

**Aus dem
Institut für Veterinär-Anatomie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Mikromorphologische und -morphometrische Untersuchungen zum
Gefäßsystem des Göttingen[®] Minipig als Beitrag zum Refinement
biomedizinischer Studien im Sinne des 3R-Konzeptes nach
Russel und Burch**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Lilly Proft
Tierärztin aus Berlin**

**Berlin 2016
Journal-Nr.: 3925**

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. J. Plendl
Zweiter Gutachter: PD Dr. B. Hiebl
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. K.-H. Lahrmann

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

miniature pigs, histology, morphometrics, arteries, veins, electron microscopy

Tag der Promotion: 31.10.2016

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-768-2

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2016

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2016

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Inhalt

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG UND ZIEL	1
2 LITERATURTEIL	2
2.1 3R-KONZEPT NACH RUSSEL & BURCH	2
2.2 DAS GÖTTINGEN [®] MINIPIG ALS TIERMODELL IN KARDIOVASKULÄREN STUDIEN	2
2.3 DIE DEUTSCHE LANDRASSE ALS TIERMODELL IN KARDIOVASKULÄREN STUDIEN	5
2.4 BESONDERHEITEN IN DER ANATOMIE DES BLUTGEFÄßSYSTEMS BEIM GÖTTINGEN [®] MINIPIG	7
2.5 HISTOLOGIE DER ARTERIEN.....	8
2.5.1 <i>Struktur und Aufbau</i>	8
2.5.2 <i>Innendurchmesser</i>	10
2.6 HISTOLOGIE DER VENEN	12
2.6.1 <i>Struktur und Aufbau</i>	12
2.6.2 <i>Innendurchmesser</i>	13
2.7 VERÄNDERUNGEN DER BLUTGEFÄßE NACH EXPERIMENTELLEN EINGRIFFEN.....	13
2.8 ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN DER BLUTGEFÄßE AN SCHWEINEN UND ANDEREN SPEZIES.....	15
3 UNTERSUCHTE TIERE, MATERIAL UND METHODEN	17
3.1 TIERE	17
3.2 ENTNAHME DER BLUTGEFÄßE	18
3.3 FIXIERUNG	22
3.3.1 <i>Lichtmikroskopie</i>	22
3.3.2 <i>Elektronenmikroskopie</i>	22
3.4 EINBETTUNG DER PROBEN	22
3.4.1 <i>Lichtmikroskopie</i>	22
3.4.2 <i>Elektronenmikroskopie</i>	23
3.5 ANFERTIGUNG VON SCHNITTPRÄPARATEN	24
3.5.1 <i>Lichtmikroskopie</i>	24
3.5.2 <i>Elektronenmikroskopie</i>	24
3.6 FÄRBUNGEN FÜR DIE LICHTMIKROSKOPIE	24
3.6.1 <i>Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung)</i>	24
3.6.2 <i>Resorcin-Fuchsin-Thiazinrot-Pikrinsäure-Färbung (RFTP-Färbung)</i>	25
3.6.3 <i>Gallocyanin-Chromotrop 2R-Anilinblau-Färbung (GRA-Färbung)</i>	26
3.7 IMMUNHISTOCHEMIE/NACHWEIS VON ALPHA-SMOOTH MUSCLE ACTIN (A-SMA).....	27

3.8	VERWENDETE SUBSTANZEN	27
3.9	MORPHOMETRIE	29
3.10	STATISTIK	32
4	ERGEBNISSE	33
4.1	LICHTMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN	33
4.1.1	<i>Qualitative Beschreibung</i>	34
4.2	QUANTITATIVE UNTERSUCHUNGEN DER BLUTGEFÄßWAND	46
4.2.1	<i>Gefäßinnendurchmesser</i>	46
4.2.2	<i>Dicke der Tunica intima</i>	50
4.2.3	<i>Dicke der Tunica media</i>	52
4.2.4	<i>Dicke der Tunica externa</i>	54
4.2.5	<i>Extrazelluläre Matrix und glatte Muskelzellen</i>	56
4.3	ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN	61
4.3.1	<i>A. carotis communis</i>	61
4.3.2	<i>Vena jugularis externa</i>	68
5	DISKUSSION	70
5.1	EINFLUSS DER KÖRPERMASSE, DES ALTERS UND DER LOKALISATION AUF DIE ENTWICKLUNG DER STRUKTUR DER BLUTGEFÄßE – EIN VERGLEICH ZWISCHEN GÖTTINGEN® MINIPIG UND SCHWEINEN DER DEUTSCHEN LANDRASSE	71
5.1.1	<i>Körpermasse</i>	71
5.1.2	<i>Innendurchmesser</i>	72
5.1.3	<i>Einteilung der Arterien und Venen</i>	76
5.1.4	<i>Dicken der Wandschichten</i>	79
5.2	VERGLEICH MIT DEM MENSCHEN UND ANDEREN SPEZIES	80
5.2.1	<i>Arterien</i>	81
5.2.2	<i>Große Venen (über 5 mm Innendurchmesser)</i>	85
5.2.3	<i>Große Venen (unter 5 mm Innendurchmesser)</i>	88
5.3	ELEKTRONENMIKROSKOPIE	90
5.3.1	<i>A. carotis communis</i>	90
5.3.2	<i>V. jugularis externa</i>	93
5.4	EMPFEHLUNGEN ZUM REFINEMENT	94
5.4.1	<i>Gefäßinnendurchmesser und Gefäßwandschichten der Arterien</i>	94
5.4.2	<i>Extrazelluläre Matrix in der Tunica media der Arterien</i>	95
5.4.3	<i>Besonderheiten der Venen</i>	95
5.4.4	<i>Besonderheiten elektronenmikroskopischer Strukturen der A. carotis communis und V. jugularis externa</i>	96

