

Aus dem Oscar-Langendorff-Institut für Physiologie der Universitätsmedizin Rostock

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. R. Köhling

Einfluss von Mikrostrahlexposition auf EKG,
linksventrikulären Druck und koronaren Widerstand in der
Langendorff-Apparatur

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

der Universitätsmedizin Rostock

vorgelegt von

Paula Johanna Stöhlmacher

geboren am 30.12.1997 in Hamburg

Rostock 2025

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. E. Reisinger

Gutachter

Prof. Dr. Timo Kirschstein, Universität Rostock, Institut für Physiologie

Prof. Dr. Elisabeth Schültke, Universität Rostock, Klinik für Strahlentherapie

Prof. Dr. Cor de Wit, Universität Lübeck, Institut für Physiologie

Jahr der Einreichung: 2025

Jahr der Verteidigung: 2026

Meinen Eltern.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	1
1.1 Das Lungenkarzinom.....	1
1.2 Strahlenfolgen bei Bestrahlung im Thoraxraum.....	5
1.3 Die Microbeam-Bestrahlung.....	7
1.4 Das Langendorff-Modell.....	12
1.5 Zielsetzung.....	15
2 Material und Methoden.....	16
2.1 Material.....	16
2.1.1 Chemikalien.....	16
2.1.2 Medikamente.....	16
2.1.3 Mehr- und Einwegmaterialien.....	17
2.1.4 Geräte.....	18
2.1.5 Software.....	18
2.1.6 Versuchstiere.....	19
2.2 Methoden.....	20
2.2.1 Eigenanteil.....	20
2.2.2 Die Langendorff-Methode.....	21
2.2.3 Versuchsaufbau.....	21
2.2.4 Herstellung der Perfusionslösungen.....	23
2.2.5 Herzentnahme und -präparation.....	25
2.2.6 Versuchsprotokoll.....	26
2.2.7 Noradrenalin-Gabe.....	27
2.2.8 Microbeam-Bestrahlung.....	28
2.2.9 Erfassung und Auswertung der kardialen Parameter.....	29
2.2.10 Statistik.....	33
3 Ergebnisse.....	34
3.1 Etablierung der Methode.....	34
3.1.1 Ermittlung der optimalen Versuchsdauer.....	34
3.1.2 Ermittlung der optimalen NA-Dosis.....	36
3.2 Ergebnisse der Messung der kardialen Parameter.....	37
3.2.1 Herzfrequenz.....	38
3.2.2 Linksventrikuläre Druckentwicklung.....	40
3.2.3 Koronarer Widerstand.....	43
3.2.4 Rate Pressure Product.....	46
3.2.5 Herzratenvariabilität.....	48

3.3 Auswirkung von Noradrenalin auf die kardialen Parameter.....	50
3.4 Auswirkung von Noradrenalin auf die Herzfrequenz.....	50
3.4.1 Auswirkung von Noradrenalin auf die linksventrikuläre Druckentwicklung.....	51
3.4.2 Auswirkung von Noradrenalin auf den koronaren Widerstand.....	52
3.4.3 Auswirkung von Noradrenalin auf das Rate Pressure Product.....	53
3.5 Untersuchung des Auftretens von Extrasystolen im Versuchsverlauf.....	55
4 Diskussion.....	60
4.1 Allgemeiner Versuchsaufbau.....	60
4.2 Wahl von Versuchsdauer, NA- sowie Microbeam-Dosis.....	62
4.3 Kardiale Parameter.....	66
4.3.1 Herzfrequenz.....	66
4.3.2 Herzratenvariabilität.....	66
4.3.3 Extrasystolen.....	67
4.3.4 Linksventrikuläre Druckentwicklung.....	67
4.3.5 Rate Pressure Product.....	68
4.3.6 Koronarer Widerstand.....	68
4.4 Einschränkungen der Arbeit.....	69
5 Zusammenfassung.....	71
Thesen.....	73
Literaturverzeichnis.....	75
Abbildungsverzeichnis.....	88
Tabellenverzeichnis.....	90
Abkürzungsverzeichnis.....	91
Eidesstattliche Erklärung.....	92
Lebenslauf.....	93
Danksagung.....	94

1 Einleitung

1.1 Das Lungenkarzinom

In Deutschland ist das Lungenkarzinom das zweithäufigste Karzinom bei Männern, nach dem Prostatakarzinom, bei Frauen das dritthäufigste, nach Mamma- und kolorektalen Karzinomen (siehe Abbildung 1) (RKI, 2023). Im Jahr 2020 wurden bundesweit 22600 Neuerkrankungen bei Frauen und 34100 bei Männern diagnostiziert, 17066 Frauen und 27751 Männer starben an der Erkrankung. Damit gehört das Lungenkarzinom zu den relevantesten Krebstodesursachen. Das mediane Alter bei Diagnosestellung liegt zwischen 69 und 70 Jahren (RKI, 2024 [1]).

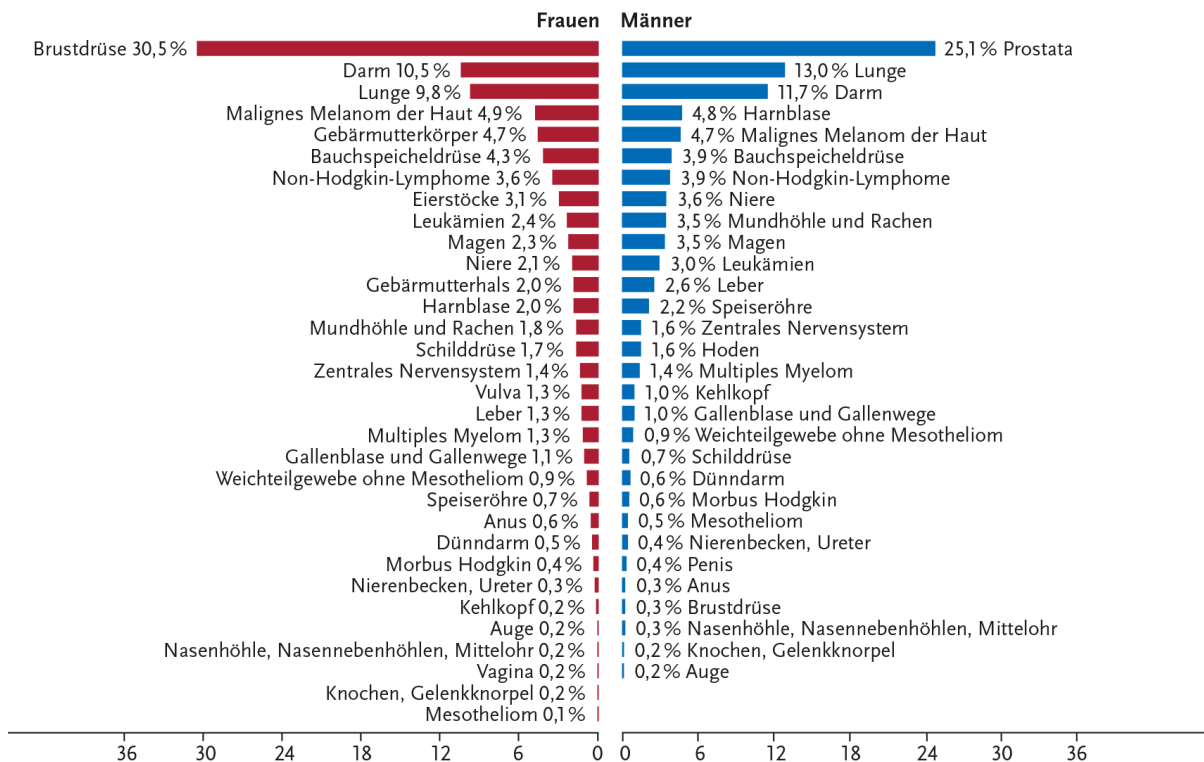


Abbildung 1: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2020 (ohne nicht-melanotischen Hautkrebs) (RKI, 2023)

Sowohl die standardisierten Erkrankungs-, als auch die Mortalitätsraten zeigen seit Jahren eine gegenläufige Entwicklung. So stiegen sie für Frauen konstant an, während bei Männern ein rückläufiger Trend zu beobachten war. Trotzdem sind Erkrankungs- und Mortalitätsrisiko für Männer noch immer wesentlich höher als für Frauen. (Abbildung 2) (RKI, 2024 [2])

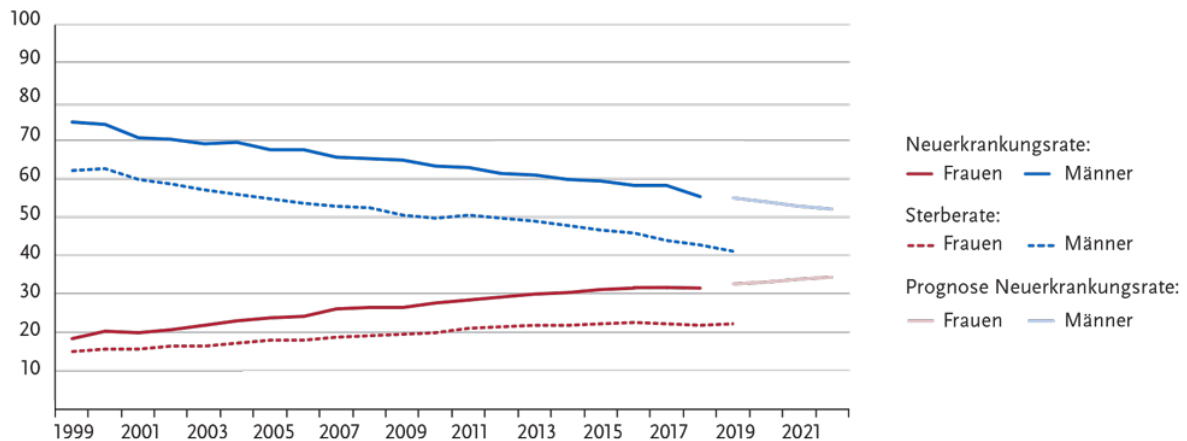


Abbildung 2: Altersstandardisierte Neuerkrankungs- und Sterberaten nach Geschlecht, ICD-10 C33 – C34, Deutschland 1999 – 2018/2019, Prognose (Inzidenz) bis 2022, je 100.000 (alter Europastandard) (RKI, 2024 [2])

Den Hauptrisikofaktor für die Entwicklung eines Lungenkarzinoms stellt das Tabakrauchen dar, wobei Dauer und Menge des Konsums maßgeblichen Einfluss auf das Krebsrisiko haben. Bei Männern sind bis zu 90 %, bei Frauen mindestens 60 % aller Neuerkrankungen auf das Rauchen zurückzuführen. Auch Passivrauchen steigert das Risiko, an Lungenkrebs zu erkranken (RKI, 2024 [2]). Die berufliche Exposition, vor allem gegenüber Asbest, Silikaten, Radon, Schwermetallen und polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen, ist ebenfalls ein wesentlicher Risikofaktor und ursächlich für etwa 9-15 % der Lungenkarzinome. Weitere mögliche Ursachen sind Umweltfaktoren wie Feinstaub, Abgase oder ionisierende Strahlung sowie endogene Faktoren wie eine genetische Disposition oder Vorerkrankungen der Lunge (Alberg et al., 2013, Malhotra et al., 2016, RKI, 2024 [1]).

Typische Symptome sind unter anderem chronischer Husten, Dyspnoe und Hämoptysen. Eine B-Symptomatik mit Fieber, Nachtschweiß und Gewichtsverlust kann ebenfalls auftreten. Hinzu kommen durch räumliche Verdrängung bedingte Beschwerden wie Heiserkeit, Dysphagie oder eine obere Einflusstauung sowie paraneoplastische Syndrome. Diese treten vor allem beim kleinzelligen Lungenkarzinom auf. Chronische Hypoxie kann zur Kachexie sowie zu typischen Veränderungen der Finger (Trommelschlägelfinger, Uhrglasnägel) führen. Symptome treten in der Regel erst in fortgeschrittenen Krankheitsstadien auf (DGHO, 2025, Hamilton et al., 2005, Kim, et al., 2022).

1 Einleitung

In Deutschland gibt es bisher keine Früherkennungsuntersuchungen für das Lungenkarzinom für die Gesamtbevölkerung. Seit 2024 ist eine Niedrigdosis-CT-Untersuchung zur Früherkennung in Risikogruppen erlaubt (DGHO, 2025).

Bei Verdacht auf das Vorliegen eines Lungenkarzinoms erfolgt eine mehrstufige Diagnostik. Diese beinhaltet, neben einer ausführlichen Anamnese mit besonderem Fokus auf das Vorliegen von Risikofaktoren und einer körperlichen Untersuchung, eine Labordiagnostik, Bildgebung und schließlich eine Biopsie zur Diagnosesicherung (siehe Tabelle 1) (DGHO, 2025).

Tabelle 1: Diagnostik bei neu aufgetretenen Symptomen (DGHO, 2025)

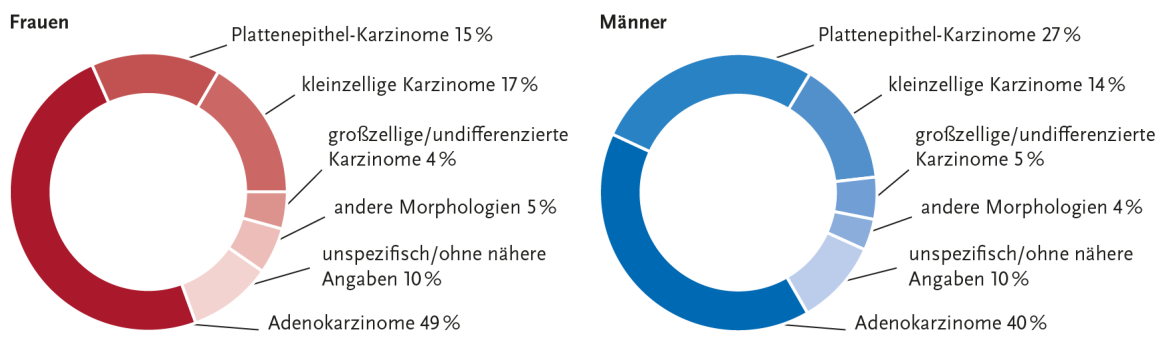
Untersuchung	Empfehlung
Labor	Blutbild, Elektrolyte, Nierenparameter, Leberparameter, LDH, Gerinnung
CT ¹ Thorax / Oberbauch mit Kontrastmittel, oder FDG-PET-CT ²	Methode der ersten Wahl
MRT ³ Thorax / Oberbauch mit Kontrastmittel	Alternative zu CT ¹ , falls CT nicht durchführbar
Bronchoskopie mit Biopsie ⁴	bei bildgebendem Verdacht und zugänglicher Raumforderung
Transthorakale Biopsie	bei bildgebendem Verdacht und peripherem Rundherd, ohne Möglichkeit der endoskopischen Sicherung der Diagnose

¹ CT – Computertomographie; ² FDG-PET-CT– Positronenemissionstomographie mit diagnostischem CT, in Österreich möglich; ³ MRT – Magnetresonanztomographie; ⁴ Alternative bei peripheren Raumforderungen: Bürste, Nadel o. a.

Nach Diagnosesicherung und Bestimmung des histologischen Typs soll eine exakte Stagingdiagnostik unter Berücksichtigung der klinischen Symptome erfolgen. Dies ist essentiell für die Wahl der Therapie. Metastasen treten am häufigsten in Lymphknoten, Lunge, Skelett, Leber, Nebennieren und im ZNS auf. Lediglich bei Patientinnen und Patienten, welche nur noch palliativ behandelt werden können, kann auf das Staging

verzichtet werden. Die Klassifikation des Tumors erfolgt nach TNM und UICC (DGHO, 2025, DGP und DKG, 2024).

Aufgrund der Zellteilungsrate und Histologie wird unterschieden zwischen nicht kleinzelligen Lungenkarzinomen (NSCLC) und kleinzelligen Lungenkarzinomen (SCLC). Hierbei hat das NSCLC einen Anteil von 80-85 % an allen Lungenkarzinomen und kommt damit wesentlich häufiger vor als das SCLC mit einem Anteil von 15-20 % (siehe Abbildung 3). Zu den NSCLC gehören das Adenokarzinom, das Plattenepithelkarzinom sowie das großzellige Lungenkarzinom (LCLC). Das SCLC zählt zu den neuroendokrinen Tumoren und hat durch seine hohe Zellteilungsrate und das rasche Wachstum eine besonders schlechte Prognose. Alle Tumoren werden durch Tabakrauchen begünstigt, das Adenokarzinom ist jedoch das häufigste Lungenkarzinom bei Nichtrauchern (Herbst et al., 2008, Kraywinkel und Schönfeld, 2018, Rodriguez-Canales et al., 2016).



© Zentrum für Krebsregisterdaten im Robert Koch-Institut

Abbildung 3: Verteilung der bösartigen Neubildungen der Lunge nach histologischem Typ und Geschlecht, ICD-10 C33–C34, Deutschland 2019–2020 (RKI, 2024 [2])

Für die Behandlung des Lungenkarzinoms stehen die medikamentöse Therapie, die operative Therapie, die Strahlentherapie sowie die Kombination dieser Therapieprinzipien zur Verfügung. Die Wahl der primären Therapie richtet sich nach dem Stadium des Tumors, Allgemeinzustand, Lungenfunktion sowie Komorbiditäten des Patienten und dem Patientenwunsch. Für die weitere Therapieplanung sind Pathologie sowie Lymphknotenbefall von Bedeutung.

Im Fokus dieser Arbeit steht die Strahlentherapie, welche für 77 % aller Patientinnen und Patienten mit Lungenkrebs indiziert ist. Die Bestrahlung wird dabei sowohl mit kurativer als

auch palliativer Intention eingesetzt (Delaney et al., 2003, Delaney und Barton, 2015, Vinod und Hau, 2020). In jedem Tumorstadium kann eine Indikation zur Radiotherapie vorliegen. Beim NSCLC ist insbesondere in den Stadien IIIA₃ - IIIC die definitive Radiochemotherapie Behandlungsmethode der Wahl. Dabei erfolgt eine Bestrahlung mit einer Gesamtstrahlendosis von 50-60 Gy, welche in Einzeldosen von 1,8-2 Gy appliziert werden (DGP und DKG, 2024). Beim SCLC kann die definitive Radiochemotherapie in den Stadien IIB - III erfolgen. Hierbei stehen die konventionelle Radiotherapie mit einer Gesamtdosis von 66 Gy in Einzeldosen von 1,8-2 Gy einmal täglich und die hyperfraktionierte akzelerierte Radiotherapie mit einer Gesamtdosis von 45 Gy, welche in Einzeldosen von 1,5 Gy zweimal täglich appliziert werden, für die Behandlung zur Verfügung (DGHO, 2023). Bei der hyperfraktionierten akzelerierten Therapie kann durch die Verabreichung niedrigerer Einzeldosen mehrmals am Tag eine höhere Gesamtdosis ohne eine Verlängerung des Behandlungszeitraums erreicht werden und sie erlaubt eine bessere Anpassung an die Entwicklung von Tumoren mit einer hohen Zellteilungsrate wie dem SCLC (Fietkau, 2010, Khan et al., 2020).

1.2 Strahlenfolgen bei Bestrahlung im Thoraxraum

Trotz optimaler Anpassung des Bestrahlungsfeldes an die Tumorgöße ist eine Strahlenexposition von gesundem Gewebe bei der Strahlentherapie unumgänglich. Es besteht immer ein Risiko der Entwicklung von akuten und späten Strahlenfolgen. Bei Bestrahlungen im Thoraxraum sind dabei insbesondere das Herz und die Lunge gefährdet.

Für die Lunge sind als akute bis subakute Folge die Entwicklung einer Strahlenpneumonitis und als Langzeitfolge die Lungenfibrose von Relevanz. Diese Risiken stellen einen begrenzenden Faktor für die mögliche Strahlendosis dar. Die Pneumonitis tritt mehrere Wochen nach erfolgter Bestrahlung auf und kann zu einer Lungenfibrose führen (Schültke et al., 2021). Zu Grunde liegt eine Gewebeschädigung der Alveolen mit resultierender Entzündung, wodurch der Gasaustausch gestört wird: Durch DNA-Schädigungen kommt es zum Zelltod der Kapillarendothelzellen in den Alveolarsepten, sowie der Typ I und Typ II Pneumozyten. Infolgedessen ergibt sich eine Einschränkung der Barrierefunktion und der Surfactant-Produktion der Pneumozyten, was die Entstehung eines interstitiellen Lungenödems zur Folge hat. Die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine und

Chemokine bewirkt eine Entzündungsreaktion, es kommt zur Entstehung der Pneumonitis (Käsmann et al., 2020 [1], Ziegeltrum et al., 2021). Symptome dieser sind eine progrediente Dyspnoe, Husten, Hämoptysen und Fieber. Schlimmstenfalls resultieren die verminderte Compliance der Lunge und der verminderte Gasaustausch in einer akuten kardiopulmonalen Dekompensation (Dörr, 2018). In der Spätphase kommt es zum irreversiblen Umbau des Lungenparenchyms. Eine überschießende Kollagenproduktion hat eine Versteifung des Gewebes zur Folge, es kommt zur Fibrose. Hierdurch nimmt die totale Lungenkapazität ab, der Gasaustausch ist eingeschränkt (Huang et al., 2017, Jin et al., 2020).

Das Risiko für die Entwicklung einer Strahlenpneumonitis hängt vor allem vom Volumen des exponierten Lungengewebes ab (Ziegeltrum et al., 2021). Auch die Höhe der Einzeldosen hat eine Auswirkung auf das Risiko. Ziel bei der Planung von Bestrahlungen im Thoraxraum sollte also die Minimierung des bestrahlten Lungenvolumens sein. Durch die räumliche Fraktionierung der Strahlung bei der Mikrostrahltherapie kann das Volumen des exponierten Gewebes weiter verringert werden, während in den Hochdosisbereichen höhere, vom Gewebe tolerierte Dosen erzielt werden können. Durch die hohe Dosisrate kommt es zudem zu einer Schonung des gesunden Gewebes, dem sogenannten FLASH-Effekt (Wilson et al., 2020). Die Microbeam-Bestrahlung stellt also einen vielversprechenden Ansatz für die Behandlung von Patientinnen und Patienten mit Lungenkarzinom mit einem günstigen Nebenwirkungsprofil dar.

Neben der Lunge ist auch das Herz bei Bestrahlungen im Thoraxraum von Nebenwirkungen betroffen. Eine Bestrahlung des Herzens erhöht das Risiko für eine strahleninduzierte Herzerkrankung (RIHD) (Lancellotti et al., 2013). In einer Studie von Tucker et al. wurden 462 Patientinnen und Patienten mit NSCLC untersucht, bei welchen eine Bestrahlung mit Verschreibungsdosen von 60-74 Gy durchgeführt wurde. Die mittlere Herzdosis (MHD) betrug im Median 16,6 Gy (0,1-55,5 Gy) (Tucker et al., 2016). Da bereits bei MHD unter 20 Gy ein deutlich erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer RIHD vorliegt (Darby et al., 2010), stellt dies bei der Therapieplanung bei Lungenkarzinomen einen nicht zu vernachlässigenden Faktor dar.

Zu den akuten Komplikationen am Herzen nach Bestrahlung zählen die akute und subakute Perikarditis. Diese kann sich mit Brustschmerzen, Fieber, EKG-Veränderungen sowie der Ausbildung eines Perikardergusses präsentieren oder asymptomatisch bleiben und spontan

wieder ausheilen (Appell et al., 2019, Dörr, 2018). Wochen bis Jahre nach erfolgter Strahlenexposition kann es zur Entstehung einer chronischen Perikarditis kommen. Fibröse Verdickungen des Perikards führen hierbei zu einer chronischen Konstriktion (Lancellotti et al., 2013).

Eine weitere Spätfolge ist die Ausbildung einer Herzinsuffizienz. Histopathologisch liegen eine diffuse interstitielle Fibrose und Schädigung des Kapillarendothels mit resultierender kapillärer Perfusionseinschränkung und Entstehung einer restriktiven Kardiomyopathie zu Grunde (Lancellotti et al., 2013, Merzenich et al., 2018).

Auch die koronare Herzkrankheit (KHK), welche nach einer langen Latenzzeit von mehreren Jahren auftritt, ist eine mögliche Langzeitfolge von Bestrahlungen im Thoraxraum. Eine mögliche Ursache sind durch Exposition mit ionisierender Strahlung hervorgerufene Endothelschäden in den Kapillaren mit resultierender Entzündungsreaktion. Dies kann eine Entwicklung oder Beschleunigung arteriosklerotischer Vorgänge zur Folge haben. Histologisch gibt es dabei keinen Unterschied zwischen strahleninduzierten Schäden und Arteriosklerose anderer Ursache. Das Risiko für die Entwicklung einer strahleninduzierten KHK ist linear abhängig von der MHD (Hoeller et al., 2021).

Erkrankungen der Herzklappen, insbesondere der Aorten- und Mitralklappe, sind ebenfalls häufige Spätfolgen der Radiotherapie. Mit einer Latenzzeit von im Median 20 Jahren kommt es hier zu Fibrosierungen und Verkalkungen, welche im exponentiellen Zusammenhang zur MHD stehen (Hoeller et al., 2021).

Weitere mögliche Folgen sind supraventrikuläre und ventrikuläre Arrhythmien, die Entwicklung eines Sick-Sinus-Syndroms und Störungen des Reizleitungssystems. (Appell et al., 2019, Hoeller et al., 2021, Lancellotti et al., 2013).

1.3 Die Microbeam-Bestrahlung

In den letzten Jahren konnten bedeutende Fortschritte in der Therapie des Lungenkarzinoms erzielt werden. In der medikamentösen Therapie waren hier insbesondere die Immuntherapie mit Checkpoint-Inhibitoren (Borghaei et al., 2019, Käsmann et al. 2019, Käsmann et al., 2020 [2]), sowie die zielgerichtete Therapie des NSCLC von Bedeutung (Glanemann und Wiesweg, 2024, Scheffler et al., 2022). Im Bereich der Radiotherapie erfolgte eine Optimierung des Bestrahlungsvolumens durch die Verwendung von Bildgebung, z.B. durch

den Einsatz von FDG-PET-CT zur Visualisierung der Tumorausdehnung auf molekularer Ebene (Nestle et al., 2020, Unterrainer et al., 2020), oder durch vierdimensionale Computertomografie (4D-CT). Diese erlaubt eine Beurteilung der Tumorbewegung z.B. bei der Atemexkursion, und ermöglicht so eine genaue Dosisverabreichung, auch bei wechselnder Position des Tumors im Bestrahlungsfeld (Aldosary, 2024). Durch eine möglichst exakte Bildgebung kann das Volumen des gesunden Gewebes, welches der Bestrahlung ausgesetzt wird, und somit auch das Risiko von Strahlenfolgen, minimiert werden. Auch eine atemabhängige Bestrahlung kann zur Verbesserung der Genauigkeit beitragen.

Neben der Optimierung des Bestrahlungsvolumens erfolgte in anderen Ansätzen eine Anpassung der Strahlungsintensität, wie bei der *Intensity-modulated-Radiation-Therapy* (IMRT). Auch die Anwendung von Partikelstrahlungen, wie Protonen- oder Carbonstrahlung, stellt einen neuen Ansatz für eine Verbesserung der Tumorkontrolle dar (Fukunaga et al., 2021).

Die stereotaktische Bestrahlung ermöglicht eine präzise Bestrahlung gut abgrenzbarer Tumoren oder Metastasen. Mit nur wenigen, hochdosierten Fraktionen soll eine Ablation der Läsion erfolgen (Fischer und Rieken, 2020). In zentralen Bereichen der Lunge ist die stereotaktische Bestrahlung jedoch mit einem hohen Risiko für Nebenwirkungen verbunden, sodass sie nur für kleine, scharf abgrenzbare, periphere Läsionen eingesetzt werden kann (Schültke et al., 2021).

Trotz all dieser Entwicklungen gehört das Lungenkarzinom weiterhin zu den prognostisch ungünstigsten Tumoren mit einem 5-Jahres-Überleben von nur 19 % bei Männern bzw. 25 % bei Frauen (RKI, 2024 [2]). Weltweit ist es mit 1,8 Mio. Todesfällen die häufigste Krebs-Todesursache (WHO, 2023). Die Microbeam-Bestrahlung zeigte bereits in mehreren Studien an verschiedenen Organen eine gute Tumorkontrolle, während gleichzeitig von einer besseren Verträglichkeit für das gesunde Gewebe auszugehen ist (Fernandez-Palomo et al., 2020). Dies macht die Microbeam-Bestrahlung zu einem vielversprechenden Therapieansatz für die Behandlung des Lungenkarzinoms.

In den letzten Jahrzehnten hat die Microbeam-Therapie zunehmend an Bedeutung in der Krebsforschung gewonnen. In den 60er Jahren wurden von Zeman et al. die ersten Daten zur

Microbeam-Bestrahlung an Mäusehirnen veröffentlicht. Während bei einer Strahlbreite von 1 mm und einer Dosis von 140 Gy eine Nekrose des Gewebes auftrat, waren bei der Microbeam-Bestrahlung mit einer Strahlbreite von 25 μm bei gleicher Dosis keine solchen Nekrosen nachweisbar. Erst ab Dosen von 4000 Gy kam es zu einer Reduktion von Neuronen in den Peakdosis-Bereichen, die Gewebearchitektur blieb jedoch intakt (Schültke et al., 2017, Zeman et al., 1961). Nach Etablierung großer Synchrotron-Anlagen wurde in den 90er Jahren erstmals die klinische Bedeutung von Synchrotron-generierter Microbeam-Bestrahlung an Mäusehirnen untersucht (Laissue et al., 1998, Slatkin et al., 1995).

Wesentliches Merkmal der Microbeam-Bestrahlung ist die räumliche Fraktionierung des Strahls in mehrere, 20-100 μm breite Strahlen mit einem Mitte-zu-Mitte-Abstand von mehreren hundert Mikrometern (Trappetti et al., 2021). Dies wird durch das Einbringen eines Kollimators zwischen Strahlenquelle und zu bestrahlendem Objekt erreicht (siehe Abbildung 10). Durch diese Fraktionierung entstehen zwei verschiedene Zonen im Bestrahlungsfeld, zwischen welchen ein steiler Dosisabfall erfolgt: die Hochdosis-Zonen (Peak-Zonen), in welchen die Bestrahlung mit Spitzendosen bis zu mehreren hundert Gray erfolgt, und Niedrigdosis-Zonen (Valley-Zonen), in den Bereichen, welche durch den Kollimator abgedeckt sind und in welchen das Gewebe einer Dosis von nur wenigen Gray ausgesetzt wird (Schültke et al., 2017, Serduc et al., 2009). Da die Strahlentoleranz des Gewebes mit Abnahme des bestrahlten Gewebevolumens zunimmt, können Spitzendosen erzielt werden, welche ein Vielfaches der in der konventionellen Bestrahlung verabreichten Dosen betragen (Trappetti et al., 2021). Eine schematische Darstellung des Dosisprofils der Microbeam-Bestrahlung erfolgt in Abbildung 4.

