

Aus dem Institut für Anatomie I  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Institutsleiterin: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. pol. Svenja  
Caspers

Funktionelle Morphologie des Herzens und dessen  
Abhängigkeit vom Bindegewebe

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines “Doctor of Philosophy“  
(PhD) in Medical Sciences der Medizinischen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Lea Piermaier

2026

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Gutachter/innen: Prof. Dr. med. Timm Joachim Filler, PD Dr. rer. nat.  
Christina Herold, Prof. Dr. med. Gero Tenderich

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht in:

Piermaier LM, Caspers S, Herold C, Wolf-Vollenbröcker M, Brzoska P, Bechler E, Filler TJ. Proprioceptors of the human pericardium. *Basic Res Cardiol*. 2024 Dec;119(6):1029-1043. doi: 10.1007/s00395-024-01075-9. Epub 2024 Aug 9. PMID: 39120717; PMCID: PMC1162844

# Zusammenfassung

Kardiovaskuläre Erkrankungen zählen zu den führenden Todesursachen, deren Anteil an jährlichen Sterbefällen gegenwärtig bei rund 40% liegt. Trotz substanzieller Fortschritte in den Gebieten der Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie des Herzens bestehen weiterhin zentrale Wissenslücken. Insbesondere die Komplexität kardialer Regulationsmechanismen und ihre Interaktionen mit anderen Gewebesystemen sind bislang nur unzureichend erschlossen. Im Rahmen der Untersuchung bildet besonders die Wechselwirkung zwischen Perikard, Myokard und Bindegewebe des Herzens ein zentrales Element. Die vorliegende Dissertation adressiert drei eng miteinander verknüpfte Untersuchungsgegenstände: (i) die propriozeptive Ausstattung des Perikards, (ii) die Verankerung der linksventrikulären Papillarmuskeln (LVPM) und (iii) die viskoelastisch-architektonischen Eigenschaften des Myokards. Das methodische Konzept umfasst makroskopisch-anatomische Beobachtungen, Histologie und Immunhistochemie mit 3D-Kartierungen und Clusteranalysen sowie magnetresonanztomographische Bildgebung (MRI). Die Resultate der ersten Teilstudie offenbaren eine räumliche Akkumulation von Ruffini-artigen Körperchen im fibrösen humanen Perikardanteil entlang der ventrikulären Vorwölbungen sowie an den Abgängen der großen Gefäße. Dabei stützt der ausbleibende Nachweis von *Calcitonin Gene-related Peptide* (CGRP) die Einordnung dieser Rezeptoren als primär propriozeptives, nicht nozizeptives Sensorsystem. Bezüglich der Verankerungsklassen der LVPM wurden zwei verschiedene Ausprägungen erschlossen: eine direkte, trabekelfreie Muskelbasis (30%) und eine trabekulär geprägte Verbindung (70%). Die Typisierung ist innerhalb eines Herzens überwiegend uniform und hat Implikationen für die Perfusionsarchitektur. *Ex-vivo*-Messungen an isolierten linken Ventrikeln im Rahmen der Studie der viskoelastischen Eigenschaften des Myokards offenbarten eine signifikante Abflachung des transmuralen Helix-Winkel-Gradienten während passiver Dilatation. Zudem wurde eine Verschiebung der Häufigkeitsmaxima der Helix-Winkel in Richtung 0° verzeichnet, was eine spiralförmige, wandtiefenübergreifende Kraftübertragung im postmortalen Myokard nahelegt. Schlussfolgernd offenbaren die drei Teilstudien ein komplexes Zusammenspiel zwischen sensorischen, strukturellen und mechanischen Komponenten der herzphysiologischen Funktion. Die Erkenntnisse betonen die Relevanz einer systematischen Analyse der kardialen Mechanik, um die Pathophysiologie kardialer Erkrankungen besser zu verstehen und spezifische therapeutische Interventionen abzuleiten.

# Summary

Cardiovascular diseases rank among the leading causes of death, currently accounting for approximately 40% of annual mortalities. Notwithstanding considerable advances in the domains of cardiac anatomy, physiology and pathophysiology, critical knowledge gaps persist. In particular, the complex interplay between cardiac regulatory mechanisms with other biological systems remains largely uncovered. Central to the investigation is the interaction between the pericardium, myocardium, and connective tissue of the heart. The present dissertation addresses three closely interrelated topics: (i) the proprioceptive capabilities of the pericardium, (ii) the anchorage of the left-ventricular papillary muscles (LVPM), and (iii) the viscoelastic and architectural properties of the myocardium. The methodological framework integrates gross anatomical observations, histology, and immunohistochemistry with three-dimensional mapping and cluster analyses, as well as magnetic resonance imaging (MRI). Regarding the identification of Ruffini-like corpuscles in the pericardium, spatial accumulations were revealed along the ventricular convexities and at the origins of the great vessels. The absence of calcitonin gene-related peptide (CGRP) provides support for the classification of these receptors as a primarily proprioceptive, non-nociceptive sensory system. Concerning the classification of anchorage classes of LVPM, two distinct patterns were identified: a direct, trabecula-free muscular base (30%) and a connection via trabeculae (70%). The typology is predominantly uniform within a heart and carries implications for perfusion architecture. *Ex-vivo* measurements on isolated left ventricles revealed a significant flattening of the transmural helix-angle gradient during passive dilation when studying the myocardium's viscoelastic characteristics. Furthermore, the peaks of the helix-angle distributions shifted towards 0°, thus indicating a spiral transmural transmission of forces in postmortem myocardium. When considered as a whole, the three sub-studies reveal a complex interplay among sensory, structural, and mechanical elements of cardiac physiological function. The findings emphasize the importance of a systematic analysis of cardiac mechanics to enhance understanding of the pathophysiology of cardiac diseases and to derive targeted therapeutic interventions.

# Abkürzungsverzeichnis

|       |                                                                                  |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------|
| AV    | atrioventrikulär                                                                 |
| CGRP  | Calcitonin Gene-Related Peptide                                                  |
| CT    | Computertomographie                                                              |
| DCM   | dilatative cardiomyopathy (dilatative Kardiomyopathie)                           |
| DTI   | diffusion tensor imaging (Diffusionstensorbildgebung)                            |
| HA    | helix angle (Helix-Winkel)                                                       |
| HiP   | hierarchical phase (hierarchische Phasen)                                        |
| HHU   | Heinrich-Heine-Universität                                                       |
| HOCM  | hypertrophe obstructive cardiomyopathy (hypertrophe obstruktive Kardiomyopathie) |
| LVNC  | left ventricular noncompaction (linksventrikuläre Nicht-Kompaktierung)           |
| LVPM  | linksventrikuläre Papillarmuskeln                                                |
| M     | Mittelwert                                                                       |
| MRI   | magnetic resonance imaging (Magnetresonanz-Bildgebung)                           |
| MRT   | Magnetresonanztomographie                                                        |
| p-NF  | pan-Neurofilament                                                                |
| RLCs  | Ruffini-like corpuscles (Ruffini-artige Körperchen)                              |
| SD    | standard deviation (Standardabweichung)                                          |
| TRPC4 | Transient-Receptor Potential Cation Channel 4                                    |

# Inhaltsverzeichnis

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Einleitung.....                                                 | 1  |
| 1.1 Allgemeine Einleitung.....                                     | 1  |
| 1.2 Kardiologische Grundlagen.....                                 | 2  |
| 1.2.1 Aufbau der Herzwand.....                                     | 2  |
| 1.2.2 Aufbau des Perikards .....                                   | 2  |
| 1.2.3 Der Herzzyklus.....                                          | 4  |
| 1.2.4 Papillarmuskeln.....                                         | 4  |
| 1.2.5 Helix-Winkel.....                                            | 5  |
| 1.3 Propriozeptive Grundlagen .....                                | 6  |
| 1.3.1 Propriozeption .....                                         | 6  |
| 1.3.2 Ruffini-Körperchen.....                                      | 7  |
| 1.4 Methodische Grundlagen – <i>Diffusion Tensor Imaging</i> ..... | 8  |
| 1.5 Ziele der Arbeit.....                                          | 9  |
| 1.5.1 Ziel des ersten Studienabschnittes .....                     | 10 |
| 1.5.2 Ziel des zweiten Studienabschnittes.....                     | 11 |
| 1.5.3 Ziel des dritten Studienabschnittes .....                    | 11 |
| 1.6 Ethische Zustimmung .....                                      | 12 |
| 2. Material und Methoden .....                                     | 13 |
| 2.1 Material.....                                                  | 13 |
| 2.2. Methoden.....                                                 | 13 |
| 2.2.1 Körperspenden.....                                           | 13 |
| 2.2.2 Makroskopische Gewebeprozessierung .....                     | 16 |
| 2.2.3 Histologischer Zuschnitt.....                                | 19 |
| 2.2.4 Histologische Gewebeprozessierung .....                      | 20 |
| 2.2.5 Visualisierung der Rezeptoren.....                           | 22 |
| 2.2.6 Ergometrie.....                                              | 24 |
| 2.2.7 Magnet-Resonanz-Bildgebung .....                             | 25 |
| 2.2.8 Berechnung der Helix-Winkel .....                            | 26 |
| 2.2.9 Statistik.....                                               | 27 |
| 2.2.10 Bildbearbeitung .....                                       | 28 |
| 3. Ergebnisse .....                                                | 29 |

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1 Ergebnisse zum Studienteil 1: propriozeptive Kartierung des Perikards (nach [86])           | 29 |
| 3.1.1 Definition zählbarer Korpuskel .....                                                      | 29 |
| 3.1.2 Histochemischer und immunhistochemischer Nachweis .....                                   | 31 |
| 3.1.3 Lokalisation der Ruffini-artigen Körperchen .....                                         | 32 |
| 3.1.4 Geschlechtsspezifische Unterschiede .....                                                 | 34 |
| 3.1.5 Clusteranalyse und Visualisierung .....                                                   | 34 |
| 3.2. Ergebnisse zum Studienteil 2: Klassifizierung der Papillarmuskelverankerung .....          | 41 |
| 3.2.1 Kriterien der Klassifizierung .....                                                       | 41 |
| 3.2.2 Verhältnis der Verankerungsklassen .....                                                  | 44 |
| 3.2.3. Morphologische Variabilität der Verankerungsklassen innerhalb eines Ventrikels .....     | 46 |
| 3.2.4. Einfluss verschiedener Parameter auf die Ausprägung der Papillarmuskelverankerung .....  | 47 |
| 3.3 Ergebnisse zum Studienteil 3: viskoelastische Eigenschaften des postmortalen Myokards ..... | 50 |
| 3.3.1 Entwicklung eines ballonierten Herzmodells .....                                          | 50 |
| 3.3.2 Ergometrische Untersuchungen .....                                                        | 55 |
| 3.4.3 Helix-Winkel-Messungen .....                                                              | 56 |
| 4. Diskussion .....                                                                             | 61 |
| 4.1 Diskussion zum Studienteil 1 .....                                                          | 61 |
| 4.1.1 Zusammenfassung und Einordnung der Ergebnisse .....                                       | 61 |
| 4.1.2 Interpretation der Clusteranalyse .....                                                   | 62 |
| 4.1.3 Funktion viszeraler Ruffini-Körperchen .....                                              | 62 |
| 4.1.4 Weitere Klassen von Propriozeptoren .....                                                 | 63 |
| 4.1.5 Ruffini-artige Körperchen als externer Kontrollmechanismus .....                          | 64 |
| 4.1.6 Vergleich der Ergebnisse mit tierexperimentellen Studien .....                            | 65 |
| 4.1.7 Klinische Bedeutung der perikardialen Propriozeptoren .....                               | 66 |
| 4.1.8 Zusammenfassung und Limitationen .....                                                    | 66 |
| 4.2 Diskussion zum Studienteil 2 .....                                                          | 68 |
| 4.2.1 Zusammenfassung und Einordnung der Ergebnisse .....                                       | 68 |
| 4.2.2 Weitere Klassifikationen humaner Papillarmuskeln .....                                    | 68 |
| 4.2.3 Embryologische Formation der Papillarmuskeln .....                                        | 69 |
| 4.2.4 Auswirkung der Papillarmuskelverankerung auf den Herzzyklus .....                         | 71 |
| 4.2.5 Klinische Relevanz der Papillarmuskelbasis .....                                          | 71 |
| 4.2.6 Zusammenfassung und Limitationen .....                                                    | 72 |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 4.3 Diskussion zum Studienteil 3.....                          | 73 |
| 4.3.1 Zusammenfassung und Einordnung der Ergebnisse.....       | 73 |
| 4.3.2 Einflussgrößen der ventrikulären Leistungsfähigkeit..... | 74 |
| 4.3.3 Organisation des Myokards .....                          | 75 |
| 4.3.4 Klinische Anwendung .....                                | 75 |
| 4.3.5 Zusammenfassung und Limitationen.....                    | 76 |
| 4.4 Zusammenhängende Bedeutung der Ergebnisse.....             | 78 |
| 4.5 Schlussfolgerungen und Ausblick .....                      | 80 |
| Literaturverzeichnis .....                                     | 84 |
| Anhang .....                                                   | 95 |

# 1. Einleitung

## 1.1 Allgemeine Einleitung

Das Herz stellt den wichtigsten Muskel des menschlichen Organismus dar und nimmt als kontraktiles Organ eine zentrale Schlüsselrolle in der Aufrechterhaltung lebensnotwendiger physiologischer Prozesse ein. Kardiovaskuläre Erkrankungen bilden in Deutschland die führende Todesursache und sind für etwa 40% aller jährlichen Sterbefälle verantwortlich. Darüber hinaus sind sie mit erheblichen individuellen Risikofaktoren assoziiert und tragen in besonderem Maße zur gesamtgesellschaftlichen Krankheitslast bei. Eine globale Betrachtung zeigt eine kontinuierliche Zunahme der Inzidenz und Prävalenz kardiovaskulärer Krankheitsbilder, welche eine Belastung der nationalen wie internationalen Gesundheitssysteme darstellt [1]. Trotz der über Jahrhunderte hinweg gewonnenen Erkenntnisse hinsichtlich der Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie des Herzens ist das derzeitige Wissen in zentralen Aspekten noch unvollständig. Die kontinuierliche Zunahme wissenschaftlicher Publikationen im kardiovaskulären Bereich verdeutlicht die Existenz noch unerschlossener Erkenntnislücken und erschwert gleichzeitig eine systematische Zusammenfassung der verfügbaren Daten. Besonders die Komplexität kardialer Regulationsmechanismen und deren Wechselwirkung mit anderen Organsystemen sind bislang nur unzureichend verstanden. Ein besonderes Defizit zeigt sich bezüglich der funktionellen Interaktion zwischen Herz, Perikard und angrenzendem Gewebe. Zudem besteht Forschungsbedarf im Bereich der propriosensorischen Informationsverarbeitung, insbesondere hinsichtlich der Integration somatischer Signale in die zentrale Regulation kardialer Abläufe. Diese Zusammenhänge sind im Kontext der menschlichen bipeden Fortbewegung von besonderer Relevanz, da die aufrechte Körperhaltung spezifische biomechanische und physiologische Anforderungen an das kardiovaskuläre System stellt. In diesem Kontext ist die Übertragbarkeit klassischer tierexperimenteller Modelle daher nur in begrenztem Maße gegeben. Aus den genannten Aspekten ergibt sich die wissenschaftliche Notwendigkeit einer vertiefenden, ganzheitlichen Untersuchung des kardiovaskulären Systems unter Berücksichtigung humanphysiologischer Besonderheiten. Das Ziel besteht darin, die bestehenden Wissenslücken zu schließen, um langfristig ein umfassenderes Verständnis der Funktionsweisen des Herzens zu erlangen und daraus innovative diagnostische und therapeutische Strategien abzuleiten.

## 1.2 Kardiologische Grundlagen

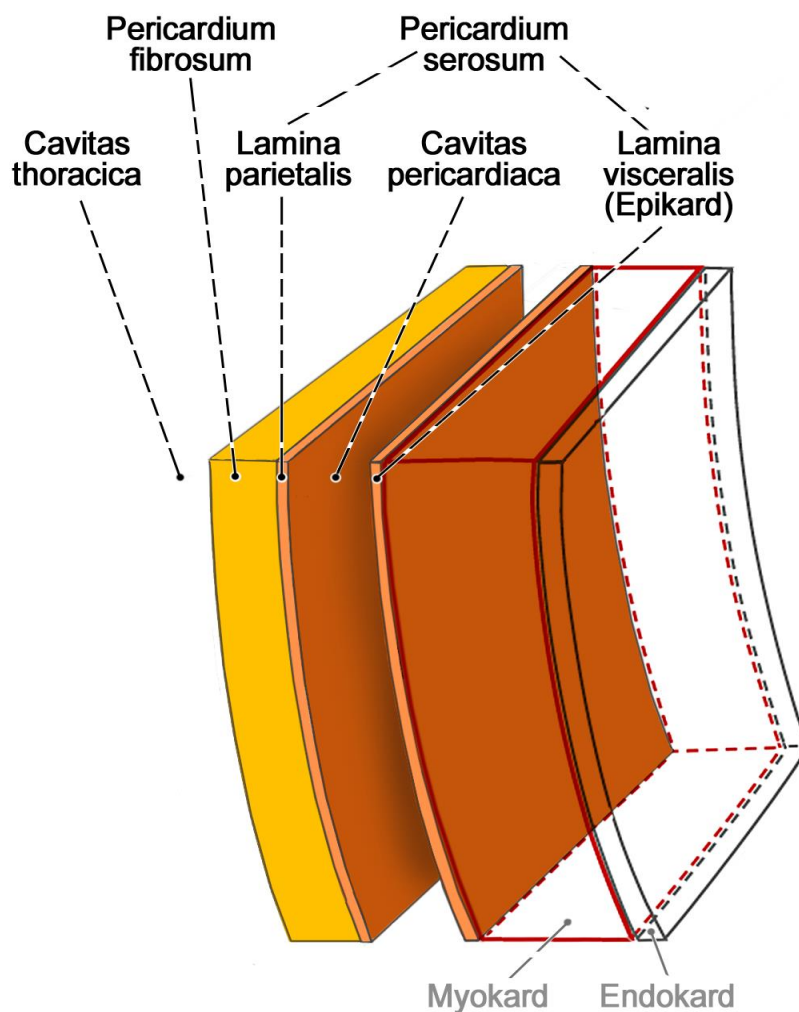
### 1.2.1 Aufbau der Herzwand

Das Herz ist ein vierkammeriges Hohlorgan, das sich durch eine charakteristische, vielschichtige Wandstruktur auszeichnet. Die innerste Schicht, das Endokard, besteht aus einer glatten, dünnen Membran, welche die gesamte luminale Oberfläche der Herzhöhlen auskleidet. Diese Struktur gewährleistet nicht nur eine hämodynamisch günstige, reibungsarme Oberfläche für den Blutfluss, sondern steht zudem in funktioneller Kontinuität mit den Herzklappen. Die äußerste Schicht der Herzwand wird als Epikard bezeichnet und entspricht dem viszeralen Blatt des Perikards. Es grenzt das Myokard gegen die Perikardhöhle ab, übernimmt mechanische Schutzfunktionen und ermöglicht die reibungsfreie Beweglichkeit des Herzens. Zwischen Endokard und Epikard befindet sich das Myokard, welches die funktionell und strukturell dominante Schicht der Herzwand darstellt. Es besteht aus Kardiomyozyten, die als funktionelle Grundeinheiten des Herzmuskels in Form von Muskelketten organisiert sind. Diese Ketten formen ein komplexes, dreidimensional angeordnetes Netzwerk [2]. Innerhalb dieser architektonischen Organisation entfalten sich die tangential verlaufenden Kardiomyozytenketten kontinuierlich und graduell zwischen Epikard und Endokard ohne signifikante Richtungswechsel oder Diskontinuitäten [3]. Im subendokardialen Bereich lässt sich eine ausgeprägte, rechtshändige Spiralstruktur nachweisen, die sich in Richtung der Herzspitze fortsetzt und in den subepikardialen Schichten in eine linkshändige Spiralform übergeht. In der intermediären Schichtregion verlaufen die Kardiomyozyten annähernd orthogonal zur longitudinalen Herzachse. Die hochgradig organisierte myokardiale Faserarchitektur ist von zentraler Bedeutung für die mechanische Funktion des Herzens.

### 1.2.2 Aufbau des Perikards

Das humane Perikard ist eine komplex strukturierte, mehrschichtige Membran, welche den Herzmuskel umschließt (Abb. 1). Im Rahmen des kardialen Zyklus gewährleistet es die reibungsarme Beweglichkeit des Myokards und erfüllt zugleich eine Schutzfunktion gegenüber einer pathologischen Überdehnung des Herzens. Aus morphologischer Perspektive differenziert sich das Perikard in zwei voneinander abgrenzbare Anteile. Die seröse Komponente bedeckt als viszerales Blatt oder Epikard unmittelbar das Myokard und kleidet gleichzeitig als parietales Blatt die Innenseite des fibrösen Perikardanteils aus [4, 5]. Der fibröse Anteil des Perikards charakterisiert sich durch drei differenzierte Subschichten,

die primär aus kollagenem Bindegewebe mit eingelagerten elastischen Fasern bestehen [4, 6-8]. Die biomechanische Eigenschaft und somit das Bewegungsausmaß und die Dehnungsfähigkeit des Perikards hängen wesentlich vom Volumen der serösen Flüssigkeit im perikardialen Spaltraum ab. Dieses Volumen erreicht typischerweise Werte zwischen 15 und 60 ml [9, 10]. Neben der Gewährleistung einer reibungsarmen Beweglichkeit des Herzens kommt der perikardialen Kavität zusätzlich die Rolle zu, mechanische Reize auf das parietale Perikard zu übertragen.



**Abb. 1: Aufbau des humanen Perikards.** Das humane Perikard setzt sich aus einem serösen Anteil, dem pericardium serosum, und einem fibrösen Anteil, dem pericardium fibrosum, zusammen. Der seröse Anteil bedeckt das Herz mit seinem viszeralen Blatt (Epikard) und kleidet die Innenfläche des fibrösen Perikards mit seinem parietalen Blatt aus. Zwischen den beiden Blättern liegt die mit Flüssigkeit gefüllte Perikardhöhle (cavitas pericardiaca). Der fibröse Perikardanteil, das pericardium fibrosum, grenzt das Herz gegen die Brusthöhle (cavitas thoracica) ab. Quelle: Frau Opfermann-Rüngeler, Institut für Anatomie I, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

### 1.2.3 Der Herzzyklus

Der kardiale Zyklus bezeichnet die rhythmische Abfolge von Kontraktion (Systole) und Erschlaffung (Diastole) des Herzens und umfasst sämtliche kardiale Vorgänge, die während eines vollständigen Herzschlags ablaufen. Die physiologische Grundlage der Pumpfunktion des Herzens liegt in dem kontinuierlichen Auswurf von Blut in den arteriellen Blutkreislauf. Dieser Prozess wird durch das intrinsische Erregungsbildungs- und Leitungssystem des Herzens initiiert und gesteuert. Die Systole lässt sich aus funktioneller Perspektive in zwei Phasen unterteilen. Während der Anspannungsphase kommt es zur Kontraktion der Ventrikel, was einen Druckanstieg zur Folge hat. Dieser Druckanstieg induziert den Verschluss der atrioventrikulären (AV-) Segelklappen. Im Anschluss erfolgt während der Austreibungsphase das Öffnen der Taschenklappen, wodurch der Blutausschuss in den pulmonalen und systemischen Kreislauf ermöglicht wird. Die Systole ist demnach als ein aktiver, durch die Kardiomyozyten gesteuerter Vorgang zu betrachten. Ebenso lässt sich die Diastole in zwei distinkte Phasen gliedern. In der Entspannungsphase kommt es zum Rückgang der ventrikulären Kontraktion, welches mit dem Schließen der Taschenklappen einhergeht. In der darauffolgenden Füllungsphase werden die AV-Klappen erneut geöffnet, was den Blutfluss aus den Vorhöfen in die Ventrikel ermöglicht. Ein Diskussionspunkt ist, ob es sich hierbei um einen primär passiven Vorgang handelt, der durch das elastische Netzwerk des kardialen Bindegewebes, insbesondere das Elastin, reguliert wird, oder ob aktive Prozesse eine Rolle spielen. Somit sind die zugrunde liegenden Mechanismen der Diastole bislang nicht abschließend geklärt.

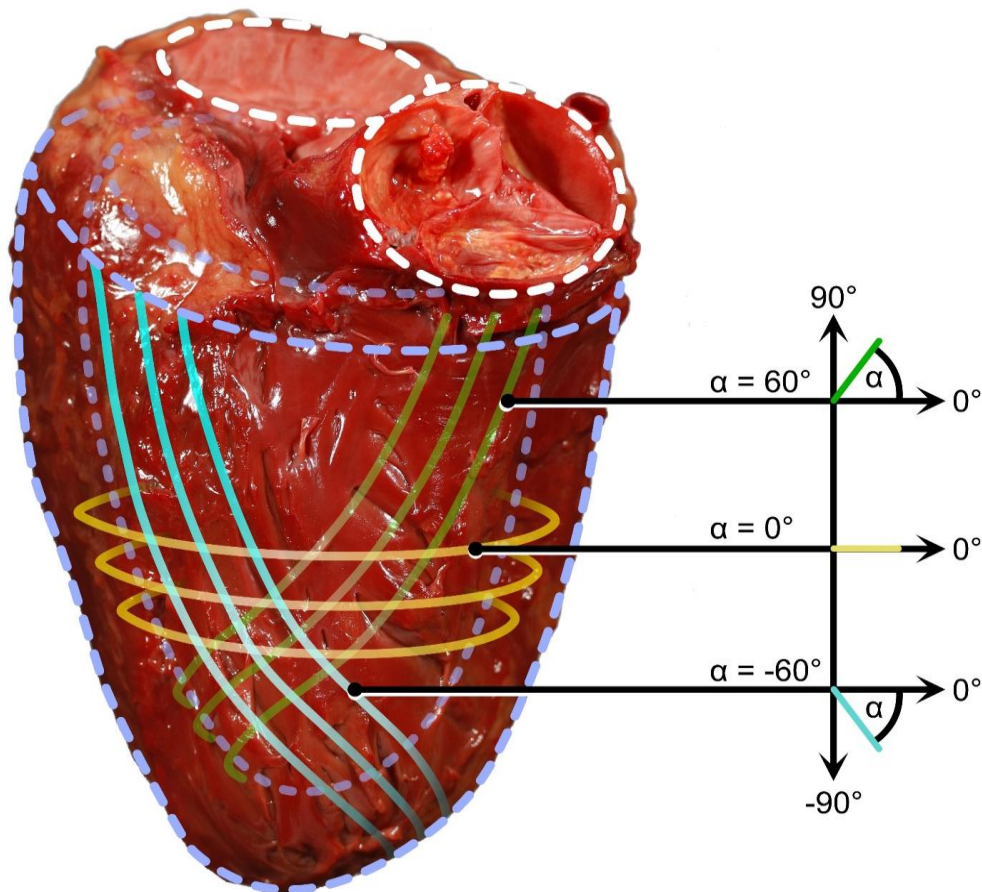
### 1.2.4 Papillarmuskeln

Die Papillarmuskeln sind spezialisierte kardiale Muskelstrukturen, deren Ursprung bilateral in den Trabeculae carneae sowie im Myokard liegt. Charakteristischerweise entspringen sie im mittleren Drittel der ventrikulären Wand und erstrecken sich in den Innenraum des Ventrikels. Nur in seltenen Fällen manifestieren sich die Muskeln aus dem oberen oder unteren Drittel der Kammerwand [11-15]. Sie zählen zu den integralen Bestandteilen des atrioventrikulären Klappenkomplexes, der sich zusätzlich aus dem Ostium, dem Mitralanulus, den Klappensegeln sowie den chordae tendineae zusammensetzt [16-19]. Die Kontraktion der Papillarmuskeln erfolgt zeitlich präzise koordiniert vor der Kontraktion des übrigen Ventrikelmyokards. Dadurch resultiert eine dynamische Stabilisierung der Klappensegel und der chordae tendineae, insbesondere bei plötzlichem intraventrikulärem Druckanstieg [20]. Darüber hinaus trägt ihre Kontraktion entscheidend zum vollständigen

und effektiven Verschluss der AV-Klappen bei, was eine atrioventrikuläre Regurgitation während der systolischen Austreibungsphase des kardialen Zyklus verhindert [21]. Der rechte Ventrikel weist in der Regel drei Papillarmuskeln auf: den anterioren, den posterioren und den septalen Papillarmuskel. Demgegenüber entspringen im linken Ventrikel typischerweise zwei Papillarmuskeln, ein anteriorer und ein posteriorer Muskel, von der freien ventrikulären Wand. Der anteriore Papillarmuskel erhält unter physiologischen Bedingungen eine duale arterielle Versorgung über Äste der linken Koronararterie, wohingegen der posteriore Papillarmuskel lediglich durch eine einzige arterielle Versorgung, entweder über die rechte Koronararterie oder den zirkumflexen Ast der linken Koronararterie, perfundiert wird [22-25]. Die potenziell lebensbedrohlichen Komplikationen infolge einer Fibrosierung der Papillarmuskulatur verdeutlichen die essenzielle Bedeutung der intramuskulären Faserstrukturen für die Sicherstellung und Aufrechterhaltung der integrativen kardialen Funktion [26, 27].

### 1.2.5 Helix-Winkel

Der Helix-Winkel (helix angle, HA) ist ein innovativer Parameter zur Beschreibung der inneren Struktur des Herzens, der auf der architektonischen Organisation der linksventrikulären Herzwand basiert. Er ist definiert als der Neigungswinkel der Myokardfasern gegenüber der transversalen Herzebene und kann Werte zwischen  $-90^\circ$  und  $+90^\circ$  annehmen (Abb. 2). In diesem Zusammenhang wird die mittlere Schicht als  $0^\circ$ -Achse definiert [28]. Tier- und humanmedizinische Studien zeigen jedoch, dass die HAs unter normalen physiologischen Bedingungen in einem engeren Bereich von  $\pm 60^\circ$  liegen [28-31]. Der potenzielle Wertebereich kann sich bei verschiedenen pathologischen Veränderungen der Herzstruktur jedoch deutlich erweitern [32]. Hierbei wurden in einigen Studien auch Winkel jenseits des physiologischen Spektrums von  $\pm 60^\circ$  ermittelt [31].



**Abb. 2: Definition des Helix-Winkels (helix angle, HA).** Der HA wird im Kontext eines isolierten linken Ventrikels definiert. Die Bestimmung des Winkels erfolgt anhand der dreischichtigen Architektur der linken Ventrikelwand. Er wird durch den Winkel der äußeren (cyan) und inneren (grün) Muskelschicht relativ zu der mittleren zirkulären Schicht (gelb) definiert. Die Polarität des HA ist positiv, wenn sich die Myokardfasern im Uhrzeigersinn von der Basis zur Spitze (grün) winden, und negativ, wenn sich die Kardiomyozyten gegen den Uhrzeigersinn von der Basis zur Spitze (cyan) ausrichten. Unter physiologischen Bedingungen beträgt der Wert des HA maximal  $\pm 60^\circ$ .

## 1.3 Propriozeptive Grundlagen

### 1.3.1 Propriozeption

Die Propriozeption vermittelt die unbewusste und bewusste Wahrnehmung des Spannungszustandes sowie der Bewegung des Bindegewebes. Dabei werden propriozeptive Reize aus der Peripherie an den parietalen Lappen des Gehirns afferent zugeleitet. Der Begriff „Propriozeption“ wurde erstmals 1907 von Charles Sherrington verwendet, um diese aus dem Organismus selbst stammende Sinnesmodalität von der Exterozeption und der Interozeption abzugrenzen [33]. Letztere ist bis heute nicht eindeutig definiert bzw. konzeptualisiert, leitet sich aber aus dem vegetativen System ab und wird

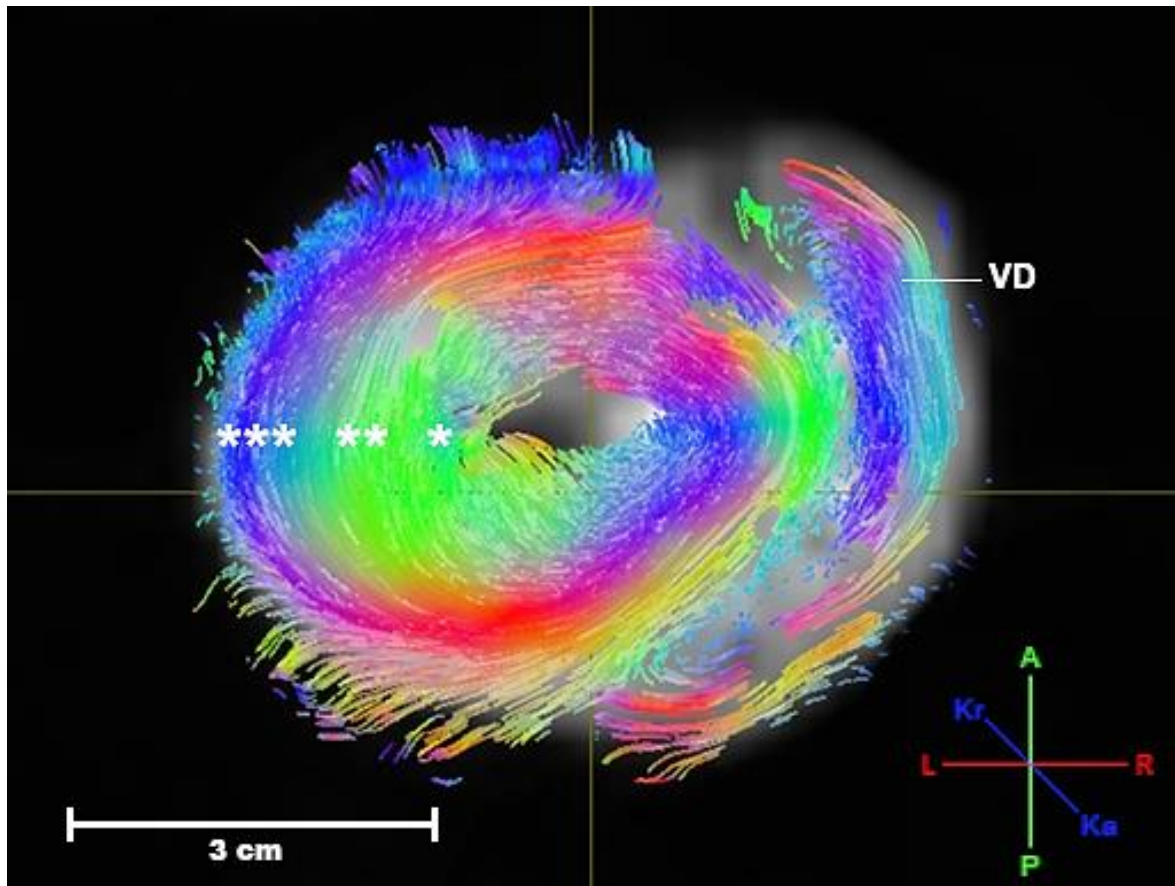
heute vor allem im Hinblick auf ihren Einfluss auf psychische Prozesse diskutiert [34]. Demgegenüber beruht das propriozeptive System auf peripheren korpuskulären Rezeptoren. Bei diesen handelt es sich um Mechanorezeptoren der Tiefensensibilität, die der räumlichen Selbstwahrnehmung des Körpers dienen. Zu den Propriozeptoren zählen unter anderem Ruffini-, Vater-Pacini- und Golgi-Mazzoni-Körperchen, Krause'sche Endkolben, Golgi-Sehnenorgane sowie freie Nervenendigungen. Ihre Funktionalität umfasst die Detektion diverser physikalischer Größen, darunter Dehnung, Zugspannung, Vibration und Scherbewegungen.

### 1.3.2 Ruffini-Körperchen

Die Ruffini-Körperchen repräsentieren eine eigenständige Klasse langsam adaptierender Propriozeptoren, die sich durch einen elliptischen, kapselartigen Aufbau auszeichnen. Ferner sind die topographische Nähe zu Nerven und Gefäßen, die geringe Dichte von Kollagenfasern im Rezeptor-Inneren sowie die Abgrenzung von der Umgebung durch Elastin kennzeichnend für diese Rezeptoren. Ihre historische Einordnung reicht in die Mitte des 19. Jahrhunderts zurück, als der britische Arzt und Anatom Arthur Hassall initiale morphologische Beschreibungen vornahm und diese irrtümlich als "Muskelspindel" klassifizierte [35]. Im Jahr 1898 führten die von August Ruffini durchgeführten gezielten histologischen Untersuchungen zum Nachweis intrakorpuskulärer Nervenfasern in den Skelettmuskeln der Hauskatze [36]. Damit wurde der propriozeptive Charakter dieser Strukturen eindeutig etabliert. Seither haben zahlreiche Studien die Präsenz und Feinstruktur der Ruffini-Körperchen in tierischen und menschlichen Geweben eingehend untersucht [37-40]. Funktionell sind Ruffini-Körperchen primär auf die Registrierung von Dehnungsreizen spezialisiert, die als Relativbewegungen benachbarter Gewebeschichten definiert werden [39, 41]. Aufgrund ihrer langsamen Adaptation tragen sie zur kontinuierlichen Überwachung statischer und dynamischer Spannungsänderungen bei, die in spinalen und supraspinalen Zentren prozessiert werden. Ihre Rolle in inneren Organen und eine mögliche Beteiligung an pathophysiologischen Prozessen ist jedoch bislang weitgehend unerforscht.

## 1.4 Methodische Grundlagen – *Diffusion Tensor Imaging*

Die Diffusionstensorbildgebung (Diffusion Tensor Imaging, DTI) stellt eine spezielle magnetresonanztomographische Technik dar, mittels derer die Ausrichtung und Mikrostruktur von Fasern in biologischen Geweben visualisiert und quantifiziert werden kann [42, 43]. Die Methode basiert auf der Messung der Brown'schen Bewegung von Wassermolekülen, deren gerichtete Diffusion in verschiedene Raumrichtungen quantifiziert wird. Der resultierende Diffusionstensor, dargestellt als 3×3-Matrix, beschreibt die Diffusionsstärke entlang der Hauptachsen. Der daraus abgeleitete Richtungsvektor repräsentiert die gemittelte Verlaufsstrecke der Wasserbewegung im gewählten dreidimensionalen Raum. Hieraus lassen sich Rückschlüsse auf die Integrität und Organisation zellulärer Strukturen schließen [44]. Die Methode hat sich in der Neuroanatomie als Standardverfahren für die Analyse der weißen Substanz etabliert. Mittels deterministischem und statistischem Fasertracking lassen sich Nervenbahnen dreidimensional rekonstruieren und quantitative Vergleiche durchführen [45-47]. Auch in der kardialen Bildgebung findet DTI zunehmend Anwendung. In diesem Kontext wird sie zur Bestimmung der Orientierung von Herzmuskelfasern eingesetzt. Diesbezüglich geben Helix- und Transversalwinkel im Myokard Aufschluss über die räumliche Anordnung der Kardiomyozyten und deren funktionelle Eigenschaften [31, 32, 48] (Abb. 3).



**Abb. 3: Diffusionstensorbildgebung (diffusion tensor imaging, DTI) mit anschließendem Fasertracking eines Schweineherzens.** Die Abbildung wurde anhand von DTI-Daten eines Schweineherzens mit anschließendem Fasertracking generiert (Auflösung: 3mm isotrop). Dabei repräsentieren die blauen Anteile die Richtung von kranial (Kr) nach kaudal (Ka), die roten Anteile die Richtung von links (L) nach rechts (R) und die grünen Anteile die Richtung von anterior (A) nach posterior (P). VD = ventriculus dexter, \*\*\* = subepikardiale Außenschicht des linken Ventrikels, \*\* = zirkuläre Mittelschicht des linken Ventrikels, \* = subendokardiale Innenschicht des linken Ventrikels, cm = Zentimeter

## 1.5 Ziele der Arbeit

Ziel der vorliegenden dreiteiligen Studie ist die systematische Untersuchung des menschlichen Herzens, einschließlich seines Perikards sowie der zugehörigen intramuralen Verschiebeschichten. Der Schwerpunkt liegt auf der Identifikation und Charakterisierung bislang unzureichend erforschter strukturell-funktioneller Interaktionen kardialer Gewebe und deren klinischer Relevanz. Das Ziel dieser Untersuchung besteht darin, ein differenzierteres und vertiefendes Verständnis der physiologischen Mechanismen zu erlangen, die unter anderem während der diastolischen Phase des kardialen Zyklus auftreten. Gegenwärtig sind diese Prozesse noch Bestandteil wissenschaftlicher Diskussionen. Hierbei ist insbesondere die Notwendigkeit einer ganzheitlichen Betrachtung

der Herzphysiologie zu berücksichtigen, da die Funktion des Herzens nicht als isoliertes Resultat einzelner Komponenten verstanden werden kann, sondern vielmehr als ein komplexes, multifaktorielles System. Die drei Perspektiven - sensorisch, strukturell und mechanisch -, welche den Teilstudien zugrunde liegen, sind untrennbar miteinander verbunden und bilden die Grundlage für ein umfassendes Verständnis der kardialen Physiologie.

### 1.5.1 Ziel des ersten Studienabschnittes

Die initiale Phase der vorliegenden Untersuchung fokussiert sich auf die detaillierte Analyse der afferenten Innervation des Perikards. Das Ziel besteht in der systematischen Erfassung und topographischen Visualisierung der propriozeptiven Rezeptoren innerhalb des fibrösen Perikardanteils. In diesem Kontext soll die Dichte der Propriozeptoren in Abhängigkeit von ihrer räumlichen Verteilung und relativen Häufigkeit analysiert werden, um eine differenzierte propriozeptive Kartierung des Perikards zu generieren. Eine vergleichbare Kartierung wird in der wissenschaftlichen Literatur bislang nicht aufgeführt. Der bisherige Forschungsstand zur Propriozeption konzentriert sich vorrangig auf das muskuloskelettale System bei Menschen und höheren Tieren [49-51]. Hinsichtlich der Präsenz und funktionellen Bedeutung von Propriozeptoren in viszerale Organen liegen lediglich vereinzelte Studien vor, die sich vorwiegend auf den Thymus sowie das Pankreas beschränken [52-56]. Es ist davon auszugehen, dass auch weitere innere Organe, insbesondere das kardiovaskuläre System, über sensorische Strukturen verfügen müssen, um eine adäquate funktionelle Steuerung zu ermöglichen. Da im Myokard bisher keine propriozeptiven Sensoren nachgewiesen wurden, richtet sich das methodische Interesse auf das Perikard als potenziellen Träger entsprechender sensibler Afferenzen. Die dokumentierten assoziativen Zusammenhänge zwischen kongenitalen Anomalien des Perikards und thorakalen Schmerzsyndromen legen nahe, dass dem Perikard über seine bislang primär mechanisch verstandene Schutz- und Stützfunktion hinaus eine integrative Rolle in der kardiovaskulären Homöostase zukommt [57-65]. Eine potenzielle sensorische Funktion des Perikards könnte eine Schlüsselrolle bei der kontinuierlichen Überwachung und adaptiven Regulation verschiedener Parameter im Rahmen des kardialen Zyklus einnehmen. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen einen wesentlichen Beitrag zur Klärung grundlegender physiologischer Kontrollmechanismen der Herzaktion, zur pathogenetischen Differenzierung kardialer Erkrankungen sowie zur gezielteren Entwicklung therapeutischer Strategien leisten.

### 1.5.2 Ziel des zweiten Studienabschnittes

Der zweite Abschnitt der Studie beinhaltet eine vertiefende morphologisch-funktionelle Analyse des anterioren und posterioren Papillarmuskels des linken Ventrikels. Trotz der Vielzahl an vorgeschlagenen Klassifikationen der Papillarmuskeln in der Fachliteratur [11, 14-16, 66-72], bleibt die strukturelle Einbindung der Papillarmuskeln in die kompakte Myokardwand, insbesondere hinsichtlich der Art und Tiefe ihrer Verankerung, bislang weitgehend unbeachtet. Eine präzise Untersuchung dieser strukturellen Schnittstelle erweist sich jedoch als essenziell, um die funktionelle Kopplung zwischen Papillarmuskeln und Ventrikelwand zu verstehen. Zudem kommt der Papillarmuskelbasis eine besondere klinische Relevanz zu, da sie sowohl die Eintrittspforte für die arterielle Versorgung des Muskels als auch das Areal der elektrischen Erregungsweiterleitung darstellt. In diesem Kontext manifestiert sich die morphologische Charakterisierung der Verankerung nicht nur für das Verständnis der physiologischen Myokardmechanik als essenziell, sondern auch für die Analyse pathophysiologischer Entwicklungen, die mit strukturellen Dysfunktionen in dieser Übergangsregion assoziiert sein können. Eine detaillierte histomorphologische Analyse der Papillarmuskelbasis soll die bislang spärlich dokumentierten radiologischen Daten ergänzen [73]. Folglich stellt die Analyse der papillarmuskulären Verankerung einen zentralen Beitrag zum Verständnis kardialer Regulationsmechanismen dar und könnte langfristig zur Entwicklung gezielter therapeutischer Interventionen führen.

### 1.5.3 Ziel des dritten Studienabschnittes

Im abschließenden Kapitel dieser Studie erfolgt eine detaillierte Diskussion der erhobenen morphologischen Befunde im Kontext ihrer klinisch-praktischen Relevanz durch Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften des Myokards. Das Ziel besteht darin, eine fundierte Grundlage für eine zukünftige umfassende Analyse der Mechanismen der Entstehung und Pathogenese des Takotsubo-Syndroms zu schaffen. Aufgrund der Seltenheit und des transienten Charakters der Takotsubo-Kardiomyopathie ist die Verfügbarkeit postmortaler Herzproben betroffener Patienten erheblich limitiert. Um diesem methodischen Hindernis zu begegnen, soll im Rahmen dieser Studie ein experimentelles Modell entwickelt werden, welches den Zustand eines apikal gedehnten linken Ventrikels effektiv nachahmen soll. Die Beziehung zwischen der architektonischen Konfiguration des Herzens und dessen funktioneller Leistungsfähigkeit scheint von erheblicher Komplexität geprägt zu sein. Diese bemerkenswerte Resilienz gegenüber eindeutigen Analysen ist nicht nur auf die komplexe Struktur des myokardialen Fasersystems und des daraus resultierenden dreidimensionalen Netzwerks zurückzuführen, sondern auch auf die

vielschichtige Natur der intramuralen Bewegungsabläufe innerhalb des Herzmuskels selbst. Historische Studien dokumentieren bereits Fehler bei der Darstellung dieser komplexen Zusammenhänge [74, 75]. Selbst gegenwärtig stützt sich die Interpretation myokardialer Funktionen primär auf hypothetische Modelle [76-80]. In der vorliegenden Arbeit soll zunächst untersucht werden, ob die Spannung in postmortalen Herzproben entlang der Hauptausrichtung der Fasern weitergeleitet wird. In vorangegangenen Studien wurde die lokale Kraftmessung bei lebendigen, schlagenden Herzen bereits untersucht und erfolgreich nachgewiesen [81, 82]. Zudem soll die HA-Verteilung zwischen gesunden Ausgangsherzen und apikal ballonierten Herzen verglichen werden. Bislang existieren keine vergleichbaren Studien, die dieses spezifische Untersuchungsdesign verfolgt haben. Dadurch positioniert sich die vorliegende Arbeit in einem einzigartigen Forschungsfeld und soll einen signifikanten Beitrag zum Verständnis und zur Diagnose des Takotsubo-Syndroms leisten.

## 1.6 Ethische Zustimmung

Alle menschlichen Gewebeproben wurden von Körperspender\*innen des Körperspende-programms der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (HHU) gewonnen. Die vorliegende Studie wurde von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der HHU unter der Nummer 2021-1565 genehmigt und erfolgte in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki sowie auf Grundlage einer schriftlichen Einwilligung der Spender\*innen zur Verwendung des Körpermaterials für Studien- und Forschungszwecke (World Medical Association, 2013; Ethikkommission der HHU, 2021). Die für die Versuchsreihen verwendeten Schweineherzen wurden als reguläre Schlachtprodukte aus der Lebensmittelkette bezogen. Es erfolgte keinerlei Eingriff an lebenden Tieren, ebenso wurde kein Tier zu wissenschaftlichen Zwecken getötet. Die Organentnahme fand ausschließlich im Rahmen des routinemäßigen Schlachtprozesses statt. Somit liegt kein genehmigungspflichtiger Tierversuch im Sinne des Tierschutzgesetzes vor, und eine Prüfung oder Zustimmung durch die Tierethikkommission ist nicht erforderlich.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Material

Sämtliche in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien, Geräte und Programme sind im Anhang unter den ergänzenden Tabellen 1-3 zu finden.

### 2.2. Methoden

#### 2.2.1 Körperspenden

Alle im Rahmen dieser Studie untersuchten humanen Gewebe wurden von Körperspenderinnen und Körperspendern gewonnen, welche am Körperspendeprogramm der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (HHU) teilnahmen. Die Entnahme der Gewebe erfolgte unter Berücksichtigung einer maximalen postmortalen Zeitspanne von 48 Stunden, um die Qualität und Aussagekraft der Proben zu gewährleisten. Sämtliche experimentelle Untersuchungen erfolgten unter Einhaltung der ethischen Grundsätze der Deklaration von Helsinki. Darüber hinaus verfügt das Institut über eine schriftliche Einwilligung der betroffenen Spenderinnen und Spender gemäß den geltenden Bestimmungen. Die Aufbereitung und Verarbeitung der Körperspenden und die daraus gewonnenen Gewebeproben erfolgte je nach Zielsetzung und methodischer Ausrichtung der einzelnen Teilstudien, um den spezifischen Anforderungen der jeweiligen Untersuchungen gerecht zu werden.

