelkäfigen gehalten. Nach einer Eingewöhnungsphase von 2 Wochen erhielten sie ein 0,5%iges Cholesterinfutter ad libitum für 12 Wochen. Die jeweils eingenommene Futtermenge wurde wöchentlich durch Ein- und Rückwiegen des Futters ermittelt.

4.1.2 Klinisch-chemische Parameter

Folgende Parameter wurden zu Beginn der Untersuchung, nach vier, acht und zwölf Wochen bestimmt: Zur Darstellung von Lebersynthesestörungen Albumin, Gerinnungsparameter (Quick, International Normalized Ratio (INR), Partielle Thromboplastinzeit (PTT), Fibrinogen) und Gesamteiweiß. Zur Verlaufsbeurteilung der hepatozellulären Schädigung Glutamat-Oxalat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT). Als Cholestaseparamter γ-GT, Gesamtbilirubin, Alkalische Phosphatase und für die Pankreasfunktion Lipase und Amylase, Calcium. Zusätzlich Kreatinkinase, Kreatinin, Kalium, Natrium, Lactatdehydrogenase und Glucose Im Blutbild wurden ermittelt Erythrozytenzahl, Hämatokrit, Hämoglobin (Hb), Mean Corpuscular Haemoglobine (MCH), Mean Corpuscular Haemoglobine Concentration (MCHC), Mean Corpuscular Volume (MCV), Leukozyten, Thrombozyten.

Zusätzlich wurden Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin und Triglyceride zu Beginn, nach vier, acht und zwölf Wochen postprandial und in der zweiten, sechsten und zehnten Woche präprandial bestimmt.

4.1.3 Narkose

Zur Ruhigstellung wurden die Versuchstiere im Rahmen der Untersuchung mit 22mg pro kg Körpergewicht Ketanest anästhesiert, da Ketamin im Vergleich zu anderen gebräuchlichen Narkotika wie z.B. Propofol oder Barbituraten die günstigsten Eigenschaften in Hinblick auf die dermale Perfusion zeigt, d.h. unter Ketamin sinkt die mittels LDF gemessene Perfusion im Gewebe am geringsten (Gustafsson et al. 1995).

4.2 Laser Doppler Fluxmetrie

Die Laser Doppler Fluxmetrie wurde erstmalig von Riva et al.1972 benutzt, um den Fluss in kleinen Gefäßen aufzuzeichnen. Ähnlich wie bei der herkömmlichen Dopplermessung mit Hilfe von Schallwellen basiert die Technik auf dem von Christian Doppler (1803-1853) beschriebenen Prinzip der Frequenzverschiebung von reflektierten Schallwellen durch sich bewegende Teile. Stern berichtete 1975 erstmals über eine Frequenzverbreiterung von aus der Haut reflektiertem monochromatischen Licht (Stern 1975). Diese Doppler Verschiebung resultiert aus der Interaktion der Photonen mit sich bewegenden Gewebestrukturen, wobei die roten und weißen Blutzellen den weit überwiegenden Anteil stellen.
Das Laser Doppler Signal korreliert hierbei linear mit der Gewebeperfusion, definiert als dem Produkt aus Gewebehämatokrit und mittlerer Partikelgeschwindigkeit (Nilsson et al. 1980).
Das Ausgangssignal kann folgendermaßen dargestellt werden:

$$Vout = Ko\frac{1}{n}\int_{\omega 1}^{\omega 2}\omega P(\omega)d\omega + \frac{q}{\pi TLI}\cdot\int_{\omega 1}^{\omega 2}\omega\cdot d\omega \qquad (0.1)$$

Dabei ist K_0= Gerätekonstante, n= Anzahl der Interferenzareale auf der Detektoroberfläche, P(ω)= Leistungsdichtespektrum des Photonenstroms, TLI= Gesamtlichtintensität, q= Elektronenladung, ω_1 und ω_2= Frequenzverschiebungsintervall (Öberg 1990, Scheffler et al. 1998)

Das Laser emittiert monochromatisches, hochfrequentes Licht, welches über eine Glasfaser zur Hautoberfläche des zu untersuchenden Gewebes geleitet und dort diffus gestreut wird. Das an den sich bewegenden Erythrozyten reflektierte und phasenverschobene Licht wird über einen Photodetektor erfasst und in ein elektrisches Laser Doppler Signal umgewandelt, wobei die Höhe des Signals proportional sowohl zur mittleren Geschwindigkeit als auch zur Konzentration der Blutzellen ist. In die als „Flux" bezeichnete relative richtungslose Messgröße gehen hierbei Blutfließgeschwindigkeit und Volumen der sich im Messbereich befindlichen Teilchen ein; sie wird in arbitrarischen Einheiten (AU) angegeben (Hiller und Albrecht 1991).

Abbildung 1 zeigt die graphische Darstellung einer Laser Doppler Messung.

Die Eindringtiefe des Lasers ist zum einen von der Wellenlänge des emittierten Lichtes abhängig, wobei sie bei niederen Frequenzen zunimmt, zum anderen von der Beschaffenheit der Oberfläche. Die Eindringtief des in dieser Arbeit verwendeten Laserstrahls mit der Wellenlänge von 780 nm beträgt in der Haut circa 1,5 mm-2 mm.

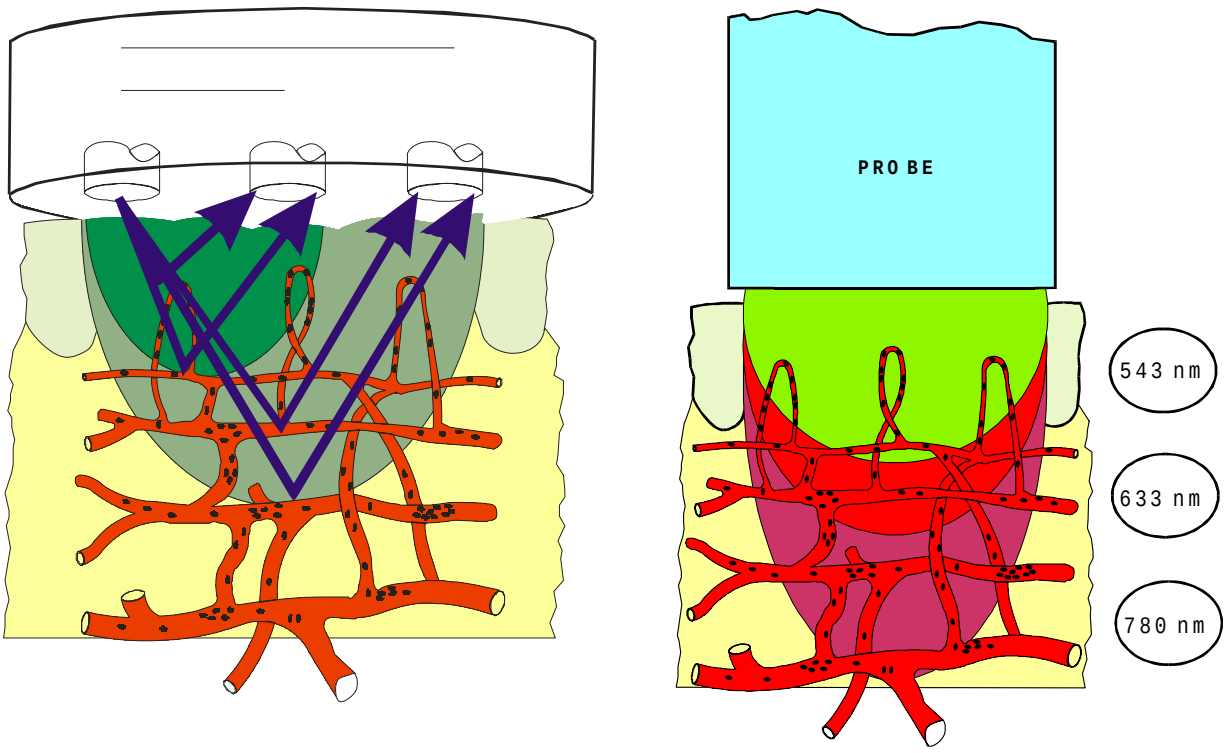

Abb. 1: Schematische Darstellung der Laser Doppler Flux Messung

In der praktischen Umsetzung einer Messung sollten zudem folgende Faktoren, welche die Qualität einer Messung erheblich beeinflussen können berücksichtigt werden.

a) Bewegungsartefakte

Wie alle Untersuchungen, die auf dem Doppler-Prinzip beruhen ist auch das LDF- Signal extrem bewegungsempfindlich. Sowohl Bewegungen der Messsonde selbst als auch solche der zu untersuchenden Oberfläche können Artefakte generieren. Trotzdem sollte keinerlei Druck, beispielsweise durch Aufsetzen der Glasfaser ausgeübt werden, da dies zu einer Verminderung der Gewebeperfusion führen kann.

b) 'Biological zero'

Dieser auch „Null-Niveau-Hebung“ genannte Effekt beschreibt Tatsache, dass sich selbst bei fehlender Perfusion, beispielsweise durch arteriellen Stau hervorgerufen, ein LDF-Signal ableiten lässt. Als Erklärung hierfür könnten Restbewegungen der Blutzellen in den Gefäßen eventuell im Zusammenhang mit Bewegungen der Gefäßwände dienen (Caspary et al. 1988). Üblicherweise werden bei Messungen heutzutage deshalb nach einer bestimmten arteriellen Stauzeit LDF-Signale erhoben und von den im Rahmen der eigentlichen Messung erhobenen Werten abgezogen. Hierbei ist allerdings noch immer nicht eindeutig geklärt, ob die unter den Bedingungen eines sistierenden Blutflusses erhobenen Daten in der Tat genau den Signalen entsprechen, die auch unter physiologischen Bedingungen, d.h. ohne Blutstau, die Messung beeinflussen oder ob sie erst durch die arterielle Stauung generiert werden.

Die im Rahmen dieser Arbeit an den verschiedenen Versuchsterminen erhobenen Daten werden im wesentlichen miteinander verglichen. Hierbei spielen die relativen Veränderungen der im weiteren genannten hämodynamischen Parameter im Verlauf der einzelnen Versuchstermine die wesentliche Rolle, so dass dieser Effekt unberücksichtigt blieb. Als Referenzwert wurde hierbei der Laser Doppler Flux am ersten Messtermin verwendet

c) Eindringtiefe

Bei Einsatz einer Oberflächensonde nimmt das Signal bei der Messung des kutanen Blutflusses mittels LDF nahezu exponentiell mit der Gewebetiefe ab. Beträgt die Wellenlänge der verwendeten Sonde 633nm, so beläuft sich die Eindringtiefe auf ca. 1-1,5 mm, bei dem in dieser Arbeit verwendeten roten Laser mit einer Wellenlänge von 780 nm konnte an Hirngewebe eine Eindringtiefe von bis zu 2 mm nachgewiesen werden (Fabricius et al. 1997).

Darüber hinaus nimmt die Eindringtiefe mit zunehmender Dicke der Epidermis an verschiedenen Hautregionen, stärkerer Pigmentierung der Haut und bei pathologischen Veränderungen wie z.B. Hautödemen ab (Hahn et al. 1998, Larrson et al. 2002, Ludolf et al. 1993).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ein roter Laser mit einer Wellenlänge von 780 nm verwendet (Perimed 4001, Perimed Sweden). Es wurden 30000 Einzeldaten innerhalb von 5 Minuten erfasst, aus denen der mittlere kutane Blutfluss errechnet wurde (siehe auch Kap. 3.7). Die Geräteeinstellung war auf eine Ausgabefrequenz von 33 Hz eingestellt, d.h. alle 0,03 Sekunden wurde ein Messwert ausgegeben. Es wurde kein Filter verwendet.

Die Fiberoptiksonde wurde mit einem Schwanenhals berührungslos und erschütterungsfrei am distalen Vorfuß der rechten Pfote platziert. Abbildung 2 zeigt die Fixation des Versuchskaninchens und die Platzierung der Laser Doppler Sonde.

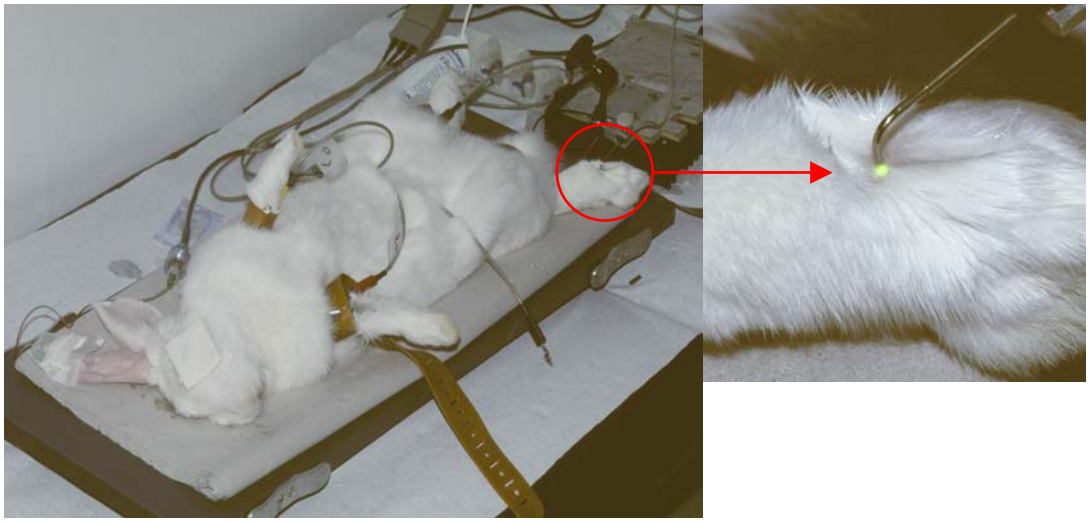

Abb. 2: Fixation des Versuchstieres und Platzierung der LDF-Sonde

4.3 CW-Doppler Ultraschall

Zur Aufnahme der Blutflussgeschwindigkeit wurde zum einen ein Debitmetre ultrasonique directionel von Delande elektronique mit einer 8 MHz Stiftsonde an der A. femoralis communis und zum anderen ein Dyne Flow pocket Doppler mit einer 4 MHz Sonde an der Aorta abdominalis verwendet. Die weitere Datenverarbeitung ist im Detail in Kapitel 3.7 beschrieben.

4.4 EKG

Das EKG wurde mit einem HP 7341A von Hewlett-Packart aufgenommen, erfasst wurde die Extremitätenableitung III nach Einthoven.

4.5 Blutdruckmessung

Die intraarterielle Blutdruckmessung erfolgte über ein Butterfly in der Arterie des rechten Ohres (A. auricularis caudalis), welche mit 2 ml einer Lösung aus NaCl 0,9% und Heparin-Natrium (Liquemin 7500 I.E) gespült und gefüllt wurde. Die kontinuierliche Druckerfassung erfolgte mittels eines Statham Elements.

4.6 Pulswellenlaufzeit (PWLZ) und Diastolische Ankunftszeit (diastolic arrival time, DAT)

Als Parameter für die Veränderung der Hämodynamik im Verlauf des Untersuchungszeitraumes wurden zu Beginn und nach vier, acht und zwölf Wochen folgende Werte gemessen:

1. Pulswellenlaufzeit (PWLZ):

   Zeitraum zwischen der R-Zacke im EKG als Zeichen für den Beginn der Austreibungsphase des Herzens und der Ankunft der Pulswelle im peripheren Gefäß. Dafür

wurde die dopplersonographisch ermittelte Strömungsgeschwindigkeitskurve verwendet.

2. Diastolische Ankunftszeit (diastolic arrival time, DAT):

   Zeitraum zwischen der minimalen, enddiastolischen und der maximalen, endsystolischen Flussgeschwindigkeit.

Abbildung 3 zeigt die EKG-Kurve mit der R-Zacke als Trigger und den Druckkurvenverlauf in der peripheren Blutbahn.

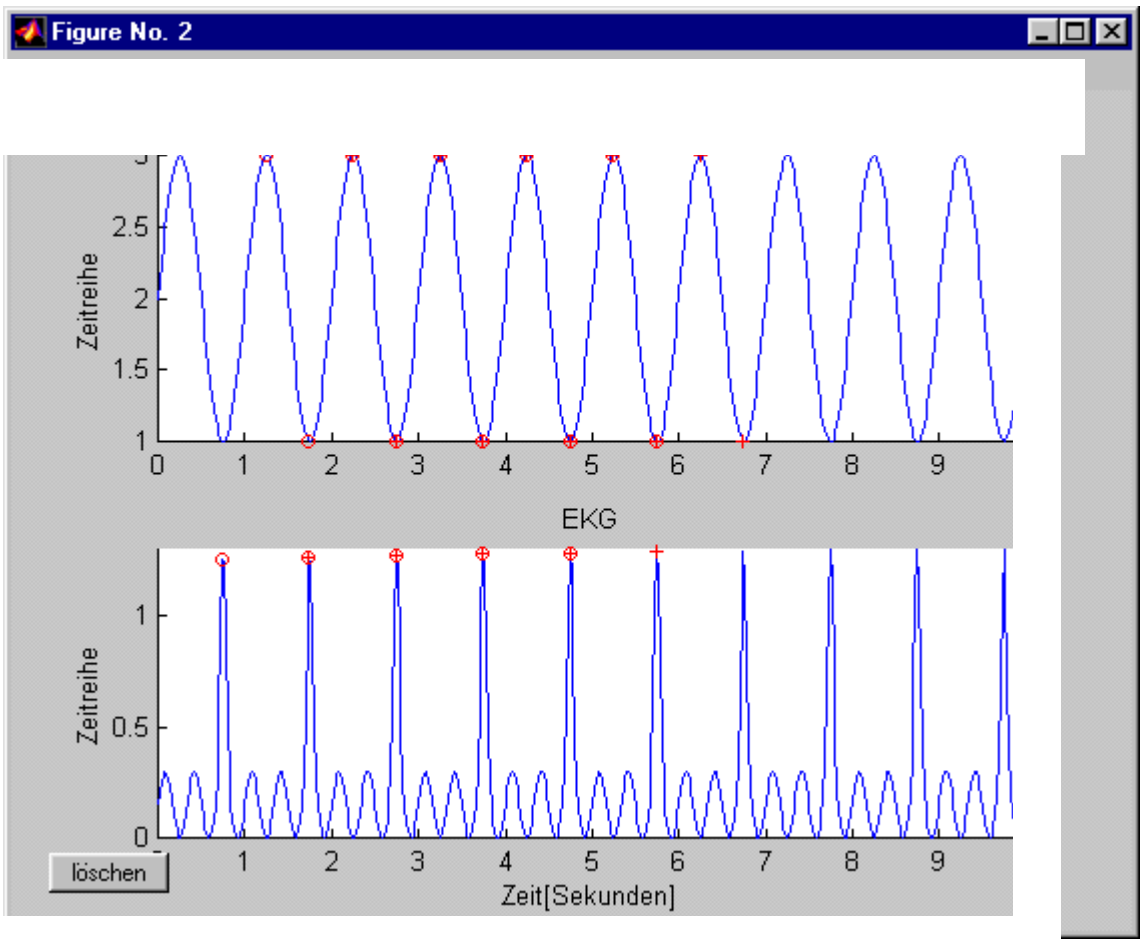

Abb. 3: Darstellung des EKG-Signals und der Blutdruckkurve in der Peripherie. Rot gekennzeichnet ist das Maximum der R-Zacke sowie jeweils das Minimum und Maximum der Druckkurve**.**

4.7 Elektronische Datenverarbeitung

Die Messdatenerfassung des Laser Doppler Fluxes, der invasiven Druckmessung, des EKGs und Dopplermessung erfolgte simultan mit Hilfe der Windows®-basierten Software Diadem® (Gesellschaft für Strukturanalyse, Aachen).
Die Messdaten wurden mit einer Auflösung von 12 Bit und einer Samplingfrequenz von 100 Hz über eine Dauer von 5 Minuten mittels eines externen A/D-Wandlers erfasst (Ana-Dig I0, MMBus von Seng). Der externe A/D-Wandler bietet insgesamt 12 analoge Eingangskanäle. Die Auswertung kann ebenfalls mit Diadem® erfolgen, optional aber auch mit jedem anderen Softwarepaket nach Abspeicherung der Messdaten im ASCII-Format. Diadem® selbst kann wesentliche Kenndaten, wie z.B. EKG, Filterung der LDF Signale und Durchschnittswerte für definierte Zeitpunkte innerhalb des Messzyklus automatisiert ermitteln. Je nach experimentellem Design können auch weitere relevante Messergebnisse errechnet werden. Dank der Möglichkeit, Autosequenzen innerhalb von Diadem® zu definieren, kann sowohl die Datenerfassung als auch die abschließende Datenauswertung, abhängig von der Aufgabenstellung, fast vollständig automatisiert werden.
Von Vorteil ist, dass die Messdaten während einer Messung oder wahlweise auch vor der Datenaufzeichnung auf dem Bildschirm in einer individuell zu gestaltenden zeitlichen Auflösung gezeigt werden. Durch die elektronische Datenerfassung wird das Problem der Trägheit von konventionellen Schreibern gelöst, so dass Minimal- und Maximalwerte vor allem während dynamischer Messanordnungen ohne zeitliche Verzögerung und Dämpfungseffekte erfasst werden können. Somit können unterschiedliche Untersuchungsmethoden synchron aufgezeichnet werden. Die zeitliche Zuordnung und die Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Methoden zur Studienfragestellung werden durch diese Art der Datenerfassung ermöglicht.
Die Einzeldaten (30000 pro Kanal) wurden als Dateien zu jeder Messung auf Festplatte abgelegt und sind daher jederzeit einer weiteren manuellen Analyse zugänglich.