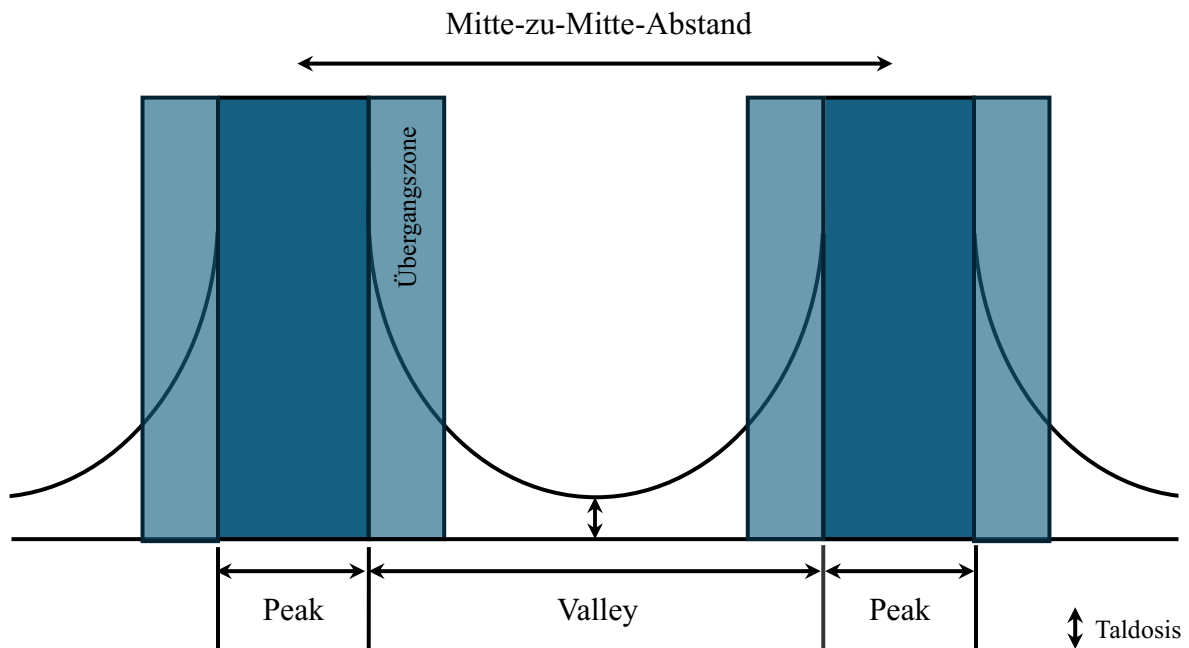


Abbildung 4: Dosisprofil der Microbeam-Bestrahlung

Die Microbeam-Bestrahlung ist durch eine inhomogene geometrische Verteilung zwischen Hochdosiszonen (Peak) und Niedrigdosiszonen (Valley) charakterisiert. Diese wird durch das Einbringen eines Kollimators in das Strahlenfeld erreicht. Die Peak-Zonen sind dabei etwa 20-100 μm breit, der Mitte-zu-Mitte-Abstand beträgt mehrere hundert Mikrometer. Während in den Peak-Zonen Dosen von mehreren hundert Gray erreicht werden, liegt die Dosis in den Valley-Zonen, welche vom Kollimator abgedeckt werden, nur bei wenigen Gray. Zwischen beiden Bereichen erfolgt ein steiler Dosisabfall (Übergangszone).

Abbildung modifiziert nach Schültke et al., 2017.

Die Parameter Spitzendosis, Strahlbreite, sowie Mitte-zu-Mitte-Abstand sind definierende Merkmale des Mikrostrahls. Mit ihnen lassen sich der *Peak-to-Valley-Dose-Ratio* sowie die verabreichte Taldosis berechnen. Die Streudosis hat einen relevanten Einfluss auf diese Parameter (Fukunaga et al., 2021). Es können Dosisraten von über 100 Gy/s und somit eine extrem kurze Bestrahlungsdauer erzielt werden. Diese ist nötig, um eine präzise Dosisverabreichung zu gewährleisten, welche bereits durch Bewegung des bestrahlten Organs im Mikrometerbereich gestört werden kann (Grotzer et al., 2015, Schültke et al., 2017). Zudem scheint eine hohe Dosisrate bei gleichbleibender Tumorkontrolle mit einer Schonung des gesunden Gewebes verbunden zu sein. Dies wird auch als FLASH-Effekt bezeichnet (Wilson et al., 2020).

Die Aufteilung im Mikrometerbereich ermöglicht eine Erholung des gesunden Gewebes nach Exposition gegenüber hohen Strahlendosen, während das Tumorgewebe zugrunde geht (Grotzer et al., 2015). Es gibt verschiedene Theorien für dieses Phänomen. Zum einen gibt es

bedeutende Unterschiede in den Gefäßen von Tumoren und normalem Gewebe, welche vermutlich durch stark angiogene Signale im Tumor hervorgerufen werden. Dies scheint zu einer erhöhten Strahlensensitivität von Tumorgefäßen zu führen (Bouchet et al., 2010, Fontanella et al., 2015). Insbesondere unreife Gefäße im Tumor scheinen besonders empfindlich für Microbeam-Bestrahlung zu sein, während ausgereifte Gefäße im umgebenden Gewebe von der Strahlung weniger geschädigt werden (Sabatasso et al., 2011).

Ein weiteres beobachtetes Phänomen ist der Bystander-Effekt, welcher in Zellen auftritt, welche nicht direkt der Bestrahlung ausgesetzt waren. Dieser wird lokal über Gap Junctions vermittelt (Fukunaga et al., 2021, Smith et al., 2013). Durch diesen bidirektionalen Prozess scheint es einerseits zur verstärkten Apoptose von Tumorzellen zu kommen, welche nicht im Feld der Bestrahlung lagen, andererseits scheint ein protektiver Effekt von unbestrahlten Bystanderzellen des gesunden Gewebes auszugehen (Desai et al., 2014, Dilmanian et al., 2007). Durch die inhomogene geometrische Verteilung von Hoch- und Niedrigdosiszonen wird eine große Kontaktfläche zwischen beiden Zonen erreicht, was diesen Effekt verstärkt. Auch eine Einwanderung gesunder Zellen aus der Niedrig- in die Hochdosiszone wird so möglich und trägt zur Heilung des Gewebes bei (Dilmanian et al., 2007, Schültke et al., 2017).

Im Gegensatz zur konventionellen Radiotherapie, bei welcher die Strahlenquelle sich um das Bestrahlungsfeld bewegt, ist der Strahl bei der Microbeam-Bestrahlung stationär. Es erfolgt eine vertikale Bewegung des zu bestrahlenden Objektes durch das Strahlenfeld mit einer konstanten Geschwindigkeit. Hierbei kann durch die verwendete Geschwindigkeit die verabreichte Dosis reguliert werden. Je langsamer sich das Objekt durch das Strahlenfeld bewegt, umso höher ist die verabreichte Dosis (Schültke et al., 2022).

Es gibt bereits eine breite Anzahl an in vitro Studien zur Tumorkontrolle durch Microbeam-Bestrahlung an verschiedenen Geweben. Insbesondere Hirntumoren wurden bereits mehrfach an in vivo Modellen untersucht (Bouchet et al., 2017, Fernandez-Palomo et al., 2020, Schültke et al., 2008, Schültke et al., 2013). Erste in vivo Studien zur Untersuchung der Microbeam-Bestrahlung von Lungenkarzinomen an Mäusen zeigten eine gute Tumorkontrolle sowie eine geringe Rate an Nebenwirkungen. So zeigten in einer Studie von Trappetti et al. mit 400 Gy Microbeam bestrahlte Mäuse eine geringere Tumorgroße im Vergleich zur Broadbeam-Bestrahlung sowie bei einer Folgeuntersuchung nach sechs

Monaten keine Zeichen einer strahleninduzierten Lungenfibrose. Es konnte jedoch keine Verlängerung der Überlebenszeit durch die Microbeam-Bestrahlung festgestellt werden (Schültke et al., 2021, Trappetti et al., 2021). Da das Herz bei Bestrahlungen im Thoraxraum ein wichtiges *organ at risk* darstellt, ist es unerlässlich, die Auswirkungen der Microbeam-Bestrahlung auf dieses Organ ex vivo zu testen, um schwerwiegende, akute Nebenwirkungen auszuschließen, bevor in vivo Bestrahlungen des gesamten Thoraxraumes unter Einschluss des Herzens erfolgen können.

1.4 Das Langendorff-Modell

Das erste Modell eines isoliert schlagenden Herzens wurde bereits 1866 von Carl Ludwig und Elias Cyon untersucht. Sie verwendeten hierbei die Herzen von Fröschen. Ihre Versuche bildete die Grundlage für die Entwicklung des Langendorff-Modells (Zimmer, 1998). Diese erfolgte 1897 durch Oscar Langendorff, welcher an den Herzen von Säugetieren das Modell der retrograden Perfusion durch die Aorta etablierte (Langendorff, 1895). Der retrograde Perfusionsdruck führt zum Schluss der Taschenklappen in der Aorta, sodass das Perfusat nicht in den linken Ventrikel, sondern in die Koronararterien gelangt. Von dort erfolgt ein Abfluss über den Koronarsinus in den rechten Vorhof. Als Perfusat verwendete er Blut der jeweiligen Spezies (Langendorff, 1895, Zimmer, 1998). Langendorff verwendete für sein Experiment einen konstanten hydrostatischen Perfusionsdruck. Er konnte an seinem Modell den koronaren Fluss und die Ventrikelkontraktion messen (Langendorff, 1895).

Seit seiner Entwicklung wurde das Langendorff-Modell stetig weiter modifiziert. Neben der Perfusion mit konstantem Druck wurde die Perfusion unter konstanten Flussbedingungen etabliert. Bei der Perfusion mit konstantem Druck wird der koronare Fluss vom Herzen reguliert, während dieser beim Modell mit konstantem Fluss vorgegeben wird und das Herz sich mit Änderungen des koronaren Widerstandes anpasst. Dieser lässt sich aus dem gemessenen Perfusionsdruck ermitteln (Skrzypiec-Spring, 2007).

Neben Vollblut stehen auch glukosehaltige kristalloide Pufferlösungen wie der Krebs-Henseleit-Puffer, sowie Suspensionen aus Erythrozyten und Pufferlösungen für die Perfusion zur Verfügung.

Der Langendorff-Versuch ist prinzipiell für alle Säugetierherzen geeignet. Die meisten Versuche werden jedoch an den Herzen von Nagetieren durchgeführt, insbesondere an

Mäuse- und Rattenherzen (King et al., 2022). Grund hierfür sind unter anderem die unkomplizierte Unterbringung, geringe Kosten in der Anschaffung und Haltung, sowie wesentliche Ähnlichkeiten der kardialen Erregung und Herzaktion zum menschlichen Organismus (Milani-Nejad und Janssen, 2013, Skrzypiec-Spring, 2007). Einen wesentlichen Unterschied, welcher die Übertragbarkeit auf den Menschen einschränkt, stellt jedoch die kurze Dauer des Aktionspotentials dar. Dies ist eine Einschränkung insbesondere bei Untersuchungen der Genese von Herzrhythmusstörungen (Skrzypiec-Spring, 2007). Anders als beim humanen EKG ist die Q-Zacke nur schwach ausgeprägt und somit oft nicht zu erfassen. Die ST-Strecke im Ratten-EKG misst durchschnittlich nur 10-15 ms und ist häufig schlecht abzugrenzen, da sie aus der S-Zacke aufsteigt (siehe Abbildung 5). Eine Beurteilung von ST-Streckenveränderungen am Ratten-EKG ist dadurch deutlich erschwert (Konopelski und Ufnal, 2016).

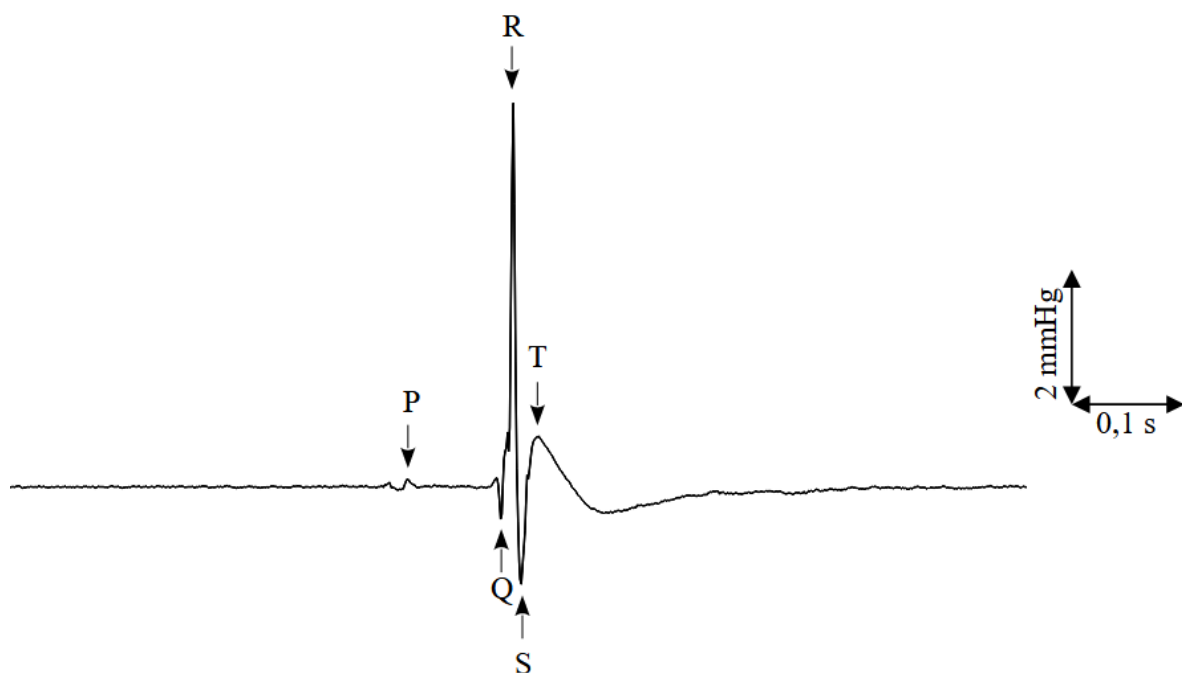


Abbildung 5: Charakteristische EKG-Merkmale am Rattenherz

Dargestellt ist ein EKG-Ausschnitt eines Organs der Versuchsgruppe. Der Ausschnitt umfasst eine einzelne Herzaktion. P-Welle, Q-, R- und S-Zacke, sowie T-Welle sind mit Pfeilen markiert. P-Welle und Q-Zacke sind schwach ausgeprägt, an diesem Beispiel aber zu erkennen. Eine klare Differenzierung der ST-Strecke ist aufgrund der kurzen ST-Dauer sowie dem direkten Übergang aus der S-Zacke nicht möglich.

Das Langendorff-Modell ist einfach zu handhaben, die Versuche weisen eine hohe Reproduzierbarkeit auf und die Versuchskosten sind gering. Der Versuchsaufbau bietet die

Möglichkeit, viele physiologische und pharmakologische Parameter zeitgleich zu untersuchen. Insbesondere die Aufzeichnung eines EKG, die Messung der ventrikulären Kontraktion sowie des koronaren Flusses bzw. Perfusionsdruckes sind von besonderem Interesse für die Beurteilung der Herzfunktion (Dhein, 2005). Am isolierten Herzen liegen keine Einflüsse anderer Organe oder systemischer Faktoren vor. Dies erlaubt die Betrachtung des direkten Einflusses, z.B. von Medikamenten, auf die kardialen Parameter, ohne das Vorliegen von Störfaktoren. Insbesondere zur Betrachtung akuter kardiotoxischer Prozesse ist der Versuchsaufbau geeignet. Das Langendorff-Modell gibt die Möglichkeit Untersuchungen durchzuführen, welche in vivo das Überleben der Versuchstiere gefährden würden, z.B. durch die Induktion kardialer Ischämien oder, wie in dieser Arbeit, Bestrahlungen mit sehr hohen Herzdosen. Es stellt dadurch eine wichtige Vorstufe bei der Übertragbarkeit von ex vivo Versuchen zum Versuch am lebenden Tier dar.

Limitationen des Modells sind mögliche Verletzungen des Herzens während Entnahme und Präparation, sowie die Entwicklung eines hypoxischen Gewebeschadens, falls der Beginn der Perfusion nicht schnell genug erfolgt. Die Abwesenheit systemischer Einflüsse auf das Herz erlaubt zwar eine ungestörte Betrachtung der Herzfunktion, bildet jedoch nicht den physiologischen Zustand in vivo ab und stellt somit ebenfalls eine Einschränkung dar. Die retrograde Perfusion kann zur Insuffizienz der Aortenklappe führen, sodass keine ausreichende Perfusion der Koronararterien mehr erfolgen kann. Kristalloide Perfusionslösungen besitzen eine niedrigere Viskosität sowie einen geringeren kolloidosmotischen Druck als Blut. Dies kann, insbesondere bei einem zu hohen Perfusionsdruck bzw. -fluss zur Entstehung eines Gewebeödems des Herzens führen. Durch ein verändertes Fließverhalten kann es außerdem zu Endothelschäden in den Koronarien kommen (Dhein, 2005, Skrzypiec-Spring, 2007). Die Versuche können über mehrere Stunden durchgeführt werden, sodass mit dem Langendorff-Modell nur akute Prozesse am Herzen untersucht werden können.

1.5 Zielsetzung

Bei Bestrahlungen im Thoraxraum ist das Herz wichtiges *organ at risk* und kann schwerwiegende Strahlenfolgen entwickeln. Die Microbeam-Bestrahlung stellt einen vielversprechenden Therapieansatz dar, um eine gute Tumorkontrolle mit gleichzeitiger Schonung des gesunden Gewebes zu erreichen. Dies wurde bereits an Lungengewebe nachgewiesen, jedoch ist dies die erste Versuchsreihe, in welcher das Herz mitberücksichtigt worden ist.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung von akuten Folgen einer 400 Gy Microbeam-Bestrahlung auf das Herz im Vergleich mit einer Kontrollgruppe. Hierfür sollte zunächst die Etablierung einer stabilen Versuchsmethode an der Langendorff-Apparatur erfolgen. Dabei sollten der Einfluss der Versuchsdauer auf die Herzparameter untersucht, sowie die optimale Noradrenalin-Dosis (NA-Dosis) für die Durchführung der Stimulationsversuche ermittelt werden.

Es sollten mögliche Auswirkungen der Bestrahlung auf die Herzfunktion anhand der Parameter Herzfrequenz (HF), linksventrikulärer Druckentwicklung (Δ LVP), koronarem Widerstand (CR), *Rate Pressure Product* (RPP) sowie Herzratenvariabilität (HRV) betrachtet werden. Ein Einfluss der Microbeam-Exposition auf die funktionelle Herzreserve wurde anhand von Noradrenalin-Versuchen getestet. Besonders im Fokus stand der Ausschluss akuter Schädigungen der Erregungsbildung und -leitung durch die Mikrostrahltherapie.

Zusätzlich sollte das Auftreten von Arrhythmien in Folge der Microbeam-Exposition untersucht werden. Hierfür erfolgte neben der Betrachtung der HRV die Auszählung von Extrasystolen über den gesamten Versuchsverlauf.

Das entwickelte Versuchsmodell soll die Grundlage für die zukünftige Durchführung von in vivo Versuchen mit Mikrostrahlexposition des Herzens bilden.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Chemikalien

Bezeichnung	Hersteller
Calciumchlorid	Sigma Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
D-Glucose	Sigma Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Kaliumchlorid	Sigma Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Magnesiumchlorid	Sigma Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Mannitol	Sigma Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Natriumchlorid	Sigma Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Natriumhydrogencarbonat	Sigma Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Natriumhydrogenphosphat	Sigma Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Natriumsulfat	Sigma Aldrich, Taufkirchen, Deutschland

2.1.2 Medikamente

Bezeichnung	Hersteller
Heparin-Natrium-25000-Ratiopharm	Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland
Esketamin Inresa 250 mg/10ml	Inresa Arzneimittel GmbH, Freiburg, Deutschland
Noradrenalin	Sigma Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Xylazin Rompun 2 %	Elanco GmbH, Cuxhaven, Deutschland

2.1.3 Mehr- und Einwegmaterialien

Geräte	Hersteller
Aortenkanüle	ADInstruments Ltd, Bella Vista, Australien
Becherglas	Schott, Mainz, Deutschland
Chemikalienschaufel	Bochem Instrumente, Weilburg, Deutschland
Druckballon	ADInstruments Ltd, Bella Vista, Australien
Dreiwegehahn	B Braun, Melsungen, Deutschland
EKG-Elektroden	ADInstruments Ltd, Bella Vista, Australien
Glasflaschen	Schott, Mainz, Deutschland
Messkolben	Hirschmann, Eberstadt, Deutschland
Messzylinder	Brand, Wertheim, Deutschland
Petrischale	Schott, Mainz, Deutschland
Pinzette	Bochem Instrumente, Weilburg, Deutschland
Pipettenaufsätze	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Schere	Geuder AG, Heidelberg, Deutschland
Silikonschläuche	B Braun, Melsungen, Deutschland
Skalpell	P.J. Dahlhausen & Co. GmbH, Köln, Deutschland
Spatellöffel	Bochem Instrumente, Weilburg, Deutschland
Spritze mit Kanüle	P.J. Dahlhausen & Co. GmbH, Köln, Deutschland
Trichter	Bochem Instrumente, Weilburg, Deutschland
Wägeschalen	Bochem Instrumente, Weilburg, Deutschland

2.1.4 Geräte

Bezeichnung	Hersteller
Analog-Digital-Konverter Micro 1401	CED, Cambridge, England
Computer mit Windows 2007	hp, Palo Alto, USA
Feinwaage	Sartorius, Göttingen, Deutschland
Heizung TC-10	Npi electronic GmbH, Tamm, Deutschland
Kabel	Institut für Physiologie, Universität Rostock, Deutschland
Kühl- und Gefrierschrank	Liebherr, Ochsenhausen, Deutschland
Langendorff-Apparatur	ADInstruments Ltd, Bella Vista, Australien
Magnetrührer	IKA, Staufen, Deutschland
Minipuls 3 Pumpe	Gilson, Villieres le Bel, Frankreich
Pipettiergerät	PIP5, HEKA Elektronik, Lambrecht, Deutschland
Pressure Transducer	ADInstruments Ltd, Bella Vista, Australien

2.1.5 Software

Bezeichnung	Hersteller
LabChart	7.3.7 software pack, ADInstruments Ltd, Bella Vista, Australia
Libre Office	7.2.2, The Document Foundation, Berlin, Deutschland
Microsoft 365	Version 2501, Microsoft, Redmond, Washington, USA
SPSS Statistik	Version 30.0.0, IBM, Armonk, New York, USA
PAST Statistics	Version 4.17, Natural History Museum - University of Oslo, Norwegen

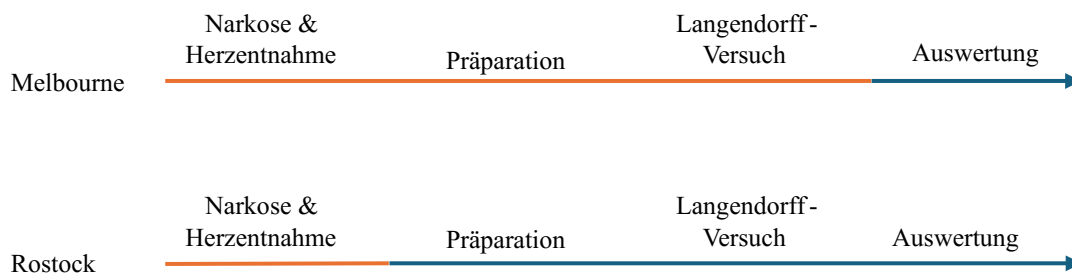
2.1.6 Versuchstiere

Für die Versuche wurden weibliche Wistar-Ratten im Alter zwischen 12 und 15 Wochen verwendet. Diese wurden von Charles River Laboratories bezogen. Bis zum Versuchsbeginn wurden die Tiere im Oscar Langendorff Institut für Physiologie in Rostock unter kontrollierten Bedingungen sowie unter Einhaltung nationaler und internationaler Tierschutzrichtlinien gehalten. Während dieser Zeit standen den Tieren Futter und Wasser ad libitum zur Verfügung. Tierschutzrechtlich handelt es sich bei dem gewählten Versuchsmodell um Versuche ohne Wiedererwachen aus der Narkose („Finalversuche“). Alle tierschutzrechtlich relevanten Aspekte der Versuche, wie die Narkose und die Herzentnahme, wurden von Personen mit entsprechender Qualifikation durchgeführt. Narkose und Herzentnahme an der IMBL wurden vom Ethik-Komitee des ANSTO genehmigt.

2.2 Methoden

2.2.1 Eigenanteil

Diese Arbeit entstand im Rahmen eines Projektes des Oscar Langendorff Institutes für Physiologie in Rostock in Zusammenarbeit mit der Strahlenklinik Rostock und dem ANSTO in Melbourne. Die Microbeam-Bestrahlung der Herzen erfolgte am ANSTO. Die dort erhobenen Daten wurden mir von meiner Arbeitsgruppe zur Auswertung zur Verfügung gestellt. Neben der Auswertung der Daten gehörte die Durchführung der Kontrollversuche und der Versuche zur Etablierung der Versuchsmethode, jeweils ab dem Zeitpunkt der Herzpräparation, zu meine Aufgaben. Auch die benötigten Pufferlösungen wurden von mir hergestellt. Die Sedierung der Tiere sowie die Herzentnahme erfolgten durch Frau Katrin Porath und Herrn Dr. Falko Lange vom Oscar Langendorff Institut Rostock, welche mich zudem bei der Durchführung der Versuche unterstützten.



Team der Physiologie Rostock & des ANSTO Melbourne

Paula Stöhlmacher

Abbildung 6: Eigenanteil an der Arbeit

Die Daten, welche am Synchrotron in Melbourne erhoben wurden, wurden mir zur Auswertung zur Verfügung gestellt. Die Durchführung der Kontrollversuche in Rostock, sowie die Versuche zur Etablierung der optimalen Versuchsdauer und NA-Dosisfindung gehörten jeweils ab dem Zeitpunkt der Herzpräparation zu meinen Aufgaben.

2.2.2 Die Langendorff-Methode

In der Langendorff-Apparatur erfolgt die retrograde Perfusion des Herzens durch eine in die Aorta eingebrachte Kanüle. Hierbei lässt sich zwischen Versuchen mit konstantem Perfusionsdruck und konstantem Fluss unterscheiden. Für die vorliegenden Versuche wurde eine konstante Flussrate gewählt. Durch den Druck der retrograden Perfusion bleiben die Taschen der Aortenklappe geschlossen. Das Perfusat gelangt durch die oberhalb der Aortenklappe liegenden Koronarostien in die Koronararterien, welche es anterograd durchfließt. Es gelangt über den Sinus coronarius in den rechten Vorhof, von dort in den rechten Ventrikel und verlässt das Herz über den eröffneten Truncus pulmonalis (Skrzypiec-Spring, 2007). Als Perfusat wurde erwärmte und oxygenierte kristalloide Pufferlösung verwendet.

2.2.3 Versuchsaufbau

Der im Folgenden beschriebene Versuchsaufbau ist in Abbildung 7 schematisch dargestellt. Das Perfusat wurde in einem Reservoir durch ein Thermostat auf 32 °C erwärmt und, um einen konstanten pH-Wert von 7,4 zu erreichen, mit Carbogen (95 % O₂, 5 % CO₂) begast. Über eine Schlauchpumpe wurde das Perfusat unter einer konstanten Flussrate von 180 ml/h zum Herzen geleitet. Über einen der Pumpe nachgeschalteten Dreiwegehahn konnten Substanzen in das System eingebracht werden, hierüber erfolgte die Noradrenalin-Gabe (NA-Gabe) für die Stimulationsversuche. Oberhalb des kanülierten Herzens befand sich eine Compliance-Kammer, welche als Luftblasenfalle diente, um dem Entstehen von Luftembolien in den Koronarien vorzubeugen. Das aus dem eröffneten Truncus pulmonalis vom Herzen abtropfende Perfusat wurde in einem Auffangbecken gesammelt.

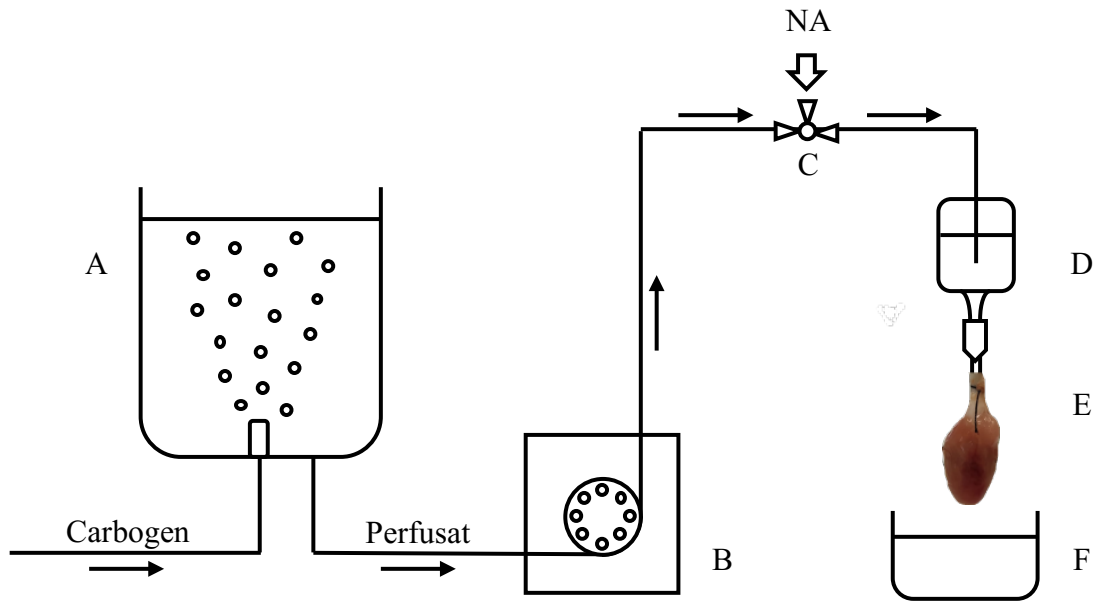


Abbildung 7: Aufbau des Langendorff-Versuches

Das Perfusat wurde in einem Reservoir (A) erwärmt und mit Carbogen begast. Über eine Schlauchpumpe (B) wurde mit konstantem Fluss das Herz retrograd über die Aorta perfundiert (E). Dem Herzen vorgeschaltet war eine Luftblasenfalle (D). Das abtropfende Perfusat wurde in einem Auffangbecken gesammelt (F). Vor dem Herzen befand sich ein Dreiwegehahn (C) zur Einbringung von Substanzen in das System. Über diesen erfolgte die NA-Gabe für die NA-Stimulationsversuche.

Es wurde ein mit Wasser befüllter Latexballon zur Druckmessung in den linken Ventrikel eingebracht, welcher in Verbindung mit einem Druckabnehmer stand. Mit Hilfe einer Spritze konnte die Befüllung des Ballons manuell verändert werden. Ein weiterer Druckabnehmer zur Messung des Aortendrucks befand sich nah über der Aortenkanüle, hier erfolgte auch die Temperaturmessung. Es wurden zwei EKG-Sonden am Herzen fixiert, je eine im linken und rechten Ventrikel. Die Erfassung der kardialen Parameter am Langendorff-Herzen ist in Abbildung 8 dargestellt.