6 ZUSAMMENFASSUNG	97
7 SUMMARY	99
8 LITERATURVERZEICHNIS	101
9 ANHANG.....	111
9.1 BLUTGEFÄßINNENDURCHMESSER DER ARTERIEN UND VENEN DER PRÄADULTEN (17-18 MONATE) UND ADULTEN (40 ± 2 MONATE) GÖTTINGEN [®] MINIPIGS	111
9.2 BLUTGEFÄßINNENDURCHMESSER IN MM DER ARTERIEN UND VENEN DER PRÄADULTEN DL-SCHWEINE (ZWEI UND DREI MONATE)	112
9.3 DICKE DER TUNICA INTIMA DER ARTERIEN UND VENEN DER PRÄADULTEN (17-18 MONATE) UND ADULTEN (40 ± 2 MONATE) GÖTTINGEN [®] MINIPIGS	113
9.4 DICKE DER TUNICA INTIMA IN µM DER ARTERIEN UND VENEN DER PRÄADULTEN DL-SCHWEINE (ZWEI UND DREI MONATE)	114
9.5 DICKE DER TUNICA MEDIA DER ARTERIEN UND VENEN DER PRÄADULTEN (17-18 MONATE) UND ADULTEN (40 ± 2 MONATE) GÖTTINGEN [®] MINIPIGS	115
9.6 DICKE DER TUNICA MEDIA IN µM DER ARTERIEN UND VENEN DER PRÄADULTEN DL-SCHWEINE (ZWEI UND DREI MONATE)	116
9.7 DICKE DER TUNICA EXTERNA DER ARTERIEN DER PRÄADULTEN (17-18 MONATE) UND ADULTEN (40 ± 2 MONATE) GÖTTINGEN [®] MINIPIGS	117
9.8 DICKE DER TUNICA EXTERNA IN µM DER ARTERIEN DER PRÄADULTEN DL-SCHWEINE (ZWEI UND DREI MONATE)	118
9.9 DURCHSCHNITTLICHER GEHALT AN EXTRAZELLULÄREER MATRIX UND GLATTEN MUSKELZELLEN	118
9.10 DATEN DER UNTERSUCHTEN TIERE	120
10 PUBLIKATIONSVERZEICHNIS.....	121
11 DANKSAGUNG	122
12 SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG.....	123

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Aa.	Arteriae
Abb.	Abbildung
α -SMA	alpha-Smooth Muscle Actin
ANOVA	Analysis of Variance
Aqua dest.	Aqua destillata
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
BSA	bovine serum albumine
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	circa
caud.	caudalis
com.	communis
cran.	cranialis
CT	Computertomografie
d. h.	das heißt
DL	Deutsche Landrasse
et al.	et alii/aliae
EZM	Extrazelluläre Matrix
GL	German landrace
GM	Göttingen® Minipig
GRA	Gallocyanin-Chromotrop 2R-Anilinblau-Färbung
h	Stunde
HE	Hämatoxylin-Eosin
HIVC	hepatic inferior vena cava
HUVEC	human umbilical vein endothelial cells
IMT	Intima-Media Thickness
k. A.	keine Angabe
kg	Kilogramm
MaH	Mouse anti human
MCA	monoclonal antibody
mg	Milligramm

min	Minuten
mm	Millimeter
Mo	Monate
n	Anzahl
N	Nervus
nm	Nanometer
µm	Mikrometer
PBS	Phosphate Buffered Saline
PP	Polypropylen
RFK	Resorcin-Fuchsin-Kernechtrot
RFTP	Resorcin-Fuchsin-Thiazinrot-Pikrinsäure
s	Sekunde
s.	siehe
SMA	Smooth Muscle Actin
s.o.	siehe oben
Stabw	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TBS	Tris-buffered saline
V	Vena
v.a.	vor allem
Vol.-%	Volumenprozent
Vv.	Venae
WHO	World Health Organisation
z. B.	zum Beispiel

1 Einleitung und Ziel

Das Schwein ist in Deutschland das am häufigsten zu wissenschaftlichen Zwecken genutzte Großtiermodell. Von 2000 bis 2013 wurden jährlich 14.218 ± 1.627 Schweine in der biomedizinischen Forschung eingesetzt (BMEL, 2014). Aufgrund großer physiologischer und morphologischer Ähnlichkeiten des Kardiovaskulärsystems von Schwein und Mensch (Swindle et al., 2012) ist das Schwein vor allem in der kardiovaskulären Forschung etabliert (Hughes, 1986), wobei 43 % der Tiere (BMEL, 2013) in der Entwicklung und Erforschung von Medizinprodukten Verwendung finden. Dabei werden neben konventionellen Schweinerassen in zunehmendem Maße Minipigs genutzt, die speziell für die Anforderungen der biomedizinischen Forschung gezüchtet wurden. Zu diesen Anforderungen zählen ein geringer Platzbedarf, ein ruhiges Temperament, einfache Handhabbarkeit und das Erreichen eines relativ niedrigen Adultgewichts (Svendsen, 2006).

In den letzten Jahren wurden mehrere Studien (Hiebl et al., 2009a; Hiebl et al., 2011; Hiebl et al., 2010; Hiebl et al., 2009b; Müller, 2010) publiziert, die auf Besonderheiten im Herz-Kreislaufsystem der Göttingen[®] Minipigs (GM) hinweisen und daher für ein adäquates Versuchsrefinement essentiell sind. In einer dieser Arbeiten wurden die biomedizinisch relevanten Blutgefäßstrukturen makromorphologisch charakterisiert, um eine Größenanpassung kardiovaskulärer Medizinprodukte an die Dimensionen im Tier zu ermöglichen. Die vorliegende Arbeit knüpft an diese Studie an und hat zum Ziel, die biomedizinisch relevanten Blutgefäße mikromorphologisch und -morphometrisch altersabhängig und bei ausgewählten Arterien und Venen, auch im Vergleich mit den entsprechenden Blutgefäßen der Deutschen Landrasse, zu charakterisieren. Damit soll ein grundlegender Beitrag für ein Versuchsrefinement im Sinne des 3R-Konzepts von Russel und Burch geleistet werden.