4.8 Messanordung und Studienverlauf

Nach der Narkotisierung des Versuchstieres erfolgte die Aufbringung auf den Versuchstisch und die Punktion der Ohrarterie mit anschließender Spülung und Anschluss an das Statham Element. Danach wurden die EKG Elektroden angebracht und nach atraumatischer Fixierung der rechten Hinterpfote mittels eines Klebebandes zur Reduktion der Artefakte die LDF Sonde mit Hilfe eines Schwanenhalses berührungsfrei in Position gebracht. Nach Sistieren der Muskeleigenbewegungen wurde mit der Messung begonnen. Während der Untersuchung erfolgte die simultane Messung und Speicherung beider Dopplerspektren aus der A. femoralis communis (8 Mhz) und der Aorta abdominalis (4 MHz) sowie der Laserdopplerzeitreihen über den Zeitraum von 5 Minuten (zu den Einzelheiten der weiteren Datenverarbeitung siehe Kap. 3.2, 3.3 und 3.7). Zum Schluss erfolgte noch die Blutentnahme über den arteriellen Zugang zur Bestimmung der Laborparameter.
Die Messungen erfolgten zu Beginn der Untersuchung und nach vier, acht und zwölf Wochen.

4.9 Grundlagen der Signalverarbeitung

4.9.1 Zeitreihen

Wir gehen davon aus, dass bei einer Datenaufnahme im Allgemeinen *M* verschiedene Zeitreihen simultan aufgenommen werden. Die Messungen erfolgen zu den Zeiten $\{t_1, t_2, ..., t_N\}$ mit einer konstanten Abtastrate (sampling frequency)

$$f_{\text{samp}} = \frac{1}{t_{i+1} - t_i}. \qquad \textbf{(1)}$$

Diese betrug $f_{samp}=100\ Hz$.

Die gemessenen Zeitreihen werden beschrieben durch

$$\vec{\xi} = \left\{\xi_i^{(j)}\right\} = \begin{pmatrix} \xi_1^{(1)} & \xi_1^{(2)} & \cdots & \xi_1^{(M)} \\ \xi_2^{(1)} & \xi_2^{(2)} & \cdots & \xi_2^{(M)} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \xi_N^{(1)} & \cdots & \cdots & \xi_N^{(M)} \end{pmatrix} \quad \textbf{(2)}$$

$$= \begin{pmatrix} \xi^{(1)}(t_1) & \xi^{(2)}(t_1) & \cdots & \xi^{(M)}(t_1) \\ \xi^{(1)}(t_2) & \xi^{(2)}(t_2) & \cdots & \xi^{(M)}(t_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \xi^{(1)}(t_N) & \cdots & \cdots & \xi^{(M)}(t_N) \end{pmatrix}, \quad i \in \{1..N\}, \quad j \in \{1..M\}.$$

Beispiele für Zeitreihen sind in der Figur 2 dargestellt.

4.9.2 Fourier-Analyse

Die Fourier-Analyse stellt die konventionelle Auswertungsmethode für Zeitreihen dar. Sie ist definiert durch

$$\Xi_k^{(j)} = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_{l \in \{1..N\}} \xi_l^{(j)} e^{i 2\pi kl/N} = \Xi^{(j)}(f_k), \quad \text{mit } f_k = \frac{k}{N} f_{samp}. \quad \textbf{(3)}$$

Anschaulich gibt das Leistungsspektrum $\left|\Xi_k^{(j)}\right|^2$ an, wie stark die Frequenz f_k in der Zeitreihe *j* vorhanden ist.

Diese Methode eignet sich vor allem für sehr regelmäßige und lineare Systeme und ist für Analysen der Mikrozirkulation nicht besonders gut geeignet ist. Die Daten sind zum Teil irregulär und während der minutenlangen Datenaufnahmen gibt es zu viele Störeinflüsse und Phasenverschiebungen, so dass die Fourier-Spektren sehr breit werden und konkrete Aussagen über die Mikrozirkulation oft nicht möglich sind.

4.9.3 Waveletanalyse

Die Waveletanalyse ist eine Weiterentwicklung der Fourier-Analyse und ermöglicht auch die Untersuchung nichtlinearer oder unregelmäßiger Systeme. Bei der Fourier-Analyse liegt nur eine Frequenz-Auflösung vor, bei der Waveletanalyse gibt es sowohl eine Frequenzauflösung als auch eine Zeitauflösung.

Ein sogenanntes Mutter-Wavelet dient anschaulich gesprochen als Schablone, die über die Zeitreihe geführt wird. Es wird überprüft, wie gut die Schablone zu jeder Zeit auf die Zeitreihe passt. Zusätzlich wird die Schablone auch noch verkleinert. In Abbildung 4 sind verschiedene Mutter-Wavelets angegeben.

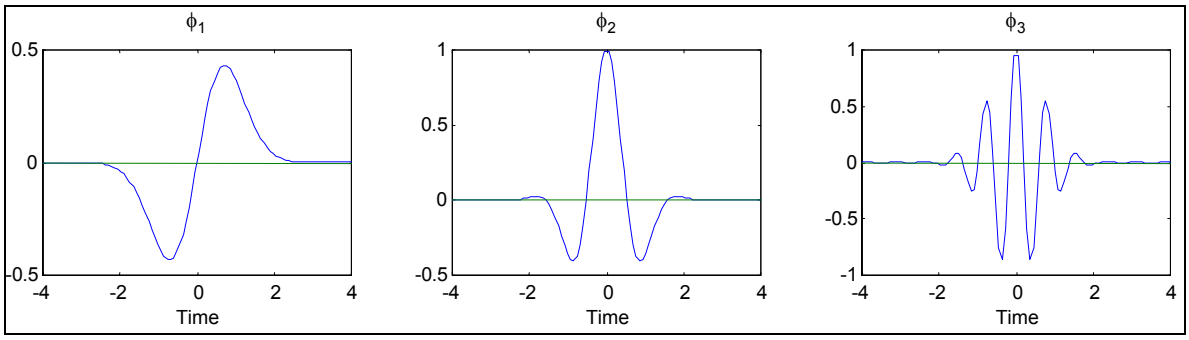

Abb. 4: Darstellung verschiedener Mutterwavelets

Im Prinzip wird die Zeitreihe $\xi^{(j)} = \left\{\xi_k^{(j)}\right\}, \quad k \in \{1..N\}$ nach dem Mutter-Wavelet ϕ bilinear entwickelt:

$$\xi_k^{(j)} = \sum W_{ls}^{(j)} \frac{1}{2^{s/2}} \phi\left(2^s k - l\right). \qquad \textbf{(4)}$$

l kann dabei als Zeitindex und s als Skalierungsindex oder Frequenzindex aufgefasst werden. Die Amplitude W_{ls} gibt dann an, wie gut das Wavelet mit einer bestimmten Skalierung

s an der Stelle *l* mit der Zeitreihe zusammenpasst. W_{ls} kann dann farblich kodiert in einem *l*-*s*- oder Zeit-Frequenz-Diagramm dargestellt werden.

Mit hochentwickelten mathematischen Methoden wird die oben genannte bi-lineare Entwicklung auch bi-orthogonal durchgeführt. Dazu stehen kommerzielle Programme zur Verfügung. Im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurde die Computer-Software *MatLab* mit der Zusatz-Toolbox *WavBox*.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Rhythmik der kutanen Blutperfusion (Vasomotionsmuster) über den Beobachtungszeitraum von 5 Minuten auf 100% skaliert. Somit werden die verschiedenen Einflussgrößen als Anteil an der Gesamtrhythmik quantifizierbar und müssen nicht mehr als Amplitude oder Frequenz angegeben werden. Hierbei ergeben sich typische Zeitskalierungsebenen für Atmung (0,6-1,2 Hz), Herzfrequenz (1,2-2,4 Hz) und Reflexion der Pulswelle in der Peripherie (2,4-9,6 Hz).

Im folgenden wird von Zeitskalierungsebenen, die den prozentualen Einfluss physiologischer Größen (Atmung, Herzfrequenz, Reflexion der Pulswelle in der Peripherie) auf das Vasomotionsmuster der Hautdurchblutung angeben gesprochen.
Die Abbildung 5 zeigt ein Beispiel. Aufgelöst werden Herzschlag und Atmung.

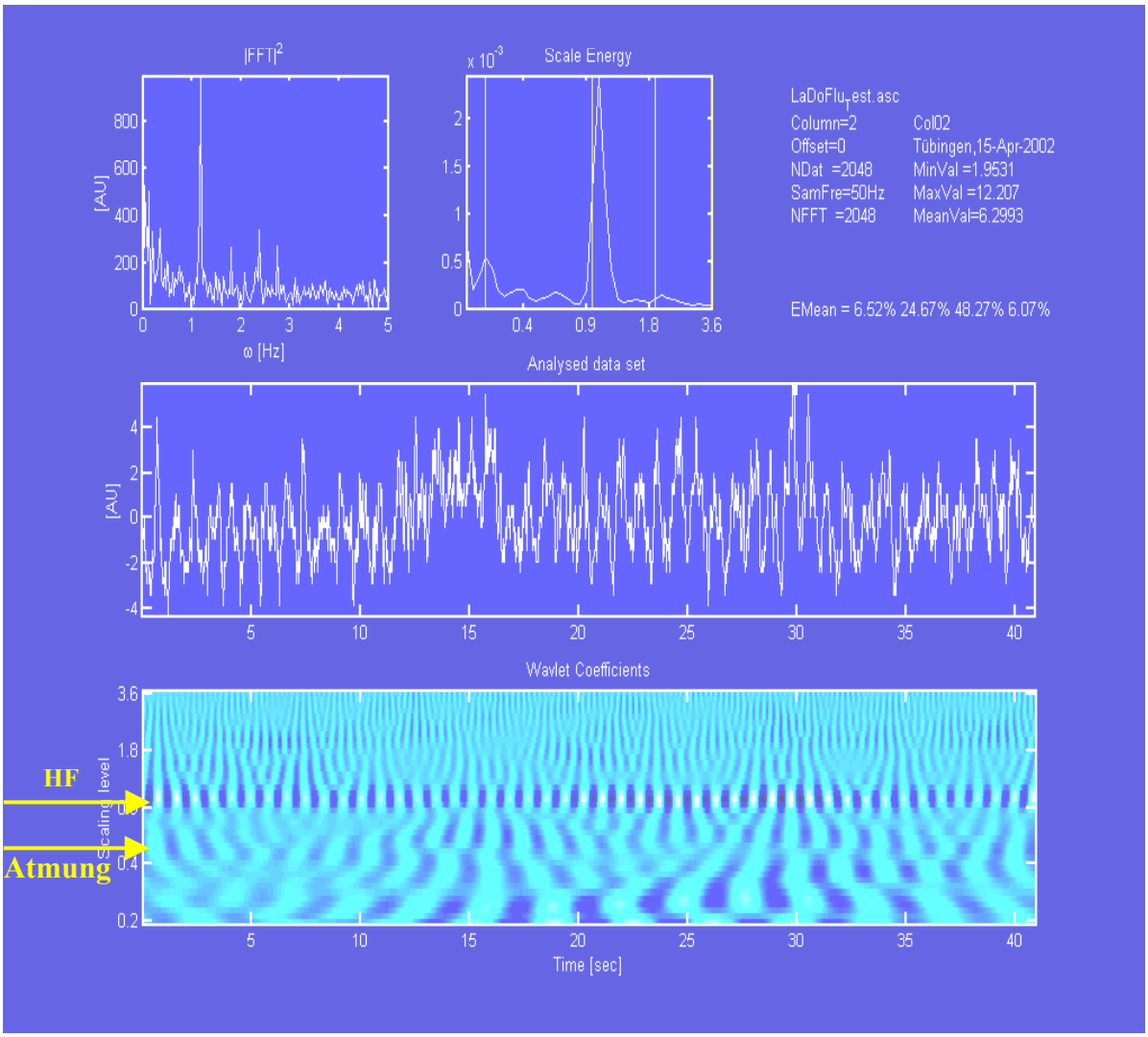

Abb. 5: Darstellung einer Waveletanalyse. Der obere Graph zeigt die Fourier Analyse, die Zeitreihe darunter stellt die originale Zeitreihe dar. Die eigentliche Waveletanalyse ist im unteren Graph aufgetragen. Deutlich erscheint die Herzfrequenz (HF) bei 0,9 SL (scaling level) und die Atmung bei 0,4 SL (kontrolliert mit dem EKG)

4.9.4 Biorthogonalzerlegung

Die Orientierung eines rekonstruierten Attraktors im Einbettungsraum ist eher zufällig. Die einzelnen Koordinatenrichtungen haben nichts mit den ursprünglichen Koordinaten des Phasenraumes zu tun. Es macht daher auch wenig Sinn, die einzelnen Komponenten des rekonstruierten Attraktors zu betrachten.
Es wäre natürlich sehr interessant und hilfreich, den Attraktor im Einbettungsraum so zu rotieren, dass die einzelnen Richtungskomponenten wieder Sinn bekommen. Wenn möglich, sollte eine bestimmte Richtung im Einbettungsraum einem ganz bestimmten Freiheitsgrad des Systems entsprechen. Für einen Oszillator sollte zum Beispiel die eine Richtung mit der Auslenkung und die andere mit der Geschwindigkeit zusammenfallen.
Eine solche Rotation des Attraktors im Einbettungsraum ist in vielen Fällen tatsächlich möglich. Die einzelnen Freiheitsgrade können dann zumindest näherungsweise isoliert, gesondert dargestellt und betrachtet werden.
Dazu bestimmt man im Einbettungsraum Richtungsvektoren $\vec{v}_k$, für welche die Summe der Projektionen aller Attraktorpunkte maximal ist. Dies führt in den meisten Fällen zu einer guten Entkopplung der einzelnen Freiheitsgrade. Das Vorgehen ist ähnlich dem bei der Hauptachsentransformation in der Mechanik.
Der erste Schritt besteht in einer Koordinatenverschiebung, die den Attraktor im Einbettungsraum zentriert

$$\tilde{\vec{x}}_n = \vec{x}_n - \vec{x}_0 \quad \text{mit} \quad \vec{x}_0 = \frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n \in \{1..N_{Pkt}\}} \vec{x}_n \tag{4-5}$$

und in einer Normierung

$$\tilde{\tilde{\vec{x}}}_n = \frac{1}{\sqrt{F}} \tilde{\vec{x}}_n \quad \text{mit} \quad F = \frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n \in \{1..N_{Pkt}\}} \tilde{\vec{x}}_n^2 \tag{4-6}$$

Die Tilde wird im Folgenden weggelassen.
Dann wird eine Entwicklung der Einbettungstrajektorien in die noch unbekannten, optimalen Richtungen angesetzt

$$\vec{x}_n = \sum_{k \in \{1..\dim_E\}} y_n^{(k)} \vec{v}_k \quad \textbf{(4-7)}$$

Die optimalen Richtungen v_k werden dann durch die Extremalbedingung

$$\frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n \in \{1..N_{Pkt}\}} \left(\vec{x}_n \cdot \vec{v}_k\right)^2 = \max \quad \forall \quad k \in \{1..\dim_E\} \quad \textbf{(4-8)}$$

bestimmt.

Zusätzlich fordert man noch als Nebenbedingung die Normiertheit der neuen Basisvektoren

$$\left(\vec{v}_k\right)^2 = 1 \quad \textbf{(4-9)}$$

Nun wird eine Variation mit Lagrange-Parametern durchgeführt:

$$\vec{\nabla}^{(v_k)} \left(\frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n \in \{1..N_{Pkt}\}} \left(\vec{x}_n \cdot \vec{v}_k\right)^2 - \lambda_k \left(\vec{v}_k^2 - 1\right) \right) = 0 \quad \textbf{(4-10)}$$

Die partielle Differentation führt auf

$$\frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n \in \{1..N_{Pkt}\}} 2\vec{x}_n \vec{x}_n \cdot \vec{v}_k - 2\lambda_k \vec{v}_k = 0 \quad \text{oder} \quad \textbf{(4-11)}$$

$$\sum_{p \in \{1..\dim_E\}} \left(\frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n \in \{1..N_{Pkt}\}} x_n^{(o)} x_n^{(p)} \right) v_k^{(p)} = \lambda_k v_k^{(o)} \forall o \in \{1..\dim_E\},$$

also auf das Eigenwertproblem

$$\mathbf{R}\vec{v}_k = \lambda_k \vec{v}_k \quad \textbf{(4-12)}$$

mit den Matrixelementen der Kovarianzmatrix

$$R_{op} = \frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n \in \{1..N_{Pkt}\}} x_n^{(o)} x_n^{(p)} \quad \textbf{(4-13)}$$

Die einzelnen Komponenten können dann betrachtet werden als neue Zeitreihen

$$y_n^{(k)} = \vec{x}_n \cdot \vec{v}_k \,. \qquad \textbf{(4-14)}$$

Die Eigenvektoren $\vec{v}_k$ sind orthogonal und normiert. Die Eigenwerte λ_k werden so geordnet, dass $\lambda_k > \lambda_l \;\forall k<l$ ist. Bei entsprechend normierten Zeitreihen gilt ferner für die Spur der Kovarianzmatrix

$$Spur(\mathbf{R}) = \frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n\in\{1..N_{Pkt}\}} \vec{x}_n^2 = \sum_{k\in\{1..\dim_E\}} \lambda_k = 1 \,. \qquad \textbf{(4-15)}$$

Berücksichtigt man nur die ersten *k* Komponenten der Biorthogonalzerlegung, wird der Fehler

$$\begin{aligned} E_K &= \frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n\in\{1..N_{Pkt}\}} \left(\vec{x}_n - \sum_{k\in\{1..K\}} y_n^k \vec{v}_k \right)^2 = \frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n\in\{1..N_{Pkt}\}} \left(\vec{x}_n - \sum_{k\in\{1..K\}} \vec{x}_n \cdot \vec{v}_k \vec{v}_k \right)^2 \\ &= \frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n\in\{1..N_{Pkt}\}} \left(\vec{x}_n^2 - 2 \sum_{k\in\{1..K\}} (\vec{x}_n \cdot \vec{v}_k)^2 + \sum_{k,k'\in\{1..K\}} (\vec{x}_n \cdot \vec{v}_k) \vec{v}_k \cdot \vec{v}_{k'} (\vec{x}_n \cdot \vec{v}_{k'}) \right) \\ &= \frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n\in\{1..N_{Pkt}\}} \vec{x}_n^2 - \sum_{k\in\{1..K\}} \left(\frac{1}{N_{Pkt}} \sum_{n\in\{1..N_{Pkt}\}} \vec{x}_n \vec{x}_n \cdot \vec{v}_k \right) \cdot \vec{v}_k \\ &= 1 - \sum_{k\in\{1..K\}} \lambda_k . \end{aligned} \qquad \textbf{(4-16)}$$

Man sieht also den Eigenwerten λ_k genau an, welche Komponenten unwichtig sind.
Eine ausführliche Darlegung der oben beschriebenen Problematik ist in der Abhandlung von PD Dr. Kurt Bräuer „Chaos Attraktoren und Fraktale. mathematische und physikalische Grundlagen nicht linearer Phänomene mit Anwendungen in Physik, Biologie, und Medizin (2002)“ zu finden.

4.9.5 Statistik

Zur deskriptiven statistischen Auswertung der Messergebnisse und deren graphischen Darstellung wurden die Programme Microsoft Excel 2000®, Diadem® (GfS Aachen) V2.0, PlotIT V3.2 sowie Jmp V3.1.5. verwandt. Als deskriptive statistische Kennwerte wurden Mittelwert und Standardabweichung berechnet. Die dargestellten Grafiken zeigen den Mittelwert und die einfache Standardabweichung. Bei den Angaben hinter „±“ handelt es sich um die einfache Standardabweichung.
Mit dem Student t-Test für gepaarte Stichproben wurde für die hämodynamischen Parameter und laborchemischen Parameter, den kutanen Blutfluss gemessen mittels Laser Doppler Flux , die Ergebnisse aus der Waveletanalyse und der Biorthogonalzerlegung zweiseitig geprüft, ob sich die Messwerte innerhalb der Versuchstiere von dem Zeitpunkt 0 zu dem Zeitpunkt 4 systematisch veränderten.
Für die statistische Berechnung wurden die ermittelten hämodynamischen Parameter (PWLZ, DAT, mittlerer LDF) sowie die daraus errechneten Daten (Waveletanalyse, Biorthogonalzerlegung) unter Verwendung des Pearson´schem Korrelationskoeffizient r untereinander sowie mit den morphometrisch ermittelten Daten korreliert.

Es wurde ein Signifikanzniveau von p=0,05 verwandt.

Die statistische Beratung erfolgte durch Herrn Dr. Martin Eichner, Institut für medizinische Biometrie Tübingen, Leitung Prof. Dr. K. Dietz.