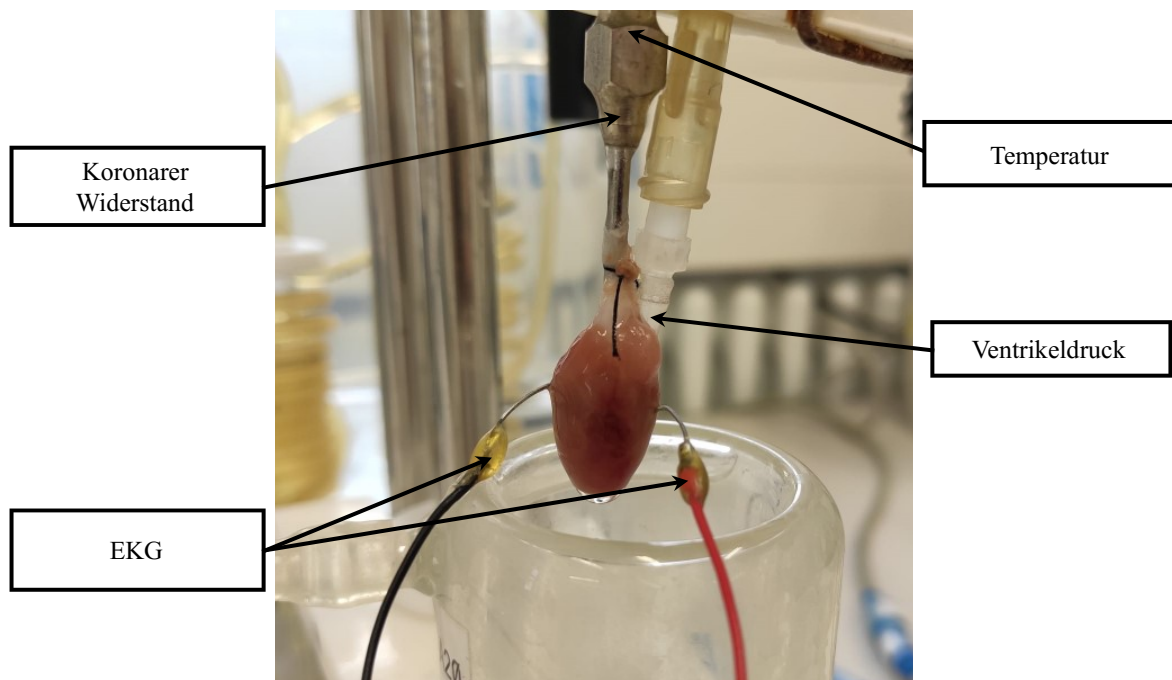


Abbildung 8: Erfassung der kardialen Parameter

Dargestellt ist das in die Langendorff-Apparatur eingebrachte Herz mit den Instrumenten zur Erfassung der kardialen Parameter. Zur Aufzeichnung des EKGs wurden zwei Elektroden, jeweils eine im rechten und linken Ventrikel, am Herzen befestigt. Ein mit Wasser gefüllter Latexballon, welcher mit einem Druckabnehmer in Verbindung stand, wurde in den linken Ventrikel eingebracht. Über diesen erfolgte die Messung des linksventrikulären Druckes. Unmittelbar über der Aortenkanüle erfolgte über einen weiteren Druckabnehmer die Messung des Aortendruckes, welcher als Surrogatmarker für den koronaren Widerstand diente, sowie die Temperaturmessung. Alle kardialen Parameter wurden mit LabChart aufgezeichnet.

2.2.4 Herstellung der Perfusionslösungen

Zu den gängigen Perfusaten für das Langendorff-Herz zählen kristalloide Pufferlösungen, Blut, sowie erythrozytenhaltige Suspensionen.

Kristalloide Pufferlösungen werden hierbei am häufigsten verwendet, sie sind günstig und einfach herzustellen und bergen wenige Probleme bei der Anwendung. Die Oxygenierung ist unkompliziert über eine Fritte möglich, ohne dass es zur Schaumbildung kommt. Sie haben jedoch einen deutlich geringeren kolloidosmotischen Druck und eine niedrigere Viskosität als Blut. Dies bewirkt bei zu hohem Perfusionsdruck ein verändertes Fließverhalten und kann zur Entstehung von Gewebeödemen führen. Auch das Fehlen von Proteinen sowie zellulären und hormonellen Blutbestandteilen stellt eine Limitation dar.

Bei Perfusion mit Blut bleiben die physiologischen Eigenschaften erhalten. Allerdings stellt die Oxygenierung von Vollblut ein Problem dar. Zusätzlich ist bei einem Verbrauch mehrerer

Liter Perfusat pro Versuch und einem Blutvolumen von Ratten von ca. 60 ml/kg Körpergewicht (GV-SOLAS und TVT, 2017) die Verfügbarkeit stark eingeschränkt. Im Blut vorhandene Substanzen, wie z.B. Hormone, können den Versuch beeinflussen.

Mit Erythrozyten versetzte Suspensionen kombinieren die Vorteile der Perfusion mit kristalloiden Lösungen mit denen von Vollblut. Allerdings sind sie kompliziert und zeitaufwändig in der Herstellung. Aufgrund des geringen Blutvolumens von Ratten werden häufig bovine Erythrozyten verwendet. Diese können immunologische Reaktionen im Untersuchungsorgan hervorrufen (Dhein, 2005, Skrzypiec-Spring, 2007, Sutherland und Hearse, 2000).

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Perfusion der Langendorff-Herzen mit glukosehaltiger, kristalloider Lösung. Zusätzlich erfolgte die Herstellung einer kardioplegen Lösung, in welche die Herzen unmittelbar nach Entnahme gelegt und mit welcher sie vor Versuchsbeginn perfundiert wurden, um der Entstehung eines hypoxischen Gewebeschadens entgegenzuwirken. Die Zusammensetzungen der Perfusate zeigen Tabelle 2 und 3. Die Glucose wurde jeweils separat kurz vor Versuchsbeginn hinzugegeben, um die Haltbarkeit der Lösung nicht zu beeinträchtigen. Die Herstellung der Perfusate erfolgte mit destilliertem Wasser. Anschließend erfolgte eine Lagerung im Kühlschrank bei 4 °C bis zur Versuchsdurchführung. Vor Versuchsbeginn wurde mit der Carbogen-Begasung der Pufferlösung begonnen, um einen pH-Wert von 7,4 einzustellen.

Tabelle 2: Zusammensetzung der kardioplegen Lösung

Substanz	Konzentration [mmol/l]	Hersteller
Natriumchlorid (NaCl)	83	Sigma Aldrich
Kaliumchlorid (KCL)	30	Sigma Aldrich
Calciumchlorid (CaCl ₂)	5	Sigma Aldrich
Mannitol	55	Sigma Aldrich
Glucose	30	Sigma Aldrich

Tabelle 3: Zusammensetzung der Perfusionslösung

Substanz	Konzentration [mmol/l]	Hersteller
Natriumchlorid (NaCl)	127	Sigma Aldrich
Kaliumchlorid (KCL)	5	Sigma Aldrich
Natriumhydrogencarbonat (NaHCO ₃)	20	Sigma Aldrich
Natriumphosphat (NaH ₂ PO ₄)	2,6	Sigma Aldrich
Calciumchlorid (CaCl ₂)	2,6	Sigma Aldrich
Magnesiumchlorid (MgCl ₂)	2,6	Sigma Aldrich
Natriumsulfat (Na ₂ SO ₄)	1,2	Sigma Aldrich
Glucose	10	Sigma Aldrich

2.2.5 Herzentnahme und -präparation

Für die Durchführung der Versuche wurden die Herzen 12-15 Wochen alter weiblicher Wistar-Ratten gewählt. Es erfolgte die intraperitoneale Narkose der Versuchstiere mit einer Mischung aus Ketamin (100 mg/kg) und Xylazin (10 mg/kg). Die intraperitoneale Verabreichung wurde aufgrund der einfachen und sicheren Anwendung, sowie der im Vergleich zur volatilen oder intravenösen Narkose nur kurz andauernden suppressiven Wirkung auf die Herzfunktion gewählt (Skrzypiec-Spring, 2007). Eine ausreichende Narkosetiefe wurde durch Testung des *toe-pinch-Reflexes* verifiziert. Zeigten die Tiere keine Reaktion auf den gesetzten Schmerzreiz mehr, wurde mit der Gabe von Heparin (333 IE/ml) fortgefahren. Dies sollte das Risiko für das Auftreten koronarer Thromben oder Thrombembolien minimieren. Es erfolgte die anterolaterale Thorakotomie. Aorta, Vena cava und Pulmonalarterien wurden durchtrennt und das Herz entnommen. Zur Minimierung des hypoxischen Gewebeschadens wurden die Herzen unmittelbar nach Entnahme in eine Petrischale mit 4 °C kalter kardiopleger Lösung gegeben (Arimura et al., 2021). Hierunter kam es innerhalb weniger Sekunden zum Herzstillstand. Anschließend erfolgte die Herzpräparation. Es wurden überschüssiges Fett und Lungengewebe entfernt. Die Aorta wurde gekürzt, mit einer feinen anatomischen Pinzette auf eine Kanüle aufgezogen und mit Hilfe eines Fadens fixiert. Hierbei ist darauf zu achten, die Kanüle nicht zu tief in die Aorta

vorzuschieben, um eine Verlegung der Koronarostien durch die Kanüle zu verhindern (Dhein, 2005). Anschließend erfolgte nach hausinternem Standard die retrograde Perfusion für ca. 30 min mit 4 °C kalter kardiopleger Lösung über die in die Aorta eingebrachte Kanüle. Hierfür wurde eine Schlauchpumpe mit einer Flussrate von 70 ml/h verwendet. Dies hat nach Erfahrungen des Institutes einen zusätzlichen protektiven Effekt auf das perfundierte Organ.

2.2.6 Versuchsprotokoll

Vorbereitend erfolgte die Befüllung des Reservoirs mit Perfusionslösung. Diese wurde mit Carbogen (95 % O₂, 5 % CO₂) begast und mit Hilfe eines Thermostats auf 32 °C erwärmt. Parallel erfolgte die Titration von NA mit Perfusionslösung auf die gewünschte Verdünnung. Es erfolgte das Ausfüllen des Versuchsprotokolles mit Versuchsname, Datum, Uhrzeit, Tiernummer, Geburtsdatum und Geschlecht des Tieres.

War die 30-minütige Perfusion mit kardiopleger Lösung abgeschlossen, wurden die Herzen über die zuvor in die Aorta eingebrachte Kanüle in die Langendorff-Apparatur eingespannt (siehe Abbildung 7). Es erfolgte die retrograde Perfusion der Herzen mit der erwärmten und oxygenierten Pufferlösung unter konstantem Fluss von 180 ml/h. Da die normale Herzfrequenz von Wistar-Ratten 300 min⁻¹ überschreitet (Meller et al., 2011), wurden die Herzen auf Raumtemperatur gehalten, um eine Reduktion der Herzfrequenz zu erzielen. So wurde ein Frequenzbereich von ~60-180 min⁻¹ eingestellt, welcher der physiologischen Herzfrequenz des Menschen entspricht (Lange et al., 2022).

Kurz nach Beginn der Perfusion mit oxygeniertem Perfusat setzten die ersten Herzaktionen ein. Es folgte eine 15-minütige Äquilibrationsphase. Nach Erreichen stabiler Versuchsbedingungen wurde mit der Aufzeichnung der Baseline begonnen. 22 min nach Versuchsbeginn wurde über den Dreivegehahn für zwei Minuten NA mit einer Konzentration von 10⁻⁵ mol/l in das System eingebracht und die Reaktion der Herzen aufgezeichnet. Nach Auswaschen des NA erfolgte in der Versuchsgruppe 35-40 min nach Versuchsbeginn die Microbeam-Bestrahlung. Nach einer Aufzeichnungsphase von 45 min erfolgte die zweite NA-Stimulation. Anschließend wurden die Herzen für weitere 20 min beobachtet, bevor der Versuch beendet wurde. Einen Überblick über den zeitlichen Ablauf der Versuche gibt Abbildung 9. Die gesamte Versuchsdauer betrug ~100 min. Diese Versuchslänge wurde nach

Durchführung von Versuchen zur Ermittlung der optimalen Versuchsdauer festgelegt (siehe Kapitel 3.1.1).

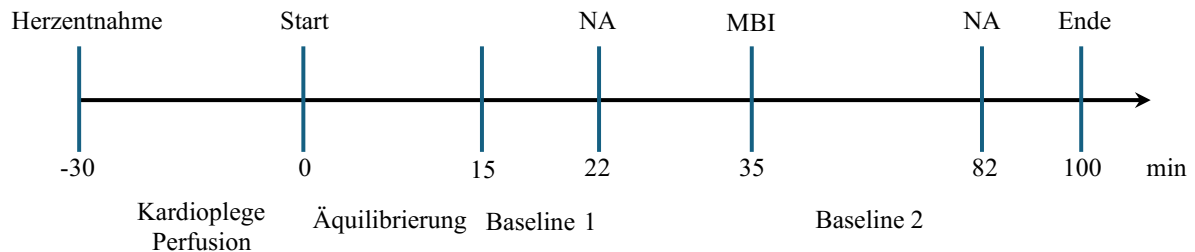


Abbildung 9: Zeitstrahl Versuchsaufbau

Dargestellt ist der Versuchsaufbau von der Herzentnahme bis zum Versuchsende. Nach einer 30-minütigen kardioplegen Perfusion wurde das Herz in die Langendorff-Apparatur eingebracht. Es folgte eine ~15-minütige Äquilibration. Danach wurde mit der Aufzeichnung der Baseline begonnen. Die Microbeam-Bestrahlung (MBI) erfolgte nach 35 min. Es wurde jeweils eine NA-Stimulation vor Bestrahlung, nach ~22 min, sowie nach Bestrahlung, nach ~82 min durchgeführt. Die gesamte Versuchsdauer pro Organ betrug etwa 100 min.

Abbildung modifiziert nach Lange et al., 2022.

2.2.7 Noradrenalin-Gabe

Noradrenalin (NA) ist ein Katecholamin. Es kommt physiologisch als Neurotransmitter des ZNS im Körper vor. Am Herzen bindet NA an β_1 -Rezeptoren, welche im Sinusknoten, AV-Knoten, Reizleitungssystem und im Arbeitsmyokard vorkommen. Dort bewirkt es eine Steigerung der Kontraktionskraft (positiv inotrop), eine Steigerung der Herzfrequenz (positiv chronotrop), eine schnellere Erregungsleitung (positiv dromotrop) und eine schnellere Erschlaffung des Herzmuskels (positiv lusitrop). Zusätzlich kommt es durch NA zu einer Dilatation der Koronararterien (Daut, 2019, Jänig und Baron, 2019). Es wird unter anderem auch in der Notfallmedizin zur Behandlung von Schockpatienten eingesetzt (Fandler und Böhm, 2023). Aufgrund seiner Wirkung entschieden wir uns zur Stimulation der Herzen mit NA, um so die funktionelle Herzreserve sowie die Fähigkeit der Herzen zur Anpassung an Belastungssituationen zu untersuchen. Die Stimulation erfolgte jeweils vor und nach Microbeam-Exposition. Die Dosis von 10^{-5} mol/l wurde im Vorfeld in Versuchen zur Etablierung der Methode ermittelt. Die Ergebnisse dieser Versuche werden gesondert in Kapitel 3.1.2 aufgeführt.

2.2.8 Microbeam-Bestrahlung

Für alle Bestrahlungsversuche wurde die *Imaging and Medical Beamline* (IMBL) am Synchrotron der ANSTO Melbourne genutzt. Eine Tungstenmaske begrenzte die Größe des Strahlenfeldes auf 20x20 mm. Es wurde ein Multilamellen-Kollimator der Firma UNT (Morbier, Frankreich) verwendet (siehe Abbildung 10). Die individuelle Strahlenbreite betrug 50 μm , der Mitte-zu-Mitte-Abstand zwischen den Strahlen 400 μm . Zur Abschätzung von Peak- und Valleydosen wurden Simulationsversuche am Phantommodell durchgeführt (Lange et al., 2022). Das Herz einschließlich der Langendorff-Apparatur wurde mit einer konstanten vertikalen Geschwindigkeit durch das Strahlenfeld bewegt.

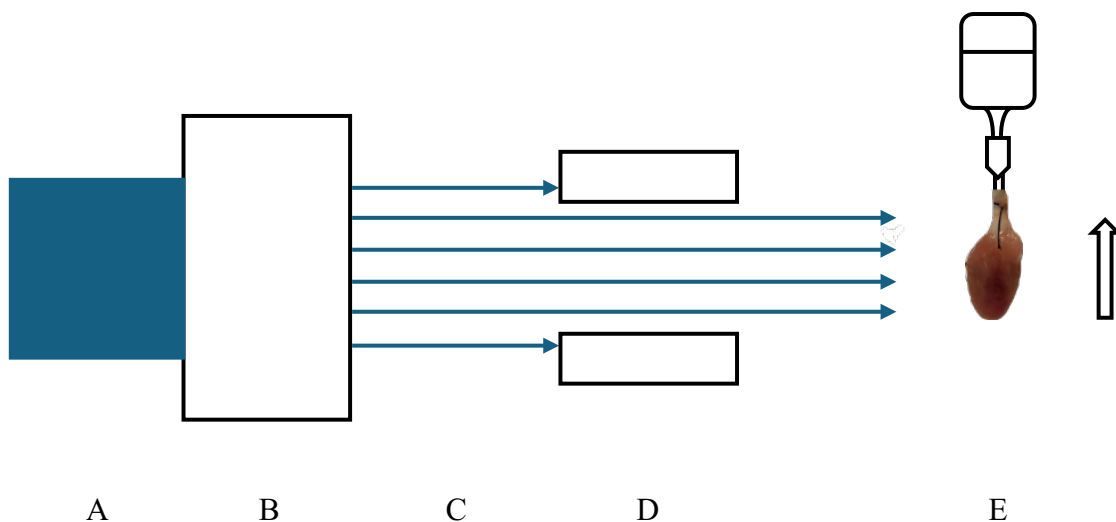


Abbildung 10: Schema Microbeam-Bestrahlung

Der Fullbeam-Synchrotron-Strahl (A) wurde durch einen Multislit-Kollimator (B) in Mikrostrahlen (C) mit einer Breite von 50 μm und einem Mitte-zu-Mitte-Abstand von 400 μm aufgeteilt. Eine Maske (D) begrenzte das Bestrahlungsfeld auf eine Größe von 20x20 mm. Das zu bestrahlende Organ (E) wurde in der Langendorff-Apparatur mit einer konstanten vertikalen Geschwindigkeit durch das Bestrahlungsfeld gefahren (Pfeil).

Es folgten Untersuchungen am schlagenden Herzen mit verschiedenen Strahlendosen. Hierfür wurden sowohl Broadbeam (BB) als auch Microbeam (MBI) verwendet. Eine Übersicht über die verwendeten Strahlendosen gibt Tabelle 4. Der Fokus lag auf der 400 Gy Microbeam-Bestrahlung, welche an sieben Organen durchgeführt wurde.

Tabelle 4: Betrachtete Strahlendosen und Anzahl der untersuchten Organe

Art der Bestrahlung	Dosis [Gy]	Anzahl Organe
BB	40	2
BB	400	2
MBI	40	3
MBI	400	7
MBI	4000	2
Sham	0	2

BB – Broadbeam, MBI – Microbeam-Irradiation, Sham – unbestrahlte Kontrollorgane

Für die 400 Gy Versuche wurde ein AlAl-Filter verwendet. Die Surface Dose Rate betrug 6898.55 Gy/s. Die vertikale Bewegung des Langendorff-Systems durch das Strahlenfeld erfolgte mit einer Geschwindigkeit 17.85 mm/s. Bei einer Gesamthöhe der Herzen von ca. 3 cm konnte so ein Herz in einer Zeit von unter 2 s vollständig mit 400 Gy Microbeam bestrahlt werden (Lange et al., 2022).

2.2.9 Erfassung und Auswertung der kardialen Parameter

Für die Aufzeichnung der kardialen Parameter und der Temperatur wurde die Software LabChart (7.3.7 software pack, ADInstruments Ltd, Bella Vista, Australien) verwendet.

Es wurden kontinuierlich ein EKG, die Druckkurven für Aorten- und linksventrikulären Druck, sowie die Temperatur aufgezeichnet (siehe Abbildung 11). Aus dem EKG wurde die Herzfrequenz (HF) anhand des gemessenen RR-Abstandes bestimmt (siehe Abbildung 12). Es wurden systolischer und diastolischer linksventrikulärer Druck ermittelt und die linksventrikuläre Druckentwicklung (ΔLVP) als Differenz aus diesen berechnet. Bei konstantem Fluss konnte der Druck in der Aorta als Surrogatmarker für den koronaren Widerstand (CR) eingesetzt werden.

2 Material und Methoden

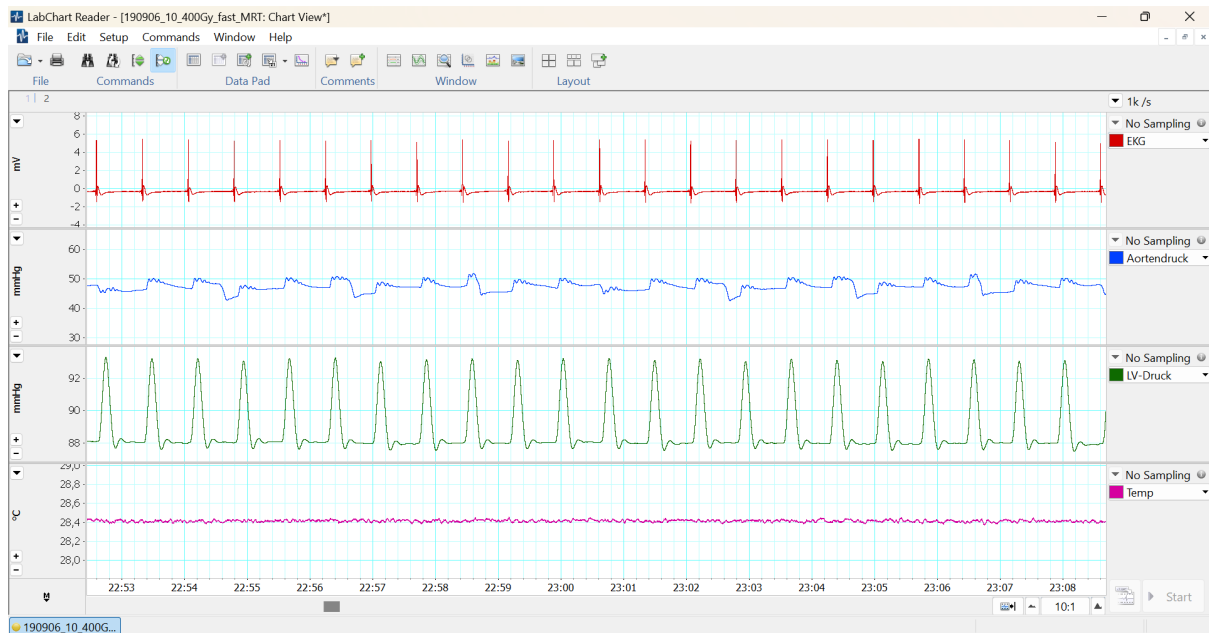


Abbildung 11: Ansicht der aufgezeichneten Daten in LabChart

Die gemessenen Parameter der Hämodynamik wurden mit der Software LabChart aufgezeichnet. Gezeigt ist ein Screenshot aus diesem Programm. Von oben nach unten sind abgebildet eine EKG-Spur (rot), der Aortendruck (blau), der linksventrikulären Druck (grün) sowie die Temperatur (violett) über einen Zeitraum von ca. 15 s. Die Aufzeichnung erfolgte kontinuierlich über die gesamte Versuchsdauer.

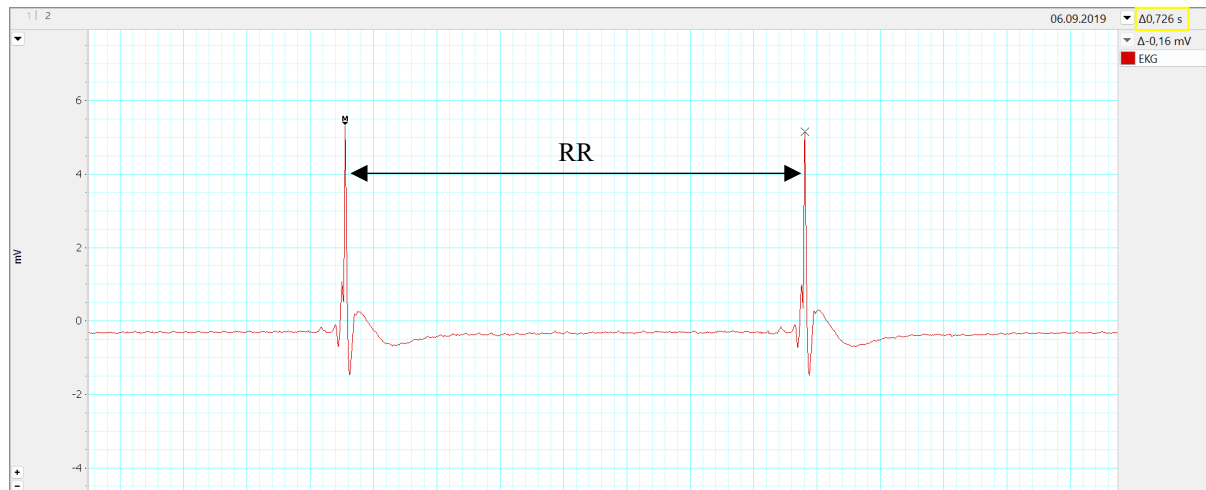


Abbildung 12: Messung des RR-Abstandes mit LabChart

Es ist ein vergrößerter Ausschnitt aus der EKG-Spur zu erkennen. Beispielhaft dargestellt ist die Messung des Abstandes zwischen zwei R-Zacken (Pfeil), indem ein Marker auf die R-Zacken gesetzt wurde. Die gemessene RR-Dauer betrug 0,726 s (gelber Kasten oben rechts). Dieser Wert wurde für die Bestimmung der HF sowie die Berechnung der HRV benötigt.

Zusätzlich erfolgte die Berechnung des *Rate Pressure Product* (RPP) als Produkt aus HF und Δ LVP. Das RPP stellt einen Marker für die Herzarbeit dar. Die Herzratenvariabilität (HRV) beschreibt in vivo die Anpassungsfähigkeit des Herzens an die Aktivität des autonomen Nervensystems. Da dieser Einfluss am isolierten Herzen nicht vorliegt, lässt sie sich hier zur Einschätzung des Auftretens von Arrhythmien verwenden. Die HRV wurde berechnet als Standardabweichung der gemessenen RR-Intervalle. Betrachtet wurden je 30-sekündige Intervalle. Tabelle 5 gibt einen Überblick über die gemessenen und berechneten Parameter der Hämodynamik.

Tabelle 5: Gemessene und berechnete kardiale Parameter und ihre Einheiten

Bezeichnung	Abkürzung	Einheit
Herzfrequenz	HF	min ⁻¹
Koronarer Widerstand (gemessen als Aortendruck)	CR	mmHg
Linksventrikulärer systolischer Druck	LVP _{sys}	mmHg
Linksventrikulärer diastolischer Druck	LVP _{dia}	mmHg
Linksventrikuläre Druckentwicklung	Δ LVP	mmHg
Rate Pressure Product	RPP	mmHg/min
Herzratenvariabilität	HRV	s

Es wurden fünf Zeiträume für die Auswertung festgelegt. Diese waren je 30 s lang. Der erste gewählte Zeitraum lag in der Baseline, kurz vor Bestrahlung. Als nächstes wurden der Zeitraum während sowie unmittelbar nach Bestrahlung betrachtet. Es folgten drei Zeiträume zur Nachbeobachtung, diese lagen 20, 40 und 60 min nach Bestrahlung.

Zur Auswertung der NA-Antwort wurde ein Baseline-Wert unmittelbar vor jeder NA-Gabe gewählt. Der zweite Wert wurde zum Zeitpunkt der maximalen NA-Wirkung, 3 min nach Ende der NA-Gabe, gemessen. Diese Werte wurden zueinander ins Verhältnis gesetzt. Eine beispielhafte Darstellung der Veränderung der Herzfrequenz nach NA-Stimulation geben Abbildung 13 und 14.

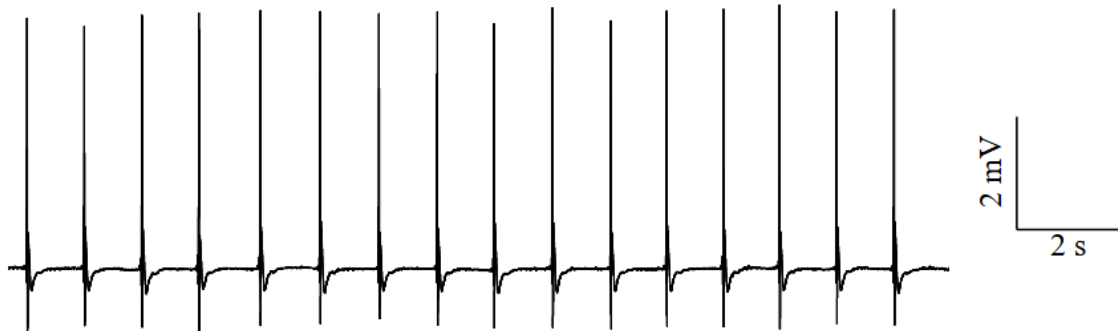


Abbildung 13: NA-Versuch HF Baseline

Zu erkennen ist ein Ausschnitt aus einem EKG eines Organs der Versuchsgruppe. Abgebildet ist ein ~20-sekündiger Abschnitt während der Baseline, unmittelbar vor der ersten NA-Stimulation. Die Herzfrequenz beträgt $\sim 48 \text{ min}^{-1}$.

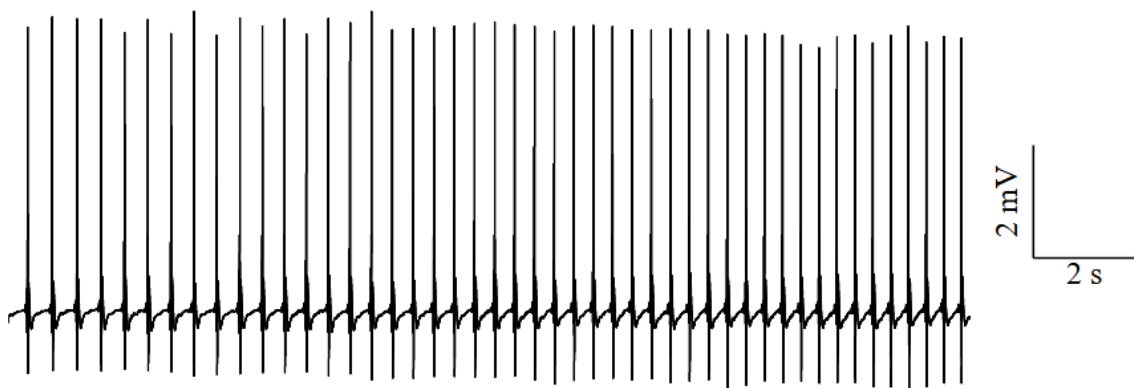


Abbildung 14: NA-Versuch HF Stimulation

Dargestellt ist ein EKG-Ausschnitt desselben Organs wie in Abbildung 13. Abgebildet ist ein ~20-sekündiger Abschnitt 3 min nach NA-Gabe, zum Zeitpunkt der maximalen NA-Wirkung. Die Herzfrequenz beträgt $\sim 144 \text{ min}^{-1}$.

Um nicht nur einen punktuellen Eindruck des Auftretens von Arrhythmien zu bekommen, erfolgte die Erfassung von Extrasystolen (ES) über den gesamten Versuchsverlauf. Diese wurden per Hand ausgezählt.