Im ersten Abschnitt der vorliegenden Studie wurden humane perikardiale Gewebeproben zur Analyse propriozeptiver Afferenzen des Perikards verwendet. Das Untersuchungsmaterial wurde von acht unfixierten Körperspender\*innen (vier Männer, vier Frauen; mittleres Alter:  $82 \pm 6$  Jahre) entnommen. Im Rahmen der Generierung volumenbasierter sowie oberflächenbasierter Rendering-Modelle eines sogenannten "Standard-Perikards" wurde ergänzend das Herz einer weiteren, ebenfalls unfixierten, weiblichen Körperspenderin (Alter: 91 Jahre) herangezogen. Die Selektion der geeigneten Körperspender\*innen erfolgte unter strikter Einhaltung folgender Auswahlkriterien, um die Validität und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten: 1) Ausschluss chirurgischer Eingriffe in kardialer, mediastinaler oder thorakaler Nähe; 2) keine

dokumentierten oder makroskopisch sichtbaren kardialen Erkrankungen; 3) kein Herzschrittmacher oder andere invasive kardiovaskuläre Interventionen; und 4) Ausschluss primärer mediastinaler Neoplasien sowie sichtbarer Metastasen im thorakalen Bereich. Eine umfassende Übersicht der im Rahmen dieses Studienabschnittes berücksichtigten Körperspender\*innen mit zusätzlichen Informationen ist in Tabelle 1 aufgeführt.

|                               | <b>Körper-Spende-nummer</b> | <b>Geschlecht</b> | <b>Todesalter<br/>In Jahren</b> | <b>Gewicht<br/>In kg</b> | <b>Perikard-<br/>länge<br/>In cm</b> | <b>Anzahl<br/>Rezep-<br/>toren</b> |
|-------------------------------|-----------------------------|-------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| <b>Rezeptoren</b>             | 41/18                       | weiblich          | 86                              | 80                       | 349                                  | 215                                |
|                               | 130/20                      | weiblich          | 83                              | 55                       | 249                                  | 151                                |
|                               | 39/21                       | männlich          | 80                              | 55                       | 298                                  | 246                                |
|                               | 41/21                       | weiblich          | 79                              | 28                       | 232                                  | 126                                |
|                               | 43/21                       | weiblich          | 87                              | 65                       | 310                                  | 211                                |
|                               | 45/21                       | männlich          | 90                              | 45                       | 263                                  | 137                                |
|                               | 65/21                       | männlich          | 82                              | 75                       | 344                                  | 194                                |
|                               | 118/21                      | männlich          | 70                              | 62                       | 225                                  | 196                                |
| <b>Standard-<br/>Perikard</b> | 49/18                       | weiblich          | 91                              | nicht<br>gemessen        | nicht<br>gemessen                    | nicht<br>gemessen                  |

**Tabelle 1: Übersicht über die im ersten Studienabschnitt einbezogenen Körperspender\*innen**

Im zweiten Teilabschnitt der Studie, welcher sich mit der Art und Tiefe der Verankerung der linksventrikulären Papillarmuskeln befasste, wurden insgesamt 69 formalinfixierte menschliche Herzen von Körperspenderinnen und Körperspendern herangezogen (35 Männer, 34 Frauen; mittleres Alter: 80 Jahre). Vor der weiteren Präparation wurden die Körperspenden mit einer 10%igen Formaldehydlösung perfundiert, wodurch auf Gewebeebene eine Fixierung von 4% erreicht wurde. In diesem Teil der Studie wurden keine Körperspender\*innen aufgrund von Alter, Geschlecht oder bekannten medizinischen Vorerkrankungen ausgeschlossen, sofern die allgemeine Morphologie des Papillarmuskel-Komplexes als physiologisch einzustufen war. Eine detaillierte Übersicht der in diesem Teilstudienabschnitt verwendeten Körperspender\*innen einschließlich der jeweiligen Todesursachen laut Totenschein ist in Tabelle 2 dargelegt. Gemäß den Angaben der vorliegenden Totenscheine verstarben 32% der Körperspender\*innen an einer kardialen Erkrankung.

| Körperspende-Nr. | Geschlecht | Todesalter |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
|------------------|------------|------------|-------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------|-------------------------------|----------------------|-------------------------|---------------------------------|--------------|-----------|
|                  |            |            | Atemwegsinfektion | Andere Infektionskrankheiten | Herz-Kreislauf-Erkrankungen | Neoplasma | Chronische Atemwegserkrankung | Verdauungserkrankung | Neurologische Störungen | Diabetes und<br>Merenkrankungen | Verletzungen | Unbekannt |
| #1               | weiblich   | 77         |                   | X                            |                             | X         |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #2               | weiblich   | 78         |                   |                              |                             | X         |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #3               | weiblich   | 73         |                   | X                            |                             |           |                               | X                    |                         |                                 |              |           |
| #4               | weiblich   | 68         |                   |                              |                             |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #5               | weiblich   | 94         |                   | X                            |                             | X         |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #6               | weiblich   | 69         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #7               | weiblich   | 81         |                   |                              |                             |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #8               | männlich   | 82         |                   | X                            |                             |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #9               | weiblich   | 74         |                   |                              | X                           | X         |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #10              | weiblich   | 82         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #11              | weiblich   | 62         |                   |                              | X                           |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #12              | weiblich   | 84         | X                 |                              |                             |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #13              | männlich   | 79         |                   | X                            | X                           |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #14              | weiblich   | 71         |                   | X                            |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #15              | weiblich   | 93         |                   | X                            |                             |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #16              | weiblich   | 65         |                   |                              | X                           |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #17              | weiblich   | 81         |                   |                              | X                           | X         |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #18              | weiblich   | 90         | X                 |                              |                             |           |                               | X                    | X                       |                                 |              |           |
| #19              | weiblich   | 89         |                   |                              |                             |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #20              | männlich   | 80         |                   |                              | X                           |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #21              | männlich   | 90         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #22              | weiblich   | 81         |                   |                              | X                           | X         |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #23              | weiblich   | 86         |                   |                              | X                           |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #24              | männlich   | 79         |                   | X                            |                             |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #25              | männlich   | 82         |                   |                              | X                           |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #26              | weiblich   | 96         |                   | X                            |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #27              | männlich   | 88         | X                 | X                            | X                           |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #28              | weiblich   | 72         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #29              | weiblich   | 69         |                   | X                            | X                           |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #30              | männlich   | 75         |                   |                              |                             | X         |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #31              | männlich   | 76         |                   |                              | X                           |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #32              | weiblich   | 59         |                   |                              |                             | X         |                               | X                    |                         |                                 |              |           |
| #33              | männlich   | 73         |                   |                              | X                           | X         |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #34              | männlich   | 93         |                   | X                            | X                           |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #35              | männlich   | 70         |                   | X                            |                             |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #36              | männlich   | 82         |                   |                              | X                           | X         |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #37              | weiblich   | 75         |                   | X                            |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #38              | weiblich   | 84         |                   | X                            |                             |           | X                             |                      |                         |                                 |              |           |
| #39              | männlich   | 85         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #40              | männlich   | 80         |                   |                              | X                           |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #41              | männlich   | 60         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #42              | weiblich   | 58         |                   |                              | X                           |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #43              | männlich   | 65         | X                 |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #44              | männlich   | 76         |                   | X                            |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #45              | männlich   | 84         |                   | X                            |                             |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #46              | männlich   | 92         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #47              | weiblich   | 63         |                   |                              | X                           |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #48              | männlich   | 97         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #49              | männlich   | 88         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         | X                               |              |           |
| #50              | männlich   | 85         |                   |                              |                             |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #51              | männlich   | 96         |                   | X                            |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #52              | männlich   | 85         |                   |                              |                             |           |                               | X                    |                         |                                 |              |           |
| #53              | männlich   | 81         | X                 | X                            |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #54              | männlich   | 77         | X                 |                              |                             |           |                               | X                    |                         |                                 |              |           |
| #55              | männlich   | 82         |                   |                              | X                           |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #56              | männlich   | 88         |                   | X                            |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #57              | weiblich   | 88         |                   | X                            |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #58              | männlich   | 55         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         | X                               |              |           |
| #59              | weiblich   | 81         |                   | X                            |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #60              | männlich   | 79         |                   |                              | X                           |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #61              | männlich   | 81         |                   | X                            |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #62              | männlich   | 74         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #63              | männlich   | 83         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #64              | männlich   | 78         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #65              | männlich   | 92         |                   |                              |                             |           |                               |                      | X                       |                                 |              |           |
| #66              | weiblich   | 84         |                   |                              | X                           |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #67              | weiblich   | 90         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 | X            |           |
| #68              | weiblich   | 87         |                   |                              | X                           |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |
| #69              | weiblich   | 80         |                   |                              |                             |           |                               |                      |                         |                                 |              |           |

**Tabelle 2: Übersicht über die im zweiten Studienabschnitt einbezogenen Körperspender\*innen**

Im Rahmen des abschließenden Studienabschnittes erfolgte eine eingehende Analyse der viskoelastischen Eigenschaften des postmortalen menschlichen Myokards, wobei sich der Fokus auf potenzielle pathophysiologische Implikationen im Kontext des Takotsubo-Syndroms richtete. Für die vorliegende Analyse wurden sieben Herzen von unfixierten Körperspender\*innen entnommen (drei Männer, vier Frauen; mittleres Alter:  $84 \pm 5$  Jahre). Die Erhebung der Proben unterlag spezifischen Kriterien, um die Validität und Vergleichbarkeit der viskoelastischen Messungen zu gewährleisten. Die Kriterien umfassten folgende Punkte: 1) keine dokumentierten vorausgegangenen chirurgischen Eingriffe im Bereich des Herzens oder Mediastinums; 2) das Fehlen makroskopisch sichtbarer oder dokumentierter kardialer Vorerkrankungen; 3) keine implantierten Herzschrittmacher oder anderweitige kardiale Interventionen; 4) keine makroskopisch erkennbaren primären Tumore oder Metastasen im mediastinalen Raum. Tabelle 3 liefert eine Übersicht über die in diesem Studienanteil einbezogenen Körperspender\*innen. Für die Voruntersuchungen wurden drei zusätzliche Schweineherzen herangezogen, die am Versuchstag frisch von einem Schlachthof bezogen wurden. Sie dienten der Validierung und Reproduzierbarkeit der ergometrischen Untersuchungen unter standardisierten Bedingungen und bildeten somit die methodische Grundlage für die anschließende Analyse des humanen Gewebes.

| Körperspende-Nummer | Geschlecht | Todesalter in Jahren |
|---------------------|------------|----------------------|
| 96/22               | männlich   | 84                   |
| 99/22               | männlich   | 85                   |
| 106/22              | weiblich   | 81                   |
| 132/22              | weiblich   | 77                   |
| 52/23               | weiblich   | 85                   |
| 54/23               | männlich   | 95                   |
| 57/23               | weiblich   | 83                   |

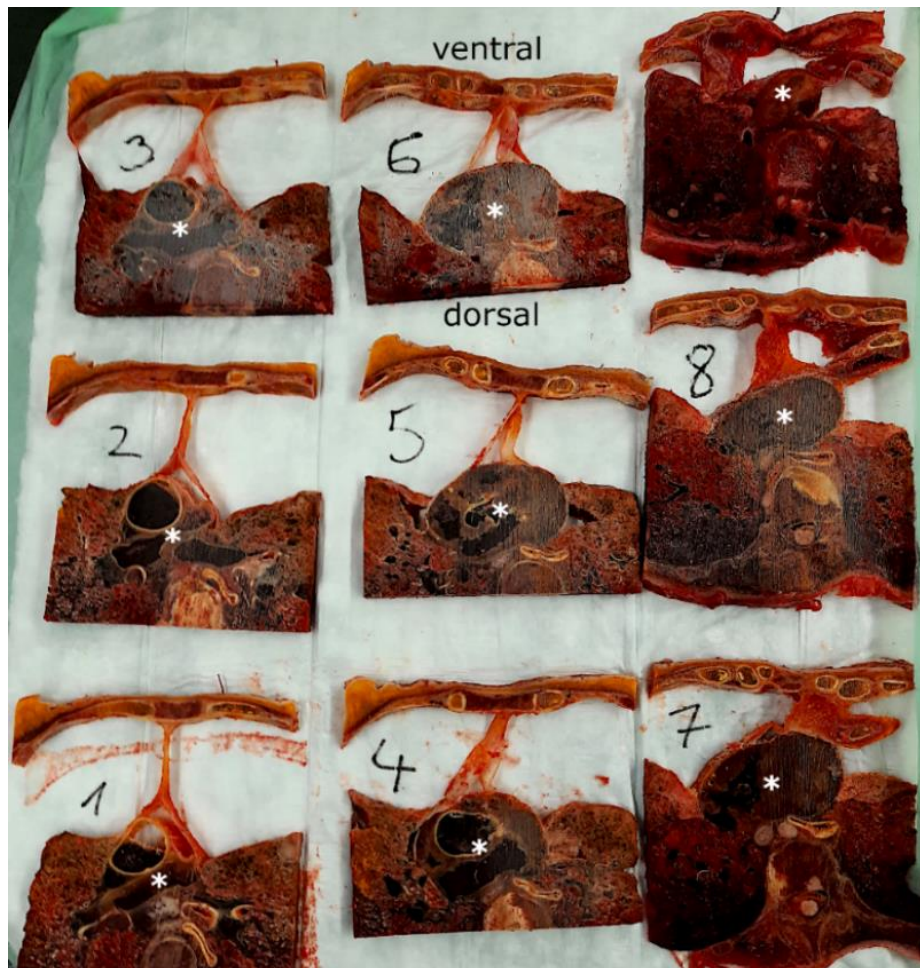
**Tabelle 3: Übersicht über die im dritten Studienabschnitt einbezogenen Körperspender\*innen**

### 2.2.2 Makroskopische Gewebeprozessierung

Die weitere Aufbereitung der gewonnenen Gewebeproben erfolgte in den drei Studienabschnitten jeweils nach spezifischen protokollierten Verfahren.

Für die propriozeptive Analyse des Perikards wurden die kompletten Thoraces der acht unfixierten Körperspenden von den präparationstechnischen Assistenten entnommen und

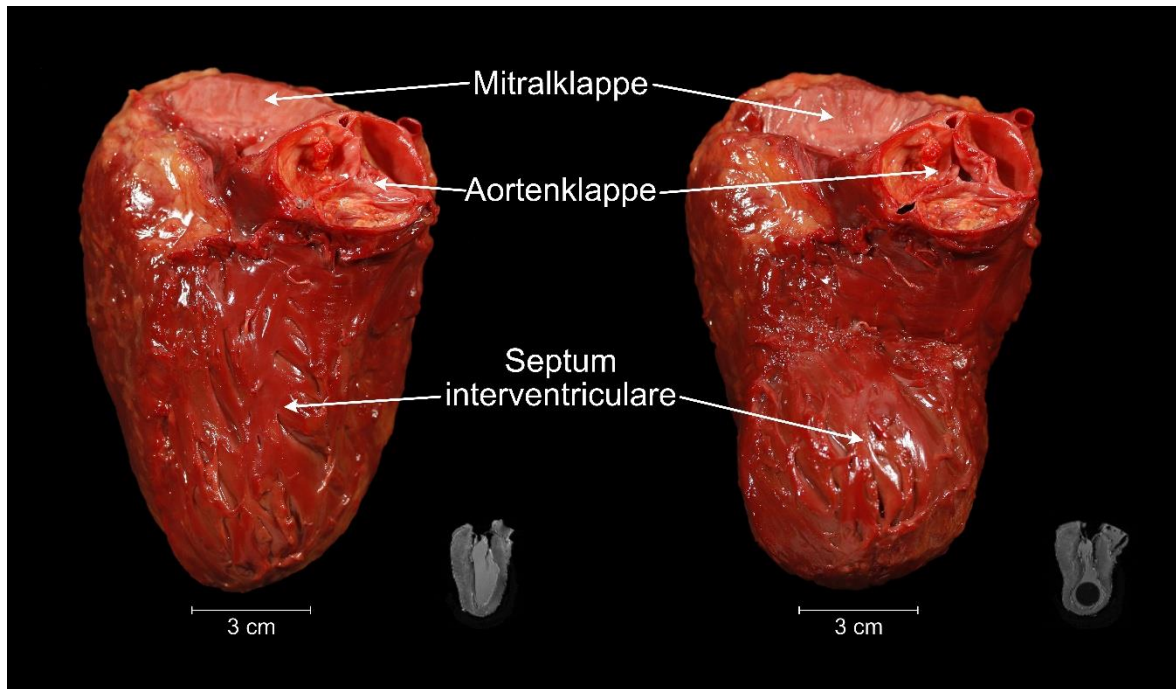
für mindestens eine Woche lang bei -79 °C tiefgefroren. Im Anschluss erfolgte unter Aufsicht der präparationstechnischen Assistenten für jedes Exemplar die Anfertigung horizontaler Schnitte von konstanter Dicke (10mm) entlang der gesamten Herzlänge vom kranialen zum kaudalen Pol (Abb. 4). Da Ruffini-artige Körperchen (Ruffini-like corpuscles, RLCs) eine Länge von mehreren Millimetern erreichen können, wurde zur Prävention doppelter Zählungen eine zirkuläre Auswertung des Perikards in den genannten Abstandsintervallen durchgeführt. Die gewonnenen Scheiben wurden nachfolgend freischwimmend über einen Zeitraum von zwei Wochen in einer 4%igen Formaldehydlösung (Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) fixiert. Im Anschluss wurde das Perikard mitsamt benachbarten Strukturen aus jeder Scheibe entlang der gesamten Zirkumferenz des Herzens exzidiert und für die nachfolgende histologische Aufarbeitung konserviert.



**Abb. 4: Makroskopische Gewebeprozessierung der Thoraxscheiben.** Die tiefgefrorenen kompletten Thoraces von acht Körperspenden wurden mit einer Standsäge entlang der Herzachse von kranial nach kaudal in gleich breite horizontale Scheiben von 10mm geschnitten. Dabei stellt Schnitt 1 die kraniale Begrenzung des Herzens dar. \* = Lage des Herzens in der jeweiligen Thoraxscheibe

Für die detaillierte morphologische Analyse der Verankerung der LVPM wurden die Herzen nach Abschluss der Fixierung der gesamten Körperspender\*innen im Rahmen des Präparierkurses durch präzises Entfernen der Rippen zugänglich gemacht und das Perikard in sternförmiger Konfiguration eröffnet. Im Anschluss daran erfolgte die vollständige Ablösung der Herzen am Auslass der großen Gefäße innerhalb des Perikards, um eine isolierte Betrachtung des kardialen Gewebes zu ermöglichen. Beide Ventrikel wurden entlang des interventrikulären Septums eröffnet und anschließend mittels gründlicher Spülung mit Leitungswasser von sämtlichen verbliebenen Blutresiduen befreit. Zur Erfassung der Morphologie und räumlichen Orientierung der Papillarmuskeln erfolgte eine systematische fotografische Dokumentation jedes Muskels. Abschließend wurden die LVPM mitsamt dem zugehörigen Myokard aus den isolierten Herzen entnommen und für nachfolgende histologische Untersuchungen in einer 4%igen Formaldehydlösung (Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) bei Raumtemperatur gelagert.

Im finalen Studienabschnitt wurden die viskoelastischen Eigenschaften postmortaler Herzproben analysiert. Zu diesem Zweck erfolgte die thorakale Exzision der Herzen unfixierter Körperspenden durch die präparationstechnischen Assistenten nach Eröffnung der Brusthöhle sowie des Perikards. Die entnommenen Herzen wurden bei 4°C gelagert, um die Gewebeintegrität aufrechtzuerhalten. Anschließend wurden beide Vorhöfe und der rechte Ventrikel reseziert, während die verbliebenen linken Ventrikel mit flüssigem Silikon gefüllt wurden, um die physiologische Ventrikelform für nachfolgende magnetresonanztomographische Messungen (in Kooperation mit der MRT Core Facility) zu stabilisieren (Abb. 5). Im Anschluss an die initiale MRT-Untersuchung wurde der Silikonabdruck entfernt und durch eine Silikonkugel mit einem Durchmesser von 2,7cm substituiert, welche gezielt das apikale Drittel der Ventrikelhöhle dilatierte. Der verbleibende, nicht dilatierte Hohlraum wurde erneut mit Silikon verschlossen, um die Bildung von Luftinseln für eine erneute magnetresonanztomographische Messung zu verhindern.



**Abb. 5: Nicht gedehnter und gedehnter Zustand der linken Ventrikel.** Im Rahmen des experimentellen Vorgehens wurden beide Atrien und der rechte Ventrikel der humanen Herzen entfernt, sodass nur die linke Herzkammer für die Messungen mittels Resonanzbildgebung sowohl im nicht gedehnten Zustand (links) als auch im gedehnten Zustand (rechts) erhalten blieb. Zur Erlangung des gedehnten Zustandes wurde eine Silikonkugel mit einem Durchmesser von 2,7cm an der Herzspitze positioniert, um eine Dehnung des apikalen Drittels des Ventrikels zu induzieren. cm = Zentimeter

### 2.2.3 Histologischer Zuschnitt

Die im Rahmen der ersten und zweiten Teilstudie erhobenen Gewebeproben wurden einer umfassenden histologischen Aufarbeitung unterzogen. Zu Beginn des Verfahrens erfolgte eine präzise Schnittpräparation sämtlicher Proben mit anfänglicher Unterstützung und Einarbeitung durch Prof. Filler, um gleichmäßige und repräsentative Gewebesegmente für die weitere Verarbeitung zu erzielen.

Im ersten Abschnitt der Studie zur Quantifizierung und Lokalisierung der Propriozeptoren des Herzbeutels wurden die fixierten Thoraxscheiben der acht Körperspenden gemäß eines validierten Standardprotokolls weiterverarbeitet. Zu diesem Zweck wurde das Perikard mitsamt den angrenzenden Strukturen (z.B. Lunge, Diaphragma etc.) ringförmig entlang der gesamten Fläche der Herzzirkumferenz entnommen. Die Schnittebenen wurden auf dem Objektträger dabei senkrecht zur Gewebeoberfläche ausgerichtet, um eine präzise Unterscheidung der drei perikardialen Subschichten zu garantieren.

Im Rahmen des zweiten Untersuchungsabschnittes wurde eine präzise quantitative Erfassung der Verankerungstiefe der LVPM in die drei morphologisch differenzierbaren

Subschichten der Ventrikelwand vorgenommen. Die Analyse erfolgte auf der Grundlage von 60 LVPM, die aus 30 menschlichen Spenderherzen (15 Frauen und 15 Männer) stammten und deren AV-Klappen-Komplexe makroskopisch unversehrt und einheitlich präpariert waren. Aus jedem Herzen wurde der anteriore sowie der posteriore Papillarmuskel als Homologe für die Studie entnommen. Die Präparationsprozedur beinhaltete die Entnahme der Papillarmuskeln inklusive des unmittelbar angrenzenden Kammermyokards. Zur differenzierten Darstellung der Papillarmuskelverankerung in die Wandarchitektur erfolgte eine Längsschnittpräparation der resezierten Präparate entlang der Medianebene. Als Resultat konnte der Verankerungskomplex am Übergangsbereich zwischen Papillarmuskel und Herzwand *in-situ* erhalten und visualisiert werden. Die resultierenden Schnittflächen wurden in einer planparallelen Orientierung zum Objektträger ausgerichtet.

## 2.2.4 Histologische Gewebeprozessierung

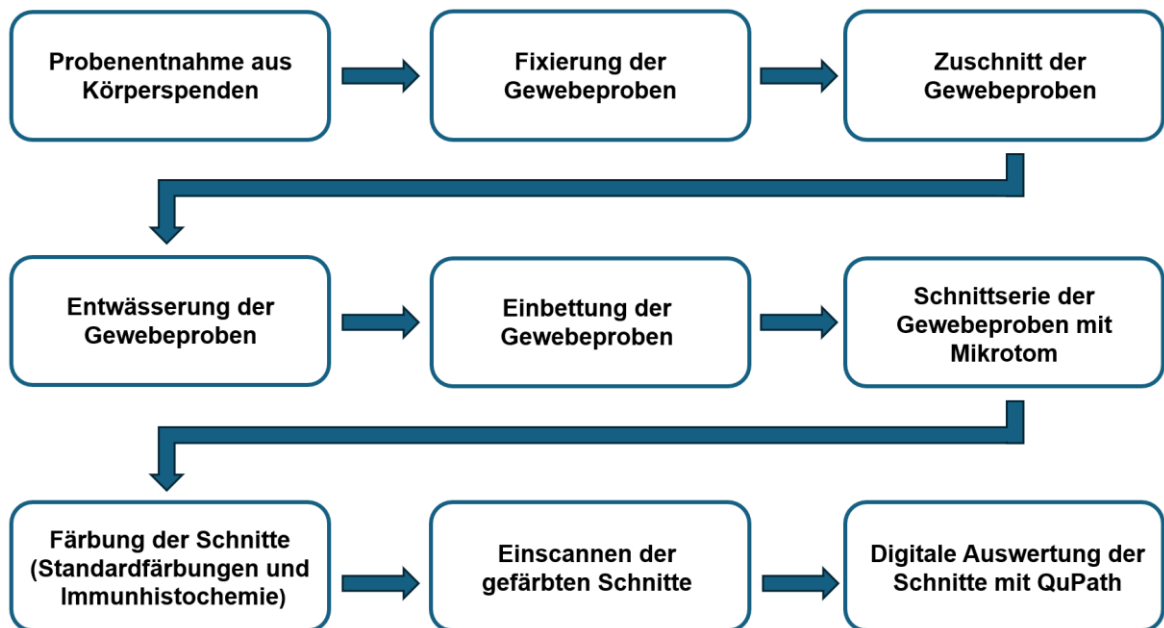
Im Anschluss an die Makropräparation wurden die Gewebeproben durch Unterstützung der technischen Laborassistent\*innen prozessiert. Zunächst wurden die Proben in einem automatisierten Entwässerungssystem (Intelsint S.R.L., Turin, Italien) über einen Zeitraum von mindestens fünf Tagen unter Einsatz einer abgestuften Ethanolreihe (70% - 100%) dehydriert, um eine vollständige Extraktion des Wassers zu gewährleisten und strukturelle Artefakte zu minimieren. Im Anschluss wurde die Infiltration mit flüssigem Paraplast (Leica Biosystems Richmond, Inc., Richmond, USA) durch einen Einbettungsautomaten (MEDITE Medical GmbH, Burgdorf, Deutschland) unter konstanten Temperaturen von 58°C bis 60°C durchgeführt. Zur Standardisierung des Einbettungsvolumens und einer gleichmäßigen Durchdringung mit Paraffin wurden die Proben in dafür vorgesehene Metallformen positioniert. Nach Abschluss der vollständigen Polymerisation des Paraffins wurden die Probenblöcke bis zur Gewebeoberfläche getrimmt. Unter Verwendung eines Präzisionsmikrotoms (Leica Biosystems, Deer Park, USA) wurden nachfolgend Schnittserien mit einer konstanten Schnittdicke von 7µm von den technischen Laborassistent\*innen angefertigt. Die gewonnenen Schnitte wurden auf vorgewärmte, beschichtete Objektträger aufgezogen, um eine nachhaltige Haftung der Proben zu gewährleisten. Abschließend erfolgte eine schonende Erwärmung der Objektträger auf einer Heizplatte bei etwa 40°C, um eine faltenfreie Applikation der Gewebeschnitte zu gewährleisten. Die abschließende Eindeckung der Proben erfolgte mit dem Medium DePeX (SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland).

Für die Perikardstudie wurden aus jedem Probenblock fünf histologische Schnitte gewonnen, von denen einer mit einer standardisierten Elastica-van-Gieson-Färbung nach

Romeis [83] behandelt wurde. In der Papillarmuskelstudie wurden zwei histologische Schnitte pro Muskel angefertigt und die einzelnen Schnitte sowohl mit standardisierten Elastica-Goldner- als auch mit Azan-Färbungen gemäß den von Romeis vorgegebenen Protokollen [83] gefärbt. Zur umfassenden Evaluierung der Verankerungsklasse über den gesamten Papillarmuskel hinweg wurden zusätzlich zehn vollständige Papillarmuskeln in Serien von Schnitten mit einem Abstandsintervall von 0,5mm angefertigt. Die Einfärbung dieser Schnitte erfolgte gemäß der zuvor genannten Standardprotokolle durch das Laborpersonal (Andrea Paas). Die detaillierten Anleitungen für die drei Standardfärbungen sind den Protokollen im Anhang (Färbeprotokolle 1-3) zu entnehmen.

Für die propriozeptive Kartierung des Perikards wurden in weiteren Schnitten mittels immunhistochemischer Verfahren die zuvor in der histochemischen Standardfärbung identifizierten Korpuskel exemplarisch als Ruffini-Körperchen validiert. Die Durchführung der Immunhistochemien erfolgte durch das Laborpersonal (Robert Kubitzka). In diesem Kontext wurden die Verteilung von Nervenfasern sowie das Vorkommen freier Schwann-Zellen als entscheidende Kriterien zur Evaluierung der Korpuskel herangezogen. Zu diesem Zweck wurden primäre Antikörper gegen pan-Neurofilament (pNF; BioLegend, #837904) in einer Endkonzentrationen von 2µg/ml eingesetzt. Zur weiteren Spezifizierung der Ruffini-Körperchen kamen zusätzlich Antikörper gegen S100 (Dianova, #DNA-AB-179523; Verdünnung 1:200) als Marker sensorischer Nervenfasern und Gliazellen, Calcitonin *Gene-Related Peptide* (CGRP; Abcam, #AB135271; 15µg/ml) als Indikator sensorischer Fasern des peripheren Nervensystems, *Transient-Receptor Potential Cation Channel 4* (TRPC4; Invitrogen, #PA5-18987; 5 µg/ml) als nicht-selektiver Kalziumkanal sensorischer Fasern und Tyrosinhydroxylase (Merck Millipore, #MAB318; 12µg/ml) zum Nachweis sympathischer Efferenzen zur Anwendung. Für die Visualisierung kamen sekundäre Antikörper (Anti-Maus-IgG, Vector, #BA-2000; Anti-Maus-IgM, BioLegend, #401102) in einer Verdünnung von 1:250 zum Einsatz. Die Farbentwicklung erfolgte mittels Streptavidin-HRP (BioLegend, #405210, 1:800), gefolgt von der Applikation des NovaRED-Farbstoffes (Vector, #SK-4800). Die detaillierten Anleitungen der beschriebenen immunhistologischen Untersuchungen sind den Färbeprotokollen 4 - 8 im Anhang zu entnehmen.

Sämtliche histologischen Schnitte wurden für die Auswertung mit einem Scanner (Motic®, MoticEasyScan Infinity 100) eingescannt und digital mit dem Programm QuPath (Version 0.5.1) ausgewertet.



**Abb. 6: Zusammenfassung der Arbeitsschritte.** Die Abbildung demonstriert die einzelnen Methodenschritte von der Probenentnahme der Gewebe aus den Körperspenden bis hin zur digitalen Auswertung der fertigen histologischen Schnitte.

## 2.2.5 Visualisierung der Rezeptoren

Zur detaillierten Analyse der räumlichen Verteilung und strukturellen Anordnung von Propriozeptoren im menschlichen Perikard für den ersten Studienabschnitt erfolgte die Erstellung sowohl eines *Volumen-Rendering*- als auch eines *Oberflächen-Rendering*-Modells eines Herzens durch resonanztomographische und photogrammetrische Verfahren. Die dreidimensionalen Rekonstruktionen basieren auf einem sorgfältig präparierten Herz-Perikard-Komplex. Zu diesem Zweck wurde der Leichnam einer weiblichen Körperspenderin verwendet und sämtliche an das Perikard angrenzende Gewebestrukturen vom präparationstechnischen Personal (Kay Körner) präzise entfernt, um das Herz mitsamt seiner anatomisch korrekten Aufhängung sowie des Zwerchfells in der natürlichen *in-situ*-Position zu erhalten (Abb. 7). Zur Gewährleistung der physiologisch bedingten Ausprägung der diaphragmalen Vorwölbungen wurde ein speziell angefertigtes Stützgestell aus Epoxidharz eingesetzt. Das fertige Präparat, das fortan als Referenzmodell ("Standard-Perikard") diene, wurde anschließend mithilfe magnetresonanztomographischer sowie photogrammetrischer Verfahren dreidimensional aufbereitet und digitalisiert.

#### 2.2.5.1 Volumen-Rendering-Modell/ MRT

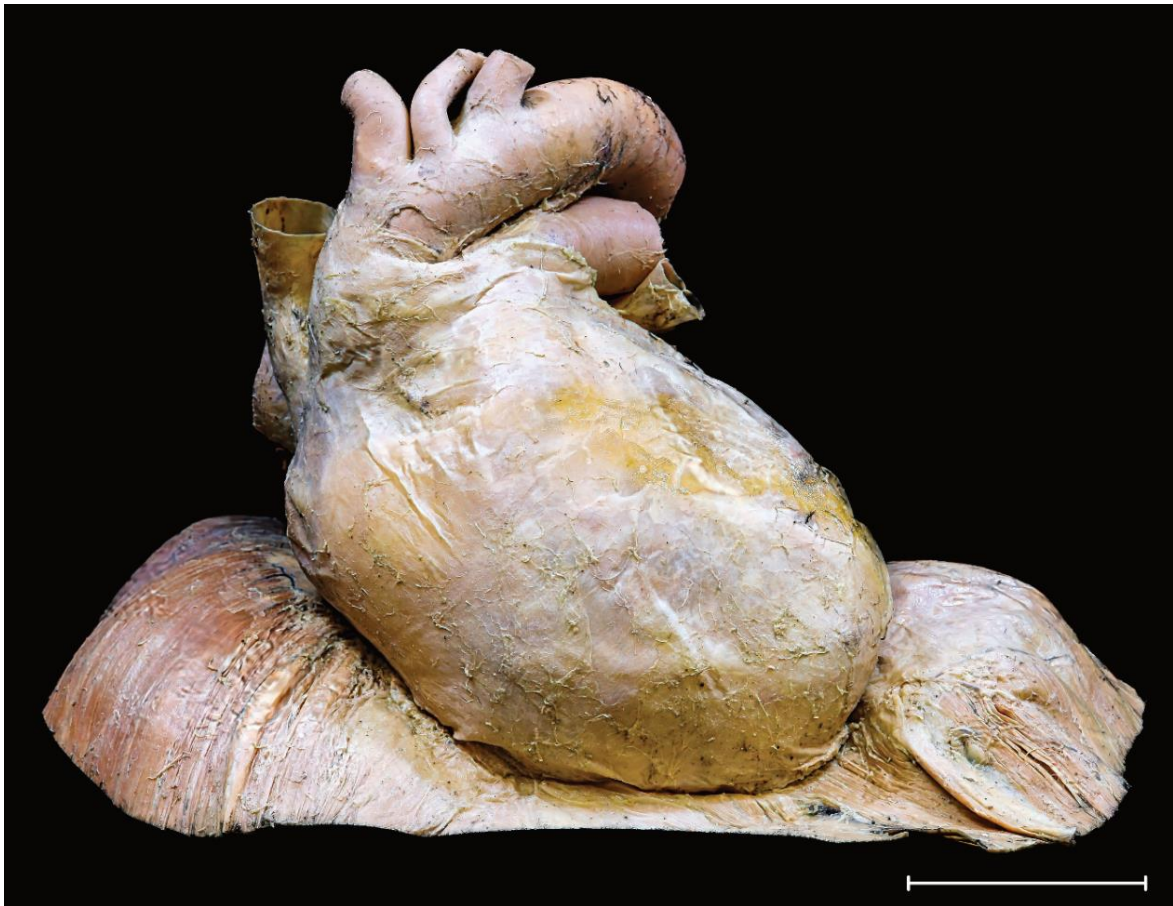
Für die Generierung eines volumenbasierten Rendering-Modells zur detaillierten Darstellung der intrakardialen Strukturen sowie zur präzisen Zuordnung der acht untersuchten Perikardpräparate zum Referenzmodell ("Standard-Perikard") wurde ein hochauflösender dreidimensionaler Ganzherz-Datensatz inklusive Perikard des "Standard-Perikards" verwendet, welcher mittels MRT in Kooperation mit der MRT Core Facility erhoben wurde. Die Volumenvisualisierung resultierte aus einer zielgerichteten Zuweisung von Farb- und Transparenzparametern zu den einzelnen Voxeln, die auf deren spezifischer Signalintensität basierte und mit der Software 3D Slicer (Version 5.1.0) durchgeführt wurde. Die Datenakquisition für die dreidimensionale Volumendarstellung mittels MRT erfolgte an einem 3-Tesla-Scanner (Magnetom Trio, Siemens AG, Healthineers, Erlangen, Deutschland) unter Verwendung einer 12-Kanal-Kopfspule. Die bildgebenden Aufnahmen des Herzens wurden mittels einer 3D *Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo* (MP-RAGE)-Sequenz realisiert, welche folgende technische Parameter erfüllte: Echozeit (TE)/Inversionszeit (TI)/Repetitionszeit (TR) betrugen 3,35/900/1720ms; Flipwinkel 9°; Akquisitionsmatrix von 384 × 384 × 256; isotrope Voxelgröße von 0,5 × 0,5 × 0,5mm<sup>3</sup>; Anzahl der Mittelungen 5; Gesamtdauer der Datenaufnahme 29:12 Minuten.

#### 2.2.5.2 Oberflächen-Rendering-Modell/ Photogrammetrie

Zur Visualisierung der statistischen Ergebnisse wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Kay Körner ein Oberflächen-Rendering-Modell mittels Photogrammetrie erstellt. Zu diesem Zweck wurden über 1000 Einzelbilder des "Standard-Perikards" aus diversen Perspektiven mit einer Spiegelreflexkamera (Canon 750D, APS-C-Sensor, Objektiv mit 60mm Makro-Brennweite) aufgenommen. Der Digitalisierungsprozess erfolgte gemäß dem nach Spiriev et al. dokumentierten Vorgehen [84].

#### 2.2.5.3 Übertragung der Rezeptorlokalisationen auf das "Standard-Perikard"

Die digitale Kartierung sowie Visualisierung der Propriozeptoren erfolgte durch die Übertragung der exakten Positionen sämtlicher Rezeptor-Korpuskel auf die volumetrischen und oberflächenbasierten *Rendering*-Modelle des "Standard-Perikards" unter Verwendung der Software 3D Slicer (Version 5.1.0 [85]). Die Zuordnung der präzisen räumlichen Lokalisation der einzelnen Rezeptoren basierte auf detaillierten histologischen Untersuchungen, wobei jeweils die angrenzende Umgebung sowie relevante anatomische Landmarken als Referenz herangezogen wurden.

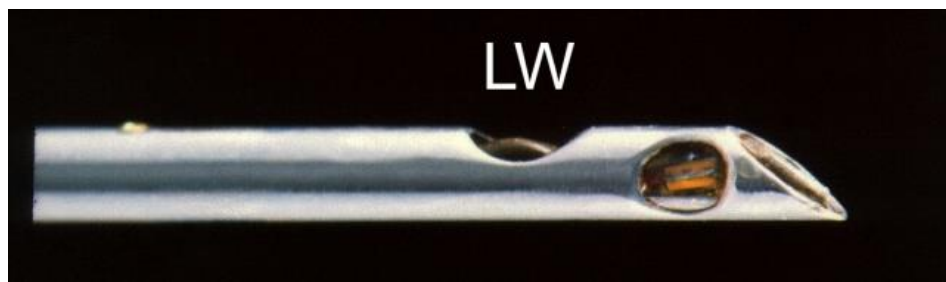


**Abb. 7: Präparation des "Standard-Perikards".** Zur Visualisierung der Verteilung der Rezeptoren wurde ein "Standardperikard" als Referenz herangezogen, auf das alle Rezeptoren der acht untersuchten Perikardien übertragen wurden. Die Übertragung der histologisch nachgewiesenen Rezeptoren auf das "Standard-Perikard" erfolgte unter Berücksichtigung anatomischer Landmarken der angrenzenden Umgebung. Die Abbildung zeigt die Präparation des "Standard-Perikards" des Herzens einer 91-jährigen, weiblichen Körperspenderin. Der Präparationsschritt wurde von Kay Körner durchgeführt. Zu diesem Zweck wurde das gesamte Gewebe um das Perikard herum sorgfältig entfernt, um die natürliche Position des Herzens *in-situ* auf dem Zwerchfell zu erhalten. Der vorliegende Maßstab beträgt 5cm. cm = Zentimeter (nach Piermaier et al. [86])

### 2.2.6 Ergometrie

Im Rahmen der Untersuchung des dritten Studienabschnittes zur Viskoelastizität des postmortalen Myokards wurden ergometrische Messungen als Vorversuche zusammen mit Prof. Lunkenheimer durchgeführt. Zu diesem Zweck erfolgte in drei Schweineherzen jeweils die Implantation von vier Nadelkraftsonden [87, 88] in die obere Wandregion des linken Ventrikels (Abb. 8). Drei der Sonden wurden nahe der Basis des linken Ventrikels positioniert, wobei lokale Kraftmessungen im subepikardialen Bereich, in der zirkulären Mittelschicht sowie im subendokardialen Bereich des Myokards durchgeführt wurden. Darüber hinaus wurde eine weitere Sonde in der Nähe der apikalen Dilatationsregion platziert. Zur Dehnung des apikalen Drittels der Ventrikelwand wurde ein vierarmiger

Spreizer in die linke Ventrikelhöhle eingeführt. Die kurzen Spreizplatten am distalen Ende jedes Spreizerarms wurden im äußersten apikalen Bereich positioniert. Mittels manueller Öffnungs- und Schließbewegungen des Spreizers wurde eine zyklische Dehnung und Entlastung der apikalen Wandregion induziert. Währenddessen wurden die lokalen Kräfte an der ventrikulären Basis im subendokardialen, subepikardialen und zirkulären Mittelschichtbereich (Sonde 1-3) sowie nahe der apikalen Dehnungsstelle (Sonde 4) kontinuierlich mit einem 4-Kanal-Oszilloskop (RIGOL Technologies EU GmbH, Gilching, Deutschland) gemessen.



**Abb. 8: Nadelkraftsonde.** Die Abbildung demonstriert die Nadelkraftsonde mit einer Länge von 14mm und einer Dicke von 1,5mm, welche für die ergometrischen Untersuchungen eingesetzt wurde. Sie ist mit einem seitlichen Fenster (lateral window, LW) sowie einer integrierten Biegestange ausgestattet, welche die seitliche Kraft misst, die durch das umgebende Myokardgewebe erzeugt wird.

### 2.2.7 Magnet-Resonanz-Bildgebung

Für den dritten Studienanteil über die Viskoelastizität des postmortalen Herzens wurden Diffusions-Magnetresonanztomographie-Messungen von den sieben entnommenen humanen linken Ventrikeln an einem klinisch validierten 3-Tesla-MRT-System (MAGNETOM Trio, TIM-System; Siemens Healthineers AG, Forchheim, Deutschland) in Kooperation mit Dr. Eric Bechler der MRT Core Facility durchgeführt. Zur Gewährleistung eines optimalen Signal-Rausch-Verhältnisses sowie einer homogenen Feldverteilung wurde eine 12-Kanal-Kopfspule verwendet. Für die Erfassung der mikrostrukturellen Myokardeigenschaften wurde eine *Pulsed-Gradient-Spin-Echo*-Diffusionswichtung (PGSE-DWI) gemäß dem Protokoll von Mekkaoui et al. [32] angewendet. Die volumetrische Bildgebung erfolgte mit einer isotropen Voxelgröße von  $2\text{mm}^3$  und einem *Field of View* (FoV) von  $168\text{mm} \times 168\text{mm}^2$ , verteilt auf 55 Schichten ohne Zwischenschichtabstand, um eine vollständige Abdeckung des linken Ventrikels zu gewährleisten. Zur quantitativen Erfassung der Diffusionseigenschaften wurden sechs orthogonal angeordnete Diffusionsgradienten mit einem b-Wert von  $2000\text{s/mm}^2$  verwendet. Die Diffusionszeit  $\Delta$  betrug 46ms, womit ein optimaler Kompromiss zwischen Diffusionssensitivität und

Signalintensität erzielt wurde. Insgesamt wurden 24 Messdurchgänge durchgeführt, um das Signal-Rausch-Verhältnis zu erhöhen und statistische Ausreißer zu minimieren. Die Sequenzparameter wurden auf eine Wiederholungszeit (TR) von 8430ms und eine Echozeit (TE) von 96ms abgestimmt. Die Gesamtdauer der Datenakquisition betrug 24 Minuten und 5 Sekunden, einschließlich zweier gegensätzlicher Phasenkodierungsrichtungen (anterior-posterior und posterior-anterior), zur Reduktion von Verzerrungen durch magnetische Suszeptibilitätsgradienten. Die Rohdaten wurden einer umfassenden Vorverarbeitung unterzogen, die Elemente der Rauschreduktion, der Bewegungs- und Verzerrungskorrektur (u. a. mittels TOPUP-Algorithmus) sowie die Normalisierung an anatomische Referenzmodelle umfasste. Im Anschluss daran wurden diffusionsbasierte Kenngrößen wie *Mean Diffusivity* und *Fractional Anisotropy* berechnet, um Rückschlüsse auf mögliche pathophysiologische Veränderungen der Myokardstruktur zu ziehen.

### 2.2.8 Berechnung der Helix-Winkel

Aus den gewonnenen MRI-Daten für die Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften des Myokards wurden HA mit selbstentwickelten MATLAB-Skripten (Version R2022a; The MathWorks, Inc.) systematisch erfasst und ausgewertet. Die Skripte wurden von Janna Steinebach im Rahmen ihrer Masterarbeit an der HHU entwickelt und in ihrer Arbeit erörtert [89]. Kurz zusammengefasst: als Datengrundlage dienten die kardialen DTI-Daten, deren primärer Eigenvektor mittels der Funktion "dtifit" aus dem FMRIB's *Diffusion Toolbox* bestimmt wurde [90, 91]. Dieser Vektor repräsentiert die bevorzugte Diffusionsrichtung der Myokardfasern und liefert die Datengrundlage für die Kalkulation des HA. Der primäre Eigenvektor wurde auf die lokale Tangentialebene des linken Ventrikels projiziert, um ausschließlich tangentielle Faserinformationen ohne axiale Verzerrungen zu erhalten. Anschließend wurde der Winkel zur zirkumferenziellen Richtung berechnet und durch eine 180°-Rotation in den physiologisch relevanten Bereich von -90° bis +90° überführt.

Zur statistischen Analyse der HA-Verteilung wurden die Werte in segmentierte Klassen von 10° Breite ( $\pm 5^\circ$  um den Klassenmittelpunkt) kategorisiert. Innerhalb jeder Klasse wurde die Häufigkeit der Winkelwerte für jeden Ventrikel auf eine Gesamtwahrscheinlichkeit von eins normiert, um Varianzen durch unterschiedliche Voxelzahlen pro Probe auszugleichen. Im Anschluss daran wurden die normalisierten Verteilungen über die Stichprobe von  $n=7$  Ventrikeln gemittelt, um populationsbasierte Parameter der Myokardfaserausrichtung zu quantifizieren.

Für die regionale Analyse wurde aus jedem Herzen eine repräsentative transversale Schnittbildebene ausgewählt, deren Schnittbild sowohl apikale als auch basale Anteile der linken Herzkammer umfasste. Die vorliegende Ebene wurde in drei konzentrische Segmente unterteilt: einen subendokardialen Ring, den mittlere Wandbereich ("*mid-wall circular cuff*") und einen subepikardiale Ring.

In jedem Segment wurden die deskriptiven Kennwerte Mittelwert, Maximum und Minimum des HA sowohl im nicht gedehnten als auch im gedehnten Zustand berechnet. Die Ergebnisse wurden über alle sieben Herzen gemittelt, um schichtenspezifische Unterschiede in der Faserarchitektur in Abhängigkeit vom Dehnungszustand zu identifizieren.

### 2.2.9 Statistik

Im Rahmen der Analyse der propriozeptiven Kartierung des menschlichen Perikards (Studienabschnitt 1) wurde eine Clusteranalyse von Patrick Brzoska durchgeführt, mittels derer die Dichte der Rezeptor-Korpuskel pro Fläche in Abhängigkeit von den relativen Koordinaten der dreidimensionalen Perikardoberfläche ermittelt wurde. Die Analyse erfolgte unter Verwendung der Python-Bibliothek Scikit-learn [92], während die Visualisierung der dreidimensionalen Streudiagramme mittels der Plotly-Bibliothek [93] umgesetzt wurde. Zur Abbildung der logischen Partitionierung der Daten wurde unter Verwendung des hierarchischen agglomerativen Clusterverfahrens mit *WARD-Linkage* zunächst ein Dendrogramm erstellt [94, 95]. In Ergänzung zum hierarchischen Ansatz wurde das *Mean-Shift*-Verfahren eingesetzt, um lokale Maxima der Nachbarschaftsdichte zu identifizieren [96]. Für jeden Datenpunkt berechnet der Algorithmus den Schwerpunkt innerhalb eines definierten Fensterbereichs um den betreffenden Punkt. In der Folge verschiebt sich das Fenster in Richtung des berechneten Schwerpunkts. Sobald keine weitere Verschiebung notwendig ist, endet die Iteration und der Datenpunkt wird dem ermittelten Zentrum zugeordnet. Die Bildung von Clustern erfolgt durch die Zusammenfassung von Datenpunkten, die ein gemeinsames Zentrum teilen. Dabei repräsentiert das Zentrum den Punkt höchster Dichte innerhalb des Clusters. Die Wahl der Fenstergröße hat einen maßgeblichen Einfluss auf die Anzahl gefundener Cluster. Zur Schätzung des optimalen Parameters der Bandbreite wurde die in *Scikit-learn* implementierte Funktion zur Bandbreitenschätzung herangezogen. Im Anschluss wurde die erhaltene Dichteinformation genutzt, um eine *Heatmap* zu erzeugen, in der jeder Datenpunkt entsprechend seiner relativen Distanz zum zugehörigen Clusterzentrum eingefärbt wurde.

Für die statistische Auswertung der Verankerungsklassen der Papillarmuskeln (Studienabschnitt 2) wurde das Programm IBM SPSS Statistics (Version 29; IBM Corp., Armonk, NY, USA) gewählt. Zunächst erfolgte eine deskriptive Aufarbeitung der erhobenen Variablen: Die Beschreibung der kategorialen Merkmale erfolgte mittels Häufigkeits- und Prozentangaben, während die kontinuierlichen Daten durch Mittelwerte (M) und Standardabweichungen (SD) definiert wurden. Zur Analyse von Zusammenhängen zwischen nominal- bzw. ordinalskalierten Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test angewendet. Eine Überprüfung der Homogenität der Varianzen erfolgte mittels Levene-Test. Für den Fall homogen verteilter Varianzen wurde ein ungepaarter Zweistichproben-t-Test durchgeführt, um signifikante Differenzen zwischen den Gruppen zu identifizieren. Sämtliche inferenziellen Tests wurden als zweiseitige Prüfungen konzipiert. Das Signifikanzniveau wurde stringent auf  $p < 0,01$  festgelegt, um das Risiko eines  $\alpha$ -Fehlers zu minimieren.

Zur detaillierten Untersuchung der volumetrischen Zustandsänderungen der linken Ventrikel (Studienabschnitt 3) wurde ein Wilcoxon-Test herangezogen, um den nicht gedehnten Ausgangszustand mit dem gedehnten Zustand zu vergleichen. Die Entscheidung für dieses nichtparametrische Verfahren wurde durch eine vorausgehende Kolmogorov-Smirnov-Analyse gestützt, welche eine signifikante Abweichung von der Normalverteilung in den zugrunde liegenden Datensätzen aufzeigte. Des Weiteren wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt, um eine umfassende Evaluierung der Messergebnisse aller sieben Ventrikel zu gewährleisten. Diese ermittelt potenzielle Unterschiede der Mittelwerte über mehrere unabhängige Gruppen hinweg. Im Falle einer Ablehnung der Nullhypothese, was auf signifikante Gruppenunterschiede hindeutet, wurde der Tukey-Kramer-Test durchgeführt, um spezifische Paarvergleiche zu identifizieren.

## 2.2.10 Bildbearbeitung

Die Bildvorverarbeitung wurde unter Anleitung von Prof. Filler in Affinity Photo (Version 2.3; Serif Europe Ltd., Nottingham, UK) und Skylum Luminar Neo (Version 1.20) vorgenommen und beinhaltete die Anpassung des Weißabgleichs, die Optimierung des Kontrasts, die adaptive Rauschreduktion sowie das Zuschneiden auf die relevanten Bildregionen. Die anschließende Komposition und Annotation der Mikrofotografien, einschließlich der Maßstabsbalken und Beschriftungen, erfolgte mithilfe der Programme Affinity Designer (Version 2.3; Serif Europe Ltd., Nottingham, UK) und GIMP (Version 3.0.0). Die Auswertung der MRT-Daten wurde in MATLAB (Version R2022a; The MathWorks, Inc.) ausgeführt, und die resultierenden Diagramme zur Bearbeitung in Inkscape (Version 1.4.2) exportiert.

## 3. Ergebnisse

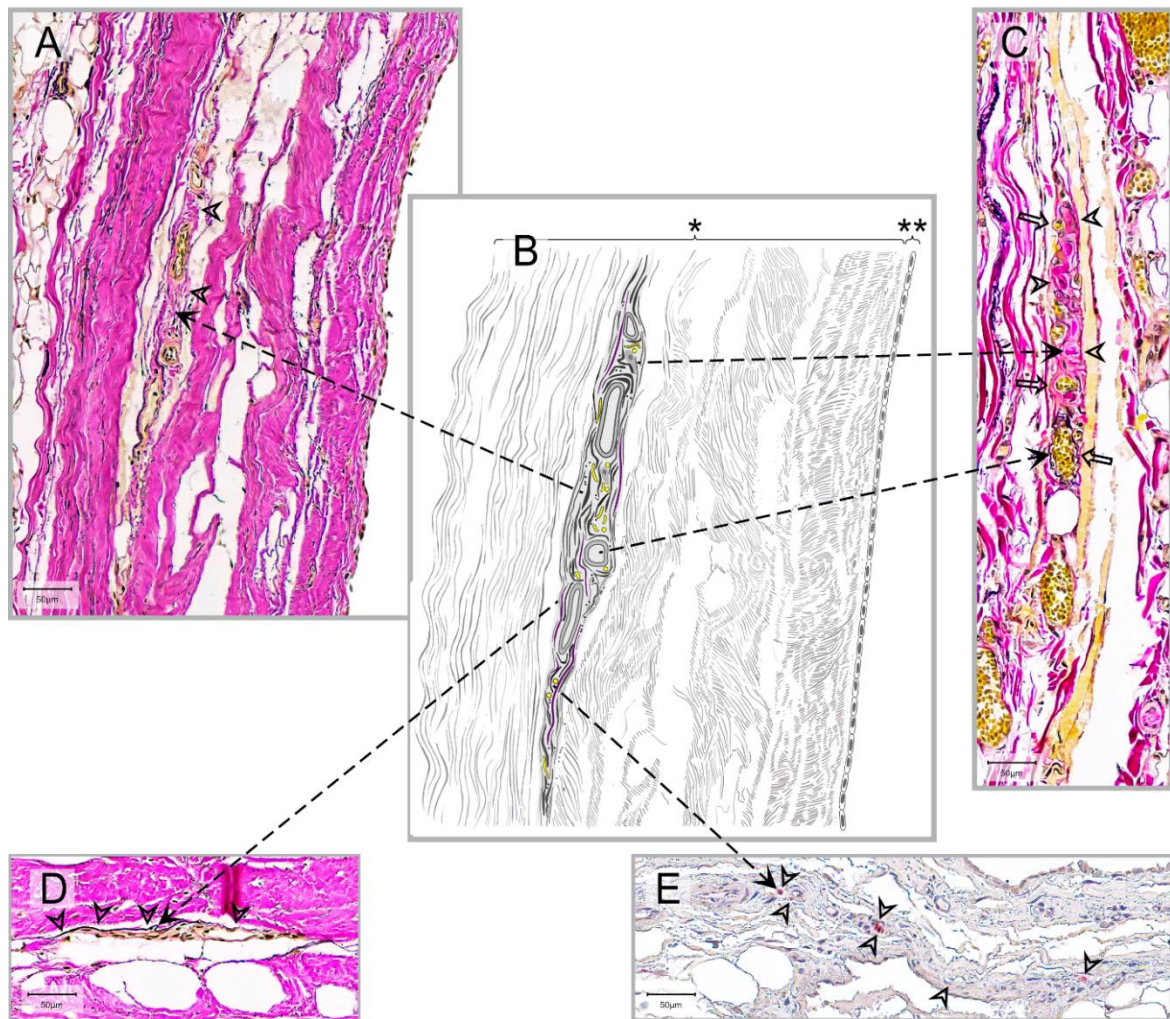
### 3.1 Ergebnisse zum Studienteil 1: propriozeptive Kartierung des Perikards (nach [86])

#### 3.1.1 Definition zählbarer Korpuskel

In der vorliegenden Studie wurden insgesamt acht fibröse humane Perikardien einer eingehenden histologischen Analyse unterzogen, um das Vorhandensein und die Verteilung von korpuskulären Propriozeptoren zu bestimmen. In Anbetracht der variablen morphologischen Ausprägung propriozeptiver Korpuskel, in diesem Fall RLCs, wurde zunächst ein stringenter Kriterienkatalog entwickelt, der eine zuverlässige und reproduzierbare Identifikation sowie quantitative Erfassung dieser perikardialen Rezeptoren ermöglicht. Die Identifizierung von RLCs erfolgt standardmäßig anhand anerkannter spezifischer histologischer Kriterien (Abb. 9):

1. Spindelförmige Gestalt der Rezeptoren
2. Vorkommen heller, epithelioider Zellen
3. Geringere Dichte der Kollagenfasern im Rezeptor-Inneren im Vergleich zum umgebenden Gewebe
4. Abgrenzung von der Umgebung durch straff verlaufende elastische Fasern
5. Durchziehende Blutgefäße

Zusätzlich kann die histologisch nachweisbare topographische Nähe zu Nervenstrukturen bzw. ein Nerveneinwuchs in das Korpuskel als weiteres Kriterium herangezogen werden. Gemäß den vorliegenden Kriterien wurden alle im Perikard lokalisierten Strukturen, die neben der charakteristischen spindelförmigen Gestalt mindestens drei der genannten histologischen Merkmale erfüllten, als RLCs gewertet und in die Zählung einbezogen.