2 Literaturteil

2.1 3R-Konzept nach Russel & Burch

Das 3R-Konzept, das von den beiden Wissenschaftlern William Russel und Rex Burch unter dem Titel „The principles of human experimental technique“ vor 57 Jahren veröffentlicht wurde, fordert die konsequente Umsetzung von drei Maßnahmen (Replacement, Reduction, Refinement) im Rahmen der Tierversuchsplanung, um Belastungen bei den zu wissenschaftlichen Zwecken eingesetzten Tieren zu vermeiden oder wenigstens zu vermindern (Russell and Burch, 1959).

„Replacement“ bedeutet, dass alle Tierversuchsvorhaben dahingehend überprüft werden sollten, ob sie durch *In-vitro*-Alternativansätze ersetzt werden können. „Reduction“ steht für die Forderung, im Rahmen der Fallzahlplanung stets moderne Algorithmen der Biostatistik einzusetzen. Damit soll sichergestellt werden, dass die Tierzahl je Versuch nur so gering wie für eine statistisch valide Ergebnisbeurteilung nötig angesetzt wird. Durch das „Refinement“ bzw. die Optimierung des Versuchsansatzes sollen Belastungen für die Tiere soweit wie möglich reduziert werden, beispielsweise durch eine Reduktion der Komplikationsrisiken. Die konsequente Umsetzung des 3R-Konzeptes ist eine zentrale Forderung der EU-Richtlinie 2010/63 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere vom 22. September 2010 (EU, 2010), auf deren Basis 2013 das Tierschutzgesetz und die Tierschutz-Versuchstierverordnung geändert wurden.

Um diesem Anspruch im Rahmen des Versuchsrefinements gerecht werden zu können, ist eine umfassende Fachkenntnis über die Tiermodelle erforderlich. Allerdings gibt es aktuell bei den Minipigs nur wenige systematische Studien zu deren physiologischen und makro- sowie mikromorphologischen Charakteristika.

2.2 Das Göttingen® Minipig als Tiermodell in kardiovaskulären Studien

Das GM ist eine Kreuzung aus dem Minnesota Minipig, dem Vietnamesischen Hängebauchschwein sowie der Deutschen Landrasse. Es wurde erstmals 1960 an der Universität Göttingen gezüchtet, um für biomedizinische *In-vivo*-Studien ein Tiermodell zu etablieren, das dem menschlichen Organismus morphologisch und physiologisch sehr ähnlich ist (Glodek and Oldigs, 1981) und dabei ein sehr geringes Adultgewicht aufweist (Swindle et al., 2012). Dadurch erhalten die GM immer mehr Bedeutung in Tierversuchen anstelle der konventionellen Schweinerassen (z. B. Deutsche Landrasse), die aufgrund ihrer enormen Massezunahme innerhalb kürzester Zeit nur begrenzt für die Haltung in den Tierversuchsstätten in Betracht kommen. Während die GM mit ca. 22 Monaten ein Adultgewicht von etwa 45 kg

aufweisen, besitzen die konventionellen Schweinerassen bereits mit ca. 4 Monaten das gleiche Gewicht (Abd El-Nabi, 1975; Bollen and Ellegaard, 1997; Köhn et al., 2007; Sambraus, 2011; Smidt and Kather, 1975; Tsutsumi et al., 2004).

Neben der Verwendung des GM für Studien in der Dermatologie und Pneumologie, ist es in der Blutgefäßforschung ein häufig verwendetes Tiermodell. Es wird unter anderem für die Entwicklung von Stents eingesetzt (Unterberg et al., 1995). Mittels dieser kleinen Implantate wird zum Beispiel die Behandlung von Aneurysmen ermöglicht (Ko et al., 2011), indem das Implantat zur Stabilisierung operativ um das Blutgefäß gelegt wird. Hierbei spielt es eine wesentliche Rolle, die Größe und den Aufbau der Blutgefäße zu kennen, damit ein Verrutschen (Aydin and Sayin, 2009; Bolte et al., 2001) solcher Implantate vermieden werden kann. Das gleiche gilt auch für das Forschen mit Stents zur Behandlung von Gefäßverschlüssen mittels einer Stentangioplastie (Tsutsumi et al., 2001). Des Weiteren ist das GM in der Kardiologie ein anerkanntes Tiermodell (Markert et al., 2009). Ein Ausschnitt über die Verwendung der GM in der kardiovaskulären Forschung der letzten 15 Jahren ist in Tab.1 dargestellt. Eine weitere bedeutende Rolle spielt das GM bei der Entwicklung pharmazeutischer Substanzen (Authier et al., 2011), deren Wirkung z. B. auf das Endothel beschrieben wird. Hierfür sind Kenntnisse über die physiologische Morphologie der Blutgefäße essentiell, welche durch histologische Untersuchungen erschlossen werden können. Ebenfalls gilt das auch für Transplantationsversuche mit Organen und Geweben des GM (Lange et al., 1997), hierbei spielt die Gefäßadaption und somit die Kenntnis über den Gefäßtyp eine entscheidende Rolle.