2.2.10 Statistik

Die Darstellung der erhobenen Werte erfolgte als Mittelwert (MW) $\pm$ Standardfehler des Mittelwertes (*Standard Error of the Mean*, SEM). Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Statistik-Programm SPSS (Version 30.0.0, IBM, Armonk, New York, USA).

Aufgrund der geringen Gruppengröße erfolgte die Prüfung auf Signifikanz anhand von Rangsummentests. Für abhängige Stichproben, wie die Entwicklung eines Parameters innerhalb einer Gruppe im Versuchsverlauf, wurde der Wilcoxon-Test verwendet. Für Vergleiche zwischen den Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Es wurde ein Signifikanzniveau von $P < 0,05$ festgelegt. Signifikanzen sind im Folgenden mit * gekennzeichnet.

3 Ergebnisse

3.1 Etablierung der Methode

Zunächst wurden Versuche durchgeführt, um die Stabilität der kardialen Parameter während der Versuchsdauer zu testen, sowie die NA-Dosis zu ermitteln, welche eine maximale Steigerung der kardialen Parameter bewirkte. Hierzu wurden folgende Parameter betrachtet: die Herzfrequenz (HF), die linksventrikuläre Druckentwicklung (Δ LVP), der Aortendruck als Surrogatmarker für den koronaren Widerstand (CR), sowie das sich aus Herzfrequenz und Δ LVP ableitende *Rate Pressure Product* (RPP).

3.1.1 Ermittlung der optimalen Versuchsdauer

Insgesamt 11 Herzen wurden über einen Zeitraum von 240 min in der Langendorff-Apparatur retrograd perfundiert und die kardialen Parameter aufgezeichnet. Dabei wurden Daten nach Etablierung der Herzen im Langendorff-System (=Baseline) und nach 60, 120, 180 bzw. 240 min Versuchsdauer betrachtet. Bis zum Zeitpunkt von 120 min lagen Daten von 11 Tieren für die Auswertung vor, für 180 min von 10 Tieren und für 240 Minuten von 9 Tieren. Eine grafische Darstellung der Entwicklung der kardialen Parameter im Verhältnis zur Baseline erfolgt in Abbildung 15.

Zu erkennen war ein deutlicher Abfall des Δ LVP ab 180 min von $7,9 \pm 1,1$ mmHg (Baseline) auf $4,1 \pm 0,8$ mmHg, diese Änderung war signifikant ($P = 0,037$, Wilcoxon-Test, siehe Tabelle 6). Bei 240 min lag ein weiterer Abfall auf $3,8 \pm 0,6$ mmHg vor, auch dies war ein signifikanter Abfall im Vergleich zur Baseline ($P = 0,011$, Wilcoxon-Test). Auch das RPP zeigte einen Abfall von $788,9 \pm 165,6$ mmHg/min auf $459,0 \pm 80,6$ mmHg/min ab 180 min, und weiter auf $436,9 \pm 70,0$ mmHg bei 240 min, hier zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied zur Baseline (180 min: $P = 0,203$, 240 min: $P = 0,086$, Wilcoxon-Test). Des Weiteren zeigte sich ein nicht signifikanter Anstieg der HF bis 120 min ($P = 0,075$, Wilcoxon-Test), danach blieb die HF nahezu konstant. Der CR fiel mit zunehmender Versuchsdauer geringfügig, ohne dass es zu einer signifikanten Änderung kam ($P = 0,051$, Wilcoxon-Test).

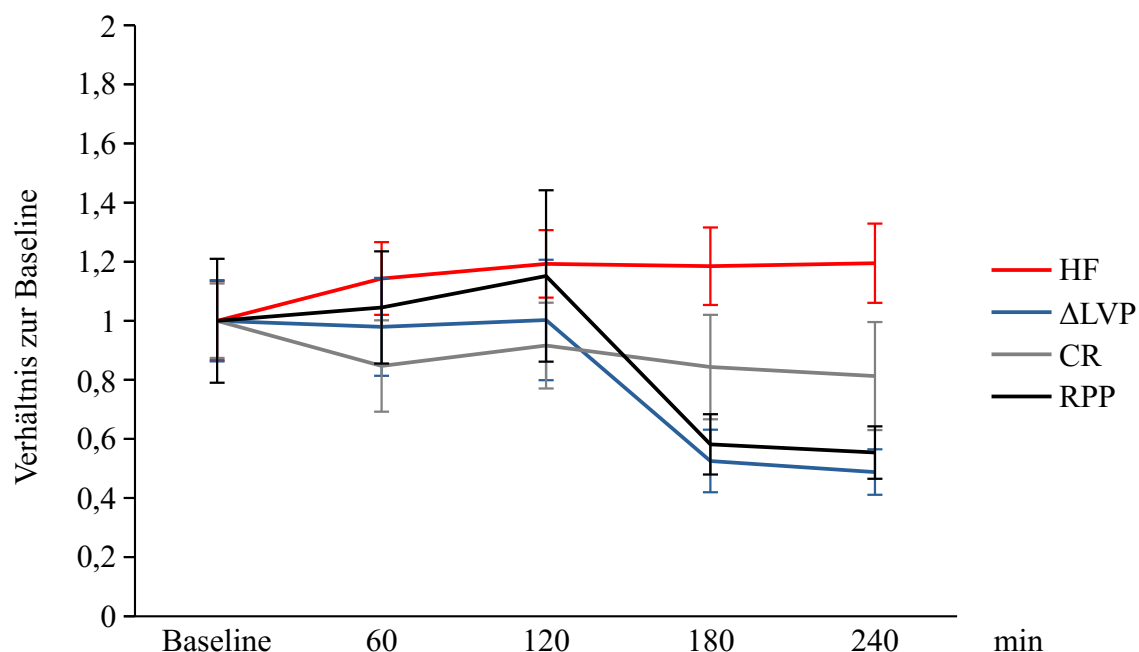


Abbildung 15: Auswirkung der Versuchsdauer auf die kardialen Parameter

Dargestellt sind die kardialen Parameter HF, Δ LVP, das aus diesen Werten berechnete RPP sowie der CR über den Versuchsverlauf. Betrachtet wurden Werte während der Baseline (n=11), sowie nach 60 (n=11), 120 (n=11), 180 (n=10) und 240 min (n=9). Die Werte wurden ins Verhältnis zur Baseline gesetzt. Es zeigte sich ein signifikanter Abfall der Δ LVP ab 180 min. Für alle anderen Werte ergaben sich keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zur Baseline (Wilcoxon-Test, $P < 0,05$).

Aufgrund des deutlichen Abfalls von Δ LVP und RPP zwischen 120 und 180 min wurde eine Versuchsdauer von ~100 min gewählt. Für diese Zeit ist mit stabilen kardialen Parametern zu rechnen.

Tabelle 6: Kardiale Parameter im Versuchsverlauf

Dargestellt sind die Entwicklung der HF, der Δ LVP, des CR (gemessen als Aortendruck) sowie des RPP über die Dauer des Versuches. Signifikante Veränderungen in Bezug auf die Baseline sind mit * markiert (Wilcoxon-Test, $P < 0,05$).

	Baseline	60 Minuten	120 Minuten	180 Minuten	240 Minuten
HF [min^{-1}]	99 ± 13	113 ± 12	118 ± 11	117 ± 13	118 ± 13
ΔLVP [mmHg]	$7,9 \pm 1,1$	$7,7 \pm 1,3$	$7,9 \pm 1,6$	$4,1 \pm 0,8 *$	$3,8 \pm 0,6 *$
CR [mmHg]	$54,5 \pm 6,9$	$46,1 \pm 8,4$	$49,9 \pm 7,9$	$46,0 \pm 7,0$	$44,3 \pm 10,0$
RPP [mmHg/min]	$788,9 \pm 165,6$	$824,3 \pm 149,9$	$908,4 \pm 263,1$	$459,0 \pm 80,6$	$436,9 \pm 70,0$

3.1.2 Ermittlung der optimalen NA-Dosis

Zur Bestimmung der optimalen NA-Dosis für die Durchführung der Versuche wurde die Auswirkung des NA auf die betrachteten kardialen Parameter gemessen. Ziel war es, die NA-Dosis zu ermitteln, unter welcher eine maximale Steigerung dieser Parameter erreicht werden konnte, um die NA-Wirkung sowie mögliche Veränderungen auf Grund der Microbeam-Bestrahlung möglichst zuverlässig darstellen zu können.

Zu diesem Zweck wurden die Herzen im Langendorff-System im zeitlichen Abstand von 20 min mit NA-Stoffmengenkonzentrationen von 10^{-8} bis 10^{-4} mol/l stimuliert und die Auswirkung auf die beschriebenen kardialen Größen gemessen. Für diesen Versuch wurden sechs Herzen untersucht. Für die Konzentrationen von 10^{-6} sowie 10^{-5} mol/l standen 10 bzw. 18 Versuche zur Auswertung zur Verfügung. Die Werte wurden in Relation zu einem Ausgangswert, welcher unmittelbar vor der NA-Verabreichung erhoben wurde, gesetzt. Die ermittelten Ergebnisse sind in Abbildung 16 grafisch dargestellt.

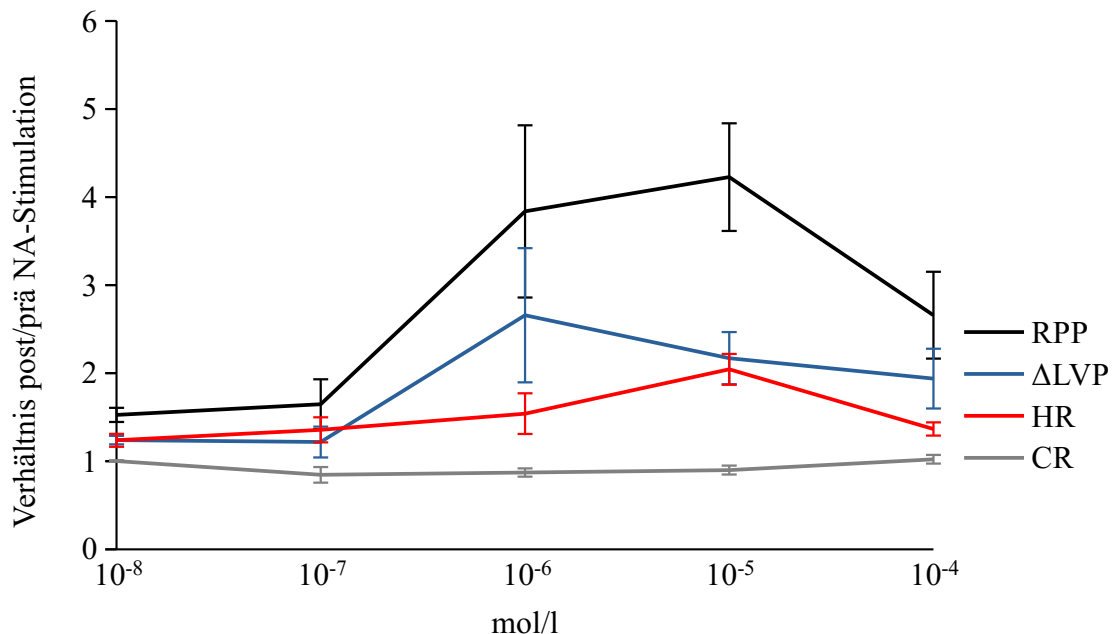


Abbildung 16: Wirkung verschiedener NA-Dosen auf die kardialen Parameter

Dargestellt ist die Änderung der kardialen Parameter HF, Δ LVP, CR sowie RPP in Bezug auf die Baseline in Folge der Stimulation mit steigenden NA-Dosierungen mit jeweils 10^{-8} (n=6), 10^{-7} (n=6), 10^{-6} (n=10), 10^{-5} (n=18), sowie 10^{-4} (n=6) mol/l. Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg der HF gegenüber der Baseline für alle verabreichten Dosen. Δ LVP sowie RPP zeigten einen signifikanten Anstieg bei 10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-5} sowie 10^{-4} mol/l. Der CR war für 10^{-7} , 10^{-6} sowie 10^{-5} mol/l signifikant niedriger als der Ausgangswert (Wilcoxon-Test, $P < 0,05$).

HF sowie RPP stiegen an, bis bei einer Dosis von 10^{-5} mol/l ein Maximalwert erreicht wurde. Bei weiterer Dosissteigerung fielen die Werte wieder ab. Für die HF wurde hier eine Steigerung um das Doppelte des Ausgangswertes erreicht, beim RPP erfolgte eine Steigerung um den Faktor 4,2. Für die Δ LVP lag das Maximum beim 2,7-fachen des Ausgangswertes und wurde bereits bei einer Dosis von 10^{-6} mol/l erreicht. Der CR zeigte nur sehr geringfügige Änderungen.

Die HF war für alle verabreichten NA-Stoffmengenkonzentrationen signifikant erhöht gegenüber der Ausgangswerte (siehe Tabelle 7). Für die Δ LVP sowie das RPP ergaben sich signifikante Steigerungen für 10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-5} sowie 10^{-4} mol/l, nicht jedoch für 10^{-7} mol/l. Der CR zeigte für die Dosen 10^{-7} , 10^{-6} sowie 10^{-5} mol/l eine geringe, jedoch statistisch signifikante Verminderung gegenüber der Ausgangswerte (Wilcoxon-Test, $P < 0,05$).

Tabelle 7: Relative Änderung der kardialen Parameter in Folge der Verabreichung steigender NA-Dosen

Aufgeführt sind die kardialen Parameter HF, Δ LVP, CR sowie RPP. Die Werte wurden jeweils in Relation zu einem Ausgangswert unmittelbar vor NA-Gabe gesetzt. Signifikante Änderungen im Vergleich zum Ausgangswert sind mit * markiert (Wilcoxon-Test, $P < 0,05$).

NA-Dosis	10^{-8} mol/l	10^{-7} mol/l	10^{-6} mol/l	10^{-5} mol/l	10^{-4} mol/l
HF	$1,24 \pm 0,07^*$	$1,36 \pm 0,14^*$	$1,54 \pm 0,23^*$	$2,04 \pm 0,18^*$	$1,37 \pm 0,07^*$
Δ LVP	$1,24 \pm 0,05^*$	$1,22 \pm 0,18$	$2,66 \pm 0,76^*$	$2,17 \pm 0,30^*$	$1,94 \pm 0,34^*$
CR	$1,00 \pm 0,01$	$0,85 \pm 0,09^*$	$0,87 \pm 0,05^*$	$0,90 \pm 0,05^*$	$1,02 \pm 0,05$
RPP	$1,53 \pm 0,08^*$	$1,65 \pm 0,28$	$3,84 \pm 0,98^*$	$4,23 \pm 0,61^*$	$2,66 \pm 0,49^*$

Anhand dieser Ergebnisse wurde für die nachfolgenden Versuche eine NA-Dosis von 10^{-5} mol/l gewählt. Für diese Dosis ist mit den deutlichsten Auswirkungen auf die kardialen Parameter zu rechnen.

3.2 Ergebnisse der Messung der kardialen Parameter

Im Rahmen der Versuche zur Mikrostrahl-Exposition der Herzen wurden insgesamt 18 Organe untersucht. Die Versuchsgruppe umfasste sieben Herzen, welche mit 400 Gy Microbeam bestrahlt wurden. In der Kontrollgruppe (Sham-Gruppe) wurden 11 unbestrahlte Herzen betrachtet.

Es wurden die Parameter HF, Δ LVP sowie CR aufgezeichnet. Aus den gemessenen Daten wurden die HRV sowie das RPP als Produkt aus HF und Δ LVP bestimmt. Betrachtet wurden jeweils ein Abschnitt unmittelbar vor Bestrahlung (Baseline), der Zeitpunkt der Bestrahlung, sowie Zeitpunkte 20, 40 und 60 min nach der Mikrostrahl-Exposition. Es wurde ein Vergleich zwischen der bestrahlten Gruppe und der Kontrollgruppe gezogen. Zusätzlich wurde die Entwicklung vom Ausgangs- zum Endwert betrachtet. Die Ergebnisse werden im Folgenden dargestellt.

3.2.1 Herzfrequenz

Zwei Elektroden wurden, wie in Kapitel 2.2.3 beschrieben, am Herzen angebracht und das entstandene EKG aufgezeichnet. Eine beispielhafte Registrierung der so erhaltenen EKG-Spur zeigen Abbildung 17 und Abbildung 18.

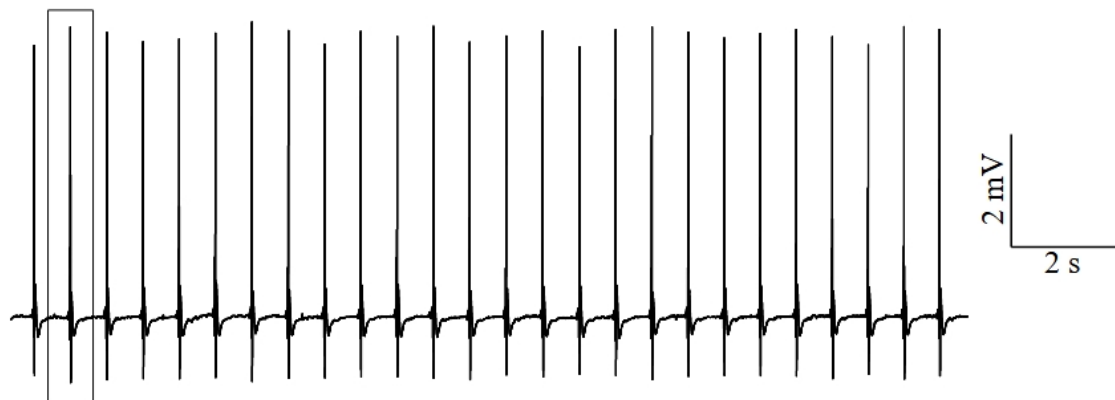


Abbildung 17: EKG

Dargestellt ist eine EKG-Spur über einen Zeitraum von 20 Sekunden während der Baseline. Zu erkennen ist eine rhythmische Herzaktion mit einer Frequenz von ~82/min. Die markierte Herzaktion ist in Abbildung 18 vergrößert dargestellt.

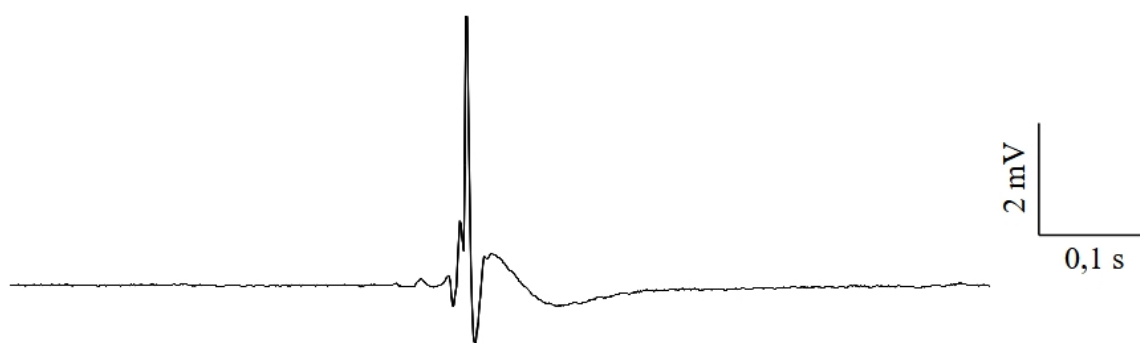


Abbildung 18: EKG-Ausschnitt

Dargestellt ist eine einzelne Herzaktion, (Ausschnitt in Abbildung 17 mit Rahmen markiert). Die Kammererregung und deren Rückbildung sind deutlich zu erkennen.

In der Versuchsgruppe steigerte sich die HF im Versuchsverlauf um 13%, diese Änderung war nicht signifikant ($P = 0,051$, Wilcoxon-Test, Tabelle 8). Auch für die Kontrollgruppe ließ sich keine signifikante Änderung der HF darstellen, sie stieg im Mittel um 14% an ($P = 0,168$, Wilcoxon-Test).

Tabelle 8: HF zu Beginn des Versuchs und 60 Minuten nach Bestrahlung

Aufgeführt ist die HF $\pm$ SEM während der Baseline (unmittelbar vor Bestrahlung, ~35 min nach Versuchsbeginn) sowie zum Versuchsende (60 min nach Bestrahlung, ~100 min nach Versuchsbeginn). Es wurden Kontrollherzen sowie mit 400 Gy Microbeam bestrahlte Herzen erfasst.

	HF [min^{-1}]		
	Ausgangswert	Endwert	Prozentuale Änderung
Sham (n=11)	99 ± 13	113 ± 12	+14,1 %
400 Gy (n=7)	91 ± 11	103 ± 12	+13,2 %

Zwischen den beiden betrachteten Gruppen ließen sich keine signifikanten Unterschiede feststellen. So betrug die mittlere HF während der Baseline für die 400 Gy Gruppe $91 \pm 11 \text{ min}^{-1}$, was sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe ($99 \pm 13 \text{ min}^{-1}$) unterschied ($P = 1$, Mann-Whitney-U-Test). Zum Ende des Versuchs betrug die mittlere HF für die Versuchsgruppe $103 \pm 12 \text{ min}^{-1}$, die der Kontrollgruppe $113 \pm 12 \text{ min}^{-1}$ ($P = 0,319$, Mann-Whitney-U-Test). Die Entwicklung der HF im Versuchsverlauf für beide Gruppen zeigt Abbildung 19. Eine Bestrahlung der Organe mit 400 Gy Microbeam hatte keine signifikanten Effekte auf die HF.

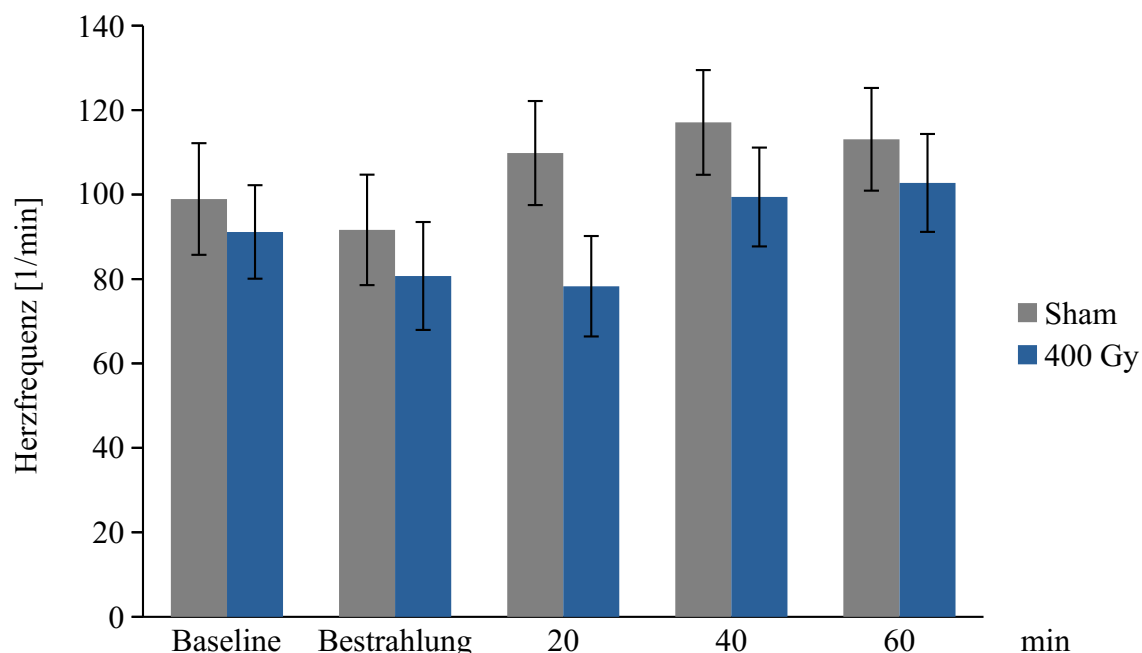


Abbildung 19: HF nach Mikrostrahl exposition

Im Langendorff-System wurden die Herzen einer räumlich fraktionierten Energiedosis von 400 Gy ausgesetzt und die HF kontinuierlich registriert. Dargestellt ist die HF der Versuchs- (n=7) sowie der Kontrollgruppe (n=11) in absoluten Werten zum Ausgangszeitpunkt, während der Microbeam Bestrahlung sowie 20, 40 und 60 min nach Microbeam-Exposition. Es ergaben sich keine signifikanten Veränderungen der HF im Versuchsverlauf gegenüber der Baseline (Wilcoxon-Test) oder zwischen den beiden Gruppen (Mann-Whitney-U-Test).

3.2.2 Linksventrikuläre Druckentwicklung

Die Messung des linksventrikulären Druckes (LVP) erfolgte, wie in Kapitel 2.2.3 beschrieben, mit Hilfe eines in den linken Ventrikel eingebrachten Ballons. Betrachtet wurde die Δ LVP, also die Differenz aus systolischem und diastolischem LVP. Abbildung 20 und Abbildung 21 zeigen beispielhaft die aufgezeichneten Druckkurven.

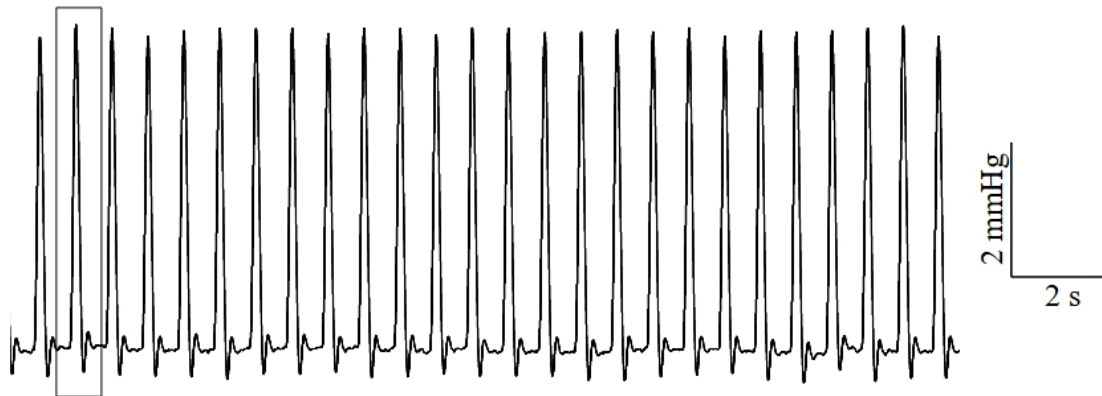


Abbildung 20: LVP

Dargestellt ist eine Druckkurve über einen Zeitraum von 20 s während der Baseline. Die ΔLVP beträgt ~ 6 mmHg. Der markierte Ausschnitt ist in Abbildung 21 vergrößert dargestellt.

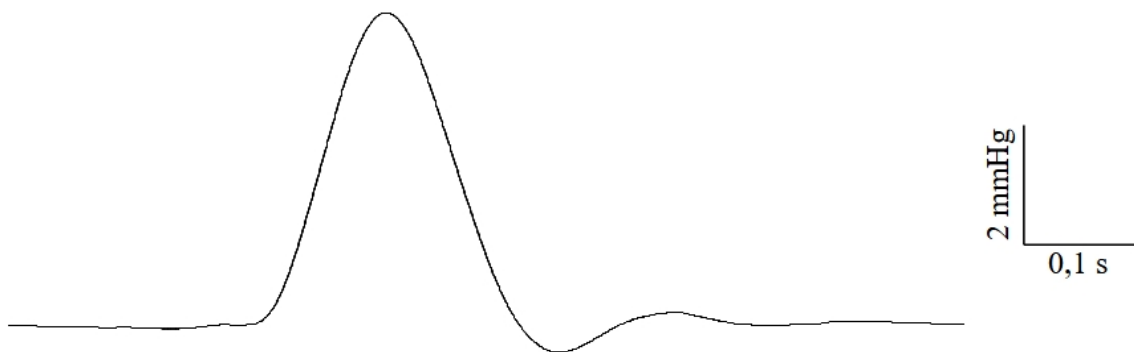


Abbildung 21: LVP-Ausschnitt

Dargestellt ist ein einzelner Ausschlag der Druckkurve (Ausschnitt in Abbildung 20 mit Rahmen markiert). Die Differenz zwischen systolischem und diastolischem Druck beträgt für das aufgeführte Beispiel ~ 6 mmHg.

Weder in der Versuchs- noch in der Kontrollgruppe kam es zu einer signifikanten Änderung der ΔLVP im Vergleich zum Ausgangswert (siehe Tabelle 9). In der Kontrollgruppe kam es zu einem leichten Abfall der ΔLVP um 2,5 % ($P = 0,894$, Wilcoxon-Test). In der Versuchsgruppe sank die ΔLVP um 9,9 % ($P = 0,063$, Wilcoxon-Test).

Tabelle 9: Δ LVP zu Beginn des Versuchs und 60 Minuten nach Bestrahlung

Aufgeführt ist die Δ LVP $\pm$ SEM während der Baseline (unmittelbar vor Bestrahlung, ~35 min nach Versuchsbeginn) sowie zum Versuchsende (60min nach Bestrahlung, ~100min nach Versuchsbeginn). Es wurden Kontrollherzen (Sham) sowie mit 400 Gy Microbeam bestrahlte Herzen erfasst.

	Δ LVP [mmHg]		
	Ausgangswert	Endwert	Prozentuale Änderung
Sham (n=11)	7,9 $\pm$ 1,1	7,7 $\pm$ 1,3	-2,5 %
400 Gy (n=7)	15,1 $\pm$ 4,2	13,6 $\pm$ 4,7	-9,9 %

Es fällt auf, dass sich für die Δ LVP für die Versuchsgruppe über den gesamten Versuchsverlauf höhere Werte ergaben, als für die Kontrollgruppe (siehe Abbildung 22). Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant: Während der Baseline betrug die mittlere Δ LVP für die Kontrollgruppe 7,9 $\pm$ 1,1 mmHg und für die Versuchsgruppe 15,1 $\pm$ 4,2 mmHg (P = 0,147, Mann-Whitney-U-Test). Eine Stunde nach Bestrahlung wurde für die Kontrollgruppe eine Δ LVP von 7,7 $\pm$ 1,3 mmHg und für die Versuchsgruppe von 13,6 $\pm$ 4,7 mmHg ermittelt (P = 0,521, Mann-Whitney-U-Test). Diese Differenz ist möglicherweise auf Unterschiede bei den Messungen zurückzuführen, da die Untersuchungen der beiden Gruppen zum Teil an verschiedenen Orten erfolgten: die bestrahlten Organe wurden vollständig am ANSTO in Melbourne untersucht, die unbestrahlten Herzen sowohl in Rostock (n=9), als auch in Melbourne (n=2). Die Microbeam-Exposition schien keine signifikanten Auswirkungen auf die Δ LVP zu haben.