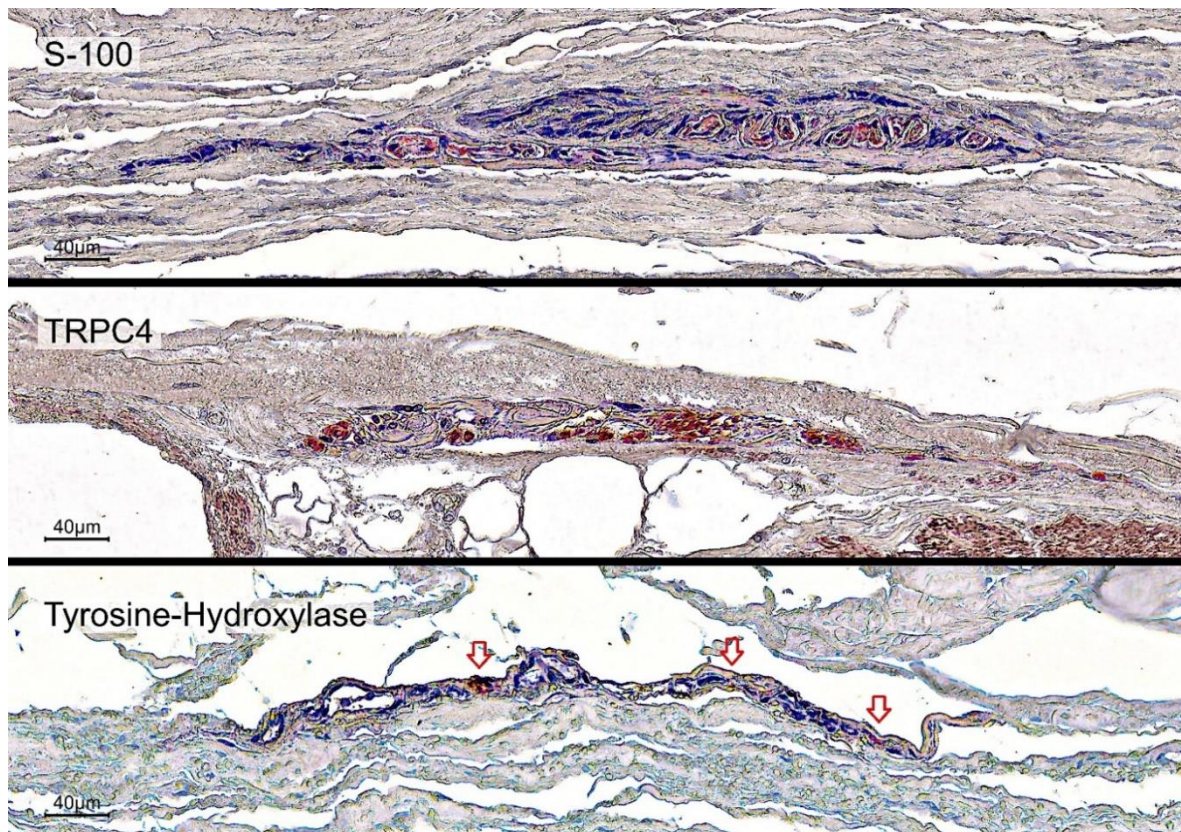


**Abb. 9: Histologische Kriterien für Ruffini-artige Korpuskeln (Ruffini-like corpuscles, RLCs) im menschlichen Perikard.** Die histologischen Kriterien der RLCs umfassen das Vorhandensein von gewundenen Gefäßen und verteilten Nervenfasern, das Auftreten von blassen epithelioiden Zellen, eine im Vergleich zur Umgebung geringere Dichte an Kollagenfasern sowie die Abgrenzung von der Umgebung durch geradlinige, elastische Fasern. Da nicht zwangsläufig alle Indikatoren eines RLC in einer histologischen Ebene ersichtlich sind, wird eine Auswahl von Rezeptoren aufgeführt, um die zuvor genannten Kriterien zu visualisieren. In der vorliegenden Studie wurden alle fusiformen Strukturen innerhalb des Perikards, die mindestens drei der histologischen Anforderungen erfüllen, als RLCs eingestuft. **A)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Färbung: Elastica van Gieson; Maßstab: 50µm) eines RLC im Perikard eines 80-jährigen männlichen Spenders. Die Pfeilspitzen referieren auf die weniger dichten Kollagenfasern innerhalb des Rezeptors im Vergleich zum umgebenden Gewebe. **B)** Schematische Darstellung des in A) dargestellten RLC mit allen aufgeführten histologischen Kriterien. Die Pfeile verweisen auf die entsprechenden Kriterien in den histologischen Bildern. **C)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Färbung: Elastica van Gieson; Maßstab: 50µm) eines RLC im Perikard einer 86-jährigen Spenderin. Die Pfeilspitzen zeigen auf die epithelioiden Zellen, während die Pfeile die verzweigten Gefäße kennzeichnen. **D)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Färbung: Elastica van Gieson; Maßstab: 50µm) eines RLC im Perikard eines 80-jährigen verstorbenen Mannes. Die Pfeilspitzen weisen auf elastische Fasern hin, welche den Rezeptor vom umliegenden Gewebe separieren. **E)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Maßstab: 50µm) mit immunhistochemischer Färbung (Pan-Neurofilament) eines RLC einer 83-jährigen weiblichen Spenderin. Die Pfeilspitzen zeigen auf die in den Rezeptoren vorliegenden Neurofilamente. \* = Pericardium fibrosum, \*\* = Lamina parietalis pericardii serosi, µm = Mikrometer (nach Piermaier et al. [86])

### 3.1.2 Histochemischer und immunhistochemischer Nachweis

In sämtlichen analysierten Perikardpräparaten konnte eine hohe Anzahl von RLCs identifiziert werden, während andere klassische propriozeptive Mechanosensoren wie Vater-Pacini-Körperchen, Golgi-Mazzoni-Körperchen, Krause'sche-Endkolben und Golgi-Sehnenorgane in sämtlichen Proben nicht nachweisbar waren. Die Gesamtzahl der erfassten RLCs der acht vollständigen Perikardien belief sich auf 1476 Exemplare. Die Hochrechnung auf die gesamte Perikardoberfläche impliziert folglich eine signifikant höhere Dichte dieser Mechanorezeptoren, als die Analyse der standardisierten 10mm-Segmente suggeriert.

Für die detaillierte Evaluation der RLCs wurden vier weitere etablierte immunhistochemische Marker verwendet, die jeweils zehnfach nach validierten Protokollen repliziert wurden (Abb. 10). Die Ergebnisse der Färbungen zeigten durchgehend eine stark positive Immunreaktion für das Calcium-bindende Protein S100 und den *Transient-Receptor-Potential*-Kanal TRPC4. Dieser Befund weist auf das Vorhandensein differenzierter sensorischer Afferenzen in den Rezeptoren hin. Zusätzlich wurde Tyrosinhydroxylase als spezifischer Marker sympathischer Efferenzen konstant nachgewiesen. Demgegenüber zeigten die Färbungen für das *Calcitonin Gene-Related Peptide* (CGRP), ein charakteristisches Neuropeptid peripherer sensorischer Fasern, ausschließlich negative Testergebnisse.



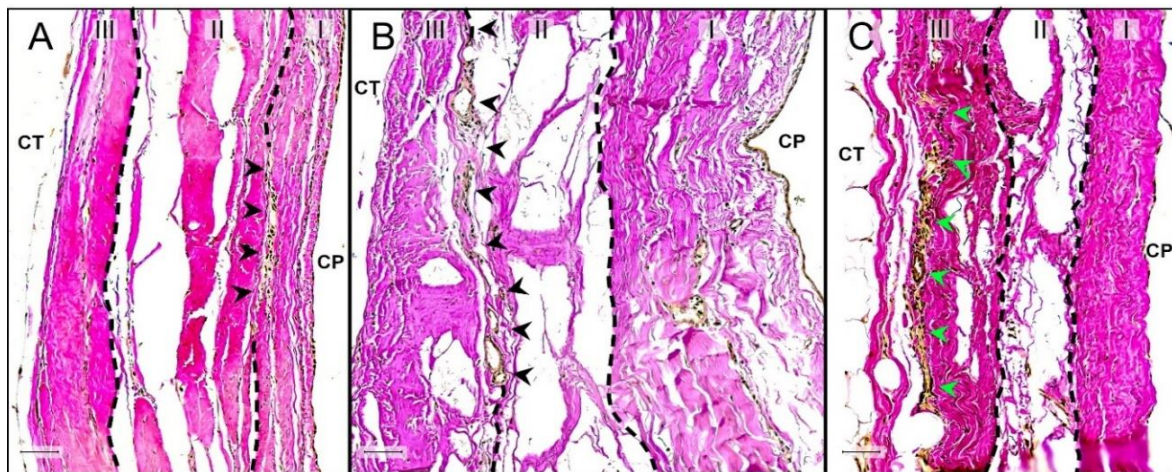
**Abb. 10: Immunhistochemische Charakterisierung der Ruffini-artigen Körperchen (Ruffini-like corpuscles, RLCs) im humanen Perikard.** Zur weiteren Bestätigung der Diagnose von RLCs sowie zur Charakterisierung spezifischer neuronaler Komponenten innerhalb der Rezeptoren wurden immunhistochemische Färbungen durchgeführt, bei denen Antikörper gegen S-100 (ein spezifischer Marker für sensorische Fasern), Calcitonin *Gene-Related Peptide* (CGRP, ein von sensorischen Fasern freigesetztes Peptid), *Transient-Receptor* Potential Channel 4 (TRPC4, ein nicht-selektiver Kalziumkanal sensorischer Fasern) und Tyrosinhydroxylase (ein spezifischer Marker für efferente sympathische Fasern) herangezogen wurden. Ein positives Ergebnis signalisiert der rote Farbstoff, der auf dem sekundären Antikörper appliziert ist. Die Ergebnisse der Immunhistochemie gegen S-100 (oben), TRPC4 (Mitte) und Tyrosinhydroxylase (unten) indizieren eine positive Reaktion. Die Reaktion gegen CGRP fiel in allen Fällen negativ aus. Die Färbung gegen TRPC4 (Mitte) markiert zudem die Kalziumkanäle der glatten Muskulatur der Gefäße. Die Reduktion der Umgebungssignalstärke bezweckt die Hervorhebung der Form und Ausdehnung der RLCs. µm = Mikrometer (nach Piermaier et al. [86])

### 3.1.3 Lokalisation der Ruffini-artigen Körperchen

Der fibröse Perikardanteil weist eine dreischichtige Lamination auf, die bislang keiner einheitlichen Terminologie unterliegt. Daher wird folgende Nomenklatur vorgeschlagen: die dem pleuropulmonalen Raum zugewandte äußerste Schicht ist als Lamina externa definiert, die dem perikardialen Spaltraum direkt anliegende innere Schicht ist als Lamina interna definiert und die dazwischenliegende Schicht ist als Lamina intermedia definiert. Basierend auf dieser tripartiten Architektur lassen sich drei rezeptorspezifische Lokalisationsklassen der RLCs differenzieren (Abb. 11):

- **Lokalisation I:** zwischen Lamina interna und Lamina intermedia
- **Lokalisation II:** zwischen Lamina intermedia und Lamina externa
- **Lokalisation III:** am peripheren Rand der Lamina externa

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen demonstrierten eine bemerkenswerte morphologische Homogenität der drei Lokalisationsklassen, unabhängig von ihrer topographischen Einbettung. Die quantitative Auswertung der Rezeptorzählungen ergab die folgende Verteilung: die höchste Rezeptordichte wurde für Lokalisation II mit  $n = 674$  Rezeptoren (45,7%) detektiert, dicht gefolgt von den peripheren Rezeptoren der Lokalisation III mit  $n = 617$  Rezeptoren (41,8%). Die geringste Prävalenz an RLCs manifestierte sich für die Lokalisation I mit einer Anzahl von  $n = 185$  Rezeptoren (12,5%).



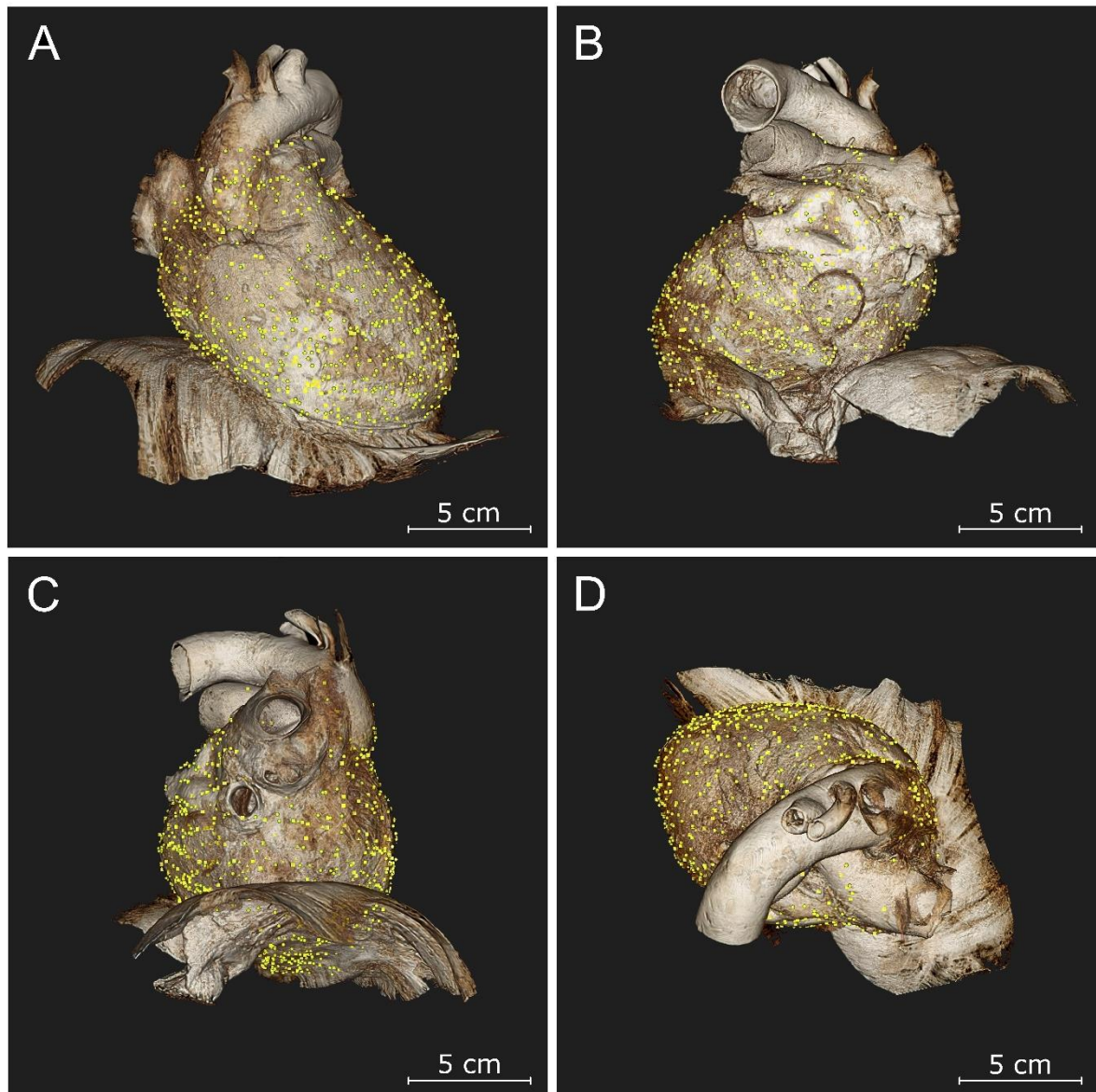
**Abb. 11: Lokalisation Ruffini-artigen Körperchen (Ruffini-like corpuscles, RLCs) innerhalb des fibrösen Perikards.** Die Klassifizierung der Lokalisierung von RLCs basiert auf der histologischen Architektur des menschlichen fibrösen Perikards, das in drei Subschichten aus Kollagenfasern unterteilt werden kann, die mit elastischen Fasern verwoben sind. Gemäß der vorliegenden Definition wird die der Brusthöhle zugewandte Perikardunterschicht als Lamina externa (III) klassifiziert, die mittlere Unterschicht als Lamina intermedia (II) und die die Perikardhöhle kontaktierende Unterschicht als Lamina interna (I). Die histologische Organisation der RLCs war in allen Lokalisierungen uniform. Rezeptoren, die sich außerhalb des fibrösen Perikards erstrecken, wurden in der vorliegenden Untersuchung nicht berücksichtigt. **A)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Färbung: Elastica van Gieson; Maßstab: 50µm) des Perikards einer 87-jährigen weiblichen Körperspenderin. Die erste Rezeptorlokalisierung befindet sich zwischen der Lamina interna (I) und der Lamina intermedia (II) des Perikards. Die Position des RLC zwischen den Subschichten wird durch die Pfeilspitzen markiert. Rezeptoren dieser Lokalisation sind von geringer Prävalenz (12,5%). **B)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Färbung: Elastica van Gieson; Maßstab: 50µm) des Perikards eines 80-jährigen männlichen Körperspenders. Die zweite Rezeptorlokalisierung liegt zwischen der Lamina intermedia (II) und der Lamina externa (III) des Perikards. Die Position des RLC wird durch die Pfeilspitzen markiert. Diese Rezeptorlokalisierung manifestiert sich mit der höchsten Frequenz (45,7%). **C)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Färbung: Elastica van Gieson; Maßstab: 50µm) des Perikards eines 70-jährigen männlichen Körperspenders. Die dritte Lokalisation wird durch RLCs zusammengefasst, die hauptsächlich als Teil des äußeren Randes der Lamina externa (III) die Brusthöhle berühren. Die Position des RLC wird durch die Pfeilspitzen markiert. RLCs dieser Lokalisationsklasse wurden am zweithäufigsten nachgewiesen (41,8%). CP = cavitas pericardica, CT = cavitas thoracica, µm = Mikrometer (nach Piermaier et al. [86])

### 3.1.4 Geschlechtsspezifische Unterschiede

Die resultierenden Prävalenzraten für weibliche (703 von 1476 Rezeptoren; 47,6%) und männliche (773 von 1476 Rezeptoren; 52,4%) Körperspenden wurden als nahezu äquivalent eingestuft. Zur Bestimmung der perikardialen Gesamtoberfläche wurden anhand von maßstabsgetreuen Aufnahmen der Herzen und Flächenberechnungen mittlere Werte von 186cm<sup>2</sup> bei weiblichen und 184cm<sup>2</sup> bei männlichen Körperspenden bestimmt. Diese Befunde korrelieren mit den erhobenen Messdaten von Hort und Bräun [97]. Eine statistische Analyse ergab keine signifikante Abhängigkeit des Geschlechts hinsichtlich der Relation der RLCs zur gesamten Perikardfläche ( $p > 0,05$ ).

### 3.1.5 Clusteranalyse und Visualisierung

Die abschließende Übertragung sämtlicher Rezeptorlokalisationen auf das "Standard-Perikard" erfolgte unter Berücksichtigung anatomischer Referenzpunkte mit höchster Präzision. Bereits bei der Kalibrierung sämtlicher Perikardien auf das Volumen-Rendering-Modell des "Standard-Perikards" manifestierten sich topografische Unterschiede, die auf potenzielle Hotspots hinwiesen (Abb. 12). Die anschließende Clusteranalyse identifizierte mögliche Gruppierungen und Regionen mit erhöhter Dichte der perikardialen Propriozeptoren.

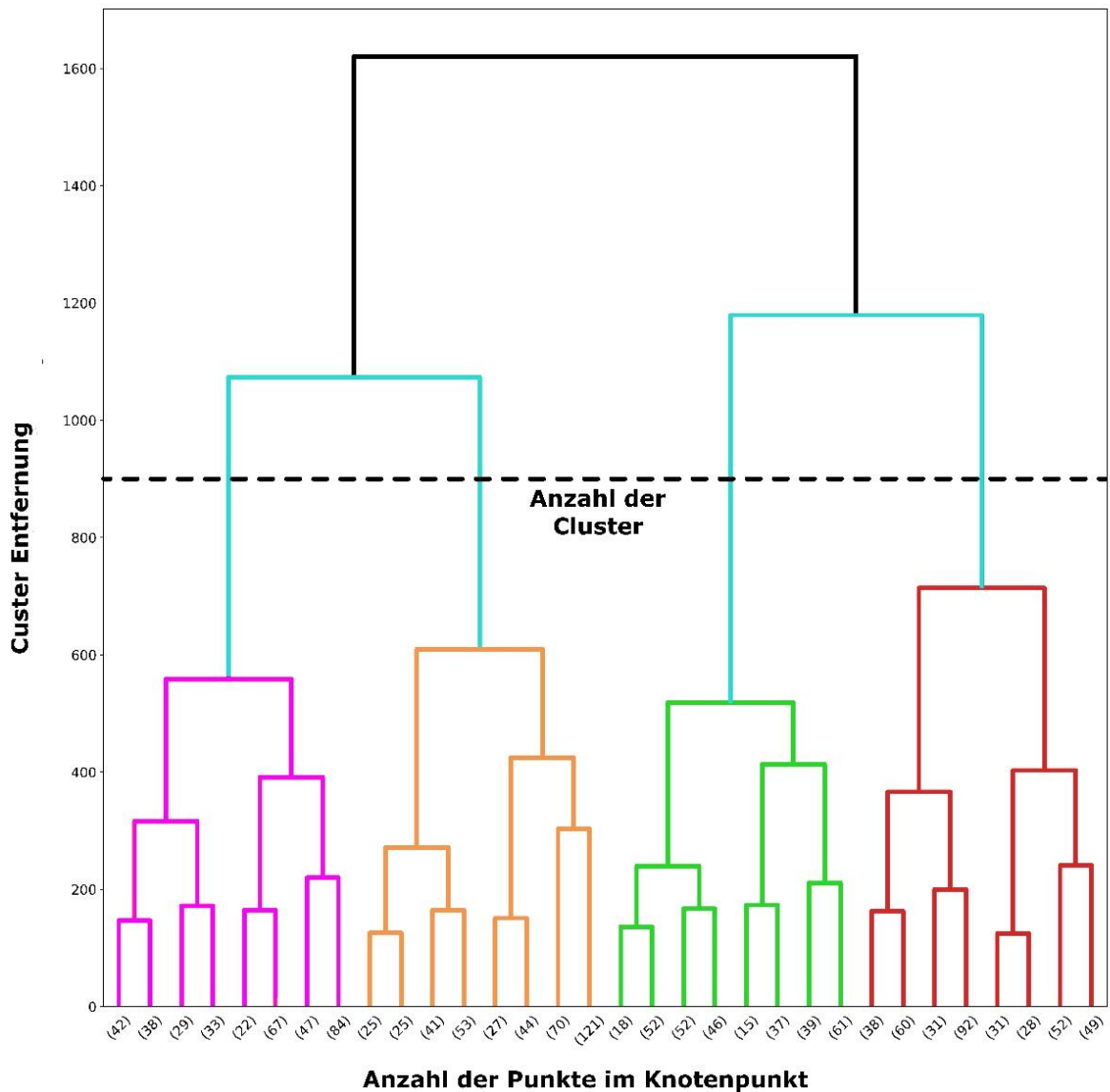


**Abb. 12: Verteilung Ruffini-artiger Körperchen (Ruffini-like corpuscles, RLCs) im menschlichen Perikard.** Die Kartierung und Visualisierung der Propriozeptoren erfolgte durch digitale Übertragung aller RLCs der acht untersuchten Herzbeutel auf ein dreidimensionales Volumen-Rendering-Modell des "Standard-Perikards". Das dreidimensionale Modell wurde mittels Magnetresonanztomographie aus einem formalinfixierten Herzen einschließlich des Perikards einer 91-jährigen weiblichen Körperspenderin generiert. Die Übertragung sämtlicher Rezeptoren fand manuell unter Verwendung der Software 3D Slicer (Version 5.1.0) statt. Die Positionierung jedes Rezeptors erfolgte unter Berücksichtigung anatomischer Orientierungspunkte unter Einbeziehung der angrenzenden Umgebung und der Herztopografie. Die Symbole repräsentieren die drei Perikardlokalisationen der RLCs (Dreieck = Lokalisation I, Kreis = Lokalisation II, Quadrat = Lokalisation III). Insgesamt konnten 1476 RLCs nachgewiesen werden. **A)** Verteilung der RLCs aus Sicht von der Vorderseite des Perikards. **B)** Verteilung der RLCs aus Sicht von der Rückseite des Perikards. **C)** Verteilung der RLCs aus Sicht von der linken und unteren Seite des Perikards. **D)** Verteilung der RLCs aus Sicht von oben auf das Perikard. cm = Zentimeter (nach Piermaier et al. [86])

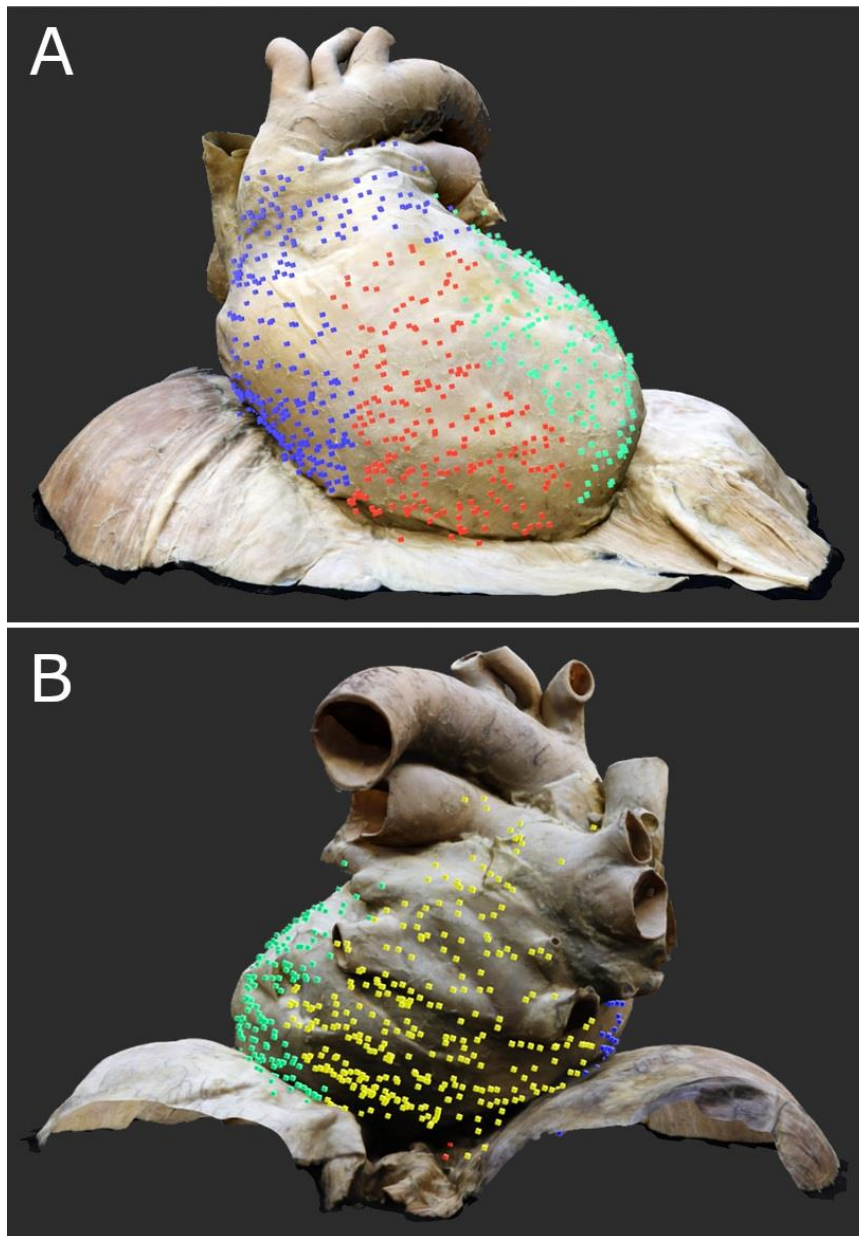
Bei Verwendung eines Quantils von 0,1 ließen sich vier Cluster identifizieren, deren räumliche Verteilung der hierarchischen Clusteranalyse entspricht (Abb. 13). Die segmentale Klassifikation wurde mittels eines dreidimensionalen Streudiagramms visualisiert, wobei jeder Punkt entsprechend seiner algorithmisch bestimmten Clusterassoziation farbkodiert repräsentiert ist (Abb. 14).

- **Cluster 1** (blau): lokalisiert sich im Bereich des arteriellen Ausflusstrakts, einschließlich der Aorta ascendens und des Truncus pulmonalis, sowie im rechten Vorhof.
- **Cluster 2** (rot): korreliert mit dem Myokard des rechten Ventrikels.
- **Cluster 3** (grün): umfasst primär das linksventrikuläre Myokard, ergänzt um marginale Anteile des linken Vorhofs.
- **Cluster 4** (gelb): entspricht dem Hauptanteil des linken Vorhofs, einschließlich der Mündungszonen der Pulmonalvenen.

Die topographische Begrenzung zwischen den Ventrikeln wird primär durch das Interventrikularseptum definiert, was sich in der klaren Abgrenzung zwischen Cluster 2 (rechte Kammer) und Cluster 3 (linke Kammer) manifestiert. Die Ventilebene entspricht der Grenze zwischen dem rechten Atrium (Cluster 1) und dem rechten Ventrikel (Cluster 2) sowie zwischen dem linken Ventrikel (Cluster 3) und dem linken Atrium (Cluster 4) und verdeutlicht damit die Kohärenz der algorithmischen Segmentierung.



**Abb. 13: Dendrogramm der hierarchischen agglomerativen Clusterbildung.** Das vorliegende Dendrogramm partitioniert die Daten in einer logischen Verteilung von Ruffini-artigen Korpuskeln unter Verwendung hierarchischer agglomerativer Clusterbildung mit WARD-Verknüpfung. Die Auswahl der Clusteranzahl erfolgte unter Berücksichtigung des Dendrogramms, wobei die schwarze gestrichelte Linie als Referenz diente. Die x-Achse repräsentiert die Anzahl der Punkte in einem spezifischen Knoten, während die y-Achse die Clusterentfernung anzeigt. (nach Piermaier et al. [86])



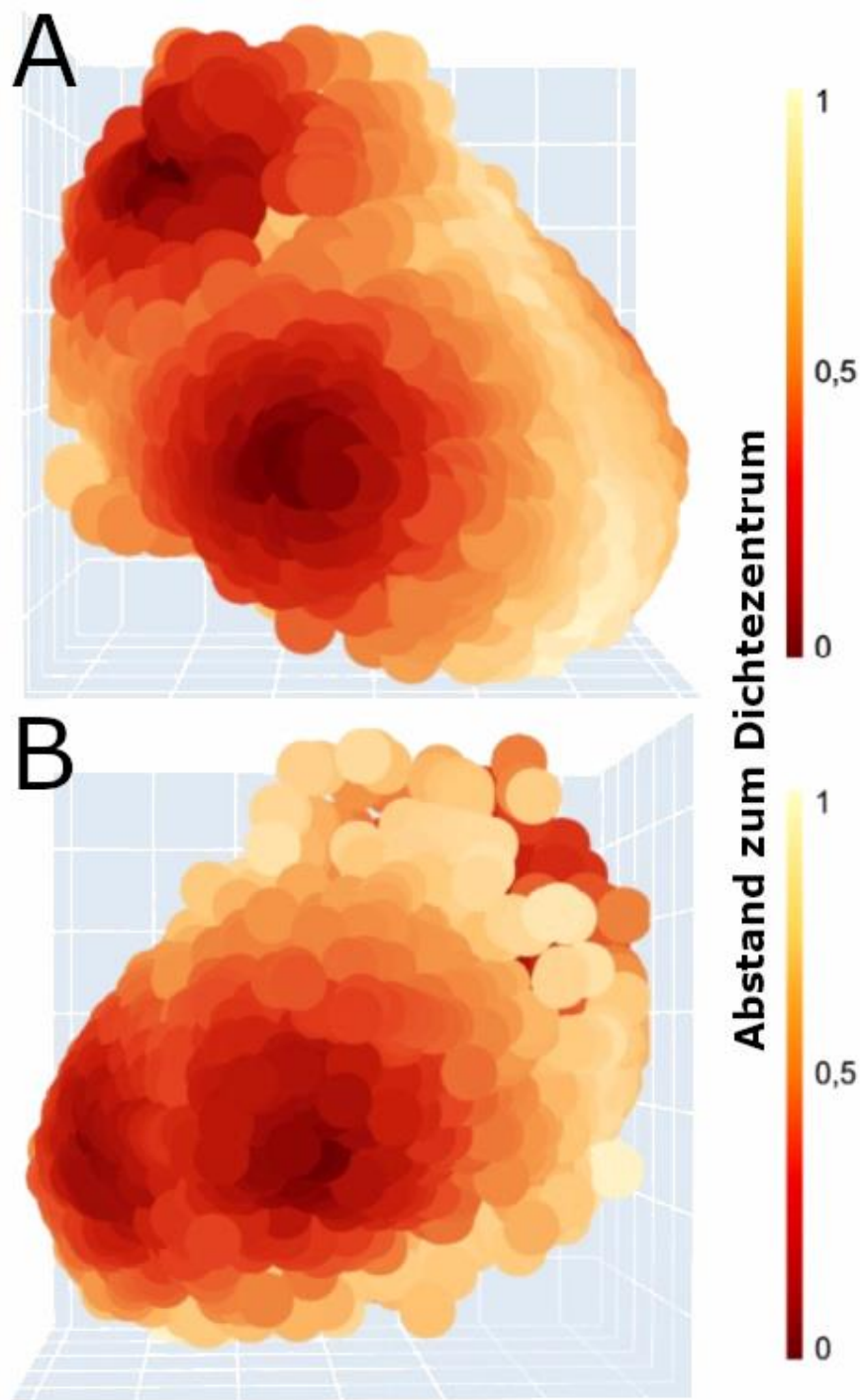
**Abb. 14: Clusteranalyse möglicher Partitionen innerhalb der perikardialen Propriozeptoren.**

Basierend auf ihren relativen Koordinaten wurden die Propriozeptoren mithilfe einer Clusteranalyse in prospektive Partitionen und Bereiche mit höherer Dichte unterteilt. Für die Analyse wurde das Python-Paket *Scikit-learn* verwendet, während für die 3D-Streudiagramme das *Plotly*-Modul zum Einsatz kam. Zusätzlich zur hierarchischen Methode wurde das *Mean-Shift-Clustering* eingesetzt, um die lokalen Maxima der Nachbarschaftsdichte zu ermitteln. Die Clusteranalyse resultierte in der Identifizierung von vier potenziellen Partitionen und Bereichen mit erhöhter Dichte in den perikardialen Propriozeptoren. Die Anordnung der Rezeptorpartitionen korreliert annähernd mit der vierkammerigen Unterteilung des Herzens (blau: rechter Vorhof, rot: rechte Herzkammer, grün: linke Herzkammer, gelb: linker Vorhof). **A)** Darstellung des "Standard-Perikards" aus ventraler Perspektive, dessen vier Partitionen der perikardialen Propriozeptoren mittels Clusteranalyse bestimmt wurden (blau = rechter Vorhof, rot = rechter Ventrikel, grün = linker Ventrikel). Das interventrikuläre Septum trennt die beiden Ventrikel (rotes und grünes Cluster), während die Klappenebene die Vorhöfe von den entsprechenden Ventrikeln trennt (blaues und rotes Cluster). **B)** Darstellung des "Standard-Perikards" aus dorsaler Perspektive mit vier durch Clusteranalyse identifizierten Partitionen perikardialer Propriozeptoren (blau = rechter Vorhof, grün = linker Ventrikel, gelb = linker Vorhof). Die Klappenebene trennt die linken Vorhöfe (gelb) von den entsprechenden linken Ventrikeln (grün). (nach Piermaier et al. [86])

Die Analyse der generierten *Heatmap* durch Anwendung der *Mean-Shift*-Funktion identifizierte Hotspots hoher und geringer Rezeptordichte innerhalb des Perikards. Bei einem Quantil von 0,1 wurden vier Cluster ermittelt, deren Distributionsmuster mit dem des hierarchischen Ansatzes vergleichbar ist (Abb. 15):

- **Cluster 1:** entspricht dem Abgang der großen Gefäße, hauptsächlich der Aorta und partiell des Truncus pulmonalis.
- **Cluster 2:** korreliert mit der Ausbuchtung des rechten Ventrikels, wo der Umfang des Herzens maximal ist.
- **Cluster 3** betrifft die Ausbuchtung des linken Ventrikels, wo der Umfang des Herzens maximal ist.
- **Cluster 4** befindet sich in der Region des linken Atriums in der Nähe des Zwerchfells, wo die Speiseröhre den Herzbeutel berührt.

Demgegenüber befinden sich Areale mit sehr geringer Rezeptordichte entlang des interventrikulären Septums und der Herzspitze. Die Herzbeutel-Segmente, welche die übrigen Herzregionen umgeben, weisen eine mittlere Rezeptordichte auf.



**Abb. 15: Heatmap der perikardialen Propriozeptoren.** Mittels einer *Mean-Shift*-Funktionsanalyse der erstellten *Heatmap* konnten Hotspots mit hoher und geringer Rezeptordichte innerhalb des Perikards identifiziert werden. Die Darstellung der vier Hotspots der Perikard-Propriozeptoren erfolgt entsprechend den vier ausgewählten Clustern. Die Legende veranschaulicht die Entfernung zum Dichtezentrum. **A)** *Heatmap* der Verteilung perikardialer Propriozeptoren aus ventraler Perspektive. Zwei Hotspots mit hoher Rezeptordichte sind evident: am Austritt der Aorta und des pulmonalen Trunkus sowie an der Ausbuchtung des rechten Ventrikels, wo der Herzradius maximal ist. Eine geringe Rezeptordichte findet sich entlang des interventrikulären Septums und an der Herzspitze. **B)** *Heatmap* der Verteilung perikardialer Propriozeptoren aus dorsaler Perspektive. Zwei weitere Hotspots mit hoher Rezeptordichte sind deutlich zu identifizieren: an der Ausbuchtung des linken Ventrikels, wo der Herzradius maximal ist, und im Bereich des linken Vorhofs an der Grenze zum Ösophagus. (nach Piermaier et al. [86]).

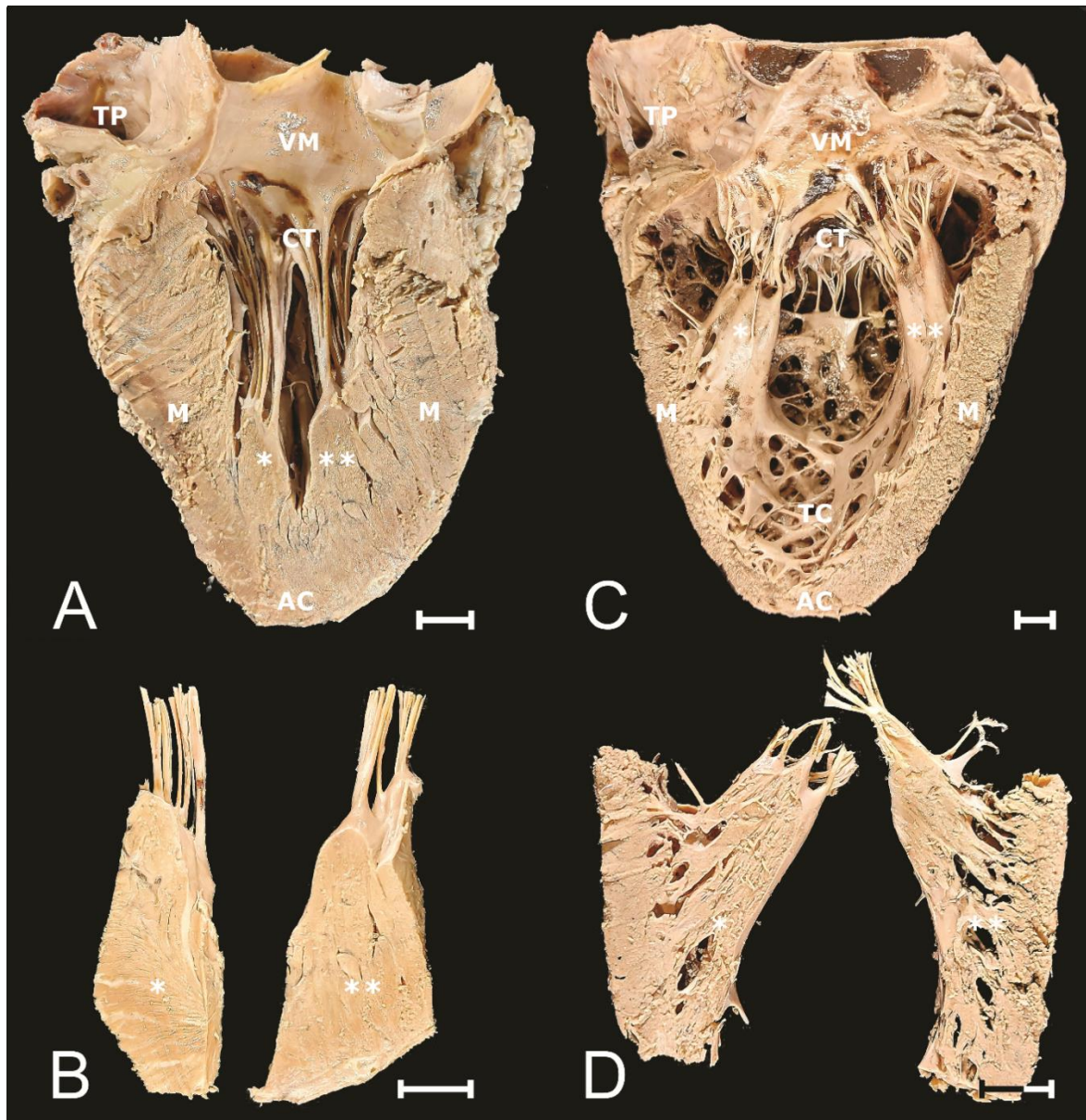
## 3.2. Ergebnisse zum Studienteil 2: Klassifizierung der Papillarmuskelverankerung

### 3.2.1 Kriterien der Klassifizierung

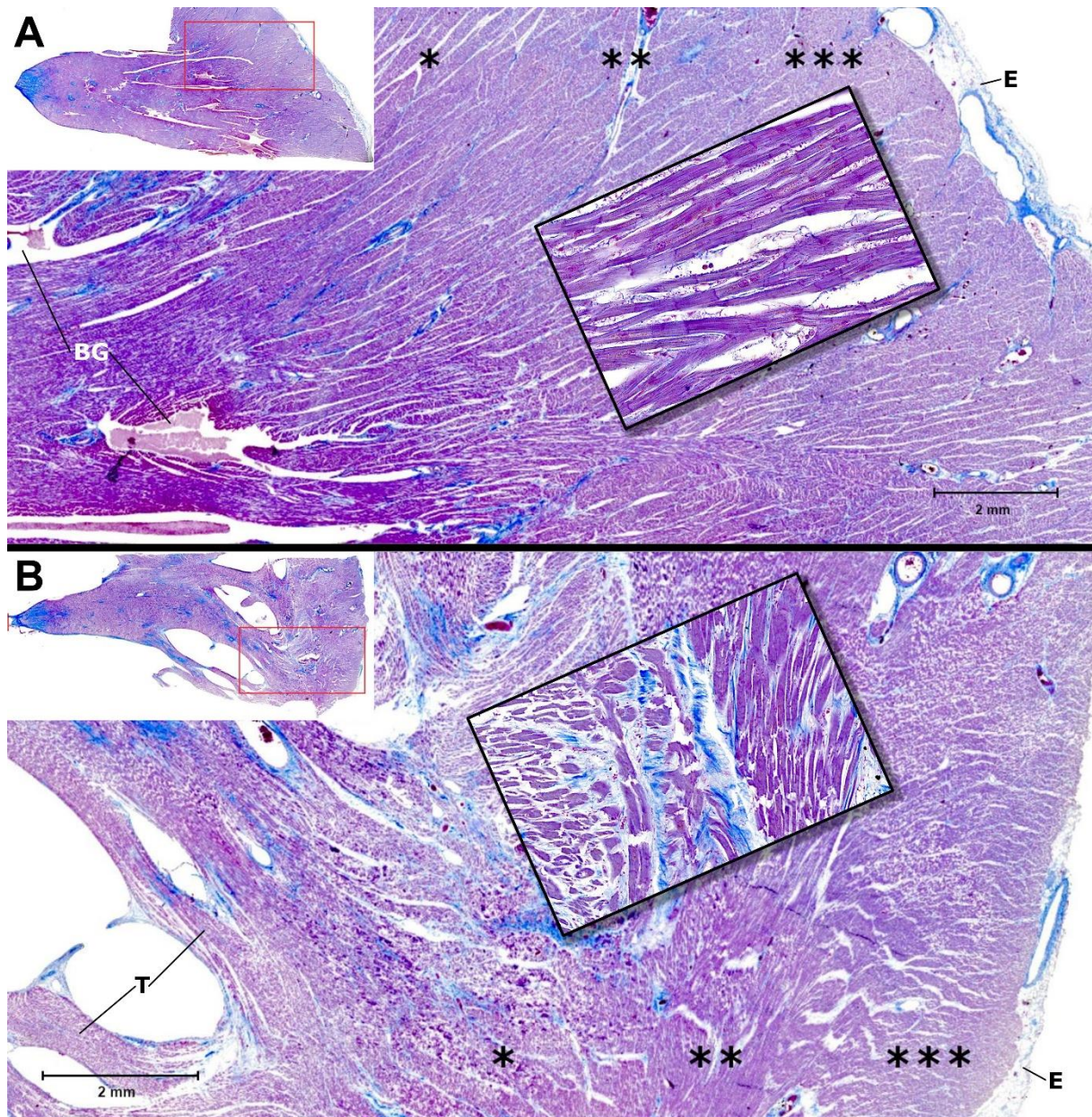
Im Rahmen dieser explorativen Untersuchung wurden insgesamt 69 menschliche Herzen analysiert (34 weibliche und 35 männliche Präparate, entsprechend 138 Papillarmuskeln), um die Tiefe sowie die strukturellen Varianten der Verankerung der beiden LVPM in die ventrikuläre Wand morphologisch zu bestimmen. Zusätzlich zur makroskopischen Einteilung konnte die Eindringtiefe der geradlinig verlaufenden Ausläufer der Kardiomyozytenbündel, welche vom Papillarmuskel entspringen und innerhalb derselben Ebene liegen, mittels histologischer Schnittpräparate evaluiert und entsprechend kategorisiert werden. Auf der Grundlage der vorliegenden Befunde lassen sich zwei distinkte Klassen der Papillarmuskelverankerung klassifizieren: die Klasse I und die Klasse II (Abb. 16).

Für die Klasse I ist histologisch eine einheitliche, schräg-transmurale Orientierung der von den Papillarmuskeln ausgehenden Kardiomyozytenbündel durch alle drei Schichten des linksventrikulären Myokards festzustellen, ohne dass eine signifikante Richtungsänderung der Bündel erkennbar ist. Charakteristisch für diese morphologische Variante ist die unmittelbare direkte Befestigung der Papillarmuskeln am linksventrikulären Kammermyokard ohne die Beteiligung trabekulärer Strukturen. Aus diesem Grund wird diese Variante als "feste Verankerung ohne Trabekel" klassifiziert. Die Eindringtiefe der Wurzeln der LVPM nimmt kontinuierlich vom äußeren Rand zur Mitte hin zu, mechanisch vergleichbar mit einer Schraubverbindung (Abb. 17).

Hingegen ist die Klasse II durch eine deutliche Änderung der Verlaufsrichtung der Kardiomyozytenbündel im Zuge ihrer Passage durch die myokardialen Subschichten definiert. In der Folge bleibt die mittlere Myokardschicht, das so genannte Krehl'sche Triebwerk [98], weitgehend intakt. Morphologisch ähneln diese Papillarmuskelbündel aufgrund ihrer Ausbiegungen und Verzweigungen in der Kammerwand einem oktopoden Strukturmuster, wodurch biomechanisch eine multidirektionale Verteilung der Zugkräfte ermöglicht wird. Bei sämtlichen Präparaten, die diese histologischen Kennzeichen aufwiesen, entsprang der Papillarmuskel den basal gelegenen trabekulären Strukturen. Demgemäß wird diese Variante als "Verankerung mit Trabekeln" klassifiziert (Abb. 17).