Histologische Untersuchungen von Arterien (n = 41) 6-12 Monate alter GM (n = 17) wurden in der Literatur bereits veröffentlicht, wobei die Arterien nach Erhebung charakteristischer mikromorphologischer Eigenschaften entsprechenden Typen zugeordnet wurden. Es erfolgten jedoch keine quantitativen Untersuchungen (Tanigawa et al., 1986a). Erst später waren vereinzelt Daten in *In-vivo*-Studien über die Blutgefäßinnendurchmesser der GM zu finden. Müller (2010) untersuchte sechs weibliche, etwa 12 Monate alte, präadulte GM ($29,4 \pm 4,5$ kg), 12 ebenfalls weibliche, präadulte GM mit 17 Monaten ($28,3 \pm 3,0$ kg) und 12 weibliche adulte GM im Alter von ca. 21 Monaten ($34,7 \pm 4,5$ kg). Des Weiteren erfolgten von drei adulten GM exemplarisch qualitative, histopathologische Untersuchungen (Müller, 2010). Die nachfolgende Tabelle 1 dokumentiert einen Ausschnitt an Literatur der letzten 15 Jahre, in denen das GM als Tiermodell in der kardiovaskulären Forschung Verwendung fand.

Tab. 1: Ausschnitt an Publikationen der letzten 15 Jahre über kardiovaskuläre Forschung mit dem GM als Tiermodell

Autor(en), Jahr	Indikation	Anzahl, Geschlecht	Alter [Monate], Masse [kg]
(Araña et al., 2014)	Herzinfarkt	n = 18, k. A.	k. A.
(Sun et al., 2012)	Intraperikardiale Katheterisierung	n = 6, weiblich	k. A., 25-34 kg
(Moroni et al., 2011)	Portkatheter	n = 20, männlich	4-5 Monate, 9-12 kg
(Laursen et al., 2011a)	Herzarrhythmien	n = 12, weiblich	k.A., 12 kg
(Laursen et al., 2011b)	Repolarisation des Herzens	n = 2, weiblich n = 2, männlich	5 Monate, 10 kg
(Authier et al., 2011)	Herz-Kreislauf	n = 4, männlich	7 Monate, 13-15 kg
(Hiebl et al., 2011)	Mikrovaskuläre For- schung am Herzen	n = 18, weiblich	9 Monate, 35 kg
(Birck et al., 2011)	Koronargefäße	n = 42, männlich	2 Monate, k. A.
(Ko et al., 2011)	Aortenaneurysma	n = 1, weiblich	9 Monate, 27 kg
(Hiebl et al., 2010)	Blutgefäßanatomie	n = 18, weiblich	16 ± 4 Monate, 30.8 ± 9.0 kg
(Schuleri et al., 2008)	Herzinsuffizienz	n = 49, weiblich	12-13 Monate, 29 kg
(Popov et al., 2008)	Aorto-Coronarer Venensbypass	n = 6, weiblich	11 Monate, 53 kg
(Stubhan et al., 2008)	Kardiovaskuläre Parameter	n = 3, weiblich n = 4, männlich	12 Monate, 22-32 kg
(Maratea et al., 2006)	Blutgefäßläsionen	n = 7, weiblich n = 2, männlich	2-12 Monate, k. A.
(Kuwahara et al., 2004)	Herzparameter	n = 6, männlich	9-15 Monate, 17-26 kg
(Nahas et al., 2002)	Herzparameter	n = 6, weiblich n = 6, männlich	5 Monate, 8 kg

(Tsutsumi et al., 2001)	Venentransplantation	n = 8, männlich	8-10 Monate, 21-26 kg
(Konrad et al., 2000)	Sonografie für Herz-, Aortenmorphologie	n = 58, weiblich	6-8 Monate, 8-22 kg
(Fink et al., 2000)	Blutkreislauf	n = 15, weiblich	k. A., 25-35 kg

2.3 Die Deutsche Landrasse als Tiermodell in kardiovaskulären Studien

Die Deutsche Landrasse (DL) ist eine konventionelle Schweinerasse, die für ihre Robustheit, gute Fruchtbarkeit und Frohwüchsigkeit bekannt ist. Sie entwickelte sich Ende des 19. Jahrhunderts aus deutschen Landrasseschweinen und wurde Mitte des 20. Jahrhunderts zur Verbesserung ihrer züchterischen Eigenschaften mit holländischen und dänischen Landrasseschweinen gekreuzt (Briggs, 1983). Schweine, wie auch die der DL, besitzen relativ große morphologische und physiologische Ähnlichkeiten zum Menschen. Daher sind sie häufig verwendete Tiermodelle in der Forschung. Zum einen sind die Schweine der DL aufgrund ihrer Haut gut geeignet für dermatologische Untersuchungen, zum anderen werden sie aufgrund der Ähnlichkeit des Blutgefäßsystems zum Menschen in der kardiovaskulären Forschung eingesetzt (Swindle and Smith, 1998). In Tabelle 2 ist eine Auswahl an Literatur aus den letzten 15 Jahren aufgeführt, in denen die Schweine der DL in der kardiovaskulären Forschung Verwendung fanden.

Herz- und Gefäßleiden zählen seit vielen Jahren zu den führenden Erkrankungen des Menschen (WHO, 2015). Zur Erlangung von Kenntnissen über solche Herz- und Gefäßerkrankungen wird die DL unter anderem in der Herzklappenforschung (Bader et al., 1998), in der Gefäßtransplantationsforschung (Bader et al., 2000) und auch Bypass- sowie Stentforschung eingesetzt. Dabei kommt es vor allem zum Einsatz von präadulten Tieren mit einer Masse von ca. 30 kg. Bei Langzeitversuchen ist von Nachteil, dass diese Rasse sehr schnell wächst und Implantate, die nicht mitwachsen, unbrauchbar werden.