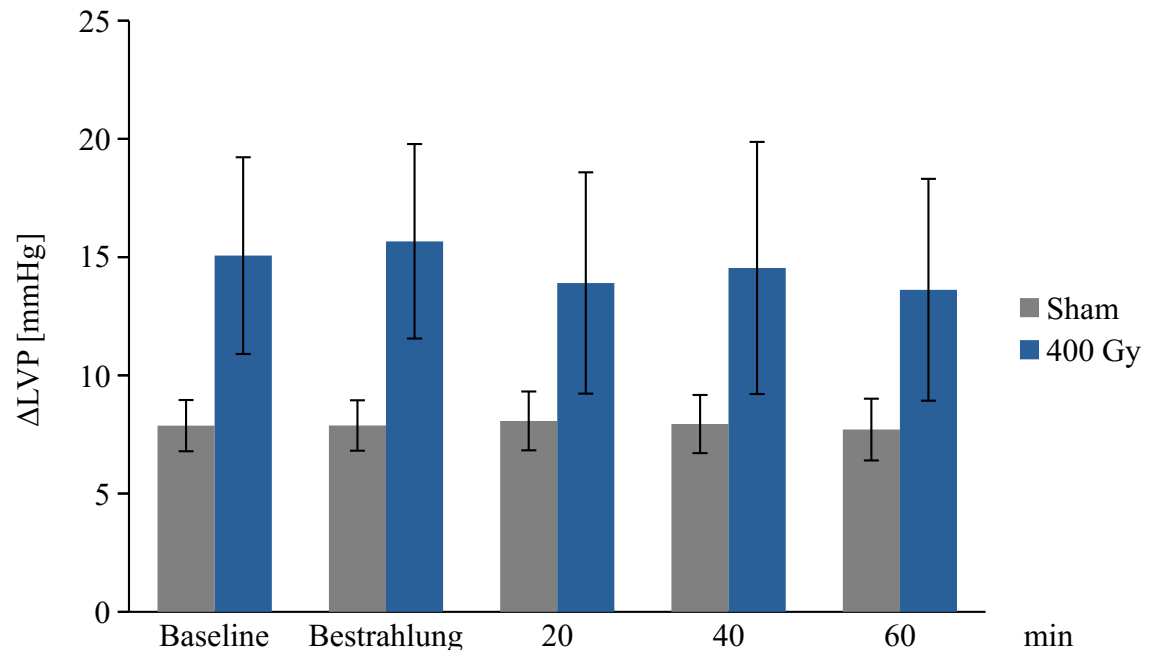


Abbildung 22: Δ LVP-Entwicklung nach Mikrostrahlexposition

Im Langendorff-System wurden die Herzen einer räumlich fraktionierten Energiedosis von 400 Gy ausgesetzt und der LVP kontinuierlich registriert. Dargestellt ist die Δ LVP der Versuchs- (n=7) sowie der Kontrollgruppe (n=11) in absoluten Werten zum Ausgangszeitpunkt, während der Microbeam Bestrahlung sowie 20, 40 und 60 min nach Microbeam-Exposition. Es ergaben sich keine signifikanten Veränderungen der Δ LVP im Versuchsverlauf gegenüber der Baseline (Wilcoxon-Test) oder zwischen den beiden Gruppen (Mann-Whitney-U-Test). Die auffällige Differenz zwischen den Gruppen ist wahrscheinlich auf die Durchführung der Versuche an verschiedenen Orten zurückzuführen.

3.2.3 Koronarer Widerstand

Mit Hilfe eines Drucksensors wurde der Druck in der Aorta gemessen und als Surrogatmarker für den CR eingesetzt. Eine beispielhafte Darstellung der erhaltenen Druckkurven zeigen Abbildung 23 und Abbildung 24. Über einen Zeitraum von ca. zwei Sekunden ist ein Anstieg des Druckes über je drei bis fünf Ausschläge zu erkennen. Diese Ausschläge passen zeitlich zum Erreichen der Maximaldrücke im linken Ventrikel. Nach diesem Zyklus erfolgt ein Druckabfall etwa auf das Ausgangsniveau, dieses Profil ergibt sich durch die Aktivität der Schlauchpumpe.



Abbildung 23: Aortendruck

Dargestellt ist eine Druckkurve über einen Zeitraum von ~20 Sekunden während der Baseline. Der markierte Ausschnitt ist in Abbildung 24 vergrößert dargestellt.

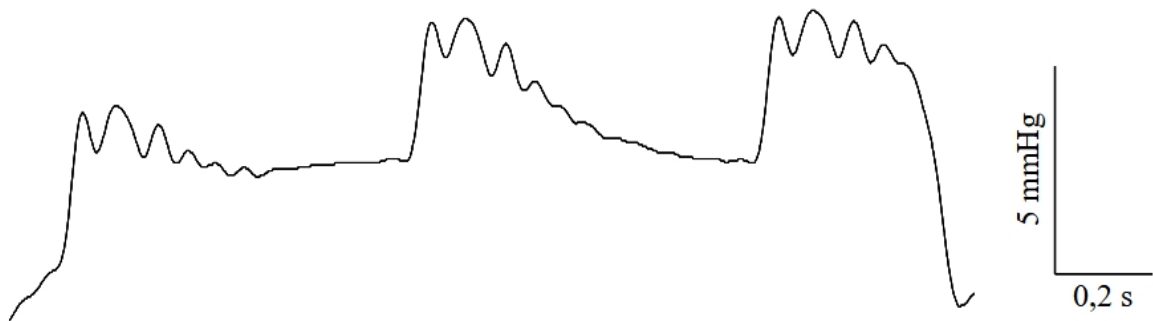


Abbildung 24: Aortendruck Ausschnitt

Dargestellt ist ein vergrößerter Ausschnitt der Druckkurve (Ausschnitt in Abbildung 23 mit Rahmen markiert) mit einem minimalen Druck von 43 mmHg und einem maximalen Druck von 51 mmHg.

Es kam in keiner der beiden Gruppen zu einer signifikanten Änderung des CR im Vergleich zum Ausgangswert (siehe Tabelle 10). In der Kontrollgruppe kam es zu einem Abfall des CR um 15,4 % des Ausgangswertes ($P = 0,05$, Wilcoxon-Test). In der Versuchsgruppe nahm der CR im Versuchsverlauf um 2,8 % ab ($P = 0,553$, Wilcoxon-Test).

Tabelle 10: CR zu Beginn des Versuchs und 60 Minuten nach Bestrahlung

Aufgeführt ist der CR $\pm$ SEM (gemessen als Aortendruck) während der Baseline (unmittelbar vor Bestrahlung, ~35 min nach Versuchsbeginn) sowie zum Versuchsende (60 min nach Bestrahlung, ~100 min nach Versuchsbeginn). Es wurden Kontrollherzen (Sham) sowie mit 400 Gy Microbeam bestrahlte Herzen erfasst.

	CR [mmHg]		
	Ausgangswert	Endwert	Prozentuale Änderung
Sham (n=11)	54,5 $\pm$ 6,9	46,1 $\pm$ 8,4	-15,4 %
400 Gy (n=7)	39,5 $\pm$ 1,7	38,4 $\pm$ 1,8	-2,8 %

Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen ermittelt werden. In der Kontrollgruppe betrug der Aortendruck im Mittel 54,5 mmHg während der Baseline, was sich nicht signifikant von der Versuchsgruppe unterschied, hier betrug der mittlere Aortendruck 39,5 mmHg ($P = 0,147$, Mann-Whitney-U-Test). 60 min nach Bestrahlung ergab sich für die Kontrollgruppe ein mittlerer Aortendruck von 46,1 mmHg, für die Versuchsgruppe von 38,4 mmHg ($P = 0,205$, Mann-Whitney-U-Test). Diese Entwicklung ist in Abbildung 25 grafisch dargestellt. Die Microbeam-Bestrahlung zeigte keine signifikanten Auswirkungen auf den Aortendruck und somit auch auf den CR.

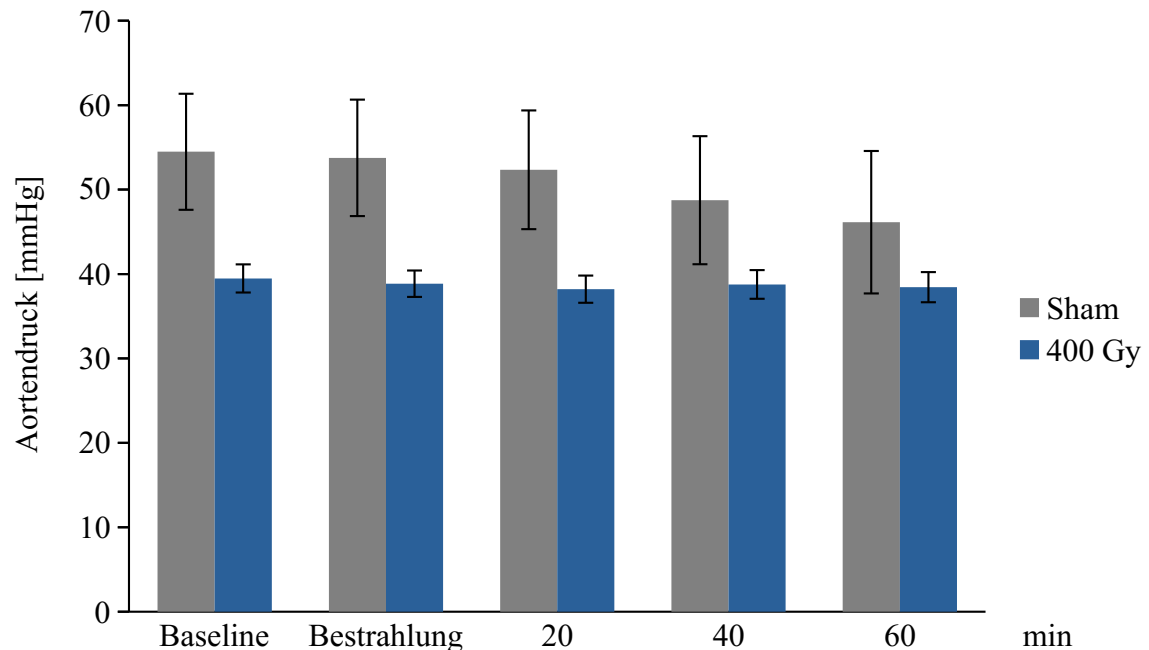


Abbildung 25: Entwicklung des Aortendrucks nach Mikrostrahlexposition

Im Langendorff-System wurden die Herzen einer räumlich fraktionierten Energiedosis von 400 Gy ausgesetzt und der CR (gemessen als Aortendruck) kontinuierlich registriert. Dargestellt ist der Aortendruck der Versuchs- (n=7) sowie der Kontrollgruppe (n=11) in absoluten Werten zum Ausgangszeitpunkt, während der Microbeam Bestrahlung sowie 20, 40 und 60 min nach Mikrostrahl-Exposition. Es ergaben sich keine signifikanten Veränderungen des CR im Versuchsverlauf gegenüber der Baseline (Wilcoxon-Test) oder zwischen den beiden Gruppen (Mann-Whitney-U-Test).

3.2.4 Rate Pressure Product

Als Maß für die Herzarbeit wurde das RPP als Produkt aus HF und Δ LVP bestimmt. In der Versuchsgruppe kam es zu einem signifikanten Abfall des RPP 20 min nach Bestrahlung im Vergleich zur Baseline ($P = 0,028$, Wilcoxon-Test), jedoch stieg das RPP im weiteren Versuchsverlauf wieder an, sodass ab 40 min nach Bestrahlung kein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert mehr festzustellen war ($P = 0,31$, Wilcoxon-Test). In der Kontrollgruppe verhielt sich das RPP im Versuchsverlauf nahezu konstant. Diese Entwicklung ist in Abbildung 26 dargestellt.

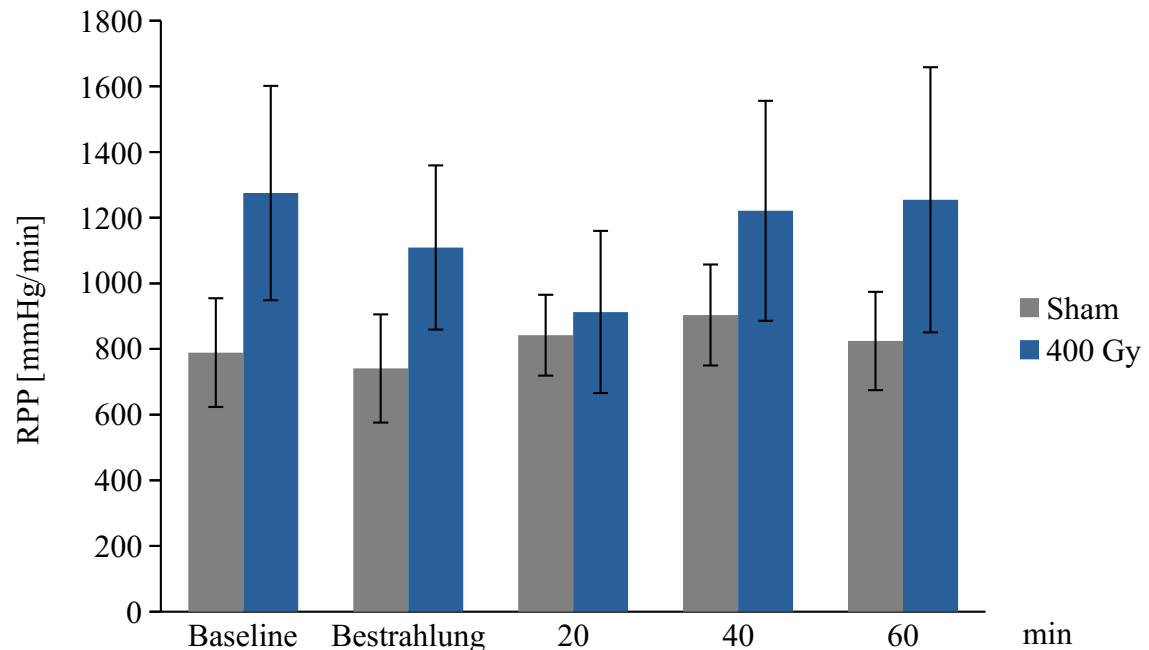


Abbildung 26: RPP-Entwicklung nach Mikrostrahlexposition

Das RPP wurde als Produkt aus HF und Δ LVP aus den aufgezeichneten Werten berechnet. Dargestellt ist das RPP für die Versuchs- (n=7) sowie die Kontrollgruppe (n=11) zum Ausgangszeitpunkt, während der Microbeam-Bestrahlung, sowie 20, 40 und 60 min nach Bestrahlung. Es ergaben sich keine signifikanten Veränderungen des RPP im Versuchsverlauf gegenüber der Baseline (Wilcoxon-Test) oder zwischen den beiden Gruppen (Mann-Whitney-U-Test).

Für keine der beiden Gruppen lag zum Versuchsende eine signifikante Änderung des RPP im Vergleich zum Ausgangswert vor (siehe Tabelle 11). So stieg das RPP in der Kontrollgruppe über die Gesamtdauer des Versuchs um 4,5 % an ($P = 0,248$, Wilcoxon-Test), in der Versuchsgruppe lag es zum Versuchsende 1,6 % unter dem Ausgangswert ($P = 0,499$, Wilcoxon-Test).

Weder zum Ausgangszeitpunkt noch zum Versuchsende lag ein signifikanter Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe bezüglich des RPP vor (Baseline: $P = 0,174$, Versuchsende: $P = 0,526$, Mann-Whitney-U-Test).

Die Mikrostrahl-Exposition schien einen akuten signifikanten Abfall des RPP zur Folge zu haben, welcher jedoch im weiteren Verlauf wieder rückläufig war.

Tabelle 11: RPP zu Beginn des Versuchs und 60 Minuten nach Bestrahlung

Aufgeführt ist das mittlere RPP $\pm$ SEM während der Baseline (unmittelbar vor Bestrahlung, ~35 min nach Versuchsbeginn) sowie zum Versuchsende (60 min nach Bestrahlung, ~100 min nach Versuchsbeginn). Es wurden Kontrollherzen (Sham) sowie mit 400 Gy Microbeam bestrahlte Herzen erfasst.

	RPP [mmHg/min]		
	Ausgangswert	Endwert	Prozentuale Änderung
Sham (n=11)	788,9 $\pm$ 165,6	824,3 $\pm$ 149,9	+4,5 %
400 Gy (n=7)	1275 $\pm$ 326,4	1254,4 $\pm$ 404,1	-1,6 %

3.2.5 Herzratenvariabilität

Als Indikator für Arrhythmien wurde die HRV zu mehreren Zeitpunkten vor, während und nach der Bestrahlung berechnet. Wie in Abbildung 27 zu erkennen, zeigte sich ein leichter Anstieg der HRV während der Bestrahlung, dieser war jedoch nicht signifikant gegenüber dem Ausgangswert ($P = 0,398$, Wilcoxon-Test) oder gegenüber der Kontrollgruppe ($P = 1$, Mann-Whitney-U-Test). Im weiteren Versuchsverlauf fiel die HRV in beiden Gruppen wieder ab.

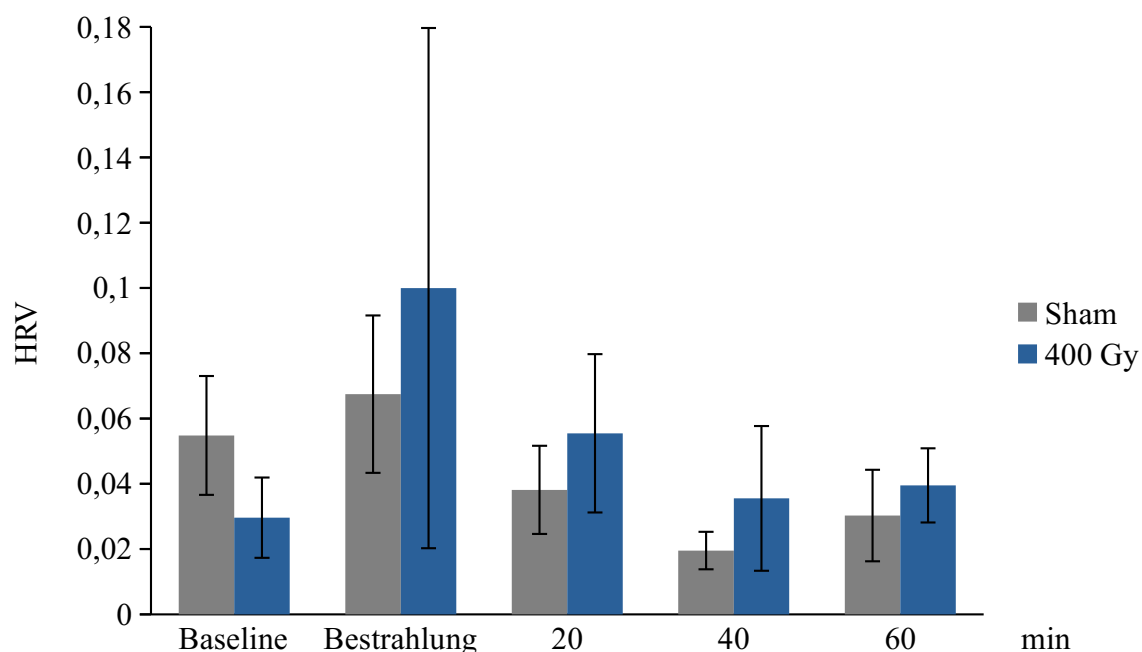


Abbildung 27: HRV-Entwicklung nach Mikrostrahlexposition

Dargestellt ist die HRV der Versuchs- (n=7) sowie der Kontrollgruppe (n=11). Betrachtet wurden Werte während der Baseline, zum Zeitpunkt der Bestrahlung, sowie 20, 40 und 60 min nach der Bestrahlung. Es ergaben sich keine signifikanten Veränderungen der HRV im Versuchsverlauf gegenüber der Baseline (Wilcoxon-Test) oder zwischen den beiden Gruppen (Mann-Whitney-U-Test).

Einen direkten Vergleich zwischen Ausgangs- und Endwert beider Gruppen zeigt Tabelle 12. Für die Kontrollgruppe verringerte sich die HRV im Versuchsverlauf um 45,5 %, diese Änderung war nicht signifikant ($P = 0,155$, Wilcoxon-Test). In der Versuchsgruppe erfolgte eine Zunahme der HRV um 33,3 %, auch hier lag keine signifikante Änderung vor ($P = 0,735$, Wilcoxon-Test).

Tabelle 12: HRV zu Beginn des Versuchs und 60 Minuten nach Bestrahlung

Aufgeführt ist die HRV $\pm$ SEM während der Baseline (unmittelbar vor Bestrahlung, ~35 min nach Versuchsbeginn) sowie zum Versuchsende (60 min nach Bestrahlung, ~100 min nach Versuchsbeginn). Es wurden Kontrollherzen (Sham) sowie mit 400 Gy Microbeam bestrahlte Herzen erfasst.

	HRV [s]		
	Ausgangswert	Endwert	Prozentuale Änderung
Sham (n=11)	0,055 $\pm$ 0,018	0,030 $\pm$ 0,014	-45,5 %
400 Gy (n=7)	0,030 $\pm$ 0,012	0,040 $\pm$ 0,011	+33,3 %

Die HRV beider Gruppen unterschieden sich weder zum Ausgangs- noch zum Endzeitpunkt signifikant voneinander. So betrug der Ausgangswert für die Kontrollgruppe $0,055 \pm 0,018$ s und für die Versuchsgruppe $0,030 \pm 0,012$ s ($P = 0,651$, Mann-Whitney-U-Test); zum Versuchsende betrug die HRV der Kontrollgruppe $0,030 \pm 0,014$ s, die der Versuchsgruppe $0,040 \pm 0,011$ s ($P = 0,464$, Mann-Whitney-U-Test).

Eine signifikante Änderung der HRV durch die Microbeam-Bestrahlung schien nicht zu erfolgen. Es fand jedoch zum Zeitpunkt der Bestrahlung ein Anstieg der HRV in der Versuchsgruppe statt.

3.3 Auswirkung von Noradrenalin auf die kardialen Parameter

Zur Bestimmung der funktionellen Herzreserve erfolgte bei allen Versuchen zu zwei Zeitpunkten die Gabe von NA. Die erste Gabe erfolgte nach Etablierung stabiler Versuchsbedingungen ca. 20 min nach Versuchsbeginn, die zweite Gabe erfolgte ca. 45 min nach Microbeam-Bestrahlung, bzw. 80 min nach Versuchsbeginn. Nach Durchführung entsprechender Versuche zur Dosisfindung (siehe Kapitel 3.1.2) wurde eine Dosis von 10^{-5} mol/l für alle Versuche gewählt. Diese Dosis bewirkte eine signifikante Steigerung der kardialen Parameter HF, Δ LVP und RPP, sowie einen signifikanten Abfall des CR gegenüber dem Ausgangswert. Im Folgenden werden die Auswirkungen der NA-Gabe auf die kardialen Parameter vor und nach Microbeam-Exposition betrachtet.

3.4 Auswirkung von Noradrenalin auf die Herzfrequenz

In der Kontrollgruppe fiel die Steigerung der HF nach der zweiten NA-Applikation geringer aus als nach der ersten, diese Änderung war jedoch nicht signifikant ($P = 0,05$, Wilcoxon-Test, siehe Abbildung 28). So steigerte sich die HF bei der ersten NA-Gabe um den Faktor $2,1 \pm 0,15$, für die zweite NA-Applikation erfolgt ein geringerer Anstieg, um den Faktor $1,7 \pm 0,16$. In der Versuchsgruppe fiel der Anstieg der HF nach erfolgter Microbeam-Exposition ebenfalls geringer aus als zu Versuchsbeginn ($2,4 \pm 0,26$ vor Bestrahlung vs. $2,0 \pm 0,13$ nach Bestrahlung), auch diese Änderung war nicht statistisch signifikant ($P = 0,176$, Wilcoxon-Test).

Zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede für die NA-Gaben vor ($P = 0,36$, Mann-Whitney-U-Test) und nach Microbeam-Exposition ($P = 0,15$, Mann-Whitney-U-Test).

Eine signifikante Änderung der NA-Antwort der Herzfrequenz auf Grund der Bestrahlung fand nicht statt.

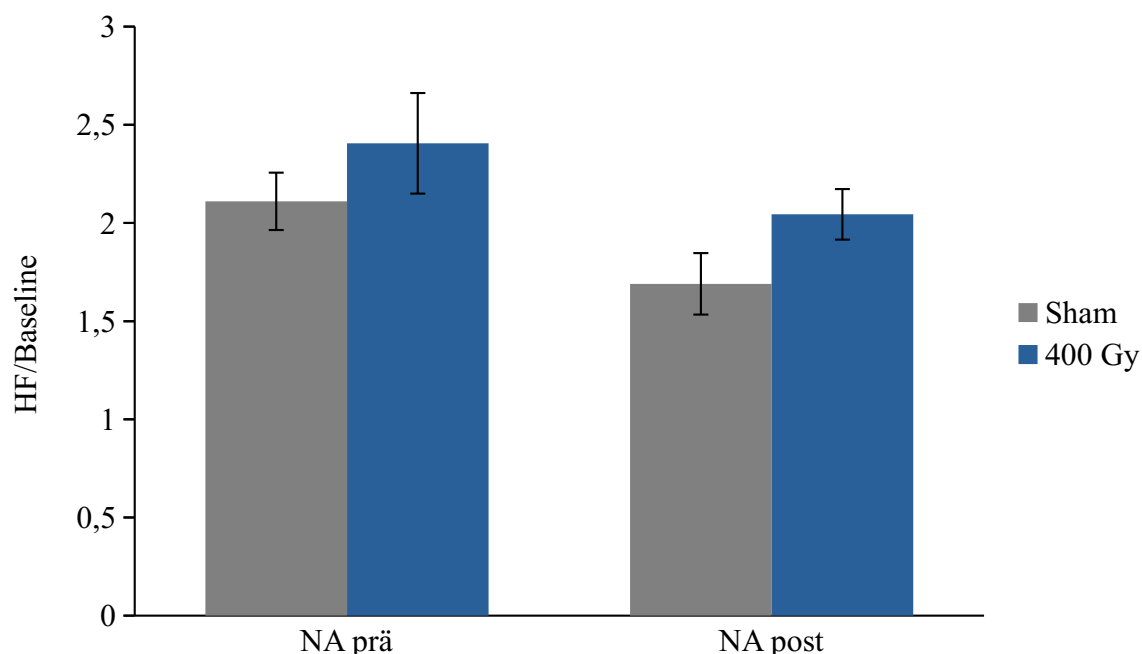


Abbildung 28: NA-Effekt auf die HF vor und nach Microbeam-Exposition

Dargestellt ist der Effekt von $NA\ 10^{-5}\ \text{mol/l}$ auf die HF vor und nach Microbeam-Bestrahlung. Betrachtet wurden Versuchs- ($n=7$) und Kontrollgruppe (Sham, $n=11$). Die Werte wurden ins Verhältnis zu einem Ausgangswert unmittelbar vor jeder NA-Applikation gesetzt. In keiner der Gruppen kam es zu einer signifikanten Änderung zwischen den beiden betrachteten Zeitpunkten (Wilcoxon-Test). Auch untereinander unterschieden sich beide Gruppen nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test).

3.4.1 Auswirkung von Noradrenalin auf die linksventrikuläre Druckentwicklung

Weder in der Kontroll- noch in der Versuchsgruppe unterschieden sich die durch NA-Applikation bewirkten Änderungen der ΔLVP vor und nach 400 Gy bzw. Sham-Bestrahlung signifikant voneinander (siehe Abbildung 29). Für die Kontrollgruppe betrug die Änderung der ΔLVP nach der ersten NA-Gabe $2,2 \pm 0,29$, nach der zweiten Applikation $2,2 \pm 0,43$ ($P = 0,859$, Wilcoxon-Test). Für die Versuchsgruppe lag vor Microbeam-Bestrahlung einer ΔLVP -Änderung von $1,5 \pm 0,43$ vor, nach Microbeam-Exposition betrug diese Änderung $1,3 \pm 0,41$ ($P = 0,866$, Wilcoxon-Test).

Auch ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe zum Zeitpunkt vor ($P = 0,147$, Mann-Whitney-U-Test) oder nach Microbeam- bzw. Sham-Bestrahlung ($P = 0,277$, Mann-Whitney-U-Test).

Die Mikrostrahl-Exposition hatte keine signifikanten Effekte auf die Änderung des ΔLVP nach NA-Stimulation.

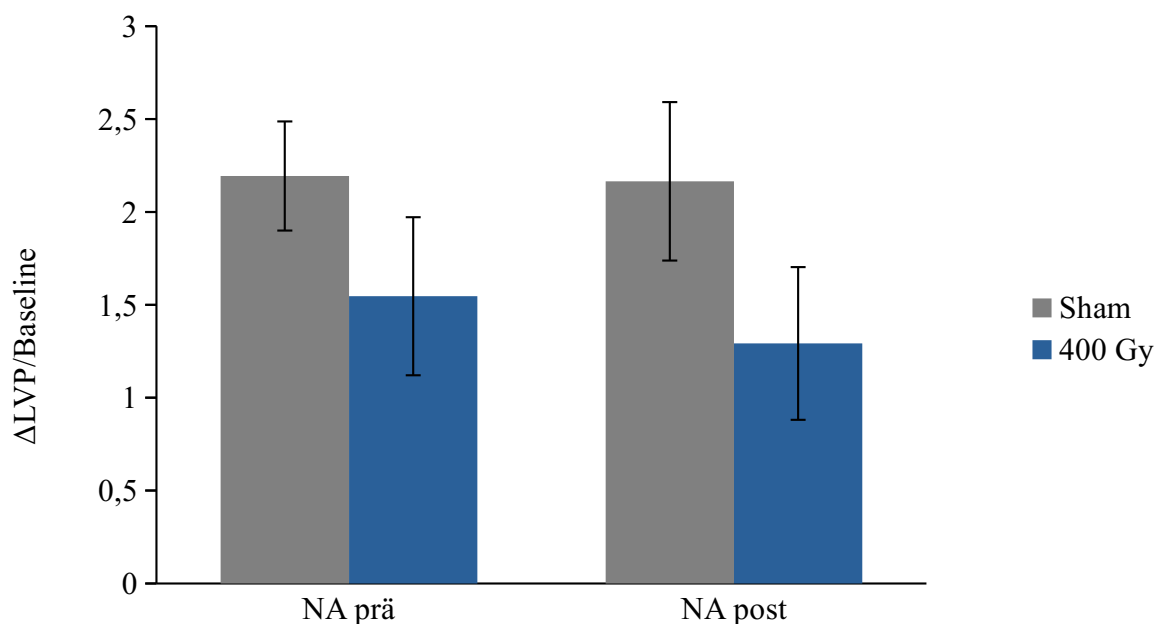


Abbildung 29: NA-Effekt auf die ΔLVP vor und nach Microbeam-Exposition

Dargestellt ist der Effekt von $NA\ 10^{-5}\ \text{mol/l}$ auf die ΔLVP zu jeweils einem Zeitpunkt vor und nach Microbeam-Bestrahlung. Betrachtet wurden Versuchs- ($n=7$) und Kontrollgruppe (Sham, $n=11$). Die Werte wurden ins Verhältnis zu einem Ausgangswert unmittelbar vor jeder NA-Applikation gesetzt. In keiner der Gruppen kam es zu einer signifikanten Änderung zwischen den beiden betrachteten Zeitpunkten (Wilcoxon-Test). Auch untereinander unterschieden sich beide Gruppen nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test).

3.4.2 Auswirkung von Noradrenalin auf den koronaren Widerstand

Auch für den CR lag nach erfolgter Microbeam- bzw. Sham-Bestrahlung keine signifikante Änderung des NA-Effektes vor. In der Kontrollgruppe betrug die Änderung des CR vor Bestrahlung $0,86 \pm 0,12$, nach Microbeam-Bestrahlung erfolgte durch NA-Applikation eine Änderung um den Faktor $1,01 \pm 0,15$. Der Unterschied zwischen diesen beiden Zeitpunkten war nicht statistisch signifikant ($P = 0,248$, Wilcoxon-Test). Für die Versuchsgruppe betrug die Änderung des CR bei der ersten NA-Applikation $1,04 \pm 0,07$ im Vergleich zur Baseline,

bei der zweiten NA-Gabe $1,07 \pm 0,06$. Auch hier lag demnach kein signifikanter Unterschied vor ($P = 0,753$, Wilcoxon-Test, siehe Abbildung 30).