4.9.6 Morphometrie

Nach Abschluss der in vivo Messungen wurden atherosklerotische Ablagerung in den vorgenannten Gefäßen direkt am Präparat gemessen (Plaquebefall). Hierbei wurde zum einen im Querschnitt die Fläche der Stenose als prozentualer Anteil an der Gesamtfläche des Lumens bestimmt (prozentualer Stenosegrad) zum anderen wurden die Gefäße der Länge nach aufgeschnitten und die Plaquesfläche in mm^2 angegeben.

Es wurde kontinuierlich an 16 verschiedenen Messpunkten die mittlere Ausdehnung der Plaques im Bereich der A. iliaca communis direkt an der Aortenbifurkation bis zu den Femoralarterien im Bereich des Kniegelenks gemessen, wobei die verschiedenen Messpunkte in einem Abstand von ca. 0,3 mm lagen. Die Aorta wurde an drei Segmenten im Aortenbogen bis an den Beginn der Aorta thoracalis, pars descendens untersucht. Zuletzt wurde noch ermittelt, an wie viel Prozent aller Messpunkte in der A. iliaca und den Femoralarterien überhaupt Stenosen gefunden wurden.

5 Ergebnisse

5.1 Körpergewicht und Futteraufnahme

Das Körpergewicht wurde wöchentlich protokolliert. Zu Untersuchungsbeginn waren die 15 Tiere im Durchschnitt 2953±151 g schwer. Im Untersuchungszeitraum betrug die Gewichtszunahme im Schnitt 560 ± 215,3 g bis zu einem Endgewicht von 3501 ± 287 g (Abbildung 8).

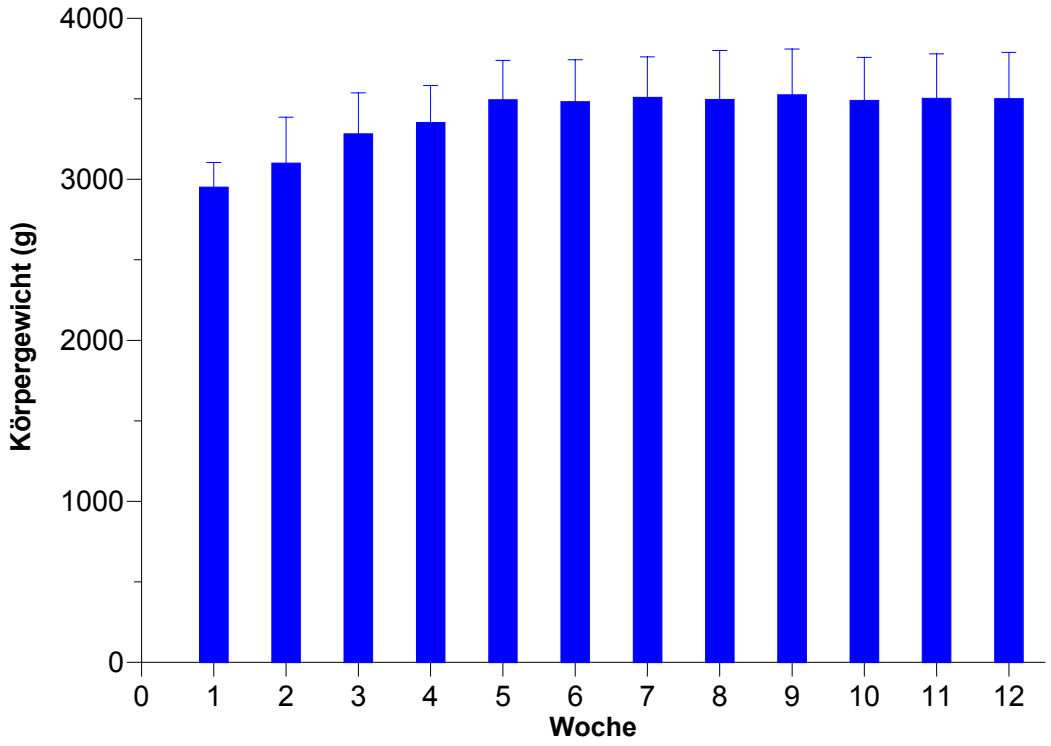

Abb. 6: Entwicklung des Körpergewichts über die Untersuchungsdauer von 12 Wochen (Mittelwert ± Standardabweichung)

Die Futtermenge wurde ebenfalls wöchentlich protokolliert und auf die durchschnittliche Menge pro Tag umgerechnet. Im Untersuchungszeitraum betrug sie 125,3 ± 34 g/d, bezogen auf das Körpergewicht entsprach das 37,14 ± 19,6 g pro Tag und kg (Abb.9). Basierend hierauf wurde der Cholesterinaufnahme bestimmt. Bei einem Gehalt von 0,5% Cholesterin im Futter nahmen die Tiere umgerechnet 185 ± 54 mg pro Tag und kg Körpergewicht Cholesterin auf (Abb. 10)

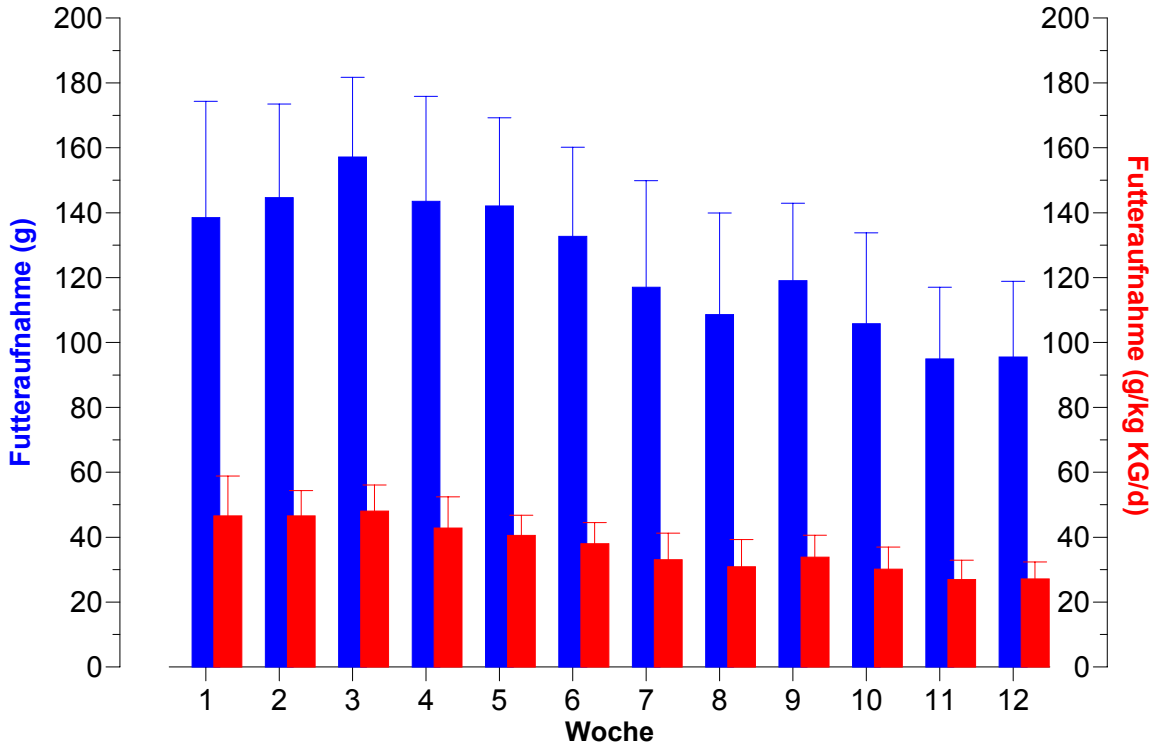

Abb. 7: Absolute und relative Futteraufnahme während des Untersuchungszeitraumes

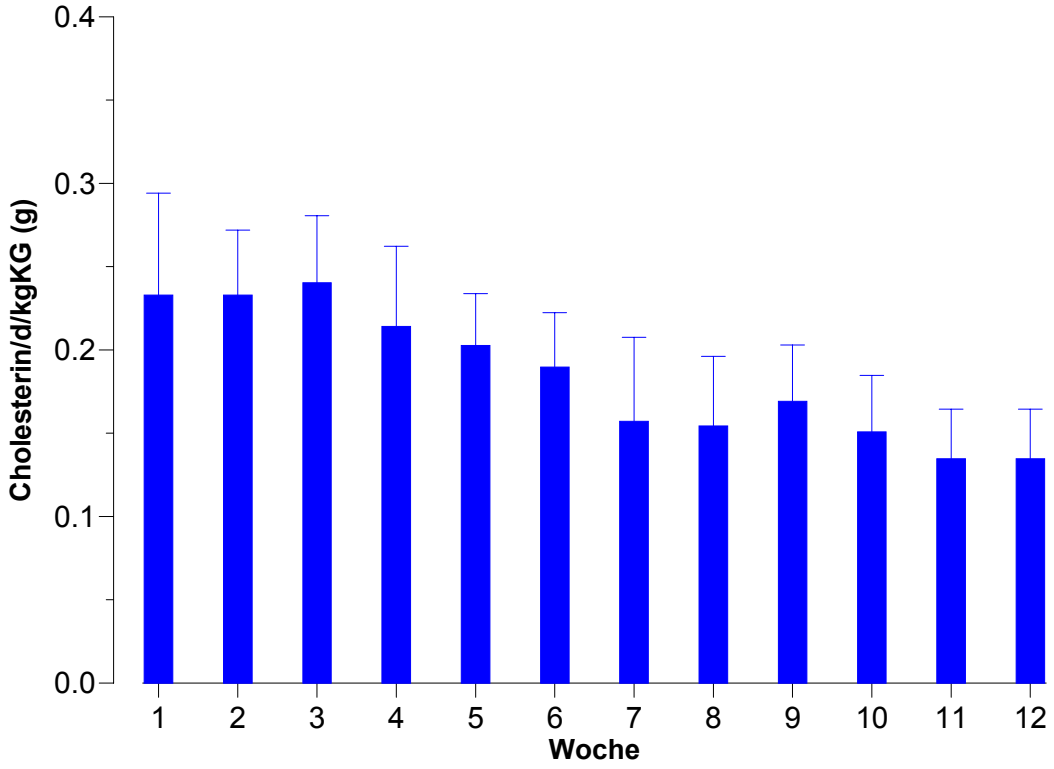

Abb. 8: Cholesterinaufnahme während des Untersuchungszeitraumes in Relation zum Körpergewicht

5.2 Laborchemische Parameter

5.2.1 Hämatologische Parameter

Untersucht wurde das kleine Blutbild mit Erythrozyten-, Leukozyten- und Thrombozytenzahl, sowie das mittlere korpuskuläre Hämoglobin bzw. -Volumen (MCH bzw. MCV) und die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC).
Tabelle 5 zeigt einige Parameter des roten Blutbildes im Verlauf der Untersuchung.

Tab. 7: Hämatokrit, Erythrozytenzahl und Hämoglobin im Untersuchungszeitraum, sowie Differenz der Ergebnisse zwischen Woche 12 und Versuchsbeginn.

	Hämoglobin (g/dl)	**Hämatokrit (%)**	**Erythrozytenzahl (Mio./µl)**
Versuchsbeginn	13,4 ± 0,6	38,8 ± 1,6	6,2 ± 0,4
Nach 4 Wochen	12,1 ± 0,7	35,6 ± 2,0	5,7 ± 0,5
Nach 8 Wochen	11,4 ± 0,8	33,3 ± 2,0	5,0 ± 0,4
Nach 12 Wochen	10,9 ± 1,8	32,9 ± 5,0	4,7 ± 0,9
Differenz	-2,5 ± 1,9	-5,9 ± 5,3	-1,5 ± 0,99

Während der Untersuchung sank die Erythrozytenzahl um 1,5 ± 0,99 Mio./ µl ($p<0,0001$), entsprechen kam es zu einer Abnahme der Hämoglobinkonzentration um –2,5 ± 1,9 g/dl ($p=0,0003$) und des Hämatokrits um –5,9 ± 5,3% ($p= 0,0013$).

Die Leukozytenzahl stieg von 5233 ± 1068/µl auf 9176 ± 4685/µl, dies entsprach einem statistisch signifikanten Anstieg um 3846 ± 4515/µl (p=0,0071). Bei den Thrombozytenzahlen gab es keine signifikanten Veränderungen.

5.2.2 Klinische Chemie

5.2.2.1 Cholesterinkonzentration im Plasma

Zu Versuchsbeginn sowie nach vier, acht und zwölf Wochen wurden Blutentnahmen unter Narkose nach einer 18-stündigen Nüchternphase durchgeführt.
Zu Beginn der Untersuchung lag die Plasmakonzentration des Gesamt-Cholesterins im Durchschnitt bei 35,8 ± 17,03 mg/dl (VLDL- Cholesterin 10,3 ± 3,8 mg/dl, LDL-Cholesterin 11,8 ± 12,8 mg/dl, HDL-Cholesterin 14,8 ± 6,9 mg/dl). Nach 12 Wochen betrug das Gesamtcholesterin 1620,2 ± 590,1 mg/dl (VLDL-Cholesterin 1038,9 ± 369,3 mg/dl, LDL-Cholesterin 569,5 ± 380,5 mg/dl, HDL-Cholesterin 11,8 ± 2,9 mg/dl)
Der Verlauf der Serum- Colesteinwerte ist in Abbildung 11 dargestellt.

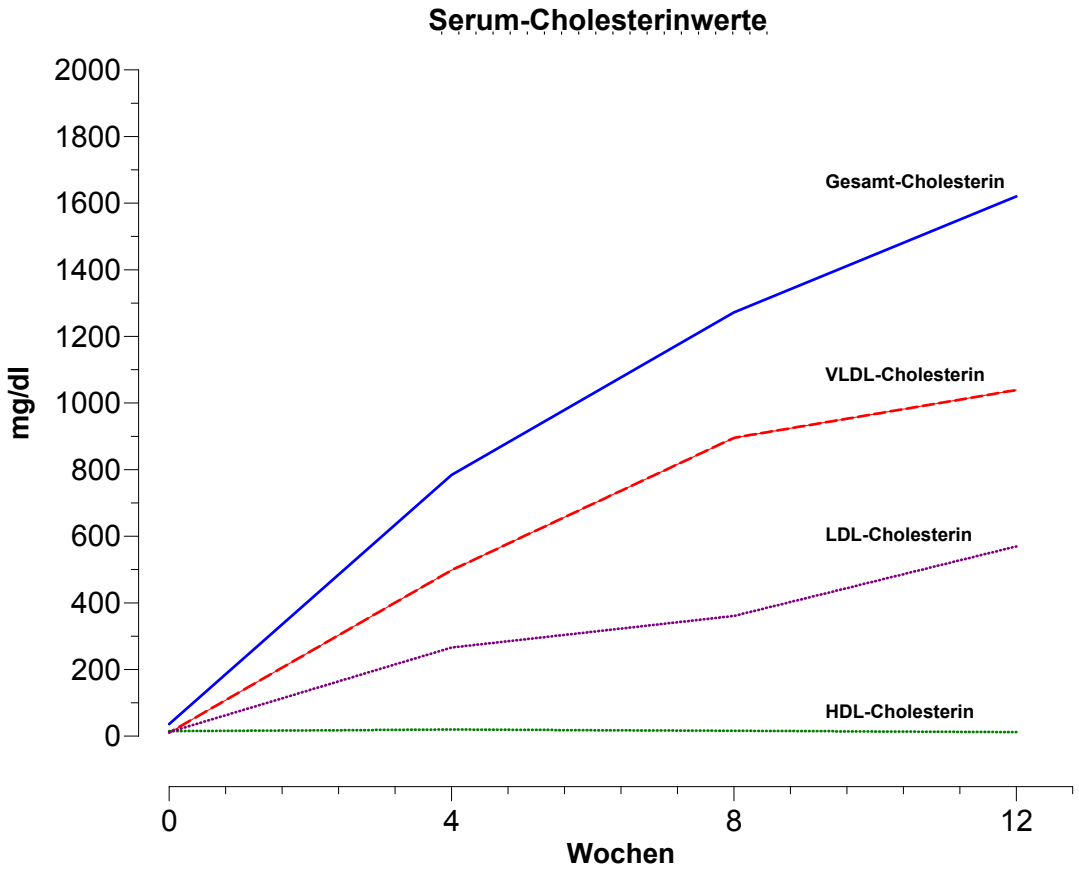

Abb. 9: Verlauf der Serum-Cholesterin Werte im Verlauf der Untersuchung

5.2.2.2 Leberenzyme

Untersucht wurden die Transaminasen GOT, GPT und γ-GT als mögliche Marker für eine Schädigung der hepatozellulären Funktion. Während es bei der GPT zu keiner signifikanten Veränderung kam war die GOT nach vier Wochen auf etwa das doppelte des Ausgangswertes angestiegen und hielt sich bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes auf diesem Niveau (Anstieg von 6,7 ± 1,07 U/l auf 16,2 ± 8,80 U/l, p=0,001). Bei der γ-GT kam es nach vier Wochen zu einer transienten Erhöhung von initial 2,67 ± 0,62 U/l auf 23,9 ± 16,70 U/l (p=0,0002), bis zur 12 Woche normalisierten sich die Werte jedoch wieder. Der Verlauf der Leberenzyme ist in Tabelle 6 zusammengefasst und in Abbildung 12 graphisch dargestellt.

Tab. 8: Transaminasen und γ-GT im Untersuchungsverlauf (Mittelwert ± Standardabweichung)

	γ-GT (U/l)	**GOT**	**GPT**
Untersuchungsbeginn	2,67 ± 0,62	6,7 ± 1,07	14,7 ± 2,97
nach 4 Wochen	23,9 ± 16,70	13,87 ± 4,34	15,87 ± 8,31
nach 8 Wochen	12,7 ± 18,46	15,73 ± 5,96	15,07 ± 5,61
nach 12 Wochen	2,0 ± 3,07	16,2 ± 8,80	15,93 ± 7,74
Differenz Woche 0/12	-0,67 (-2;0) (p=0,41)	8,57 ± 7,90 (p=0,001)	-0,07 (-6,0;2,5) (p=0,97)

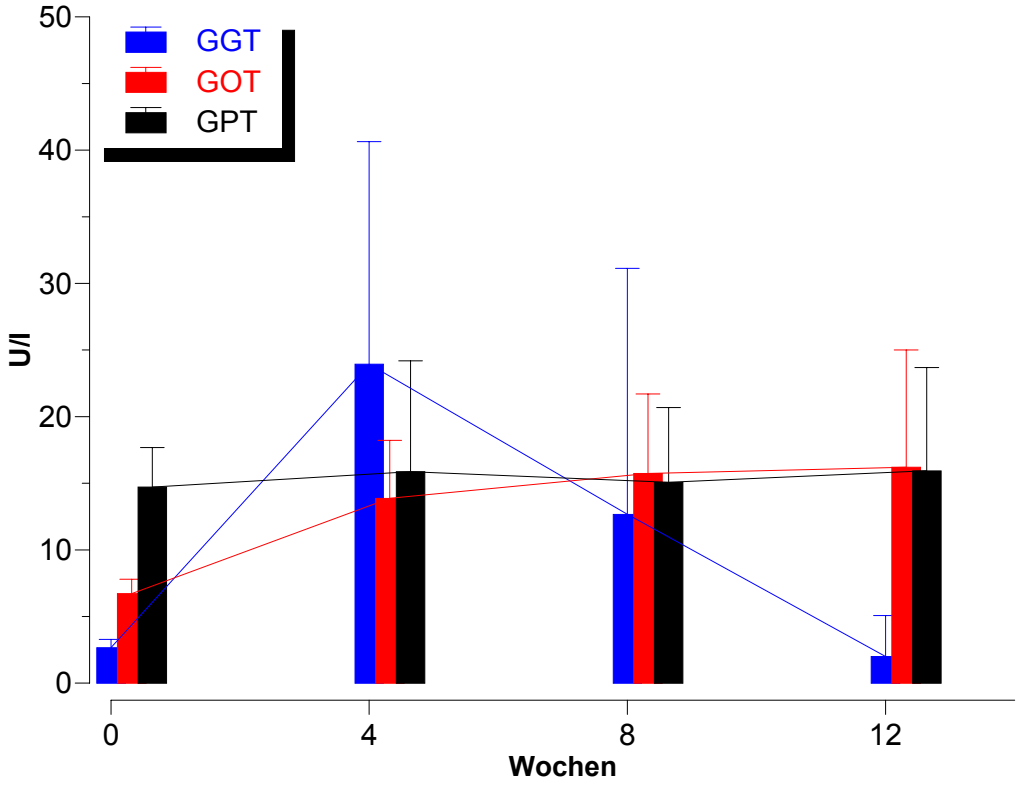

Abb. 10: Verlauf der Transaminasen während des Untersuchungszeitraumes

5.2.2.3 Retentionsparameter

Während des 12-wöchigen Untersuchungszeitraumes kam es ab der vierten Woche zu einem signifikanten Anstieg der Kreatininwerte von initial 0,92 ± 0,16 mg/dl auf 1,3 ± 0,24 mg/dl ($p<0,0001$), sowie zu einer Erhöhung des Serum-Harnstoffes von 37,36 ± 9,46 mg/dl auf 42,2 ± 8,74 mg/dl ($p=0,0062$) ab der achten Woche, allerdings ohne eine signifikante Erhöhung des Serum-Kaliums ($p=0,109$) (Abb. 12).