Tab. 2: Ausschnitt an Publikationen der letzten 15 Jahre über kardiovaskuläre Forschung mit Schweinen der DL als Tiermodell

Autor(en), Jahr	Indikation	Anzahl, Geschlecht	Alter [Monate], Masse [kg]
(Weymann et al., 2014)	Herzklappen	n = 40, k. A.	k. A.
(Foltys et al., 2013)	Mikrozirkulation, Perfusion	n = 15, k. A.	k. A., 32 kg
(Aksakal et al., 2012)	Blutdruck	n = 11, k. A.	k. A., 6 kg
(Matschke et al., 2012)	Extrakorporale Zirkulation	n = 16, männlich	3 Monate, 33kg
(Happel et al., 2012)	Extrakorporale Perfusion	n = 39, k. A.	k. A.
(Harig et al., 2011)	Myokardrevaskularisation	n = 20, männlich	4 Monate, 40 kg
(Weymann et al., 2011)	Dezellularisierung von Herzen	n = 12, weiblich	k. A.
(Hein et al., 2009)	Erfassung des Herzvolumens	n = 7, weiblich	k. A.
(Baumert et al., 2009)	Herzinfarkt	n = 36, weiblich	k. A., 33 kg
(Abdel-Rahman et al., 2007)	Herzfunktion nach Bypass-Operation	n = 12, k. A.	k. A., 51 kg
(Uhlmann et al., 2005)	Mikrozirkulation	n = 16, weiblich	k. A., 23 kg
(Scholz et al., 2004)	Herzchirurgie	n = 20, k. A.	k. A.

(Strotmann et al., 2002)	Vaskuläre Reaktionsfähigkeit und Morphologie nach Trauma	n = 12, k. A.	k. A., 35 kg
--------------------------	--	---------------	--------------

2.4 Besonderheiten in der Anatomie des Blutgefäßsystems beim Göttingen® Minipig

Beim GM (n = 18) konnte in computertomographischen Untersuchungen festgestellt werden, dass es einige Abweichungen im Blutgefäßsystem bezüglich der bekannten Anatomie des Schweines gibt (Hiebl et al., 2010). Dabei wurde bei 16 GM sichtbar, dass die beim Schwein normalerweise doppelt angelegte V. subclavia in dreifacher und sogar vierfacher Weise auftrat, sowohl uni- wie auch bilateral. Variabilität zeigte sich auch bei den Nierenarterien. Eine doppelt angelegte V. renalis trat bei einem GM auf. Diese zusätzlichen, am Hauptgefäß parallel entlanglaufenden Blutgefäße, besitzen kleinere Durchmesser, sodass es z. B. bei der Anwendung von Portsystemen zu Problemen kommen kann (Brener et al., 1974).

Ebenfalls zeigte sich, dass der Ursprung der A. renalis dextra zur A. renalis sinistra variieren kann. Bei 55,6 % der untersuchten Tiere entsprang, wie zu erwarten, die rechte Nierenarterie kranial der linken Nierenarterie aus der Aorta abdominalis. Bei den anderen Tieren entsprangen die beiden renalen Arterien jedoch auf gleicher Höhe (11,1 %) bzw. sogar die rechte kaudal der linken (33,3 %). Der Verlauf am Nierenhilus zeigte sich auch variabel (22,2 % ventral von der V. cava caudalis). Solche Variabilitäten von Nierengefäßen erschweren eine Standardisierung bei der Applikation von Stents. Bezüglich des venösen Anteils des Blutgefäßsystems konnten bei einigen Tieren Inselbildungen im Bereich der V. cava caudalis (27,8 %), der V. iliaca communis (11,1 %) und der V. linguofacialis sinistra (5,6 %) als ausgebliebene embryonale Rückbildung beobachtet werden (Müller, 2010).

Ab einem Alter von 17 Monaten ändern sich die Durchmesser und Längen relevanter Blutgefäße nicht mehr, trotz deutlicher Massezunahme der GM bis zum 21. Monat (Müller, 2010), sodass in Langzeitstudien stabile Zustände vorausgesetzt werden können.

Zur mikromorphologischen Charakterisierung der Blutgefäße lassen sich keine systematischen Datensätze finden.

2.5 Histologie der Arterien

2.5.1 Struktur und Aufbau

Arterien sind im Organismus die Blutgefäße, die das Blut vom Herzen wegführen (Göppert, 1926; Stöllberger, 2014). Diese Blutgefäße besitzen je nach Lage und Funktion einen entsprechenden Aufbau, wobei der Grundaufbau überwiegend derselbe ist. Prinzipiell bestehen die Arterien aus drei Schichten. Die innerste bzw. lumennahe Schicht ist die Tunica intima, auch als Tunica interna oder kurz Intima bekannt. Diese Schicht besteht wiederum aus drei wesentlichen Strukturen. Zum einen aus einer einzigen Lage parallel in Richtung des Blutflusses angeordneter Endothelzellen, die auch als Lamina endothelialis bezeichnet wird. Zum anderen aus dem darauf folgenden bindegewebigen Stratum subendotheliale und der darauf liegenden Membrana elastica interna. Diese kann doppelt und unterbrochen angelegt (French et al., 1963; Pinto et al., 1998; Solanes et al., 2005) sein und besitzt eine durchgängige Basalmembran, welche die Intima von der Media trennt (Benninghoff, 1927).

Die mittlere Schicht der Arterien, die Tunica media, ist die größte Schicht der Arterien. Grundsätzlich besteht diese Schicht aus kollagenen und elastischen Fasern, sowie glatten Muskelzellen. Je nach Funktion und Lage des Blutgefäßes, sowie je nach Spezies, variiert der Anteil dieser Strukturen (Benninghoff, 1927; Thienel, 1902). Bei herznahen Arterien, besteht die Tunica media überwiegend aus elastischen Fasern. Der Anteil an glatten Muskelzellen ist dagegen relativ gering. Bei den herzfernen Arterien, die eine überwiegend blutdruckregulierende Funktion besitzen, ist das Verhältnis dieser beiden Strukturen umgekehrt. Daraus ergibt sich, die Arterien in entsprechende Typen einzuteilen. Man unterscheidet die Arterie vom elastischen und dem muskulären Typ sowie dem Mischtyp, welcher den Übergang zwischen beiden darstellt (Thienel, 1902). Als abschließende Struktur der Tunica media ist die Membrana elastica externa zu nennen, die unterschiedlich ausgeprägt sein kann (Acar et al., 1991; Tanigawa et al., 1986a). In einigen Arterien, wie den Herzkranzgefäßen, kann sie im Alter jedoch fehlen (Gross et al., 1934).