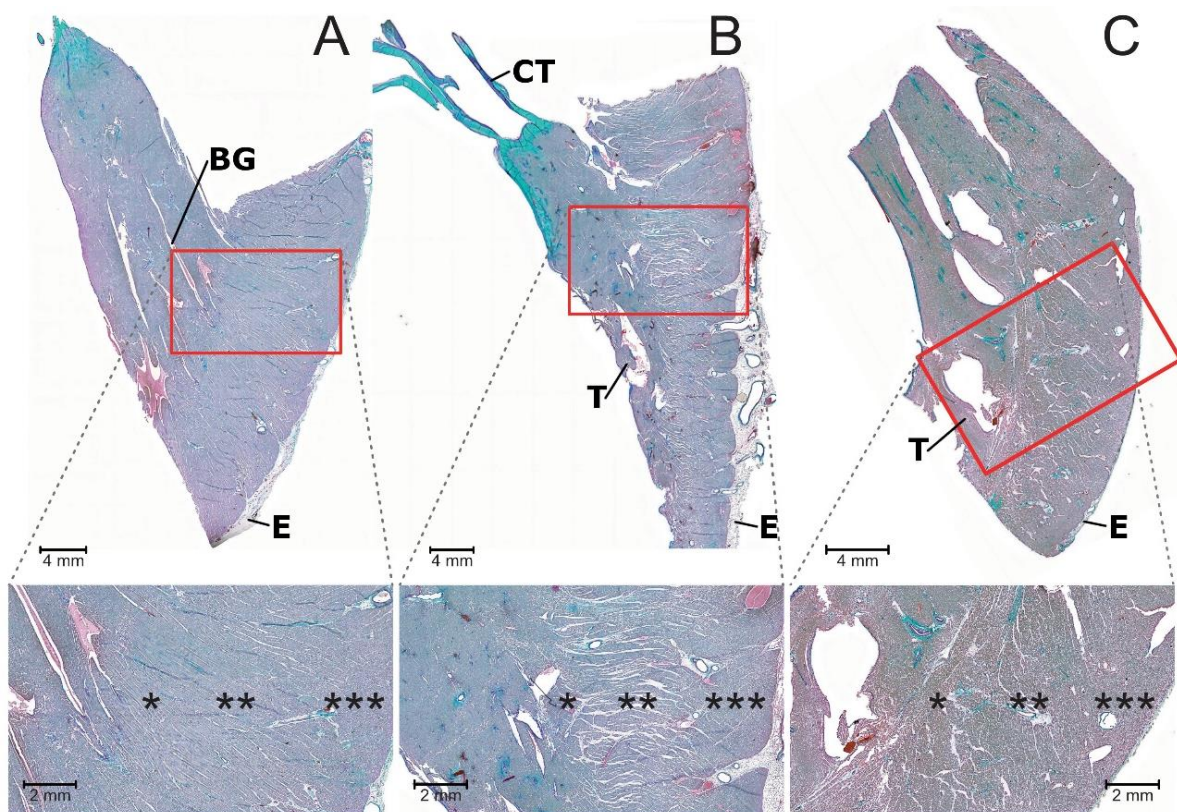
**Abb. 16: Verankerungsvarianten der linksventrikulären Papillarmuskeln (LVPM).** Auf makroskopischer Ebene lassen sich zwei verschiedene Verankerungsklassen an LVPM unterscheiden: eine feste Verankerung ohne Trabekel (Klasse I, A, B) und eine Verankerung mit Trabekeln (Klasse II, C, D). **A)** Abbildung eines geöffneten linken Ventrikels mit fester Verankerung ohne Trabekel (Klasse I) des anterioren und posterioren Papillarmuskels. Die Papillarmuskeln zeichnen sich durch ihre direkte Insertion in die Ventrikelwand ohne trabekuläre Polsterung aus. **B)** Darstellung der isolierten anterioren und posterioren Papillarmuskeln mit fester Verankerung ohne Trabekel, die aus dem in A) dargestellten linken Ventrikel entnommen wurden. Die Exzision der Papillarmuskeln wurde gemeinsam mit der angrenzenden Ventrikelwand durchgeführt. **C)** Abbildung eines geöffneten linken Ventrikels mit einer Verankerung mit Trabekeln (Klasse II) des anterioren und posterioren Papillarmuskels. Diese Papillarmuskeln bilden keine direkte Verknüpfung mit der Herzwand, sondern sind über Trabekel mit dieser assoziiert. **D)** Darstellung der isolierten anterioren und posterioren Papillarmuskeln mit einer Verankerung mit Trabekeln, die aus dem in C) dargestellten linken Ventrikel entnommen wurden. Die Exzision der Papillarmuskeln wurde gemeinsam mit der angrenzenden Ventrikelwand durchgeführt. Maßstäbe in A) – D): 1cm. \* = anteriorer Papillarmuskel, \*\* = posteriorer Papillarmuskel, AC = apex cordis, CT = chordae tendineae, M = ventrikuläres Myokard, TC = trabeculae carneae, VM = valva mitralis



**Abb. 17: Detailansicht der Insertion der linksventrikulären Papillarmuskeln (LVPM) in die Ventrikelwand.** Die beiden Verankerungsklassen (Klasse I: feste Verankerung ohne Trabekel; und Klasse II: Verankerung mit Trabekeln) der LVPM dringen unidirektional in unterschiedlicher Tiefe in die Ventrikelwand ein (\* = innere Schicht der Ventrikelwand, \*\* = mittlere Schicht der Ventrikelwand, \*\*\* = äußere Schicht der Ventrikelwand). **A)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Färbung: Azan) eines LVPM mit fester Verankerung ohne Trabekel (Klasse I). Die Verlängerungen der Kardiomyozytenketten durchziehen alle drei Schichten des linksventrikulären Myokardmuskels in einer Richtung und überlagern die mittlere Schicht (\*\*). Diese Verankerung wurde in 30% der untersuchten Proben gefunden. **B)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Färbung: Azan) eines LVPM mit einer Verankerung mit Trabekeln (Klasse II). Die Ausläufer der Kardiomyozytenketten des Papillarmuskels erreichen die innere Schicht (\*), bevor sie ihre Ausrichtung ändern, wobei die mittlere Schicht (\*\*) weitgehend sichtbar bleibt. BG = Blutgefäß, E = Epikard, T = Trabekel, mm = Millimeter

### 3.2.2 Verhältnis der Verankerungsklassen

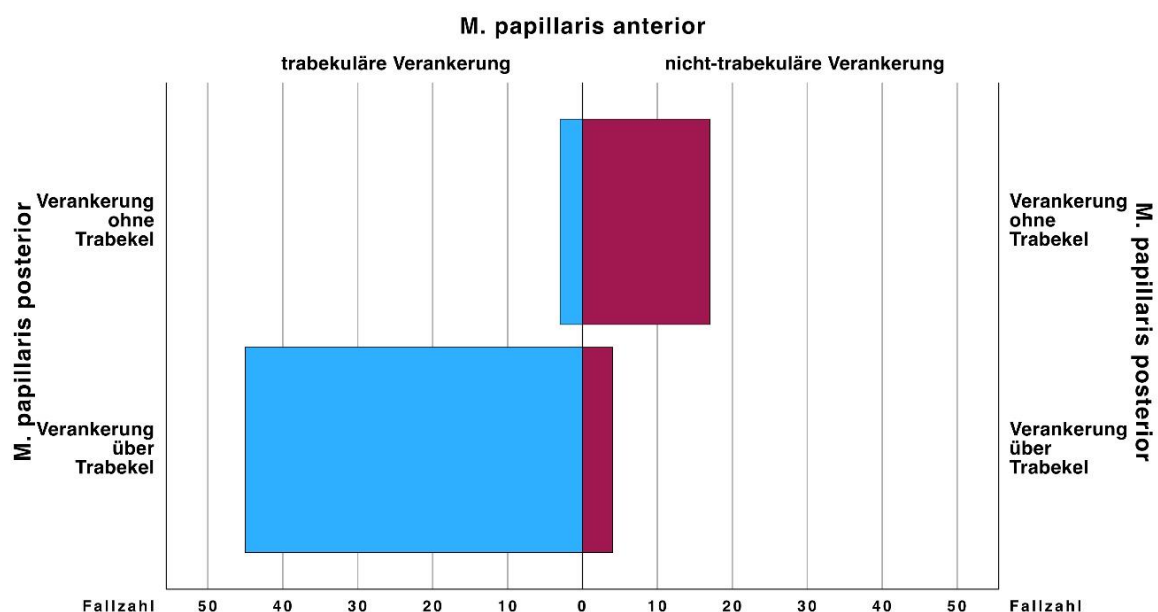
Durch die kombinierte Analyse auf makroskopischer und histologischer Ebene wurde bei den insgesamt 138 untersuchten Papillarmuskeln aus den 69 Herzen eine Einordnung von 41 Papillarmuskeln (30%) zur festen Verankerung ohne Trabekel (Klasse I) getroffen, während 97 Muskeln (70%) der Verankerung mit Trabekeln (Klasse II) zugeordnet werden konnten. Die Verankerung mit Trabekeln (Klasse II) lässt sich wiederum in zwei Subtypen unterteilen. In 51% der Fälle, welche der zweiten Verankerungsklasse angehören, findet eine Änderung der Verlaufsrichtung der vom Papillarmuskel ausgehenden Muskelfaserbündel innerhalb der inneren Muskelschicht der linksventrikulären Wand statt (Subtyp 2). In den übrigen Fällen (49%) hingegen erfolgt ein Orientierungswechsel der vom Papillarmuskel ausgehenden Kardiomyozytenzüge erst innerhalb der mittleren Subschicht der Ventrikelwand (Subtyp 1) (Abb. 18). Obwohl keine detaillierte histologische Untersuchung durchgeführt wurde, ließ sich eine Verankerung der prominenten superioren und inferioren Papillarmuskeln des rechten Ventrikels ausschließlich der Verankerung mit Trabekeln zuweisen (Klasse II).



**Abb. 18: Histologische Validierung des Verankerungstyps der linksventrikulären Papillarmuskeln (LVPM).** Die makroskopische Unterscheidung zwischen einer festen Verankerung ohne Trabekel (Klasse I) und einer Verankerung mit Trabekeln (Klasse II) der LVPM wurde einer histologischen Überprüfung an insgesamt 30 Herzen (60 Papillarmuskeln) unterzogen. Die histologische Klassifizierung basiert auf der Schicht der linken Ventrikelwand, in die die Ausläufer der Kardiomyozytenbündel, welche vom Papillarmuskel entspringen, unidirektional in die Wand eindringen, ohne ihre Richtung zu ändern (\* = innere Schicht der Ventrikelwand, \*\* = mittlere Schicht der Ventrikelwand, \*\*\* = äußere Schicht der Ventrikelwand). Die histologischen Befunde validieren und ergänzen die makroskopische Kategorisierung in die beiden Klassen, wobei Klasse II noch einmal in zwei Subtypen differenziert werden kann. **A)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Färbung: Elastica-Goldner) eines LVPM der festen Verankerung ohne Trabekel (Klasse I). Die Kardiomyozytenketten des Papillarmuskels verlaufen unidirektional zur äußeren Schicht (\*\*\*) der Ventrikelwand, ohne ihre Orientierung zu verändern. Diese Verankerung konnte bei 30% der untersuchten Papillarmuskeln beobachtet werden. **B)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Färbung: Elastica-Goldner) des ersten Subtyps der LVPM mit einer Verankerung mit Trabekeln (Klasse II). Der vorliegende Subtyp weist eine unidirektionale Ausrichtung der vom Papillarmuskel ausgehenden Kardiomyozytenketten ohne Richtungswechsel bis in die mittlere Schicht der Ventrikelwand auf (\*\*). **C)** Histologisches Bild (Schnittdicke: 7µm; Färbung: Elastica-Goldner) des zweiten Subtyps der LVPM mit einer Verankerung mit Trabekeln (Klasse II). Bei diesem Subtyp erstrecken sich die Kardiomyozytenketten des Papillarmuskels unidirektional ohne Richtungswechsel nur bis in die innere Schicht der Ventrikelwand (\*). BG = Blutgefäß, E = Epikard, T = Trabekel, mm = Millimeter

### 3.2.3. Morphologische Variabilität der Verankerungsklassen innerhalb eines Ventrikels

Die systematische Analyse der morphologischen Variabilität der Verankerungsklassen der Papillarmuskeln innerhalb eines linken Ventrikels ergab, dass in 90% der untersuchten Herzen der anteriore und der posteriore Papillarmuskel desselben Ventrikels hinsichtlich ihres Verankerungstyps homogen waren. Demgegenüber wurde in 10% der untersuchten Präparate eine inkohärente Verankerungsstruktur zwischen den beiden Papillarmuskeln beobachtet. Im Detail zeigten vier der untersuchten Herzen eine feste Verankerung ohne Trabekel des anterioren Papillarmuskels, während der posteriore Papillarmuskel in diesen Fällen eine Verankerung mit Trabekeln aufwies. Gegenteilig dazu wurde bei drei weiteren Präparaten das exakt konträre Verankerungsmuster dokumentiert. Eine detaillierte Übersicht der Häufigkeitsverteilung der beschriebenen morphologischen Varianten findet sich in Abbildung 19.



**Abb. 19: Übersicht über die Verteilung der Verankerungsklassen der linksventrikulären Papillarmuskeln (LVPM).** Die Eindringungstiefe der LVPM in die Ventrikelwand determiniert die Art der Verankerung, die in eine feste Verankerung ohne Trabekel (Klasse I, magenta) oder eine Verankerung mit Trabekeln (Klasse II, blau) unterteilt wurde. In 90% der Fälle (62 Herzen) wiesen der anteriore und posteriore Papillarmuskel innerhalb eines Ventrikels eine identische Verankerung auf. Davon wiesen 65% (45 Herzen) eine beidseitig trabekuläre und 25% (17 Herzen) eine beidseitig feste Verankerung ohne Trabekel auf. Eine Diskrepanz in der Verankerung der beiden Muskeln wurde bei sieben Proben (10%) verzeichnet. Vier Herzen zeigten eine feste Verankerung ohne Trabekel des anterioren Papillarmuskels und eine Verankerung mit Trabekeln des posterioren Papillarmuskels, während drei Fälle ein konträres Befundmuster aufwiesen.

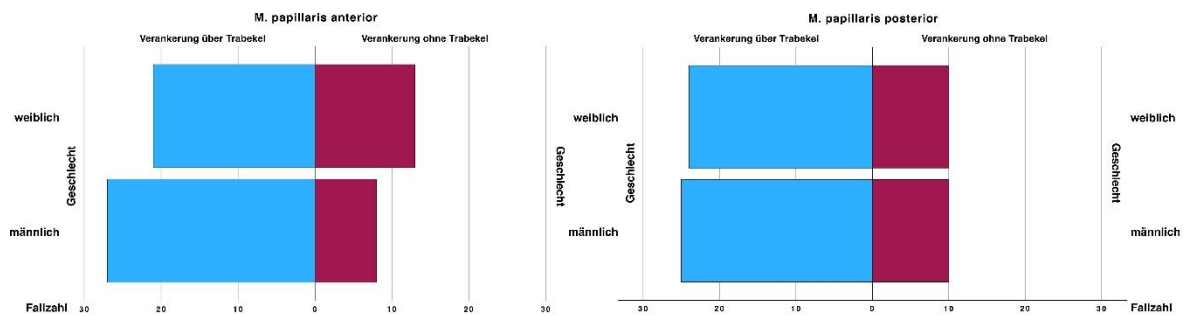
### 3.2.4. Einfluss verschiedener Parameter auf die Ausprägung der Papillarmuskelverankerung

Die statistische Analyse offenbarte einen maßgeblichen Einfluss der Position des Papillarmuskels (anterior oder posterior) auf den Verankerungstyp des korrespondierenden Papillarmuskels. Es konnte eine signifikante Korrelation ( $\chi^2 = 36,6$ ;  $p < 0,001$ ;  $n = 69$ ) zwischen diesen beiden Testparametern festgestellt werden. Die beiden linken Papillarmuskeln desselben Herzens weisen in der Regel die gleiche Verankerungsklasse auf. Somit sind die Verankerungsklassen der beiden Papillarmuskeln des linken Ventrikels statistisch nicht unabhängig voneinander, was auf eine koordinierte Entwicklung oder funktionelle Kopplung der Papillarmuskeln hindeutet. Eine tabellarische Übersicht über die Häufigkeit und den Prozentanteil der Varianten der Papillarmuskelverankerung im Verhältnis zur Lokalisierung des Muskels ist in Tabelle 4 dargestellt.

| Papillarmuskel |               | posterior     |        |              |        |           |
|----------------|---------------|---------------|--------|--------------|--------|-----------|
|                |               | ohne Trabekel |        | mit Trabekel |        | insgesamt |
| anterior       | ohne Trabekel | 17            | 85,0%  | 4            | 8,2%   | 100,0%    |
|                |               |               | 81,0%  |              | 19,0%  |           |
|                | mit Trabekel  | 3             | 15,0%  | 45           | 91,8%  | 100,0%    |
|                |               |               | 6,3%   |              | 93,8%  |           |
|                | insgesamt     |               | 100,0% |              | 100,0% |           |

**Tabelle 4: Übersicht über die Häufigkeit der Varianten der Papillarmuskelverankerung im Verhältnis zur Lokalisation**

Darüber hinaus wurde der Einfluss des Geschlechts auf die Verankerungsklasse der LVPM statistisch geprüft (Abb. 20). Bei der Analyse des weiblichen Geschlechts konnte eine feste Verankerung ohne Trabekel in 13 Exemplaren (38%) des anterioren und in zehn Exemplaren (29%) des posterioren Papillarmuskels verzeichnet werden. Demgegenüber wurde die feste Verankerung ohne Trabekel beim männlichen Geschlecht in acht Proben (23%) des anterioren und in zehn Proben (29%) des posterioren Papillarmuskeln beobachtet. Die statistische Analyse ergab keine signifikante Korrelation zwischen dem Geschlecht und der Ausprägung der Verankerungsklasse. Es lässt sich jedoch eine augenscheinliche Tendenz einer höheren Prävalenz der festen Verankerung ohne Trabekel beim anterioren Papillarmuskel bei Frauen beobachten.

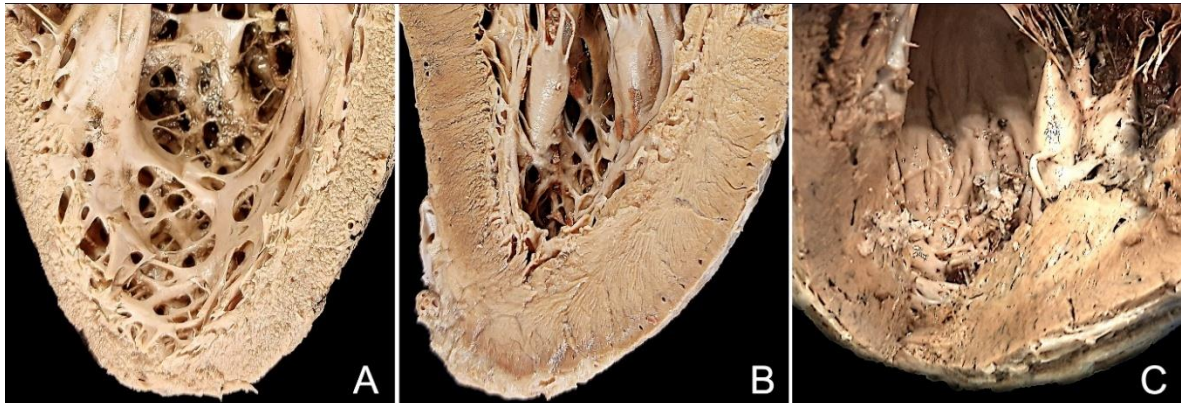


**Abb. 20: Einfluss des Geschlechts auf die Verankerungsklasse der linksventrikulären Papillarmuskeln (LVPM).** Die Grafik illustriert die Verteilung der festen Verankerung ohne Trabekel (magenta) und der Verankerung mit Trabekeln (blau) der LVPM des anterioren (links) und posterioren (rechts) Papillarmuskels kategorisiert nach Geschlecht. Obwohl keine statistisch signifikanten Geschlechtsunterschiede hinsichtlich der Verankerung der beiden Papillarmuskeln evident waren, zeigt sich dennoch ein auffälliger Trend im anterioren Papillarmuskel (links). Hierbei wurde eine feste Papillarmuskelverankerung ohne Trabekel bei 38% der weiblichen Exemplare und lediglich bei 23% der männlichen Proben beobachtet.

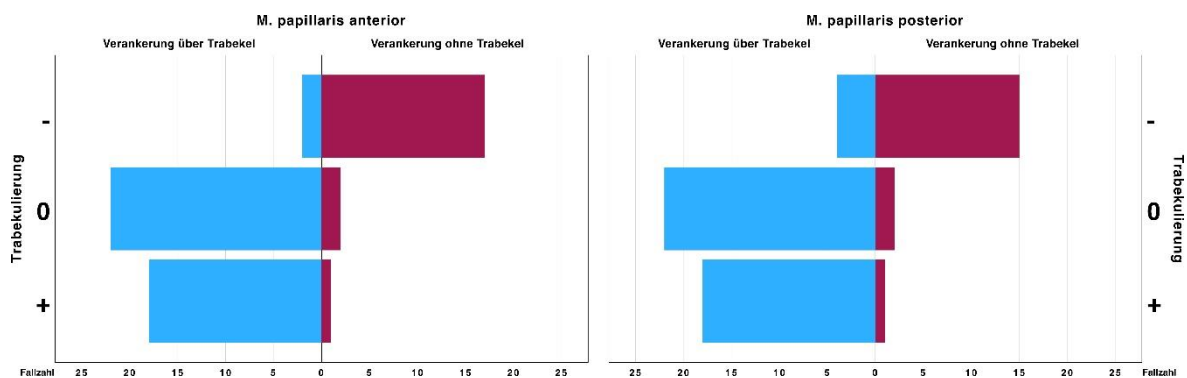
Darüber hinaus wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen der Ausprägung der Papillarmuskelverankerung und dem Alter der Körperspenden statistisch ausgewertet. Gemäß dem Ergebnis des Chi-Quadrat-Tests für qualitative Parameter zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen diesen beiden Testparametern. Trotz der ausgeprägten Altersdisparität innerhalb der Kohorte der Körperspender\*innen (Alter: 55–97 Jahre) wurden keine statistisch relevanten Altersgruppen differenziert. Gleichermäßen ließ sich keine Abhängigkeit zwischen der Klasse der Papillarmuskelverankerung und dem Auftreten kardialer Erkrankungen, die laut Totenschein bei 32% der Körperspenden diagnostiziert wurden, statistisch signifikant nachweisen (Tabelle 2).

Letztlich ergab die statistische Auswertung eine signifikante Korrelation zwischen der Verankerungsklasse der Papillarmuskeln und dem Ausmaß der Trabekularisierung des inneren Reliefs des Ventrikels, welches ein breites Spektrum an strukturellen Variationen aufweist (Abb. 21 und 22). Die Einteilung der Trabekularisierung unterlag einer individuellen Einschätzung basierend auf dem Verhältnis zwischen trabekulären und festem Anteil des Kammermyokards. Die Verankerung mit Trabekeln (Klasse II) des anterioren und posterioren Papillarmuskels geht korrelativ mit einem normalen (0) bis hohen Grad (+) der Trabekularisierung des inneren Reliefs der linken Ventrikelwand einher (95% für den anterioren und 91% für den posterioren Papillarmuskel). Demgegenüber wiesen die Mehrzahl der linken Ventrikel mit einer festen Papillarmuskelverankerung ohne Trabekel (Klasse I) eine stark reduzierte Trabekularisierung (-) des inneren Kammerreliefs auf (85% für den anterioren und 83% für den posterioren Papillarmuskel). Nach dem Ergebnis des Pearson-Chi-Quadrat-Tests besteht zwischen den beiden genannten Testparametern eine

signifikante Abhängigkeit ( $\chi^2 = 41,1$  [vorderer Papillarmuskel];  $33,2$  [hinterer Papillarmuskel];  $p < 0.001$ ;  $n = 69$ ).



**Abb. 21: Ausprägung der Verankerungsklasse der linksventrikulären Papillarmuskeln (LVPM) in Abhängigkeit von der Trabekularisierung des inneren Reliefs des linken Ventrikels.** Mittels einer visuellen Kategorisierung wurde die Trabekularisierung des inneren linksventrikulären Reliefs in drei Ausprägungsformen differenziert, um eine Korrelation mit der Verankerungsklasse der Papillarmuskeln zu prüfen: **A)** eine hohe Trabekularisierung des inneren Reliefs (+), **B)** eine normale Trabekularisierung des inneren Reliefs (0) und **C)** eine geringe Trabekularisierung des inneren Reliefs (-). Die Verankerung mit Trabekeln ist in der Regel mit einem normalen (0) oder hohen (+) Grad der Trabekelbildung des inneren Reliefs der linken Ventrikelwand verbunden (95% des vorderen und 91% des hinteren Papillarmuskels; A) und B)). Demgegenüber wiesen die meisten linken Ventrikel mit fester Papillarmuskelverankerung ohne Trabekel typischerweise eine geringe Trabekelbildung des inneren Reliefs auf (85% des vorderen und 83% des hinteren Papillarmuskels; C)).



**Abb. 22: Zusammenhang zwischen der Verankerungsklasse der linksventrikulären Papillarmuskeln (LVPM) und dem Ausmaß der Trabekularisierung des inneren Reliefs des Ventrikels.** Die grafische Darstellung visualisiert die Korrelation zwischen der festen Verankerung ohne Trabekel (magenta) und der Verankerung mit Trabekeln (blau) der LVPM des anterioren (links) und posterioren (rechts) Papillarmuskels hinsichtlich des Ausmaßes der Trabekelbildung des inneren Reliefs der linken Ventrikelwand. Die vorliegende Korrelation ist für beide Papillarmuskelpositionen statistisch hochsignifikant ( $p < 0,001$ ). Gemäß den Ergebnissen der Studie wiesen 95% der anterioren und 91% der posterioren (durchschnittlich 93%) Papillarmuskeln eine normale oder deutlich ausgeprägte Trabekularisierung in Kombination mit einer Verankerung mit Trabekeln (Klasse II) auf. Demgegenüber wurde typischerweise eine schwache Trabekularisierung des ventrikulären inneren Reliefs bei der Mehrzahl der festen Papillarmuskelverankerung ohne Trabekel (Klasse I) registriert (85% der anterioren und 83% der posterioren Papillarmuskeln, durchschnittlich 84%).

### 3.3 Ergebnisse zum Studienteil 3: viskoelastische Eigenschaften des postmortalen Myokards

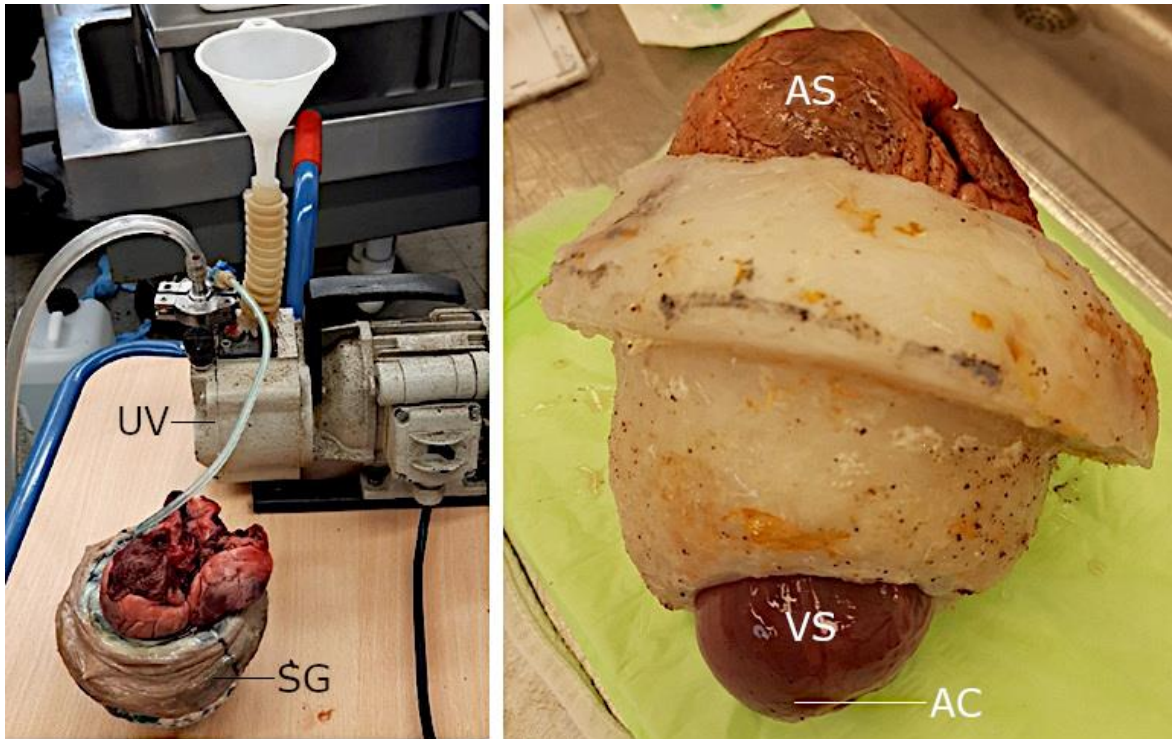
#### 3.3.1 Entwicklung eines ballonierten Herzmodells

In der Initialphase wurde zunächst ein experimentelles Modell eines ballonierten Herzens konzipiert, bei dem die Ballonierung des linken Ventrikels als methodische Grundlage für die Messung der Spannungsverteilung und der viskoelastischen Eigenschaften des Myokards diente. Darüber hinaus fungierte dieses Modell als Pilotansatz zur experimentellen Rekonstruktion der Takotsubo-Kardiomyopathie unter kontrollierten Bedingungen. Da die Takotsubo-Kardiomyopathie eine reversible Pathologie darstellt, die nur in Ausnahmefällen einen letalen Verlauf nimmt, war der Einsatz postmortaler Takotsubo- Herzen für die anstehenden Versuchsreihen nicht umsetzbar. Im Rahmen der Modellentwicklung wurden mehrere Konstruktionsansätze systematisch untersucht und hinsichtlich ihrer Eignung evaluiert. Die Mehrzahl dieser Ansätze musste jedoch aufgrund ihrer unzureichenden Eignung verworfen werden. Aufgrund der prägnanteren und strafferen Bindegewebsarchitektur und der in der Folge besser erhaltenen physiologischen Morphologie frischer Schweineherzen im Vergleich zu postmortalen humanen Präparaten, wurde die Implementierung des Modells zunächst an Schweineherzen vorgenommen. Eine Ballonierung der Herzspitze bedingt grundsätzlich einen Anstieg der Spannung in der Außen- und Innenschicht auf Höhe des Mittelgeschosses des Ventrikels bzw. der Herzbasis. Dies lässt auf eine Kraftübertragung auf globaler Ebene rückschließen.

##### *3.3.1.1 Ballonierung mit einer Saugglocke*

Ein Ansatz zur Ballonierung des Herzens bestand in der Verwendung einer Saugglocke mit perforierter Membran als funktioneller Perikardersatz, die mittels Unterdrucks betrieben wurde (Abb. 23). Im Rahmen dieses Verfahrens wurde der linke Ventrikel in die Saugglocke eingezogen und ballonartig expandiert, wobei der Rand der Glocke die für die Takotsubo-Myopathie charakteristische Einschnürung des mittleren Ventrikelabschnittes formte. Die Evaluierung dieses Modells anhand initialer Spannungsmessungen ergab jedoch, dass es den Anforderungen nicht gerecht wurde und daher nicht weiterverfolgt werden konnte. Ein Spannungsanstieg in der basisnahen subepikardialen Schicht war lediglich in minimalem Ausmaß quantifizierbar oder blieb vollständig aus. Diese unzureichende Spannungstransmission in der äußeren subepikardialen Spirale des Myokards resultierte

aus der nahezu vollständigen Unterbrechung der Kraftübertragung durch den enganliegenden Ring der Saugglocke, während die subendokardiale Schicht die Zugkräfte unbeeinträchtigt weiterleitete.



**Abb. 23: Ballonierung eines Herzens mit einer Saugglocke.** Im Rahmen des experimentellen Vorgehens wurde ein Schweineherz mit dem apikalen Drittel des linken Ventrikels voran in eine Saugglocke (SG) platziert. Die Ventrikelspitze wurde unter Anwendung einer Unterdruckvorrichtung (UV) in die Glocke hineingezogen und ballonförmig erweitert. Die Verwendung einer eingebauten perforierten Membran in der Saugglocke verhinderte dabei die Überdehnung des Myokards. AC = apex cordis, AS = atrium sinistrum, VS = ventriculus sinister

### 3.3.1.2 Ballonierung mit einem Innensaum

Ein alternativer Ansatz beinhaltete die ringförmige Verspannung der Innenschicht des linken Ventrikels eines Schweineherzens mittels einer Naht und die nachfolgende Füllung der Ventrikelkammer mit Silikon, um einen Takotsubo-ähnlichen Zustand mit erweitertem apex cordis und verschmälelter Ventrikeltaile zu induzieren. Die verifizierenden Spannungsmessungen ergaben in diesem Fall Resultate, die den Messergebnissen der Saugglocke (Absatz 3.3.1.1) entgegengesetzt waren. Im vorliegenden Zusammenhang konnte eine erhebliche Zunahme der Spannung in der basisnahen subepikardialen Schicht nachgewiesen werden, während der Anstieg in der subendokardialen Spirale lediglich marginal oder gar nicht nachweisbar war. Diese Befunde lassen sich durch die Blockade der Kraftübertragung innerhalb der subendokardialen Schicht durch den innen gesetzten Saum begründen, während die subepikardiale Schicht die Zugkräfte ungehindert

weiterleiten konnte. Aufgrund der unzureichenden Spannungsübertragung der subendokardialen Myokardschleife wurde auch diese Vorgehensweise verworfen.

### 3.3.1.3 Ballonierung mit einer Zugvorrichtung

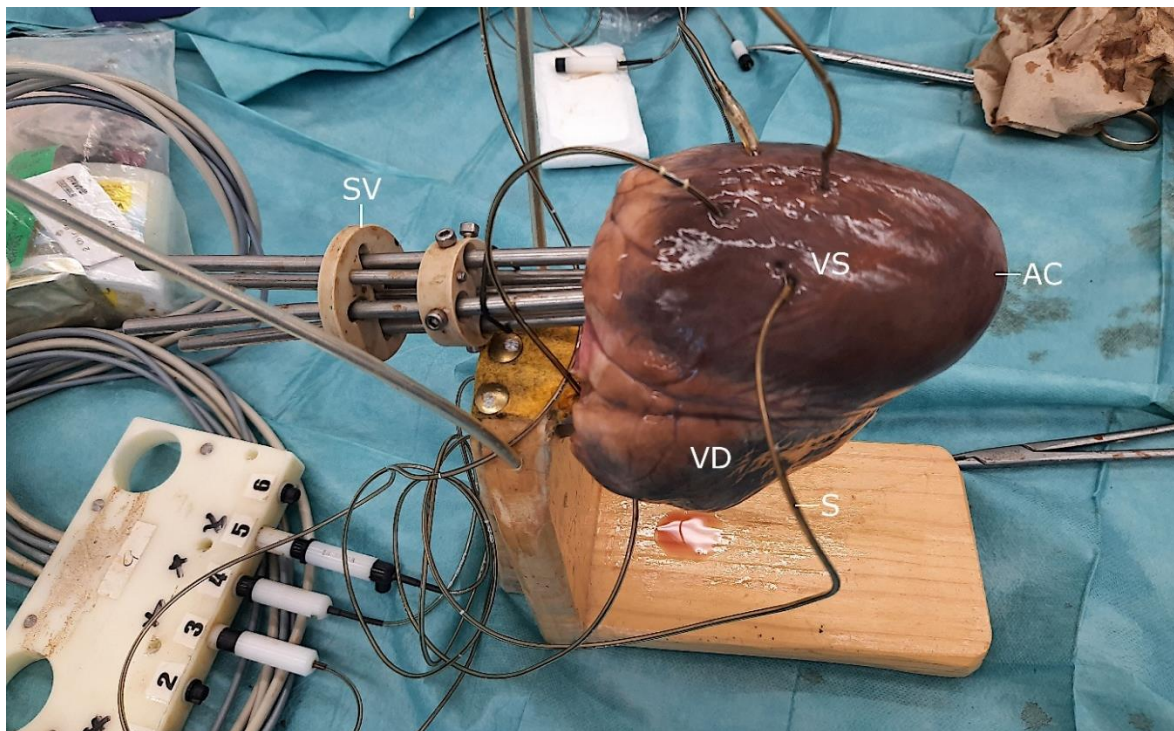
Im Rahmen des nächsten Ansatzes wurden an vier Stellen am Apex der linken Herzkammer vier Zugeinrichtungen aus einer Kordel und einem Knopf zur Befestigung implantiert. Das Schweineherz wurde über diese an einer speziellen Holzvorrichtung aufgespannt (Abb. 24). Die Kordeln waren so lange festzulegen, bis das Herz eine optimale Vorspannung aufwies. Zur Imitation eines gedehnten Zustandes bzw. des Takotsubo-Syndroms wurden die Kordeln rhythmisch nach außen hin gespannt, wodurch eine Ballonierung der Herzspitze induziert wurde. Eine Fixierung des Mittelgeschosses durch einen Lederriemen sorgte für eine Begrenzung der Dilatation auf den Apex. Die wiederholten Spannungsmessungen in der Nähe der Herzbasis zeigten in allen drei myokardialen Unterschichten einen deutlichen Anstieg der Kraft, der mit der Dehnung des Ventrikels simultan ablief. Dieser Ansatz wurde jedoch auch verworfen, da die Implantation der Zugeinrichtungen die Integrität des linken Ventrikels schädigte und die Fixierung des Mittelgeschosses durch den Lederriemen nicht effizient aufrechterhalten werden konnte.



**Abb. 24: Ballonierung eines Herzens mit einer Zugvorrichtung.** Im Rahmen des experimentellen Vorgehens wurde der apikale Anteil des linken Ventrikels eines Schweineherzens über eine zu diesem Zweck konstruierte Zugvorrichtung gedehnt. Bei diesem Verfahren wurde das Herz an einem Holzgestell aufgehängt und es wurden vier Seile apexnah an verschiedenen Stellen in den linken Ventrikel implantiert. Die Ballonierung des Ventrikels wurde durch einen gleichmäßigen Zug an allen Seilen induziert, wobei der Lederriemen (LR) die isolierte Dehnung der Spitze sicherstellte. AC = apex cordis, AD = atrium dextrum, AS = atrium sinistrum, S = Sonde, VS = ventriculus sinister

#### 3.3.1.4 Ballonierung mit einer Spreizvorrichtung

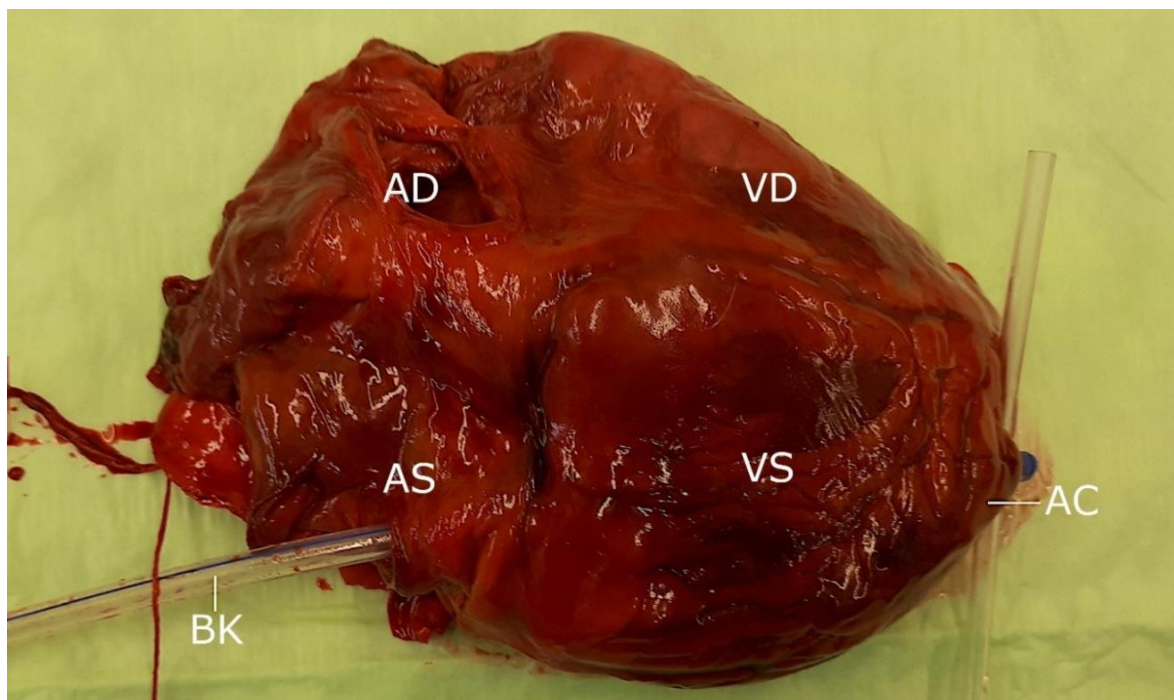
Dieser Ansatz hat sich für die Durchführung der Spannungsmessungen als geeignet erwiesen, da die Integrität des Ventrikels vollständig erhalten blieb und die Methode zuverlässig reproduziert werden konnte. Die Applikation eines vierarmigen Spreizers in die linke Ventrikelhöhle über den linken Vorhof ermöglichte die rhythmische Dehnung des apikalen Drittels der Ventrikelwand (Abb. 25). Die Positionierung der kurzen Spreizplatten am distalen Ende jedes Spreizerarms erfolgte im äußersten apikalen Bereich. Mittels manueller Öffnungs- und Schließbewegungen des Spreizers wurde eine zyklische Dehnung und Entlastung der apikalen Wandregion induziert. Die parallel zur Apexdehnung gemessenen Spannungen in allen drei Subschichten des Kammermyokards wiesen erhebliche Spannungsanstiege auf (siehe Absatz 3.3.2). Für die anschließenden magnetresonanztomographischen Versuche musste jedoch ein zusätzliches Modell entwickelt werden, da die Spreizvorrichtung aus Metall nicht für die MRT-Untersuchung nutzbar war.



**Abb. 25: Ballonierung eines Herzens mit einer Spreizvorrichtung.** Im Rahmen des experimentellen Vorgehens wurde eine Spreizvorrichtung aus Metall bis zum Apex in den linken Ventrikel eines Schweineherzens eingeführt. Die Initiierung des spezifischen Mechanismus des Spreizers resultierte in einer simultanen Separation der vier Beine der Vorrichtung, wodurch die Ballonierung der Herzspitze ermöglicht wurde. AC = apex cordis, S = Sonde, SV = Spreizvorrichtung, VD = ventriculus dexter, VS = ventriculus sinister

### 3.3.1.5 Ballonierung mit einem Ballonkatheter

Der erste Versuch einer MRT-geeigneten Ballonierung wurde mittels eines Ballonkatheters (Volumen: 20ml) induziert, welcher über den linken Vorhof in den linken Ventrikel eingeführt wurde (Abb. 26). Zur Fixierung der Position des Katheters an der Ventrikelspitze wurde der apex cordis punktförmig eröffnet und die Spitze des Ballonkatheters vorsichtig durchgeschoben. Ein quer zum Katheter eingesetztes Stück aus Kunststoff verhinderte das Verrutschen der Vorrichtung. Im Rahmen des Versuchs wurde zunächst der Ausgangszustand des Herzens resonanztomographisch gemessen. Dem folgte eine Wasserfüllung des Katheters, um das untere Drittel des Ventrikels zu dehnen und einen optimalen Vergleich zwischen den beiden Zuständen zu erzielen. Aufgrund mehrerer Restriktionen wurde die Vorgehensweise jedoch verworfen. Die Ventrikeleröffnung an der Spitze resultierte in einer umfassenden Zerstörung der Integrität des Ventrikels. Darüber hinaus führte die Füllung des Ballonkatheters zu einer ungleichmäßigen, nicht reproduzierbaren Ventrikeldilatation. Hinsichtlich der Materialbeschaffenheit des Katheters wurde festgestellt, dass dessen Festigkeit nicht den Anforderungen der Studie entsprach.



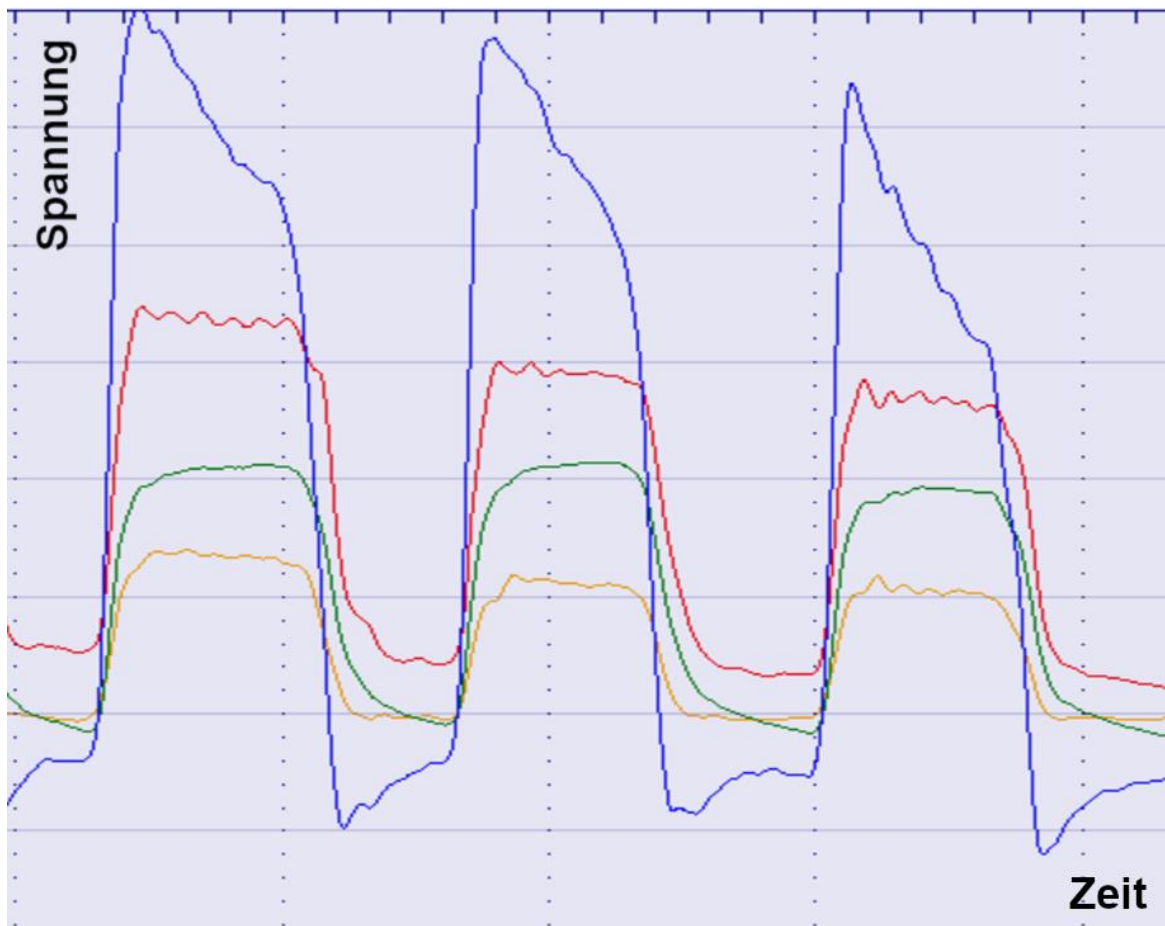
**Abb. 26: Ballonierung eines Herzens mit einem Ballonkatheter.** Es wurde ein Ballonkatheter (BK) über den linken Vorhof bis zum Apex des linken Ventrikels eines Schweineherzens eingeführt. Durch die apikale Eröffnung des Ventrikels wurde die Spitze des Katheters durch einen quer zum Katheter eingesetzten Plastikstab in Position gehalten. In der Folge konnte eine isolierte Dehnung des apikalen Ventrikeldrittels durch die Füllung des Ballonkatheters mit Wasser erzielt werden. AC = apex cordis, AS = atrium sinistrum, VS = ventriculus sinister

#### 3.3.1.6 *Ballonierung mit einer Silikonkugel*

Die Ballonierung durch die Silikonkugel erwies sich als geeignete Methode zur Dehnung des linken Ventrikels für resonanztomographische Messungen. In diesem Ansatz wurden isolierte linke Ventrikel zunächst mit flüssigem Silikon gefüllt, um die physiologische Ventrikelform des Ausgangszustandes für nachfolgende MRT-Messungen zu reproduzieren. Anschließend wurde der Silikonabdruck entfernt und durch eine Silikonkugel mit einem Durchmesser von 2,7cm ersetzt, durch die zielgerichtet das apikale Drittel der Herzkammer dilatiert wurde. Um die Bildung von Luftinseln für eine erneute magnetresonanztomographische Messung des gedehnten Zustandes zu vermeiden, erfolgte eine erneute Verschließung des verbleibenden, nicht dilatierten Hohlraums mit Silikon. Diese Herangehensweise gewährleistete den vollständigen Erhalt der Integrität des Ventrikels und gestattete eine reproduzierbare, gleichmäßige Ballonierung des Ventrikels durch die Verwendung der genormten Silikonkugel.

#### 3.3.2 Ergometrische Untersuchungen

Die lokal durchgeführten Kraftmessungen in der Umgebung der Basis des linken Ventrikels der Schweineherzen belegen eine weitreichende, wandtiefenabhängige Kraftübertragung (Abb. 27). An allen Messpunkten zeigte sich zunächst bei Spreizung des kardialen Apex durch die Spreizvorrichtung (siehe Abschnitt 3.3.1.4) ein rascher Anstieg der gemessenen Kraft bis zu einem maximalen Plateau, das bis zur Entlastung der Dehnung erhalten blieb. Darauf folgte an sämtlichen Messpunkten ein abrupter Abfall der Kraft, synchron mit der Relaxation der Ventrikeldéhnung. Es konnte ein geringer, jedoch stetiger Anstieg der Kraft in der tiefen subendokardialen aufsteigenden Spirale des dreidimensionalen myokardialen Netzwerkes (grüne Kurve) registriert werden, während die apikale Déhnung persistierte. Der Vergleich der Zeitkonstante des Abklingens der fokalen Wandspannung ergab, dass der Abfall der Spannung in der tiefen subendokardialen Schicht (grüne Kurve) gegenüber dem Abklingen an der eigentlichen Déhnungsstelle (gelbe Kurve) und in der mittleren Wandmanschette (blaue Kurve) zeitlich verzögert war. Die Kraftamplituden der mittleren Myokardschicht (blaue Kurve) und der oberflächlichen subepikardialen Spirale (rote Kurve) wiesen die höchsten Spannungswerte auf.

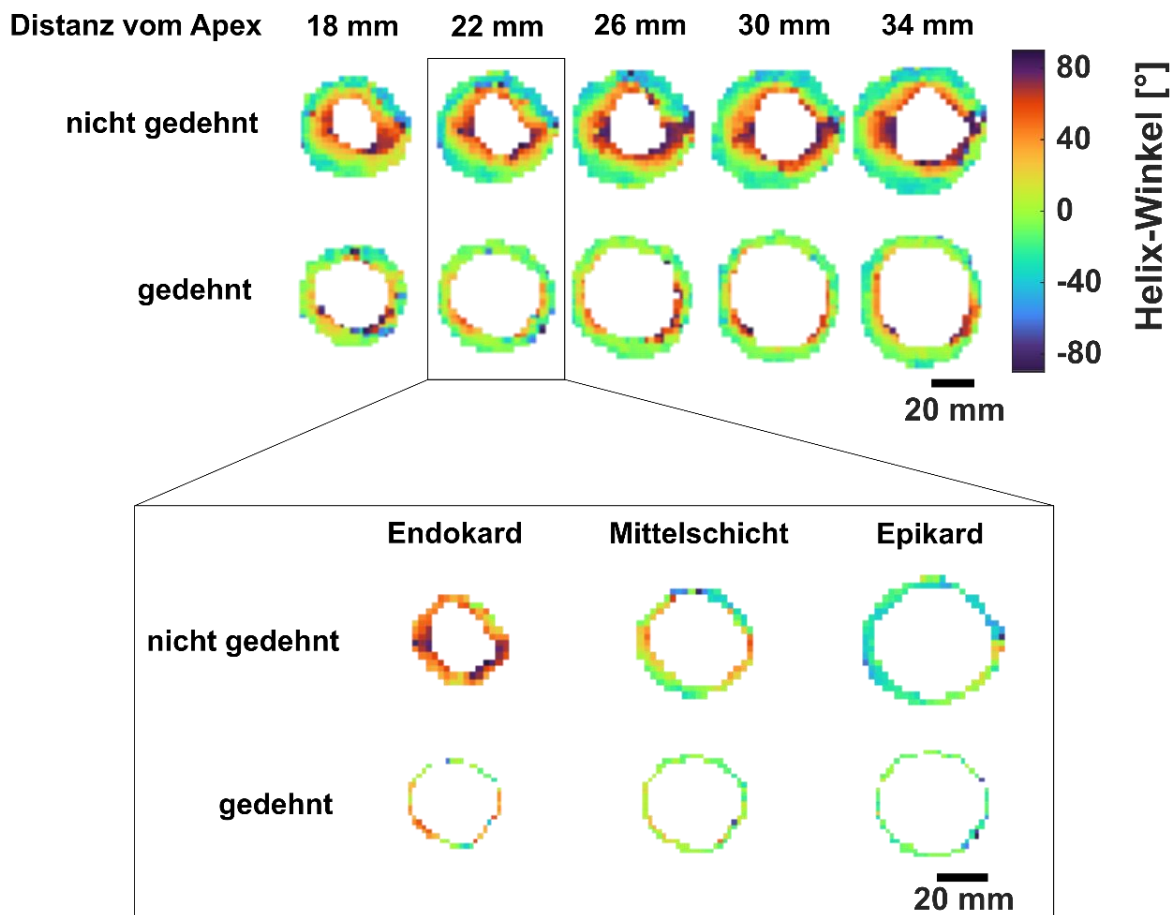


**Abb. 27: Lokale Kraftmessungen an der Herzbasis bei apikaler Ventrikeldéhnung.** Die Abbildung veranschaulicht die sequenzielle Verfolgung von drei Zyklen apikaler Ballonierung eines linken Schweineventrikels bei abnehmenden Ausdehnungsamplituden unter dem Einfluss lokaler Kräfte. Die Kraftableitungen wurden in der Nähe der linken Ventrikelbasis durchgeführt (rot: Subepikard, grün: Subendokard, blau: zirkuläre Mittelwandmanschette) und die gelbe Kurve zeigt den entsprechenden Bereich der apikalen Ausdehnung.

### 3.4.3 Helix-Winkel-Messungen

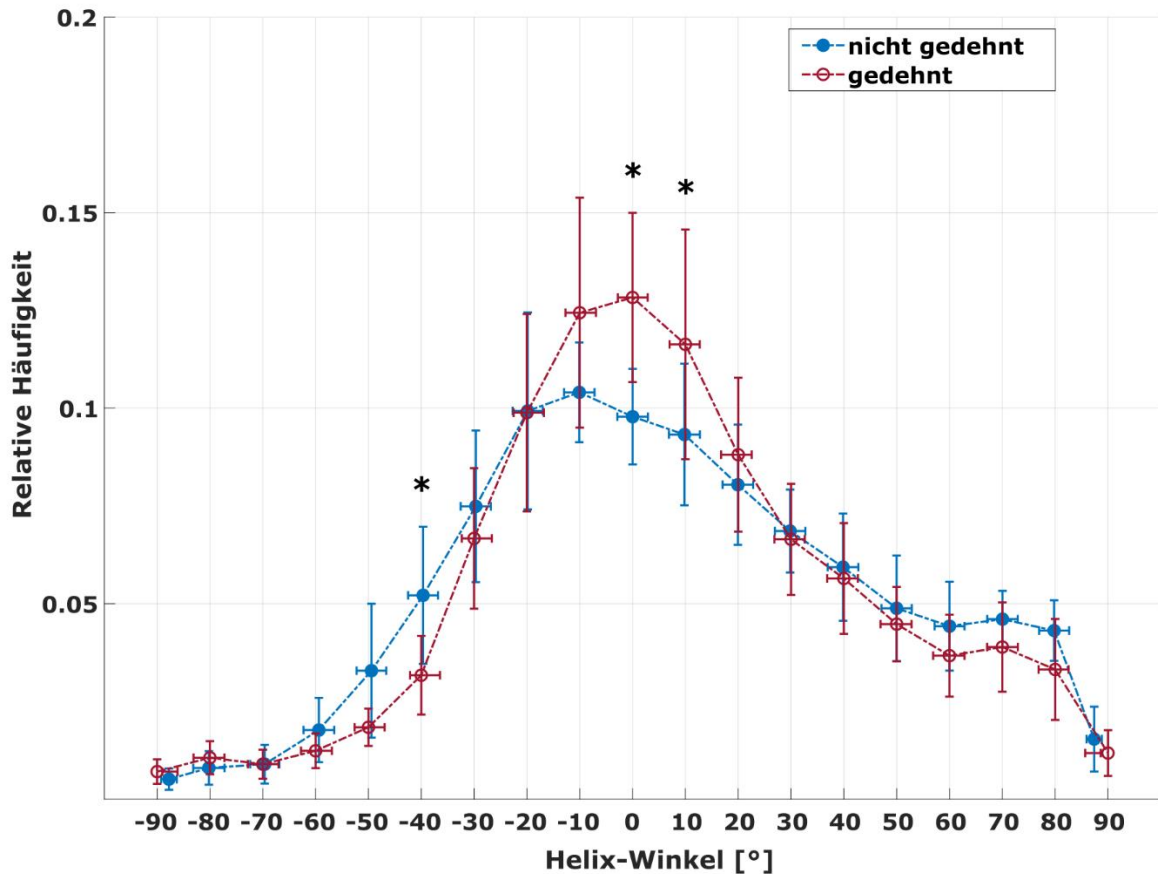
Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde festgestellt, dass die HAs in fünf verschiedenen Schnittebenen von apikal nach basal innerhalb eines Ventrikels im nicht gedehnten Zustand des Subendokards einen mittleren HA von  $41,9^\circ \pm 14,2^\circ$  aufwiesen, während im gedehnten Zustand ein Mittelwert von  $23,1^\circ \pm 15,2^\circ$  erfasst wurde (Abb. 28). Der Verlust an Extremwerten ist ebenfalls im Subepikard zu verzeichnen, wo der mittlere HA-Wert im nicht gedehnten Zustand  $-9,3^\circ \pm 18,6^\circ$  und im gedehnten Zustand  $4,5^\circ \pm 21,3^\circ$  betrug. Die zirkuläre Manschette zeigte jedoch keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Zuständen mit  $16,2^\circ \pm 11,3^\circ$  (nicht gedehnt) bzw.  $14,8^\circ \pm 14,3^\circ$  (gedehnt). Die Resultate aller sieben Fälle zeigten vergleichbare Ergebnisse. Zudem wurde eine Reduktion der Wanddicke im gedehnten Zustand beobachtet, wobei die

Unterscheidung zwischen den drei aufeinanderfolgenden Wandschichten weniger stark ausgeprägt war.