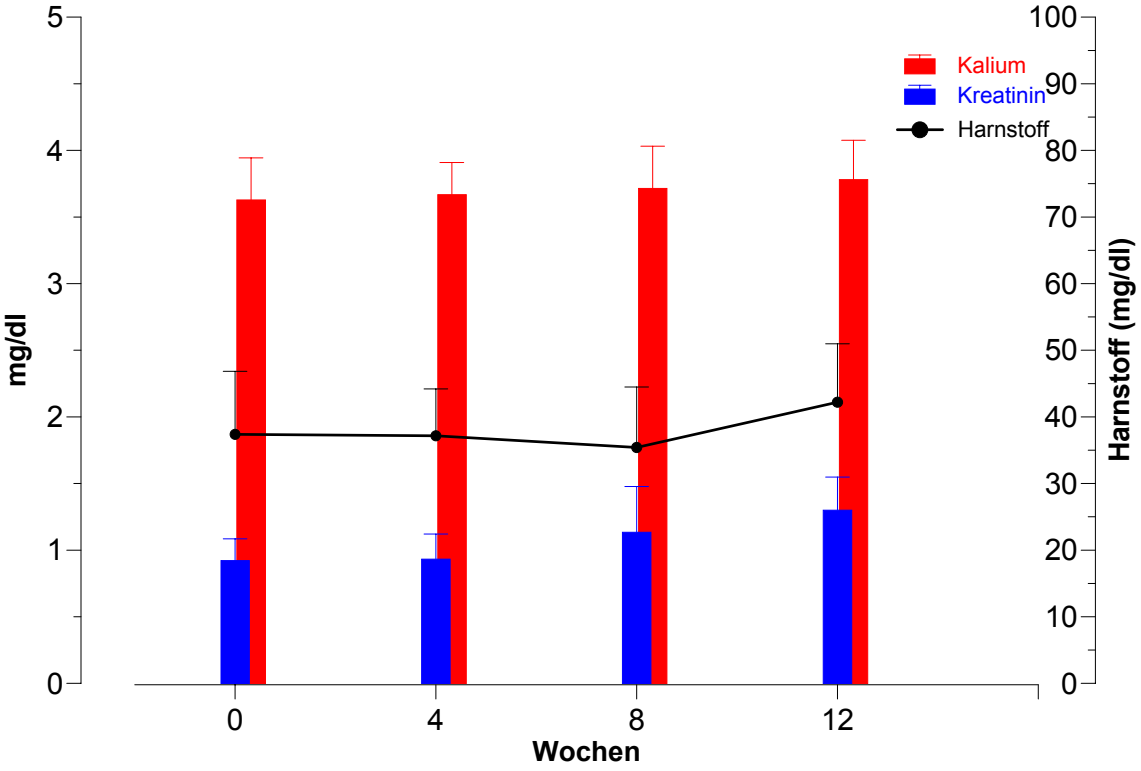

Abb. 11: Verlauf der Retentionsparameter Kreatinin und Harnstoff sowie des Kaliums während des Untersuchungszeitraumes.

5.2.2.4 Pankreasenzyme

Schon in der ersten Kontrollmessung nach 4 Wochen kam es zu einem leichten, allerdings zunächst nicht signifikanten Anstieg der Pankreas-Lipase von 186,4 ± 12,2 U/l auf 223,7 ± 89,3U/l (p=0,2). Nach acht Wochen war ein rapider Anstieg bis auf 578,9 ± 342,4 U/l zu

verzeichnen, wobei sich diese Tendenz bis zum Ende der Untersuchung hielt, wo abschließend ein Wert von 1001 ± 408 U/l gemessen wurde (Abb.12).

Ein ähnlicher Verlauf zeigte sich bei der Pankreas-Amylase, hier kam es von einem Ausgangswert von 137,1 ± 23,4 U/l über 150,1 ± 24,8 nach 4 Wochen (p=0,2) zu einem Maximalwert von 189,8 ± 22,0 U/l nach 12 Wochen, dies entspricht einem Anstieg von 53,1 ± 14,2 U/l (p<0,0001).

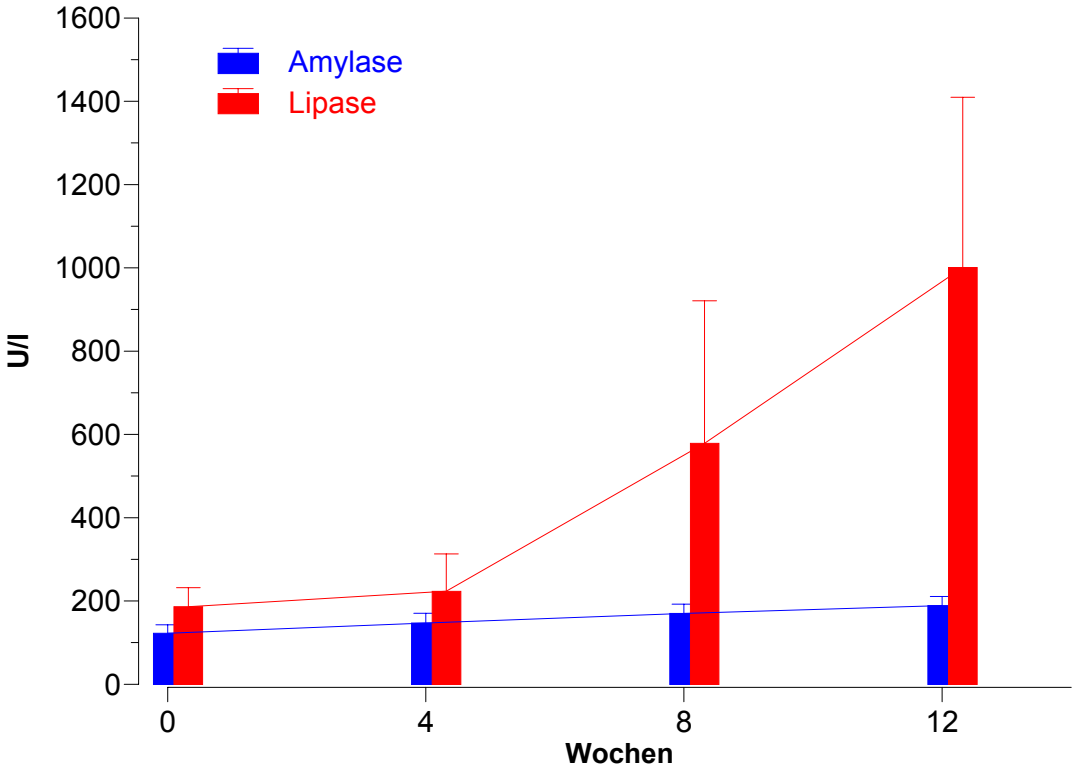

Abb. 12: Verlauf der Pankreasenzyme Lipase und Amylase während des Untersuchungszeitraumes.

5.2.2.5 Kreatinkinase und Lactatdehydrogenase

Sowohl bei der Kreatinkinase (CK) als auch bei der Lactatdehydrogenase (LDH) kam es im Verlauf der Untersuchung zu einem signifikanten Anstieg, beide Parameter waren nach einem Ausgangswert von 354,8 ± 141,4 U/l für die CK und 28,9 ± 15,0 U/l für die LDH schon nach vier Wochen leicht erhöht und hielten sich nach einem weiteren sprunghaften Anstieg auf 732 ± 398 U/l bzw. 77,2 ± 55,4 U/l in der achten Woche auf diesem Niveau.

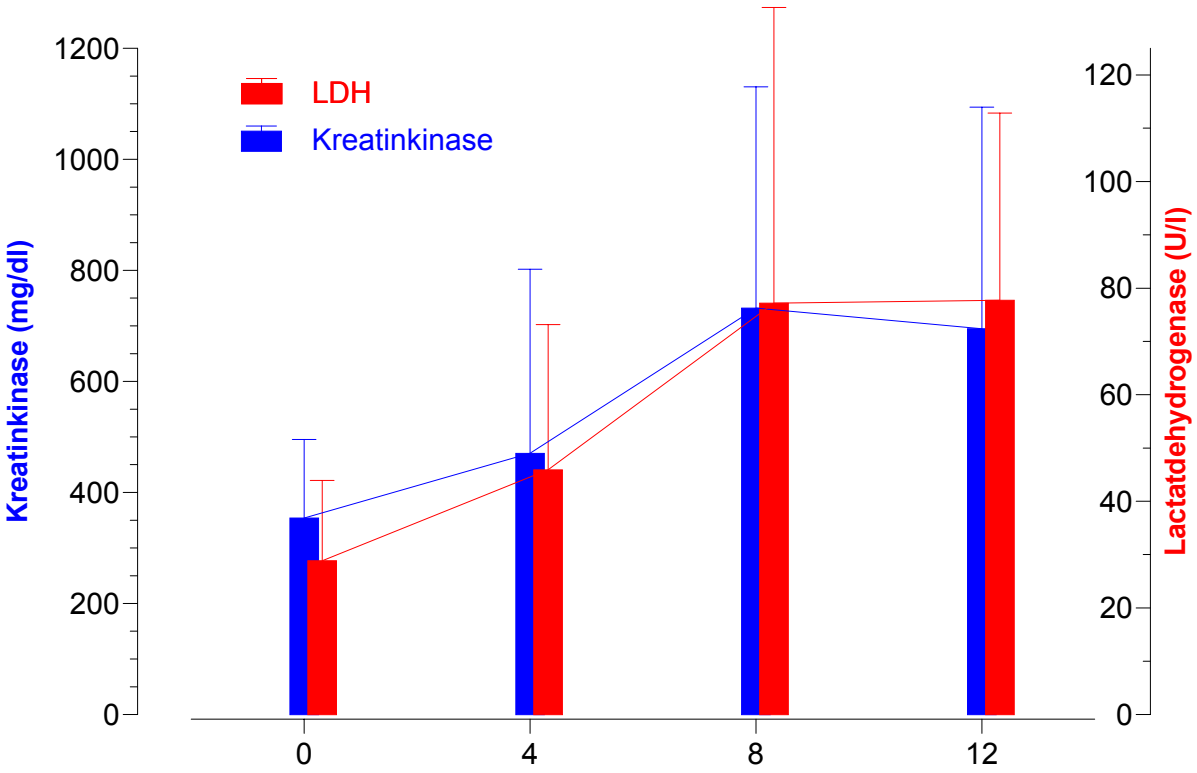

Abb. 13: Verlauf der Kreatinkinase (CK) und der Lactatdehydrogenase (LDH) während des Untersuchungszeitraumes.

5.3 Morphometrie

In den drei Segmenten des Aortenbogens fanden sich bei den untersuchten Tieren unter allen gefundenen Plaques eine mittleren Plaquefläche von 1,42mm^2 ± 1,28mm^{2,}, im Bereich der Bein- und Beckenarterien lag die Ausdehnung bei einem Median von 0,021mm^2 (0,014; 0,031mm^2), wobei die getrennte Auswertung beider Seiten mit einem Median links von 0,20 mm^2 (0,014 mm^2; 0,052 mm^2) und rechts von 0,18 mm^2 (0,008 mm^2; 0,023 mm^2) keinen signifikanten Unterschied erbrachte (p=0,35).
Abb. 14 zeigt die Verteilung der mittleren Plaquesflächen aller in der Aorta und den Bein- und Beckenarterien gefundenen Plaques aufgeschlüsselt nach den verschiedenen Versuchstieren.
Zusätzlich wurde an den Aa. iliacae und den Femoralarterien der prozentuale Anteil der Messpunkte bestimmt, an denen sich überhaupt Plaques fanden, wobei es hierbei keine Rolle spielte wie groß diese waren (Abb.15). Es fanden sich durchschnittlich an 42,8 ± 20% der untersuchten Stellen ein oder mehrere Plaques, wobei sich auch hier im Seitenvergleich kein signifikanter Unterschied zeigte (p=0,46). In der Aorta zeigten alle untersuchten Segmente einen Plaquesbefall.

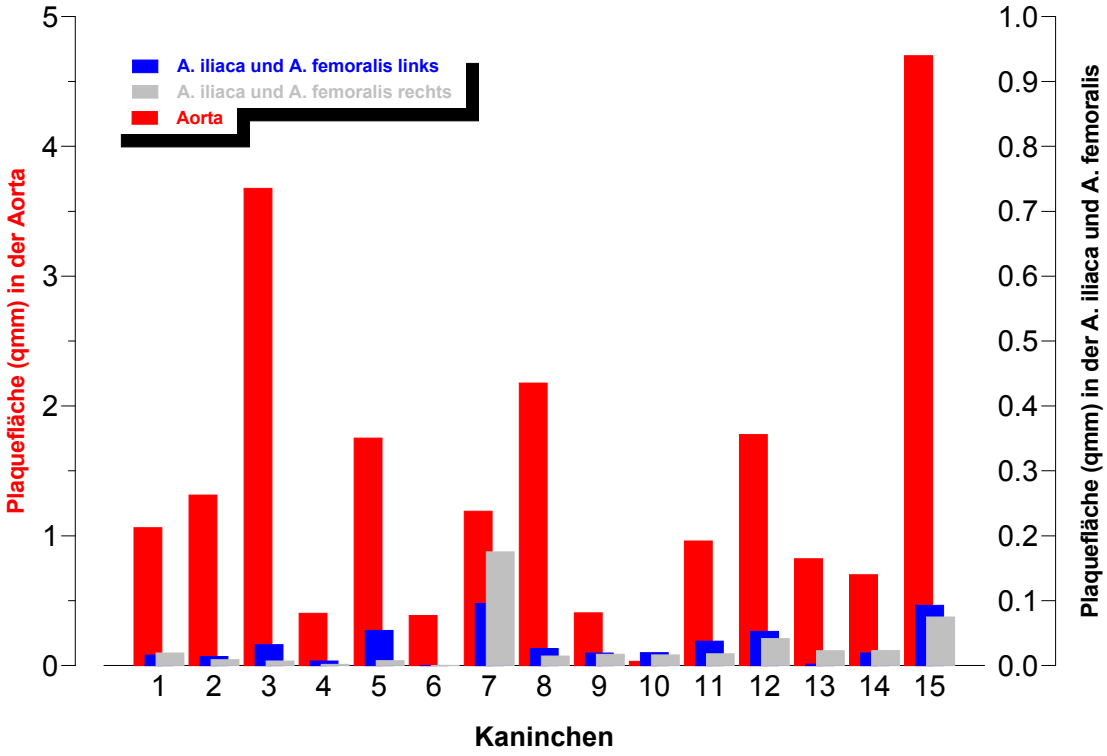

Abb. 14: Verteilung der mittleren Plaquefläche im Aortenbogen bis in die pars descendens der Aorta thoracalis und A.iliaca/femoralis bei den 15 Versuchstieren in mm^2

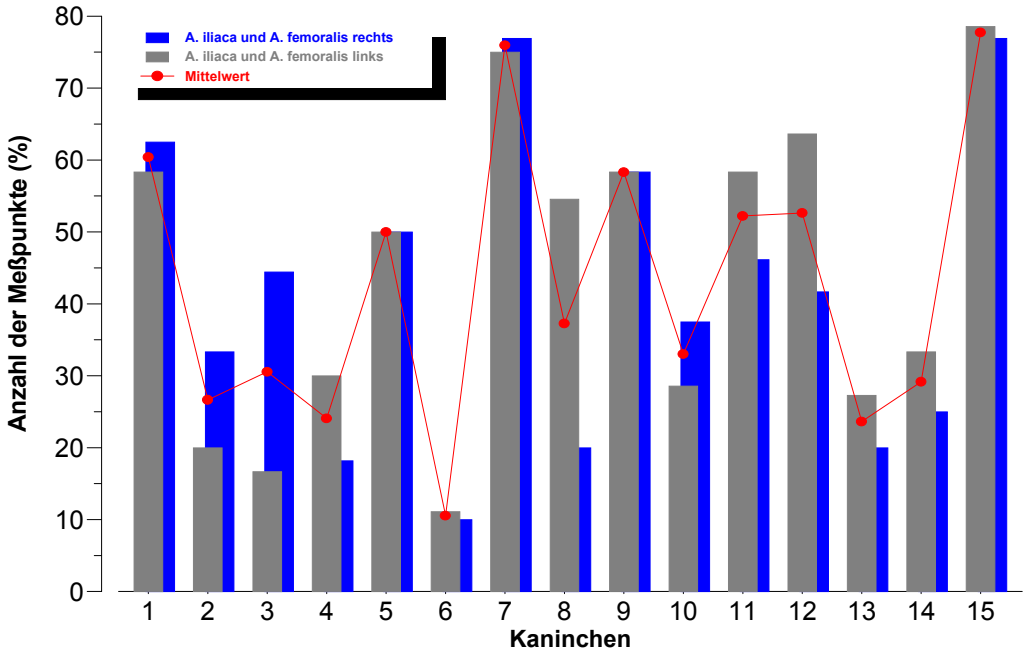

Abb. 15: Prozentualer Anteil der Messpunkte mit Plaques

Abgesehen von den Longitudinalschnitten wurden auch Querschnitte der Gefäße erstellt und der Stenosierungsgrad im Bereich der A. iliaca communis, A. iliaca externa und A. femoralis bis in den Kniebereich in Prozent des gesamten Gefäßlumens angegeben, wobei sich die Messungen auf die rechte Seite beschränkten, an der zuvor auch die hämodynamischen Parameter bestimmt wurden. Im Durchschnitt fanden sich rechtsseitig im Gefäßverlauf 11,3 ± 2,0 Stenosen zwischen 0,03 bis maximal 98,1% bei einem mittleren Stenosegrad von 9,4 ± 10,5%. Der maximale Stenosegrad betrug bei den 15 Tieren im Mittel 37,3 ± 29,3 %. Abbildung 16 zeigt den mittleren und den maximalen Stenosegrad bei den einzelnen Tieren. Eine Tabelle mit der Verteilung der maximalen bzw. mittleren prozentualen Stenosegrade und die Anzahl der hintereinandergeschaltenen Stenosen bei den einzelnen Kaninchen finden sich in Anhang A (Kap.10.1.2)

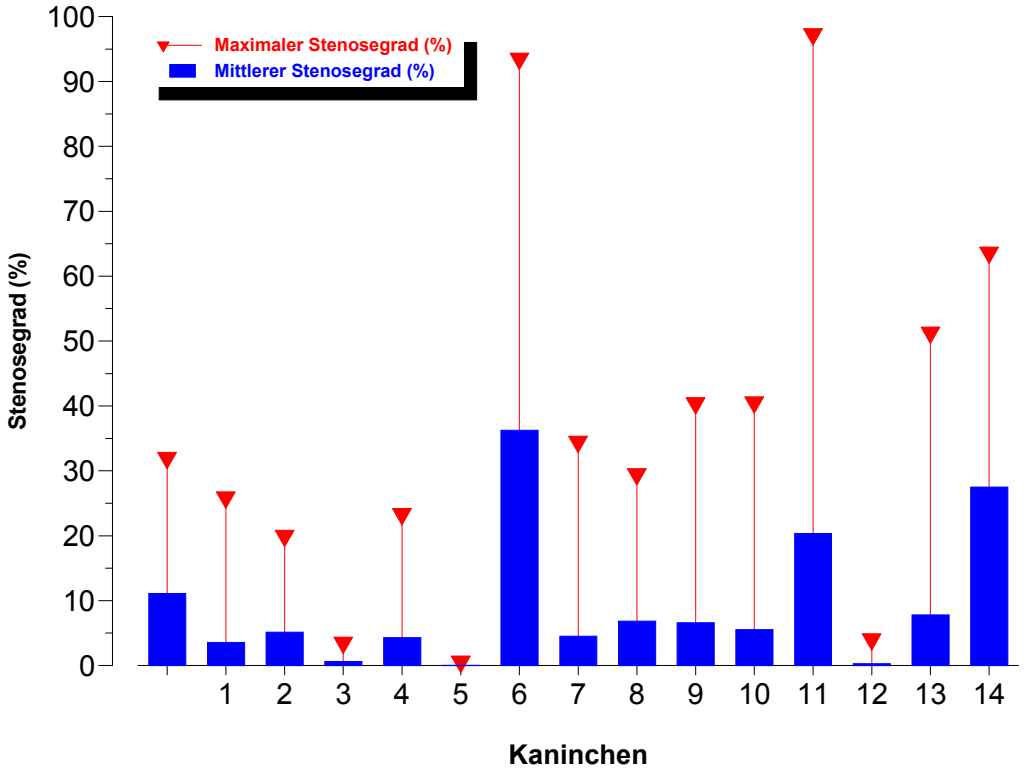

Abb. 16: Verteilung des mittleren und maximalen prozentualen Stenosegrades bei den einzelnen Versuchstieren.

5.4 Hämodynamische Parameter

5.4.1 Pulswellenlaufzeit und Diastolische Ankunftszeit

Im Verlauf der Untersuchung kam es zu einem signifikanten Anstieg der mittels Dopplersonographie bestimmten Pulswellenlaufzeit (PWLZ) in der A. femoralis rechts von 0,190 ± 0,013 s auf 0,202 ± 0,009 s (p=0,003), die diastolische Ankunftszeit (DAT) stieg von 0,192

± 0,052 s auf 0,241 ± 0,075 s nicht signifikant an (p=0,11). Die Tabellen 9 bis 11 zeigen den Verlauf der PWLZ und der DAT während des Untersuchungszeitraumes an den verschiedenen Lokalisationen, Abb. 17 stellt den Verlauf in der A. femoralis communis graphisch dar.