Die dritte und nach außen abschließende Schicht ist die Tunica adventitia. Diese lockere Bindegewebsschicht, die auch als Tunica externa bezeichnet wird, enthält zahlreiche Strukturen, wie kleine Gefäße (Vasa vasorum), Nervenbündel und Zellen (Pinto et al., 1998). Sie dient als Verschiebeschicht zu angrenzenden Geweben und ist je nach Lage des Blutgefäßes unterschiedlich ausgeprägt (Benninghoff, 1927; Thienel, 1902).

Durch Witters und Tonars (2012) Untersuchungen an Blutgefäßen von Schweinen wird bestätigt, dass die oben genannten drei Wandschichten im Laufe des Wachstums Veränderungen unterliegen. Mit Hilfe lichtmikroskopischer Untersuchungen an Blutgefäßen von Schweinen zeigten sie, dass unter anderem die einzelnen Wandschichtdicken und die Durchmesser mit dem Alter physiologischerweise zunehmen und auch die einzelnen Blutgefäßabschnitte

je nach Lage sich voneinander in ihrer Morphologie unterscheiden (Witter and Tonar, 2012). Auch die extrazelluläre Matrix verändert sich im Laufe des Wachstums bzw. des Alters. Die kollagenen Fasern in der Tunica media des Menschen verändern sich zum Beispiel in ihrer Struktur und degenerieren teilweise im Alter. Dabei ergaben sich Unterschiede in den Beobachtungen zwischen männlichen und weiblichen Probanden (Gudiene et al., 2007). Tabelle 3 ist ein Auszug der bisher ermittelten Daten über die Dicken der Blutgefäßwandschichten unterschiedlichster Gefäße unter Verwendung verschiedener Messmethoden.

Tab. 3: Übersicht über die Dicke der Blutgefäßwand ausgewählter Blutgefäße mit der Unterscheidung: Intima-Media-Dicke, Media-Dicke und komplette Blutgefäßwand

Autor(en), Jahr	Spezies	Blutgefäß	Parameter, Messmethode	Werte [mm]
(Müller, 2010)	Schwein (GM)	Aorta thoracica	Mediadicke, histologisch	1,8
		Aorta abdominalis		0,8
		A. carotis communis		0,7
		A. renalis		0,3
		A. femoralis		0,3
(Tamura et al., 2011)	Mensch (Kind)	A. carotis communis	IMT, Sonografie	0,4
(Juonala et al., 2005)	Mensch (Er- wachsene)	A. carotis communis	IMT, Sonografie	0,6
(Zimmermann, 1926)	Schwein	Aorta ascendens	Wanddicke komplett, histologisch	1,6
		Aorta abdominalis		1,4
		A. carotis com. dext- ra		0,6

	A. mesenterica cranialis		0,8
	A. iliaca dextra		0,6

2.5.2 Innendurchmesser

Der physiologische Blutgefäßinnendurchmesser ist für den menschlichen und tierischen Organismus wesentlich für einen optimal funktionierenden Blutkreislauf. Ist er pathologisch verengt, kann es zu schweren Herz-Kreislauf-Erkrankungen kommen (Varleta et al., 2013). Grundsätzlich ist der Blutgefäßinnendurchmesser ein wichtiger diagnostischer Parameter. Er dient unter anderem bei der Bestimmung eines kardiovaskulären Risikos als diagnostische Hilfe (Lang et al., 1994; Tamura et al., 2011).

Bereits 1926 schrieb Zimmermann über vergleichend anatomische Untersuchungen am Huftier unter der Betrachtung des Umfangs, des Durchmessers und der Wanddicke von Arterienstämmen. Dabei stellte er fest, dass mit den Körpermaßen wie Höhe, Länge und Masse der Umfang und die Weite innerhalb einer Rasse bei gleichem Alter zunahm. Zwischen den Rassen gab es ebenfalls Unterschiede (Zimmermann, 1926).

Dabei variieren die Blutgefäßinnendurchmesser gesunder Arterien auch je nach Lage dieser im Organismus relativ stark. Die großlumigen Arterien gehören zu den herznahen Arterien, die einen relativ hohen Anteil an elastischen Fasern, aber eine im Verhältnis zum Gesamtdurchmesser dünnere Wand, besitzen. Dagegen befinden sich die verhältnismäßig kleinlumigeren Arterien v.a. in der Peripherie und besitzen einen relativ hohen Anteil an glatten Muskelzellen und eine relativ dicke Wand. Der Blutgefäßinnendurchmesser verändert sich im gesunden Organismus je nach Lagerung und Bewegung, um entsprechende Druckverhältnisse aufrechtzuerhalten, damit eine ausreichende Durchblutung der Organe erfolgen kann (Buckner et al., 1999; Müller, 2010).

Anhand von computertomografisch unterstützten Aufnahmen von Arterien der GM konnte *in vivo* gezeigt werden, dass vor allem herznahe Arterien zwischen dem 12. und 17. Lebensmonat eine Größenzunahme ihres Innendurchmessers von 19 % zu verzeichnen hatten, währenddessen beispielsweise beim Arcus aortae das Längenwachstum ca. 25 % betrug. Es erfolgte ab dem 17. Lebensmonat der Minipigs kein signifikantes Wachstum der Innendurchmesser mehr. Bei Lagerung der Schweine von Bauch- in Rückenlage zeigten die Arterien keine signifikanten Änderungen der Durchmesser (Müller, 2010).