Zwischen den beiden Gruppen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede für die NA-Stimulation vor ($P = 0,174$, Mann-Whitney-U-Test) und nach ($P = 0,856$, Mann-Whitney-U-Test) 400 Gy bzw. Sham-Bestrahlung.

Die Microbeam-Bestrahlung hatte keine signifikanten Änderungen der NA-Antwort des CR zur Folge.

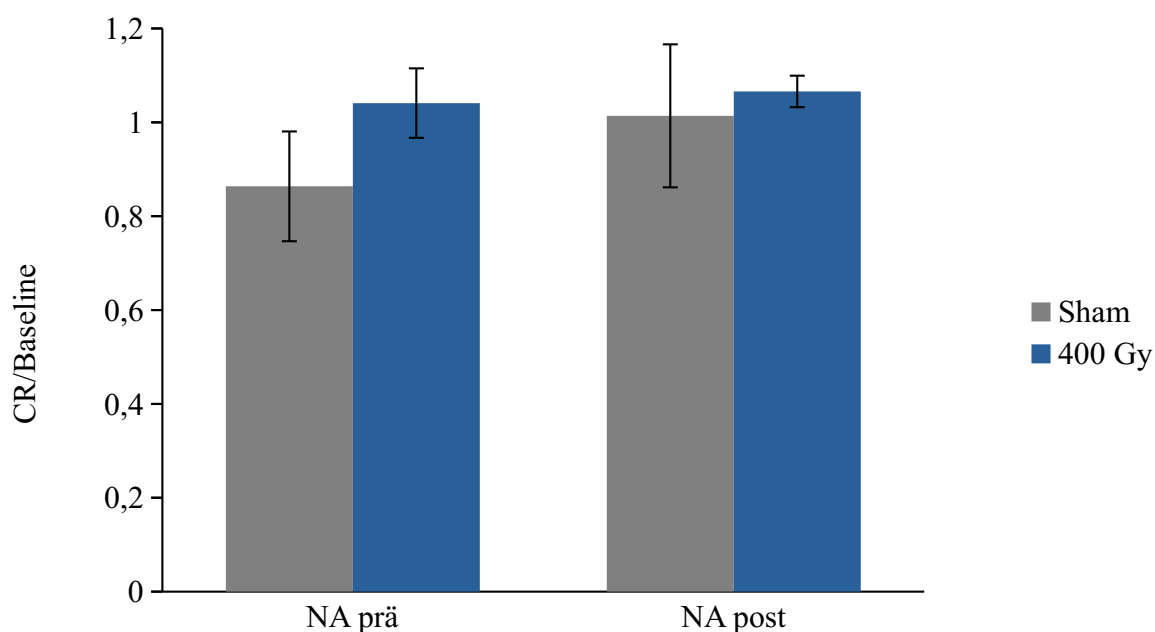


Abbildung 30: NA-Effekt auf den CR vor und nach Microbeam-Exposition

Dargestellt ist der Effekt von NA 10^{-5} mol/l auf den CR zu jeweils einem Zeitpunkt vor und nach Microbeam-Bestrahlung. Betrachtet wurden Versuchs- ($n=7$) und Kontrollgruppe (Sham, $n=11$). Die Werte wurden ins Verhältnis zu einem Ausgangswert unmittelbar vor jeder NA-Applikation gesetzt. In keiner der Gruppen kam es zu einer signifikanten Änderung zwischen den beiden betrachteten Zeitpunkten (Wilcoxon-Test). Auch untereinander gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Mann-Whitney-U-Test).

3.4.3 Auswirkung von Noradrenalin auf das Rate Pressure Product

In der Kontrollgruppe kam es durch die erste NA-Gabe zu einer Steigerung des RPP um den Faktor $3,4 \pm 0,43$ im Vergleich zur Baseline, für die zweite NA-Gabe um den Faktor $4,2 \pm 1,01$. Es ergab sich demnach keine statistisch signifikante Änderung zwischen beiden

Zeitpunkten ($P = 0,722$, Wilcoxon-Test, siehe Abbildung 31). In der Versuchsgruppe betrug die Steigerung des RPP nach NA-Applikation zunächst $3,7 \pm 1,14$, nach Microbeam-Exposition kam es zu einem Anstieg um den Faktor $2,9 \pm 0,85$. Auch diese Änderung war nicht signifikant ($P = 0,499$, Wilcoxon-Test). In der Versuchsgruppe fiel die durch NA bewirkte Steigerung des RPP nach Microbeam-Exposition geringer aus als vorher, während sie hingegen in der Kontrollgruppe zunahm.

Es zeigte sich jedoch weder vor ($P = 0,785$, Mann-Whitney-U-Test), noch nach ($P = 0,415$, Mann-Whitney-U-Test) Microbeam- bzw. Sham-Bestrahlung ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen.

Die Bestrahlung mit 400 Gy Microbeam führte zu keinen signifikanten Veränderungen des RPP nach NA-Stimulation. Es kam jedoch zu einer deutlichen Differenz der NA-Antwort beider Gruppen nach erfolgter Bestrahlung. Möglicherweise lag hier ein nicht signifikanter Einfluss der Microbeam-Exposition auf die Anpassungsfähigkeit der Herzen vor.

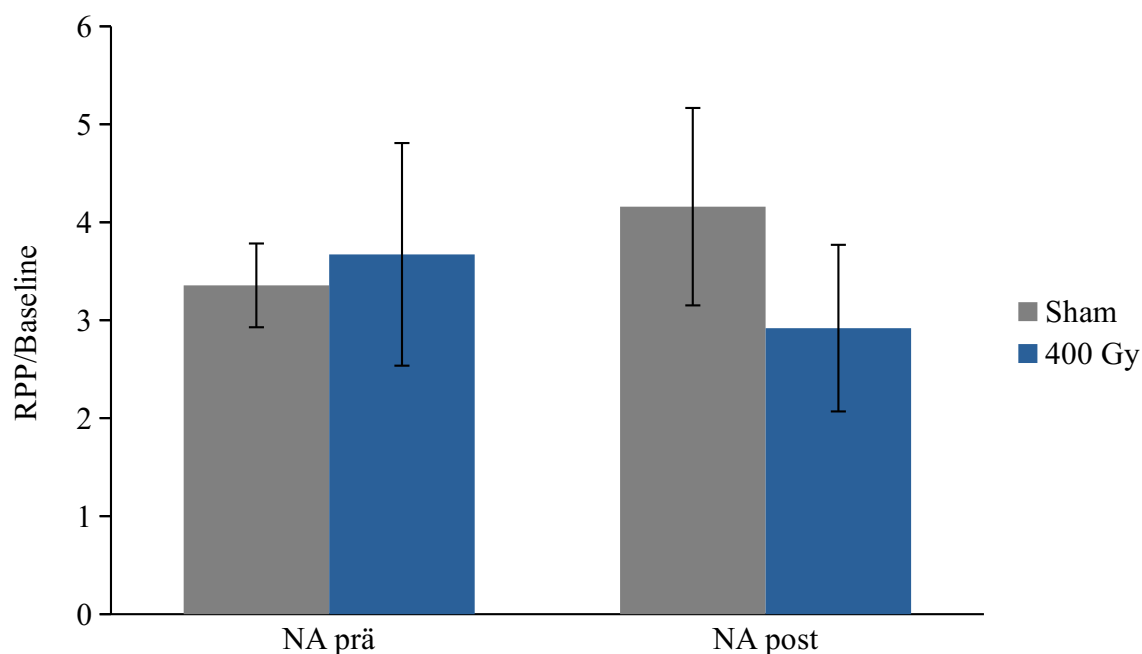


Abbildung 31: NA-Effekt auf das RPP vor und nach Microbeam-Exposition

Dargestellt ist der Effekt von $NA\ 10^{-5}\text{ mol/l}$ auf das RPP zu jeweils einem Zeitpunkt vor und nach Microbeam-Bestrahlung. Betrachtet wurden Versuchs- ($n=7$) und Kontrollgruppe (Sham, $n=11$). Die Werte wurden ins Verhältnis zu einem Ausgangswert unmittelbar vor jeder NA-Applikation gesetzt. In keiner der Gruppen kam es zu einer signifikanten Änderung zwischen den beiden betrachteten Zeitpunkten (Wilcoxon-Test). Auch untereinander unterschieden sich beide Gruppen nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test).

3.5 Untersuchung des Auftretens von Extrasystolen im Versuchsverlauf

Zur Beurteilung neu aufgetretener Arrhythmien erfolgte die Quantifizierung von Extrasystolen (ES) über die gesamte Versuchsdauer. Hierbei wurde unterschieden in singuläre ES, Couplets, Salven und Bigemini. Ein vorzeitig einfallender Herzschlag, der außerhalb des normalen Herzrhythmus auftritt, wird als Extrasystole bezeichnet. Couplets liegen vor, wenn auf eine normale Herzaktion zwei ES folgen. Treten drei oder mehr ES unmittelbar hintereinander auf, werden diese als Salve bezeichnet. Ein Wechsel zwischen normalen Herzschlägen und ES wird Bigeminus genannt. Eine beispielhafte Darstellung der erfassten Arten von ES geben die Abbildungen 32-35. Es wurde keine Unterscheidung zwischen ventrikulären und supraventrikulären ES vorgenommen, unter anderem da die Vorhoferregung im EKG nicht immer sicher abzugrenzen war.

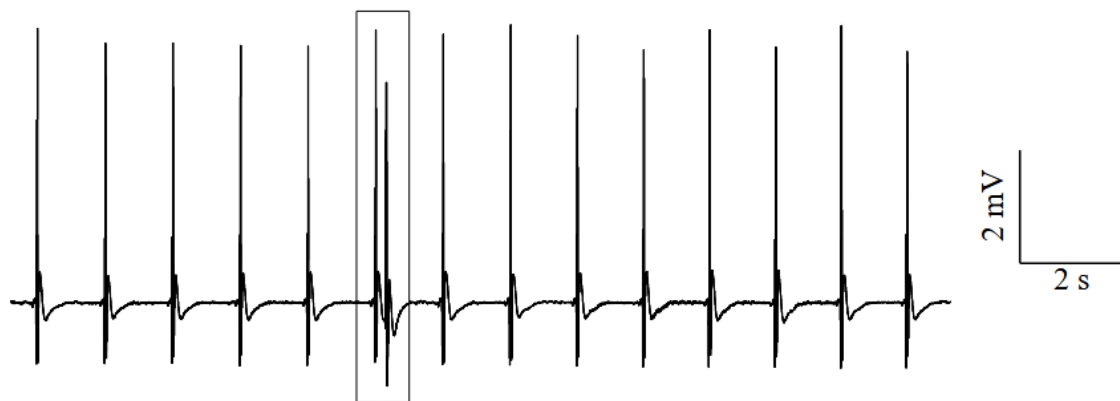


Abbildung 32: Singuläre ES

Dargestellt ist ein ~20-sekündiger Ausschnitt aus einem EKG. Der Rahmen markiert eine singuläre Extrasystole.



Abbildung 33: Couplet

Dargestellt ist ein ~20-sekündiger Ausschnitt aus einem EKG. Markiert ist ein Couplet; eine normale Herzaktion auf welche zwei ES folgen.

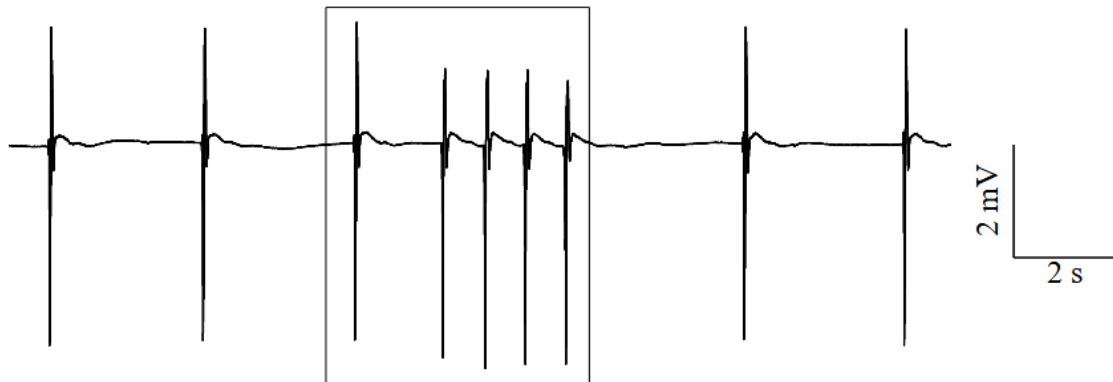


Abbildung 34: Salve

Dargestellt ist ein ~20-sekündiger Ausschnitt aus einem EKG. Markiert ist eine Salve; auf eine normale Herzaktion folgen dabei drei oder mehr ES.

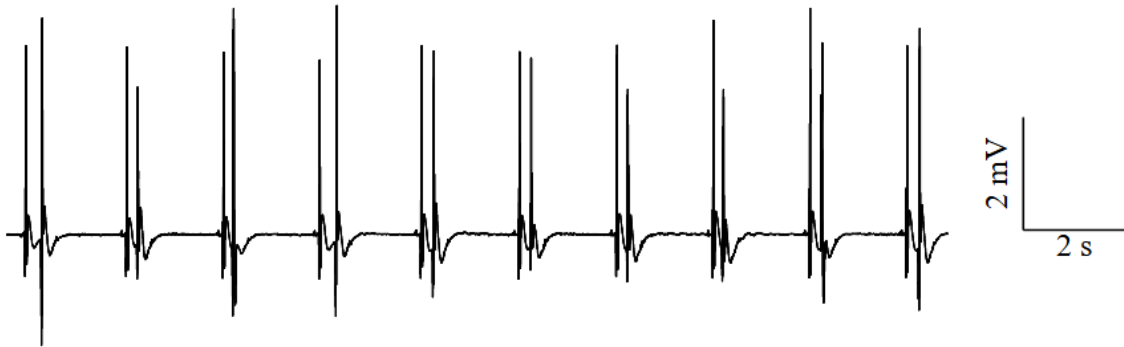


Abbildung 35: Bigeminus

Dargestellt ist ein ~20-sekündiger Ausschnitt aus einem EKG. Es ist ein Bigeminus zu erkennen: auf jede normale Herzaktion folgt eine ES.

Diese Aufschlüsselung erfolgte je 5 min Versuchsdauer für alle untersuchten Organe. Eine beispielhafte Darstellung des Anteils der einzelnen Kategorien an der Gesamtanzahl an Extrasystolen für ein einzelnes Organ zeigt Abbildung 36.

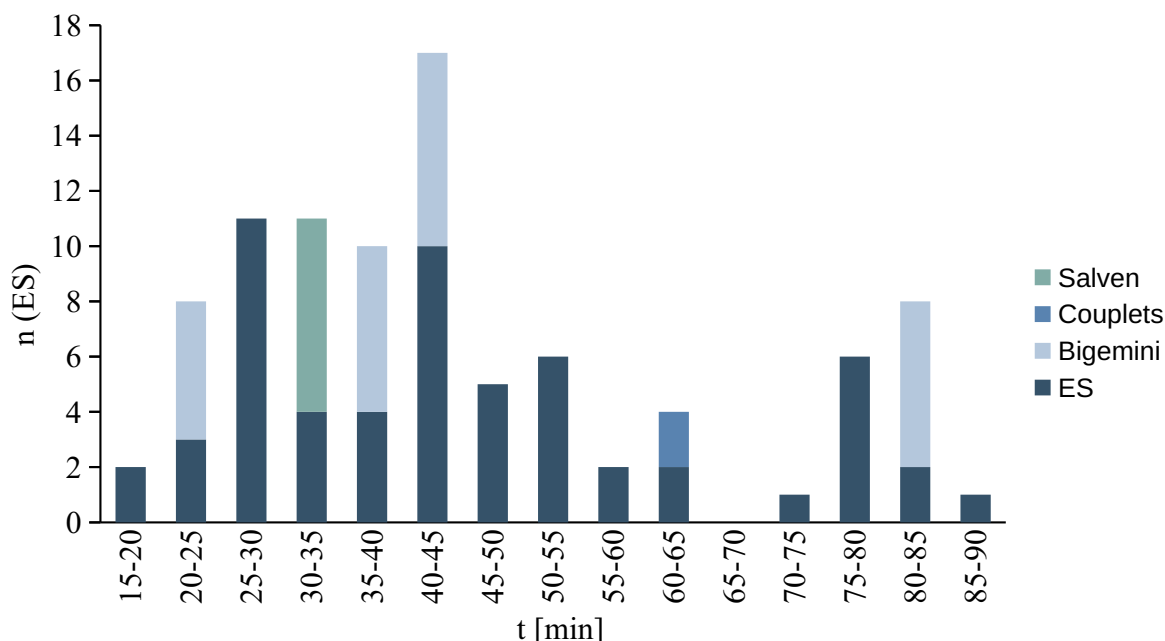


Abbildung 36: Anzahl ES je 5 min Versuchsdauer am Beispiel eines bestrahlten Herzens

Dargestellt ist exemplarisch ein Herz aus der Versuchsgruppe. Es wurde die absolute Anzahl an einfachen ES (dunkelblau), Couplets (blau), Salven (hellblau) und Bigemini (türkis) erhoben und in je 5-minütige Abschnitte zusammengefasst. Die Dokumentation beginnt nach Ende der 15-minütigen Äquilibrationphase. Dargestellt ist die gesamte Anzahl an ES, ein Couplet wird im Diagramm beispielsweise als zwei ES dargestellt, bei einer Salve geht die Anzahl der auf den regulären Herzschlag folgenden ES in die Grafik ein. Die Bestrahlung erfolgte nach ~35 min. Es zeigte sich ein vermehrtes Auftreten von ES im Zeitfenster nach der Bestrahlung (40-45 min), danach kam es wieder zu einem Abfall.

Die Abbildungen 37 und 38 zeigen eine gemittelte Darstellung der aufgetretenen ES für die Kontroll- und Versuchsgruppe. Die Bestrahlung erfolgte nach ~35 min Versuchsdauer. In der Versuchsgruppe ließ sich ein vermehrtes Auftreten von ES im Zeitfenster von 40-45 min feststellen. Diese Veränderung war statistisch signifikant gegenüber dem 30-35 min Intervall, unmittelbar vor Bestrahlung ($P = 0,043$, Wilcoxon-Test). Ab 45 min sank die Anzahl der ES wieder. Es kam also unmittelbar nach Mikrostrahl-Exposition zu einem vermehrten Auftreten von Arrhythmien.

Beide Gruppen zeigten ein im Versuchsverlauf erhöhtes Auftreten von ES zum Versuchsbeginn, im Zeitfenster von 15-20 min. Möglicherweise war dies eine Folge der Behandlung mit kardiopleger Lösung vor Versuchsbeginn.

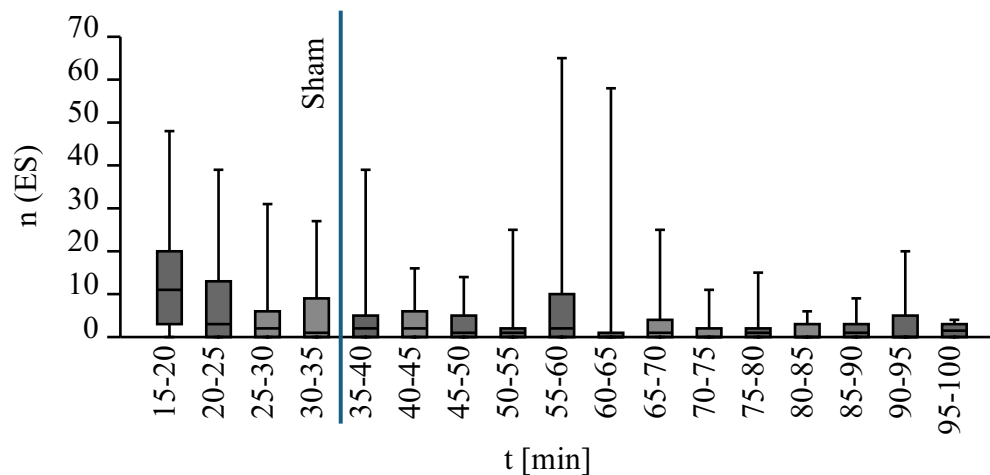


Abbildung 37: Auftreten von ES im Versuchsverlauf, Kontrollgruppe

Dargestellt ist die Gesamtanzahl von ES für die Kontrollgruppe (n=11). Es erfolgte eine Zusammenfassung in je 5-minütige Abschnitte. Die Dokumentation beginnt nach Ende der 15-minütigen Äquilibrationphase. Nach einer leichten Erhöhung des Medians zu Versuchsbeginn, insbesondere im Zeitabschnitt von 15-20 min, blieb das Auftreten von Extrasystolen für die Kontrollgruppe konstant niedrig.

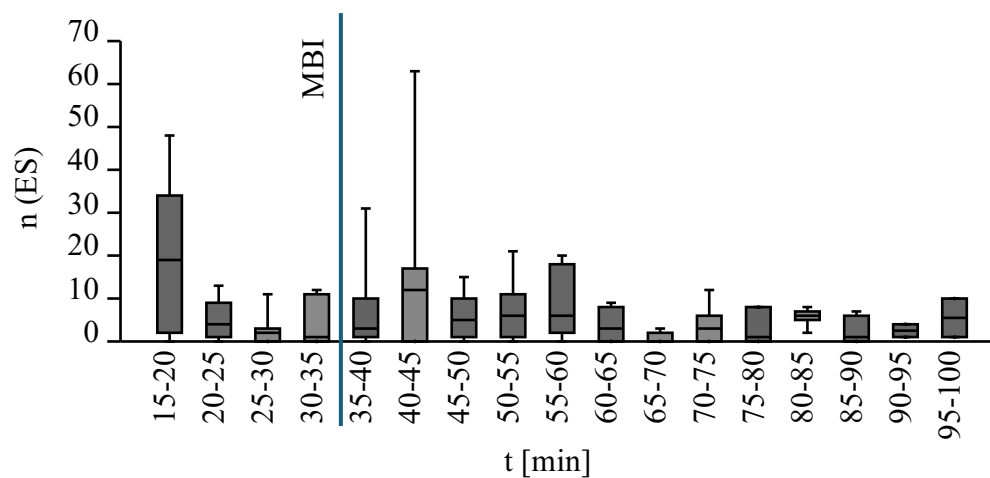


Abbildung 38: Auftreten von ES im Versuchsverlauf, Versuchsgruppe

Dargestellt ist die Gesamtanzahl von ES für die Versuchsgruppe (n=7). Es erfolgte eine Zusammenfassung in je 5-minütige Abschnitte. Die Dokumentation beginnt nach Ende der 15-minütigen Äquilibrationphase. Die Microbeam-Bestrahlung (MBI) erfolgte nach ~35 min. Neben einer leichten Erhöhung des Medians zu Versuchsbeginn, insbesondere im Zeitabschnitt von 15-20 min, war ein signifikanter Anstieg nach 40 min zu erkennen ($P = 0,043$, Wilcoxon-Test). Ab 45 min kam es wieder zu einem Abfall.

4 Diskussion

4.1 Allgemeiner Versuchsaufbau

Es konnten bereits in verschiedenen Studien die Wirksamkeit von Microbeam-Bestrahlung auf Tumoren der Lunge sowie deren Auswirkungen auf das gesunde Lungengewebe untersucht werden:

Subramanian et al. untersuchten die Verzögerung des Tumorwachstums eines humanen NSCLC in einem in vivo Mausmodell. Hierbei zeigte die Microbeam-Bestrahlung mit einer Strahlbreite von 50 μm und einem Strahlenabstand von 400 μm die größte Wachstumsverzögerung gegenüber Minibeam- (Strahlenbreite 500 μm , Strahlenabstand 2000 μm) und Broadbeam-Bestrahlung (Subramanian et al, 2025).

Eine Studie von Trapetti et al. zeigte zwar keinen Überlebensvorteil in Microbeam-bestrahlten Mäusen mit Lungenkarzinom verglichen mit einer Broadbeam-bestrahlten Gruppe, jedoch eine geringere Tumorgroße. Des weiteren ließen sich in postmortem-Untersuchungen sechs Monate nach Bestrahlung keine Anzeichen einer Lungenfibrose für die Microbeam-Gruppe nachweisen (Trapetti et al., 2021).

In einer Studie von Wright et al. wurden FLASH-Microbeam- mit FLASH-Broadbeam-Bestrahlung verglichen und die Auswirkungen auf das gesunde Gewebe untersucht. Betrachtet wurde das Auftreten von Fibrosen, entzündlichen Veränderungen der Lunge sowie von Schäden an Bronchien und Gefäßen. Zusammenfassend konnten die Autoren feststellen, dass die Verträglichkeit der FLASH-Microbeam-Bestrahlung für das gesunde Lungengewebe um eine Größenordnung höher war, als die der FLASH-Broadbeam-Bestrahlung (Wright et al., 2021).

Auch Romano et al. konnten eine solche Schonung des Lungengewebes durch Microbeam-Bestrahlung nachweisen: in einer Studie an gesunden Ratten verglichen sie das Auftreten einer Lungenfibrose nach Microbeam- sowie nach Broadbeam-Bestrahlung. Es zeigte sich eine deutlich niedrigere Fibrose-Rate von unter 10% des untersuchten Lungenvolumens aller bestrahlten Organe für die Microbeam-Bestrahlung, während die Broadbeam-bestrahlten Organe eine Fibrose-Rate von 34% aufwies (Romano et al. 2022).

Nachdem somit bereits hinreichend belegt worden ist, dass die Bestrahlung der Lunge mit Microbeam Vorteile gegenüber der konventionellen Bestrahlung bietet, galt es nun die Toxizität auf das Herz als wichtigem *organ at risk* bei Bestrahlungen im Thoraxraum zu untersuchen. Um akute Schäden am Herzen auszuschließen, bevor Untersuchungen unter Einschluss des Herzens in vivo durchgeführt werden, wurde das Langendorff-Modell gewählt. Dieses bietet den Vorteil, den akuten und subakuten Verlauf während und innerhalb der ersten Stunde nach Bestrahlung am schlagenden Herzen betrachten zu können. Gleichzeitig ist es unkompliziert in der Handhabung und es kann eine hohe Reproduzierbarkeit der Daten erreicht werden. Durch den vollständigen Ausschluss systemischer Einwirkungen auf das isolierte Herz ist zwar eine ungestörte Betrachtung der Wirkung auf das Organ möglich, jedoch wird der physiologische Zustand durch dieses Modell nicht genau wiedergegeben, was eine Einschränkung für die Übertragbarkeit darstellt. Mögliche Verletzungen des Herzens während der Organentnahme oder Präparation, oder die Entwicklung eines hypoxischen Gewebes Schadens durch eine zu lange Zeitspanne bis zum Perfusionsbeginn können zu Störungen des Versuchsablaufes führen. Durch die retrograde Perfusion kann es, insbesondere bei hohem Perfusionsdruck, zur Aortenklappeninsuffizienz kommen, was die koronare Perfusion beeinträchtigen würde. Auch eine Schädigung des Koronarendothels sowie die Entstehung eines Gewebeödems sind mögliche Komplikationen, welche durch die niedrigere Viskosität und einen geringeren kolloidosmotischen Druck kristalloider Perfusionslösungen im Vergleich zu Blut bedingt sind (Dhein, 2005, Skrzypiec-Spring, 2007).

Neben den logistischen und ökonomischen Vorteilen, welche die Verwendung von Rattenherzen für die Versuche bietet, weisen die kardiale Erregung, Kontraktion und Relaxation der Ratte große Ähnlichkeit zum menschlichen Herzen auf. Nachteile des Rattenmodells sind die Unterschiede in der Herzmorphologie sowie im EKG. Dies geht mit einer eingeschränkten Übertragbarkeit der Versuchsergebnisse auf den Menschen einher (Milani-Nejad und Janssen, 2013).

Obwohl das EKG der Ratte dem humanen in vielen wesentlichen Punkten ähnelt, gibt es doch einige relevante Unterschiede. So ist die Q-Zacke in der Regel nur sehr schwach ausgeprägt und im EKG meist nicht zu detektieren. Die ST-Strecke der Ratte ist mit nur ~10-15 ms wesentlich kürzer als beim Menschen, wo sie normalerweise 80-120 ms beträgt.

Zusätzlich steigt sie häufig aus der S-Zacke auf und ist somit nur selten im EKG abzugrenzen. Dies erschwert die Beurteilung von ST-Veränderungen im Ratten-EKG. Im verwendeten bipolaren EKG war zusätzlich die P-Welle oft nicht sicher zu bestimmen. Die Länge der gemessenen elektrokardiografische Parameter ist bei Ratten wesentlich von der gewählten Narkose abhängig. In Tabelle 13 sind wesentliche elektrokardiografische Parameter für Ratte und Mensch aufgeführt (Konopelski und Ufnal, 2016, Werth und Wink, 1967).

Tabelle 13: Unterschiede charakteristischer EKG-Parameter zwischen Ratte und Mensch

Parameter	Ratte	Mensch
Herzfrequenz	$> 300 \text{ min}^{-1}$	$60\text{-}80 \text{ min}^{-1}$
P-Welle	20 ms	$\leq 110 \text{ ms}$
PQ-Zeit	39-78 ms	120-220 ms
QRS-Komplex	14-28 ms	$\leq 100 \text{ ms}$
ST-Strecke	10-15 ms	80-120 ms
QT-Intervall	57-95 ms	350-440 ms

Die Herzfrequenz von Wistar-Ratten liegt mit über 300 Schlägen pro Minute deutlich über der normalen menschlichen Herzfrequenz (Meller et al., 2011). Dem wurde durch eine Abkühlung der Herzen auf Raumtemperatur entgegengewirkt. So konnte ein Frequenzbereich von $60\text{-}180 \text{ min}^{-1}$ erreicht werden, welcher mit der physiologischen Herzfrequenz des Menschen vereinbar ist (Lange et al., 2022). Es wurden weibliche Wistar-Ratten im Alter von 12-15 Wochen für die Versuche gewählt, da bei den im Vergleich zu Männchen kleineren Herzen die Präparation, sowie das Aufziehen der Aorta auf die Kanüle besser durchführbar war.

4.2 Wahl von Versuchsdauer, NA- sowie Microbeam-Dosis

In Vorversuchen zur Etablierung der Methode zeigte sich ein signifikanter Abfall der ΔLVP ab 180 min Versuchsdauer. Um die Stabilität der kardialen Parameter für die Dauer der Versuche sicherzustellen, wurde daher eine Versuchsdauer von 100 min festgelegt. Allerdings lassen sich in so kurzer Zeit nur sehr akut auftretende Veränderungen am Herzen feststellen.

Für die Betrachtung zu erwartender langfristiger Veränderungen wie Herzinsuffizienz, strahleninduzierter KHK oder Fibrosierungen im Bereich der Aorten- und Mitralklappe (Merzenich et al., 2018), wären weitere Studien nötig.

Zur Ermittlung der funktionellen Herzreserve erfolgte die Gabe von NA. Die verwendete Dosis von 10^{-5} mol/l zeigte in Versuchen zur Dosisfindung die größten Auswirkungen auf die kardialen Parameter. Diese Dosis ist jedoch um ein Vielfaches höher als der physiologische NA-Plasmaspiegel, welcher für den Menschen bei 100-450 pg/ml, entsprechend $< 2,7 \times 10^{-9}$ mol/l, liegt (Nonoguchi et al., 2021). Bei der Behandlung kritisch erkrankter Patientinnen und Patienten mit relevanter Hypotonie erfolgt die periphere Gabe von 10-20 µg NA (Fandler und Böhm, 2023), entsprechend einem Serumspiegel von ca. 2×10^{-8} mol/l. Wie in Abb. 16 dargestellt, unterscheidet sich die Wirkung einer Dosis von 10^{-8} mol/l wesentlich von der verwendeten NA-Dosis von 10^{-5} mol/l.