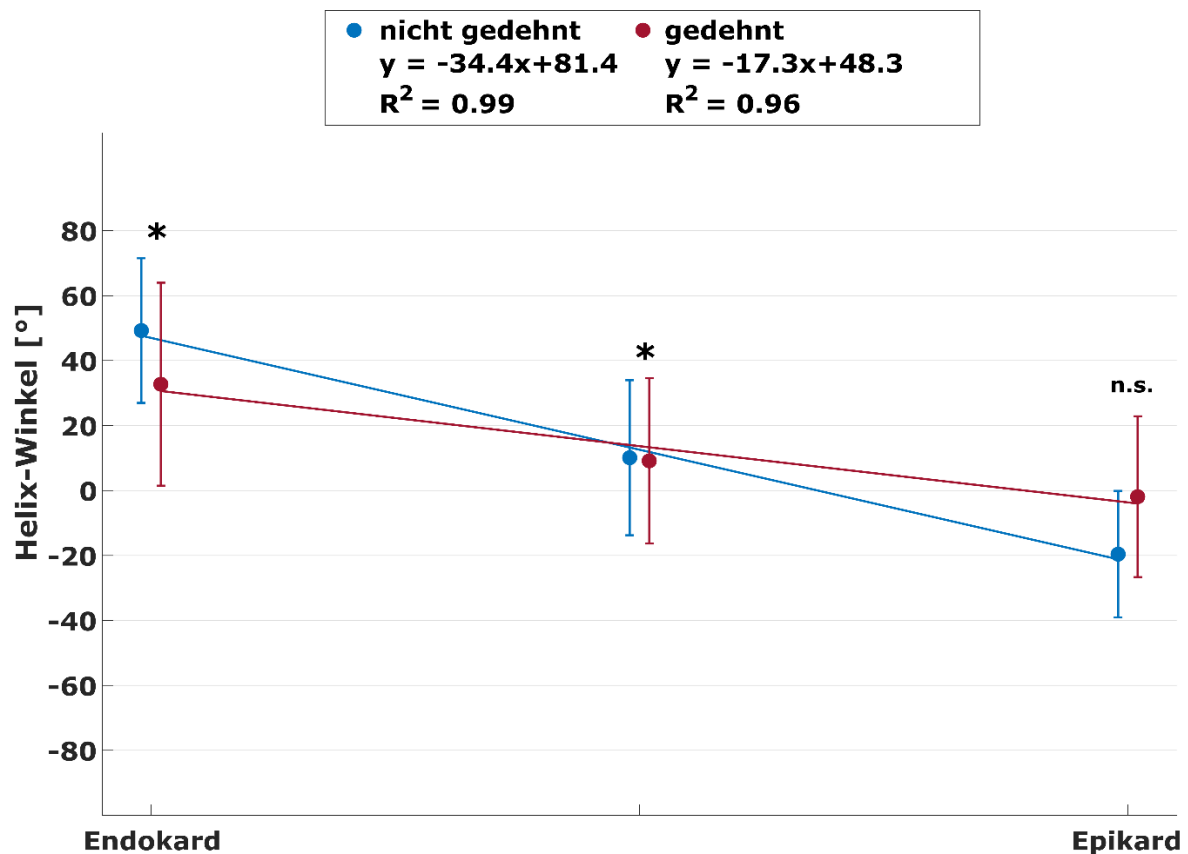
**Abb. 28: Helix-Winkel (helix angle, HA)-Karten in fünf Schichten eines beispielhaften Herzens.** Der gedehnte Zustand wies im Vergleich zum nicht gedehnten Zustand eine geringere Streuung der HA-Werte auf. Darüber hinaus war die dreischichtige Ventrikelarchitektur des nicht gedehnten Zustandes im gedehnten Zustand nicht mehr deutlich erkennlich. mm = Millimeter

Die Analyse der Verteilung der HAs in den sieben Ventrikeln ergab eine erhebliche Verschiebung der Messwerte zwischen dem gedehnten und dem nicht gedehnten Zustand (Abb. 29). Im nicht gedehnten Zustand betrug der häufigste HA  $-10^\circ$ , während im gedehnten Zustand ein Winkel von  $0^\circ$  am häufigsten auftrat. Eine visuelle Analyse der Verteilung der HAs im nicht gedehnten Zustand ließ eine breitere Verteilung an Werten erkennen, mit einer erhöhten Anzahl von extremen HAs innerhalb der Bereiche von  $-60^\circ$  bis  $-30^\circ$  und von  $30^\circ$  bis  $80^\circ$ . Es konnte jedoch lediglich bei den Winkeln  $-40^\circ$ ,  $0^\circ$  und  $10^\circ$  ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Zuständen bestimmt werden.



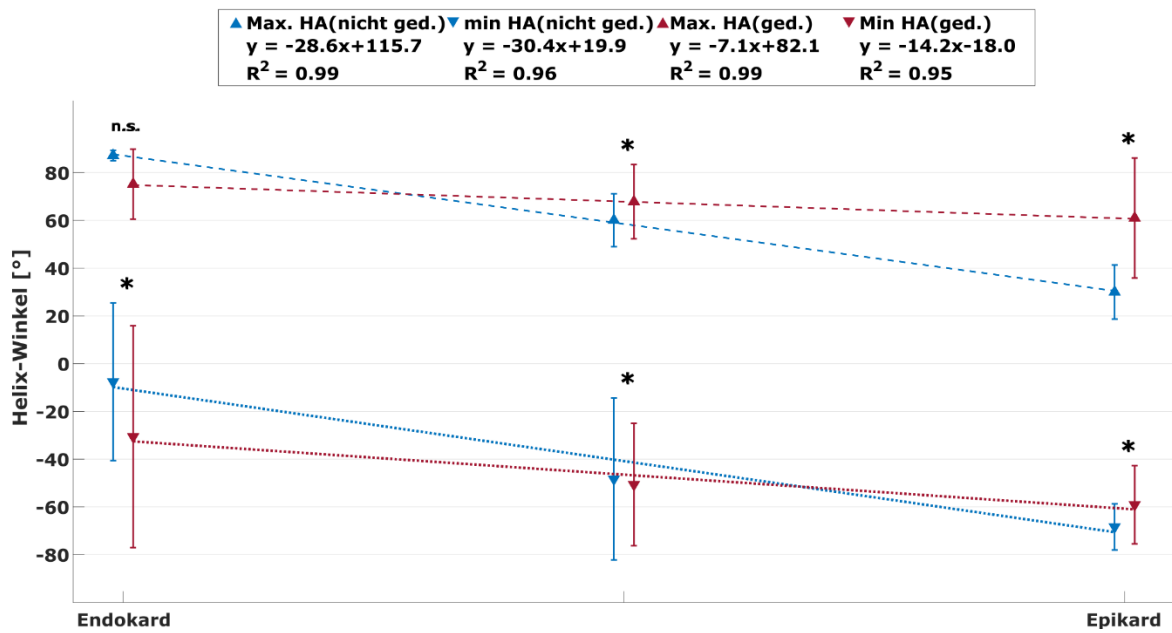
**Abb. 29: Relative Häufigkeit der Helix-Winkel (helix angles, HAs) über alle gemessenen Herzen hinweg.** Die HAs wurden in 10°-Intervalle unterteilt und anhand ihrer relativen Häufigkeit in allen untersuchten Herzen grafisch dargestellt. Die Markierungen entsprechen dem arithmetischen Mittel jedes Intervalls, während die Fehlerbalken die Standardabweichung für den Mittelwert des Intervalls (horizontal) oder die durchschnittliche Häufigkeit (vertikal) darstellen. Die Signifikanz wird mit einem Sternchen (\*) für  $p < 0,05$  angegeben.

Eine vergleichbare Tendenz ließ sich ebenfalls bei Betrachtung der mittleren HAs in den drei anatomischen Regionen Endokard, Mittelschicht und Epikard feststellen (Abb. 30). Die HAs zeigten für beide Zustände eine lineare Abnahme der Werte vom Endokard zum Epikard hin. Allerdings ist die Steigung im nicht gedehnten Zustand steiler ( $m = -34,4^\circ$ ) als im gedehnten Zustand ( $m = -17,3^\circ$ ), was wiederum auf eine höhere Anzahl extremer HAs im Ausgangszustand verweist. Beide Modelle wiesen einen hohen Bestimmungskoeffizienten mit  $R^2 = 0,99$  beim nicht gedehnten und  $R^2 = 0,96$  beim gedehnten Zustand auf, wobei ein statistisch signifikanter Unterschied im Endokard und in der Mittelschicht ermittelt wurde.



**Abb. 30: Darstellung des über alle Herzen in einer einzelnen Schicht gemittelten Helix-Winkel-Wertes.** Der jeweils gewählte Schnitt umfasste den breitesten Punkt der Silikonkugel. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung. Signifikante Unterschiede zwischen dem nicht gedehnten und dem gedehnten Zustand sind mit einem Sternchen (\*) für  $p < 0,05$  gekennzeichnet. n.s. = nicht signifikant

Abbildung 31 veranschaulicht die maximalen und minimalen HAs, die durch die Mittelung über die sieben Herzen für das Endokard, die Mittelschicht und das Epikard berechnet wurden. Auch für diesen Sachverhalt liegt eine steilere Neigung zwischen Endo- und Epikard im nicht gedehnten Zustand ( $m = -28,6^\circ$ ) gegenüber dem gedehnten Zustand ( $m = -7,1^\circ$ ) für die maximalen HAs und  $m = 30,4^\circ$  (nicht gedehnt) gegenüber  $m = 14,2^\circ$  (gedehnt) für die minimalen HA vor. Der maximale HA im nicht gedehnten Zustand erstreckte sich von  $87^\circ$  im Endokard bis  $30^\circ$  im Epikard. Im Vergleich dazu betrug der maximale HA im gedehnten Zustand  $75^\circ$  im Endokard und  $61^\circ$  im Epikard. Der minimale HA wies im nicht gedehnten Zustand einen Bereich von  $-8$  bis  $-68^\circ$  auf, während er im gedehnten Zustand Werte zwischen  $-31^\circ$  und  $-59^\circ$  annahm. Insgesamt nahm die Spannweite der HAs vom Endokard zum Epikard bei Dehnung des Ventrikels ab.



**Abb. 31: Demonstration des maximalen und minimalen Helix-Winkel-Wertes gemittelt über alle Herzen in einem einzelnen Schnitt.** Der jeweils gewählte Schnitt umfasste den breitesten Punkt der Silikonkugel. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung. Signifikante Unterschiede zwischen dem nicht gedehnten und dem gedehnten Zustand sind mit einem Sternchen (\*) für  $p < 0,05$  gekennzeichnet. ged. = gedehnt, n.s = nicht signifikant

## 4. Diskussion

Die vorliegende Dissertation thematisiert grundlegende Aspekte der physiologischen Herzfunktion in umfassender und interdisziplinärer Weise und bezieht sich dabei auf offene Fragen im Rahmen des physiologischen Ablaufes des Herzzyklus. Der Fokus der Arbeit umfasst drei inhaltlich und methodisch ergänzende Teilstudien, die spezifische Komponenten des kardialen Funktionsgefüges untersuchen und folglich ein integratives Gesamtverständnis ermöglichen. Das Ziel der Untersuchung bestand in der Erfassung neuer Erkenntnisse zur perikardialen propriozeptiven Rückkopplung, der explorativen Analyse unbeschriebener Beobachtungen zur linksventrikulären Papillarmuskelverankerung sowie der Untersuchung myokardialer Viskoelastizität und Kraftübertragung. In ihrer Gesamtheit liefern die Ergebnisse einen substanziellen Beitrag zum Verständnis der mechanosensorischen, strukturellen und materialphysiologischen Grundlagen der Herzfunktion und eröffnen neue Perspektiven für die translationale Forschung im Bereich kardiovaskulärer Erkrankungen und Ansätze für neue Therapiemöglichkeiten.

### 4.1 Diskussion zum Studienteil 1

#### 4.1.1 Zusammenfassung und Einordnung der Ergebnisse

Die vorliegende Erstteilstudie umfasste die Identifizierung von korpuskulären Propriozeptoren im humanen Perikard unter besonderer Berücksichtigung ihrer Verteilung, morphologischen Eigenschaften und potenzieller physiologischer Funktion. Die Analyse ergab, dass ausschließlich RLCs in signifikanter Anzahl in allen untersuchten Perikardproben detektiert wurden. Dabei wurden diese mechanosensitiven Rezeptoren innerhalb der drei histologischen Unterschichten des fibrösen Perikards (hier Lamina interna, Lamina intermedia und Lamina externa) nachgewiesen [4, 6, 8] und in drei entsprechende Lokalisationsklassen eingeteilt. Demnach befand sich die Mehrzahl der RLCs zwischen der Lamina intermedia und der Lamina externa (Klasse 2), wobei sich eine zusätzliche Rezeptoranhäufung innerhalb der äußeren Lamina externa (Klasse 3) beobachten ließ. Zwischen der Lamina interna und Lamina intermedia (Klasse 1) konnten nur verhältnismäßig wenige Korpuskel nachgewiesen werden. Diese Rezeptoranzordnung impliziert somit primär eine Registrierung von Verschiebungen innerhalb der fibrösen perikardialen Subschichten (Klasse 1 und 2) und deren Interaktion mit angrenzenden

Strukturen in der Brusthöhle (Klasse 3). Diese relativen Bewegungen könnten durch kardiale Parameter wie der Herzfrequenz, der Kontraktion und Entspannung, Volumenverschiebungen (endsystolisches Volumen, enddiastolisches Volumen) und der Auswurfraction beeinflusst werden. Darüber hinaus lassen sich möglicherweise auch übergeordnete Wahrnehmungen wie das kardiale Zeitbewusstsein ableiten [99].

#### 4.1.2 Interpretation der Clusteranalyse

Die Übertragung der Rezeptorverteilung auf das makroskopische Perikardmodell offenbarte eine besonders ausgeprägte Rezeptorhäufung in den Regionen der ventrikulären Vorwölbungen, wo der Herzdurchmesser maximal ist, sowie am Abgang der großen Gefäße, besonders der Aorta ascendens und dem Truncus pulmonalis. Die Identifizierung der Rezeptor-*Hotspots* mittels Clusteranalyse deutet folglich darauf hin, dass RLCs insbesondere auf volumenbedingte Dehnungen der perikardialen Subschichten reagieren. Dies betrifft insbesondere die Regionen mit starkem Ausschlag der kardialen Volumendynamik, wie die Austrittsstelle der Aorta ascendens bei Auswurf der Ejektionsfraction und die ventrikulären Vorwölbungen im Rahmen der maximalen Dilatation des Herzens. Zudem konnte eine Rezeptorhäufung im Bereich des linken Vorhofs in der Nähe des Ösophagus festgestellt werden, die möglicherweise im Zusammenhang mit Volumenschwankungen beim Schluckakt stehen könnte. Die Anzahl der für die Registrierung der Verschiebungen erforderlichen perikardialen Rezeptoren ist demnach umso größer, je höher die volumetrischen Schwankungen in der entsprechenden Herzregion sind, wodurch die stärksten Signale hervorgehoben werden. Die geringe Rezeptordichte im Bereich des interventrikulären Septums lässt sich durch dessen außerordentliche Rolle in der Biomechanik des Herzzyklus begründen [100]. Demgegenüber könnte das Fehlen von RLCs am kardialen Apex auf dessen begrenzte Exposition gegenüber zyklischen Volumenänderungen zurückzuführen sein, da es während der ventrikulären Herzaktion verhältnismäßig stationär bleibt [101]. Dementsprechend scheint die Überwachung kardialer Volumenänderungen durch perikardiale Propriozeptoren an diesen Stellen weniger relevant zu sein.

#### 4.1.3 Funktion viszeraler Ruffini-Körperchen

Im Gegensatz zu umfangreichen Studien über RLCs im muskuloskelettalen System [39, 41] ist die elektrophysiologische Erforschung ihrer Bedeutung im viszeralen Bereich, insbesondere im Perikard, bislang unzureichend [102]. Im Bewegungsapparat registrieren

Ruffini-Körperchen vor allem Dehnungen, d. h. die Verschiebungen und Bewegungen von Gewebeschichten relativ zueinander [39, 41]. Hinsichtlich ihrer Funktion in den Eingeweiden existieren jedoch gegenwärtig keine gesicherten Erkenntnisse. Ihre Bedeutung bleibt daher unklar und kann nur durch Analogien abgeleitet werden [102]. Die Detektion der Rezeptoren an den mechanisch exponierten Arealen des Perikards, insbesondere an Übergangsregionen und Gleitflächen, impliziert aber eine vergleichbare funktionelle Relevanz wie im Bewegungsapparat.

Entsprechend der in der Fachliteratur dokumentierten Beobachtungen [103] konnte die sympathische efferente Innervation der RLCs durch die immunhistochemische Färbung gegen Tyrosinhydroxylase bestätigt werden, welche eine regulatorische Kontrolle der Reaktionsschwellen auf adrenerge Reize nahelegt. Die Relevanz der autonomen Innervation der RLCs auch im Bewegungsapparat bedarf jedoch weiterer Erforschung, sodass keine direkten Analogien zur Senkung oder Erhöhung der Schwellenwerte bei erhöhtem Sympathikotonus im Perikard abgeleitet werden können. Die Beteiligung spezialisierter Mechanorezeptoren an der Schmerzempfindung wurde bereits in humaner und tierischer Haut dokumentiert [104]. Unter bestimmten Umständen wurde ein Auftreten von Schmerzen im menschlichen Perikard beschrieben [105, 106]. Daher wird angenommen, dass die RLCs zumindest partiell an der Schmerzwahrnehmung beteiligt sind [107]. Dabei wurde die Präsenz von Ruffini-Körperchen in der Nähe nozizeptiver Fasern nachgewiesen [108, 109], was auf eine potenzielle indirekte Funktion bei der Modulation von Schmerz durch ein propriozeptives Feedback hindeutet. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen [110] konnten in der vorliegenden Studie jedoch keine nozizeptiven Fasern, welche bekanntlich an der Schmerzwahrnehmung beteiligt sind [111], durch die immunhistochemische Färbung gegen CGRP in oder nahe der RLCs identifiziert werden.

#### 4.1.4 Weitere Klassen von Propriozeptoren

Da keine weiteren Klassen von Propriozeptoren im menschlichen Perikard nachgewiesen werden konnten, erscheint eine perikardiale Überwachung bestimmter Parameter als unwahrscheinlich. Vater-Pacini- und Golgi-Mazzoni-Körperchen vermitteln die Wahrnehmung unidirektionaler und multidirektionaler Vibrationen und von tiefem Druck in Geweben [112-114]. Dabei reagieren Vater-Pacini-Körperchen optimal auf Schwingungen in einem Frequenzbereich zwischen etwa 250 und 465Hz [115, 116]. Diese Frequenz überschreitet die physiologische Herzfrequenz von ca. 70 Schlägen pro Minute erheblich. Daher erscheint die Erfassung hochfrequenter Schwingungen für die perikardiale Funktion

irrelevant. Krause'sche-Endkolben reagieren primär auf thermische Reize [117-119], einen Reiztypus, der für die perikardiale Aktivität ebenfalls von untergeordneter Relevanz zu sein scheint. Auch die Messung von Zugspannung, wie sie den Golgi-Sehnenorganen zugeschrieben wird [120-122], erweist sich für das Perikard offenbar als irrelevant, da diese Rezeptorgruppe innerhalb des perikardialen Bindegewebes nicht nachgewiesen werden konnten. Demzufolge scheint die sensorische perikardiale Informationsaufnahme prädominierend in der Wahrnehmung der relativen Verschiebung von Geweben zueinander zu liegen.

#### 4.1.5 Ruffini-artige Körperchen als externer Kontrollmechanismus

Wie Sherrington bereits 1907 darlegte [33], existieren propriozeptive "Reflexbögen", bei denen eine motorische Reaktion als Rückkopplungsmechanismus auf einen propriozeptiven Stimulus beobachtet wird. Tuthill und Azim [123] evaluierten die Existenz supraspinaler aufsteigender propriozeptiver Bahnen, die sich zusätzlich zu den grundlegenden spinalen Reflexbahnen, deren Impulse direkt von den Propriozeptoren zu den Interneuronen und Motoneuronen im Rückenmark weitergeleitet werden, erstrecken. In diesem Zusammenhang könnten die perikardialen RLCs als externer Kontrollmechanismus agieren, der die Dehnung des Herzens während des Herzzyklus registriert. Die Propriozeptoren des Herzbeutels sind jedoch nicht in der Lage, einen vergleichbaren Kontrollbogen wie die extrinsischen Reflexe der Skelettmuskulatur zu erzeugen, da das Herz keine direkte neuronale motorische Erregung aufweist. Dennoch scheint es plausibel, dass die perikardialen Propriozeptoren eine Wahrnehmung und Transmission kardialer Parameter wie Herzfrequenz, Kontraktion und Relaxation, enddiastolisches sowie endsystolisches Volumen und Ejektionsfraktion leisten. Dabei zeigt sich eine spezifische Anordnung der Rezeptorcluster entlang der anatomischen Grenzen der vier Herzkammern (rechter Vorhof, rechter Ventrikel, linker Vorhof, linker Ventrikel), die auf eine segmental gesteuerte Propriozeption des Perikards hindeutet. Das autonome Nervensystem wirkt sich nachweislich auf die Herzleistung aus [124, 125]. RLCs identifizieren Scherkräfte und Verschiebungen zwischen den perikardialen Subschichten und zwischen Perikard und Umgebung und könnten bei der kardialen Feedback-Regulierung eine Rolle spielen, indem sie das sympathische und parasympathische Nervensystem modulieren. Eine propriozeptive Überwachung könnte demnach Veränderungen der Dromotropie, Lusitropie, Chronotropie, Inotropie und Bathmotropie bewirken, entweder isoliert oder in kombinierter Form [124, 125]. Die Verschiebungen der perikardialen Subschichten stehen jedoch in einer zeitlichen und örtlichen Relation zu

volumetrischen Veränderungen. Infolgedessen übertragen Ruffini-Körperchen wahrscheinlich primär Informationen über die Herzfrequenz (Chronotropie) und das Schlagvolumen (Inotropie und Lusitropie). Um diesbezüglich jedoch gezieltere und validere Rückschlüsse zu erlauben, sind weiterführende Studien unter Verwendung elektrophysiologischer Messverfahren erforderlich.

#### 4.1.6 Vergleich der Ergebnisse mit tierexperimentellen Studien

Histologische, morphologische und physiologische Studien an Tiermodellen erbrachten den Nachweis für das Vorhandensein verschiedener Rezeptorelemente im Herzbeutel von Tieren [126, 127]. Ergänzende elektrophysiologische Studien an verschiedenen Tierarten belegten die Existenz von neuronalen Plexus, welche auf eine mechanorezeptive Eigenschaft des Perikards hindeuten [126, 128, 129]. Die Vergleiche mit tierexperimentellen Studien offenbaren jedoch Differenzen in der Distribution der mechanosensiblen Rezeptoren: während bei der Untersuchung an Hunden eine Akkumulation der Korpuskel entlang der Vorhöfe und atrioventrikulären Rillen nachgewiesen werden konnte [126], konzentriert sich die Rezeptorverteilung beim menschlichen Organismus auf die ventrikulären Ausbuchtungen und die Austrittsstelle der großen Gefäße. Diese Disparität kann durch die aufrechte Körperhaltung des Menschen bedingt sein, welche mit schwerkraftbedingten Volumenverschiebungen und einer besonderen Aufhängung des Herzens im Thorax einhergeht [130]. Das menschliche Herz ist stärker an den großen Gefäßen aufgehängt, während es bei Vierbeinern hauptsächlich an den oberen oder seitlichen Ventrikelwänden angeheftet ist. Die Übertragbarkeit tierexperimenteller Modelle ist zudem durch die erheblichen morphologischen und viskoelastischen Abweichungen zwischen tierischen und humanen Perikardien deutlich limitiert [130].

Weitere Untersuchungen widmeten sich der möglichen Rolle mechanosensitiver Rezeptoren im Perikard sowie der Aktivität propriozeptiver Neurone im Rückenmark und in kortikalen Regionen bei der Verarbeitung mechanorezeptiver Signale [131]. Da die identifizierten Studien jedoch ausschließlich an Tieren durchgeführt wurden, muss berücksichtigt werden, dass derzeit nicht genügend morphologische Arbeiten vorliegen, um durch vergleichende anatomische oder evolutionsbiologische Analysen ein vertiefendes funktionales Verständnis zu erzielen. Nichtsdestotrotz eröffnet die Bedeutung dieser afferenten Kontrollkreise für kardiale Dysfunktionen interessante therapeutische Perspektiven.

#### 4.1.7 Klinische Bedeutung der perikardialen Propriozeptoren

Aus pathophysiologischer Perspektive ist eine beeinträchtigte propriozeptive Rückmeldung des Perikards bei verschiedenen kardialen Erkrankungen wie serösen Ergüssen, Hämato-perikard, Perikardfibrosen oder nach chirurgischen Eingriffen wie einer Perikardektomie anzunehmen. Akute Volumenveränderungen innerhalb der Perikardhöhle induzieren potenziell eine übermäßige Stimulation der Rezeptoren, was mit einer überschießenden Feedback-Antwort assoziiert sein könnte. Demgegenüber könnten chronische Dehnungsreserven oder perikardiale Adhäsionen, beispielsweise als Folgeerscheinungen einer akuten oder chronischen Perikarditis, die Verschieblichkeit der perikardialen Subschichten durch die verringerte perikardiale Elastizität einschränken und folglich die Rezeptoraktivität reduzieren. Die daraus resultierende unzureichende propriozeptive Rückmeldung könnte in der Folge Palpationen begünstigen. Eine Störung der Integrität des Herzbeutels, beispielsweise bei einer Perikarderöffnung im Rahmen chirurgischer Eingriffe, könnte ebenfalls zu einer Reduktion der Rezeptorempfindlichkeit des Herzbeutels beitragen. Die partielle Perikardektomie, ein gängiger und etablierter chirurgischer Eingriff zur Behandlung von Perikarditis, ist mit hohen perioperativen und langfristigen Mortalitätsraten assoziiert [132-134]. Diese Befunde bekräftigen die Annahme, dass das Perikard an der physiologischen Überwachung der Herzfunktion involviert ist. Eine Resektion des Perikards oder dessen Belassung in offener Konfiguration könnte zu einem partiellen oder vollständigen Verlust des afferenten Schenkels der propriozeptiven Rückkopplung führen, was sich in lebensbedrohlichen Komplikationen auswirken kann. In der wissenschaftlichen Literatur wird die pathophysiologische Relevanz des Perikards bislang maßgeblich auf seine mechanische Funktion beschränkt, wohingegen sensorische Komponenten nur unzureichend berücksichtigt werden. Diese Diskrepanz könnte auf die unzureichende Informationsgrundlage hinsichtlich der sensorischen Rückmeldung des Herzbeutels zurückzuführen sein. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie legen nahe, dass die propriozeptive Informationsaufnahme aus dem Perikard ein integraler Bestandteil der physiologischen Regulation des Herzens ist. Hieraus ergeben sich bedeutende Konsequenzen für die Diagnose und Therapie kardiovaskulärer Dysfunktionen [135].

#### 4.1.8 Zusammenfassung und Limitationen

Zusammenfassend weisen die Erkenntnisse dieser Studie darauf hin, dass das Perikard eine bislang nicht ausreichend berücksichtigte sensible Bedeutung einnimmt, mit den RLCs als anatomischem Korrelat dieser Leistung. Das Perikard ist neben den bekannten mechanischen Funktionen dementsprechend zusätzlich ein Sensor. Im Rahmen der Studie

war die Nutzung von Perikardgewebe auf postmortale Körperspenden mit einem durchschnittlichen Alter von 82 Jahren begrenzt. Es ist anzunehmen, dass die Anzahl und die topographische Verteilung der RLCs in jüngeren Kohorten systematisch abweichen und einer altersabhängigen Dynamik unterliegen. Für das human- wie tierexperimentelle muskuloskelettale System ist eine altersassoziierte kontinuierliche Abnahme der Propriozeptordichte beschrieben [136, 137]. Gleichzeitig wird Ruffini-Körperchen ein hohes regeneratives und remodellierendes Potential zugeschrieben [138], was auf kompensatorische Prozesse im Kontext struktureller Plastizität hindeutet. Angesichts dieser Datengrundlage können weder die absolute Rezeptorzahl in jüngeren Populationen valide quantifiziert noch können verlässliche Aussagen zur zeitlichen Dynamik der Korpuskel getroffen werden. Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse sind daher als Momentaufnahme des Rezeptorbestandes und der Rezeptorverteilung einer älteren Bevölkerungsgruppe zu interpretieren. Eine weitere Limitation resultiert aus der unzureichenden Datenlage potenzieller Vorerkrankungen der Körperspenden sowie der häufig unvollständigen Dokumentation der Todesursache auf den ausgestellten Todesbescheinigungen. Informationen zu kardialen Vorerkrankungen und Todesursachen konnten daher ausschließlich den Totenscheinen entnommen und durch eine eingehende makroskopische Begutachtung des Herzgewebes ergänzt werden. Weiterhin war die zuverlässige Identifikation von RLCs nur gewährleistet, wenn ihre spindelförmige Organisation in einem Längsschnitt erfasst wurde, die parallel zur Orientierung der Kollagenfasern verlief. Es ist jedoch plausibel, dass zusätzlich korpuskuläre Rezeptoren orthogonal zwischen den perikardialen Subschichten angeordnet sind. Deren eindeutige Zuordnung bleibt jedoch aufgrund der anders erscheinenden Architektur und ausgeprägten Schnittlagenabhängigkeit unklar. Angesichts der nicht eindeutig bestimmbaren räumlichen Ausdehnung der Rezeptoren wurde daher auf eine Hochrechnung der RLCs auf die gesamte Perikardoberfläche verzichtet. Auch die Anzahl an Perikardien sollte in Folgeuntersuchungen erhöht werden, um gezieltere Aussagen über die Verteilung propriozeptiver Korpuskel zu erlauben. Dennoch wurden trotz des limitierten Stichprobenumfanges charakteristische und über alle Präparate hinweg reproduzierbare Foci der Rezeptorverteilung identifiziert.

## 4.2 Diskussion zum Studienteil 2

### 4.2.1 Zusammenfassung und Einordnung der Ergebnisse

Der zweite explorative Studienanteil fokussierte sich auf unzureichend beschriebene Aspekte der Verankerung der LVPM in das Kammermyokard. Hinsichtlich der Morphologie und Tiefe der Verankerung manifestierten sich zwei disparate Varianten: eine direkte und feste Verankerung ohne Trabekel (Klasse I) sowie eine Verankerung mit Trabekeln (Klasse II). Letztere lässt sich wiederum in zwei Subkategorien differenzieren. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde festgestellt, dass der überwiegende Anteil (70%) der untersuchten LVPM der Verankerung mit Trabekeln (Klasse II) entsprach. Diese Ergebnisse korrespondieren weitgehend mit den Beobachtungen von Axel [73], der mittels Röntgen-Multidetektor-CT und interaktiver 3D-Rekonstruktion am lebenden Patienten feststellen konnte, dass die Papillarmuskeln eher an den trabeculae carneae und nicht unmittelbar an der festen Kammerwand verankert sind. Demgegenüber konnte in der vorliegenden Studie in einer geringeren Anzahl von Fällen (30%) eine zusätzliche Verankerungsform ohne Trabekel beobachtet werden, bei der die Papillarmuskeln direkt mit der Herzwand assoziiert sind. Darüber hinaus zeigt die vorliegende Untersuchung keine geschlechtsspezifischen Diskrepanzen bezüglich der beschriebenen Verankerungstypen, ein Parameter, der in der Arbeit von Axel [73] unberücksichtigt blieb.

### 4.2.2 Weitere Klassifikationen humaner Papillarmuskeln

In den zurückliegenden Jahrzehnten wurden verschiedene Ansatzpunkte zur Klassifikation der LVPM vorgeschlagen, wobei sich diese maßgeblich auf morphologische Aspekte wie der generellen Form und Struktur der Muskeln konzentrieren [11, 14, 15, 66-69]. Weitere Klassifikationen adressieren die Anzahl der Muskelköpfe oder -basen [11, 14, 16, 67, 69-72] oder die Verbindung der Papillarmuskeln zur Mitralklappe bzw. die Anzahl und Konfiguration der zugehörigen chordae tendineae [11, 68, 71, 72]. Die spezifische Verankerung der Papillarmuskeln im ventrikulären Myokard blieb hingegen weitestgehend unbeachtet. Victor und Nayak [11] definierten vier Subtypen von linksventrikulären Papillarmuskeln basierend auf ihrer Insertion in die Myokardwand sowie ihrer Protrusion in die Ventrikelhöhle. Auf eine detaillierte Erläuterung der spezifischen Verankerungsmechanismen zwischen Muskel und Herzwand wurde jedoch verzichtet. Auch Ranganathan und Burch [69] widmeten sich der Verbindung der Papillarmuskeln zur ventrikulären Wand und differenzierten zwischen "completely tethered papillary muscles",

deren Befestigung über einige trabekuläre Verbindungen am Myokard erfolgt, und "fingerlike papillary muscles", welche nur wenige oder keine trabekulären Fixierungen zur Ventrikelwand ausbilden. Obwohl diese Kategorisierung gewisse Analogien zur vorliegenden Systematik aufweist, mangelt es in ihrer Darstellung an detaillierten Informationen zur anatomischen und histologischen Charakteristik der Kontaktzone zwischen Papillarmuskel und Kammermyokard. Die vorliegende Studie präsentiert eine explorative Charakterisierung, die sowohl histologische Befunde als auch morphologische Details der Verankerungsregion umfasst. Ferner erweitert die vorliegende Analyse den bestehenden Kenntnisstand, indem die Verankerungstiefe der Papillarmuskeln innerhalb der drei Subschichten des ventrikulären Maschenwerks untersucht wird.

#### 4.2.3 Embryologische Formation der Papillarmuskeln

Die grundlegende morphogenetische Formation der Papillarmuskelverankerung ist mutmaßlich auf komplexe Prozesse der kardialen Embryogenese zurückzuführen [139]. Während der pränatalen Herzentwicklung unterliegt das kardiale Gewebe einem allometrischen Wachstum, welches durch unterschiedlich hohe Proliferationsraten der involvierten Myokardkomponenten charakterisiert ist. In den frühen Entwicklungsstadien sind die Ventrikelwände überwiegend durch trabekuläre Strukturen geprägt, wohingegen die kompakte Myokardschicht lediglich eine dünne periphere Zone formt [139, 140]. Im weiteren Verlauf differenzieren sich trabekuläre und kompakte Myokardanteile mit unterschiedlichen Größenentwicklungen, wobei die kompakte Schicht eine verhältnismäßig dominantere Expansion aufweist [141]. Dabei akquirieren die Papillarmuskeln funktionell die Eigenschaften des kompakten Myokards, insbesondere hinsichtlich ihrer kontraktile Kapazitäten [142].

Es wird allgemein angenommen, dass die Papillarmuskeln durch die Fusion embryonaler Trabekel entstehen [143-145]. Diese trabekulären Vorläuferstrukturen differenzieren sich nicht nur zu Papillarmuskeln, sondern auch zu weiteren funktionellen Komponenten, wie den Trabekeln und den Purkinje-Fasern [146]. Die Genese der Papillarmuskeln ist demnach eng mit der trabekulären Architektur der embryonalen Ventrikelwand verknüpft. Unterschiedliche Delaminationsgrade innerhalb der trabekulären Matrix tragen zur variablen Ausprägung des Mitralklappenkomplexes, einschließlich der Papillarmuskeln, bei [139]. Dennoch scheint diese erhebliche interindividuelle Variabilität keine klinisch bedeutsame Auswirkung auf relevante funktionelle Parameter auszuüben [140]. Die Formation der trabekulären Papillarmuskelverankerung lässt sich aus embryonaler Perspektive schlüssig erklären. Die Ausbildung einer direkten, trabekelfreien Verankerung

wirft hingegen wissenschaftliche Kontroversen auf. Die Hypothese, dass die Papillarmuskeln durch das Zusammenschmelzen von Trabekeln entstehen, lässt die kontinuierliche Durchsetzung ihrer Gewebestränge über sämtliche Schichten der kompakten Wand fraglich erscheinen. Mögliche Ursachen könnten in genetischen Modifikationen oder Gendefiziten liegen, welche die kardiale Morphogenese regulieren [139, 147, 148]. Es ist bekannt, dass eine Störung der Kompaktierung der trabekulären Matrix potenziell in einer fehlerhaften Fusion der Papillarmuskeln resultiert, welche sich in Hypertrophie oder multiplen Muskelsträngen äußert. Dieser Zusammenhang wurde experimentell an Mausmodellen mit Deletion des Nkx2-5-Gens nachgewiesen [149]. Auch Transkriptionsfaktoren der Hand-Familie fungieren als zentrale Regulatoren der kardiovaskulären Morphogenese und sind mit der Pathogenese kongenitaler Herzanomalien assoziiert [147]. In diesem Rahmen steht insbesondere die Deletion von Hand1 im Kontext von Entwicklungsstörungen der Papillarmuskulatur [148]. Darüber hinaus werden weitere genetische Determinanten, wie das Nppa-Nppb-Gencluster, mit der embryonalen Herzentwicklung und angeborenen Herzfehlern in Zusammenhang gebracht [150, 151]. Die klinische Relevanz derartiger morphogenetischer Malformationen erstreckt sich von funktionellen Defiziten der Papillarmuskulatur bis hin zu gravierenden Störungen des kardialen Leitungssystems und der Entwicklung einer Herzinsuffizienz [149].

Trotz der bestehenden embryologischen Diskrepanzen lässt sich allgemein jedoch annehmen, dass eine verstärkte Proliferation der kompakten Myokardschicht während der embryonalen Entwicklung mutmaßlich eine direkte Verankerung der Papillarmuskeln ohne intermediäre Trabekelstruktur begünstigt. Hingegen besteht eine wahrscheinliche Korrelation zwischen einer übermäßigen trabekulären Matrixexpansion und einer indirekten, trabekulären Anbindung der Papillarmuskeln an das Ventrikelmyokard. Um jedoch mögliche embryologisch bedingte Schlussfolgerungen der Papillarmuskelmorphologie sicher ziehen zu können, muss das explorative Studiendesign an dieser Stelle um weitere genetische und bildgebende Methoden ergänzt werden. Eine zusätzliche Validierung dieser Zusammenhänge über die Lebensspanne hinweg ist derzeit nur mittels hochauflösender Bildgebung am lebenden Herzen realisierbar. Gegenwärtig ist deren Einsatz auf tierexperimentelle Verfahren unter Verwendung von Methoden wie der Hip-CT oder der Mikro-CT beschränkt [152-154].

#### 4.2.4 Auswirkung der Papillarmuskelverankerung auf den Herzzyklus

Die charakteristischen Ausprägungen der Verankerungstypen der LVPM könnten die mechanische Dynamik des Herzzyklus beeinflussen. Gemäß der Theorie des intrinsischen Antagonismus von Lunkenheimer [155, 156] wird das Myokard als ein hochkomplexes Netzwerk von Kardiomyozyten angesehen, das simultan zwei antagonistische Kraftverläufe generiert. Dabei wird zum einen eine entlastende Kraftkomponente (*unloading*) aktiviert, welche die parallel zur Ventrikeloberfläche orientierten Myozytenketten nutzt, um während der kardialen Auswurfphase kontinuierlich durch die Verkürzung dieser Ketten die Auswurfleistung zu ermöglichen, wobei das Kraftmaximum sukzessiv abnimmt. Zum anderen wird eine auxotonische Kraftkomponente erzeugt, welche durch das schräg transmural verlaufende Netzwerk des Myokards entsteht und sämtliche Muskelschichten miteinander verknüpft. Die Verkürzung dieses auxoton arbeitenden Myokardnetzwerks ist aufgrund systolischer Wandverdickung limitiert, sodass während der Ejektionsphase eine ansteigende Kraftentwicklung zu registrieren ist. Das Spitzen-Level der auxotonischen Kräfte übersteigt das der entlastenden Komponente und fungiert als treibende Kraft für die initiale endsystolische Ventrikelreexpansion. Die histologische Analyse der vorliegenden Papillarmuskeln weist auf eine höhere Dichte des schräg transmuralen Netzes an der Transitionszone zwischen Papillarmuskel und Ventrikelwand bei der direkten Verankerung ohne Trabekel hin. Diese Korrelation könnte darauf hindeuten, dass eine Erleichterung der Initiation der endsystolischen ventrikulären Dilatation bei der Papillarmuskelverankerung ohne Trabekel vorliegt. Eine Einflussnahme auf den Herzzyklus lässt sich also nicht nur durch die perikardialen Propriozeptoren als externer Kontrollmechanismus vermuten (siehe Abschnitt 4.1.5), sondern auch durch die myokardiale Architektur einschließlich der Papillarmuskeln selbst. Aufgrund der rein explorativ erhobenen Daten behält diese Annahme allerdings vorerst hypothetischen Charakter. Zur Validierung dieser Hypothese bedarf es weiterführender mechanischer *in-vivo*-Studien, in denen die Kraftentwicklung des Herzens während der Herzaktion für beide Verankerungsformen systematisch erfasst und verglichen wird.

#### 4.2.5 Klinische Relevanz der Papillarmuskelbasis

Die Untersuchung der Papillarmuskelbasis eröffnet wesentliche Einblicke in ihre Funktion als Verbindungspunkt für die vaskuläre Versorgung und die Erregungsleitung des Herzens. Ranganathan und Burch [69] klassifizierten zwei verschiedene Kategorien von intramyokardialen Gefäßarchitekturen. Bei der ersten Variante, die als "Zentralarterie" klassifiziert wird, handelt es sich um longitudinal verlaufende Gefäßstämme mit geringem

Verzweigungsgrad, die ein mittleres Lumen von ca. 900µm aufweisen. Zweitens wurden "Kapillarnetzwerke" identifiziert, die aus stark verzweigten Gefäßstrukturen mit Lumina zwischen 160 und 320µm bestehen und die peripheren Papillarmuskelanteile segmental und disseminiert versorgen. Estes et al. [157] differenzierten in analoger Richtung zwei arterielle Klassen von Arborisationen. Typ A ist gekennzeichnet durch ein feingliedriges Mikrogefäßbett mit hoher Anastomosefrequenz, während Typ B sich durch makrovaskuläre Gefäßbahnen mit minimalem Verzweigungsgrad kennzeichnet, deren Kaliber bis zum Apex der Papillarmuskeln konstant bleibt. Es ist davon auszugehen, dass trabekelfreie Papillarmuskel-Basalanteile durch die robusten Zentralarterien (Typ B nach Estes) perfundiert werden, während trabekulär strukturierte Muskelareale auf ein tributäres Netz feinsten Arterienzüge (Typ A nach Estes) angewiesen sind. Papillarmuskeln stellen grundlegend die terminale Perfusionseinheit ventrikulärer Myokardareale dar und weisen dadurch ein natürlich erhöhtes Risiko transmuraler Hypoperfusion auf [158]. Darüber hinaus moduliert die Morphologie der papillarmuskulären Verankerung die mechanische Rupturresistenz unter pathophysiologischen Bedingungen. Es lässt sich vermuten, dass die tiefe Vernetzung der festen Papillarmuskelverankerung ohne Trabekel eine höhere Widerstandsfähigkeit gegenüber einer vollständigen Ruptur aufweist als die trabekuläre Variante. In Folgeuntersuchungen müsste validiert werden, ob das arterielle Versorgungsmuster mit der Ausprägungsform der Papillarmuskelverankerung korreliert. Hierdurch könnte das Ischämie- und Rupturrisiko des Papillarmuskels in Abhängigkeit von der Morphologie der Verankerungsstelle klinisch beurteilt werden.

#### 4.2.6 Zusammenfassung und Limitationen

Zusammenfassend schlägt die vorliegende explorative Teilstudie eine neuartige funktionelle und pathophysiologisch relevante Klassifizierung der Verankerungstypen der LVPM vor. Die gewonnenen Erkenntnisse bedürfen jedoch weiterer Folgestudien, die die erhobenen Daten ergänzen und verifizieren. Dadurch könnten neue Grundlagen zur Interpretation kardialer Bildgebung, zur Risikoeinschätzung bei Rupturverdacht, sowie zur besseren Einordnung kongenitaler Fehlbildungen geschaffen und neue therapeutische Ansätze ermöglicht werden. Darüber hinaus sind zusätzliche Limitationen dieser Studie zu berücksichtigen, neben den bereits in Abschnitt 4.1.8 beschriebenen Einschränkungen, die sich aus dem Alter der Körperspenden sowie aus der eingeschränkten Verfügbarkeit von Informationen zu den jeweiligen Todesursachen ergeben. Da die Anlage und Ausprägung der Papillarmuskeln höchstwahrscheinlich embryologischen Ursprungs ist, wird eine altersbedingte Ausprägung des Verankerungstyps grundsätzlich als unwahrscheinlich

erachtet. Eine wesentliche methodische Einschränkung resultiert aus der fehlenden Steuerbarkeit des myokardialen Kontraktionszustandes der untersuchten Herzen. Postmortale Herzen ohne Behandlung mit kardioplegischen Lösungen zeigen erfahrungsgemäß eine ausgeprägte Kontraktion [159], wodurch die analysierten Präparate wahrscheinlich eher einen kontrahierten als einen relaxierten Zustand aufwiesen. Wie Axel darlegte [73], ist die trabekuläre Anheftung an der Basis der Papillarmuskeln während der Systole weniger klar zu identifizieren. Zudem demonstrierte eine jüngere Studie zur Ventrikeltrabekularisierung an postmortalen humanen Herzen, dass das Ausmaß der trabekulären Schicht in makroskopischen Präparationen im Vergleich zur *in-vivo* Bildgebung tendenziell unterschätzt wird [145]. In Anbetracht dessen erscheint es möglich, dass die in der vorliegenden Arbeit beschriebene, makroskopisch erfasste Variabilität (Klasse I vs. Klasse II) der Papillarmuskelverankerung zumindest teilweise als Artefakt des unkontrollierten Kontraktionszustandes zu interpretieren ist. Eine weitere Einschränkung ergibt sich aus der begrenzten Auflösung und Dimensionalität der konventionellen Lichtmikroskopie. Zwar lassen sich Fragmente von Kardiomyozytenbündeln, deren Ursprünge in den Papillarmuskeln liegen und die sich durch die Ventrikelwand hindurch erstrecken, über mehrere Schnitte hinweg longitudinal nachverfolgen, die Methode gestattet jedoch keine lückenlose, dreidimensionale Rekonstruktion kontinuierlicher Myozytenketten ohne Informationsverlust. Die Beobachtung von Faserbündeln in der Schnittebene des Muskels erbringt daher nicht zwangsläufig den Nachweis eines kontinuierlichen Verlaufs.

## 4.3 Diskussion zum Studienteil 3

### 4.3.1 Zusammenfassung und Einordnung der Ergebnisse

Die dritte Teilstudie widmete sich der Analyse der myokardialen Viskoelastizität sowie der intramuralen Kraftübertragung unter *ex-vivo* Bedingungen. Ziel war es, die mechanische Anpassungsfähigkeit und Plastizität des postmortalen Myokards zu überprüfen sowie seine Eignung als funktionelles Modell für die kardiale Dynamik und für die Takotsubo-Myopathie zu evaluieren. Die in den nicht gedehnten Herzen im Ausgangszustand ermittelten HAs korrelieren weitgehend mit den in der Literatur aufgeführten Verteilungen: die Häufigkeitsdichte der HA-Verteilung konzentrierte sich primär auf den Bereich von  $-40^\circ$  bis  $+50^\circ$ , mit einem Schwerpunkt bei  $-10^\circ$  [31]. Die im Vergleich zu den *in-vivo* erhobenen Messungen von Ferreira et al. [31] geringfügig verschobene Verteilung ist mutmaßlich

methodisch bedingt und resultiert aus den *ex-vivo* Bedingungen der vorliegenden Studie. Als potenzielle Fehlerquellen kommen zudem eine exzentrische Position des Silikonballs sowie eine von den *in-vivo*-Lage abweichende Orientierung der Ventrikel innerhalb der Silikonform in Betracht. Auch die histologischen Befunde an kaninen Herzen von Streeter, Spotnitz et al. [28] zeigten HAs in einer Größenordnung, die mit den vorliegenden Beobachtungen übereinstimmt. Die Vergleichbarkeit mit tierexperimentellen Studien ist wie in Abschnitt 4.1.6 erläutert jedoch eingeschränkt, da u.a. der bipede Gang des Menschen einzigartige Volumen- und Belastungsdynamiken erfordert, die sich grundlegend von denen quadrupeder Spezies unterscheiden. Die geringen Extremwerte des vorliegenden Datensatzes, sowohl im Bereich der Minima als auch der Maxima, lassen sich neben den evolutionsbedingten Unterschieden durch die begrenzte räumliche Auflösung der Messanordnung (Voxelvolumen:  $2\text{mm}^3$ ) plausibel erklären. Dennoch weisen die Resultate auf eine physiologisch konsistente Richtungsänderung der HAs hin und belegen einen nachweisbaren Rückgang der HAs bei intrakavitärer Dilatation. Die Analyse der intramuralen Spannungsübertragung ergab die langstreckige Transmission myokardialer Zugkräfte über die spiralförmige Geometrie der postmortalen Herzwand. Selbst bei maximaler apikaler Distension konnte eine marginale Steigerung der Spannung in den tief subendokardialen Spiralzügen festgestellt werden. Diese Beobachtung stützt die Hypothese einer langsamen elastischen Kopplung entlang der Kraftübertragungsstrecke.

#### 4.3.2 Einflussgrößen der ventrikulären Leistungsfähigkeit

Die ventrikuläre Leistungsfähigkeit wird im Wesentlichen durch drei Determinanten geprägt, die in weiterführenden Untersuchungen als potenzielle Ursachen systematischer Diskrepanzen gezielt zu kontrollieren sind. Erstens lässt sich eine Zunahme der Steifigkeit der Kardiomyozyten im postmortalen Gewebe beobachten, die mit dem Ausmaß der Totenstarre einhergeht. In den vorliegenden Präparaten war die Totenstarre jedoch vollständig aufgehoben. Zweitens bedingen fibrotische Umbauprozesse und Speichererkrankungen die myokardiale Wandsteifigkeit in heterogenen Mustern. Beide Konstellationen wurden in der vorliegenden Untersuchung durch Zuhilfenahme des Totenscheins und einer detaillierten Inspektion der Herzen bestmöglich ausgeschlossen. Drittens basiert die ventrikuläre Plastizität auf dem schichtweisen Gleit- und Schervermögen des tangential orientierten myokardialen Fasergeflechts, das durch myokardiale Hypertrophie substanziell moduliert wird. Dieser Punkt konnte aufgrund des fortgeschrittenen Alters der Körperspenden nicht komplett ausgeschlossen werden, da mit hohem Alter häufig eine leichte Form der Hypertrophie einhergeht. In Kombination

determinieren diese Faktoren sowohl den mechanischen Handlungsspielraum des Ventrikels als auch zentrale Störgrößen, die die Interpretation experimenteller Befunde maßgeblich beeinflussen können.

### 4.3.3 Organisation des Myokards

Das Konzept des biventrikulären Globus sieht eine sowohl strukturell organisierte als auch funktionell antagonistische Interaktion als Kontinuum interagierender kardialer Komponenten vor. Diese Organisation ist daher nicht nur für die strukturelle Verankerung der Papillarmuskeln im Kammermyokard von Bedeutung (siehe Abschnitt 4.2.4), sondern auch für die grundlegenden viskoelastischen Myokardeigenschaften. Dabei weist jede Komponente eine spezifische räumliche Orientierung, eigene Kopplungsbedingungen und damit ein charakteristisches Vor- und Nachlastprofil auf [160, 161]. Dies erfordert die Analyse myokardialer Funktionsstörungen mittels diagnostischer Verfahren, die eine regionale und insbesondere wandtiefenspezifische Auflösung ermöglichen. Ein Beispiel für heterogene Pathomechanismen ist der überproportionale Beitrag des Subendokards zur globalen ventrikulären Hypertrophie, obwohl nach dem Laplace'schen Gesetz die höchste Wandspannung im Subepikard zu erwarten ist [162, 163].