Es ergibt sich zudem eine signifikante Korrelation (p=0,04) des mittleren prozentualen Stenosegrades in der A. iliaca und der A. femoralis communis rechts mit der DAT (gemessen in der A. femoralis communis) der Korrelationskoeffizienten r beträgt 0,58.

Der Vergleich des mittleren prozentualen Stenosegrades mit der PWLZ in der A. femoralis communis ergibt keinen statistisch signifikanten Zusammenhang.

Vergleicht man weiterhin die DAT mit der Anzahl der hintereinander geschaltenen Stenosen, so zeigt sich wiederum für die DAT mit einem p=0,01 eine signifikante Korrelation (r=0,64), wohingegen der Zusammenhang mit der PWLZ erneut keine statistische Signifikanz erreicht (p=0,2). Die einzelnen Korrelationen sind in Anhang A, Kap. 10.1.1 und 10.1.2.

Tab. 9: Verlauf der Pulswellenlaufzeit und der diastolischen Ankunftszeit, gemessen in der A. femoralis rechts

s Sekunde

Woche	**0**	**4**	**8**	**12**	**Differenz Woche 0/12**
Pulswellenlaufzeit (PWLZ) in s	0,190 ± 0,013	0,185 ± 0,011	0,195 ± 0,023	0,202 ± 0,009	0,013 ± 0,014 (p=0,003)
Diastolische Ankunftszeit (DAT) in s	0,192 ± 0,050	0,214 ± 0,055	0,256 ± 0,072	0,241 ± 0,075	0,049 ± 0,107 (p=0,11)

Tab. 10: Verlauf der Pulswellenlaufzeit und der diastolischen Ankunftszeit, gemessen in der Aorta abdominalis

s Sekunde

Woche	0	4	8	12	Differenz Woche 0/12
Pulswellenlaufzeit (PWLZ) in s	0,157 ± 0,010	0,162 ± 0,010	0,154 ± 0,009	0,160 ± 0,009	0,002 ± 0,010 (p=0,21)
Diastolische Ankunftszeit (DAT) in s	0,266 ± 0,058	0,291 ± 0,055	0,313 ± 0,063	0,326 ± 0,097	0,06 ± 0,10 (p=0,04)

Tab. 11: Verlauf der Pulswellenlaufzeit und der diastolischen Ankunftszeit, gemessen in der Ohrarterie

s Sekunde

Woche	0	4	8	12	Differenz Woche 0/12
Pulswellenlaufzeit (PWLZ) in s	0,206 ± 0,026	0,198 ± 0,010	0,206 ± 0,021	0,225 ± 0,043	0,023 ± 0,051 (p=0,12)
Diastolische Ankunftszeit (DAT) in s	0,121 ± 0,027	0,110 ± 0,024	0,114 ± 0,025	0,130 ± 0,036	0,013 ± 0,048 (p=0,32)

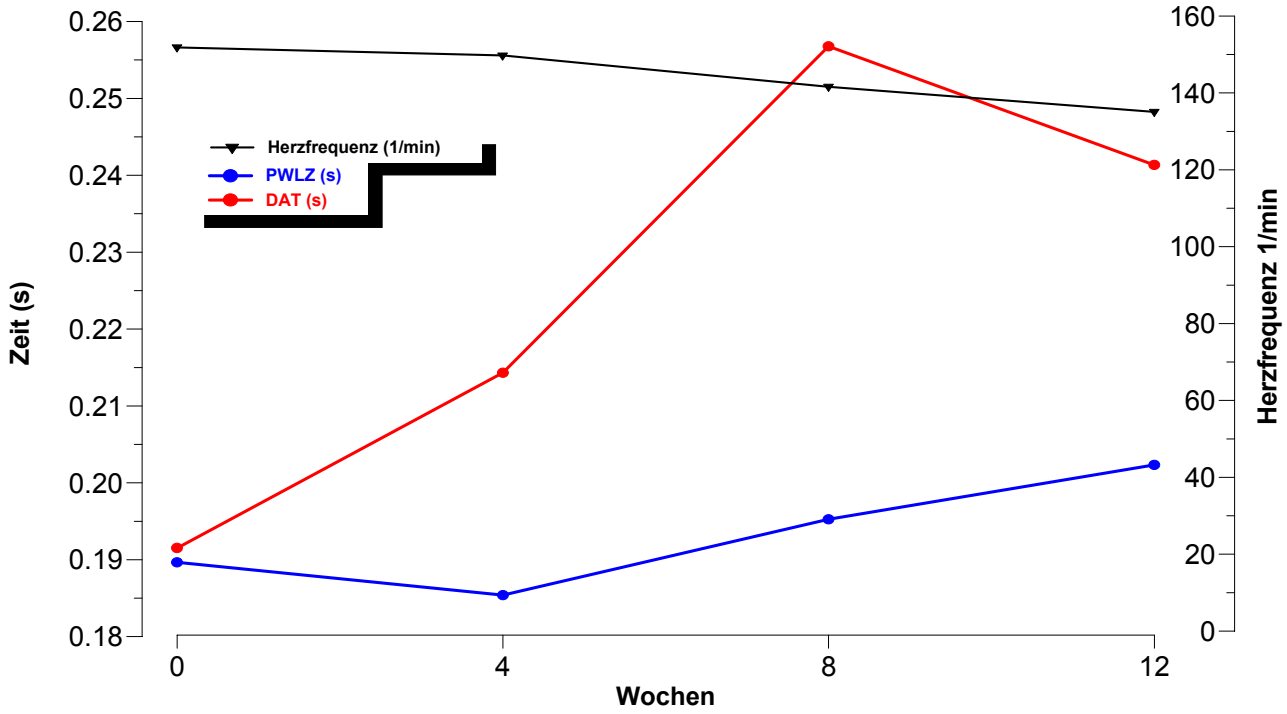

Abb. 17: Verlauf der dopplersonographisch in der A. femoralis bestimmten Pulswellenlaufzeit (PWLZ) und der diastolischen Ankunftszeit (DAT),

5.4.2 Herzfrequenz und Blutdruck

Bei der Herzfrequenz kam es im Verlauf der Messungen zu keinem Zeitpunkt zu einer signifikanten Veränderung wohingegen der Blutdruck bereits nach 4 Wochen systolisch von 64,21 ± 1,69 mmHg auf 75,76 ± 6,15 mmHg und diastolisch von 59,64 ± 5,23 mmHg auf 65,54 ± 5,23 mmHg signifikant anstieg ($p<0,001$ bzw. $p<0,02$), sich bis zur achten Woche auf diesem Niveau hielt und in der 12 Woche wieder auf systolisch 70,73 ± 13,15 mmHg und diastolisch 61,48 ± 10,81mmHg abfiel, so dass es insgesamt zu keinem signifikanten Anstieg kam ($p=0,15$ bzw. $p=0,57$).

Abb. 18 zeigt den zeitlichen Verlauf der Blutdruckwerte.

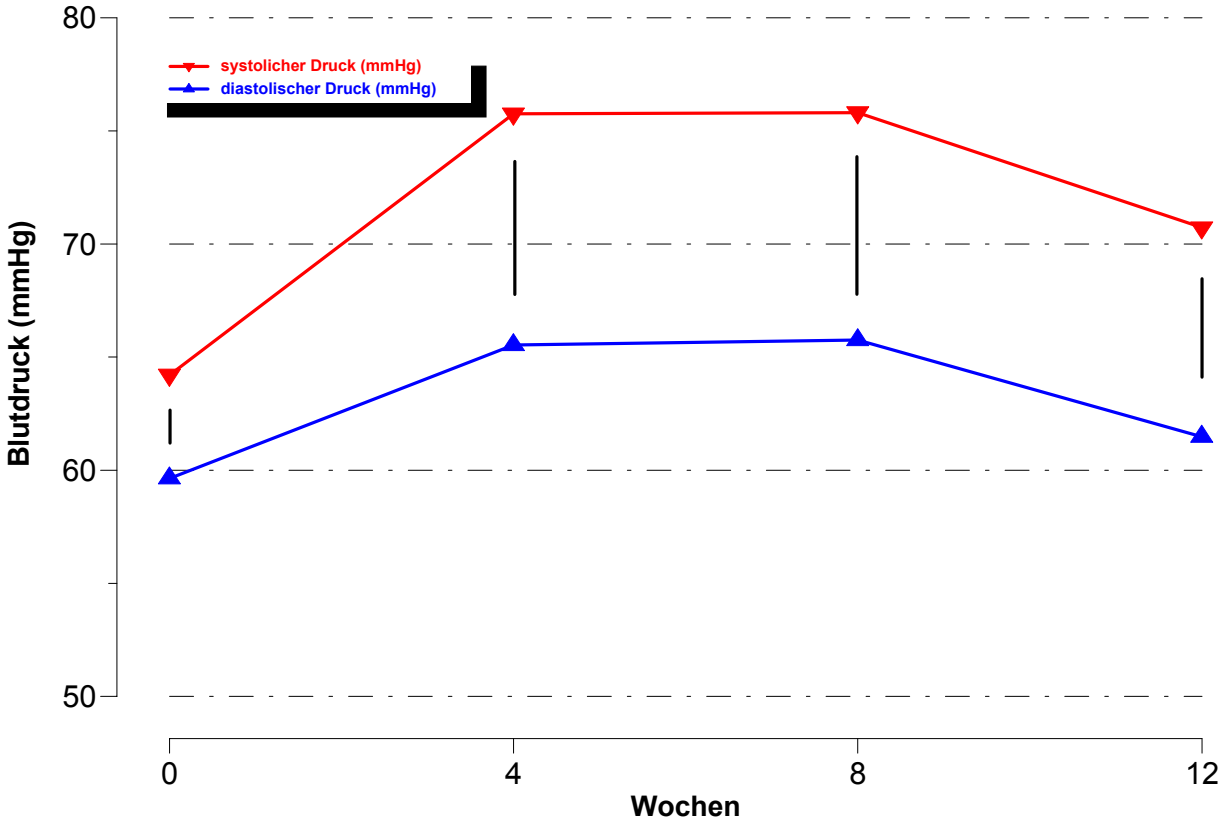

Abb. 18: Blutdruckverlauf im Untersuchungszeitraum (invasive Messung in der A. auricularis caudalis).

5.4.3 Laser Doppler Flux (Mittelwert)

Der mittlere LDF stieg von 31,04 ± 12,30 AU bei Termin 1 auf 42,86 ± 19,46 AU am Ende des Beobachtungszeitraumes an, das entspricht einer signifikanten Zunahme von 11,89 AU (p=0,045). Tabelle 12 zeigt die Veränderungen des mittleren LDF während der gesamten Untersuchung, in der Abb. 19 wird diese graphisch dargestellt.

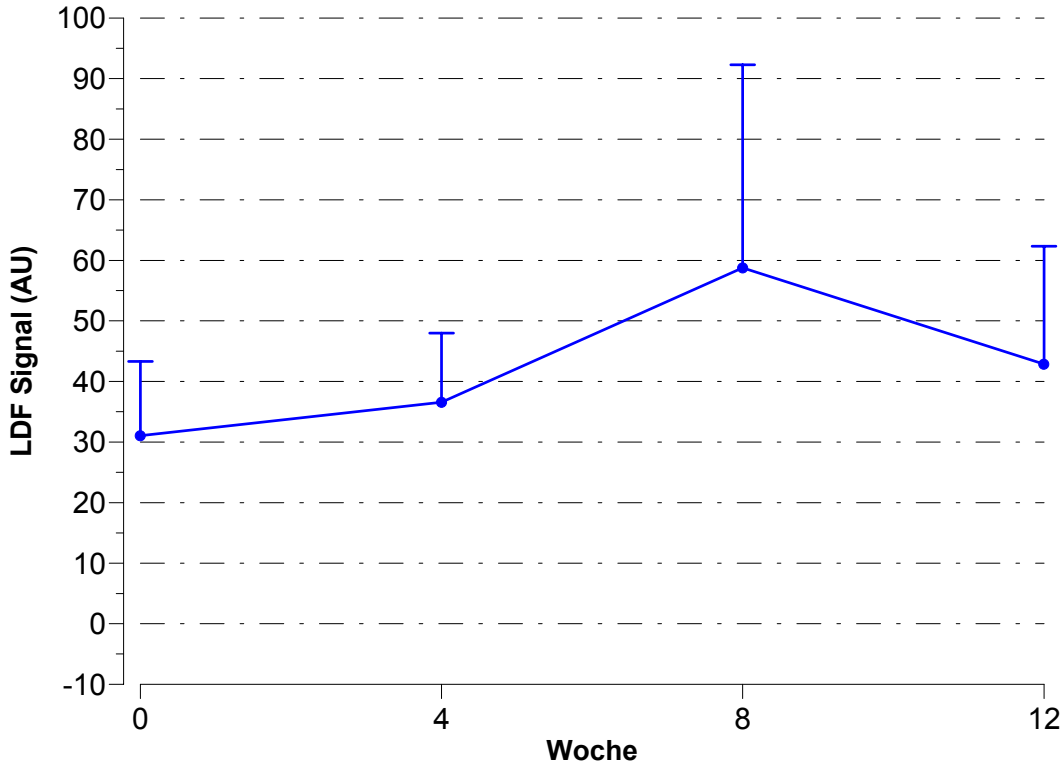

Abb. 19: Mittlere Hautdurchblutung, dargestellt durch den mittleren LDF während des Untersuchungszeitraumes in AU

Tab. 12: Verlauf des kutanen Blutflusses während des Untersuchungszeitraumes

Woche	**0**	**4**	**8**	**12**	**Differenz Woche 0/12**
mittleres LDF-Signal [AU]	31,04 ± 12,30	36,47 ± 11,40	58,76 ± 33,53	42,86 ± 19,46	11,89 (6,2;31,2) p=0,045

In Tabelle 13 werden die einzelnen Differenzen der mittleren LDF an den jeweiligen Messterminen zusammengefasst.

Tab. 13: Differenz des kutanen Blutflusses während der einzelnen Messungen mit Signifikanzniveau

Termin	**2**	**3**	**4**
1	5,54 ± 16,41 (p=0,21)	31,04 ± 12,30 (p<0,0001)	11,89 (6,2;31,2) (p=0,045)
2		22,18 ± 34,86 (p=0,027)	6,28 ± 21,48 (p=0,28)
3			-15,9 ± 37,66 (p=0,12)

5.4.4 Waveletanalyse der LDF Zeitreihen

Atmung (0,6-1,2 Hz)

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes stieg der prozentuale Anteil der Zeitskalierungsebene der Atmung signifikant von 35,11 ± 20,51% (Termin 1) auf 50,57 ± 18,53% (Termin 4) (p=0,02) an, die Differenzen der einzelnen Messungen werden in Tabelle 14 wiedergegeben.

Tab. 14: Differenz im prozentualen Anteil der Zeitskalierungsebene der Atmung zwischen den einzelnen Messungen

Termin	**2**	**3**	**4**
1	5,35 ± 25,10 (p=0,42)	18,77 ± 23,25 (p=0,008)	35,11 ± 20,51 (p<0,001)
2		13,42 ± 14,71 (p=0,003)	10,11 ± 23,25 (p=0,11)
3			-3,31 ± 18,26 (p=0,49)

Herzfrequenz (1,2-2,4 Hz)

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes veränderte sich der prozentuale Anteil der Zeitskalierungsebene in der sich der Einfluss der Herzfrequenz bemerkbar macht nicht signifikant von 25,67 ± 13,33% (Termin 1) auf 29,65 ± 18,70% (Termin 4) (p=0,49). Eine Übersicht der Veränderungen während der einzelnen Messungen gibt Tabelle 15.

Tab. 15: Differenz im prozentualen Anteil der Zeitskalierungsebene der Herzfrequenz zwischen den einzelnen Messungen

Termin	**2**	**3**	**4**
1	5,86 ± 23,56 (p=0,35)	18,77 ± 23,50(p=0,008)	3.99 ± 21,67 (p=0,49)
2		-9,81 ± 14,31(p=0,019)	-1,87 ± 24,84 (p=0,77)
3			7,94 ± 18,12 (p=0,11)

Reflexion (2,4-9,6 Hz)

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes verringerte sich der prozentuale Anteil der Zeitskalierungsebene der Pulswellenreflexion in der Peripherie von 21,22 ± 14,80% (Termin 1) auf 5,26 ± 2,19 (Termin 4) ($p<0,001$). Betrachtet man die Differenz zwischen den einzelnen Messungen ist zu bemerken, das nahezu zwischen allen Untersuchungen signifikante Unterschiede liegen, eine Übersicht der einzelnen Differenzen zwischen den Messterminen gibt Tabelle 16.

Tab. 16: Differenz im prozentualen Anteil der Zeitskalierungsebene der Reflexion in der Peripherie zwischen den einzelnen Messungen

Termin	**2**	**3**	**4**
1	-13,59 ± 15,27 (p=0,004)	-16,10 ± 15,39 (p=0,001)	-15,96 ± 14,34 (p<0,001)
2		-2,51 ± 5,12 (p=0,08)	-2,37 ± 5,12 (p=0,03)
3			0,14 ± 2,56 (p=0,84)

In Tabelle 15 wird nochmals der Verlauf der einzelnen Zeitskalierungsebenen zusammengefasst und in Abbildung 21 dargestellt.

Tab. 17: Verlauf der einzelnen Zeitskalierungsebenen im Verlauf der Untersuchung

Woche	0	4	8	12	Differenz Woche 0/12
Atmung (0-1,2 Hz)	35,11 ± 20,51%	40,46 ± 13,77%	53,88 ± 11,74%	50,57 ± 18,53%	15,56 ± 22,85% (p=0,02)
Herzfrequenz (1,2-2,4Hz)	25,67 ± 13,33%	31,53 ± 13,92%	21,71 ± 7,68%	29,65 ± 18,70%	3,99 ± 21,97% (p=0,49)
Reflexion in der Peripherie (2,4-9,6Hz)	21,22 ± 14,80%	7,63 ± 4,23%	5,12 ± 2,05%	5,26 ± 2,19	-15,96 ± 14,34% (p=0,0007)

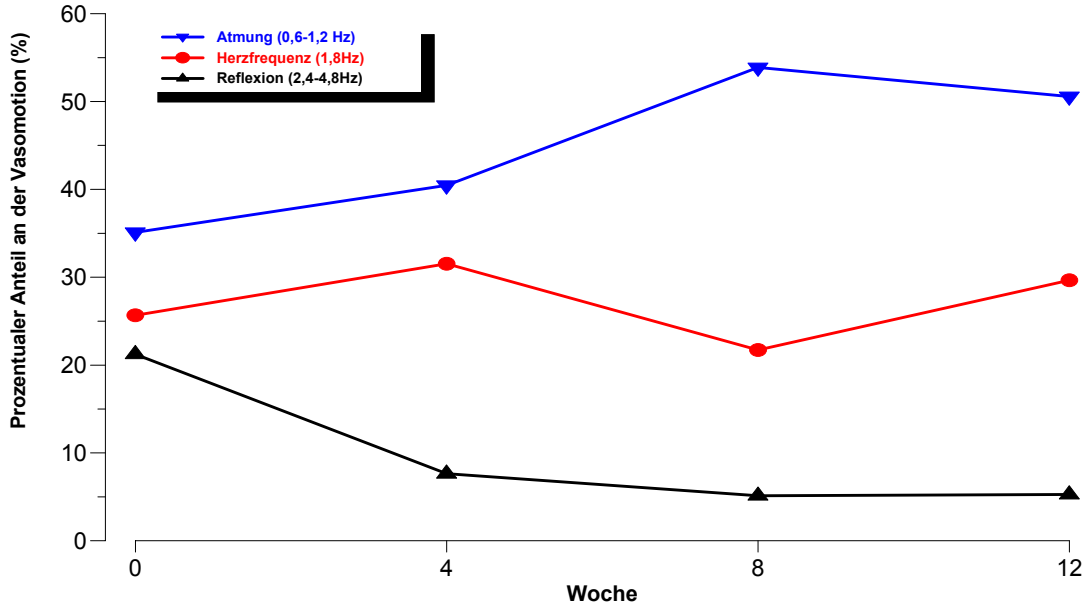

Abb. 20: Verlauf der verschiedenen Zeitskalierungsebenen im Untersuchungszeitraum. Dargestellt sind die physiologischen Kenngrößen Atmung, Herzfrequenz und Reflexion der Pulswelle in der Peripherie.

Im Zeitskalierungsbereich der Atmung, der Herzfrequenz und der Reflexion der Pulswelle in der Peripherie (0-1,2 Hz; 1,2-2,4 Hz; 2,4-9,6 Hz) ergeben sich am Termin 4 bei der Waveletanalyse des Laserdopplersignals folgende Korrelationen mit dem prozentualen Stenosegrad in der rechten Femoralarterie (Tabelle 18), in den Abbildungen 21 bis 23 sind die Korrelationen der verschiedenen Zeitskalierungsebenen mit dem prozentualen Stenosegrad in der A. femoralis communis graphisch dargestellt.