Eine NA-Stimulation mit 10^{-5} mol/l führt zu einer Veränderung der kardialen Parameter, welche durch physiologische NA-Dosen nicht erreicht werden kann. Es ist also wahrscheinlich, dass trotz beobachteter Einschränkungen der NA-Antwort auf diese hohen Versuchsdosen die NA-Antwort auf die physiologische NA-Ausschüttung, z.B. im Rahmen körperlicher Aktivität, nicht wesentlich eingeschränkt sein wird (Lange et al., 2022).

Es wurde eine Strahlendosis von 400 Gy Microbeam gewählt. Diese Dosis wurde bereits in Tierversuchen zum Lungenkarzinom erfolgreich getestet (Schültke et al., 2021, Trapetti et al., 2021). Zum Vergleich werden in der Therapie des inoperablen NSCLC Stadium III A-C Gesamtdosen von 60-70 Gy Fullbeam verwendet, welche in Einzeldosen von 1,8-2 Gy appliziert werden (DGP und DKG, 2024). Einen Überblick über Gesamtstrahlendosen verschiedener Radiotherapieprotokolle, bei welchen eine Bestrahlung im Thoraxraum stattfindet, gibt Tabelle 14.

Tabelle 14: Verschreibungsdosen verschiedener Radiotherapieprotokolle

DGGG und DKG, 2021, DGHO, 2022, DGP und DKG, 2024, DGVS, 2023

Tumorart	Gesamtstrahlendosis
NSCLC , definitive Radiochemotherapie	60-70 Gy
Mammakarzinom	50 Gy
Hodgkin-Lymphom	Frühes Stadium: 20 Gy intermediäres und fortgeschrittenes Stadium: 30 Gy
Ösophagus-Karzinom , definitive Radiochemotherapie	50,4 Gy

Bei den in dieser Arbeit beschriebenen Versuchen lag das gesamte Herz im Bestrahlungsfeld. Im klinischen Alltag würde das Herz bei Bestrahlungen des Thorax weitestmöglich ausgespart werden und so auch nur einer bedeutend geringeren Strahlendosis ausgesetzt sein (Schültke et al., 2022). Es kann also davon ausgegangen werden, dass die Strahlenfolgen bei einer Mikrostrahltherapie im klinischen Setting geringer ausfallen würden als bei dem gewählten Versuchsmodell.

Die Schonung des gesunden Gewebes bei der Microbeam-Bestrahlung ist, neben der hohen Dosisrate mit welcher die Strahlung verabreicht wird (FLASH-Effekt), vermutlich durch das Strahlenprofil bedingt. Dieses ist gekennzeichnet durch eine inhomogene geometrische Verteilung von Hoch- und Niedrigdosiszonen, zwischen welchen ein steiler Dosisabfall erfolgt. Durch Bewegung des Organs kann es zu einem Smearing kommen, was höhere Taldosen und somit ein höheres Risiko für Nebenwirkungen bedingen kann. Die Senkung der Herzfrequenz von $> 300 \text{ min}^{-1}$ auf einen Zielbereich von $60\text{-}180 \text{ min}^{-1}$ führte zu einer längeren Dauer der einzelnen Herzaktionen und damit zu einer zusätzlichen Reduktion des Risikos eines Smearings durch Organbewegung (Schültke et al., 2022).

Für die Versuche dieser Arbeit wurde eine Strahlbreite von $50 \text{ }\mu\text{m}$ bei einem Strahlenabstand von $400 \text{ }\mu\text{m}$ gewählt. Diese Parameter zeigten in verschiedenen Studien eine gute Tumorkontrolle sowie eine geringe Rate an strahleninduzierter Fibrose im Vergleich zu anderen Bestrahlungsprotokollen (Subramanian et al., 2025, Wright et al., 2021).

Es wurden zwei Einzelversuche mit 4000 Gy Microbeam durchgeführt. Hier konnten Arrhythmien beobachtet werden, welche jedoch spontan wieder sistierten. Es kam nicht zum Auftreten von Asystolien (Schültke et al., 2022). Diese Einzelversuche sind nicht repräsentativ, es zeigte sich jedoch, dass auch eine Exposition gegenüber Extremdosen von den Herzen toleriert wurde.

Die Synchrotron-generierte Microbeam-Bestrahlung ist örtlich an das Vorhandensein eines Synchrotrons der dritten Generation gebunden. Dies stellt eine deutliche Einschränkung dar, wenn es darum geht, die Mikrostrahltherapie in ein klinisches Setting zu überführen, da sie nur an wenigen Orten verfügbar und dementsprechend nur einer geringen Patientenzahl zugänglich wäre. In den letzten Jahren wurden jedoch kompaktere Quellen für die Generierung von Mikrostrahlen erforscht, welche einfacher in den Klinikalltag integrierbar wären. Eine Methode stellt die Verwendung von Linienfokus-Röntgenröhren dar (Winter et al., 2020).

Ein weiteres Hindernis bei der Übertragung der Mikrostrahltherapie in den klinischen Alltag stellt das Fehlen einheitlicher Bestrahlungsprotokolle für die Microbeam-Bestrahlung dar. So ist nicht klar definiert, ob die Microbeam-Bestrahlung einen FLASH-Effekt mit einschließt und wie die Abgrenzung zur Minibeam-Bestrahlung erfolgt. Die definierenden Parameter des Mikrostrahls wie Strahlenbreite, Strahlenabstand, Dosis und Dosisrate, variieren in verschiedenen Studien, wodurch deren Vergleichbarkeit beeinträchtigt wird. Die Einführung standardisierter dosimetrischer Protokolle ist nötig, um Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit zu gewährleisten und die Möglichkeit einer klinischen Anwendung voranzutreiben (Reynolds und Marignol, 2025).

Logistisch bedingt fanden die Versuche an zwei unterschiedlichen Orten statt: Die Microbeam-Bestrahlung erfolgte am ANSTO in Melbourne, die Kontrollversuche hingegen wurden am Oscar-Langendorff-Institut für Physiologie in Rostock durchgeführt. Grund hierfür war die zeitliche Begrenzung der Versuche an der medizinischen Beamline am ANSTO, weshalb sich hier auf die Durchführung möglichst vieler Microbeam-Versuche konzentriert wurde. Ein Vergleich zwischen am ANSTO durchgeführten Kontrollversuchen (n=2) und Kontrollen aus Rostock (n=11) zeigte keine Unterschiede zwischen den Gruppen, weshalb eine Fusion der Daten möglich war. Trotz allem bleibt dies eine Limitation der

Studie, was sich z.B. in Gruppenunterschieden in der ΔLVP (siehe Kapitel 3.2.2) niederschlägt.

4.3 Kardiale Parameter

4.3.1 Herzfrequenz

Es zeigte sich in beiden Gruppen ein nicht signifikanter Anstieg der HF im Versuchsverlauf. Mögliche Ursache hierfür könnte eine noch anhaltende NA-Wirkung zum Versuchsende sein. Es ist auch denkbar, dass der Ausgangszeitpunkt 20 min nach Ende der Kardioplegie zu früh gewählt war und die Herzen noch keine stabile HF erreicht hatten. Insgesamt zeigte sich in der Kontrollgruppe für den gesamten Versuchsverlauf eine etwas höhere HF als in der Versuchsgruppe. Dies lässt sich eventuell auf die oben erwähnten örtlichen Unterschiede bei der Versuchsdurchführung zurückführen. In beiden Gruppen fiel der Anstieg der HF bei der zweiten NA-Gabe geringer aus als bei der ersten. Dieser Unterschied war nicht signifikant. Auch hier könnte der Grund eine falsch-niedrige erste Baseline durch ungenügende Zeit vor dem Aufzeichnungsbeginn sein. Möglicherweise kam es auch zu einer Erschöpfung der ex-vivo schlagenden Herzen. Insgesamt zeigte die Microbeam-Bestrahlung keine statistisch signifikanten Auswirkungen auf die HF oder auf die NA-Antwort.

4.3.2 Herzratenvariabilität

Aus den gemessenen Daten wurde die HRV bestimmt. In vivo dient sie als Maß für die Anpassung der Herzfrequenz an die Aktivität des autonomen Nervensystems (Samuel et al., 2025). Da diese Einflüsse am isolierten Herzen nicht vorliegen, kann die HRV hier als Marker für Arrhythmien herangezogen werden. Ziel dieser Betrachtung war, eine Schädigung des kardialen Schrittmachersystems sowie das Auftreten von supraventrikulären und ventrikulären Arrhythmien durch die Microbeam-Bestrahlung auszuschließen. Während der Bestrahlung sah man eine Zunahme der HRV, welche mit einer höheren Anzahl an Arrhythmien während dieses Zeitraums korrelierte. Diese Zunahme war jedoch nicht signifikant gegenüber dem Ausgangswert, außerdem lag für diesen Zeitpunkt eine große Streuung der Daten vor. Der Anstieg war also möglicherweise nicht repräsentativ für die ganze Gruppe. Im weiteren Verlauf fiel die HRV wieder ab, es kam also nicht zu länger andauernden Rhythmusstörungen. Weitere Risiken der Bestrahlung, wie z.B. ein Sick-Sinus-Syndrom (Appell et al., 2019) konnten mit dem vorliegenden Versuchsaufbau nicht

untersucht werden. Aufgrund der unterschiedlichen kardialen Elektrophysiologie von Ratten und Menschen ist die Übertragbarkeit der bei murinen Herzen beobachteten Arrhythmien auf den Menschen eingeschränkt (Kaese et al., 2013).

4.3.3 Extrasystolen

Um einen vollständigeren Überblick über aufgetretene Arrhythmien zu erhalten, erfolgte die Erfassung von ES über den gesamten Versuchsverlauf. Ventrikuläre ES gelten am gesunden Herzen als harmlos, können jedoch bei vorbestehenden strukturellen Herzerkrankungen lebensbedrohliche Arrhythmien, wie z.B. Kammerflimmern, auslösen und sind mit einem erhöhten Risiko des plötzlichen Herztods verbunden (Goronek et al., 2019, Ip und Lerman, 2018, Marrakchi et al., 2023). In der Versuchsgruppe zeigte sich ein signifikanter Anstieg von ES unmittelbar nach Bestrahlung, welcher im weiteren Verlauf rückläufig war (siehe Abbildung 38). Es schien also durch die Microbeam-Exposition zu einer vorübergehenden Häufung von ES zu kommen. Zusätzlich war in beiden Gruppen ein vermehrtes Auftreten von ES zu Versuchsbeginn zu erkennen. Dies ist möglicherweise auf ein noch nicht vollständiges Ausspülen der kardioplegen Lösung aus den Herzen zurückzuführen. Eine genaue Differenzierung zwischen supraventrikulären und ventrikulären ES erfolgte nicht, unter anderem, weil die Darstellung der Vorhoferregung im verwendeten bipolaren EKG nicht sicher möglich war.

4.3.4 Linksventrikuläre Druckentwicklung

Für die ΔLVP zeigte sich ein nicht signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe für die gesamte Versuchsdauer. Es zeigten sich für die Kontrollgruppe deutlich niedrigere Werte als für die Versuchsgruppe. Grund hierfür war vermutlich die bereits oben erwähnte Durchführung der Versuche an unterschiedlichen Orten. Hierdurch kam es möglicherweise zu Unterschieden bei der Befüllung des Druckballons oder bei der Kalibrierung des Drucksensors. Auch eine mit der Zeit zunehmende Porosität und nachlassende Flexibilität des Latexballons kann zu einer Verfälschung der Daten geführt haben. In der Versuchsgruppe fiel die ΔLVP im Versuchsverlauf minimal stärker ab als in der Kontrollgruppe, was für eine geringere Kontraktionsfähigkeit der Herzen nach Bestrahlung sprechen könnte. Auch bei der NA-Stimulation fiel in der Versuchsgruppe der Anstieg der ΔLVP bei der zweiten NA-Gabe etwas geringer aus. Möglicherweise bedeutet dies eine

verringerte Anpassungsfähigkeit nach Bestrahlung. Die beobachteten Unterschiede waren jedoch gering und nicht statistisch signifikant. Außerdem ist fraglich, ob eine veränderte Reaktion auf diese unphysiologisch hohe NA-Dosis eine spürbare Veränderung der Leistungsfähigkeit zur Folge hätte. In Anbetracht der erhobenen Daten ist es unwahrscheinlich, dass es in Folge der Microbeam-Bestrahlung zu einer akuten Schädigung des Myokards kam.

4.3.5 Rate Pressure Product

Als weiteres Maß für die Kontraktilität sowie für die physikalische Herzarbeit wurde das RPP als Produkt aus HF und Δ LVP berechnet. Hier zeigte sich in der Versuchsgruppe 20 min nach Microbeam-Exposition ein signifikanter Abfall des RPP gegenüber des Ausgangswertes, bereits 40 min nach Bestrahlung lag jedoch kein signifikanter Unterschied zum Ausgangszeitpunkt mehr vor. Zum Versuchsende lag das RPP in der Versuchsgruppe lediglich 1,6 % unterhalb des Ausgangswertes. In der Kontrollgruppe stieg das RPP hingegen im Versuchsverlauf leicht an. Die NA-Antwort fiel in der Kontrollgruppe zu Ende des Versuches stärker aus als zu Beginn, während sie in der Versuchsgruppe abnahm, jedoch war diese Entwicklung nicht statistisch signifikant. Eine akute Minderung der Leistungsfähigkeit der Herzen in Folge der Microbeam-Exposition ist denkbar. Es kam jedoch zu einer nahezu vollständigen Erholung im Verlauf. Die Verwertbarkeit des RPP als Maß für die Herzarbeit und den Sauerstoffverbrauch muriner Herzen wird auf Grund der sich vom Menschen unterscheidenden Kraft-Frequenz-Beziehung in Frage gestellt (Aksentijević et al., 2016). Somit liegt möglicherweise eine eingeschränkte Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf den Menschen vor.

4.3.6 Koronarer Widerstand

Bei konstantem Fluss konnte der Druck in der Aorta als Surrogatmarker für den CR eingesetzt werden. Bei der Messung des Aortendruckes ergab sich die in Abbildung 24 dargestellte Druckkurve. Hier erkennt man einen Anstieg des Druckes über je drei bis fünf Ausschläge, welche zeitlich zum Erreichen der Maximaldrücke im linken Ventrikel passen, gefolgt von einem Druckabfall etwa auf das Ausgangsniveau. Die ansteigenden Ausschläge ergaben sich durch den Druckanstieg in den Koronararterien während der

Ventrikelkontraktion. Die langsame Druckzunahme sowie der Druckabfall nach jedem Zyklus ergaben sich durch die Aktivität der Schlauchpumpe.

In der Kontrollgruppe kam es im Versuchsverlauf zu einem Abfall des CR. Möglicherweise war dies bedingt durch zu frühen Versuchsbeginn und dadurch falsch hohe Werte während der Baseline, oder durch NA-Einfluss während der Messwerte zum Versuchsende, da die NA-Gabe zu einem Abfall des CR führte. In der Versuchsgruppe blieben die Werte während der gesamten Versuchsdauer stabil. Es gab keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Im NA-Stimulationsversuch erfolgte in der Kontrollgruppe zunächst ein leichter Abfall des CR, bei der zweiten NA-Gabe blieb der CR nahezu unverändert. In der Versuchsgruppe blieb der CR nach beiden NA-Gaben nahezu unverändert. Die Microbeam-Bestrahlung hatte keine akuten Auswirkungen auf die koronare Perfusion. Es wären allerdings weitere Versuche zur Untersuchung von Langzeitfolgen, wie zum Beispiel dem Auftreten einer KHK, notwendig.

4.4 Einschränkungen der Arbeit

Durch die kurze Versuchsdauer war lediglich die Untersuchung akuter Veränderungen an den Herzen möglich. Bei den betrachteten signifikanten und nicht signifikanten Veränderungen bleibt eine Betrachtung über einen längeren Zeitraum notwendig, um ein eventuelles Fortschreiten oder eine Rückbildung der Veränderungen zu kontrollieren. Langfristige Komplikationen konnten mit dem vorliegenden Versuchsaufbau nicht betrachtet werden. Auch hier wäre die Durchführung von in vivo Versuchen über einen längeren Zeitraum nötig, um das Auftreten von Komplikationen wie zum Beispiel Perikarditis, Aortensklerose oder Ventrikelfibrose mit resultierender Herzinsuffizienz zu untersuchen. Aus Studien mit konventioneller Bestrahlung wissen wir, dass selbst akute entzündliche Reaktionen, welche als erste Antwort auf strahleninduzierte Endothelschäden am Herzen ablaufen, erst in den ersten Stunden bis Tagen nach Bestrahlung auftreten (Sárközy et al., 2021). Daher ist es möglich, dass die Auswirkung der Mikrostrahl-Exposition auf das Herz mit den eigenen Versuchen unterschätzt dargestellt wird.

Die eingeschränkte Gruppengröße, welche durch die kurze zur Verfügung stehende Zeit an der Beamline des ANSTO bedingt war, ist eine weitere Einschränkung der Arbeit. Jedoch gelang es, anhand der vorliegenden Daten schwerwiegende akute Schädigungen der Herzen

durch die Mikrostrahl-Exposition auszuschließen. Die erhobenen Daten rechtfertigen die Durchführung von in vivo Tierversuchen zu Bestrahlungen im Thoraxraum unter Einschluss des Herzens.

Des Weiteren wurde nur eine Dosis der Microbeam-Bestrahlung betrachtet. Weitere Versuche mit verschiedenen Strahlendosen und Bestrahlungsparametern, insbesondere auch ein direkter Vergleich zu einer dosisäquivalenten Fullbeam-Bestrahlung, sind notwendig.

Die Durchführung der Versuche an unterschiedlichen Orten hat möglicherweise zu Unterschieden bei der Datenerhebung geführt. Auch wenn ein Vergleich zwischen Kontrollversuchen aus Melbourne (n=2) und Rostock (n=11) keine signifikanten Unterschiede der Ergebnisse zeigte, stellt dies eine Einschränkung der Arbeit dar.

Für die Auswertung wurde jeweils ein nur kurzer Ausschnitt um die gewählten Zeitpunkte betrachtet. Die so erhobenen Daten sind also nicht repräsentativ für die Entwicklung über den gesamten Versuchsverlauf.

5 Zusammenfassung

Das Lungenkarzinom ist eine der häufigsten Krebserkrankungen weltweit und ursächlich für die meisten krebsassoziierten Todesfälle. Bei 77 % der Patientinnen und Patienten mit Lungenkarzinom ist eine Strahlentherapie indiziert. Diese kann schwerwiegende Strahlenfolgen an Lunge und Herz hervorrufen.

Die Microbeam-Bestrahlung gewinnt seit Jahren zunehmend an Bedeutung in der Krebsforschung. Neben einer guten Tumorkontrolle scheint sie eine geringere Rate an Nebenwirkungen zu haben, als die konventionelle Strahlentherapie. Erste in vivo Versuche zur Microbeam-Bestrahlung des Lungenkarzinoms an Ratten wurden bereits vorgenommen und erbrachten vielversprechende Ergebnisse.

Ziel dieser Arbeit war die Etablierung eines Tiermodells für die Untersuchung akuter Auswirkungen hoher Mikrostrahl-Dosen auf das Herz. Für diesen Zweck wurde das Langendorff-Modell gewählt.

Die Organe der Versuchsgruppe wurden mit 400 Gy Microbeam bei einer Strahlenbreite von 50 μm und einem Strahlenabstand von 400 μm bestrahlt und mit einer unbestrahlten Kontrollgruppe verglichen. Betrachtet wurde die erste Stunde nach Mikrostrahl-Exposition.

Es wurden die kardialen Parameter Herzfrequenz, linksventrikuläre Druckentwicklung, koronarer Widerstand, *Rate Pressure Product* sowie Herzratenvariabilität untersucht. Zusätzlich erfolgte eine Stimulation mit Noradrenalin zur Untersuchung der funktionellen Herzreserve. Um einen umfassenderen Eindruck zum Auftreten von Arrhythmien zu gewinnen, erfolgte die Quantifizierung von Extrasystolen über die gesamte Versuchsdauer.

In Versuchen zur Etablierung der Methode wurde eine ideale Versuchsdauer von 100 min ermittelt. Für diese Zeit ist mit stabilen kardialen Parametern zu rechnen. Weiterhin wurde eine Noradrenalin-Dosis von 10^{-5} mol/l als optimale Dosis für die Stimulationsversuche bestimmt, da für diese Dosis die deutlichsten Auswirkungen auf die kardialen Parameter zu erwarten waren.

Allein beim *Rate Pressure Product* kam es zu einer signifikanten Veränderung nach Mikrostrahl-Exposition, welche sich im Verlauf der postexpositionellen Überwachung jedoch wieder normalisierte. Es konnten keine weiteren statistisch signifikanten Änderungen der

kardialen Parameter innerhalb der ersten Stunde nach Mikrostrahl-Exposition beobachtet werden. Es ist also davon auszugehen, dass keine akuten Schäden am kardialen Schrittmachersystem auftraten, auch das Myokard und die koronare Perfusion schienen von der Bestrahlung nicht akut beeinflusst zu sein.

In der Versuchsgruppe zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Anzahl an Extrasystolen im Zeitintervall unmittelbar nach der Bestrahlung. Im weiteren Verlauf kam es wieder zu einer Normalisierung. Die Mikrostrahl-Exposition schien eine vorübergehende Häufung von Extrasystolen zur Folge zu haben.

Hinsichtlich der Noradrenalin-Stimulation zeigte sich für keinen der betrachteten Parameter eine signifikante Veränderung nach Microbeam-Bestrahlung. Die Anpassung des Herz-Kreislaufsystems an den Bedarf des Körpers, z.B. im Rahmen körperlicher Belastung, ist also wahrscheinlich auch nach Mikrostrahl-Exposition unverändert gegeben.

Eine Durchführung mittel- und langfristiger in vivo Tierstudien wäre ein geeigneter nächster Schritt, um kardiale Spätfolgen der Microbeam-Bestrahlung zu untersuchen und mit denen der konventionellen Strahlentherapie zu vergleichen. Insbesondere Strahlenfolgen wie Perikarditis, Herzinsuffizienz, koronarer Herzkrankheit oder Fibrosierungen der Aorten- und Mitralklappe sowie der Ventrikel sollten hier im Fokus stehen. Es ist möglich, dass aufgrund der Kürze der Versuchsdauer die Auswirkung der Mikrostrahltherapie auf die Herzen in dieser Arbeit unterschätzt dargestellt wird.

In Zusammenschau zeigte sich keine akute Toxizität der Mikrostrahl-Exposition auf das Herz. Hiermit belegt diese Arbeit, wie schon bereits vorangegangene Studien, eine gute Strahlentolerabilität des Gewebes für die Microbeam-Bestrahlung.

Thesen

1. Bestrahlungen im Thoraxraum, z.B. im Rahmen der Therapie eines Lungenkarzinoms, haben häufig schwerwiegende Strahlenfolgen an Lunge und Herz zur Folge. Diese stellen einen dosislimitierenden Faktor für die Radiotherapie dar.
2. Die Microbeam-Bestrahlung zeigte bereits in verschiedenen Versuchen eine gute Tumorkontrolle und scheint eine geringere Rate an Nebenwirkungen zu haben, als die konventionelle Strahlentherapie.
3. Das Langendorff-Modell ist ein geeignetes Modell, um akute Schäden am Herzen durch Exposition gegenüber hoher Mikrostrahl-Dosen ex vivo zu untersuchen. Dies ist notwendig, bevor in vivo Versuche unter Einschluss des Herzens durchgeführt werden können.
4. Für eine Versuchsdauer von 100 min ist mit stabilen kardialen Parametern zu rechnen. Nach Aufnahme der Baseline-Parameterwerte ergibt sich so eine Stunde Untersuchungszeit nach 400 Gy Mikrostrahl-Exposition bzw. Sham-Bestrahlung.
5. Es wurden die kardialen Parameter Herzfrequenz, linksventrikuläre Druckentwicklung, koronarer Widerstand, *Rate Pressure Product* sowie Herzratenvariabilität betrachtet. Zur Bestimmung der funktionellen Herzreserve erfolgte die Stimulation mit 10^{-5} mol/l Noradrenalin jeweils vor und nach Bestrahlung.
6. Nur das Rate Pressure Product zeigte eine signifikante Änderung nach Mikrostrahl-Exposition, welche sich im Versuchsverlauf nahezu vollständig wieder zurückbildete.
7. Es ließen sich keine weiteren statistisch signifikanten Änderungen der kardialen Parameter innerhalb der ersten Stunde nach Mikrostrahl-Exposition nachweisen. Es ist davon auszugehen, dass keine akuten Schäden am kardialen Schrittmachersystem auftraten. Das Myokard und die koronare Perfusion schienen von der Bestrahlung nicht akut beeinflusst zu sein.
8. Die Quantifizierung von Extrasystolen über die gesamte Versuchsdauer erfolgte, um einen umfassenderen Eindruck zum Auftreten von Arrhythmien zu gewinnen. Die

Mikrostrahl-Exposition schien eine vorübergehende Häufung von Extrasystolen zur Folge zu haben.

9. Nach Microbeam-Bestrahlung zeigte sich für keinen der betrachteten Parameter eine signifikante Veränderung der Noradrenalin-Antwort. Die Anpassungsfähigkeit des Herzens an Belastungssituationen ist also wahrscheinlich auch nach Mikrostrahl-Exposition unverändert gegeben.
10. Eine Durchführung mittel- und langfristiger in vivo Tierstudien wäre ein geeigneter nächster Schritt, um kardiale Spätfolgen der Mikrostrahl-Exposition zu untersuchen und mit denen der konventionellen Strahlentherapie zu vergleichen.

Literaturverzeichnis

1. **(Aksentijević et al., 2016)** Aksentijević, D., Lewis, H. R. und Shattock, M. J. (2016). Is rate-pressure product of any use in the isolated rat heart? Assessing cardiac 'effort' and oxygen consumption in the Langendorff-perfused heart. *Experimental Physiology*. 101(2):282-294.
2. **(Alberg et al., 2013)** Alberg, A. J., Brock, M. V., Ford, J. G., Samet, J. M. und Spivack, S. D. (2013). Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 143(5 Suppl):e1S–e29S.
3. **(Aldosary, 2024)** Aldosary, G. (2024). Four-Dimensional Computed Tomography (4DCT) in Radiation Oncology: A Practical Overview. *Current Radiology Reports*. 12(7):1-12.
4. **(Appell et al., 2019)** Appell, P. G., Rüssel, J. und Schlitt, A. (2019). Kardiotoxizität onkologischer Therapien (2): KHK, Vitien, Arrhythmien, Hypertonie und Thrombosen. *Deutsches Ärzteblatt*. 116(15):18.
5. **(Arimura et al., 2021)** Arimura, Z., Xi, Bao, Fang, M., Vargas, H. M. und Qu, Y. (2021). Validation of using cardioplegic solutions for preserving cardiac function in isolated rabbit heart assays. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 111:107082.
6. **(Borghaei et al., 2019)** Borghaei, H., Langer, C. J., Gadgeel, S., Papadimitrakopoulou, V. A., Patnaik, A., Powell, S. F., Gentzler, R. D., Martins, R. G., Stevenson, J. P., Jalal, S. I., Panwalker, A., Yang, J. C.-H., Gubens, M., Sequist, L. V., Awad, M. M., Fiore, J., Saraf, S., Keller, S. M. und Gandhi, L. (2019). 24-Month Overall Survival from KEYNOTE-021 Cohort G: Pemetrexed and Carboplatin with or without Pembrolizumab as First-Line Therapy for Advanced Nonsquamous Non-Small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 14(1):124-129.
7. **(Bouchet et al., 2010)** Bouchet, A., Lemasson, B., Le Duc, G., Maisin, C., Bräuer-Krisch, E., Siegbahn, E. A., Renaud, L., Khalil, E., Rémy, C., Poillot, C., Bravin, A., Laissue, J. A., Barbier, E. L. und Serduc, R. (2010). Preferential Effect of Synchrotron

- Microbeam Radiation Therapy on Intracerebral 9L Gliosarcoma Vascular Networks. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 78(5):1503-1512.
8. **(Bouchet et al., 2017)** Bouchet, A., Potez, M., Coquery, N., Rome, C., Lemasson, B., Bräuer-Krisch, E., Rémy, C., Laissue, J. A., Barbier, E. L., Djonov, V. und Serduc, R. (2017). Permeability of Brain Tumor Vessels Induced by Uniform or Spatially Microfractionated Synchrotron Radiation Therapies. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 98(5):1174-1182.
9. **(Darby et al., 2010)** Darby, S. C., Cutter, D. J., Boerma, M., Constine, L. S., Fajardo, L. F., Kodama, K., Mabuchi, K., Marks, L. B., Mettler, F. A., Pierce, L. J., Trott, K. R., Yeh, E. T. H., Shore, R. E. (2010). Radiation-Related Heart Disease: Current Knowledge and Future Prospects. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 76(3):656-665.
10. **(Daut, 2019)** Daut, J. (2019). Herzmechanik. In *Physiologie des Menschen*. S. 177-178. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg.
11. **(Delaney et al., 2003)** Delaney, G. P., Barton, M. B., Jacob, S., Jalaludin, B. (2003). A model for decision making for the use of radiotherapy in lung cancer. *The Lancet Oncology*. 4(2):120-128.
12. **(Delaney und Barton, 2015)** Delaney, G. P. und Barton, M. B. (2015). Evidence-based Estimates of the Demand for Radiotherapy. *Clinical Oncology*. 27(2):70-76.
13. **(Desai et al., 2014)** Desai, S., Kobayashi, A., Konishi, T., Oikawa, M. und Pandey, B. N. (2014). Damaging and protective bystander cross-talk between human lung cancer and normal cells after proton microbeam irradiation. *Mutation Research – Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 763-764:39-44.
14. **(DGHO, 2022)** Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO) (2022). S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Hodgkin Lymphoms bei erwachsenen Patienten. Version 3.2, Oktober 2022. https://register.awmf.org/assets/guidelines/018-029OLk_S3_Hodgkin-Lymphom_Erwachsene_Diagnostik_Therapie_Nachsorge_2022-10.pdf. Aufgerufen am 15.02.2025.

15. **(DGHO, 2023)** Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO) (2023). Onkopedia-Leitlinie Lungenkarzinom, kleinzellig (SCLC). <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/lungenkarzinom-kleinzellig-sclc/@@guideline/html/index.html#ID0EIAAG>. Aufgerufen am 02.02.2025.
16. **(DGHO, 2025)** Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO) (2025). Onkopedia-Leitlinie Lungenkarzinom, nicht kleinzellig (NSCLC). <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/lungenkarzinom-nicht-kleinzellig-nsclc/@@guideline/html/index.html#ID0EVNAC>. Aufgerufen am 02.02.2025.
17. **(DGGG und DKG, 2021)** Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) und Deutsche Krebsgesellschaft (DKG) (2021). Interdisziplinäre S3-Leitlinie für die Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms. https://register.awmf.org/assets/guidelines/032-045OLk_S3_Mammakarzinom_2021-07_1.pdf. Kurzversion 4.3, Juni 2021. Aufgerufen am 15.02.2025.
18. **(DGP und DKG, 2024)** Deutsche Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin (DGP) Deutsche Krebsgesellschaft (DKG) (2024). S3-Leitlinie Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms. Version 3.0, März 2024. <https://register.awmf.org/de/leitlinien/detail/020-007OL>. Aufgerufen am 12.02.2025.
19. **(DGVS, 2023)** Deutsche Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) (2023). S3-Leitlinie Diagnostik und Therapie der Plattenepithelkarzinome und Adenokarzinome des Ösophagus. S3-Leitlinie Diagnostik und Therapie der Plattenepithelkarzinome und Adenokarzinome des Ösophagus. https://register.awmf.org/assets/guidelines/021-023OL1_S3_Diagnostik-Therapie-Plattenepithelkarzinome-Adenokarzinome-Oesophagus_2024-06.pdf. Version 4.0, Dezember 2023. Aufgerufen am 15.02.2025.
20. **(Dhein, 2005)** Dhein, S. (2005). The Langendorff Heart. In *Practical Methods in Cardiovascular Research*. S. 155-172. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg.
21. **(Dilmanian et al., 2007)** Dilmanian, F. A., Qu, Y., Feinendegen, L. E., Peña, L. A., Bacarian, T., Henn, F. A., Kalef-Ezra, J., Liu, S., Zhong, Z. und McDonald, J. W.