Die vorliegenden Befunde legen nahe, dass die ventrikuläre Gesamtgeometrie im toten Herzen eine adäquate Plastizität beibehält. Dies äußert sich in Veränderungen der HAs unter ventrikulärer Dilatation, deren Ausmaß mit den während des physiologischen Herzzyklus beobachteten Veränderungen vergleichbar ist [164, 165]. Darüber hinaus erlaubt die langstreckige Kraftübertragung entlang der drei Schenkel des ventrikulären *Looping*-Systems den Rückschluss auf ein fortbestehendes Gleitpotenzial im postmortalen Herzen, dessen Erhalt für die mechanische Anpassungsfähigkeit von zentraler Bedeutung ist. Die Heterogenität der Fernkraftverteilung stützt die Hypothese, dass eine Segmentierung der ventrikulären Gesamtgeometrie in funktionelle Kompartimente plausibel erscheint.

### 4.3.4 Klinische Anwendung

Eine Kardiomyopathie mit reversibler apikal begrenzter Erweiterung des linken Ventrikels ist das Takotsubo-Syndrom. Bei dieser Myopathie handelt es sich um eine neurokardiogene Form einer akuten, regionalen linksventrikulären systolischen und diastolischen Dysfunktion, die häufig mit emotionalem oder physischem Stress einhergeht [166]. Die

Herzinfarkt-ähnlichen Symptome dieser Pathologie könnten in Zusammenhang mit der durch die apikale Dilatation einhergehenden Perikardüberdehnung und folglich der eingeschränkten perikardialen propriozeptiven Rückkopplungsschleife stehen (siehe Abschnitt 4.1.7). Das generierte Modell des gedehnten Ventrikelapex kann als erster Entwurf einer Modellierung dieser rein mechanischen Komponente der Takotsubo-Kardiomyopathie angesehen werden. Veränderungen in der Verteilung myokardialer HAs sind für verschiedene kardiovaskuläre Erkrankungen dokumentiert. Beim Myokardinfarkt und der hypertrophen Kardiomyopathie konnten signifikante Verschiebungen in der HA-Verteilung beobachtet werden [31, 32], deren Muster jedoch von den vorliegenden Ergebnissen abweichen. Angesichts der einzigartigen Pathogenese des Takotsubo-Syndroms ist es plausibel, dass die Differenzen der HA-Verteilung zwischen gesunden Herzen und dem initialen Takotsubo-Modell von denen anderer Kardiomyopathien abweichen. Einen weiteren Vergleich bietet eine DTI-Studie zur dilatativen Kardiomyopathie (DCM), einer Pathologie, die sich durch eine verminderte Dicke der Ventrikelwand auszeichnet. Die Ergebnisse der Studie legen nahe, dass gesunde Kontrollen eine höhere Frequenz nicht extremer HAs aufwiesen als die pathologischen DCM-Hezen [167]. Demgegenüber wurde beim vorliegenden Modell ein invertiertes Muster mit einer höheren Prävalenz von extremen HAs bei den Kontrollherzen im Vergleich zu den apikal dilatierten Herzen nachgewiesen. Diese Diskrepanz lässt sich durch verschiedene Faktoren erklären. Einerseits unterscheiden sich die Messbedingungen, da die vorliegende Untersuchung *ex-vivo* erfolgte. Zudem beeinflussen Unterschiede in der Vor- und Nachlast, der Perfusion und der Gewebeeigenschaften mutmaßlich die DTI-ermittelte HA-Schätzung. Insgesamt weisen die Erkenntnisse darauf hin, dass HA-Veränderungen krankheitsspezifische Merkmale aufweisen und nicht unmittelbar auf andere Kardiomyopathien übertragbar sind. Zur Validierung des diagnostischen Potentials der HA-Verteilung beim echten Takotsubo-Syndrom sind weiterführende Studien erforderlich, die idealerweise eine Kombination aus *in-vivo*- und *ex-vivo*-Methoden umfassen.

#### 4.3.5 Zusammenfassung und Limitationen

Zusammenfassend zeigt das postmortale Herz eine residual erhaltene Arbeitsfähigkeit, die den physiologischen Freiheitsgraden der Bewegung, besonders in Bezug auf die ventrikuläre Rotation, weitgehend entspricht. Das Ventrikelmyokard verfügt über strukturelle Eigenschaften, die eine gerichtete, kontrollierte Kraftverteilung ermöglichen. Die Interaktion zwischen intramuraler Plastizität, spiraliger Faserarchitektur und regionaler Kraftkopplung bildet einen essenziellen Bestandteil der kardialen Leistung. Die

vorliegenden Daten demonstrieren eine begrenzte, gleichwohl konsistente Ähnlichkeit der mechanischen Eigenschaften, einschließlich intramuraler Remodellierung und gerichteter Kraftübertragung. Folglich qualifiziert sich das postmortale Herz im moderaten Rahmen als ein plausibles Surrogat des vitalen Herzens und die apikale Dilatation als erster Ansatz zur Generierung eines Modells des Takotsubo-Syndroms. In diesem Zusammenhang ist zu betonen, dass die vorliegenden Interpretationen der Ergebnisse einen hypothesengenerierenden Charakter aufweisen und auf Basis einiger Limitationen erhoben wurden. Das bereits diskutierte Alter der Körperspenden und die geringe Informationslage zu Vorerkrankungen (Abschnitt 4.1.8) könnte die Aussagekraft der Ergebnisse begrenzen, da mit zunehmendem Alter die Steifheit des linken Ventrikels deutlich zunimmt, wohingegen dessen Elastizität abnimmt [168]. Dieser Umbau der Matrix geht häufig mit fibrotischen Erscheinungen einher und könnte die Veränderung der HAs bei linksventrikulärer Dilatation bedingen. Ferner ist die vorliegende Studie rein postmortal, aufgrund dessen sich die Aussagekraft und Ergebnisse nicht direkt auf *in-vivo* Messungen übertragen lassen. Eine wesentliche Limitierung betrifft zudem die isotrope Voxelgröße von  $2\text{mm}^3$ . In Anbetracht einer durchschnittlichen myokardialen linksventrikulären Wanddicke von ca. 10mm stehen folglich über die gesamte Transmuraltiefe lediglich rund fünf Voxel zur Verfügung. Die begrenzte räumliche Auflösung des Scans bedingt eine erhöhte Anfälligkeit für partielle Volumenartefakte und erschwert die präzise Erfassung transmuraler Gradienten des HA. Darüber hinaus können Segmentierungsunsicherheiten bei dieser Voxelgröße die Berechnung von HAs zusätzlich beeinflussen. Das methodische Ziel einer weiteren Verkleinerung der Voxelgröße zur Erhöhung der Auflösung ist jedoch mit einer deutlichen Zunahme der erforderlichen Akquisitionszeiten bzw. der Notwendigkeit zusätzlicher Mittelungen verbunden, die ihrerseits das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) weiter verschlechtern würden. Dennoch verdeutlichen die Daten eine erhaltene mechanische Reaktionsfähigkeit des postmortalen Herzens, vergleichbar mit der beim lebenden Herzen beobachteten HA-Dynamik während des kardialen Zyklus [164, 165], was auf eine hinreichende Sensitivität der Messmethodik für Veränderungen der myokardialen Architektur hinweist. Dies erlaubt es, das postmortale Herz als ein begrenzt belastbares Modell für die Analyse myokardialer Mechanik zu nutzen - insbesondere für die Validierung digitaler oder rechnerischer Simulationen intramuraler Kraftflüsse.

## 4.4 Zusammenhängende Bedeutung der Ergebnisse

Zusammenfassend zeigen die drei Teilstudien der vorliegenden Arbeit ein komplexes Zusammenspiel zwischen sensorischen, strukturellen und mechanischen Komponenten der herzphysiologischen Funktion. Die perikardiale Propriozeption deutet auf essenzielle sensorische Rückmeldungen zur autonomen Regulation hin, während die strukturelle Integrität der Papillarmuskeln entscheidend für die mechanische Stabilität des ventrikulären Apparates zu sein scheint. Gleichzeitig gewährleistet die viskoelastische Eigenschaft des Myokards die effektive Kraftübertragung innerhalb der Ventrikelwand. Diese Erkenntnisse unterstreichen die Notwendigkeit einer ganzheitlichen Betrachtung der kardialen Mechanik, um die Pathophysiologie kardialer Erkrankungen besser zu verstehen und gezielte therapeutische Interventionen abzuleiten. Demnach ist das Herz ein hochgradig fein abgestimmtes Organ, dessen Funktionsfähigkeit unter anderem auf der Koordination von Rückkopplung, Struktur und Kraftübertragung basiert.

In ihrer Gesamtheit liefern die Befunde wichtige zusammenhängende Erkenntnisse zu bisher unzureichend geklärten Abläufen hinsichtlich des physiologisch regulierten Herzzyklus. Die Studie zur perikardialen Propriozeption offenbarte die Existenz und regionale Konzentration von korpuskulären Rezeptoren im Perikard, deren höchste Dichte in den ventrikulären Vorwölbungen und am Abgang der Aorta zu verzeichnen ist (siehe Abschnitt 4.1.2). Die RLCs registrieren höchstwahrscheinlich volumenbedingte Dehnungszustände sowie Relativbewegungen zwischen den perikardialen Subschichten und zwischen Perikard und Brusthöhle. Im Rahmen des Herzzyklus bedeutet dies, dass die perikardialen RLCs kontinuierlich Informationen wie enddiastolisches und endsystolisches Volumen, Schlagvolumen und Wandspannung an das zentrale Nervensystem liefern könnten. Auf dieser Grundlage wäre eine dynamische Regulation durch das autonome Nervensystem möglich, die sich beispielsweise in der Anpassung kardialer Parameter, wie der Chronotropie und Inotropie, äußert (siehe Abschnitt 4.1.5). Insbesondere beim Wechsel von Diastole zur Systole, bei dem es zu einer plötzlichen volumetrischen Umverteilung kommt, scheinen diese Sensoren als afferentes System einer bislang unberücksichtigten und unterschätzten viszerale Rückkopplungsschleife zu fungieren. Gemäß dieser Überlegung wird der Herzzyklus grundsätzlich über einen extern ausgelagerten Kontrollmechanismus in Form der perikardialen propriozeptiven Korpuskel überwacht und moduliert. Die zweite Teilstudie zur Verankerung der Papillarmuskeln ergab entscheidende neue Erkenntnisse hinsichtlich der mechanischen Stabilität des Herzens und der Kontraktionskoordination innerhalb der Ventrikelwand. Papillarmuskeln mit direkter

Verankerung ohne Trabekel deuteten auf eine stärkere Einbindung in das transmurale, auxoton arbeitende Muskelfasergeflecht hin, das gemäß dem Modell des "intrinsischen Antagonismus" am Ende der Systole einen aktiven Dilatationsimpuls einleitet [155, 156] (siehe Abschnitt 4.2.4). Dieser Faktor wäre von entscheidender Bedeutung für das rasche Umschalten von der konzentrischen Systole in die frühe Diastole, in der die Füllungseffizienz durch die schnelle Entfaltung des Ventrikels determiniert wird. Die Morphologie der Verankerung der LVPM könnte demnach maßgeblich an der aktiven diastolischen Relaxation beteiligt sein. Die Einleitung der dilatatorischen Phase des Herzzyklus wird nach dieser Überlegung folglich durch eine aktive Dilatation der schräg transmural verlaufenden Muskelketten bedingt, deren Dichte in den verschiedenen Verankerungsvarianten der Papillarmuskeln zu variieren scheint. Die dritte Teilstudie zur Viskoelastizität und intramuralen Kraftübertragung demonstrierte, dass selbst postmortale Herzen eine spezifische Reaktion auf veränderte Volumenbelastung aufweisen. Die gemessenen Veränderungen im HA bei intrakavitärer Dilatation verdeutlichen, dass die spiralförmige Architektur des Myokards im Wesentlichen zur longitudinalen und transversalen Spannungsausbreitung beiträgt (siehe Abschnitt 4.3.3). Während der Systole erfolgt über die tangential verlaufenden Myozytenketten die konzentrische Kraftentwicklung zur Ausstoßung des Schlagvolumens. Darüber hinaus lässt die nachgewiesene Übertragung mechanischer Signale über weite intramurale Distanzen vermuten, dass sich lokale Wandspannungsschwankungen über den gesamten Ventrikelkörper hinweg koordinierend auswirken. Dieser Aspekt trägt zu einer homogenen Kontraktionsdynamik während des Herzzyklus bei und legt gleichzeitig die Hypothese nahe, dass eine Segmentierung der ventrikulären Gesamtgeometrie in funktionelle Kompartimente plausibel erscheint.

Die Kombination aus sensorischer Erfassung, struktureller Stabilität und mechanischer Integration bildet die Grundlage der kardialen Ejektions- und Füllungsdynamik. Klinisch ergibt sich daraus eine neue Perspektive auf kardiale Dysfunktionen. Kardiale Erkrankungen können nicht isoliert betrachtet werden, sondern wirken sich über mehrere funktionelle Ebenen des Herzzyklus hinweg aus. Die Befunde dieser Arbeit legen nahe, dass zukünftige Diagnostik und Therapie nicht nur auf makroskopische Pumpfunktionen abzielen sollten, sondern auch propriozeptive Rückkopplungen, strukturelle Verankerungen und viskoelastische Gewebeantworten als integrale Bestandteile der kardialen Physiologie berücksichtigen müssen.

## 4.5 Schlussfolgerungen und Ausblick

Die vorliegende topographische Kartierung korpuskulärer Propriozeptoren des Perikards erschließt substanzielle, bislang unbeschriebene Einsichten in dessen funktionelle Integration in die kardiale Sensorik und Mechanotransduktion. Hervorzuheben ist eine auffallende räumliche Clusterbildung der Rezeptoren, deren Verteilungsmuster die vierkammerige Morphologie des Herzens reflektiert. Aufgrund der heterogenen und methodisch nur eingeschränkt vergleichbaren Datenlage lässt sich die physiologische Bedeutung dieser Organisation gegenwärtig nicht abschließend beurteilen. Nichtsdestotrotz implizieren die hohe Rezeptordichte und die geordnete Topografie eine erhebliche funktionelle Relevanz. Die vorliegende Datenbasis stellt eine substanzielle Grundlage für weiterführende funktionelle Analysen dar. Um die Ergebnisse zu validieren und zu konkretisieren, ist zunächst eine erweiterte histomorphologische Folgestudie an einer höheren Anzahl postmortaler menschlicher Herzen angebracht. Da entsprechende Untersuchungsmethoden am lebenden Herzen nicht durchführbar sind, sollten zunächst weitere elektrophysiologische Ableitungen *in-vivo* am Tiermodell und später an Probanden durchgeführt werden. Hierdurch ließe sich die propriozeptive Leistungsfähigkeit des Perikards quantitativ erfassen, wobei eine altersbezogene Stratifizierung sowie ein Vergleich zwischen gesunden Herzen und solchen mit definierter kardialer Pathologie möglich wäre. Aufgrund der gänzlich neuen Betrachtung der Funktionsweise des Perikards sollten die daraus resultierende Erkenntnisse einen maßgeblichen Beitrag zur Entwicklung neuer diagnostischer Verfahren und zielgerichteter therapeutischer Interventionen leisten.

Im Rahmen der durchgeführten Studie über die Verankerung der LVPM konnte die Kontaktzone zwischen Muskel und Kammerwand histomorphologisch in zwei Klassen unterteilt werden. Diese unterscheiden sich in (i) dem Vorhandensein bzw. Fehlen lokaler Trabekel an der Insertionsstelle und (ii) der Tiefe, mit der die von den Papillarmuskeln ausgehenden Kardiomyozytenbündel ohne Richtungswechsel in das Kammermyokard ausstrahlen. Die Aussagekraft dieser Einteilung ist jedoch gegenwärtig durch die methodischen Grenzen der konventionellen Lichtmikroskopie limitiert. Zwar kann beobachtet werden, ob die von den Muskeln entspringenden Faserbündel die Herzwand ohne Richtungswechsel durchziehen oder ihre Orientierung vorzeitig verändern, jedoch ist die Verfolgung kompletter Muskelfasern und ein Nachweis von Kontinuitätsabbrüchen einzelner Kardiomyozytenketten damit nicht möglich. Künftige Analysen sollten demnach hochauflösende, dreidimensionale Bildgebungsverfahren implementieren, um die vollständige 3D-Trajektorie kontinuierlicher Myozytenketten abzubilden. HiP-CT und Mikro-

CT eignen sich insbesondere für diese Fragestellung, wobei der Einsatz dieser Verfahren bislang vornehmlich an Tiermodellen etabliert ist [152-154]. Dabei sollte die quantitative Auswertung mittels automatisierter Faser-*Tracking*-Ansätze erfolgen, um eine reproduzierbare, unbeeinflussbare Validierung der vorgeschlagenen Klassifikation zu gewährleisten. Über die bildgebenden Verfahren hinaus sind weiterführende Untersuchungen erforderlich, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit aus zeitlichen Gesichtspunkten nicht realisiert werden konnten. Da der Verankerungstyp der Papillarmuskeln mutmaßlich durch frühembryonale Entwicklungsprozesse geprägt wird, sollten genetische Analysen auf die Korrelation zwischen bestimmten Genvarianten bzw. Allelmutationen und den beobachteten Verankerungsmustern hin geprüft werden. Ausgangspunkt ist dabei die Analyse der Gene, die nachweislich an der Formation der Papillarmuskeln involviert sind. Zusätzlich sind offene genomische Screenings zur Identifikation weiterer relevanter Loci zu erwägen. Für eine valide Beurteilung der Gültigkeit der Klassifizierung ist zudem eine *in-vivo*-Validierung an umfassenden, altersstratifizierten Kohorten erforderlich. Da das Gewebematerial der Untersuchung aus älteren Körperspenden stammt, ist ein vollständig physiologischer Herzstatus nahezu auszuschließen. Es ist daher plausibel, dass die beobachteten Verankerungsklassen, ebenso wie die Ausprägung des endokavitären trabekulären Reliefs, zum Teil krankheits- oder altersassoziierte *Remodelling*-Effekte widerspiegeln. Bei der festen Verankerungsklasse ohne Trabekel ist differenzialdiagnostisch an restriktive bzw. hypertrophe Kardiomyopathien zu denken, die mit ausgeprägter Wandverdickung einhergehen und trabekuläre Strukturen potenziell maskieren können. Als Beispiel sei die hypertrophe obstruktive Kardiomyopathie (HOCM) angeführt, welche sich durch eine linksventrikuläre Wanddicke von  $\geq 15\text{mm}$  in Abwesenheit erklärbarer Druck- oder Volumenbelastung sowie einer dynamischen Ausflusstraktobstruktion von  $\geq 30\text{mmHg}$  kennzeichnet. Die autosomal-dominante Vererbung von HOCM wird durch überwiegend pathogenetische Varianten in den Genen sarkomerärer Proteine begründet [169]. Für den Verankerungstyp mit Trabekeln, der in dem vorliegenden Forschungskollektiv mit einer deutlich trabekulierten Ventrikelhöhle korrelierte, ist eine altersassoziierte Ausprägung der *Left Ventricular Non-Compaction* (LVNC) in Erwägung zu ziehen. LVNC manifestiert sich als eine primär genetisch bedingte Kardiomyopathie, die sich durch prominente Trabekel und tiefe intertrabekuläre Rezessionen charakterisiert. Diese Veränderungen resultieren aus einem gestörten Entwicklungsprozess der normalen Myokardkompaktion, der in der fünften bis achten Gestationswoche der Embryonalperiode stattfindet [170, 171]. Hieraus ergeben sich mögliche sekundäre Einflüsse auf das morphologische Profil der betrachteten Verankerungszone. Die systematische Prüfung demografischer und genetischer Variablen sowie die potenzielle Interaktion beider Einflussfaktoren ist eine notwendige

Voraussetzung, um die Tragfähigkeit und klinische Relevanz der hier vorgeschlagenen Klassifikation der linksventrikulären Papillarmuskelverankerung zu validieren.

Die DTI-basierte Auswertung der HA-Veränderung im linken Ventrikel ermöglichte eine signifikante Unterscheidung zwischen nicht gedehnten und gedehnten Konfigurationen. Diese Befunde betonen das Potenzial der DTI, mechanisch induzierte myokardiale Faserumlagerungen nichtinvasiv zu erfassen und quantitativ zu beschreiben. Die Interpretation der Ergebnisse erfolgte vor dem Hintergrund der postmortalen Untersuchungsbedingungen sowie der limitierten räumlichen Auflösung des verwendeten Scans. Um die Aussagekraft der Befunde zu steigern und zuverlässige Schlussfolgerungen zu gewährleisten, sollten nachfolgende Studien eine umfangreichere Stichprobengröße berücksichtigen. Methodisch lässt sich die transmurale Auflösung durch beschleunigte Bildgebung (z.B. Parallelbildgebung, *Compressed Sensing*), *super-resolution*-basierte Rekonstruktionen sowie den Einsatz hochfeldiger MRT-Systeme erwartungsgemäß weiter optimieren. Dies gestattet eine präzisere Abbildung von feineren HA-Gradienten. Darüber hinaus sind *in-vivo*-Studien erforderlich, um die diagnostische Relevanz der DTI zu überprüfen und den potenziellen Beitrag zur Substitution invasiver bzw. strahlenbelastender diagnostischer Verfahren zu bewerten. Ferner ermöglichen *in-vivo*-Untersuchungen die Charakterisierung eventueller altersabhängiger Unterschiede der HA-Verteilung sowie die Ableitung von Orientierungswerten für verschiedene Kohorten. Zukünftig könnten kardiologische Erkrankungen, darunter dilatative Kardiomyopathien und pathologische Zustände wie das Takotsubo-Syndrom, anhand *in-vivo* erfasster HA-Veränderungen bestimmt werden. Mit dieser Entwicklung wäre eine erhöhte diagnostische Sicherheit erzielbar.

Die vorliegenden Erkenntnisse betonen die Notwendigkeit einer ganzheitlichen Betrachtung der kardialen Mechanik, um die Pathophysiologie von Herz-Kreislauf-Erkrankungen präziser zu verstehen und daraus gezielte therapeutische Interventionen abzuleiten. Für die Entwicklung tragfähiger und innovativer Therapieansätze ist es unerlässlich, sämtliche anatomische und physiologische Komponenten des Herzens integrativ zu berücksichtigen. Es besteht insbesondere die Notwendigkeit einer systematischen Untersuchung weiterer kardialer Strukturelemente, beispielsweise des elastischen Bindegewebes und der Verteilungsstruktur der Lymphgefäße, um weiterführende Aussagen bezüglich der physiologischen Mechanismen der Herzaktion zu erlangen. Erste Befunde zur elastischen Komponente weisen darauf hin, dass jede Kardiomyozyte höchstwahrscheinlich einzeln von einer elastischen Faser umwickelt ist. Die während der Kontraktion im Elastin gespeicherte Energie könnte einen Beitrag zur Rückführung der Kardiomyozyten in den relaxierten, diastolischen Zustand leisten und somit die rhythmische Aktivität des Myokards

unterstützen. Obwohl das Herz seit Jahrhunderten Gegenstand intensiver Forschung ist, bleiben wesentliche Fragestellungen zu diesem Organ weiterhin bestehen. Die Wissenschaft muss sich auch zukünftig in erheblichem Maße der Vertiefung des Verständnisses der Herzfunktion widmen, um die komplexen Zusammenhänge dieses Organs weiter zu ergründen.

# Literaturverzeichnis

1. Flora, G.D. and M.K. Nayak, *A Brief Review of Cardiovascular Diseases, Associated Risk Factors and Current Treatment Regimes*. Curr Pharm Des, 2019. **25**(38): p. 4063-4084.
2. Anderson, R.H., et al., *The three-dimensional arrangement of the myocytes in the ventricular walls*. Clin Anat, 2009. **22**(1): p. 64-76.
3. MacIver, D.H., et al., *The end of the unique myocardial band: Part I. Anatomical considerations*. Eur J Cardiothorac Surg, 2018. **53**(1): p. 112-119.
4. Holt, J.P., *The normal pericardium*. Am J Cardiol, 1970. **26**(5): p. 455-65.
5. Gardner, E., D.J. Gray, and R. O'Rahilly, *Anatomy: a regional study of human structure*. 1969.
6. Wallraff, J., *Der menschliche Herzbeutel, sein Bau und seine Bedeutung für den Kreislauf*. Morph. Jb., 1937. **80**: p. 355.
7. Elias, H. and L.J. Boyd, *Notes on the anatomy, embryology, and histology of the pericardium. II*. N Y Med Coll News Notes, 1960. **2**: p. 50-75.
8. Hoit, B.D., *Anatomy and Physiology of the Pericardium*. Cardiol Clin, 2017. **35**(4): p. 481-490.
9. Khandaker, M.H., et al., *Pericardial disease: diagnosis and management*. Mayo Clin Proc, 2010. **85**(6): p. 572-93.
10. Vogiatzidis, K., et al., *Physiology of pericardial fluid production and drainage*. Front Physiol, 2015. **6**: p. 62.
11. Victor, S. and V.M. Nayak, *Variations in the papillary muscles of the normal mitral valve and their surgical relevance*. J Card Surg, 1995. **10**(5): p. 597-607.
12. Manovel, A., D. Dawson, and P. Nihoyannopoulos, *Uncommon insertion of papillary muscles and abnormal cardiac rotation*. Eur Heart J, 2010. **31**(12): p. 1539.
13. Kavimani, M., W. Johnson, and C. Jebakani, *Morphology of mitral papillary muscles-the bridges of vital link across the heart muscles*. National J. Basic Med. Sciences (NJBMS), 2011. **2**(1): p. 18-22.
14. Shree, B., et al., *A STUDY OF PAPILLARY MUSCLES OF THE LEFT VENTRICLE IN THE ADULT HUMAN CADAVERS*. Int J Anat Res, 2016. **4**(2): p. 2285-93.
15. Saha, A. and S. Roy, *Papillary muscles of left ventricle-Morphological variations and it's clinical relevance*. Indian Heart J, 2018. **70**(6): p. 894-900.
16. Chiechi, M.A., W.M. Lees, and R. Thompson, *Functional anatomy of the normal mitral valve*. J Thorac Surg, 1956. **32**(3): p. 378-98.
17. Ho, S.Y., *Anatomy of the mitral valve*. Heart, 2002. **88 Suppl 4**(Suppl 4): p. iv5-10.

18. David, T.E., *Papillary muscle-annular continuity: is it important?* J Card Surg, 1994. **9**(2 Suppl): p. 252-4.
19. Harsha, B. and K. Chandrashekar, *Cadaveric Study on Anterior and Posterior Papillary Muscles of Tricuspid Valve*. 2015.
20. Perloff, J.K. and W.C. Roberts, *The mitral apparatus. Functional anatomy of mitral regurgitation*. Circulation, 1972. **46**(2): p. 227-39.
21. Brock, R.C., *The surgical and pathological anatomy of the mitral valve*. Br Heart J, 1952. **14**(4): p. 489-513.
22. Madu, E.C. and I.A. D'Cruz, *The vital role of papillary muscles in mitral and ventricular function: echocardiographic insights*. Clin Cardiol, 1997. **20**(2): p. 93-8.
23. Voci, P., et al., *Papillary muscle perfusion pattern. A hypothesis for ischemic papillary muscle dysfunction*. Circulation, 1995. **91**(6): p. 1714-8.
24. Nishimura, R.A., B.J. Gersh, and H.V. Schaff, *The case for an aggressive surgical approach to papillary muscle rupture following myocardial infarction: "From paradise lost to paradise regained"*. Heart, 2000. **83**(6): p. 611-3.
25. Bax, J.J. and V. Delgado, *Papillary muscle infarction, mitral regurgitation, and long-term prognosis*. Circ Cardiovasc Imaging, 2013. **6**(6): p. 855-7.
26. Basso, C., et al., *Arrhythmic Mitral Valve Prolapse and Sudden Cardiac Death*. Circulation, 2015. **132**(7): p. 556-66.
27. Basso, C., et al., *Mitral Valve Prolapse, Ventricular Arrhythmias, and Sudden Death*. Circulation, 2019. **140**(11): p. 952-964.
28. Streeter, D.D., Jr., et al., *Fiber orientation in the canine left ventricle during diastole and systole*. Circ Res, 1969. **24**(3): p. 339-47.
29. Wu, E.X., et al., *Study of myocardial fiber pathway using magnetic resonance diffusion tensor imaging*. Magn Reson Imaging, 2007. **25**(7): p. 1048-57.
30. Hales, P.W., et al., *Histo-anatomical structure of the living isolated rat heart in two contraction states assessed by diffusion tensor MRI*. Prog Biophys Mol Biol, 2012. **110**(2-3): p. 319-30.
31. Ferreira, P.F., et al., *In vivo cardiovascular magnetic resonance diffusion tensor imaging shows evidence of abnormal myocardial laminar orientations and mobility in hypertrophic cardiomyopathy*. J Cardiovasc Magn Reson, 2014. **16**(1): p. 87.
32. Mekkaoui, C., et al., *Fiber architecture in remodeled myocardium revealed with a quantitative diffusion CMR tractography framework and histological validation*. J Cardiovasc Magn Reson, 2012. **14**(1): p. 70.
33. Sherrington, C.S., *On the proprioceptive system, especially in its reflex aspect*. Brain, 1907. **29**(4): p. 467-482.

34. Desmedt, O., et al., *Discrepancies in the Definition and Measurement of Human Interoception: A Comprehensive Discussion and Suggested Ways Forward*. Perspect Psychol Sci, 2023: p. 17456916231191537.
35. Hassall, A.H., *The Microscopic anatomy of the human body, in health and disease...* v. 1. Vol. 1. 1855: Pratt, Woodford & Company.
36. Ruffini, A., *On the Minute Anatomy of the Neuromuscular Spindles of the Cat, and on their Physiological Significance*. J Physiol, 1898. **23**(3): p. 190-208.3.
37. Halata, Z. and B.L. Munger, *The ultrastructure of Ruffini and Herbst corpuscles in the articular capsule of domestic pigeon*. Anat Rec, 1980. **198**(4): p. 681-92.
38. Halata, Z. and B.L. Munger, *Identification of the Ruffini corpuscle in human hairy skin*. Cell Tissue Res, 1981. **219**(2): p. 437-40.
39. Halata, Z., *Ruffini corpuscle--a stretch receptor in the connective tissue of the skin and locomotion apparatus*. Prog Brain Res, 1988. **74**: p. 221-9.
40. Cobo, R., et al., *Verification and characterisation of human digital Ruffini's sensory corpuscles*. J Anat, 2021. **238**(1): p. 13-19.
41. Chambers, M.R., et al., *The structure and function of the slowly adapting type II mechanoreceptor in hairy skin*. Q J Exp Physiol Cogn Med Sci, 1972. **57**(4): p. 417-45.
42. Basser, P.J., J. Mattiello, and D. LeBihan, *MR diffusion tensor spectroscopy and imaging*. Biophys J, 1994. **66**(1): p. 259-67.
43. Le Bihan, D. and H. Johansen-Berg, *Diffusion MRI at 25: exploring brain tissue structure and function*. Neuroimage, 2012. **61**(2): p. 324-41.
44. Novikov, D.S., V.G. Kiselev, and S.N. Jespersen, *On modeling*. Magn Reson Med, 2018. **79**(6): p. 3172-3193.
45. Assaf, Y. and O. Pasternak, *Diffusion tensor imaging (DTI)-based white matter mapping in brain research: a review*. J Mol Neurosci, 2008. **34**(1): p. 51-61.
46. Meoded, A. and T. Huisman, *Diffusion Tensor Imaging of Brain Malformations: Exploring the Internal Architecture*. Neuroimaging Clin N Am, 2019. **29**(3): p. 423-434.
47. Karmakar, D.K., et al., *Utility of Diffusion Tensor Imaging in Assessing Corticospinal Tracts for the Management of Brain Tumors: A Cross-Sectional Observational Study*. Cureus, 2023. **15**(10): p. e47811.
48. Li, X., et al., *The comparison of diffusion tensor imaging in human hearts between 1.5 T and 3.0 T*. BMC Med Imaging, 2023. **23**(1): p. 14.
49. Olausson, H., J. Wessberg, and N. Kakuda, *Tactile directional sensibility: peripheral neural mechanisms in man*. Brain Res, 2000. **866**(1-2): p. 178-87.

50. de Carlos, F., et al., *The sensory innervation of the human pharynx: searching for mechanoreceptors*. Anat Rec (Hoboken), 2013. **296**(11): p. 1735-46.
51. Blumer, R., et al., *Proprioceptors in extraocular muscles*. Exp Physiol, 2024. **109**(1): p. 17-26.
52. Varga, I., M. Nosál, and P. Babál, *Ectopic lamellar Pacinian corpuscle within the thymus. Atypical or abnormal location?* Rom J Morphol Embryol, 2020. **61**(1): p. 273-276.
53. Ceelen, D.W., *Über das Vorkommen von Vater-Pacini'schen Körperchen am menschlichen Pankreas und über eine krankhafte Veränderung derselben*. Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin, 1912. **208**: p. 460-472.
54. Standop, J., et al., *Pacinian corpuscle in the human pancreas*. Pancreas, 2001. **23**(1): p. 36-9.
55. García-Suárez, O., et al., *Immunohistochemical profile of human pancreatic pacinian corpuscles*. Pancreas, 2010. **39**(3): p. 403-10.
56. Gupta, P., A. Singh, and R.K. Gupta, *Pacinian Corpuscles in Pancreas: Possible Clinical Implications*. Pancreas, 2021. **50**(6): p. e56-e57.
57. Nasser, W., H. Feigenbaum, and C. Helmen, *Congenital absence of the left pericardium*. Circulation, 1966. **34**(1): p. 100-4.
58. Nasser, W.K., et al., *Congenital absence of the left pericardium. Clinical, electrocardiographic, radiographic, hemodynamic, and angiographic findings in six cases*. Circulation, 1970. **41**(3): p. 469-78.
59. Gehlmann, H.R. and G.J. van Ingen, *Symptomatic congenital complete absence of the left pericardium. Case report and review of the literature*. Eur Heart J, 1989. **10**(7): p. 670-5.
60. Raman, S.V., et al., *Congenital absence of the pericardium*. Circulation, 2001. **104**(12): p. 1447-8.
61. Ratib, O., J.K. Perloff, and W.G. Williams, *Congenital complete absence of the pericardium*. Circulation, 2001. **103**(25): p. 3154-5.
62. Scheuermann-Freestone, M., et al., *Images in cardiovascular medicine. Partial congenital absence of the pericardium*. Circulation, 2007. **116**(6): p. e126-9.
63. Topilsky, Y., et al., *Images in cardiovascular medicine. Pendulum heart in congenital absence of the pericardium*. Circulation, 2010. **121**(10): p. 1272-4.
64. Oliveira, C.C., et al., *Pericardial agenesis: a rare cause of chest pain*. Eur Heart J, 2021. **42**(3): p. 282.
65. Rayamajhi, S., et al., *Congenital Pericardial Agenesis presenting as non-specific chest pain: A Case Report*. Radiol Case Rep, 2022. **17**(12): p. 4462-4465.

66. Bhadoria, P., et al., *Cadaveric Study on the Morphology and Morphometry of Heart Papillary Muscles*. Cureus, 2022. **14**(2): p. e22722.
67. Gunnal, S.A., R.N. Wabale, and M.S. Farooqui, *Morphological variations of papillary muscles in the mitral valve complex in human cadaveric hearts*. Singapore Med J, 2013. **54**(1): p. 44-8.
68. Hosapatna, M., D.S. A, and V.H. Ankolekar, *Morphology of the papillary muscles and the chordae tendineae of the ventricles of adult human hearts*. Cardiovasc Pathol, 2022. **56**: p. 107383.
69. Ranganathan, N. and G.E. Burch, *Gross morphology and arterial supply of the papillary muscles of the left ventricle of man*. Am Heart J, 1969. **77**(4): p. 506-16.
70. Berdajs, D., P. Lajos, and M.I. Turina, *A new classification of the mitral papillary muscle*. Med Sci Monit, 2005. **11**(1): p. Br18-21.
71. Krawczyk-Ożóg, A., et al., *Anatomy of the mitral subvalvular apparatus*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2018. **155**(5): p. 2002-2010.
72. Ramsheyi, S.A., et al., *Morphologic classification of the mitral papillary muscles*. J Heart Valve Dis, 1996. **5**(5): p. 472-6.
73. Axel, L., *Papillary muscles do not attach directly to the solid heart wall*. Circulation, 2004. **109**(25): p. 3145-8.
74. Brachet, J.L., *Observations on the Use of Crystallized Subacetate of Lead in Hypertrophy of the Heart*. Med Exam (Phila), 1856. **12**(136): p. 248-252.
75. Frank, O., *Isometrie und isotonie des herzmuskels*. Z Biol, 1901. **41**: p. 14-34.
76. Torrent-Guasp, F., *Anatomia Funcio´nal del Corazon*. Madrid: Paz Montalvo, 1957: p. 62-8.
77. Torrent-Guasp, F., *La estructuración macroscópica del miocardio ventricular*. 1980.
78. Torrent-Guasp, F., et al., *Systolic ventricular filling*. Eur J Cardiothorac Surg, 2004. **25**(3): p. 376-86.
79. Torrent-Guasp, F., et al., *Towards new understanding of the heart structure and function*. Eur J Cardiothorac Surg, 2005. **27**(2): p. 191-201.
80. Brutsaert, D.L., V.A. Claes, and E.H. Sonnenblick, *Velocity of shortening of unloaded heart muscle and the length-tension relation*. Circ Res, 1971. **29**(1): p. 63-75.
81. Lunkenheimer, P.P., et al., *The problem created by myocardial structure in assessing function*. Br J Anaesth, 1988. **60**(8 Suppl 1): p. 2s-7s.
82. Lunkenheimer, P.P., K. Redmann, and R.H. Anderson, *The architecture of the ventricular mass and its functional implications for organ-preserving surgery*. Eur J Cardiothorac Surg, 2005. **27**(2): p. 183-90.
83. Mulisch, M. and U. Welsch, *Romeis-mikroskopische technik*. 2015: Springer-Verlag.

84. Spiriev, T., et al., *Three-Dimensional Immersive Photorealistic Layered Dissection of Superficial and Deep Back Muscles: Anatomical Study*. Cureus, 2022. **14**(7): p. e26727.
85. Fedorov, A., et al., *3D Slicer as an image computing platform for the Quantitative Imaging Network*. Magn Reson Imaging, 2012. **30**(9): p. 1323-41.
86. Piermaier, L.M., et al., *Proprioceptors of the human pericardium*. Basic Res Cardiol, 2024. **119**(6): p. 1029-1043.
87. Theissen, J.L., et al., *Local forces in the myocardium*. Br J Anaesth, 1988. **60**(8 Suppl 1): p. 72s-77s.
88. Lunkenheimer, P.P., et al., *Models of ventricular structure and function reviewed for clinical cardiologists*. J Cardiovasc Transl Res, 2013. **6**(2): p. 176-86.
89. Steinebach, J.C., *Bestimmung und Evaluation des kardialen Helixwinkels mittels Diffusions-Tensor-Bildgebung als potentieller Indikator für die Takotsubo-Kardiomyopathie.*, in *Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie*. 2023, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
90. Smith, S.M., et al., *Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL*. Neuroimage, 2004. **23 Suppl 1**: p. S208-19.
91. Woolrich, M.W., et al., *Bayesian analysis of neuroimaging data in FSL*. Neuroimage, 2009. **45**(1 Suppl): p. S173-86.
92. Fabian, P., *Scikit-learn: Machine learning in Python*. Journal of machine learning research 12, 2011: p. 2825.
93. *Citing Plotly and Chart Studio Graphs in Papers2023*; Available from: <https://plotly.com/chart-studio-help/citations/#step-1-citing-plotly>
94. Ward Jr, J.H., *Hierarchical grouping to optimize an objective function*. Journal of the American statistical association, 1963. **58**(301): p. 236-244.
95. Nielsen, F., *Introduction to HPC with MPI for Data Science*. 2016: Springer.
96. Comaniciu, D. and P. Meer, *Mean shift: a robust approach toward feature space analysis*. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 2002. **24**(5): p. 603-619.
97. Hort, W. and H. Bräun, *Untersuchungen über Größe, Wandstärke und mikroskopischen Aufbau des Herzbeutels unter normalen und pathologischen Bedingungen*. Archiv für Kreislaufforschung, 1962. **38**: p. 1-22.
98. von Krehl, L., *Beiträge zur Kenntniss der Füllung und Entleerung des Herzens*, von L. Krehl. 1891: S. Hirzel.

99. Arslanova, I., V. Kotsaris, and M. Tsakiris, *Perceived time expands and contracts within each heartbeat*. Curr Biol, 2023. **33**(7): p. 1389-1395.e4.
100. Triposkiadis, F., et al., *The Interventricular Septum: Structure, Function, Dysfunction, and Diseases*. J Clin Med, 2022. **11**(11).
101. Hamilton, W. and J. Rompf, *Movements of the base of the ventricle and the relative constancy of the cardiac volume*. American Journal of Physiology-Legacy Content, 1932. **102**(3): p. 559-565.
102. Watkins, R.H., et al., *Slowly-adapting type II afferents contribute to conscious touch sensation in humans: Evidence from single unit intraneural microstimulation*. J Physiol, 2022. **600**(12): p. 2939-2952.
103. Reznik, M., *[Structure and functions of the cutaneous nervous system]*. Pathol Biol (Paris), 1996. **44**(10): p. 831-7.
104. Lewin, G.R. and R. Moshourab, *Mechanosensation and pain*. J Neurobiol, 2004. **61**(1): p. 30-44.
105. Weissbein, A.S. and F.N. Heller, *A method of treatment for pericardial pain*. Circulation, 1961. **24**: p. 607-12.
106. Goldfarb, B., et al., *Recurrent "pericardial pain" after pericardiectomy for recurrent acute benign pericarditis*. Circulation, 1966. **33**(2): p. 283-6.
107. Suarez-Rodriguez, V., et al., *Fascial Innervation: A Systematic Review of the Literature*. Int J Mol Sci, 2022. **23**(10).
108. Munger, B.L., *Multiple afferent innervation of primate facial hairs--Henry Head and Max von Frey revisited*. Brain Res, 1982. **257**(1): p. 1-43.
109. Jozsa, L., et al., *Mechanoreceptors in human myotendinous junction*. Muscle Nerve, 1993. **16**(5): p. 453-7.
110. Tarumoto, R., et al., *A morphometric analysis of protein gene product 9.5-, substance P-, and calcitonin gene-related peptide immunoreactive innervation in the shoulder joint of the Japanese macaque*. J Shoulder Elbow Surg, 1998. **7**(5): p. 522-8.
111. Iyengar, S., M.H. Ossipov, and K.W. Johnson, *The role of calcitonin gene-related peptide in peripheral and central pain mechanisms including migraine*. Pain, 2017. **158**(4): p. 543-559.
112. Bell, J., S. Bolanowski, and M.H. Holmes, *The structure and function of Pacinian corpuscles: a review*. Prog Neurobiol, 1994. **42**(1): p. 79-128.
113. Zimmerman, A., L. Bai, and D.D. Ginty, *The gentle touch receptors of mammalian skin*. Science, 2014. **346**(6212): p. 950-4.
114. Bajwa, H. and Y. Al Khalili, *Physiology, Vibratory Sense*, in StatPearls. 2024, StatPearls Publishing Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).

115. Talbot, W.H., et al., *The sense of flutter-vibration: comparison of the human capacity with response patterns of mechanoreceptive afferents from the monkey hand*. J Neurophysiol, 1968. **31**(2): p. 301-34.
116. Bolanowski, S.J., Jr. and J.J. Zwislocki, *Intensity and frequency characteristics of pacinian corpuscles. I. Action potentials*. J Neurophysiol, 1984. **51**(4): p. 793-811.
117. Ham, A.W., *Histology*. 1965: JB Lippincott.
118. Spassova, I., *Ultrastructure of Krause end-bulbs in the nasal skin of the cat*. Acta Anat (Basel), 1973. **84**(2): p. 224-36.
119. Rogers, J., *Testing for and the role of anal and rectal sensation*. Baillieres Clin Gastroenterol, 1992. **6**(1): p. 179-91.
120. Fukami, Y. and R.S. Wilkinson, *Responses of isolated Golgi tendon organs of the cat*. J Physiol, 1977. **265**(3): p. 673-89.
121. Gregory, J.E., et al., *Effect of eccentric muscle contractions on Golgi tendon organ responses to passive and active tension in the cat*. J Physiol, 2002. **538**(Pt 1): p. 209-18.
122. Proske, U. and J.E. Gregory, *Signalling properties of muscle spindles and tendon organs*. Adv Exp Med Biol, 2002. **508**: p. 5-12.
123. Tuthill, J.C. and E. Azim, *Proprioception*. Curr Biol, 2018. **28**(5): p. R194-r203.
124. Paton, J. and K. Spyer, *Central nervous control of the cardiovascular system*. Autonomic Failure: A Textbook of Clinical Disorders of the Autonomic Nervous System, 2013: p. 35-51.
125. Coote, J.H. and K.M. Spyer, *Central control of autonomic function*. Brain Neurosci Adv, 2018. **2**: p. 2398212818812012.
126. Kostreva, D.R. and S.P. Pontus, *Pericardial mechanoreceptors with phrenic afferents*. Am J Physiol, 1993. **264**(6 Pt 2): p. H1836-46.
127. Ruckebusch, Y., *[Afferent impulses of pericardial origin in the phrenic nerves]*. C R Seances Soc Biol Fil, 1961. **155**: p. 524-7.
128. Sleight, P. and J.G. Widdicombe, *Action potentials in afferent fibres from pericardial mechanoreceptors in the dog*. J Physiol, 1965. **181**(2): p. 259-69.
129. Ellison, J.P., *Cholinesterase-positive and catecholamine-containing nerves in the guinea-pig pericardium*. Am J Anat, 1971. **131**(1): p. 121-31.
130. Lee, J.M. and D.R. Boughner, *Mechanical properties of human pericardium. Differences in viscoelastic response when compared with canine pericardium*. Circ Res, 1985. **57**(3): p. 475-81.

131. Maier, S., et al., *Somatosensory and transcranial motor evoked potential monitoring in a porcine model for experimental procedures*. PLoS One, 2018. **13**(10): p. e0205410.
132. Avgerinos, D., et al., *Fifteen-year experience and outcomes of pericardiectomy for constrictive pericarditis*. J Card Surg, 2014. **29**(4): p. 434-8.
133. Murashita, T., et al., *Experience With Pericardiectomy for Constrictive Pericarditis Over Eight Decades*. Ann Thorac Surg, 2017. **104**(3): p. 742-750.
134. Faiza, Z., et al., *Fifteen-year experience with pericardiectomy at a tertiary referral center*. J Cardiothorac Surg, 2021. **16**(1): p. 180.
135. Advokat, C. and M. Duke, *Comparison of morphine-induced effects on thermal nociception, mechanoreception, and hind limb flexion in chronic spinal rats*. Exp Clin Psychopharmacol, 1999. **7**(3): p. 219-25.
136. Morisawa, Y., *Morphological study of mechanoreceptors on the coracoacromial ligament*. J Orthop Sci, 1998. **3**(2): p. 102-10.
137. Aydoğ, S.T., et al., *Decrease in the numbers of mechanoreceptors in rabbit ACL: the effects of ageing*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2006. **14**(4): p. 325-9.
138. Yang, L., et al., *Cervical Intervertebral Disc Degeneration Contributes to Dizziness: A Clinical and Immunohistochemical Study*. World Neurosurg, 2018. **119**: p. e686-e693.
139. Oosthoek, P.W., et al., *Development of the papillary muscles of the mitral valve: morphogenetic background of parachute-like asymmetric mitral valves and other mitral valve anomalies*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1998. **116**(1): p. 36-46.
140. Petersen, S.E., et al., *Excessive Trabeculation of the Left Ventricle: JACC: Cardiovascular Imaging Expert Panel Paper*. JACC Cardiovasc Imaging, 2023. **16**(3): p. 408-425.
141. Faber, J.W., et al., *Lack of morphometric evidence for ventricular compaction in humans*. J Cardiol, 2021. **78**(5): p. 397-405.
142. Faber, J.W., et al., *Equal force generation potential of trabecular and compact wall ventricular cardiomyocytes*. iScience, 2022. **25**(11): p. 105393.
143. Crucean, A., et al., *Revisiting the anatomy of the left ventricle in the light of knowledge of its development*. J Anat, 2024.
144. Anderson, R.H., et al., *Key Questions Relating to Left Ventricular Noncompaction Cardiomyopathy: Is the Emperor Still Wearing Any Clothes?* Can J Cardiol, 2017. **33**(6): p. 747-757.
145. Riekerk, H.C.E., et al., *Higher spatial resolution improves the interpretation of the extent of ventricular trabeculation*. J Anat, 2022. **240**(2): p. 357-375.

146. Christoffels, V.M. and A.F. Moorman, *Development of the cardiac conduction system: why are some regions of the heart more arrhythmogenic than others?* Circ Arrhythm Electrophysiol, 2009. **2**(2): p. 195-207.
147. Vincentz, J.W., R.M. Barnes, and A.B. Firulli, *Hand factors as regulators of cardiac morphogenesis and implications for congenital heart defects.* Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2011. **91**(6): p. 485-94.
148. Firulli, B.A., et al., *HAND1 loss-of-function within the embryonic myocardium reveals survivable congenital cardiac defects and adult heart failure.* Cardiovasc Res, 2020. **116**(3): p. 605-618.
149. Choquet, C., et al., *Deletion of Nkx2-5 in trabecular myocardium reveals the developmental origins of pathological heterogeneity associated with ventricular non-compaction cardiomyopathy.* PLoS Genet, 2018. **14**(7): p. e1007502.
150. Man, J., P. Barnett, and V.M. Christoffels, *Structure and function of the Nppa-Nppb cluster locus during heart development and disease.* Cell Mol Life Sci, 2018. **75**(8): p. 1435-1444.
151. van Duijvenboden, S., et al., *Genomic and pleiotropic analyses of resting QT interval identifies novel loci and overlap with atrial electrical disorders.* Hum Mol Genet, 2021. **30**(24): p. 2513-2523.
152. Clark, D.P. and C.T. Badea, *Micro-CT of rodents: state-of-the-art and future perspectives.* Phys Med, 2014. **30**(6): p. 619-34.
153. Papazoglou, A.S., et al., *Current clinical applications and potential perspective of micro-computed tomography in cardiovascular imaging: A systematic scoping review.* Hellenic J Cardiol, 2021. **62**(6): p. 399-407.
154. Walsh, C.L., et al., *Imaging intact human organs with local resolution of cellular structures using hierarchical phase-contrast tomography.* Nat Methods, 2021. **18**(12): p. 1532-1541.
155. Lunkenheimer, P.P., et al., *What is the clinical significance of ventricular mural antagonism?* Eur J Cardiothorac Surg, 2018. **53**(4): p. 714-723.
156. Lunkenheimer, P.P., et al., *Antagonistic function of the heart muscle: Part II: Clinical implications.* Herz, 2020. **45**: p. 178-185.
157. Estes, E.H., Jr., et al., *The anatomy and blood supply of the papillary muscles of the left ventricle.* Am Heart J, 1966. **71**(3): p. 356-62.
158. Roberts, W.C. and L.S. Cohen, *Left ventricular papillary muscles. Description of the normal and a survey of conditions causing them to be abnormal.* Circulation, 1972. **46**(1): p. 138-54.
159. Streeter Jr, D.D., *Gross morphology and fiber geometry of the heart.* The cardiovascular system, 1979: p. 61-112.

160. Buckberg, G.D., et al., *The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping. IV. Concepts of dynamic function from the normal macroscopic helical structure*. Semin Thorac Cardiovasc Surg, 2001. **13**(4): p. 342-57.
161. Torrent-Guasp, F., et al., *The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping. I. The normal macroscopic structure of the heart*. Semin Thorac Cardiovasc Surg, 2001. **13**(4): p. 301-19.
162. Lunkenheimer, P.P., et al., *Antagonism of contractile forces in left ventricular hypertrophy: a diagnostic challenge for better pathophysiological and clinical understanding*. Open Heart, 2023. **10**(2).
163. marquis de Laplace, P.S., *Traité de mécanique céleste*. Vol. 5. 1825: Chez JBM Duprat, libraire pour les mathématiques, quai des Augustins.
164. Lombaert, H., et al., *Human atlas of the cardiac fiber architecture: study on a healthy population*. IEEE Trans Med Imaging, 2012. **31**(7): p. 1436-47.
165. Stoeck, C.T., et al., *Dual-phase cardiac diffusion tensor imaging with strain correction*. PLoS One, 2014. **9**(9): p. e107159.
166. Medina de Chazal, H., et al., *Stress Cardiomyopathy Diagnosis and Treatment: JACC State-of-the-Art Review*. J Am Coll Cardiol, 2018. **72**(16): p. 1955-1971.
167. von Deuster, C., et al., *Studying Dynamic Myofiber Aggregate Reorientation in Dilated Cardiomyopathy Using In Vivo Magnetic Resonance Diffusion Tensor Imaging*. Circ Cardiovasc Imaging, 2016. **9**(10): p. e005018.
168. Horn, M.A. and A.W. Trafford, *Aging and the cardiac collagen matrix: Novel mediators of fibrotic remodelling*. J Mol Cell Cardiol, 2016. **93**: p. 175-85.
169. Veselka, J., N.S. Anavekar, and P. Charron, *Hypertrophic obstructive cardiomyopathy*. Lancet, 2017. **389**(10075): p. 1253-1267.
170. Towbin, J.A., A. Lorts, and J.L. Jefferies, *Left ventricular non-compaction cardiomyopathy*. Lancet, 2015. **386**(9995): p. 813-25.
171. Oechslin, E. and R. Jenni, *Left ventricular non-compaction revisited: a distinct phenotype with genetic heterogeneity?* Eur Heart J, 2011. **32**(12): p. 1446-56.