Tab. 18: Korrelation der verschiedenen Zeitskalierungsebenen mit dem mittleren prozentualen Stenosegrad in der A. femoralis communis rechts

	r	**p**
Atmung (0-1,2 Hz)	0,46	0,08
Herzfrequenz (1,2-2,4Hz)	-0,45	0,09
Reflexion in der Peripherie (2,4-9,6Hz)	-0,41	0,13

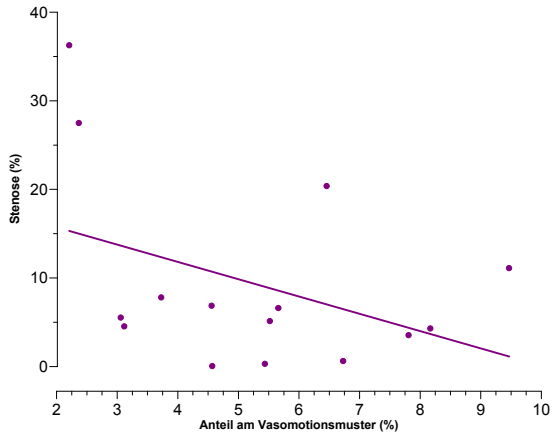

Abb. 21: Korrelation zwischen dem prozentualen Stenosegrad und dem Anteil der Atmung am Vasomotionsmuster

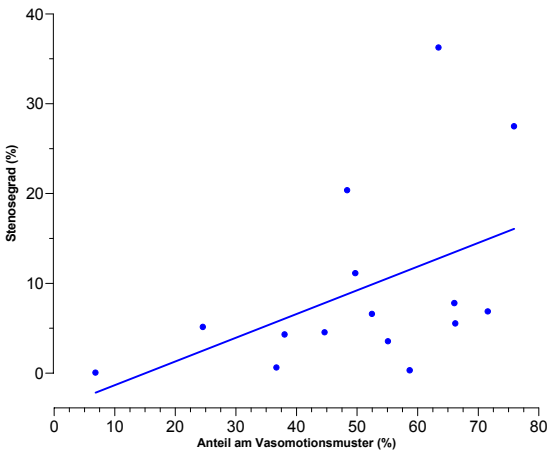

Abb. 22: Korrelation zwischen dem prozentualen Stenosegrad und dem Anteil der Herzfrequenz am Vasomotionsmuster

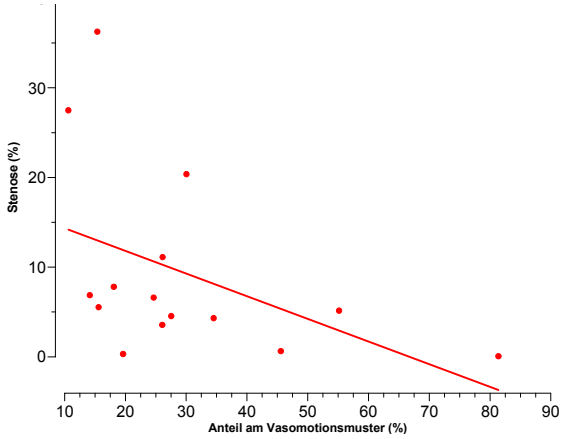

Abb. 23: Korrelation zwischen dem prozentualen Stenosegrad und dem Anteil der Reflexion der Pulswelle in der Peripherie am Vasomotionsmuster

5.4.5 Biorthogonalzerlegung der LDF-Zeitreihen (nicht-lineare Analyse)

Während des gesamten Untersuchungsraumes kam es zu einem stetigen Absinken der mittels Biorthogonalzerlegung errechneten Entropie (Tab. 19), hierbei verkleinerte sich die Differenz zwischen den einzelnen Messungen zusehends, so das in der graphischen Darstellung ein nahezu logarythmischer Kurvenverlauf zu beobachten ist (Abb. 24)

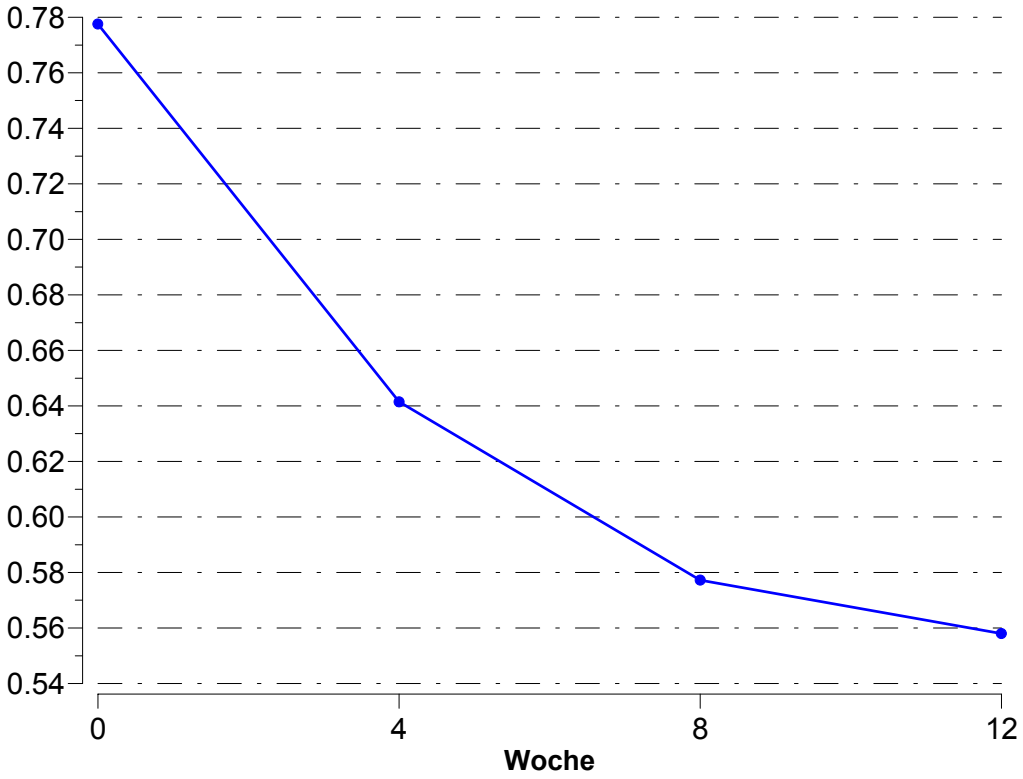

Abb. 24: Verlauf des mit Hilfe der Biorthogonalzerlegung analysierten Entropie. Die Entropie des kutanen Blutflusses sinkt kontinuierlich von der 4. bis 12. Woche des Beobachtungszeitraumes.

Tab. 19: Verlauf der mit Hilfe der Biorthogonalzerlegung errechneten Entropie

Woche	**0**	**4**	**8**	**12**	**Differenz**
Entropie	0,78 ± 0,18	0,64 ± 0,06	0,58 ± 0,077	0,56 ± 0,07	-0,22 ± 0,16 p<0,0001

Tabelle 20 gibt eine Übersicht über die Differenz mit Signifikanzniveau zwischen den einzelnen Messungen dar.

Tab. 20: Differenz der Entropie des kutanen Blutflusses zwischen den einzelnen Messungen mit Signifikanzniveau

Termin	**2**	**3**	**4**
1	-0,14 ± 0,22 (p<0,0001)	0,2 ± 0,2 (p=0,002)	-0,22 ± 0,16 (p<0,001)
2		-0,06 ± 0,11 (p=0,044)	-0,08 ± 0,10 (p=0,007)
3			-0,02 ± 0,10 (p=0,47)

Korreliert man den mittleren, prozentualen Stenosegrad in der A. femoralis communis rechts mit der durch Hilfe der Biorthogonalzerlegung des Laser Doppler Fluxsignals nach einer nicht-linearen Methode ermittelten Entropie ergibt sich eine Korrelation von r=-0,67 im Bereich der A. femoralis communis, bei einem p-Wert von <0,01 zeigt sich eine deutliche Signifikanz (Abb.25).

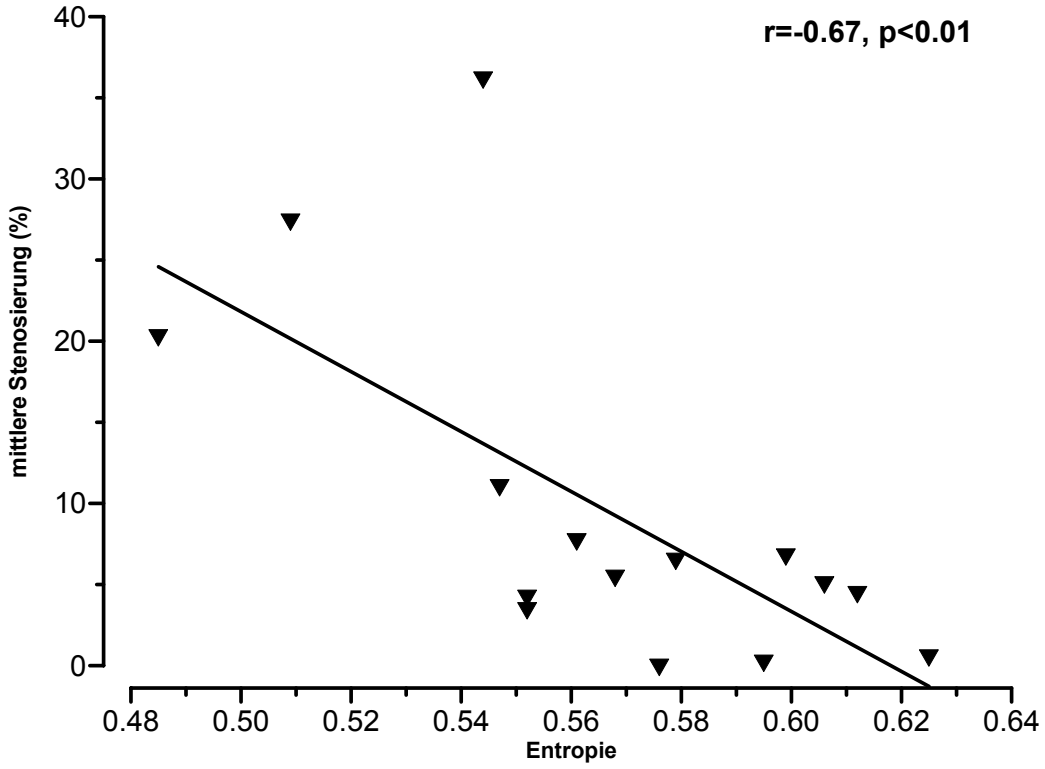

Abb. 25: Korrelation des mittleren prozentualen Stenosierungsgrades in der A. femoralis communis mit der Biorthogonalzerlegung des LDF (Entropie)

Die unterschiedlichen Korrelationen der hier vorgestellten hämodynamischen Parameter sind in Anhang A zusammengefasst.

6 Diskussion

6.1 Laborchemische Parameter

6.1.1 Hämatologische Parameter

Im Rahmen des Untersuchungszeitraumes kam zu signifikanten Veränderungen des Blutbildes. Zum einen sank die Eythrozytenzahl stetig um insgesamt 1,5 ± 0,99 Mio./ µl ($p<0,0001$) und mit ihr sowohl die Hämoglobinkonzentration als auch der Hämatokrit signifikant, zum anderen kam es zu einem ebenfalls konstanten Anstieg der Leukozytenwerte um über 170% des Ausgangswertes ($p=0,007$). Als möglich Ursache der Leukozytose kommt bei Malnutrition mit hochdosierter Cholesterin-Fütterung bei gleichzeitigem Anstieg der Transaminasen (insbesondere GOT), der Pankreasenzyme und der Retentionsparameter eine Stressreaktion im Rahmen einer beginnenden Organschädigung in Frage, zudem wurde bereits in früheren Arbeiten gezeigt, dass es unter Hypercholesterinämie vor allem bei beginnendem Leberversagen aufgrund einer Zunahme der Leukopoese im Knochenmark zu einer reversiblen Leukozytose kommt (Feldman et al. 1996). Da im Rahmen der Untersuchung weder ein Differentialblutbild noch eine Knochenmarksbiopsie vorgenommen wurden bleibt die Ursache für die Abnahme der Erythrozytenkonzentration während der Untersuchung letztendlich ungeklärt, insbesondere bleibt die Frage ungelöst ob es sich tatsächlich um eine Abnahme der absoluten Erythrozytenzahl oder um ein Verdünnungsphänomen durch Zunahme des intravasalen Plasmavolumens handelt, wie sie im Rahmen einer hydropischen Dekompensation regelhaft bei Leberversagen vorkommt (Fleig und Hahn 1994).

6.1.2 Klinische Chemie

Wie bereits aus zahlreichen Untersuchungen vorbekannt kam es bei der cholesterinreichen Ernährung der Kaninchen im Rahmen der vorliegenden Arbeit zu einer progredienten Schädigung multipler Organsysteme, insbesondere zeigte sich bei steigender Cholesterinämie, welche ihren Ausdruck hauptsächlich in einer Steigerung des VLDL (very low density lipoprotein) und des LDL (low density lipoprotein) fand, eine zunehmende hepatozelluläre Schädigung mit konstantem Anstieg der GOT, so dass am Ende des Beobachtungszeitraumes v.a. das beginnende Leberversagen bei den Kaninchen zum limitierenden Faktor der Untersuchung wurde. Zudem war ein signifikanter Anstieg der Pankreasfermente, v.a. der Lipase ebenso wie eine Zunahme der Retentionswerte zu verzeichnen, beides a.e. als Folge der Lipidablagerungen (Marquie et al.1970, Evans et al.1959).
Ursache der erhöhten Cholesterinablagerungen in nahezu allen Organen ist eine nahrungsinduzierte Hypercholesterinämie, welche durch eine Akkumulation von exogen zugeführtem Cholesterin ausgelöst wird (Frank et al. 1996). Kaninchen neigen zu einer Anreichung in peripheren Organen (u.a. dem Gefäßsystem), da sie die Ausscheidung von Cholesterin nicht steigern können, was zu einer erhöhten hepatischen Exkretion von cholesterinreichen Lipoproteinen in den Kreislauf führt (Thomson et al. 1983, Mackinnon et al. 1985, Kroon et al 1985). Die führenden Transportproteine sind hierbei LDL und β-VLDL, wobei das letztere ab einem Serum-Cholesterinwert von 700-800 mg/dl fast ausschließlich für den Transport verantwortlich ist (Brattsand 1976, Schwenke et al. 1989), entsprechend ließ sich auch in der vorliegenden Untersuchung eine Steigerung hauptsächlich des VLDL verzeichnen, welches zum Ende des Beobachtungszeitraumes bei einem Wert von 1039 mg/dl angelangt war, wohingegen sich das HDL-Cholesterin bei Werten um12 mg/dl stabil zeigte.

6.2 Morphometrie

Durch den signifikanten Anstieg der atherogenen Lipoproteine kommt es zu einer Reduktion der hepatischen Lipoproteinrezeptoren, was zusätzlich zu einer Verlängerung der Zirkulationszeit und somit zu einer Begünstigung der Ablagerung von Lipiden in der Intima-media Schicht der Gefäße führt. (Kovanen 1981)
Während der Cholesterinfütterung kommt es so zur Ausbildung atheromatöser Läsionen, von der einfachen, reversiblen Einlagerung zu Beginn bis hin zur stenosierenden, kalzifizierten Plaque (Tsukada 1986 et al. Wilson et al. 1982, Daley et al. 1994). Hierbei scheint die Dauer und Konzentration der exogen Cholesterinzufuhr entscheidend für die Morphologie der Atherosklerose zu sein, wobei eine lange, niedrig dosierte Fütterung (<0,5%) eher zur Ausbildung von atheromatösen, verkalkten Läsionen mit Einlagerung von Zelldetritus und Cholesterin führt und somit vergleichbar mit den Gefäßschäden bei der Atherosklerose des Menschen ist (Frank et al. 1996, Daley 1994, Adams 1982, Walker 1986, Spagnoli 1991, Bocan 1991, Lupu 1987). Bei hochdosierter Cholesterinfütterung über einen kurzen Zeitraum entstehen vorrangig weiche, cholesterinreiche Läsionen mit Einlagerung von Makrophagen und daraus entstehenden Schaumzellen (Orlandi 1992, Kritchevsky 1971, Constantinides 1960).
Während der Fütterung über 12 Wochen mit 0,5%-igem Cholesterinfutter entwickelten die untersuchten Tiere im Bereich aller untersuchten Gefäßabschnitte weiche Plaques, wobei naturgemäß die befallene Intimaoberfläche mit einer mittleren Plaquefläche von 1,42mm^2 in der Aorta am größten war. Bei einem Abstand von ca. 0,3 mm zwischen den Messpunkten fand sich in nahezu der Hälfte aller untersuchten Präparate aus der A.iliaca ein Plaquebefall, wobei es hier erwartungsgemäß zu einer seitengleichen Verteilung kam.

6.3 Hämodynamische Parameter

Im Falle der vorliegenden Untersuchung kam es zu einem signifikanten Anstieg der Pulswellenlaufzeit, gemessen als Zeitraum zwischen der R-Zacke im EKG als Zeichen für den Beginn der Austreibungsphase des Herzens und der Ankunft der Pulswelle in der rechten Femoralarterie des Versuchstieres von 0,190 ± 0,013 s auf 0,202 ± 0,009 s (p=0,01). Zusätzlich kam es zu einer tendenziellen Verlängerung der diastolischen Ankunftszeit (diastolic arrival time, DAT), da sich durch Abnahme der Wandsteifigkeit aufgrund von Einlagerung weicher Plaques die systolische Anstiegsgeschwindigkeit verringerte und sich damit der Zeitraum bis zum maximalen Druckwert im peripheren Gefäß verlängerte, eine Signifikanz wurde hierbei jedoch verfehlt (p=0,107).
Aufgabe des Gefäßsystems ist zum einen die Bereitstellung eines Leitungssystems für den möglichst verlustarmen Transport des Blutes vom Herzen in die Peripherie zum anderen die Aufrechterhaltung eines möglichst laminaren Perfusionsflusses im Gewebe über die gesamte Dauer eines Herzzyklus (O´Rourke 1982, Milnor 1989, Nichols 1990). Während das gesamte Gefäßsystem erstere Aufgabe übernimmt, wird über die Elastizität vornehmlich der großen Gefäße gewissermaßen ein „Kissen“ gebildet, welche in der Systole einen Teil des Druckes aufnimmt und sie in der Diastole weitergibt um einen möglichst laminaren Blutfluss zu gewährleisten (O´Rourke M 1995).
Die Okklusion des Lumens und die Veränderung der Wandsteifigkeit sind somit die zwei wesentlichen Komponenten pathologischer Veränderungen der Hämodynamik bei der Entwicklung der Atherosklerose beim Menschen. Da die Pulswelle hauptsächlich über die Arterienwand übertragen wird ist die Geschwindigkeit über deren Elastizität und Geometrie determiniert (Avolio et al. 1991), so dass sich Änderungen der Wandbeschaffenheit in einer Zu- oder Abnahme der Pulswellenlaufzeit niederschlagen (Asmar et al. 1995, O´Rourke M 1995, Mc Donald DA 1967, Avolio AP 1991, Avolio AP 1985, Merillon JP 1978).
Hierbei kommt es durch steigende Wandsteifigkeit beispielsweise im Rahmen einer Mediahyperplasie oder durch Einlagerung von Kalksalzen bei der sich langsam entwickelnden, kalzifizierenden Atherosklerose des Menschen zu einer Zunahme der Pulswellengeschwin-

digkeit und somit zu einer Abnahme der Pulswellenlaufzeit (PWLZ) (O´Rourke M 1995,Asmar et al. 1995,Kanda et al. 2000, Katsuda et al. 2000).
Bei einer Abnahme der Wandsteifigkeit durch Einlagerungen von Lipiden wie sie im Rahmen dieser Arbeit bei der rasch progredienten, cholesterininduzierten Atherosklerose des Kaninchens gefunden wurde (vgl. Kap. 5.2) kommt es umgekehrt zu einer Abnahme der Pulswellengeschwindigkeit.

6.4 Laser Doppler Fluxmetrie (LDF)

Während des Untersuchungszeitraumes kam es durch Vasodilatation in den ersten 8 Wochen zu einem Anstieg des mittleren LDF-Signals ($p<0,0001$) als Ausdruck einer kompensatorischen Steigerung des dermalen Blutflusses (Hoffmann et al. 1998). Nach einer Steigerung bis nahezu 176% des Ausgangswertes fiel das LDF-Signal bis zum letzten Termin wieder ab. Ursächlich hierfür kann zum einen die steigende Stenosierung der zuführenden Gefäße (Donelly et al. 2000) als auch die im Rahmen der Atherogenese zunehmende Endotheldysfunktion gemacht werden (Vane et al. 1990, Egashira et al.1993, Harrison 1994, Mancini et al.1996, Stefanovska 1998).