Es kann jedoch durch biochemische Prozesse zu einer krankhaften Verkleinerung des Innendurchmessers von Arterien kommen. Um einer solchen Verengung entgegenzuwirken, wie es z. B. bei der Arteriosklerose der Fall ist, werden mittlerweile relativ häufig Stents eingesetzt (Dalloul et al., 2013). Jedoch auch die Erforschung dieser Stents in den Blutgefäßen

von Schweinen und Menschen führt in den Versuchen zu Problemen. Sollen sie eigentlich Verengungen im krankhaft veränderten Blutgefäß aufheben, können sie selbst Granulome verursachen und Gefäßwände schädigen (Shaffer et al., 1998; Wilson, 2011). Dass es zum Wandern von Stents in Blutgefäßen kommen kann, beschreiben Shaffer et al. als Komplikation beim Menschen (Shaffer et al., 1998).

Neben Blutgefäßverengungen kann es jedoch auch zu Blutgefäßerweiterungen kommen. Aneurysmen entstehen durch Schwächung des Gewebes der Arterie, v.a. verursacht durch arterielle Hypertonie. Relativ häufig ist davon die Aorta betroffen (Lindholt, 2010). Die nachstehende Tabelle 4 enthält eine Übersicht von Blutgefäßinnendurchmessern medizinisch relevanter Blutgefäße vom Menschen und vom Schwein und den damit verbundenen Messmethoden.

Tab. 4: Übersicht über die Innendurchmesser ausgewählter Blutgefäße verschiedener Spezies

Autor(en), Jahr	Spezies	Blutgefäß	Parameter, Messmethode	Werte [mm]
(Müller, 2010)	Schwein (GM)	Aorta ascendens	Durchmesser, <i>in vivo</i> (CT)	19,3
		Aorta thoracica		12,1
		Aorta abdominalis		6,3
		A. carotis com. dextra		6,6
		A. mesenterica cranialis		6,6
		A. renalis dextra		7,3
		V. cava caudalis		10,9
(Bundi et al., 2009)	Mensch	V. cava inferior (Leberabschnitt/ HIVC)	Durchmesser, <i>in situ</i> aus Umfang errechnet	28,0
(Mitchell et al., 2008)	Mensch	Aorta	Durchmesser, Sonografie	30,0
(Zimmermann, 1926)	Schwein	Aorta ascendens	Durchmesser <i>in situ</i>	15,2
		Aorta thoracica		10,3
		Aorta abdominalis		6,1
		A. carotis com. dextra		4,4
		A. mesenterica cranialis		3,7
		A. renalis dextra		2,4
		A. iliaca dextra		3,2

2.6 Histologie der Venen

2.6.1 Struktur und Aufbau

Venen sind die Blutgefäße, die das Blut von den Organen zum Herzen hinführen. Sie verlaufen in der Regel parallel zu ihren gleichnamigen Arterien. Es gibt sehr große Venen im Organismus ohne Venenklappen und es gibt die etwas kleineren, aber dennoch als große Venen bezeichneten Blutgefäße (v. Kügelgen and Zuleger, 1958). Diese besitzen in unterschiedlicher Ausprägung Venenklappen, welche einen Rückfluss des Blutes in die Peripherie ver-

hindern (Anderhuber, 1984; Mühlberger et al., 2009; v. Kügelgen and Zuleger, 1958). Venen besitzen einen ähnlichen Aufbau wie Arterien, sind aber nicht ganz so deutlich strukturiert wie diese. Die Venen besitzen ebenfalls eine Tunica intima, jedoch nicht immer eine Membrana elastica interna. Die Tunica media ist nicht so deutlich strukturiert und bildet ein „muskelelastisches System“. Eine Tunica externa ist auch vorhanden, jedoch zum umliegenden Bindegewebe nicht deutlich abgrenzbar (Sčelkunow, 1935).

2.6.2 Innendurchmesser

In CT-unterstützten Aufnahmen von GM konnte gezeigt werden, dass die Blutgefäßinnendurchmesser v.a. herznaher Venen und der V. portae zwischen dem 12. und 17. Lebensmonat bis zu 19 % zunahm. Die Größenzunahme stagnierte zwischen dem 17. und 21. Monat, während die Körpermasse in diesem Zeitraum noch um 23 % zunahm. Ein abweichendes Verhalten zeigte die Vena jugularis interna, deren Blutgefäßinnendurchmesser zwischen dem 12. und 17. Lebensmonat abnahm. Ebenfalls kam es zur Lumenverkleinerung der Venen bei Lagerung der GM von Bauch- in Rückenlage mit der Begründung überstreckter längsverlaufender und durch Gewebe komprimierter Venen. Die Blutgefäßinnendurchmesser der Venen sind in der Regel immer etwas größer als die parallel dazu verlaufenden Arterien (Müller, 2010).

Pathologisch verändert können die Innendurchmesser der Venen durch relativ selten vorkommende Aneurysmen sein. Diese können angeboren sein oder durch Traumata entstehen. Ebenso kann es, wie bei den Arterien, zu Stenosen kommen. Auch hier können Komplikationen entstehen, wenn nach chirurgischer Therapie Stents migrieren (Dolezal et al., 2012).

2.7 Veränderungen der Blutgefäße nach experimentellen Eingriffen

Aufgrund der zahlreichen Blutgefäßerkrankungen beim Menschen gibt es viele chirurgische Eingriffe als Therapie direkt am Blutgefäß. Voraussetzung für erfolgreiche Therapien ist das experimentelle Forschen an den Blutgefäßen direkt am Menschen oder an entsprechenden Tiermodellen. Kommt es beispielsweise zu einer Stenose eines Blutgefäßes, kann diese chirurgisch zunächst mit Hilfe eines Katheters (Ballonkatheter, rotierender Katheter) behoben werden. Um das Gefäßlumen wieder längerfristig erhalten zu können, werden Gefäßprothesen (Stents) eingesetzt (Aydin and Sayin, 2009). Alternativ bietet sich die Umgehung des Gefäßverschlusses durch die Verwendung von Bypässen an (Che et al., 2016).