- (2007). Tissue-sparing effect of x-ray microplanar beams particularly in the CNS: Is a bystander effect involved? *Experimental Hematology*. 35(4):69-77.
22. **(Dörr, 2018)** Dörr, W. (2018). Spätfolgen nach Radiotherapie. *Die Onkologie*. 24:797-801.
23. **(Fandler und Böhm, 2023)** Fandler, M. und Böhm, L. (2023). Periphere Gabe von Vasopressoren. *Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerzmedizin*. 58(01):52-54.
24. **(Fernandez-Palomo et al., 2020)** Fernandez-Palomo, C., Fazzari, J., Trappetti, V., Smyth, L., Janka, H., Laissue, J. und Djonov, V. (2020). Animal Models in Microbeam Radiation Therapy: A Scoping Review. *Cancers*. 12(3):527.
25. **(Fietkau, 2010)** Fietkau, R. (2010). Grundlagen der Strahlentherapie. In *Hepatobiliäre und Pankreastumoren*. S. 420-425. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg.
26. **(Fischer und Rieken, 2020)** Fischer, L. und Rieken, S. (2020). Stereotaktische Strahlentherapie bei Patienten mit Lungenkarzinomen. *Im Fokus Onkologie*. 23:15-18.
27. **(Fontanella et al., 2015)** Fontanella, A. N., Boss, M.-K., Hadsell, M., Zhang, J., Schroeder, T., Berman, K. G., Dewhirst, M. W., Chang, S. und Palmer, G. M. (2015). Effects of High-Dose Microbeam Irradiation on Tumor Microvascular Function and Angiogenesis. *Radiation Research*. 183(2):147-158.
28. **(Fukunaga et al., 2021)** Fukunaga, H., Butterworth, K. T., McMahon, S. J. und Prise, K. M. (2021). A Brief Overview of the Preclinical and Clinical Radiobiology of Microbeam Radiotherapy. *Clinical Oncology*. 33(11):705-712.
29. **(Glanemann und Wiesweg, 2024)** Glanemann, F. und Wiesweg, M. (2024). Zielgerichtete Therapie des nichtkleinzelligen Lungenkarzinoms. *Die Onkologie*. 30:877-885.
30. **(Goronek et al., 2019)** Goronek, B., Fisher, J. D., Kudaiberdieva, G., Baranchuk, A., Burri, H., Campbell, K. B., Chung, M. K., Enriquez, A., Heidbuchel, H., Kutyifa, V., Krishnan, K., Leclercq, C., Ozcan, E. E., Patton, K. K., Shen, W., Tisdale, J. E., Turagam, M. K. und Lakkireddy, D. (2019). Premature ventricular complexes:

- diagnostic and therapeutic considerations in clinical practice : A state-of-the-art review by the American College of Cardiology Electrophysiology Council. *Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology*. 57(1):5-26.
31. **(Grotzer et al., 2015)** Grotzer, M. A., Schültke, E., Bräuer-Krisch, E. und Laissue, J. A. (2015). Microbeam radiation therapy: Clinical perspectives. *Physica Medica*. 31(6):564-567.
32. **(GV-SOLAS und TVT, 2017)** Gesellschaft für Versuchstierkunde - Society for Laboratory Animal Science (GV-SOLAS), Ausschuss für Tierschutzbeauftragte und Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz (TVT) (2017). Empfehlung zur Blutentnahme bei Versuchstieren, insbesondere kleinen Versuchstieren. https://www.gv-solas.de/wp-content/uploads/2017/07/Empfehlung-zur-Blutentnahme_2017-1.pdf. Stand Juli 2017. Aufgerufen am 24.02.2025.
33. **(Hamilton et al., 2005)** Hamilton, W., Peters, T., Round, A. und Sharp, D. (2005). What are the clinical features of lung cancer before the diagnosis is made? A population based case-control study. *Thorax*. 60(12):1059–1065.
34. **(Herbst et al., 2008)** Herbst, R. S., Heymach, J. V., Lippman, S. M. (2008). Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 359(13):1367–1380.
35. **(Hoeller et al., 2021)** Hoeller, U., Borgmann, K., Oertel, M., Haverkamp, U., Budach, V. und Eich, H. T. (2021). Strahlenspätfolgen. *Deutsches Ärzteblatt*. 118:205-212.
36. **(Huang et al., 2017)** Huang, Y.m Zhang, W., Yu, F. und Gao, F. (2017). The Cellular and Molecular Mechanism of Radiation-Induced Lung Injury. *Medical Science Monitor*. 23:3446-3450.
37. **(Ip und Lerman, 2018)** Ip, J. E. und Lerman, B. B. (2018). Idiopathic malignant premature ventricular contractions. *Trends in Cardiovascular Medicine*. 28(4):295-302.
38. **(Jänig und Baron, 2019)** Jänig, W. und Baron, R. (2021). Peripheres vegetatives Nervensystem. In *Physiologie des Menschen*. S. 879-885. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg.

39. **(Jin et al., 2020)** Jin, H., Yoo, Y., Kim, Y., Kim, Y., Cho, J. und Lee, Y. (2020). Radiation-Induced Lung Fibrosis: Preclinical Animal Models and Therapeutic Strategies. *Cancers (Basel)*. 12(6):1561.
40. **(Kaese et al., 2013)** Kaese, S., Frommeyer, G., Verheule, S., van Loon, G., Gehrman, J., Breithardt, G. Und Eckardt, L. (2013). The ECG in cardiovascular-relevant animal models of electrophysiology. *Herzschrittmachertherapie und Elektrophysiologie*. 24:84-91.
41. **(Käsmann et al. 2019)** Käsmann, L., Eze, C., Dantes, M., Roengvoraphoj, O., Niyazi, M., Belka, C. und Manapov, F. (2019). State of clinical research of radiotherapy/chemoradiotherapy and immune checkpoint inhibitor therapy combinations in solid tumours-a German radiation oncology survey. *European Journal of Cancer*. 108:50-54.
42. **(Käsmann et al., 2020 [1])** Käsmann, L., Dietrich, A., Staab-Weijnitz, C. A., Manapov, F., Behr, J., Rimner, A., Jeremic, B., Senan, S., De Ruyscher, D., Lauber, K. und Belka, C. (2021). Radiation-induced lung toxicity – cellular and molecular mechanisms of pathogenesis, management, and literature review. *Radiation Oncology*. 15:214.
43. **(Käsmann et al., 2020 [2])** Käsmann, L., Eze, C. und Manapov, F. (2020). Stereotactic Body Radiation Therapy (SBRT) Combined with Immune Check-Point Inhibition (ICI) in Advanced Lung Cancer: Which Metastatic Site Should Be Irradiated to Induce Immunogenic Cell Death? *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 108(1):225-226.
44. **(Khan et al., 2020)** Khan, L., Soliman, H., Sahgal, A., Perry, J., Xu, W. und Tsao, M. N. (2020). External beam radiation dose escalation for high grade glioma. https://www.cochrane.org/de/CD011475/GYNAECA_dosiseskalation-bei-bestrahlung-maligner-bosartiger-gliome. Aufgerufen am 12.02.2025.
45. **(Kim, et al., 2022)** Kim, J., Lee, H. und Huang, B.W. (2013). Lung Cancer: Diagnosis, Treatment Principles, and Screening. *American Family Physician*. 105(5):487–494.

46. **(King et al., 2022)** King, D. R., Hardin, K. M., Hoeker, G. S. und Poelzing, S. (2022). Reevaluating methods reporting practices to improve reproducibility: an analysis of methodological rigor for the Langendorff whole heart technique. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*. 323(3):H363–H377
47. **(Konopelski und Ufnal, 2016)** Konopelski, P. und Ufnal, M. (2016). Electrocardiography in Rats: a Comparison to Human. *Physiological Research*. 65:117-125.
48. **(Kraywinkel und Schönfeld, 2018)** Kraywinkel, K. und Schönfeld, I. (2018). Epidemiologie des nichtkleinzelligen Lungenkarzinoms in Deutschland. *Die Onkologie*. 24:946–951
49. **(Laissue et al., 1998)** Laissue, J. A., Geiser, G., Spanne, P. O., Dilmanian, F. A., Gebbers, J.-O., Geiser, M., Wu, X.-Y., Makar, M. S., Micca, P. L., Nawrocky, M. M., Joel, D. D. und Slatkin, D. N. (1998). Neuropathology of ablation of rat gliosarcomas and contiguous brain tissues using a microplanar beam of synchrotron-wiggler-generated X rays. *International Journal of Cancer*. 78(5):654-660.
50. **(Lancellotti et al., 2013)** Lancellotti, P., Nkomo, V. T., Badano, L. P., Bergler-Klein, J., Bogaert, J., Davin, L., Cosyns, B., Coucke, P., Dulgheru, R., Edvardsen, T., Gaemperli, O., Galderisi, M., Griffin, B., Heidenreich, P. A., Nieman, K., Plana, J. C., Port, S. C., Scherrer-Crosbie, M., Schwartz, R. G., Sebag, I. A., Voigt, J.-U., Wann, S. und Yang, P. C. (2013). Expert consensus for multi-modality imaging evaluation of cardiovascular complications of radiotherapy in adults: a report from the European Association of Cardiovascular Imaging and the American Society of Echocardiography. *European Heart Journal – Cardiovascular Imaging*. 14(8):721-740.
51. **(Lange et al., 2022)** Lange F., Kirschstein, T., Davis, J., Paino, J., Barnes, M., Klein, M., Porath, K., Stöhlmacher, P., Fiedler, S., Frank, M., Köhling, R., Hildebrandt, G., Hausermann, D., Lerch, M. Und Schültke, E. (2022). Microbeam Irradiation of the Beating Rodent Heart: An Ex Vivo Study of Acute and Subacute Effects on Cardiac Function. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 114(1):143-152.

52. **(Langendorff, 1895)** Langendorff, O. (1895). Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Pflügers Archiv der gesamten Physiologie*. 61:291-332
53. **(Malhotra et al., 2016)** Malhotra, J., Malvezzi, M., Negri, E., La Vecchia, C. und Boffetta, P. (2016). Risk factors for lung cancer worldwide. *European Respiratory Journal*. 48(3):889-902.
54. **(Marrakchi et al., 2023)** Marrakchi, S., Badenco, N., Schumacher, S., Bennour, E., Livarek, V., Gandjbakhch, E. und Hidden-Lucet, F. (2023). Focus on malignant ventricular premature contractions. *Annales de cardiologie et d'angiologie*. 72(5):101662.
55. **(Meller et al., 2011)** Meller, A., Kasanen, I., Ruksenas, O., Apanaviciene, N., Baturaite, Z., Voipio, H.-M. und Nevelainen, T. (2011). Refining cage change routines: comparison of cardiovascular responses to three different ways of cage change in rats. *Laboratory animals*. 45(3):167-173.
56. **(Merzenich et al., 2018)** Merzenich, H., Wollschläger, D., Almstedt, K., Schmidt, M., Blettner, M., Schmidberger, H. und Stockinger, M. (2018). Kardiale Spätfolgen nach Strahlentherapie und Chemotherapie. *Die Onkologie*. 24:780-789.
57. **(Milani-Nejad und Janssen, 2013)** Milani-Nejad, N. und Janssen, P. (2013). Small and Large Animal Models in Cardiac Contraction Research: Advantages and Disadvantages. *Pharmacology and Therapeutics*. 141(3):235–249
58. **(Nestle et al., 2020)** Nestle, U., Schimek-Jasch, T., Kremp, S., Schaefer-Schuler, A., Mix, M., Küsters, A., Tosch, M., Hehr, T., Eschmann, S. M., Bultel, Y.-P., Hass, P., Fleckenstein, J., Thieme, A., Stockinger, M., Dieckmann, K., Miederer, M., Holl, G., Rischke, H. C., Gkika, E., Adebahr, S., König, J. und Grosu, A.-L. (2020). Imaging-based target volume reduction in chemoradiotherapy for locally advanced non-small-cell lung cancer (PET-Plan): a multicentre, open-label, randomised, controlled trial. *Lancet Oncology*. 21(4):581-592.
59. **(Nonoguchi et al., 2021)** Nonoguchi N. M., Adachi, M., Nogami, A., Komatsu, Y., Sato, T., Ueda, A., Ogawa, K., Togashi, I., Miwa, Y., Hoshida, K., Momose, Y., Shinoda, Y., Kowase, S., Nakamura, K., Kaneko, S. Und Soejima, K. (2021). Stellate

- Ganglion Phototherapy Using Low-Level Laser: A Novel Rescue Therapy for Patients With Refractory Ventricular Arrhythmias. *JACC Clinical Electrophysiology*. 7(10):1297-1308.
60. **(Reynolds und Marignol, 2025)** Reynolds, A., & Marignol, L. (2025). Microbeam radiation therapy for lung cancer: a review of experimental setups and biological endpoints in preclinical studies. *International Journal of Radiation Biology*, 1–10.
61. **(RKI, 2023)** RKI (2023). Krebsarten. https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/krebsarten_node.html. Aufgerufen am 09.02.2025.
62. **(RKI, 2024 [1])** RKI (2024). Lunge – C33-C34. https://www.krebsdaten.de/Krebs/EN/Content/Publications/Cancer_in_Germany/cancer_chapters_2019_2020/cancer_c33-c34.pdf?__blob=publicationFile. Aufgerufen am 09.02.2025.
63. **(RKI, 2024 [2])** RKI (2024). Lungenkrebs (Bronchialkarzinom). <https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/Lungenkrebs/lungenkrebs.html>. Aufgerufen am 09.02.2025.
64. **(Rodriguez-Canales et al., 2016)** Rodriguez-Canales, J., Parra-Cuentas, E. und Wistuba, I. I. (2016). Diagnosis and molecular classification of lung cancer. *Cancer Treatment and Research*. 170:25–46.
65. **(Romano et al., 2022)** Romano, M., Bravin, A., Wright, M. D., Jacques, L., Miettinen, A., Hlushchuk, R., Dinkel, J., Bartzsch, S., Laissue, J. A., Djonov, V. und Coan, P. (2022). X-Ray Phase Contrast 3D Virtual Histology: Evaluation of Lung Alterations After Microbeam Irradiation. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 112(3):818-830.
66. **(Sabatasso et al., 2011)** Sabatasso, S., Laissue, J. A., Hlushchuk, R., Graber, W., Bravin, A., Bräuer-Krisch, E., Corde, S., Blattmann, H., Gruber, G. und Djonov, V. (2011). Microbeam Radiation-Induced Tissue Damage Depends on the Stage of Vascular Maturation. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 80(5):1522-1532.

67. **(Samuel et al., 2025)** Samuel, M., Arif, S. G und Afilalo, J. (2025). Heart rate variability as a digital biomarker for frailty in cardiovascular patients. *The Journal of Frailty and Aging*. 14(1):100007
68. **(Sárközy et. al., 2021)** Sárközy, M., Varga, Z., Gáspár, R., Szűcs, G., Kovács, M. G., Kovács, Z. Z. A., Dux, L., Kahán, Z. Und Csont, T. (2021). Pathomechanisms and therapeutic opportunities in radiation-induced heart disease: from bench to bedside. *Clinical research in Cardiology*. 110:507-531.
69. **(Scheffler et al., 2022)** Scheffler, M., Michels, S. und Nogova, L. (2022). Zielgerichtete Therapie des nichtkleinzelligen Lungenkarzinoms. *Die Innere Medizin*. 63:700-708.
70. **(Schültke et al., 2008)** Schültke, E., Juurlink, B. H. J., Ataelmannan, K., Laissue, J. A., Blattmann, H., Bräuer-Krisch, E., Bravin, A., Minczewska, J., Crosbie, J., Taherian, H., Frangou, E., Wysokinsky, T., Chapman, L. D., Griebel, R. und Fourney, D. (2008). Memory and survival after microbeam radiation therapy. *European Journal of Radiology*. 68(3):S142-S146.
71. **(Schültke et al., 2013)** Schültke, E., Trippel, M., Bräuer-Krisch, E., Renier, M., Bartzsch, S., Requardt, H., Döbrössy, M. D. und Nikkhah, G. (2013). Pencilbeam Irradiation Technique for Whole Brain Radiotherapy: Technical and Biological Challenges in a Small Animal Model. *PLOS One*. 8(1):e54960.
72. **(Schültke et al., 2017)** Schültke, E., Balosso, J., Breslin, T., Cavaletti, G., Djonov, V., Estève, F., Grotzer, M., Hildebrandt, G., Valdman, A. und Laissue, J. A. (2017). Microbeam radiation therapy - grid therapy and beyond: a clinical perspective. *The British Journal of Radiology*. 90(1078):20170073
73. **(Schültke et al., 2021)** Schültke, E., Bayat, S., Bartzsch, S., Bräuer-Krisch, E., Djonov, V., Fiedler, S., Fernandez-Palomo, C., Jaekel, F., Pellicciolo, P., Trappetti, V. und Hildebrandt, G. (2021). A Mouse Model for Microbeam Radiation Therapy of the Lung. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 110(2):521-525.

74. **(Schültke et al., 2022)** Schülte, E., Lerch, M., Kirschstein, T., Lange, F., Porath, K., Fiedler, S., Davis, J., Paino, J., Engels, E., Barnes, M., Klein, M., Hall, C., Häusermann, D. und Hildebrandt, G. (2022). Modification of the Langendorff system of the isolated beating heart for experimental radiotherapy at a synchrotron: 4000 Gy in a heart beat. *Journal of Synchrotron Radiation*. 29(4):1027-1032.
75. **(Serduc et al., 2009)** Serduc, R., Bouchet, A., Bräuer-Krisch, E., Laissue, J. A., Spiga, J., Sarun, S., Bravin, A., Fonta, C., Renaud, L., Boutonnat, J., Albert-Siegbahn, E., Estève, F. und Le Duc, G. (2009). Synchrotron microbeam radiation therapy for rat brain tumor palliation—influence of the microbeam width at constant valley dose. *Physics in Medicine and Biology*. 54(21):6711-6724.
76. **(Skrzypiec-Spring, 2007)** Skrzypiec-Spring, M., Grotthus, B., Szeląg, A. und Schulz, R. (2007). Isolated heart perfusion according to Langendorff—Still viable in the new millennium. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 55(2):113-126.
77. **(Slatkin et al., 1995)** Slatkin, D. N., Spanne, P., Dilmanian, F. A., Gebbers, J. O. und Laissue, J. A. (1995). Subacute neuropathological effects of microplanar beams of x-rays from a synchrotron wiggler. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 92(19):8783-8787.
78. **(Smith et al., 2013)** Smith, R. W., Wang, J., Schültke, E., Seymour, C. B., Bräuer-Krisch, E., Laissue, J. A., Blattmann, H. und Mothersill, C. E. (2013). Proteomic changes in the rat brain induced by homogenous irradiation and by the bystander effect resulting from high energy synchrotron X-ray microbeams. *International Journal of Radiation Biology*. 89(2):118-127.
79. **(Subramanian et al, 2025)** Subramanian, N., Čolić, A., Santiago Franco, M., Stolz, J., Ahmed, M., Bicher, S., Winter, J., Lindner, R., Raulefs, S., Combs, S. E., Bartsch, S., & Schmid, T. E. (2025). Superior Anti-Tumor Response After Microbeam and Minibeam Radiation Therapy in a Lung Cancer Mouse Model. *Cancers*, 17(1), 114.
80. **(Sutherland und Hearse, 2000)** Sutherland, F. J. und Hearse D. J. (2000). The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. *Pharmacological Research*. 41(6):613-627.

81. **(Trappetti et al., 2021)** Trappetti, V., Fernandez-Palomo, C., Smyth, L., Klein, M., Haberthür, D., Butler, D., Barnes, M., Shintani, N., de Veer, M. Laissue, J. A., Vozenin, M. C. und Djonov, V. (2021). Synchrotron Microbeam Radiation Therapy for the Treatment of Lung Carcinoma: A Preclinical Study. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*.111(5):1276-1288.
82. **(Tucker et al., 2016)** Tucker, S. L., Liu, A., Gomez, D., Tang, L. L., Allen, P., Yang, J., Liao, Z. und Grosshans, D. (2016). Impact of heart and lung dose on early survival in patients with non-small cell lung cancer treated with chemoradiation. *Radiotherapy and Oncology*. 119(3):494-500.
83. **(Unterrainer et al., 2020)** Unterrainer, M., Eze, C., Ilhan, H., Marschner, S., Roengvoraphoj, O., Schmidt-Hegemann, N. S., Walter, F., Kunz, W. G., Munck af Rosenschöld, P., Jeraj, R., Albert, N. L., Grosu, A. L., Niyazi, M., Bartenstein, P. und Belka, C. (2020). Recent advances of PET imaging in clinical radiation oncology. *Radiation Oncology*. 15:88.
84. **(Vinod und Hau, 2020)** Vinod, S. K. und Hau, E. (2020). Radiotherapy treatment for lung cancer: Current status and future directions. *Respirology*. 25(2):61-71.
85. **(Werth und Wink, 1967)** Werth, G. und Wink, S. (1967). Das Elektrokardiogramm der normalen Ratte. *Archiv für Kreislaufforschung*. Band 54, Heft 3-4: 272-308.
86. **(WHO, 2023)** Who (2023). Lung Cancer. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lung-cancer>. Aufgerufen am 07.02.2025.
87. **(Wilson et al., 2020)** Wilson, J. D., Hammond, E. M., Higgins, G. S. und Petersson, K. (2020). Ultra-High Dose Rate (FLASH) Radiotherapy: Silver Bullet or Fool's Gold? *Frontiers Oncology*. 9:1563
88. **(Winter et al., 2020)** Winter, J., Galek, M., Matejcek, C., Wilkens, J. J., Aulenbacher, K., Combs, S. E. und Bartzsch, S. (2020). Clinical microbeam radiation therapy with a compact source: specifications of the line-focus X-ray tube. *Physics and Imaging in Radiation Oncology*. 14:74-81.
89. **(Wright et al., 2021)** Wright, M. D., Romanelli, P., Bravin, A., Le Duc, G., Brauer-Krisch, E., Requardt, H., Bartzsch, S., Hlushchuk, R., Laissue, J. A., & Djonov, V.

- (2021). Non-conventional Ultra-High Dose Rate (FLASH) Microbeam Radiotherapy Provides Superior Normal Tissue Sparing in Rat Lung Compared to Non-conventional Ultra-High Dose Rate (FLASH) Radiotherapy. *Cureus*. 13(11), e19317.
90. **(Zeman et al., 1961)** Zeman, W., Curtis, H. J. und Baker, C. P. (1961). Histopathologic Effect of High-Energy-Particle Microbeams on the Visual Cortex of the Mouse Brain. *Radiation Research*. 15:496-514.
91. **(Ziegeltrum et al., 2021)** Ziegeltrum, J., Galster, M., Meyer, C. und Horneber, M. (2021). Strahlentherapie-assoziierte Pneumonitiden. *Im Fokus Onkologie*. 24:28-32.
92. **(Zimmer, 1998)** Zimmer, H.-G. (1998). The Isolated Perfused Heart and Its Pioneers. *News in physiological sciences*. 13:203-210.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2020 (ohne nicht-melanotischen Hautkrebs) (RKI, 2023).....	1
Abbildung 2: Altersstandardisierte Neuerkrankungs- und Sterberaten nach Geschlecht, ICD-10 C33 – C34, Deutschland 1999 – 2018/2019, Prognose (Inzidenz) bis 2022, je 100.000 (alter Europastandard) (RKI, 2024 [2]).....	2
Abbildung 3: Verteilung der bösartigen Neubildungen der Lunge nach histologischem Typ und Geschlecht, ICD-10 C33–C34, Deutschland 2019–2020 (RKI, 2024 [2]).....	4
Abbildung 4: Dosisprofil der Microbeam-Bestrahlung.....	10
Abbildung 5: Charakteristische EKG-Merkmale am Rattenherz.....	13
Abbildung 6: Eigenanteil an der Arbeit.....	20
Abbildung 7: Aufbau des Langendorff-Versuches.....	22
Abbildung 8: Erfassung der kardialen Parameter.....	23
Abbildung 9: Zeitstrahl Versuchsablauf.....	27
Abbildung 10: Schema Microbeam-Bestrahlung.....	28
Abbildung 11: Ansicht der aufgezeichneten Daten in LabChart.....	30
Abbildung 12: Messung des RR-Abstandes mit LabChart.....	30
Abbildung 13: NA-Versuch HF Baseline.....	32
Abbildung 14: NA-Versuch HF Stimulation.....	32
Abbildung 15: Auswirkung der Versuchsdauer auf die kardialen Parameter.....	35
Abbildung 16: Wirkung verschiedener NA-Dosen auf die kardialen Parameter.....	36
Abbildung 17: EKG.....	38
Abbildung 18: EKG-Ausschnitt.....	39
Abbildung 19: HF nach Mikrostrahlexposition.....	40
Abbildung 20: LVP.....	41
Abbildung 21: LVP-Ausschnitt.....	41
Abbildung 22: Δ LVP-Entwicklung nach Mikrostrahlexposition.....	43
Abbildung 23: Aortendruck.....	44
Abbildung 24: Aortendruck Ausschnitt.....	44
Abbildung 25: Entwicklung des Aortendrucks nach Mikrostrahlexposition.....	46
Abbildung 26: RPP-Entwicklung nach Mikrostrahlexposition.....	47
Abbildung 27: HRV-Entwicklung nach Mikrostrahlexposition.....	49
Abbildung 28: NA-Effekt auf die HF vor und nach Microbeam-Exposition.....	51

Abbildung 29: NA-Effekt auf die Δ LVP vor und nach Microbeam-Exposition.....	52
Abbildung 30: NA-Effekt auf den CR vor und nach Microbeam-Exposition.....	53
Abbildung 31: NA-Effekt auf das RPP vor und nach Microbeam-Exposition.....	54
Abbildung 32: Singuläre ES.....	55
Abbildung 33: Couplet.....	55
Abbildung 34: Salve.....	56
Abbildung 35: Bigeminus.....	56
Abbildung 36: Anzahl ES je 5 min Versuchsdauer am Beispiel eines bestrahlten Herzens....	57
Abbildung 37: Auftreten von ES im Versuchsverlauf, Kontrollgruppe.....	58
Abbildung 38: Auftreten von ES im Versuchsverlauf, Versuchsgruppe.....	59

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Diagnostik bei neu aufgetretenen Symptomen (DGHO, 2025).....	3
Tabelle 2: Zusammensetzung der kardioplegen Lösung.....	25
Tabelle 3: Zusammensetzung der Perfusionslösung.....	26
Tabelle 4: Betrachtete Strahlendosen und Anzahl der untersuchten Organe.....	30
Tabelle 5: Gemessene und berechnete kardiale Parameter und ihre Einheiten.....	32
Tabelle 6: Kardiale Parameter im Versuchsverlauf.....	36
Tabelle 7: Relative Änderung der kardialen Parameter in Folge der Verabreichung steigender NA-Dosen.....	38
Tabelle 8: HF zu Beginn des Versuchs und 60 Minuten nach Bestrahlung.....	40
Tabelle 9: Δ LVP zu Beginn des Versuchs und 60 Minuten nach Bestrahlung.....	43
Tabelle 10: CR zu Beginn des Versuchs und 60 Minuten nach Bestrahlung.....	46
Tabelle 11: RPP zu Beginn des Versuchs und 60 Minuten nach Bestrahlung.....	49
Tabelle 12: HRV zu Beginn des Versuchs und 60 Minuten nach Bestrahlung.....	50
Tabelle 13: Unterschiede charakteristischer EKG-Parameter zwischen Ratte und Mensch....	61
Tabelle 14: Verschreibungsdosen verschiedener Radiotherapieprotokolle.....	63

Abkürzungsverzeichnis

ANSTO	<i>Australian Nuclear Science and Technology Organisation</i>
BB	<i>Broadbeam</i>
CT	Computertomographie
CR	<i>Coronary Resistance</i> - Koronarwiderstand
EKG	Elektrokardiogramm
ES	Extrasystole
FDG-PET-CT	Positronenemissionstomographie mit diagnostischem CT
IMBL	<i>Imaging and Medical Beamline</i>
IMRT	<i>Intensity Modulated Radiation Therapy</i>
HF	Herzfrequenz
HRV	Herzratenvariabilität
KHK	Koronare Herzkrankheit
LCLC	<i>Large Cell Lung Cancer</i> – Großzelliges Lungenkarzinom
Δ LVP	Linksventrikuläre Druckentwicklung
LVP _{sys}	Linksventrikulärer systolischer Druck
LVP _{dia}	Linksventrikulärer diastolischer Druck
MBI	<i>Microbeam Irradiation</i>
MHD	Mittlere Herzdosis
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
NA	Noradrenalin
NSCLC	<i>Non Small Cell Lung Cancer</i> - Nicht kleinzelliges Lungenkarzinom
RIHD	<i>Radiation Induced Heart Disease</i> - Strahleninduzierte Herzerkrankung
RPP	<i>Rate Pressure Product</i>
SCLC	<i>Small Cell Lung Cancer</i> - Kleinzelliges Lungenkarzinom
SEM	<i>Standard Error of the Mean</i> - Standardfehler des Mittelwertes
ZNS	Zentrales Nervensystem
4D-CT	Vierdimensionale Computertomografie

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich durch eigenhändige Unterschrift, die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben. Die aus den Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht. Die vorliegende Dissertation wird der Hochschule erstmalig vorgelegt. Ich habe bisher weder ein anderes Promotionsverfahren eröffnet, noch ein Promotionsverfahren erfolglos beendet.

Rostock, den

Paula Stöhlmacher

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Timo Kirschstein, für die Bereitstellung des Themas und die umfassende Betreuung dieser Arbeit, sowie für die stete Bereitschaft zu konstruktiven Gesprächen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Falko Lange, für die hervorragende Betreuung und die umfangreiche Unterstützung bei der Durchführung und Auswertung der Versuche. Seine Hilfestellungen sowie die schnelle Überarbeitung meiner Entwürfe haben maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Frau Katrin Porath danke ich herzlich für die geduldige Einarbeitung in das Langendorff-Verfahren und in die Arbeit im Labor, und für die stets freundlich gewährte Unterstützung bei der Durchführung meiner Versuche.

Allen weiteren Mitgliedern der Arbeitsgruppe, welche an der Erhebung der Daten in Melbourne beteiligt waren, danke ich für die mir zur Verfügung gestellten Daten, auf welche diese Arbeit aufbaut.

Von Herzen danke ich meinen Eltern und meinem Freund Henry, welche mir während meines Studiums und des Verfassens dieser Arbeit stets unterstützend und motivierend zur Seite standen.