6.5 Waveletanalyse

Mit der Waveletanalyse der Daten aus der Laser Doppler Fluxmetrie wird in dieser Arbeit eine neue Analysemethode angewendet, die im Gegensatz zu der Fourieranalyse ermöglicht, physiologische Einflussgrößen auf die Mikro- und Makrozirkulation gemäß ihrem Anteil am Dopplerspektrum einzeln zu quantifizieren. Hierbei zeigte sich während der Untersuchung eine Zunahme im Frequenzspektrum der Atmung (0,6-1,2 Hz).
Wahrscheinliche Ursache hierfür ist die poststenotische Abnahme des Blutflusses mit konsekutiver Reduktion des Druckgradienten zwischen dem prä- und postkapillären Gefäßbett. Dies bewirkt wiederum einen verminderten Drucksprung zwischen den kleinen Venolen (die in der LDF mit erfasst werden) und den großen Venen, so dass es zu einer Zunahme des Einflusses der respiratorischen Druckschwankungen in den großen Venen auf

respiratorischen Druckschwankungen in den großen Venen auf das Kapillarbett kommt (Bollinger 1991).

Im Bereich von 2,4 bis 4,8 Hz, welcher hauptsächlich die Reflexion der Pulswelle in der Peripherie repräsentiert, kommt es aufgrund einer poststenotischen Flussminderung mit zunehmender Laminarisierung des Strömungsprofils und der „Wellenbrecherfunktion“ der Stenosen erwartungsgemäß zu einer hochsignifikanten, stetigen Reduktion des Anteils am Gesamtsignal ($p<0,001$).

Da sich während der Untersuchung die Herzfrequenz der Versuchstiere nicht signifikant verändert, bleibt in der hierfür charakteristischen Zeitskalierungsebene (1,8Hz) der Signalanteil unverändert.

Bei der Verwendung ähnlicher Analysemethoden fanden bereits Stefanovska et al. 1999 verschiedene Einflüsse auf den peripheren Blutfluss, die in den zeitskalierten Ebenen der Waveletanalyse quantifiziert werden können (Stefanovska et al. 1999). Die Autoren verwendeten dafür unterschiedliche Mutter-Wavelets um diese Skalierungsebenen zu beschreiben, wobei sich zwar eine Beeinflussung des kutanen Blutflusses durch Atmung und Herzaktion jedoch war eine klare Zuordnung zu physiologischen Größen nicht durchgeführt worden. Weiterhin zeigte sich eine Oszillation im Bereich von 0,01 Hz, welche als Ausdruck der endothelabhängigen Regulation des kutanen Blutflusses interpretiert wurde. Zu dem gleichen Schluss kam eine Untersuchung der gleichen Arbeitsgruppe, die nur wenige Monate zuvor eine deutliche Zunahme des mittels Wavelets analysierten LDF bei 0,01 Hz unter der Applikation von Acetylcholin gefunden hatten (Kvernmo et al. 1999).

In der vorliegenden Arbeit wurde nur ein Mutter-Wavelet verwendet (der sogenannte „Mexikanerhut“, siehe Abb. 3), mit dessen Hilfe exakt die physiologischen Einflussgrößen Atmung, Herzfrequenz und Reflexion der Pulswelle in der Peripherie bestimmt werden können (Bräuer 2002, Häfner in press).

6.6 Biorthogonalzerlegung

Bei der Analyse der im Rahmen der Untersuchung gewonnen Daten aus der Laser Doppler Fluxmessung mit Hilfe der Biorthogonalzerlegung zeigt sich bereits in der zweiten Messung ein signifikanter Abfall der gewonnenen Werte ($p=0,03$), dieser Trend hält bis zu der letzten Messung an, so dass das Signifikanzniveau bei einem Vergleich der Werte aus der ersten und der letzen Messung sogar steigt ($p<0,0001$).
Mit Hilfe der Biorthogonalzerlegung ist es möglich Aussagen über die Entropie (Ordnung) eines Systems zu treffen (Bräuer 2002). Extreme Homo- bzw. Inhomogenität innerhalb eines Organismus sind Ausdruck eines pathologischen Geschehens (Häfner 2002), beispielsweise konnte bei Patienten mit bekanntem Raynaudphänomen, die auflichtmikroskopisch nachgewiesene Veränderung und damit verschiedene Flussmuster innerhalb des Kapillarbettes zeigten (Megakapillaren, Rarifizierungen, glomeruläre Kapillarstrukturen) eine deutliche Steigerung der Freiheitsgrade nachgewiesen werden (Hahn et. al. 1998), was eine Zunahme der Inhomogenität bzw. der Entropie bedeutet.
Innerhalb dieser Arbeit zeigt sich hingegen eine massive Abnahme als Folge einer verminderten autonomen Regulation und eines zunehmend reduzierten Blutflusses im Rahmen einer fortschreitenden Atherosklerose. Vergleicht man die Entropie der Messung am letzten Messtermin mit den Daten aus der anschließenden morphometrischen ex-vivo Bestimmung der Stenosen, so erhält man eine signifikante, negative Korrelation von $r=-0,64$ ($p<0,001$).
Da beim Kaninchen eine reliable ultrasonographische Dopplermessung aufgrund der anatomischen Verhältnisse in peripheren Bereichen wie z.B. der Pfote nicht möglich ist, andererseits ein vitaler Parameter bei der Erforschung der initialen Atherogenese am Kaninchenmodell unverzichtbar ist, stellt die Messung der Hautdurchblutung durch die Laser Doppler Fluxmetrie und die anschließende Analyse mittels der Biorthogonalzerlegung eine wichtige, neue Methode in der Atheroskleroseforschung dar.

7 Zusammenfassung

Ziel der Studie war es, einen intravitalen Parameter zu finden, der die Atherogenese anhand der Hautdurchblutung beschreiben und quantifizieren kann.
Methode: Bei 15 weißen, männlichen Neuseelandkaninchen wurde eine Atherogenese durch Fütterung von 0,5%ig cholesterolhaltigem Futter induziert. Im vierwöchigem Abstand wurden laborchemische Parameter zur Kontrolle der Versuchstiere bestimmt und hämodynamische Parameter gemessen. Für die Beschreibung der arteriellen Hämodynamik wurde intraarteriell kontinuierlich der Blutdruck gemessen, simultan wurden in der Aorta abdominalis und A. femoralis communis die Dopplerspektren aufgezeichnet. Die periphere Hautdurchblutung wurde im Bereich der rechten Hinterpfote mittels Laser Doppler Fluxmetrie quantifiziert. Alle Messdaten wurden über einen Analog-Digitalwandler der elektronischen Datenverarbeitung zugeführt und über einen Zeitraum von fünf Minuten bei einer Abtastrate von 100 Hz auf einem handelsüblichen PC gespeichert. Die so erfassten Zeitreihen wurden nach den Messungen nicht-linear untersucht. Zu allen Messverfahren wurde das EKG (Extremitätenableitung III nach Einthoven) als Trigger mitaufgezeichnet, nach jedem Messtermin erfolgte eine Blutentnahme zur Bestimmung der klinisch-chemischen Parameter. Nach 12 Wochen wurde in der Aorta thoracalis sowie in den Aa. iliacae und Aa. femorales die mittlere Plaquesfläche, der mittlere prozentuale Stenosegrad und der maximale prozentuale Stenosegrad morphometrisch ermittelt.
Ergebnisse: Bei steigenden Serum-Cholesterinwerten kam es während des Untersuchungszeitraumes zu signifikanten atherosklerotischen Veränderungen der Gefäße bei den Versuchstieren, durchschnittlich fanden sich rechtsseitig im Gefäßverlauf Stenosen zwischen 0,03 bis maximal 98,1% bei einem mittleren Stenosegrad von 9,4 ± 10,5%. Im Verlauf der Untersuchung kam es zu einem signifikanten Anstieg der Pulswellenlaufzeit (PWLZ) in der A. femoralis rechts von 0,190 ± 0,013s auf 0,202 ± 0,009s (p=0,003). Der mittlere LDF stieg von 31,04 ± 12,30 AU bei Termin 1 um 11,89 AU auf 42,86 ± 19,46 AU am Ende des Beobachtungszeitraumes an (p=0,045). Während des gesamten Untersuchungszeitraumes stieg der prozentuale Anteil der Atmung am Vasomotionsmuster der kutanen Perfusion

signifikant von 35,11 ± 20,51% auf 50,57 ± 18,53% an (p=0,02), wohingegen sich der prozentuale Anteil der Zeitskalierungsebene der Pulswellenreflexion in der Peripherie von 21,22 ± 14,80% auf 5,26 ± 2,19% verringerte (p<0,001). Die mittels Biorthogonalzerlegung des LDF ermittelte Entropie des kutanen Blutflusses sank hochsignifikant von 0,78 ± 0,18 auf 0,56 ± 0,07 (p<0,0001)

Schlussfolgerung: Beim weißen männlichen Neuseelandkaninchen kommt es während einer 12-wöchigen Fütterung zu der Entstehung multipler, weicher Plaques in den großen Arterien. Dadurch kommt es zu einer signifikanten Veränderung der sowohl intraarteriell als auch dopplersonographisch gemessenen Pulswellenlaufzeit. Die mittlere Hautdurchblutung stieg während der Atherogenese als Ausdruck einer initialen Kompensation der beginnenden peripheren Ischämie an und fiel nach acht Wochen wieder ab, hier kann man die Hypothese aufstellen, dass dies durch eine deutliche Minderung des Perfusionsdruckes durch die Entwicklung einer manifesten Stenosierung verursacht wurde. Die Vasomotionsmuster der mittels LDF ermittelten dermalen Perfusion zeigten im Beobachtungszeitraum hochsignifikante Veränderung. Der Einfluss der in der Peripherie reflektierten Pulswelle nimmt zugunsten des Einflusses der Atmung hochsignifikant ab. Die Entropie, errechnet mit Hilfe der Biorthogonalzerlegung nimmt während des Beobachtungszeitraumes kontinuierlich ab und korreliert negativ zum letzten Messtermin hochsignifikant mit den morphometrisch ermittelten Stenosierungsgraden.

Wie hier im Kaninchenmodell gezeigt lassen sich mittels nicht-linearer Analysemethoden von Laser Doppler Fluxzeitreihen somit bei der initialen Atherogenese intravitale, nicht-invasive Parameter finden, die frühzeitig Veränderungen in der Hämodynamik durch progrediente Stenosierungen in den großen und kleinen arteriellen Gefäßen erfassen.

Hiermit könnte auch für die frühzeitige Erkennung der Atherosklerose beim Menschen ein nicht-invasives Verfahren zur Verfügung stehen, mit dessen Hilfe zeitsparend und mit minimalem apparativen Aufwand die Abschätzung einer manifesten oder beginnenden Atherosklerose in-vivo durchgeführt werden kann.

Aufgrund der unterschiedlichen Pathogenese muss jedoch die nicht-lineare Analyse von Laser Doppler Flux Zeitreihen hierzu noch für den Menschen evaluiert werden.

8 Literaturverzeichnis

Adams, C.W., Miller, N.E., Morgan, R.S., Rao S.N. (1982)
Lipoprotein levels and tissue lipids in fatty-fibrous atherosclerosis induced in rabbits by two years' cholesterol feeding at a low level
Atherosclerosis 44, 1-8

Alexander, K. (1984)
Die konservative Therapie der arteriellen Verschlusskrankheit
Dt. Ärztebl. 81, 785-800

Aliev, G., Burnstock, G. (1998)
Watanaba rabbits with heritable hypercholesterinemia: A model of atherosclerosis
Histol. Histopathol. 13, 797-817

Asmar, R., Benetos, A., Topouchian, J. (1995)
Assessment of arterial distensibility by automatic pulsewave velocity measurement
Hypertension 26, 485-490

Asmar, R.G., Brunel, P.C., Pannier, B.M. (1988)
Arterial distensibility and ambulatory blood pressure monitoring in essential hypertension
Am. J. Cardiol. 61, 1066-1070

Avolio, A.P. (1991)
Pulse wave velocity and hypertension
Safar M, ed. Arterial and venous systems in essentiel hypertension, 133-152

Betz E, Hammerle H. (1986)
Effect of etofibrate and its metabolites on atheromas of rabbits and on smooth muscle cell cultures.
Arzneimittelforschung 36, 92-8

Betz E, Quack G. (1990)
Effect of etofibrate on the development and the regression of atheromas in a rabbit model of atherosclerosis.
Vasa 19, 157-60

Bocan, T.M., Mueller, S.B., Uhlendorf, P.D., Ferguson, E., Newton, R.S. (1991)
Dietary and mechanically induced rabbit iliac-femoral atherosclerotic lesions: a chemical and morphologic evaluation
Exp. Mol. Pathol. 54, 201-217

Bollinger, A., Hoffmann, U., Franzeck, U.K. (1991)
Evaluation of flux motion in man by the Laser doppler technique
Blood vessels 28, 21-26

Bramwell, J.C., Hill, A.V. (1922)
The velocity of the pulse wave in man
Lond. B. Biol. Sci. 93, 298-306

Bramwell, J.C., Hill, A.V. (1923)
The velocity of the pulse wave in man in relation to age measured by the hot wire sphygmograph
Heart 10, 233-255

Brattsand, R. (1976)
Distribution of cholesterol and triglycerides among lipoprotein fractions in fat-fed rabbits at different levels of serum cholesterol
Atherosclerosis 23, 97-110

Bräuer, K. (2002)
Analyse chaotischer Zeitreihen, 169-206
in: Bräuer, K.: Chaos, Attraktoren und Fraktale: Mathematische und physikalische Grundlagen nichtlinearer Phänomene mit Anwendungen in Physik, Biologie und Medizin
1. Aufl., Logo Verlag, Berlin

Constantinides, P., Booth, J., Carlson, G. (1960)
Production of advanced cholesterol atherosclerosis in the rabbit after cessation of cholesterol feeding
Arch. Pathol. 70, 712-724.

Daley, S.J., Klemp, K.F., Guyton, J.R., Rogers, K.A. (1994)
Cholesterol-fed and casein-fed rabbit models of atherosclerosis, II: differing morphological severity of atherogenesis despite matched plasma cholesterol
Arterioscler. Thromb. 14, 105-114

de Jong, S.C., Stehouwer, C. D. A., Mackaay, A.J.C., van den Berg, M. (1997)
High Prevalence of Hyperhomocysteinemia and Asymptomatic vascular Disease in Siblings of Young Patients With Vascular disease and Hyperhomocysteinemia
Arterioscler. Thromb. 17, 2655-2662

Donelly, R., Hinwood, D., London, N.J.M. (2000)
Non-invasive methods of arterial and venous assessment
BMJ 320, 698-701

Egashira, K., Inou, T., Hirooka, Y., Yamada, A., Maruoka, Y., Kai, H., Sugimachi, M., Suzuki, S., Takeshita, A. (1993)
Impaired coronary blood flow response to acetylcholine in patients with coronary risk factors and proximal atherosclerotic lesions.
J. Clin. Invest. 91, 29-37

Esper, E., Rung, W.J., Gunther, R., Buchwald, H. (1993)
Natural history of atherosclerosis and hyperlipidemia in heterozygous WHHL rabbits
J. Lab. Clin. Med. 121,103-110

Evans, J.D., Oleksyshyn, N., Luddy, F.E.. Barford, R.A., Riemenschneider, R.W. (1959)
Observation on the effect of cholesterol and fat supplementation on the composition of rabbit liver and plasma lipids
Arch. Biochem. 85, 317-322

Feldman, D.L., Mogelesky, T.C., Liptak, B.F., Gerrity, R.G. (1996)
Leukozytosis in rabbit with diet-induced atherosclerosis
Arteriosclerosis and Thrombosis 11, 985-994

Fabricius, M., Akgoren, N., Dirnagel, U., Lauritzen, M. (1997)
Laminar analysis of cerebral blood flow in cortex of rats by laser-Doppler flowmetryJ
Cereb Blood Flow Metab 17, 1326-36

Fleig, W.E., Hahn, E.G. (1994)
Erkrankungen der Leber, 637-694
in: Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K.: Innere Medizin
3. Auflage, Urban & Schwarzenberger, München, Wien, Baltimore

Gidlöff, A., Larsson, J., Lewis, D., Hammersen, F. (1981)
Capillary endothelial alterations affecting reperfusion after ischemia in human sceletal muscle
Biblthca. Anat. (Karger) 20, 572-577

Groebe, K. (1996)
Precapillary Servo Control of Blood Pressure and Postcapillary Adjustment of Flow to Tissue Metabolic Status
Circulation 94, 1876-1885

Gustafsson, U., Sjoberg, F., Lewis, D.H., Thorberg, P. (1995)
Influence of pentobarbital, propofol and ketamin on skeletal muscle capillary perfusion during hemorrhage: a comparitive study in the rabbit.
Int J Microcirc Clin Exp 15, 163-9

Häfner, H.M. (2002)
Accurat detection of cutanous malignant melanoma
J. invest. Dermatol., in Press

Hahn, M., Hahn, C., Bräuer, K., Jünger, M. (1998)
Skin thermoregulation during local cooling in healthy volunteers and patents with systemic sclerosis-synchronous assessment of capillary red blood cell velocity, laser Doppler flux and skin temperature
VASA 27, 3-9

Harrison, D.G. (1994)
Endothelial dysfunction in atherosclerosis.
Basic Res. Cardiol. 89 (suppl. 1),87-102.

Heinle H. (1987)
Metabolite concentration gradients in the arterial wall of experimental atherosclerosis.
Exp. Mol. Pathol. 46, 312-20

Heinle H, Liebich H. (1980)
The influence of diet-induced hypercholesterolemia on the degree of oxidation of glutathione in rabbit aorta.
Atherosclerosis 37, 637-40

Heinle H, Stowasser F, Betz E. (1982)
Metabolic changes in modified smooth muscle cells of rabbit carotid arteries.
Basic Res. Cardiol. 77, 82-92

Henriksen, O. (1974)
Orthostatic change of blood flow in subcutanous tissue in patients with arterial insufficiency of the legs
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 34, 103-109

Hoffmann, U., Bollinger A. (2000)
Erkrankungen der Arterien, 262-275
in: Siegenthaler, W.: Differentialdiagnose innerer Krankheiten
18. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart

Hoffmann, U., Franzeck, U. K., Bollinger, A. (1994)
Low frequency oscillation of skin blood flux in peripheral arterial occlusive disease
VASA 23, 120-124

Jünger, M., Frey-Schnewlin, G., Bollinger, A. (1988)
Microvascular flow distribution and transcapillary diffusion at the forefoot in patients with peripheral ischemia
Int. J. Microcirc. 8, 3-24

Kanda, T., Nakamura, E., Moritani, T., Yamori, J. (2000)
Arterial pulse wave velocity and risk factors for peripheral arterial disease
Eur. J. Appl. Physiol. 82, 1-7

Katsuda, S.I., Hasegawa, M., Kusanagi, M., Shimizu, T. (2000)
Comparison of pulse-wave velocity in different aortic regions in relation to the extent and severity of atherosclerosis between young and older Kurosawa and Kusanagi hypercholesterinemic (KHC) rabbits
Clinical Science 99, 393-404

Kiesewetter, H., Jung, F. (1987)
Durchblutungsstörungen- Hämatokrit als Risikofaktor, Hämodilution als mögliche Therapie
Arzneimitteltherapie 5(5), 151-162

Kiesewetter, H., Jung, F., Spitzer, S., Wenzel, E. (1984)
Die Fließeigenschaften des Blutes und ihre klinische Bewertung beim arteriellen Gefäßpatienten
Internist 30, 420-428

Kolodgie, F.D., Katocs, A.S., Largis, E.E., Wrenn, S.M. (1996)
Hypercholesterinemia in the rabbit induced by feeding graded amounts of low level cholesterol. Methodological considerations regarding individual response to dietary cholesterol and development of lesion type.
Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 16, 1454-1464

Kovanen, P.T., Brown, M.S., Basu, S.K., Bilheimer, D.W., Goldstein, J.L. (1981)
Saturation and suppression of hepatic lipoprotein receptors: a mechanism for the hypercholesterolemia of cholesterol-fed rabbits
Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 78, 1396-1400

Kretschmer, G., Kristen, H., Polterauer, P., Piza, F., Wagner, O., Marosi, L., Schemper, M. (1983)
Ergebnisse großer Gliedmaßenamputationen in einem vasculär-chirurgischen Krankengut in Abhängigkeit vom Lebensalter
Angiologie und Geriatrie 83, 244-246

Kritchevsky, D., Tepper, S.A., Vesselinovitch, D., Wissler, R.W. (1971)
Cholesterol vehicle in experimental atherosclerosis
Atherosclerosis 14, 53-64

Kroon, P.A., Thompson, G.M., Chao, Y. (1985)
ß-very low density lipoproteins in cholesterol-fed rabbits are of hepatic origin
Atherosclerosis 56, 323-329

Kuller, L.H., Shemanski, L., Psaty, B.M., Borhani, N.O., Gardin, J., Haan, M.N., O´Leary, D.H., Savage, P.J. (1995)
Subclinical Disease as an Independent Risc Factor for Cardiovascular Disease
Circulation 92, 720-726

Kvernmo, H.D., Stefanovska, A., Kirkeboen, K.A., Kvernebo, K. (1999)
Oscillation in the Human cutaneous Blood Perfusion Signal Modified by Endothelium-Dependant and Endothelium-Independent Vasodilators
Microvasc. Res. 57, 298-309

Larsson, M., Steenbergen, W., Stromberg, T. (2002)
Influence of optical properties an fiber separation on laser doppler flowmetry
J Biomed Opt 7, 236-43

Laurent, S., Boutouyrie, P., Asmar, R.G., Gautier, I. (2001)
Aortic stiffness is an independent factor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients
Hypertension 37, 1236-1241

Levick, J.R., Michel, C.C. (1978)
The effects of position and skin temperature on the capillary pressure in the fingers and toes
J. Physiol., London 274, 97-108

Ludolf, O., Chen, D., Zehnder, T., Mahler, F. (1993)
Influence of local finger cooling on laser Doppler flux and nailfold capillary blood flow velocity in normal subjects and in patients with Raynaud's phenomenon.
Microvasc Res; 46, 374-82.