# Anhang

Tabelle 1: Übersicht Chemikalien

Tabelle 2: Übersicht Geräte

Tabelle 3: Übersicht Programme

Färbeprotokoll 1: Standardfärbung Elastica van Gieson

Färbeprotokoll 2: Standardfärbung Azan

Färbeprotokoll 3: Standardfärbung Masson-Goldner

Färbeprotokoll 4: Immunhistochemie pan-Neurofilament

Färbeprotokoll 5: Immunhistochemie S-100

Färbeprotokoll 6: Immunhistochemie Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP)

Färbeprotokoll 7: Immunhistochemie Transient-Receptor Potential Channel 4 (TRPC4)

Färbeprotokoll 8: Immunhistochemie Tyrosinhydroxylase

Publikation: Piermaier LM, Caspers S, Herold C, Wolf-Vollenbröcker M, Brzoska P,

Bechler E, Filler TJ. Proprioceptors of the human pericardium. Basic Res

Cardiol. 2024 Dec;119(6):1029-1043. doi: 10.1007/s00395-024-01075-9. Epub

2024 Aug 9. PMID: 39120717; PMCID: PMC11628447.

Tabelle 1: Übersicht Chemikalien

| Chemikalie                       | Hersteller                                             | Bestellnummer  |
|----------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------|
| 2-Propanol (Isopropylalkohol)    | Walter-CMP GmbH & Co. KG, Kiel,<br>Deutschland         | WAL116001 9030 |
| AEC Substrate Kit,<br>Peroxidase | Vector Laboratories, Inc., Newark,<br>USA              | SK-4200        |
| Anilin                           | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland                  | 8.22256.0100   |
| Anilinblau WS                    | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland                  | 5284956        |
| Antigen Unmasking Solution       | Vector Laboratories, Inc., Newark,<br>USA              | H-3300         |
| Azocarmin G                      | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland                  | A1091          |
| Azophloxin                       | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland                  | 210633         |
| DePeX                            | SERVA Electrophoresis GmbH,<br>Heidelberg, Deutschland | 18243          |
| Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat    | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland                  | 1.03943.0250   |
| Essigsäure 100%                  | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland                  | K24788763      |
| Ethanol 99%                      | Walter-CMP GmbH & Co. KG, Kiel,<br>Deutschland         | WAL642 9030    |
| Formaldehydlösung 37%            | Carl Roth GmbH + Co. KG,<br>Karlsruhe, Deutschland     | 7398.2         |
| Hämatoxylin krist.               | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland                  | 1.04302        |

|                                                              |                                                                      |               |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------|
| Hämatoxylinlösung nach Gill II                               | Carl Roth GmbH + Co. KG,<br>Karlsruhe, Deutschland                   | T864.2        |
| Lichtgrün gelblich                                           | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland                                | L5382         |
| Lithiumkarbonat                                              | VWR International GmbH,<br>Darmstadt, Deutschland                    | 25006.293     |
| NovaRED™ Peroxidase<br>Substrate Kit                         | Vector Laboratories, Inc., Newark,<br>USA                            | SK-4800       |
| Orange G CERSTISTAIN®                                        | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland                                | K1020125      |
| Pikrinsäure krist.                                           | Merck Schuchardt oHG,<br>Hohenbrunn, Deutschland                     | K1071921      |
| Ponceau S                                                    | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland                                | K4806566      |
| Primär-Antikörper Calcitonin<br>Gene-Related Peptide         | Abcam, Cambridge, Vereinigtes<br>Königreich                          | AB135271      |
| Primär-Antikörper pan-<br>Neurofilament                      | BioLegend, San Diego, USA                                            | 837904        |
| Primär-Antikörper S100                                       | Dianova BIOZOL Diagnostica<br>Vertrieb GmbH, Hamburg,<br>Deutschland | DNA-AB-179523 |
| Primär-Antikörper Transient-<br>Receptor Potential Channel 4 | Invitrogen Fisher Scientific GmbH,<br>Schwerte, Deutschland          | PA5-18987     |
| Primär-Antikörper<br>Tyrosinhydroxylase                      | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland                                | MAB318        |
| Resorcin-Fuchsin nach<br>Weigert                             | Waldeck GmbH & Co. KG, Münster,<br>Deutschland                       | 2E-030        |
| Roticlear®                                                   | Carl Roth GmbH + Co. KG,<br>Karlsruhe, Deutschland                   | A538.3        |

|                                    |                                                    |              |
|------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------|
| Roti®-Mount Aqua                   | Carl Roth GmbH + Co. KG,<br>Karlsruhe, Deutschland | 2848.2       |
| Salzsäure 25%                      | Carl Roth GmbH + Co. KG,<br>Karlsruhe, Deutschland | 6331.3       |
| Säurefuchsin                       | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland              | 6357083      |
| Sekundär-Antikörper Anti-Maus-IgG  | Vector Laboratories, Inc., Newark,<br>USA          | BA-2000      |
| Sekundär-Antikörper Anti-Maus-IgM  | BioLegend, San Diego, USA                          | 401102       |
| Sekundär-Antikörper Anti-Ziege-IgG | Vector Laboratories, Inc., Newark,<br>USA          | BA-9500      |
| Streptavidin-HRP                   | BioLegend, San Diego, USA                          | 405210       |
| Surgipath Paraplast Plus           | Leica Biosystems Richmond, Inc.,<br>Richmond, USA  | 39602004     |
| Wasserstoffperoxid 30%             | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland              | 1.07210.1000 |
| Wolframatophosphorsäure-Hydrat     | Merck KGaA, Darmstadt,<br>Deutschland              | B229583      |

Tabelle 2: Übersicht Geräte

| Gerät               | Hersteller                                                    | Artikelnummer             |
|---------------------|---------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 12-Kanal-Kopfspule  | Siemens Healthineers AG, Forchheim, Deutschland               | MAGNETOM Trio             |
| 3-Tesla-MRT-System  | Siemens Healthineers AG, Forchheim, Deutschland               | MAGNETOM Trio, TIM System |
| 4-Kanal-Oszilloskop | RIGOL Technologies EU GmbH, Gilching, Deutschland             | DS1104                    |
| Deckgläser          | MENZEL-GLÄSER, Braunschweig, Deutschland                      |                           |
| Einbettungsgerät    | MEDITE Medical GmbH, Burgdorf, Deutschland                    | TES Valida                |
| Entwässerungsgerät  | Intelsint S.R.L., Turin, Italien                              | ETP                       |
| Fume Adsorber       | MEDITE Medical GmbH, Burgdorf, DE                             | TAZ 19                    |
| Heizplatte          | Medax Medizintechnik GmbH, Oyten, Deutschland                 |                           |
| Kühlschrank         | Liebherr, Bulle, Schweiz                                      |                           |
| Mikrotom            | Leica Biosystems, Deer Park, USA                              | RM2255                    |
| Mikrotom-Klingen    | Feather, Osaka, Japan                                         | N35                       |
| Objektträger        | Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen, Deutschland | 1100620                   |
| Scanner             | Motic© Deutschland GmbH, Wetzlar, Deutschland                 | EasyScan Infinity 100     |
| Spiegelreflexkamera | Canon, Tokio, Japan                                           | 750D                      |
| Tiefkühler -20 °C   | Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA    |                           |
| Tiefkühler -79 °C   | Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA    |                           |
| Wärmeschrank        | Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Deutschland                 | UN30, UN30pa              |
| Wasserbad           | GFL Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Deutschland | 1052                      |

Tabelle 3: Übersicht Programme

| Programm                              | Entwickler                                                                               | Version  |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| 3D Slicer image computing platform    | Verschiedene                                                                             | 5.1.0    |
| Affinity Designer                     | Serif Europe Ltd., Nottingham UK                                                         | 2.3      |
| Affinity Photo                        | Serif Europe Ltd., Nottingham, UK                                                        | 2.3      |
| EasyScanner                           | Motic                                                                                    |          |
| FMRIB Software Library (FSL)          | Oxford Centre for Functional MRI of the Brain, the University of Oxford, Oxford, England | 6.0.7.10 |
| GIMP (GNU Image Manipulation Program) | The GIMP Team                                                                            | 3.0.0-1  |
| Inkscape                              | Inkscape-Entwicklerteam                                                                  | 1.4.2    |
| MATLAB                                | The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, USA                                          | R2022a   |
| Plotly                                | Plotly Entwickler-Team, Montreal, Kanada                                                 | 5.22.0   |
| QuPath                                | QuPath developers, the University of Edinburgh, Edinburgh, Schottland                    | 0.5.1    |
| Skikit-learn                          | Skikit-learn Entwicklerteam                                                              | 1.5.0    |
| Skylum Luminar Neo                    | Skylum, Kyjiw, Ukraine                                                                   | 1.20     |
| SPSS Statistics                       | IBM Corp., Armonk, NY, USA                                                               | 29       |

## Elastica Hämatoxylin van Gieson Färbung (El HvG)

### Elastica-Lösg.

10 g Resorcin-Fuchsin in  
1000 ml 80% Alkohol unter Erwärmen lösen (nicht kochen!)  
Nach Erkalten 20 ml konz. HCl zusetzen und filtrieren.

### Alternativ:

40 ml Resorcin-Fuchsin Lösung (Fa. Chroma 2E 030, 1000 ml)  
120 ml Salzsäure-Alkohol (1000 ml Äthylalkohol plus 4 ml 25% Salzsäure)

### Weigert'sches Eisenhämatoxylin

Lösg. A: 1 g Hämatoxylin in 100 ml 96% Äthanol lösen.  
Diese Lösung muss 1 Woche reifen!

Lösg. B: 4 ml 29% Eisen III-chlorid  
1 ml 25% HCl  
95 ml aqua bidest.

Vor Gebrauch diese beiden Lösungen A plus B zu gleichen Teilen zusammenfügen; sie sind nur **1 Woche haltbar**. Die getrennten Lösungen sind monatelang haltbar.

### van Gieson Lösung

Zu 100 ml gesättigter wässriger Pikrinsäure fügt man  
7,5 ml 1% Säurefuchsin hinzu.

### Färbung:

Entparaffinierte Schnitte aus dem 70% Alkohol in

- 1) Elastica Lösg. ~~15~~ 10 Min
- 2) abspülen in Leitungswasser bis Wasser klar ist
- 3) Kernfärbung mit Weigert'schem Eisenhämatoxylin 5 Min
- 4) fließend wässern 5 Min.
- 5) spülen in aqua bidest.
- 6) van Gieson Lösung genau 1 Min.
- 7) 2 x kurz spülen in aqua bidest., nicht parken!
- 8) 2 x 96% Alkohol nicht parken! 2 x 100% Alk., Xylol, (je 2 Min.) DePeX

Zu 7) + 8): Aqua bidest. und niedrig konz. Alkohole können die van Gieson Lösung auswaschen!

Ergebnis: Elastische Elemente: schwarz-violett  
Kollagenes Bindegewebe: rötlich  
Kerne: blau-schwarz  
Muskulatur : gelb  
Epithelgewebe: hellbraun

## Azanfärbung nach Heidenhain

### Benötigte Chemikalien :

Azokarmin G (C.I.50085), Anilinblau (C.I.42755), Orange G (C.I.16230), Eisessig, Ethanol 90%ig, Anilin, Wolframatophosphorsäure, Isopropanol, Xylol

### Bemerkung :

Am besten gelingt die Färbung nach Fixierung in sublimathaltigen Flüssigkeiten, chromhaltige Fixiergemische vermeiden. Schnittdicke unter 10µm

### Arbeitsablauf :

1. Schnitte entparaffinieren und in Wasser bringen (evtl. Sublimatniederschläge entfernen)
2. Schnitte kurz in Anilinalkohol einstellen *5 min*
3. Färben in vorgewärmter Azokarminlsg. im Wärmeschrank bei 56°C *+10-15 min.*
4. Abspülen in Aqua dest. *flache Schüssel 10 min*
5. Differenzieren in Anilinalkohol bis nur noch die Zellkerne gefärbt sind. (evtl. geringer Aqua dest. Zusatz) *1 min*
6. Kurz auswaschen in essigsauerm Alkohol *1 min*  $\frac{1}{2}$  - 1 min.  
(falls Gewebe noch zu stark rot, zurück in den Anilinalkohol)
7. ~~Abspülen in Aqua dest.~~
8. 5%ige Wolframatophosphorsäure zum Entfärben und Beizen des Bindegewebes *ca. 2 Std. 40 min*
9. ~~Kurz abspülen in Aqua dest.~~
10. 1 Teil Anilinblau-Orange-Gemisch + 2 Teile Aqua dest. *1 - 2 Std. 15 min*
11. ~~Kurz abspülen in Aqua dest.~~
12. Differenzieren mit 96%igem Ethanol bis Gewebebestandteile scharf hervor treten (evtl. mikroskopische Kontrolle),  
bei Verwendung von 96%igem Isopropanol läuft der Differenzierungsprozess verlangsamt ab.
13. Entwässern in abs. Isopropanol
14. Xylol, DePeX

### Ergebnis :

Kollagenes und retikuläres Bindegewebe außerordentlich scharf blau, Chromatin rot, Muskelgewebe je nach Fixierung rötlich bis orange, Erythrocyten rot, Gliafasern rot, Schleim blau, Zellgranula gelb, rot oder blau.

### Ansätze :

- **Azokarminlsg.:** 0.1g Azokarmin G wird in 100 ml Aqua dest. aufschwemmen, kurz Aufkochen und durch ein nicht gehärtetes Filter abfiltrieren dann je 100 ml Filtrat 1ml Eisessig zugeben.
- **Anilinblau-Orange-Gemisch :** 0.5 g Anilinblau, 2 g Orange G in 100ml Aqua dest. lösen und 8 ml Eisessig zugeben, kurz aufkochen und nach dem Erkalten filtrieren.
- **Anilinalkohol:** 100 ml 90%iger Ethanol werden mit 0.1 ml Anilin versetzt.
- **essigsaurer Alkohol:** 100 ml 96%iger Ethanol werden mit 1 ml Eisessig versetzt.

## Masson-Goldner-Färbung

### Benötigte Chemikalien :

Eisenhämatoxylin nach Weigert, Azophloxin (C.I.18050), Säurefuchsin (C.I.42685), Ponceau de Xylidine (C.I.16150), Orange G (C.I.16230), Lichtgrün SF (C.I.42095) oder Anilinblau ws (C.I. 42755), Eisessig, Molybdatophosphorsäure oder besser Wolframtophosphorsäure, abs. Ethanol oder Isopropanol, Xylol

### Bemerkung :

Die Färbung gelingt besonders gut nach Fixierung mit Bouin.

Das Lichtgrün SF kann auch durch Anilinblau wasserlös. ersetzt werden.

Literatur : HistTech S.115 / MT68 §1540

### Arbeitsablauf :

1. Weigert's Eisenhämatoxylin 1-2 min ! Nicht Überfärben !
2. Spülen in fließendem Wasser 10-15 min.
3. Ponceau-Säurefuchsin-Azophloxin 5-7 min
4. Abspülen in 1%iger Essigsäure
5. Differenzieren in Molybdatophosphorsäure-Orange oder Wolframtophosphorsäure-Orange bis zur völligen Entfärbung des Bindegewebes. (gewöhnlich genügen einige Minuten)
6. Kurz abspülen in 1%iger Essigsäure
7. Gegenfärbung mit Lichtgrün (bzw. Anilinblau) 5 min.
8. Auswaschen in 1%iger Essigsäure 5 min.
9. rasch entwässern in abs. Alkohol (abs. Isopropanol)
10. Xylol, DePeX

### Ergebnis :

Kerne braunschwarz, Cytoplasma schwachorange bis rot, Erythrocyten leuchtend rot, Bindegewebe und Schleim grün, Muskelgewebe blaßrot

### Ansätze :

- **Masson-Lösung** : 0.2g Ponceau de Xylidine, 0.1g Säurefuchsin in 300ml Aqua dest. kurz kochen, dann 0.6ml Eisessig zugeben und filtrieren.
- **Azophloxin-Lösg.** : 0.5g Azophloxin werden in 100ml Aqua dest., das mit 0.2ml Eisessig versetzt wurde, gelöst.
- **Ponceau-Säurefuchsin-Azophloxin** : 88ml 0.2%ige Essigsäure mit 7ml Masson-Lösung und 2ml Azophloxinlösung versetzen.
- **Molybdatophosphorsäure-Orange** : 3-5g Molybdatophosphorsäure und 2g Orange G in 100ml Aqua dest. lösen.
- **Wolframtophosphorsäure-Orange** : 3-5g Wolframtophosphorsäure und 2g Orange G in 100ml Aqua dest. lösen.
- **Lichtgrün** : 0.1-0.2g Lichtgrün SF in 100ml Aqua dest., das mit 0.2ml Eisessig versetzt wurde, lösen. Statt Lichtgrün kann auch Anilinblau ws verwendet werden.

### Lösungen zu Goldner:

Weigertsches Eisenhämatoxylin:

Lösung A : 1 g Hämatoxylin in 100 ml 96% EtOH

Lösung B : 98 ml bidest

1 ml 25 % HCl

1.16 g Eisen - III - Chlorid

Unmittelbar vor Gebrauch : Mischung A : B = 1 : 1 ( 8 Tage haltbar )

Ponceau - Säurefuchsin - Azophloxin

3 Teile Ponceau ( 1% ) 7.5 ml

1 Teil Säurefuchsin ( 1 % ) 2.5 ml

2 ml Azophloxin 0.5 %

88 ml 0.2 % Essigsäure ( Ansatz nach Romeis )

Phosphormolybdänsäure - Orange -

4 g Phosphormolybdänsäure (Molybdätophosphorsäure -Hydrat)

100 ml bidest

2 g Orange G

Lichtgrün

0.1 g Lichtgrün

100 ml bidest

0.2 ml Eisessig

Alternative für Goldner :

Kernfärbung : Hämalan

Kernechtrot

BG: luxol fast blue

# Immunohistochemical Staining for pan Neurofilament on human tissue

(21.03.2018)

*Paraffin embeded human sections (4-10µm) on Glasslides (HistoBond, SuperFrost+ etc.)*

1. Fixation by baking the slides in a oven at 70°C for 1-2 hours
2. Deparaffinization in roticlear 2x10 min->100% alcohol 3 min -> 90% alcohol 3 min-> 50% alcohol 3 min-> distilled water
3. High temperature antigen unmasking in a pressure cooker for 5 min. [\[VECTOR Antigen Unmasking Solution, # H-3300\]](#)
4. PBS 3 min
5. 0,6% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in PBS, 10 min., RT
6. PBS 1-5 min.
7. Label and make PAP circles (*let them dry !*)
8. purified anti h pNF (2µg/ml) [\[BioLegend # 837904\]](#)  
and Mouse IgG1 + IgM for negativ control (2µg/ml - *both together concentration*) [\[BioLegend # 401402 + #401102\]](#)  
in 3-5% horse serum over night at RT
9. PBS 3x5 min.
10. Biotinylated anti-Mouse IgG + IgM in PBS 1:250, 75 min. RT [\[VECTOR # BA-2000 + BioLegend # 406504\]](#)
11. PBS 2x5 min.
12. Streptavidin HRP (1:750) incubation for 60 min. at RT [\[BioLegend # 405210\]](#)
13. PBS 2x5 min.
14. NovaRED substrate development, around 1-3 min. at RT (*control under microscope*) [\[VECTOR # SK-4800\]](#)
15. PBS or water wash
16. Hematoxylin (Gill. II - filter before use !) counterstain, 15 sec.
17. Water wash 5x1min
18. Saturated lithium carbonate (Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) solution, 30-90 sec.
19. Short water wash
20. Short steps in 70% Alcohol, 96% Alcohol, 100% Alcohol, 3xXylene then coverslip with DePeX or Rotimount

*Paraffin embedded human sections (4-10µm) on Glasslides (HistoBond, SuperFrost+ etc.)*

1. Fixation by baking the slides in a oven at 70°C for 3 hours
2. Deparaffinization in xylene 2x5 min->100% alcohol 5 min -> 90% alcohol 5 min  
-> 70% alcohol 5 min-> distilled water
3. High temperature antigen unmasking (*pH9*) in a pressure cooker for 5 min.  
[VECTOR Antigen Unmasking Solution, # H-3301](#)
4. Gently cool down to RT
5. PBS 3 min
6. 0,5% - 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in PBS, 10 min., RT
7. PBS, Label and make PAP circles (*PAP-Pen - Keep the tissue in PBS while drying the PAP circles !*)
8. Monoclonal anti S-100 (*1:200*) - *real concentration is unknown !* [\[Dianova # DNA-AB-179523\]](#)  
and Mouse IgG2a for negativ control (*1:500*) [\[BioLegend # 401502\]](#)  
in 3-5% horse serum for 75 min. at RT
9. PBS 3x5 min.
10. Biotinylated horse anti-Mouse IgG in PBS (*1:250*), 45 min. RT [\[VECTOR # BA-2000\]](#)
11. PBS 2x5 min.
12. Streptavidin HRP (*1:800*) incubation for 35 min. at RT [\[BioLegend # 405210\]](#)
13. PBS 2x5 min.
14. AEC substrate development, around 5-45 min. at RT (*control under microscope*) [\[VECTOR # SK-4200\]](#)
15. PBS or water wash
16. Hematoxylin (*Gill. II - filter before use !*) counterstain, 2-5 sec.
17. Water wash 2x3 min
18. Saturated lithium carbonate solution, 30-120 sec.
19. Short water wash
20. coverslip with Roti-Mount Aqua (or other aqueous mounting medium !)

# Immunohistochemical Staining for CGRP on human tissue

(29.07.2019)

*Paraffin embeded human sections (4-8µm) on Glasslides (HistoBond, SuperFrost+ etc.)*

1. Fixation by baking the slides in a oven at 70°C for 1 hour
2. Deparaffinization in Roticlear 20 min. → descending alcohol concentration (each 3-5 min.) → distilled water
3. High temperature antigen unmasking (pH 6) in a pressure cooker for 5 min. [\[VECTOR Antigen Unmasking Solution, # H-3300\]](#)
4. Cool down and wash in PBS 3 min.
5. 0,6-1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in PBS, 10 min., RT
6. Wash in PBS for 5 min.
7. Label and make PAP circles *(let them dry for 3-5 min.)*
8. Polyclonal anti CGRP-Antibody (stored at -20°C) (15 µg/ml = 1:70) [\[abcam # ab135271\]](#)  
and Rabbit IgG1 for negative control (15 µg/ml = 1:70) [\[BIO-RAD # PRABP01\]](#)  
in PBS with 1% Triton X and 3-5% goat serum -> incubation for 90 min. at 36°C
9. Wash in PBS, 3x5 min. RT
10. Biotinylated goat anti-rabbit IgG in PBS with 1% Triton X 1:250, incubate for 45 min. at RT [\[VECTOR # BA-1000\]](#)
11. Wash in PBS, 3x5 min. RT
12. Streptavidin HRP (1:800 in PBS with 0,5% Triton X), incubate for 35 min. at RT [\[BioLegend # 405210\]](#)
13. Wash in PBS, 3x5 min. RT
14. NovaRED substrate development, around 3 min. at RT [\[VECTOR # SK-4800\]](#)
15. PBS or water wash
16. Hematoxylin *(Gill. II - filter before use !?)* counterstain, 1-3 sec.
17. Water wash 3-5min.
18. Saturated lithium carbonate (Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) solution, 1-3 min.
19. Water wash 1min.
20. fast (15-30 sec. each) ascending alcohol concentration up to xylene, → mount with DePeX (or similar) and coverslip

*Paraffin embedded human sections (4-10µm) on glasslides (HistoBond, SuperFrost+ etc.)*

1. Fixation by baking the slides in a oven at 70°C for 1-2 hours
2. Deparaffinization in Roticlear 2x10 min. → descending alcohol concentrations (each 3-5 min.) → distilled water
3. High temperature antigen unmasking (pH 6) in a pressure cooker for 5 min. [\[VECTOR Antigen Unmasking Solution, # H-3300\]](#)  
or [\[SIGMA Antigen Retriever, # C9999\]](#)
4. PBS 1 min.
5. 0,6% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in PBS, 8-10 min., RT
6. PBS 5 min.
7. Label and make PAP circles
8. polyclonal anti TRPC4 (*5 µg/ml = 1:100*) [\[Invitrogen # PA5-18987\]](#)  
and goat IgG for negativ control (*5 µg/ml*) [\[Thermo # 31245\]](#)  
in 3-5% horse serum for 90 min. at 35°C
9. PBS 3x5 min.
10. Biotinylated horse anti-goat IgG in PBS (*1:250*), 1 h. RT [\[VECTOR # BA-9500\]](#)
11. PBS 3x5 min.
12. Streptavidin HRP (*1:800*) incubation for 40 min. at RT [\[BioLegend # 405210\]](#)
13. PBS 3x5 min.
14. AEC substrate development, around 5-45 min., RT [\[VECTOR # SK-4200\]](#)
15. PBS or water wash
16. Hematoxylin (*Gill. II - filter before use !*) counterstain, 1-5 sec.
17. Water wash 2x3min.
18. Saturated lithium carbonate (*Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>*) solution, 1-2 min.
19. Water wash 3x1min.
20. coverslip with aqueous mounting medium (*eg. C.ROTH Aqua-Mount or similar*).

# Immunohistochemical Staining for

(23.04.2015)

## Tyrosine Hydroxylase on human tissue

*Paraffin embeded human sections (4-10µm) on Glasslides (HistoBond, SuperFrost+ etc.)*

1. Fixation by baking the slides in a oven at 70°C for 3 hours
2. Deparaffinization in xylene 2x5 min-> 100% alcohol 5 min -> 90% alcohol 5 min  
-> 70% alcohol 5 min-> distilled water
3. High temperature antigen unmasking (*pH6*) in a pressure cooker for 4 min.  
[VECTOR Antigen Unmasking Solution, # H-3300](#)
4. Gently cool down to RT
5. PBS 3 min
6. 0,5% - 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in PBS, 10 min., RT
7. PBS, Label and make PAP circles (*PAP-Pen - Keep the tissue in PBS while drying the PAP circles !*)
8. Monoclonal anti human Tyrosine Hydroxylase (*1:250 ≈ 12µg/ml*) [\[Merck-Millipore # MAB318\]](#)  
and Mouse IgG1 for negativ control (*12µg/ml*) [\[BioLegend # 401402\]](#)  
in 3-5% horse serum over night at 4°C
9. PBS 3x5 min.
10. Biotinylated horse anti-Mouse IgG in PBS (*1:300*), 45 min. RT [\[VECTOR # BA-2000\]](#)
11. PBS 2x5 min.
12. Streptavidin HRP (*1:800*) incubation for 40 min. at RT [\[BioLegend # 405210\]](#)
13. PBS 2x5 min.
14. NovaRED substrate development, around 1-3 min. at RT (*control under microscope*) [\[VECTOR # SK-4800\]](#)
15. PBS or water wash
16. Hematoxylin (*Gill. II - filter before use !*) counterstain, 5-15 sec.
17. Water wash 5x1min
18. Saturated lithium carbonate solution, 30-180 sec.
19. Short water wash
20. Short steps in 70% Alcohol, 96% Alcohol, 100% Alcohol, 3xXylene
21. coverslip with DePeX or Rotimount



# Proprioceptors of the human pericardium

Lea M. Piermaier<sup>1</sup> · Svenja Caspers<sup>1,2</sup> · Christina Herold<sup>3</sup> · Michael Wolf-Vollenbröcker<sup>1</sup> · Patrick Brzoska<sup>1</sup> · Eric Bechler<sup>4,5</sup> · Timm J. Filler<sup>1</sup>

Received: 4 June 2024 / Revised: 16 July 2024 / Accepted: 5 August 2024 / Published online: 9 August 2024  
© The Author(s) 2024

## Abstract

In the human organism, all functions are regulated and, therefore, require a feedback mechanism. This control involves a perception of the spatial tensile state of cardiac tissues. The presence and distribution of respective proprioceptive corpuscles have not been considered so far. Therefore, a comprehensive study of the entire human fibrous pericardium was conducted to describe the presence of proprioceptors, their density, and distribution patterns. Eight human pericardial specimens gained from our body donation program were used to create a three-dimensional map of proprioceptors in the pericardium based on their histological and immunohistochemical identification. The 3D map was generated as a volume-rendered 3D model based on magnetic resonance imaging of the pericardium, to which all identified receptors were mapped. To discover a systematic pattern in receptor distribution, statistical cluster analysis was conducted using the Scikit-learn library in Python. Ruffini-like corpuscles (RLCs) were found in all pericardia and assigned to three histological receptor localizations depending on the fibrous pericardium's layering, with no other corpuscular proprioceptors identified. Cluster analysis revealed that RLCs exhibit a specific topographical arrangement. The highest receptor concentrations occur at the ventricular bulges, where their size reaches its maximum in terms of diameter, and at the perivascular pericardial turn-up. The findings suggest that the pericardium is subject to proprioceptive control. RLCs record lateral shearing between the pericardial sublayers, and their distribution pattern enables the detection of distinct dilatation of the heart. Therefore, the pericardium might have an undiscovered function as a sensor with the RLCs as its anatomical correlate.

**Keywords** Pericardium · Proprioception · Ruffini-like corpuscles · Distribution pattern

## Introduction

Proprioception serves the unconscious and conscious perception of connective tissues' tensile state and motion. The term “proprioception” was introduced in 1906 by Charles Sherrington [60], who differentiated this sense emanating from the organism itself from “exteroception” and “interoception”. Even if interoception is not clearly defined and conceptualized, it is rooted in the vegetative system and is currently mainly discussed for its influence on the psyche [13], whereas the proprioceptive system is based on peripheral corpuscular receptors. These corpuscles are mechanoreceptors of the deep sensitivity that serve the body's self-awareness in space. Proprioceptors include various sensory structures, such as Ruffini-, Vater-Pacinian-, and Golgi-Mazzoni corpuscles, Krause end bulbs, Golgi tendon organs, and free nerve fibers. These register different stimuli, such as stretching, tension, vibration, or shearing. To date, the scientific literature on proprioceptors in both animals and

✉ Lea M. Piermaier  
lea.piermaier@hhu.de

<sup>1</sup> Institute for Anatomy I, Medical Faculty & Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine-University, Building 22.02, Floor U1, Room 15, Universitätsstraße 1, 40225 Düsseldorf, Germany

<sup>2</sup> Institute of Neuroscience and Medicine (INM-1), Research Center Jülich GmbH, Jülich, Germany

<sup>3</sup> Medical Faculty & Hospital Düsseldorf, Cécile and Oskar Vogt Institute of Brain Research, Heinrich-Heine-University, Düsseldorf, Germany

<sup>4</sup> Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Medical Faculty, University Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine-University, Düsseldorf, Germany

<sup>5</sup> Core Facility for Magnetic Resonance Imaging, Medical Faculty, University Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine-University, Düsseldorf, Germany

humans has primarily focused on the musculoskeletal system [7, 12, 51]. Basically, mechanosensing is also present in the internal organs, and proprioceptors are already described for the pancreas [8, 22, 26, 63] and the thymus [71]. There is a lack of published research on corpuscular receptors for the pericardium. However, these sensors could be relevant in the sensory consideration of tamponade, pain, pericardial inflammation, or heart enlargement pathophysiology. It is challenging to obtain information for the assignments of the different sensors, e.g., physiological conduction of a single corpuscle, as neither their presence nor their exact location and distribution is known. Even the publications describing cortex-evoked responses only assume which mechanosensory receptors' specific impulse patterns are recorded [43, 53].

The fibrous pericardium consists of three sublayers of collagenous connective tissue interwoven with elastic fibers [17, 29, 30, 73]. Contrary to the common conception that the pericardium only operates under high diastolic volumes, it naturally couples diastolic ventricular pressure–volume relationships [24]. Movement and extension of the human pericardium depend on the amount of synovial filling of the pericardial gap, ranging between 15 and 60 ml [36, 72], and the dimension of the heart. The pericardial cavity not only enables gliding motion but also facilitates the transmission of mechanical stimuli to the parietal pericardium.

Whereas proprioceptive sensation is mediated by the somatic nervous system, the myocardium itself is supplied only by autonomic fibers [35, 38, 66, 70]. Kostreva and Pontus describe mechanosensory afferents via the phrenic nerve [37]. Still, the source of these sensorics in the pericardium remains unclear. Animal studies indicate that the phrenic nerve contains sensory components making up 30–45% of its composition [39, 40, 47]. This sensory portion of the phrenic nerve may transmit proprioceptive afferents. Such afferents are discussed to play a role in pericardial pain perception [25, 76]. However, the specific receptors responsible for this nociception are unknown.

Normally, corpuscular proprioceptors are present in all connective tissue, and the human heart possesses an evident collagenous exoskeleton known as the pericardium. Furthermore, embryologic malformations with congenital absence of the pericardium can cause notable cardiac dysfunction, such as abnormalities in the conduction system, arrhythmias, and chest pain [23, 48, 49, 52, 55–57, 59, 67]. The severity of the pathology depends on the type and extent of the congenital absence. This implies that the pericardium maintains normal cardiac function beyond its mechanical functions, which have been considerably summarized by different authors [30, 33]. On the other hand, a missing pericardium does not necessarily lead to mechanical problems of the heart itself [15, 16]. Since the pericardium may not impact the heart's mechanical function, it could

serve an additional function. Given the reported sensation of pericardial pain, it may be involved in perceiving sensitive impulses. We, therefore, aimed to identify the neural feedback components of the human pericardium.

To determine whether the pericardium functions as a receptor to control cardiac dynamics, we investigated the presence and types of proprioceptors occurring in the human pericardium. Receptors may be associated with the histological organization of the fibrous pericardium and could display a potential topographic system (i.e., density and distribution pattern) throughout the pericardium.

## Methods

### Body donation

Human pericardial tissue was obtained from eight body donors participating in the body donation program of the Heinrich-Heine-University Düsseldorf (HHU). The heart of a ninth female body donor was taken to create the volume-rendering and surface-rendering models of the “standard-pericardium”. The selected specimens had to cover the following conditions:

1. No surgical procedures near the heart or mediastinum/within the chest;
2. No known or visible heart disease;
3. No pacemaker or other interventions; and
4. No macroscopic primary tumor or metastasis in the mediastinal area

This study was approved by the Ethics Committee of the medical faculty of the University of Düsseldorf with the number 2021–1565, adhering to the following criteria: Declaration of Helsinki and written consent for the use of body materials for study and research purposes.

### Macroscopical sectioning

The entire thoraces of eight human cadaveric donors (four female and four male specimens) were fresh-frozen at – 79 degrees Celsius for at least 1 week. Horizontal sections of equal thickness (10 mm) were drawn along the entire heart length from cranial to caudal for each specimen. Since Ruffini-like corpuscles (RLCs) can grow up to several millimetres in length, we chose a circumferential evaluation of the pericardium from cranial to caudal at these intervals to avoid double-counting of the same RLC. The obtained sections underwent free-floating fixation in 4% formaldehyde (MORPHISTO®) for 2 weeks. Afterwards, the pericardium with adjacent structures was harvested from each section

around the entire heart circumference for further histological processing.

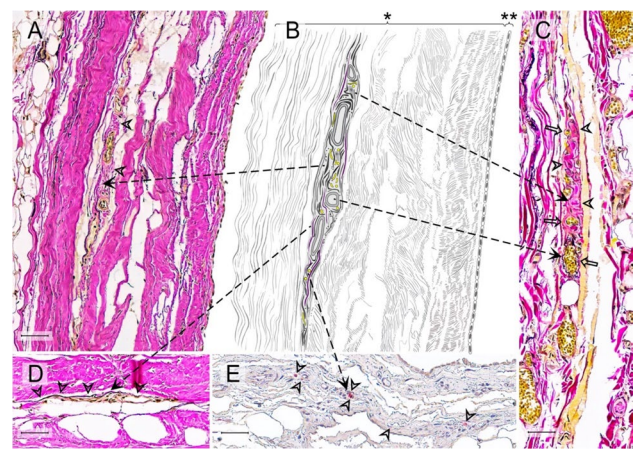
## Tissue processing and staining

In order to identify the number and location of the proprioceptors, the pericardial samples were processed using paraffin histology. The orientation of the slides was perpendicular to the surface to differentiate the pericardial sublayers. The sections were sliced at a thickness of 7  $\mu\text{m}$  and stained with Elastica van Gieson staining to identify RLCs. Additional immunohistochemistry in subsequent sections exemplarily verified the plausibility that the corpuscles counted in the histochemical staining were Ruffini corpuscles. The distribution of nerve fibers and the occurrence of free Schwann cells were set as criteria. For this purpose, primary Antibodies against pan-Neurofilament (pNF; BioLegend [# 837904]) and Myelin Basic Protein (MBP; BioLegend [# 836504]) were used at concentrations of 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (pNF) and 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (MBP). To further confirm the diagnosis of Ruffini corpuscles, antibodies against S100 (Dianova [# DNA-AB-179523]; dilution: 1/200), a marker for sensory nerve fibers, Calcitonine Gene-Related Peptide (CGRP; abcam [# AB135271]; concentration: 15  $\text{mg}/\text{ml}$ ), a peptide released by certain sensory fibers in the peripheral nervous system, Transient Receptor Potential Channel 4 (TRPC4; Invitrogen [# PA5-18987]; concentration: 5  $\text{mg}/\text{ml}$ ), a non-selective calcium channel of sensory fibers, and tyrosine hydroxylase (Merck Millipore [# MAB318]; concentration: 12  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), to demonstrate the sympathetic-efferent innervation of RLCs, were applied. Secondary antibodies (anti-mouse IgG, VECTOR [# BA-2000] and anti-mouse IgM, BioLegend [# 401102] at a concentration of 1:250 for pNF and anti-mouse IgG, VECTOR [# BA-2000] at a concentration of 1:300 for MBP) and streptavidin HRP (BioLegend [# 405210]) at a concentration of 1:800 were used to label the NovaRED dye (VECTOR [# SK-4800]). The detected neuronal supply ensures that the corpuscle is equipped with the expected neuronal components, i.e., scattered nerve fibers within the RLCs along the longitudinal axis of their fusiform shape (Fig. 1). The positive finding of MBP was used to assign the pale epithelioid cells to Schwann cells.

## Data collection

The histological samples were scanned with a slice scanner (Motic EasyScan Infinity 100) and digitally analyzed using the QuPath software (Version 0.2.3[6]). It is generally accepted that RLCs cover the following histological criteria and are graphically summarized in Fig. 1:

- Spindle-shaped receptor arrangement
- Occurrence of pale epithelioid cells



**Fig. 1** Histological criteria of Ruffini-like corpuscles (RLCs) in the human pericardium. Histological criteria of these receptors are the presence of meandered vessels and scattered nerve fibers, the occurrence of pale epithelioid cells, a minor density of collagenous fibers compared to the surrounding area, and demarcation from the environment by straightened elastic fibers. Since not all criteria of an RLC are always in one histological plane, we show a variety of receptors to demonstrate all previously mentioned criteria. All fusiform structures within the pericardium that fulfill at least three of the histological criteria were counted as RLC. **A** Histological image (section thickness: 7  $\mu\text{m}$ ; stain: Elastica van Gieson; scale bar: 50  $\mu\text{m}$ ) of an RLC in the pericardium of an 80-year-old male donor. The arrowheads indicate the less dense collagen fibers within the receptor than the surrounding area. **B** Schematic drawing of the RLC shown in A) with all histological criteria depicted. The arrows point to the corresponding criteria in the histological images. **C** Histological image (section thickness: 7  $\mu\text{m}$ ; stain: Elastica van Gieson; scale bar: 50  $\mu\text{m}$ ) of an RLC in the pericardium of an 86-year-old female donor. The arrowheads direct to the epithelioid cells, and the arrows to the meandering vessels. **D** Histological image (section thickness: 7  $\mu\text{m}$ ; stain: Elastica van Gieson; scale bar: 50  $\mu\text{m}$ ) of an RLCs in the pericardium of an 80-year-old deceased man. The arrowheads indicate elastin fibers, which demarcate the receptor from the surrounding tissue. **E** Histological image (section thickness: 7  $\mu\text{m}$ ; scale bar: 50  $\mu\text{m}$ ) with immunochemical staining (pan-Neurofilament) of a RLC of an 83-year-old female donor. The arrowheads point to the receptors, specifically stained scattered nerve filaments. \* = pericardium fibrosum, \*\* = lamina parietalis pericardii serosi

- A lower density of the collagen fibers compared to the surrounding tissue,
- And demarcation from the surroundings by straightened elastic fibers
- Vessels meandering through the corpuscle

Histologically visible topographic proximity to nerves or nerve ingrowth into the corpuscles can be considered an additional criterion.

All structures within the pericardium that fulfilled three or more of the histologic criteria in addition to the shape were counted as RLCs.

## Statistics

To detect any systematics in the distribution of RLCs, we used cluster analyses that analyzed the density of corpuscles per area according to the relative coordinates of the three-dimensional pericardial surface. This analysis was conducted using the Scikit-learn library [19] in Python, while the Plotly library was used for 3D scatter plots [1].

With the help of hierarchical agglomerative clustering with WARD linkage, a dendrogram was created to partition the data logically [50, 74]. The resulting dendrogram displays the distance between merged clusters to facilitate detecting equitable partitions.

In addition to the hierarchical approach, we applied mean shift clustering to identify local maxima of neighborhood densities [10]. For each data point, the algorithm calculates the center of mass within a window surrounding that point. The window is then shifted towards this new center. When the need for shifting ceases, the iteration stops, and the data point is assigned to the identified center. Data points assigned to the same center form a cluster, and the center represents the point of the highest density.

When estimating the window size, which has a significant impact on the number of clusters found, the bandwidth estimation function available in the scikit-learn library was utilized. We then employed the density information to generate a heatmap, where each data point is colored in accordance with its relative distance from its corresponding center.

## Visualization

A surface rendering and a volume rendering model were created to visualize the distribution and arrangement of proprioceptors in the human pericardium. These three-dimensional models were imaged from a heart, including the pericardium. For this purpose, a female body donor was fixated with 4% formaldehyde (MORPHISTO®) in its entirety. All tissues surrounding the pericardium were precisely removed to preserve the heart, together with its contiguous suspension and diaphragm, in their natural in situ arrangement. An epoxy frame maintained the natural diaphragmatic protrusions caused by the liver and stomach into the thoracic cavity. This heart, used as the “standard-pericardium”, then underwent scanning using magnetic resonance imaging and photogrammetry.

## MRI

A 3D whole heart (with pericardium) MRI dataset was used for the volume rendering model in order to visualize the heart's internal and to match the eight pericardia to the “standard pericardium”. Volume rendering was performed by

specifying the color and opacity for each voxel based on its image intensity using 3D Slicer ([https://slicer.readthedocs.io/en/latest/user\\_guide/modules/volumerendering.html](https://slicer.readthedocs.io/en/latest/user_guide/modules/volumerendering.html)). Data acquisition for the three-dimensional volume rendering model was performed on a 3 T scanner (Magnetom Trio, Siemens AG, Healthineers, Erlangen, Germany) using a 12-channel head coil. Data of the heart was acquired using a 3D Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo (MP-RAGE) sequence with the following parameters: echo time (TE)/inversion time (TI)/ repetition time (TR) = 3.35/900/1720 ms; flip angle = 9°; acquisition matrix = 384 × 384 × 256; voxel size = 0.5 × 0.5 × 0.5 mm<sup>3</sup>; number of averages = 5; acquisition time = 29:12 min.

## Photogrammetry

The surface rendering model for visualizing the statistical outcomes was generated using photogrammetry. More than 1000 photos were taken from all angles of the “standard pericardium” using a reflex camera (model: Canon 750D with APS-C sensor, lens: 60 mm macro). We followed Spiriev et al.'s [62] digitization process. In brief: the images were transferred to photogrammetry software, which generated a dense point cloud that was used to calculate a coordinate system. Next, a three-dimensional mesh was created, and textures were overlaid. Finally, the finished 3D model was converted to Blender software.

Mapping and visualization of the proprioceptors were accomplished by digitally transferring all receptors found onto the volume rendering and surface rendering model of the “standard pericardium” using the 3D-slicer software (Version 5.1.0[21]). Each receptor position was determined as precisely as possible based on the histological findings, considering the adjacent environment and anatomical landmarks.

## Image presentation

The images were digitized using a slice scanner (Motic EasyScan Infinity 100) and corresponding software. Image processing, including white balancing, contrast correction, noise reduction, and cropping, was performed using Affinity Photo (version 2.3). Image composition and labeling were created using Affinity Designer (version 2.3).

The utilization of large language models served to ascertain the grammatical and syntactical correctness of the text, as well as to identify alternative terms or phrases.

## Results

A total of eight fibrous pericardia were examined for the presence and distribution of proprioceptors. RLCs were found in large numbers at all pericardia. However, no

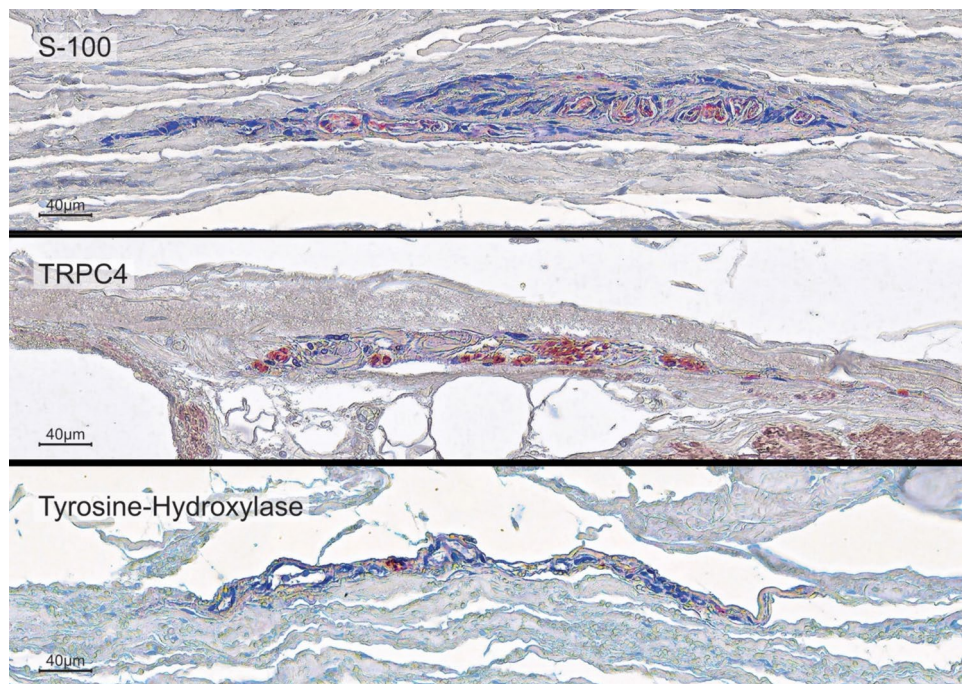
Vater-Paccinian- or Golgi-Mazzoni-corporcles, Krause end bulbs, or Golgi tendon organs were found in any specimens. In all eight pericardia, we found a sum of 1476 RLCs. The number of receptors is much higher when considering the total surface of the pericardium, as opposed to solely analyzing our selected 10 mm intervals.

The histochemical and immunohistochemical identification of RLCs was verified using four additional different markers that usually occur in Ruffini corpuscles, repeated ten times, following typical protocols for Ruffini corpuscles (Fig. 2). Sensory nerve fibers (S100) and nerve fibers equipped with calcium channels (TRP, specifically TRPC4) were consistently observed. An efferent sympathetic innervation (tyrosine hydroxylase) was reliably detected. Stainings for CGRP (a peptide secreted by peripheral sensory fibers) were negative.

The histological organization of the fibrous pericardium reveals three sublayers. As there is no established nomenclature for these sublayers, we propose the following labels: the outermost layer facing the thoracic cavity will be referred to as the lamina externa, the inner layer adjacent to the pericardial cavity as the lamina interna, and the layer between the two as the lamina intermedia.

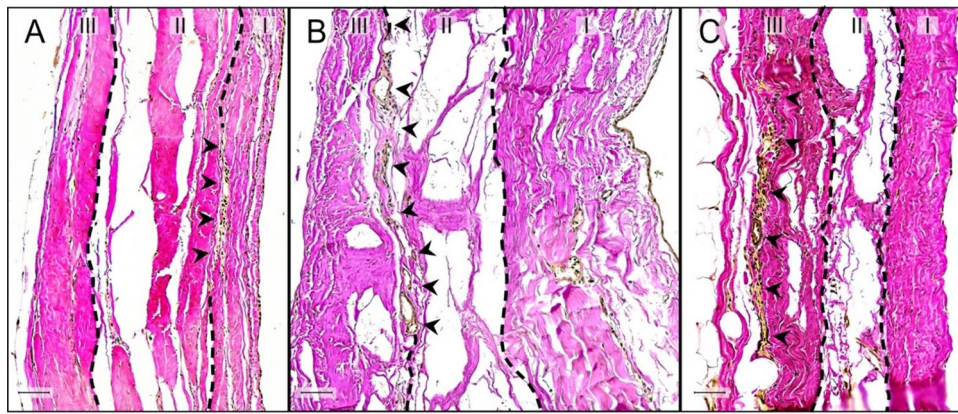
We categorized three localization classes of RLCs according to the tripartite histological organization of the fibrous pericardium (Fig. 3). The 1st receptor localization is between the lamina interna and the lamina intermedia, while the 2nd one is positioned between the lamina intermedia and the lamina externa. The 3rd localization is summarized by RLCs mainly as part of the outer border of the lamina externa, touching the thoracic cavity. The histological structure of RLCs was uniform through all localizations (Fig. 3). Receptors between the lamina intermedia and lamina externa were most abundant (total: 674 (45.7%)), closely followed by those as part of the lamina externa (total: 617 (41.8%)). However, RLCs between the lamina interna and lamina intermedia were definitely rare (total: 185 (12.5%)).

RLCs were found in comparable proportions in both sexes (female: 703/1476 (47.6%), male: 773/1476 (52.4%)). Using scaled photographs and calculations, we approximated the mean pericardial surface of our body donations to be about 186 cm<sup>2</sup> in females and 184 cm<sup>2</sup> in males. This estimation aligns with the results measured by Hort [31]. There is no significant difference between the sexes regarding the dependency of corpuscles on the total pericardial surface.



**Fig. 2** Immunohistochemical characterisation of the pericardial Ruffini-like corpuscles (RLCs). To further confirm the diagnosis of RLCs and to characterise specific neuronal components within the receptors, immunohistochemical stainings were performed using antibodies against S-100 (a specific marker for sensory fibers), Calcitonine Gene-Related Peptide (CGRP, a peptide released by sensory fibers), Transient Receptor Potential Channel 4 (TRPC4, a non-selective calcium channel of sensory fibers), and tyrosine hydroxylase

(a specific marker for efferent sympathetic fibers). A positive result is indicated by the red dye, labeled on the secondary antibody. The immunohistochemistries against S-100 (top), TRPC4 (middle), and tyrosine hydroxylase (bottom) yielded positive results. Staining against TRPC4 (middle) also marked the calcium channels of the smooth muscle of all vessels. The intensity of the surrounding environment was reduced to highlight the shape and extent of the RLCs



**Fig. 3** Localization of Ruffini-like corpuscles (RLCs) within the fibrous pericardium. Classification of the localization of RLCs is based on the histological organization of the human fibrous pericardium, which can be divided into three sublayers of collagenous fibers interwoven with elastic fibers. By our definition, the pericardial sublayer facing the thoracic cavity is the lamina externa (III), the middle sublayer is the lamina intermedia (II), and the sublayer touching the pericardial cavity is the lamina interna (I). The histological structure of RLCs in all localizations was identical. Receptors outside the fibrous portion of the pericardium were not considered. **A** Histological image (section thickness: 7 µm; stain: Elastica van Gieson; scale bar: 50 µm) of the pericardium of an 87-year-old female body donor. The 1st receptor localization is between the lamina interna (I) and the lamina intermedia (II) of the pericardium. Arrowheads

point to the RLC positioned between these layers. Receptors of this localization are rare (12.5%). **B** Histological image (section thickness: 7 µm; stain: Elastica van Gieson; scale bar: 50 µm) of the pericardium of an 80-year-old male body donor. The 2nd receptor localization is between the lamina intermedia (II) and the lamina externa (III) of the pericardium. Arrowheads direct to the RLC at this location. This receptor localization is most abundant (45.7%). **C** Histological image (section thickness: 7 µm; stain: Elastica van Gieson; scale bar: 50 µm) of the pericardium of a 70-year-old male body donor. The 3rd localization is summarized by RLCs mainly as part of the outer border of the lamina externa (III), touching the thoracic cavity. Arrowheads indicate the RLC inside the outermost pericardial sublayer. RLCs at this spot were detected second most (41.8%)

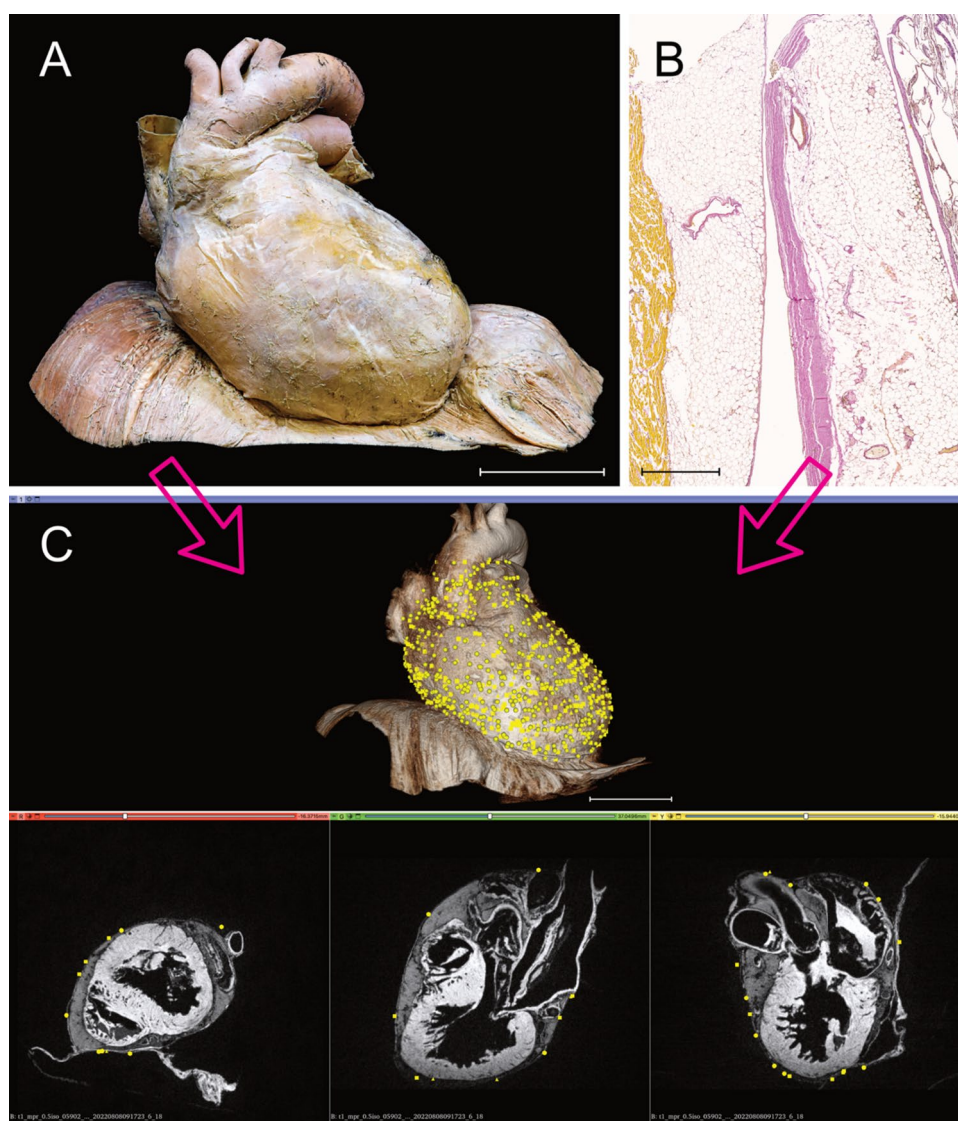
Each receptor position was accurately transferred to the "standard pericardium" (Fig. 4). Topographical differences with potential hotspots were already evident when all pericardia were matched to the volume rendering model (Fig. 5). Cluster analysis identified possible partitions and higher density areas within the pericardial proprioceptors.

We identified a cluster count of four and illustrated the distinct clusters as points of divergent color in a 3D scatterplot (Figs. 6 and 7A, B). One cluster (blue) corresponds to the outflow of the aorta and pulmonary trunk, as well as the right atrium. A second cluster (red) is located in the region of the right ventricle. A third cluster (green) comprises the left ventricle area and a small section of the left atrium. The remaining cluster (yellow) covers most of the left atrium, including the pulmonary veins. The interventricular septum roughly delineates the boundary between the right ventricle (red cluster) and left ventricle (green cluster). The valvular plane approximately corresponds to the border between the right atrium (blue cluster) and right ventricle (red cluster), as well as between the left ventricle (green cluster) and left atrium (yellow cluster).

Analysis of the generated heatmap using the Mean shift function reveals hotspots of both high and low receptor density within the pericardium (Fig. 7C, E). A quantile of 0.1 resulted in four clusters with a distribution similar to the hierarchical approach: First, at the exit of the great

vessels (mainly the aorta and partly the pulmonary trunk). Second, at the bulge of the right ventricle (at the largest circumference of the heart). Third, at the bulge of the left ventricle (at the largest circumference of the heart). Fourth, in the region of the left atrium close to the diaphragm where the esophagus touches the pericardium. In contrast, regions of very low pericardial receptor density are located along the interventricular septum and the apex of the heart. The portions of the pericardium covering the remaining heart regions exhibit moderate receptor density.

Analysis of the generated heatmap using the Mean shift function reveals hotspots of both high and low receptor density within the pericardium (Fig. 7C, E). A quantile of 0.1 resulted in four clusters with a distribution similar to the hierarchical approach: First, at the exit of the great vessels (mainly the aorta and partly the pulmonary trunk). Second, at the bulge of the right ventricle (at the largest circumference of the heart). Third, at the bulge of the left ventricle (at the largest circumference of the heart). Fourth, in the region of the left atrium close to the diaphragm where the esophagus touches the pericardium. In contrast, regions of very low pericardial receptor density are located along the interventricular septum and the apex of the heart. The portions of the pericardium covering the remaining heart regions exhibit moderate receptor density.



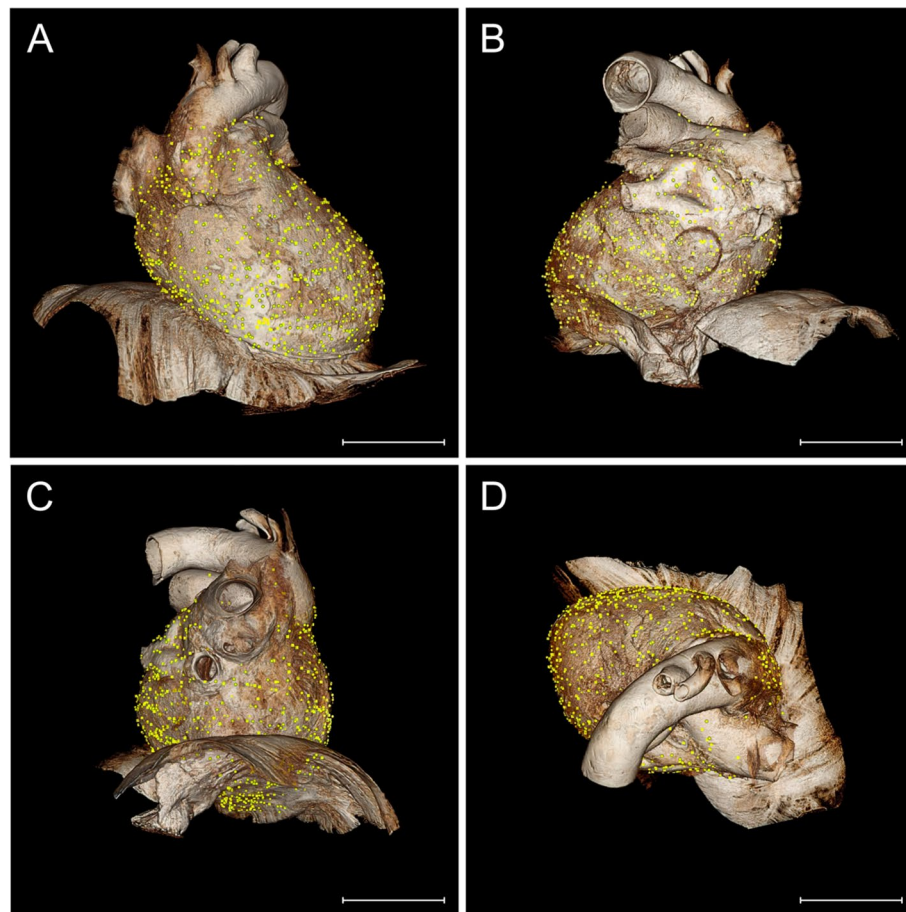
**Fig. 4** Visualization of Ruffini-like corpuscles (RLCs) in the human pericardium. To visualize the distribution of RLCs, all receptors of the eight pericardia examined were matched to a “standard-pericardium”. Using the histologically detected corpuscles with the adjacent environment and magnetic resonance imaging of the “standard-pericardium” in all three spatial planes, the receptors were transferred to the “standard-pericardium” by matching prominent anatomical landmarks. **A** Anatomical preparation of the heart within pericardium dissected from a 91-year-old formalin-fixed female body donor, which was utilized as the “standard-pericardium”. All tissue around the pericardium was carefully removed to maintain the heart’s natural in situ position on top of the diaphragm. An epoxy resin frame ensured the natural form of the diaphragm, whereas hard fixation and filling stabilized the heart within its pericardium to allow radiological 3D reconstruction by MRI and photogrammetry. Scale bar: 5 cm.

**B** Exemplary histological image (section thickness: 7  $\mu$ m; stain: Elastica van Gieson; scale bar: 800  $\mu$ m) of the pericardium of an 80-year-old male body donor. All discovered RLCs within the pericardium (center) were matched to the corresponding position on the “standard-pericardium,” considering the myocardial topography (left) and the surrounding tissue (right). **C** Radiological volume rendering model of the “standard-pericardium” (top), to which all RLCs were assigned using the 3D Slicer program. The three forms of the yellow dots represent the different localizations of the RLCs within the fibrous pericardium (triangle=1st localization, circle=2nd localization, quadrate=3rd localization). The three spatial planes included in the radiological sequence (bottom) were used for orientation in the “standard-pericardium” to achieve the most anatomically correct transfer of the receptors. Scale bar: 5 cm

## Discussion

The objective of this study was to monitor proprioceptors in the human pericardium. RLCs were the only corpuscles

detected in substantial quantities. According to their position within the three pericardial sublayers, the RLCs were assigned to three localization classes (Fig. 3). We were able to verify the tripartite histological organization of the fibrous



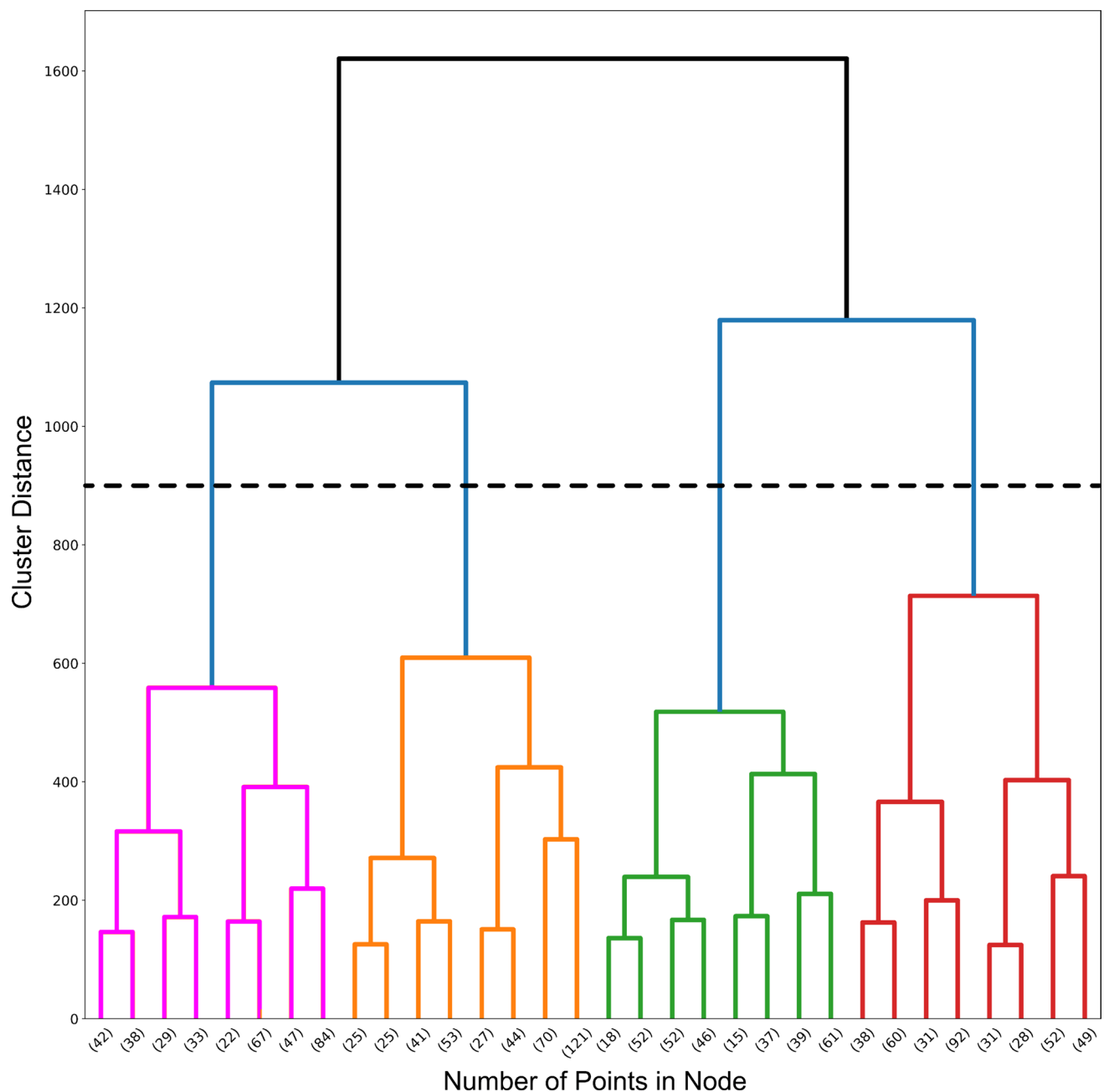
**Fig. 5** Distribution of Ruffini-like corpuscles (RLCs) in the human pericardium. Mapping and visualization of the proprioceptors were performed by digitally transferring all RLCs of the eight pericardia studied to a three-dimensional volume-rendering model used as a "standard- pericardium". This three-dimensional model was acquired by magnetic resonance imaging from a formalin-fixated heart, including the pericardium and diaphragm of a 91-year-old female body donor. Transfer of all receptors was implemented using 3D-Slicer software. Each receptor location was mapped according to anatomical landmarks and relative to size, considering the adjacent environ-

ment and cardiac topography. Symbols represent the three pericardial localizations of corpuscles (triangle=1st localization, circle=2nd localization, quadrate=3rd localization). A total number of 1476 RLCs was detected. Scale bars: 5 cm. **A** Distribution of RLCs as seen from the front of the pericardium. **B** Distribution of RLCs as seen from the posterior side of the pericardium. **C** Distribution of RLCs as seen from the left and lower sides of the pericardium. **D** Distribution of RLCs seen from above the pericardium

pericardium in all specimens studied in accordance with the literature [29, 30, 73]. Most RLCs were located between the lamina intermedia and lamina externa (class 2), and second most at the outer border of the pericardium within the lamina externa (class 3). We transferred the proprioceptors detected in the fibrous pericardial portions of all eight pericardia to macroscopic models (Fig. 5). Cluster analysis revealed the highest receptor density in the region of the ventricular bulges and at the outlet of the great vessels (Fig. 7). It can be inferred from these findings on pericardial proprioensing that displacements within the fibrous pericardial sublayers (class 1 and 2) and expansions at the outer pericardial border to the environment (class 3) are registered. These relative movements are affected by cardiac parameters, such as heart rate, contraction/relaxation, volume shifts

(end-systolic volume, end-diastolic volume), and ejection fraction. Besides, even higher level perceptions such as time awareness [3] could be deduced.

In the musculoskeletal system, Ruffini corpuscles primarily register stretching, i.e., displacements or movements of tissue layers relative to each other [9, 27]. However, nothing can be found on their function in the viscera. Because they have yet not been studied electrophysiologically in internal organs, their relevance remains unclear and can only be assumed by analogies [75]. To date, no mechanoreceptors have been studied directly and precisely in either animal or human pericardium. We detected most receptors between the lamina intermedia and lamina externa and within the lamina externa bordering the thoracic cavity. Consequently, local gliding is likely to



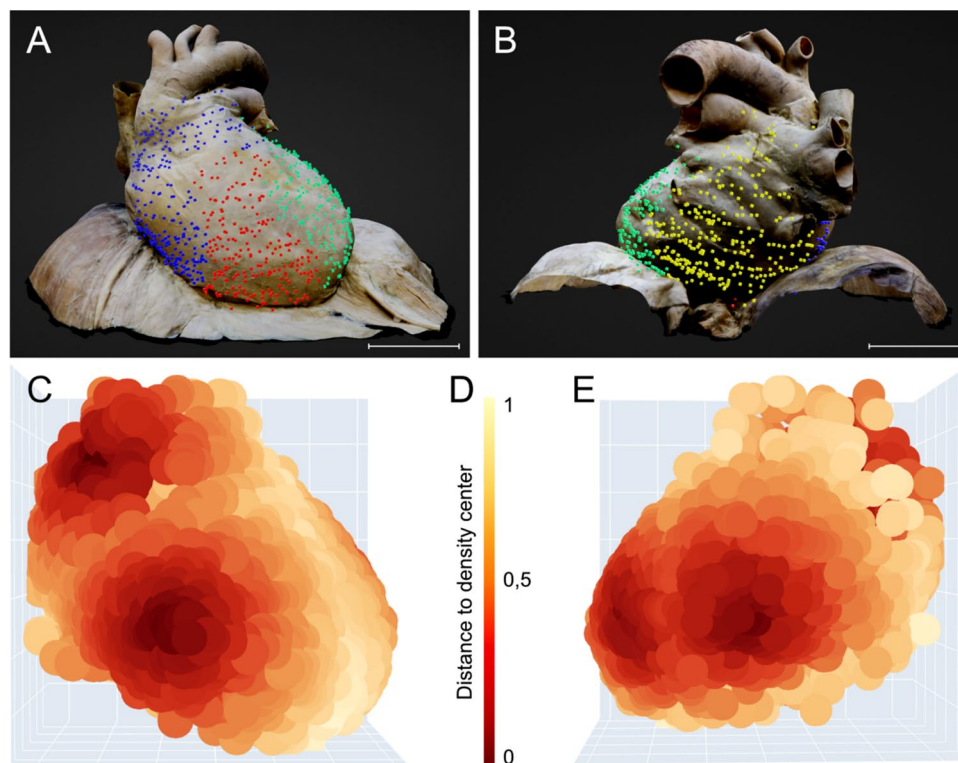
**Fig. 6** Dendrogram of hierarchical agglomerative clustering. A dendrogram partitioning the data in a logical distribution of Ruffini-like corpuscles using hierarchical agglomerative clustering with WARD linkage. We chose a cluster number of four based on the dendrogram,

as indicated by the black dashed line. The x-axis displays the number of points in a given node, while the y-axis shows the cluster distance

be particularly important at these sites, whereas the small number of receptors found between the lamina interna and lamina intermedia probably reflects a subordinate role in relative movements of the pericardial sublayers. Furthermore, this arrangement allows distinguishing displacements between the outer fibrous pericardial sublayers, i.e., of the pericardium itself and displacements of the pericardium against the adjacent tissues. We suggest that

Ruffini corpuscles primarily register displacements between pericardial sublayers and between the pericardium and its adjacent structures. Yet, interpretation of the importance of the localization classes is limited as detailed biomechanical studies on the significance of the three pericardial sublayers are lacking.

As documented in the literature [58], we confirmed the sympathetic efferent innervation (tyrosine hydroxylase) of



**Fig. 7** Cluster analysis of possible partitions and hotspots within the pericardial proprioceptors. Based on their relative coordinates, proprioceptors were divided into prospective partitions and areas of higher density using cluster analysis. The Python Scikit-learn package was utilized for this analysis, while the Plotly module was used for the 3D scatter plots. We used mean shift clustering in addition to the hierarchical method to find the local maxima of neighborhood density. Cluster analysis found four potential partitions and regions of increased density in the pericardial proprioceptors. The arrangement of pericardial receptor partitions correlates to the compartmentalization of the heart into four different chambers (blue: right atrium, red: right ventricle, green: left ventricle, yellow: left atrium). Hotspots of high and low receptor density within the pericardium were discovered by Mean shift function analysis of the created heatmap. Four hotspots of pericardial proprioceptors are exposed according to the four selected clusters. **A** “Standard pericardium” shown from a ventral perspective, displaying four partitions of pericardial proprioceptors determined through cluster analysis (blue=right atrium, red=right ventricle, green=left ventricle). The interventricular septum separates the two ventricles (red and green clusters), while the valvular

plane separates the atria from the corresponding ventricles (blue and red clusters and green and yellow clusters (not visible from this side). Scale bar: 5 cm. **B** “Standard pericardium” viewed from a dorsal perspective with four partitions of pericardial proprioceptors identified by cluster analysis ((blue=right atrium, green=left ventricle, yellow=left atrium). The valvular plane separates the left atria (yellow) from the corresponding left ventricles (green). Scale bar: 5 cm. **C**) Heat map of the distribution of pericardial proprioceptors from a ventral perspective. Two hotspots of high receptor density are evident: at the exit of the aorta and pulmonary trunk and the right ventricular bulge, where the cardiac radius is widest. A low receptor density is found along the interventricular septum and at the cardiac apex. **D** Legend of the heat map shown in **C** and **E**. The legend displays the distance to the density center. **E** Heat map of the distribution of pericardial proprioceptors from a dorsal perspective. Two more hotspots of high receptor density are distinct: at the left ventricular bulge, where the cardiac radius is widest, and in the area of the left atrium touching the esophagus

the RLCs, presumably allowing for regulatory control of the response thresholds to adrenergic stimuli. The significance of autonomic innervation of RLCs in the musculoskeletal system is poorly understood. Therefore, no direct analogies can be drawn regarding lowering or raising thresholds under increased sympathetic tone. Nevertheless, threshold rise has been documented for sympathetic activation, lowering pain perception [14]. Overall, it is believed that RLCs are at least involved in pain perception [64]. This is confirmed by the presence of Ruffini corpuscles alongside nociceptive fibers [34, 45], suggesting a potential indirect role in

modulating pain through proprioceptive feedback. However, in accordance with others, we could not demonstrate CGRP-positive fibers in RLCs [65], which are typically involved in pain perception [32].

Kostreva and Pontus [37] also reported mechanoreceptor conduction in the canine pericardium. However, unlike our findings in the human pericardium, these receptors are concentrated along the atria and atrioventricular grooves. We observed that receptors were concentrated in the area of the ventricular bulges and at the outlet of the great vessels. Evolutionarily, this discrepancy may be attributed to the

bipedal walk. Human's erect posture causes a significant amount of blood volume to enter the heart following the force of gravity and be ejected upward against the force of gravity. This results in different volume dynamics compared to pumping blood perpendicular to gravity. Furthermore, the human heart is more suspended on its great vessels due to upright gait, while in quadrupeds, it resides primarily on its superior or lateral ventricular walls. Besides, Lee and Boughner [41] demonstrated that there are discrepancies in the thickness and viscoelastic properties of the human and canine pericardium. Consequently, the animal model's validity for humans is restricted.

The knowledge regarding the mechanoreceptors in the pericardium of animals is notably limited. Morphological and electrophysiological studies have identified nerve fibers or plexuses in a few animals, which suggests a mechanoreceptive function of the pericardium [18, 37, 61]. Some studies have investigated the potential role of mechanosensors in the pericardium and the activities of proprioceptive neurons in the spinal cord and cortical regions in processing mechanoreceptive information [43]. However, as we only identified studies that were likely derived from RLC-equipped pericardia of dogs or guinea pigs, it has to be stated that there are not sufficient morphological studies to improve functional understanding by comparative anatomy or evolutionary analyses. Nevertheless, the impact of these control circuits on the afferent side on heart dysfunctions offers interesting possibilities for therapy.

Our cluster analysis revealed four potential partitions and four hotspots of high density among the pericardial proprioceptors (Fig. 7). The clustering of pericardial receptor partitions corresponds to the heart's compartmentalization into four distinct chambers (in Fig. 7A, B, blue = right atrium, red = right ventricle, green = left ventricle, yellow = left atrium). Cluster boundaries are located at the anatomical borders of the heart between the four chambers. The interventricular septum separates the two ventricles (red and green cluster), while the valvular plane isolates the atria from the corresponding ventricles (blue and red cluster and green and yellow cluster). Although we see four separate measurement zones, it can be assumed that shifts in the pericardium at one location lead to signaling at the others.

Four pericardial proprioceptor hotspots (Fig. 7C, E) are exposed using the ward function. A prominent cluster of RLCs is located at both ventricular bulges, where the radius perpendicular to the longitudinal axis of the heart is the widest, indicating the outermost extension of the ventricles. Additionally, receptors accumulate at the outlet of the great vessels, particularly around the ascending aorta, where the visceral sheet of the serous pericardium transitions to the parietal sheet. These regions undergo significant volume changes during the cardiac cycle. Pronounced volume-related stretching of the pericardial layers is, therefore,

sensed by a particularly large number of RLCs, emphasizing the most robust signals. For the hotspot surrounding the outlet of the great vessels, the fluctuation in diameter of the aorta and the pulmonary trunk (i.e., Windkessel function) must be considered. Volume fluctuations during swallowing may explain the additional receptor hotspot in the region of the left atrium bordering the esophagus. The low receptor density in the region of the interventricular septum may be attributed to its extraordinary role in the biomechanics of the cardiac cycle [68], whereas the missing receptors in the apex may be due to its limited exposure to volumetric changes, as it remains more stationary during the cardiac actions of the ventricles [28]. Accordingly, monitoring cardiac volume changes through pericardial proprioceptors does not appear relevant at these sites.

Sherrington [60] described proprioceptive “reflex arcs”, in which a motor response was observed as a feedback mechanism to a proprioceptive stimulus. Tuthill and Azim [69] reviewed the existence of supraspinal ascending proprioceptive pathways, in addition to the basic spinal reflex pathways that directly signal from proprioceptors to interneurons and motoneurons in the spinal cord. Ruffini corpuscles might serve as an external control mechanism capable of perceiving the stretching of the heart during cardiac cycle. However, proprioceptors in the human pericardium cannot provide the same level of control arc as extrinsic reflexes of skeletal muscles, as the heart lacks direct neuronal motor excitation. Nonetheless, proprioceptors likely modulate various cardiac parameters. It is generally accepted that the autonomic nervous system has an influence on cardiac output [11, 54]. RLCs detect shifts between pericardial sublayers and could be relevant for cardiac feedback by modulating the sympathetic or parasympathetic nervous system. Proprioceptive monitoring may, therefore, lead to changes in dromotropy, lusitropy, chronotropy, inotropy, and bathmotropy, either individually or in any combination. However, relative to each other, shifts of the pericardial sublayers depend on volume changes in time, location, and rate. As a result, Ruffini corpuscles would primarily provide information on heart rate (chronotropy) and stroke volume (inotropy and lusitropy).

Potentially disturbed pericardial feedback could play a critical role in the pathogenesis of several diseases. Changes in movement and distension of pericardial regions may cause significant alterations in sensory signaling. This could, for example, be attributed to an increase in the amount of pericardial fluid, such as in cases of pericardial serous effusion or hemorrhage. In such instances, the rapidly developing hemorrhage leads to greater receptor excitement resulting from the fast displacement of pericardial sublayers than it would occur during a slower increase in serous fluid production. On the other hand, an existing effusion, by utilizing the stretching reserve combined with a smaller

extension of the heart, leads to fewer displacements of the pericardial layers. This will likely result in less contrasted feedback, negatively impacting cardiac regulation. The subsequent inadequate proprioceptive feedback may contribute to palpitations.

Fibrotic remodeling of the pericardium following pericarditis or intervention-induced scar formation reduces elasticity, causing the pericardial sublayers to adhere to one another. This adhesion limits or entirely prevents the expansion and relative sliding of the pericardial sublayers. Consequently, the afferent limb of the pericardial loop becomes inadequate.

Disrupting the pericardium's integrity, such as in pericardial opening during surgical procedures or pericardiectomy, may lead to decreased sensitivity. Particularly pericardiectomy, implemented as a treatment for pericarditis, is associated with high perioperative and long-term mortality rates [4, 20, 46]. This may indicate that the pericardium performs mechanical functions and is also involved in feedback to monitor cardiac function. A resection of the pericardium or cases where the pericardium is left open could lead to a partial or complete loss of the afferent proprioceptive pericardial limb. This might be associated with life-threatening symptoms.

It is relevant to note that in the context of pericardial diseases in the scientific literature, the pathophysiology is mainly reduced to mechanical consequences, and others, e.g. sensory functions, are not taken into account. This may be due to the lack of information about sensory feedback from the pericardium. However, it is crucial to consider impaired regulation as another relevant factor in the pathophysiology of constrictive pericarditis, cardiac tamponade, and pericardial integrity disturbances. This perspective also suggests potential avenues for therapeutic interventions [2].

The use of pericardial tissue exclusively from body donors, with an average age of 82 years, led to limitations of this study. Potentially, the number and distribution of RLCs may differ in younger age cohorts and change with aging. It has been observed in both human and animal musculoskeletal systems that the number of proprioceptors tends to decline with age [5, 42, 44]. However, Ruffini corpuscles have a unique capacity for regeneration [77]. Therefore, objective evaluations of the receptor number in younger populations and their possible dynamics cannot be conducted. Furthermore, only RLCs can be accurately identified when their fusiform shape is cut longitudinally parallel to the orientation of the collagen. It is plausible that there may exist corpuscles running vertically between the pericardial sublayers, but their identification remains uncertain. Since the extent of this component is unclear, we have refrained from extrapolating the total amount of RLCs to the entire pericardial surface. Despite the limited number of pericardia, we observed clear foci in the receptor

distribution that were consistent throughout all specimens. Because of the limited comparable literature, there is no further support for explaining this striking spatial distribution. These observations thus serve as a foundation for following functional studies and provide a suitable basis for digital experiments.

Our study demonstrated the existence of RLCs within the fibrous pericardium. Confirmation with other methods, such as electrophysiological studies or evidence of feedback mechanisms, would be required for further evidence. However, the high number of receptors suggests significant implications. Therefore, we suggest that pericardium serves an undiscovered function as a sensor with the RLCs as its anatomical correlate.

## Essentials

(1) RLCs are present in large numbers in the human pericardium, (2) Based on the tripartite histological organization of the human pericardium, they can be classified into three localization groups, (3) The receptor distribution follows a distinct pattern with highest density in the region of the largest ventricular diameter and at the transition to the large vessels, and (4) No sex-specific differences in the number or distribution of receptors can be detected.

Inferential, the human pericardium is subject to neural proprioceptive control.

**Acknowledgements** The authors thank all body donors for their willingness to give their own bodies after death for the purposes of science and teaching. We thank the Core Facility for Magnetic Resonance Imaging of the Medical Faculty of the Heinrich Heine University Düsseldorf for performing the MRI measurements. The authors express their gratitude to all the personnel of the prosecture and laboratory for their technical assistance throughout the project.

**Author contributions** Conceptualization: LMP, TJF; methodology: LMP, TJF, EB, PB; formal analysis and investigation: LMP, TJF; writing—original draft preparation: LMP; writing—review and editing: TJF, SC, CH, MW-V, EB; financial support: SC; supervision: TJF.

**Funding** Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. Institutional funding.

**Data availability** We can provide datasets for 3D data (3D-Slicer), statistics (SPSS), and visualization of cluster analysis (HTML).

## Declarations

**Conflict of interest** The authors declare that they have no conflict of interest.

**Ethical approval** The study was approved by the Ethics Committee of the medical faculty of the University of Düsseldorf with the number 2021–1565, adhering to the following criteria: Declaration of Helsinki

and written consent for the use of body materials for study and research purposes.

**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

## References

- <https://plotly.com/chart-studio/help/citations/#step-1-citing-plotly>; Citing Plotly and Chart Studio Graphs in Papers, 01.04.2024
- Advokat C, Duke M (1999) Comparison of morphine-induced effects on thermal nociception, mechanoreception, and hind limb flexion in chronic spinal rats. *Exp Clin Psychopharmacol* 7:219–225. <https://doi.org/10.1037/1064-1297.7.3.219>
- Arslanova I, Kotsaris V, Tsakiris M (2023) Perceived time expands and contracts within each heartbeat. *Curr Biol* 33:1389–1395.e1384. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.02.034>
- Avgerinos D, Rabitnikov Y, Worku B, Neragi-Miandoab S, Girardi LN (2014) Fifteen-year experience and outcomes of pericardiectomy for constrictive pericarditis. *J Card Surg* 29:434–438. <https://doi.org/10.1111/jocs.12344>
- Aydoğ ST, Korkusuz P, Doral MN, Tetik O, Demirel HA (2006) Decrease in the numbers of mechanoreceptors in rabbit ACL: the effects of ageing. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 14:325–329. <https://doi.org/10.1007/s00167-005-0673-2>
- Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, Dombrowski Y, McArt DG, Dunne PD, McQuaid S, Gray RT, Murray LJ, Coleman HG, James JA, Salto-Tellez M, Hamilton PW (2017) QuPath: open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep* 7:16878. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17204-5>
- Blumer R, Carrero-Rojas G, Calvo PM, Streicher J, de la Cruz RR, Pastor AM (2024) Proprioceptors in extraocular muscles. *Exp Physiol* 109:17–26. <https://doi.org/10.1113/ep090765>
- Ceelen DW (1912) Über das Vorkommen von Vater-Pacini'schen Körperchen am menschlichen Pankreas und über eine krankhafte Veränderung derselben. *Virchows Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin* 208:460–472
- Chambers MR, Andres KH, von Duering M, Iggo A (1972) The structure and function of the slowly adapting type II mechanoreceptor in hairy skin. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci* 57:417–445. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1972.sp002177>
- Comaniciu D, Meer P (2002) Mean shift: a robust approach toward feature space analysis. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell* 24:603–619. <https://doi.org/10.1109/34.1000236>
- Coote JH, Spyer KM (2018) Central control of autonomic function. *Brain Neurosci Adv* 2:2398212818812012. <https://doi.org/10.1177/2398212818812012>
- de Carlos F, Cobo J, Macías E, Feito J, Cobo T, Calavia MG, García-Suárez O, Vega JA (2013) The sensory innervation of the human pharynx: searching for mechanoreceptors. *Anat Rec (Hoboken)* 296:1735–1746. <https://doi.org/10.1002/ar.22792>
- Desmedt O, Luminet O, Maurage P, Corneille O (2023) Discrepancies in the definition and measurement of human interoception: a comprehensive discussion and suggested ways forward. *Perspect Psychol Sci*. <https://doi.org/10.1177/17456916231191537>
- Devoize L, Dualé C, Dubray C, Dalle R (2017) Impact of sympathetic activation on pain threshold in human subjects. *Physiol Behav* 177:1–3. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.04.003>
- Di Pasquale G, Ruffini M, Piolanti S, Gambari PI, Roversi R, Pinelli G (1992) Congenital absence of pericardium as unusual cause of T wave abnormalities in a young athlete. *Clin Cardiol* 15:859–861. <https://doi.org/10.1002/clc.4960151112>
- Elbadawi A, Baig B, Alotaki E, Khalid H, Khan M (2019) Congenital absence of the pericardium: a rare and challenging diagnosis. *Jaapa* 32:37–39. <https://doi.org/10.1097/01.JAA.0000554223.33382.c0>
- Elias H, Boyd LJ (1960) Notes on the anatomy, embryology, and histology of the pericardium. II. *N Y Med Coll News Notes* 2:50–75
- Ellison JP (1971) Cholinesterase-positive and catecholamine-containing nerves in the guinea-pig pericardium. *Am J Anat* 131:121–131. <https://doi.org/10.1002/aja.1001310108>
- Fabian P (2011) Scikit-learn: machine learning in Python. *J Mach Learn Res* 12:2825
- Faiza Z, Prakash A, Namburi N, Johnson B, Timsina L, Lee LS (2021) Fifteen-year experience with pericardiectomy at a tertiary referral center. *J Cardiothorac Surg* 16:180. <https://doi.org/10.1186/s13019-021-01561-4>
- Fedorov A, Beichel R, Kalpathy-Cramer J, Finet J, Fillion-Robin JC, Pujol S, Bauer C, Jennings D, Fennessy F, Sonka M, Buatti J, Aylward S, Miller JV, Pieper S, Kikinis R (2012) 3D Slicer as an image computing platform for the Quantitative Imaging Network. *Magn Reson Imaging* 30:1323–1341. <https://doi.org/10.1016/j.mri.2012.05.001>
- García-Suárez O, Calavia MG, Pérez-Moltó FJ, Alvarez-Abad C, Pérez-Piñera P, Cobo JM, Vega JA (2010) Immunohistochemical profile of human pancreatic pacinian corpuscles. *Pancreas* 39:403–410. <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e3181bc0372>
- Gehlmann HR, van Ingen GJ (1989) Symptomatic congenital complete absence of the left pericardium. Case report and review of the literature. *Eur Heart J* 10:670–675. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.eurheartj.a059545>
- Glantz SA, Misbach GA, Moores WY, Mathey DG, Lekven J, Stowe DF, Parmley WW, Tyberg JV (1978) The pericardium substantially affects the left ventricular diastolic pressure-volume relationship in the dog. *Circ Res* 42:433–441. <https://doi.org/10.1161/01.res.42.3.433>
- Goldfarb B, Gold D, Latts E, Wexler H, Wang Y (1966) Recurrent “pericardial pain” after pericardiectomy for recurrent acute benign pericarditis. *Circulation* 33:283–286. <https://doi.org/10.1161/01.cir.33.2.283>
- Gupta P, Singh A, Gupta RK (2021) Pacinian corpuscles in pancreas: possible clinical implications. *Pancreas* 50:e56–e57. <https://doi.org/10.1097/mpa.0000000000001847>
- Halata Z (1988) Ruffini corpuscle—a stretch receptor in the connective tissue of the skin and locomotion apparatus. *Prog Brain Res* 74:221–229. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)63017-4](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)63017-4)
- Hamilton W, Rompf J (1932) Movements of the base of the ventricle and the relative constancy of the cardiac volume. *Am J Physiol-Legacy Content* 102:559–565
- Hoit BD (2017) Anatomy and physiology of the pericardium. *Cardiol Clin* 35:481–490. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2017.07.002>
- Holt JP (1970) The normal pericardium. *Am J Cardiol* 26:455–465. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(70\)90702-2](https://doi.org/10.1016/0002-9149(70)90702-2)
- Hort W, Bräun H (1962) Untersuchungen über Größe, Wandstärke und mikroskopischen Aufbau des Herzbeutels unter

- normalen und pathologischen Bedingungen. *Arch Kreislaufforsch* 38:1–22
32. Iyengar S, Ossipov MH, Johnson KW (2017) The role of calcitonin gene-related peptide in peripheral and central pain mechanisms including migraine. *Pain* 158:543–559. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000831>
  33. Jaworska-Wilczynska M, Trzaskoma P, Szczepankiewicz AA, Hryniewicz T (2016) Pericardium: structure and function in health and disease. *Folia Histochem Cytobiol* 54:121–125. <https://doi.org/10.5603/FHC.a2016.0014>
  34. Jozsa L, Balint J, Kannus P, Järvinen M, Lehto M (1993) Mechanoreceptors in human myotendinous junction. *Muscle Nerve* 16:453–457. <https://doi.org/10.1002/mus.880160503>
  35. Kapa S, Venkatachalam KL, Asirvatham SJ (2010) The autonomic nervous system in cardiac electrophysiology: an elegant interaction and emerging concepts. *Cardiol Rev* 18:275–284. <https://doi.org/10.1097/CRD.0b013e3181ebb152>
  36. Khandaker MH, Espinosa RE, Nishimura RA, Sinak LJ, Hayes SN, Melduni RM, Oh JK (2010) Pericardial disease: diagnosis and management. *Mayo Clin Proc* 85:572–593. <https://doi.org/10.4065/mcp.2010.0046>
  37. Kostreva DR, Pontus SP (1993) Pericardial mechanoreceptors with phrenic afferents. *Am J Physiol* 264:H1836–1846. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1993.264.6.H1836>
  38. Kuder T, Nowak E (2015) Autonomic cardiac nerves: literature review. *Folia Morphol (Warsz)* 74:1–8. <https://doi.org/10.5603/fm.2015.0003>
  39. Landau BR, Akert K, Roberts T (1962) Studies on the innervation of the diaphragm. *Journal of Comparative Neurology* 119:1–10
  40. Langford LA, Schmidt RF (1983) An electron microscopic analysis of the left phrenic nerve in the rat. *Anat Rec* 205:207–213. <https://doi.org/10.1002/ar.1092050211>
  41. Lee JM, Boughner DR (1985) Mechanical properties of human pericardium. Differences in viscoelastic response when compared with canine pericardium. *Circ Res* 57:475–481. <https://doi.org/10.1161/01.res.57.3.475>
  42. Li B, Luo XD, Wen Y (2019) Changes in mechanoreceptors in rabbits' anterior cruciate ligaments with age. *J Mol Histol* 50:229–237. <https://doi.org/10.1007/s10735-019-09820-4>
  43. Maier S, Goebel U, Krause S, Benk C, Schick MA, Buerkle H, Beyersdorf F, Kari FA, Wollborn J (2018) Somatosensory and transcranial motor evoked potential monitoring in a porcine model for experimental procedures. *PLoS ONE* 13:e0205410. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205410>
  44. Morisawa Y (1998) Morphological study of mechanoreceptors on the coracoacromial ligament. *J Orthop Sci* 3:102–110. <https://doi.org/10.1007/s007760050029>
  45. Munger BL (1982) Multiple afferent innervation of primate facial hairs—Henry Head and Max von Frey revisited. *Brain Res* 257:1–43. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(82\)90002-9](https://doi.org/10.1016/0165-0173(82)90002-9)
  46. Murashita T, Schaff HV, Daly RC, Oh JK, Dearani JA, Stulak JM, King KS, Greason KL (2017) Experience with pericardiectomy for constrictive pericarditis over eight decades. *Ann Thorac Surg* 104:742–750. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2017.05.063>
  47. Nair J, Streeter KA, Turner SMF, Sunshine MD, Bolser DC, Fox EJ, Davenport PW, Fuller DD (2017) Anatomy and physiology of phrenic afferent neurons. *J Neurophysiol* 118:2975–2990. <https://doi.org/10.1152/jn.00484.2017>
  48. Nasser W, Feigenbaum H, Helmen C (1966) Congenital absence of the left pericardium. *Circulation* 34:100–104. <https://doi.org/10.1161/01.cir.34.1.100>
  49. Nasser WK, Helmen C, Tavel ME, Feigenbaum H, Fisch C (1970) Congenital absence of the left pericardium. Clinical, electrocardiographic, radiographic, hemodynamic, and angiographic findings in six cases. *Circulation* 41:469–478. <https://doi.org/10.1161/01.cir.41.3.469>
  50. Nielsen F (2016) Introduction to HPC with MPI for Data Science. Springer, New York
  51. Olausson H, Wessberg J, Kakuda N (2000) Tactile directional sensibility: peripheral neural mechanisms in man. *Brain Res* 866:178–187. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)02278-2](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)02278-2)
  52. Oliveira CC, Vieira C, Bettencourt N, Pereira VH (2021) Pericardial agenesis: a rare cause of chest pain. *Eur Heart J* 42:282. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa666>
  53. Page DM, George JA, Wendelken SM, Davis TS, Kluger DT, Hutchinson DT, Clark GA (2021) Discriminability of multiple cutaneous and proprioceptive hand percepts evoked by intraneural stimulation with Utah slanted electrode arrays in human amputees. *J Neuroeng Rehabil* 18:12. <https://doi.org/10.1186/s12984-021-00808-4>
  54. Paton J, Spyer K (2013) Central nervous control of the cardiovascular system. Autonomic failure: a textbook of clinical disorders of the autonomic nervous system. Oxford University Press, Oxford, pp 35–51
  55. Raman SV, Daniels CJ, Katz SE, Ryan JM, King MA (2001) Congenital absence of the pericardium. *Circulation* 104:1447–1448. <https://doi.org/10.1161/hc3701.095486>
  56. Ratib O, Perloff JK, Williams WG (2001) Congenital complete absence of the pericardium. *Circulation* 103:3154–3155. <https://doi.org/10.1161/hc2501.092237>
  57. Rayamajhi S, Shrestha R, Shahi K, Adhikari B, Mahaseth A (2022) Congenital pericardial agenesis presenting as non-specific chest pain: a case report. *Radiol Case Rep* 17:4462–4465. <https://doi.org/10.1016/j.rader.2022.08.075>
  58. Reznik M (1996) Structure and functions of the cutaneous nervous system. *Pathol Biol (Paris)* 44:831–837
  59. Scheuermann-Freestone M, Orchard E, Francis J, Petersen M, Friedrich M, Rashid A, Shore D, Myerson S, Neubauer S (2007) Images in cardiovascular medicine. Partial congenital absence of the pericardium. *Circulation* 116:e126–129. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.107.701599>
  60. Sherrington CS (1907) On the proprioceptive system, especially in its reflex aspect. *Brain* 29:467–482
  61. Sleight P, Widdicombe JG (1965) Action potentials in afferent fibres from pericardial mechanoreceptors in the dog. *J Physiol* 181:259–269. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1965.sp007759>
  62. Spiriev T, Mitev A, Stoykov V, Dimitrov N, Maslarski I, Nakov V (2022) Three-dimensional immersive photorealistic layered dissection of superficial and deep back muscles: anatomical study. *Cureus* 14:e26727. <https://doi.org/10.7759/cureus.26727>
  63. Standop J, Ulrich A, Schneider MB, Andrén-Sandberg A, Pour PM (2001) Pacinian corpuscle in the human pancreas. *Pancreas* 23:36–39. <https://doi.org/10.1097/00006676-200107000-00005>
  64. Suarez-Rodriguez V, Fede C, Pirri C, Petrelli L, Loro-Ferrer JF, Rodríguez-Ruiz D, De Caro R, Stecco C (2022) Fascial innervation: a systematic review of the literature. *Int J Mol Sci*. <https://doi.org/10.3390/ijms23105674>
  65. Tarumoto R, Murakami M, Imai S, Maeda T, Hukuda S (1998) A morphometric analysis of protein gene product 9.5-, substance P-, and calcitonin gene-related peptide immunoreactive innervation in the shoulder joint of the Japanese macaque. *J Shoulder Elbow Surg* 7:522–528. [https://doi.org/10.1016/s1058-2746\(98\)90206-3](https://doi.org/10.1016/s1058-2746(98)90206-3)
  66. Taylor EW, Leite CA, Sartori MR, Wang T, Abe AS, Crossley DA 2nd (2014) The phylogeny and ontogeny of autonomic control of the heart and cardiorespiratory interactions in vertebrates. *J Exp Biol* 217:690–703. <https://doi.org/10.1242/jeb.086199>
  67. Topilsky Y, Tabatabaei N, Freeman WK, Saleh HK, Villarraga HR, Mulvagh SL (2010) Images in cardiovascular medicine.

- Pendulum heart in congenital absence of the pericardium. *Circulation* 121:1272–1274. <https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e3181d73b9b>
68. Triposkiadis F, Xanthopoulos A, Boudoulas KD, Giamouzis G, Boudoulas H, Skoularigis J (2022) The interventricular septum: structure, function, dysfunction, and diseases. *J Clin Med*. <https://doi.org/10.3390/jcm11113227>
  69. Tuthill JC, Azim E (2018) Proprioception. *Curr Biol* 28:R194–r203. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.01.064>
  70. Van Stee EW (1978) Autonomic innervation of the heart. *Environ Health Perspect* 26:151–158. <https://doi.org/10.1289/ehp.7826151>
  71. Varga I, Nosál M, Babál P (2020) Ectopic lamellar Pacinian corpuscle within the thymus. Atypical or abnormal location? *Rom J Morphol Embryol* 61:273–276. <https://doi.org/10.47162/rjme.61.1.33>
  72. Vogiatzidis K, Zarogiannis SG, Aidonidis I, Solenov EI, Molyvdas PA, Gourgoulisanis KI, Hatzoglou C (2015) Physiology of pericardial fluid production and drainage. *Front Physiol* 6:62. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00062>
  73. Wallraff J (1937) Der menschliche Herzbeutel, sein Bau und seine Bedeutung für den Kreislauf. *Morph Jb* 80:355
  74. Ward JH Jr (1963) Hierarchical grouping to optimize an objective function. *J Am Stat Assoc* 58:236–244
  75. Watkins RH, de Carvalho D, Amante M, Backlund Wasling H, Wessberg J, Ackerley R (2022) Slowly-adapting type II afferents contribute to conscious touch sensation in humans: evidence from single unit intraneural microstimulation. *J Physiol* 600:2939–2952. <https://doi.org/10.1113/jp282873>
  76. Weissbein AS, Heller FN (1961) A method of treatment for pericardial pain. *Circulation* 24:607–612. <https://doi.org/10.1161/01.cir.24.3.607>
  77. Yang L, Chen J, Yang C, Pang X, Li D, Wu B, Wu Y, Lu X, Xu J, Chen X, Peng B (2018) Cervical intervertebral disc degeneration contributes to dizziness: a clinical and immunohistochemical study. *World Neurosurg* 119:e686–e693. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2018.07.243>

# Danksagung

Zum Abschluss möchte ich mich von ganzem Herzen bei all den Menschen bedanken, die mich in den letzten Jahren begleitet und unterstützt haben.

Mein erster Dank geht an meinen Doktorvater Prof. Filler, der mich während der gesamten Promotionszeit begleitet und mir nicht nur fachliche Hilfestellungen, sondern auch persönliche und emotionale Ratschläge gegeben hat. Vielen Dank für deine herzliche und zuvorkommende Art und für die gemeinsame Zeit am Präpariertisch, am Zuschnitt, im Labor, im Büro und an vielen weiteren Orten, an denen ich mir umfangreiche fachliche und technische Fähigkeiten anschauen und aneignen durfte. Durch dich habe ich eine Menge Fachkompetenzen erworben und mich auch persönlich stark weiterentwickelt. Ich hoffe ich darf auch zukünftig mit medizinischen Fragen aller Art zu dir kommen.

Mein nächster Dank geht an PD Dr. Christina Herold, dass du dich bereit erklärt hast, meine Zweitbetreuung zu übernehmen. Ich konnte mit jeder Frage und jedem Problem zu dir kommen – egal, ob du dafür zuständig warst oder nicht –, und du hast mir jederzeit nach besten Möglichkeiten und mit allen verfügbaren Mitteln geholfen. Besten Dank auch für den persönlichen Beistand und die Ratschläge zum Thema Publizieren. Du hast mir in vieler Hinsicht die Augen geöffnet und mich für meinen weiteren Weg in der Wissenschaft gestärkt und gerüstet.

Ich danke Prof. Caspers für das Vertrauen und dafür, dass ich mehr als vier Jahre Teil ihres wundervollen Instituts sein durfte. Vielen Dank auch für alle Materialien und die Möglichkeit, mich mit meinen eigenen Forschungsthemen verwirklichen zu können.

Auch danke ich Prof. Lunkenheimer für den enormen fachlichen Input, die hervorragenden Forschungsideen und die gemeinsam erarbeiteten wissenschaftlichen Fragestellungen. Auch wenn wir uns nicht immer einig waren und manchmal auch Tränen geflossen sind, sind wir der Erforschung des intrinsischen Antagonismus und des Takotsubo-Syndroms gemeinsam doch einen Schritt nähergekommen. Herzlichen Dank auch an deine Frau für den Fahrdienst und den leckeren Olivenölkuchen.

Ein ganz besonderer Dank gilt den Körperspender\*innen und ihren Angehörigen. Den eigenen Körper – das Intimste, das man besitzt – der Wissenschaft zu spenden, ist eine der selbstlosesten und gütigsten Taten, die ich mir vorstellen kann. Ich bedanke mich ganz respektvoll dafür, dass ich durch die Körperspender\*innen die Möglichkeit hatte, das wundervolle Fach der Anatomie zu erlernen und zu verstehen und das Gelernte mit vollem

Ehrgeiz und Leidenschaft an die Studierenden weiterzugeben. Auch meine Forschung wäre ohne die Materialien der Körperspender\*innen in keiner Weise möglich gewesen. Danke auch an Dustin Hulin für deine Hilfe zu jeglichen Anliegen bezüglich des Körperspende-Wesens.

Als Nächstes möchte ich mich ganz herzlich beim gesamten Team des Labors und der Prosektur bedanken. Ohne eure tägliche tatkräftige Unterstützung wäre meine Arbeit nicht möglich gewesen. Ein besonderer Dank geht dabei an Robert Kubitza und Andrea Paas für die hervorragenden histologischen Färbungen und die gemeinsame Zeit mit angenehmen Gesprächen während der Laborarbeit. Auch Kay Körner möchte ich meinen größten Dank für die Probenentnahmen, die fachlichen Ratschläge und die Präparation des „Standard-Perikards“ aussprechen.

Ich danke der gesamten Arbeitsgruppe der Anatomie I. Ihr wart in den letzten Jahren nicht nur wundervolle Arbeitskollegen, die mir tagtäglich zur Seite standen, sondern ihr seid auch zu richtigen Freunden geworden, auf die ich mich jederzeit verlassen konnte. Ein besonderes Dankeschön geht an Michael Wolf-Vollenbröker aka Wolfi und Katharina Peitz für unsere Bürogemeinschaft. Wir hatten unglaublich viel Spaß zusammen und konnten uns nicht nur fachlich, sondern auch emotional wahnsinnig gut unterstützen. Zudem danke ich Lars Freudenmacher und Luisa Heisters, die mir in der schwierigen Anfangszeit geholfen haben, mich zurechtzufinden.

Ich danke Eric Bechler, Janna Steinebach und dem gesamten Team der Medizinischen Physik sowie der MRT Core Facility für die Zusammenarbeit, die gemeinsamen Messungen, die wundervollen Gespräche während der Wartezeiten und die fachliche Unterstützung. Ich werde unsere Tako-Tuesdays vermissen.

Danke auch an Max Anstötz und Wolfi für das Korrekturlesen dieser Arbeit und an Mila für die tierischen Kuscheleinheiten.

Und zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden bedanken. Danke Mama und Papa, für eure ganze Unterstützung, die aufbauenden Worte, die Notfall-Telefonate, wenn man denkt, es geht nicht mehr, und dafür, dass ihr immer hinter mir steht. Ohne eure Zusprüche und die meiner Freunde hätte ich das ständige Auf und Ab während der Promotionszeit nicht geschafft. Danke, dass ich mich immer auf euch verlassen konnte und auch zukünftig immer kann. Ihr seid die Besten!