Lupu, F., Danaricu, I., Simionescu, N. (1987)
Development of intracellular lipid deposits in the lipid-laden cells of atherosclerotic lesions: a cytochemical and ultrastructural study.
Atherosclerosis 67, 127-142

Mackinnon, A.M., Savage, J., Gibson,R.A., Barter, P.J. (1985)
Secretion of cholesteryl ester-enriched very low density lipoproteins by the liver of cholesterol-fed rabbits
Atherosclerosis 54, 145-155

Mancini, J., Henry, G.C. , Macaya, C., O'Neill, B.J., Pucillo, A.L. (1996)
Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition With Quinapril Improves Endothelial Vasomotor Dysfunction in Patients With Coronary Artery Disease
Circulation 94:258-265

Marquie, G., Agid, R., Amiel, S., Guilhem, A. (1970
Prevention by antidiabetic biguanides, of hepatic cholesteatosis induced by cholesterol in the rabbit. Histopathological examination
C. R. Seances. Soc. Biol. Fil. 164, 648-654

Marshall, M. (1986)
Epidemiologie der arteriellen Verschlusskrankheit
Schattauer Verlag Stuttgart 33, 1-14

McDonald, D.A. (1967)
Regional pulswave velocity in the arterial tree
J. Applic. Physiol. 24, 73-78

McGill, H.C. (1977)
Atherosclerosis: problems in pathogenesis.
Atheroscler. Rev. 2, 27-59.

Merillon, J.P., Motte, G., Fruchard, J., Masquet, C., Gourgon, R. (1978)
Evaluation of the elasticity and characteristic impedance in the ascending aorta in man
Cardiovasc. Res. 12, 401-406

Milnor, W.R. (1989)
Haemodynamics
Williams & Wilkins Co ., Baltimore

Moore, J.H., Williams, D.L. (1964)
The effects of diet on the level of plasma cholesterol and the degree of atheromatous degeneration in the rabbit
British Journal of Nutrition 18, 253-273

Mosca, L., Mansonn, J.E., Sutherland, S.E., Langer, R.D., Maolio, T., Barrett-Connor E. (1997)
Cardiovascular Disease in Women: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association
Circulation 96, 2468-2482

Nichols, W.W., O'Rourke, M.F. (1990)
McDonald's Blood Flow in Arteries
Edward Arnold Publishers, Ltd.

Orlandi, A., Mauriello, A., deAngelis, C., Ramacci, M.T., Spagnoli, L.G. (1992)
Age-related differences in the distribution and occurrence of atherosclerotic aortic lesions in the hyperlipemic rabbit.
Arch. Gerontol. Geriatr. 16, 295-302

O'Rourke, M.F. (1982)
Arterial Function in Health and Disease
Edinburgh, Scotland: Churchill Livingstone, Inc.

O'Rourke, M. (1995)
Mechanical principles in arterial disease
Hypertension 26, 2-9

Schwarz R W, Freedman A M, Richardson D R, Hyde G L, Griffen W O, Vicent D G, Price M E (1984)
Capillary blood flow: Videodensitometry in the arteriosclerotic patient
J. vasc. search. 1, 800-808

Schwenke DC, Carew TE (1989)
Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol-fed rabbits, I: focal increases in arterial LDL concentration precede development of fatty streak lesions
Arteriosclerosis 9, 895-907

Spagnoli, L.G., Orlandi, A., Mauriello, A., Santeusanio, G., de Angelis, C., Lucreziotti, R., Ramacci, M.T. (1991)
Aging and atherosclerosis in the rabbit, I: distribution, prevalence and morphology of atherosclerotic lesions.
Atherosclerosis 89, 11-24

Stefanovska, A., Bracic, M., Kvernmo, H.D. (1999)
Wavelet Analysis of Oscillations in the Peripheral Blood Circulation Measured by Laser Doppler Technique
IEEE Transactions on Biomedical Engineering 46, 1230-1239

Thompson, K.H., Zilversmit, D.B. (1983)
Plasma very low density lipoprotein (VLDL) in cholesterol-fed rabbits: chylomicron remnants or liver lipoproteins?
J. Nutr. 113, 2002-2010

Tsukada, T., Rosenfeld, M., Ross, R., Gown, A.M. (1986)
Immunocytochemical analysis of cellular components in atherosclerotic lesions: use of monoclonal antibodies with the Watanabe and fat-fed rabbit
Arteriosclerosis 6, 601-613

Tung, L.C., Baer, U., Bauknecht, J., Häring, R. (1983)
Erfahrungen über die chirurgische Behandlung arterieller Durchblutungsstörungen der unteren Extremitäten bei über 80jährigen Patienten
Angiologie und Geriatrie 83, 338-342

Vane, J.R., Anggard, E.E., Botting, R.M. (1990)
Regulatory functions of the vascular endothelium.
N. Engl. J. Med.323:27-36

Walker, L.N., Reidy, M.A., Bowyer, D.E. (1986)
Morphology and cell kinetics of fatty streak lesion formation in the hypercholesterolemic rabbit.
Am. J. Pathol. 125, 450-459

Wilson, R.B., Miller, R.A., Middleton, C.C., Kinden, D. (1982)
Atherosclerosis in rabbits fed a low cholesterol diet for five years
Arteriosclerosis 2, 228-241

Zimmermann, G.W. (1996)
Periphere arterielle Verschlusskrankheit: Therapie mit Vasoaktiva macht sich langfristig bezahlt
News Medical Tribune 24, 3-5

9 Danksagung

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. M. Jünger für die Bereitstellung des Themas und Herrn Dr. H.M. Häfner danken, ohne dessen Unterstützung die Konzeption und Fertigstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Herrn Prof. Dr. Heinle danke ich für die Bereitstellung des Tiermodells.

Besonderer Dank gilt Herrn Kurt Bräuer, dessen Arbeit auf dem Gebiet der nicht-linearen Analyse physiologischer Daten die Grundlagen für diese Arbeit bildet.

Für die Hilfe bei der praktischen Durchführung möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Mikrozirkulationslabors und des arbeitsmedizinischen Institutes bedanken.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Frau und meiner Mutter, die mich allzeit unterstützten.

10 Lebenslauf

Name	Jean Rieber	
Geburtsdatum	10.08.72	
Geburtsort	Bukarest / Rumänien	
Familienstand	verheiratet	
Konfession	römisch-katholisch	
Schulausbildung	1978-1982	Grundschule in Stuttgart
	1982-1991	Georgii-Gymnasium Esslingen/Neckar (Abitur)
Zivildienst	01.09.1991 - 14.10.1992	Rettungsdienst beim Deutschen Roten Kreuz, Kreisverband Rems Murr
Hochschulausbildung	15.10.1992 - 11.05.1999	Studium der Humanmedizin an der Eberhard- Karls Universität Tübingen
Ärztliche Vorprüfung	06.09.1994	
1. Staatsexamen	21.03.1996	
2. Staatsexamen	02.04.1998	
3. Staatsexamen	11.05.1999	
Famulaturen	Kardiologie:	Dr. Ulrich Borst, Esslingen am Neckar
	Neurochirugie	Prof. Dr. Hohlbach, Katharinenhospital, Stuttgart
	Innere Medizin	Prof. Dr. Jipp, Katharinenhospital, Stuttgart
	Allgemeinmedizin	Dr. J. Balan, Esslingen am Neckar
Praktisches Jahr 5/98-4/99	Chirurgie:	Prof. Dr. K.-P. Thon, Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart
	Anästhesie und Intensivmedizin:	Prof. Dr. G. Klein, Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart
	Innere Medizin	Prof. Dr. U. Kuhlmann Prof. Dr. Ch. Bode Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart
Tätigkeit als Arzt im Praktikum in den Städtischen Kliniken Esslingen	31.05.1999 - 30.11.2000	
Tätigkeit als Assistenzarzt in den Städtischen Kliniken Esslingen	Seit 01.03.2001	

11 Anhang A

11.1 Korrelationen

11.1.1 Stenosegrad und Pulswellenlaufzeit (PWLZ) bzw. diastolischer Ankunftszeit (DAT)

Tab. 21: PWLZ und mittlere prozentuale Stenosierung der A. femoralis communis rechts (n=14)

	r	p
Femoralis	-0,23	0,45
Aorta	0,23	0,42
Ohr	0,64	0,01

Tab. 22: DAT und mittlere prozentuale Stenosierung der A. femoralis communis rechts (n=14)

	r	p
Femoralis	0,58	0,04
Aorta	0,32	0,26
Ohr	0,55	0,04

11.1.2 Prozentuale Stenosegrade und Anzahl der Stenosen in A. iliaca und A. femoralis rechts

Tier	Anzahl der Stenosen	Maximaler Stenosegrad (%)	Mittlerer Stenosegrad (%)
1	8	32	11,12
2	9	25,93	3,55
3	9	20	5,14
4	11	3,5	0,63
5	10	23,33	4,31
6	10	0,61	0,06
7	12	93,53	36,26
8	10	34,48	4,54
9	12	29,47	6,86
10	16	40,42	6,60
11	12	40,57	5,54
12	12	97,27	20,37
13	13	4,04	0,31
14	12	51,29	7,80
15	13	63,64	27,49

11.1.3 Stenosegrad und Laser Doppler Fluxmetrie (LDF)

Das mittlere Laserdopplersignal korrelierte negativ mit der Stenose, d.h. je niedriger die mit dem Laserdoppler gemessenen Werte, desto hochgradiger die Stenose. Bei einem Korrelationskoeffizienten von r=-0,10 wurde eine Signifikanz jedoch verfehlt (p=0,73).

11.1.4 Laser Doppler Fluxmetrie und Waveletanalyse

Die Ergebnisse einer direkten Korrelation der Mittelwerte aus den Laserdopplersignalen mit einer Waveletanalyse der gleichen Rohdaten werden nach den verschiedenen Zeitskalierungsebenen aufgeteilt in Abb. 27 graphisch dargestellt.

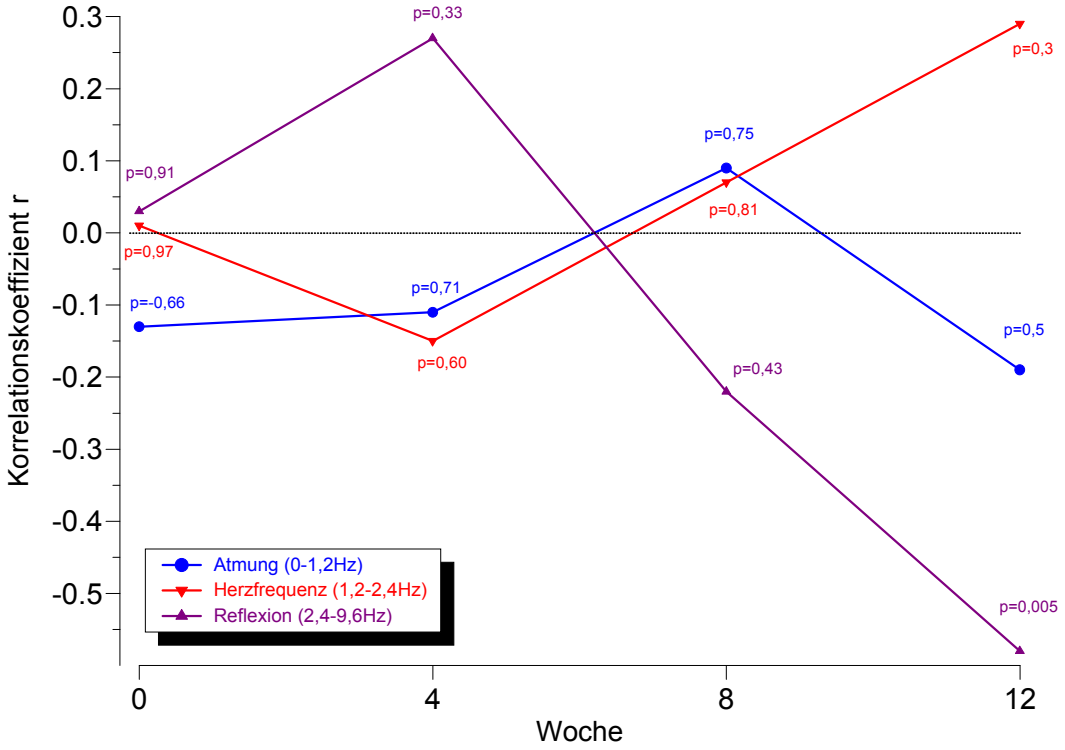

Abb. 26: Korrelation des mittleren LDF Signals mit den verschiedenen Zeitskalierungsebenen

11.1.5 Waveletanalyse mit Pulswellenlaufzeit und diastolischer Ankunftszeit

Vergleicht man die ultrasonographisch bzw. direkt invasiv gewonnenen hämodynamischen Parameter Pulswellenlaufzeit (PWLZ) und diastolische Ankunftszeit (DAT) an den verschiedenen Lokalisationen (Ohr, Aorta, A. femoralis dextra) mit denjenigen aus der Waveletanalyse der Laserdopplerdaten vom distalen Vorfuß der rechten Pfote so zeigen sich die in den folgenden Tabellen dargestellten Korrelationen.

Tab. 23: Korrelation der Pulswellenlaufzeit (PWLZ) an verschiedenen Lokalisationen mit den Daten aus der Laser Doppler Fluxmetrie, analysiert mittels Waveletanalyse

		Atmung	**HF**	**Reflexion**
Ohr				
Termin 1 n=14	**r**	0,32	-0,04	-0,31
	p	0,26	0,89	0,29
Termin 2 n=10	**r**	0,48	-0,46	-0,20
	p	0,16	0,18	0,58
Termin 3 n=13	**r**	-0,20	0,25	0,24
	p	0,52	0,40	0,43
Termin 4 n=15	**r**	0,54	-0,51	-0,002
	p	0,04	0,05	1,0
A. femoralis				
Termin 1 n=15	**r**	0,06	-0,07	-0,004
	p	0,83	0,80	1,0
Termin 2 n=15	**r**	0,30	-0,29	-0,02
	p	0,27	0,29	0,95
Termin 3 n=15	**r**	0,06	-0,16	-0,32
	p	0,83	0,56	0,24
Termin 4 n=14	**r**	0,1	-0,14	-0,07
	p	0,73	0,64	0,82
Aorta				
Termin 1 n=15	**r**	-0,26	0,04	0,41
	p	0,36	0,90	0,13
Termin 2 n=15	**r**	-0,17	0,36	-0,13
	p	0,54	0,19	0,64
Termin 3 n=15	**r**	0,15	-0,15	-0,24
	p	0,6	0,60	0,39
Termin 4 n=15	**r**	0,19	-0,22	-0,28
	p	0,49	0,43	0,32

Tab. 24: Korrelation der diastolischen Ankunftszeit (DAT) an verschiedenen Lokalisationen mit den Daten aus der Laser Doppler Fluxmetrie, analysiert mittels Waveletanalyse

		Atmung	HF	Reflexion
Ohr				
Termin 1 n=14	**r**	0,29	-0,04	-0,31
	p	0,32	0,89	0,29
Termin 2 n=10	**r**	0,56	-0,51	-0,20
	p	0,09	0,13	0,58
Termin 3 n=13	**r**	-0,33	0,39	0,37
	p	0,28	0,18	0,21
Termin 4 n=15	**r**	0,58	-0,56	0,03
	p	0,02	0,03	0,92
A. femoralis				
Termin 1 n=15	**r**	0,10	-0,02	0,012
	p	0,72	0,95	0,97
Termin 2 n=15	**r**	0,63	-0,62	0,064
	p	0,01	0,01	0,82
Termin 3 n=15	**r**	0,58	-0,54	0,24
	p	0,23	0,036	0,39
Termin 4 n=14	**r**	0,73	-0,66	-0,38
	p	0,003	0,01	0,18
Aorta				
Termin 1 n=15	**r**	0,44	-0,32	-0,24
	p	0,10	0,25	0,39
Termin 2 n=15	**r**	0,72	-0,70	0,01
	p	0,003	0,004	0,96
Termin 3 n=15	**r**	0,54	-0,45	0,29
	p	0,04	0,09	0,29
Termin 4 n=15	**r**	0,76	-0,73	-0,19
	p	0,001	0,002	0,49

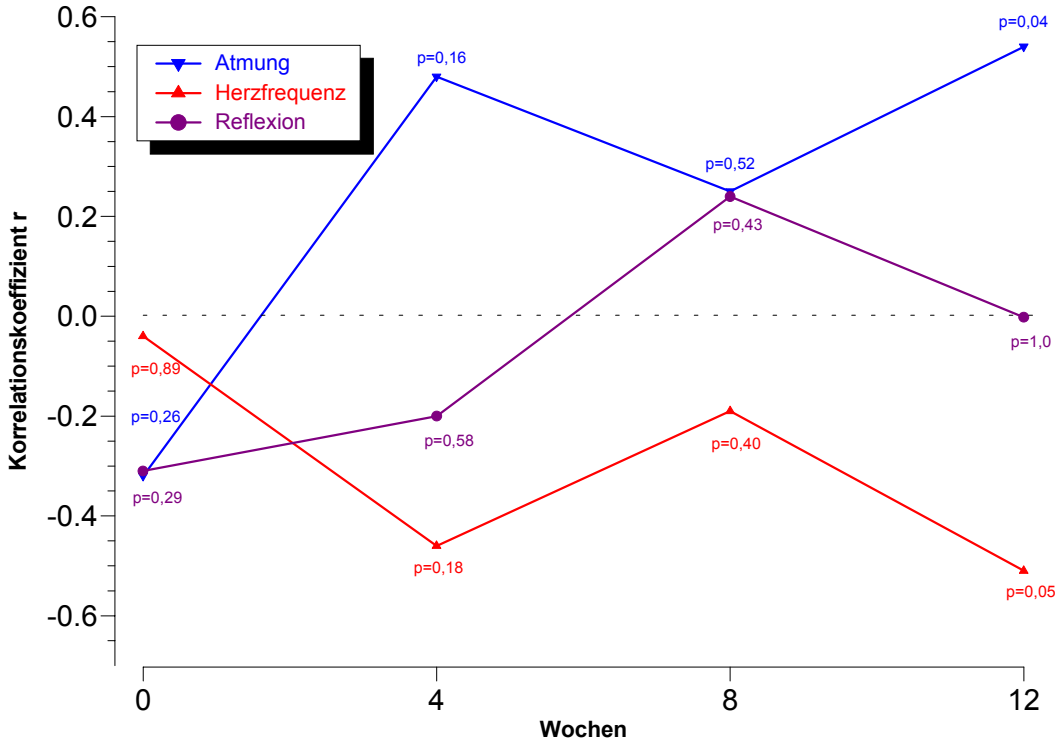

Abb. 27: Korrelation der Pulswellenlaufzeit im Bereich der großen Ohrarterie mit den zeitskalierten Vasomotionsbereichen der Waveletanalyse der Laser Doppler Flux Zeitreihen im Untersuchungszeitraum.

11.1.6 Biorthogonalzerlegung mit Pulswellenlaufzeit (PWLZ) und diastolischer Ankunftszeit (DAT)

Bei der Korrelation der Biorthogonalzerlegung mit der PWLZ und der DAT ergab sich für keinen Termin an keiner der Lokalisationen (Ohr, Aorta, A. femoralis dextra) ein signifikanter Wert.

11.1.7 Biorthogonalzerlegung und Waveletanalyse

Einzig beim ersten Termin zeigt sich im Frequenzbereich bis 1,2 Hz (entsprechend der Zeitskalierungsebene der Atmung) eine negative Korrelation zwischen der Biorthogonalzerlegung und der Waveletanalyse der mittleren Laserdopplersignale (r=-0,59; p=0,02), im weiteren Verlauf bleibt die Tendenz erhalten, jedoch ohne ein Signifikanzniveau zu erreichen. Im Bereich der Herzfrequenz (1,2-2,4 Hz) und der Reflexion in der Peripherie (2,4-9,6 Hz) ist zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Zusammenhang der Waveletanalyse mit der Biorthogonalzerlegung erkennbar.

Tab. 25: Korrelation der Biorthogonalzerlegung mit der Waveletanalyse der Laserdopplersignale

Termin 1	**r**	**p**
Atmung	-0,59	0,02
Herzfrequenz	0,45	0,09
Reflexion in der Peripherie	0,28	0,32
Termin 2	**r**	**p**
Atmung	-0,07	0,81
Herzfrequenz	-0,11	0,72
Reflexion in der Peripherie	0,19	0,49
Termin 3	**r**	**p**
Atmung	-0,49	0,065
Herzfrequenz	0,35	0,21
Reflexion in der Peripherie	0,42	0,12
Termin 4	**r**	**p**
Atmung	-0,04	0,90
Herzfrequenz	0,06	0,83
Reflexion in der Peripherie	-0,06	0,8