Bei der experimentellen Manipulation am Blutgefäß, beispielweise mit Gefäßprothesen (Stents), Kathetern, Bypässen etc., kann es zu Veränderungen an den Gefäßwänden kommen. Diese Veränderungen sind teilweise gewünscht und können unbedeutend sein oder sie sind pathologisch und somit entscheidend für den weiteren Verlauf.

Beim Legen von Stents kommt es innerhalb dieser Prothese und am Übergang zum Blutgefäß zur Ausbildung einer Neointima, die aus kollagenem Bindegewebe mit wenig Zellen besteht und erwünscht ist (Hildebrandt, 2000). Ein Problem stellt sie jedoch dar, wenn sie so stark wächst, dass es zu einem erneuten Gefäßverschluss (Restenose) (Shaffer et al., 1998) durch eine sogenannte neointimale Proliferation bzw. neointimale Hyperplasie (Gallo et al., 1999; Kornowski et al., 1998; Strotmann et al., 2002) kommt. Diese ist ein Resultat entzündlicher Prozesse mit Thrombozyten-vermittelter Muskelzellproliferation (Unterberg et al., 1995) bzw. Beteiligung von Myofibroblasten (Hildebrandt, 2000; Komatsu et al., 1998).

Des Weiteren kann es bei vaskulären Eingriffen, wie der Angioplastie, zur Verletzung der Tunica intima und somit zur Einblutung in die Gefäßwandschichten kommen. Dies kann wiederum zu Dissektionen führen, d. h. die Schichten der Blutgefäßwand trennen sich (Chunlai et al., 2012). Rein pathologisch können solche Dissektionen unter anderem bei Bindegewebsschwäche der Tunica media vorkommen, wie beispielsweise beim Ehlers-Danlos-Syndrom (defektes Kollagen) oder beim Marfan-Syndrom (Mutation des Fibrillins elastischer Fasern) oder einfach bei der altersbedingten Mediadegeneration (Gudiene et al., 2007).

Zu einer Stentthrombose (Shaffer et al., 1998) und einer In-Stent-Neoatherosklerose kann es ebenfalls im Rahmen einer Entzündung nach Verletzung der Tunica intima kommen. Dabei sind bei einer Stentthrombose überwiegend Gerinnungsfaktoren (v.a. Fibrin), Erythrozyten und Entzündungszellen (neutrophile Granulozyten, Thrombozyten) beteiligt und wenige eosinophile Granulozyten. Die neoatherosklerotische Läsion besteht aus den atherotischen Plaques mit überwiegender Beteiligung spezieller, schaumiger Makrophagen (Yamaji et al., 2012).

Fistelbildungen bei chirurgischer Intervention benachbarter Blutgefäße werden in der Literatur auch beschrieben. Diese Veränderungen an den Blutgefäßen gehen mit der Verletzung aller Gefäßwandschichten einher, wobei bei der Entstehung der Fistel von einem ähnlichen Vorgang ausgegangen wird, wie bei der Entstehung von Atherosklerose (Jones and Stehbens, 1995).

Bei einer Koronarangiografie, als invasives bildgebendes Verfahren der Koronargefäße mit Zugang über eine periphere Arterie, sind Gefäßverletzungen ebenfalls möglich. Die oben bereits genannten Veränderungen an den Blutgefäßen sind möglich, sowie die Entstehung von Gefäßwunderweiterungen (Aneurysmen-Bildung) und Hämatomen (Bennett and Wiener, 1965).

2.8 Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Blutgefäße an Schweinen und anderen Spezies

Es gibt vereinzelt Studien über bestimmte Gefäße beim Schwein. Gerrity et al. (1977) schrieben beispielsweise über den Aufbau der Endothelzellen der Aorta (Gerrity et al., 1977). Sie äußerten sich auch über die Anordnung und Form der Endothelzellen. Dabei zeigten die Endothelzellen stärkere Überlappungen in Regionen mit erhöhter Permeabilität, sie waren an den Stellen kubisch und besaßen kürzere Interdigitationen. Auch einige Zellorganellen, wie das raue Endoplasmatische Retikulum, der Golgi-Apparat und Lysosomen waren in unterschiedlichen Anteilen je nach Region vorhanden. Weitere Unterschiede, die den subendothelialen Spalt und die Glykokalyx betreffen, wurden ebenfalls beschrieben. Seifert (1962) befasste sich ebenfalls mit der Schweineaorta. Er untersuchte alle drei Wandschichten und beschrieb das Endothel als porenfrei mit einem breiten subendothelialen Raum und darin enthaltenen Mesenchymzellen und Fibrozyten. Eine Membrana elastica interna konnte nicht gesehen werden (Seifert, 1962). Ebenfalls geht Seifert auf den Aufbau der Tunica media und der Tunica adventitia ein, wobei er den Übergang der beiden Schichten zueinander als unscharf bezeichnete und auch keine Membrana elastica externa identifizieren konnte. Ausführliche Untersuchungen zur Membrana elastica interna und externa wurden von Kwon et al. (1998, 1999) an den Koronararterien des Schweines vorgenommen und die morphologischen Veränderungen (Fenestration, Schwund an Elastin) notiert, die unter einem hohen Cholesterolverwert entstanden (Kwon et al., 1999; Kwon et al., 1998). Es gibt einige elektronenmikroskopische Untersuchungen an Blutgefäßen des Menschen und verschiedenster Tierarten. Sims et al. (1989) beispielsweise untersuchten Gefäßendothelien des Menschen mit Hilfe lichtmikroskopischer, transmissions- und rasterelektronenmikroskopischer Verfahren und stellten fest, dass die Tunica intima während des Wachstums relativ konstant bleibt, die Koronararterie jedoch schon in relativ jungem Alter eine Dickenzunahme der Intima durchmacht. Als Besonderheit wird ebenfalls die diskontinuierliche interne elastische Membran beschrieben, die unter anderem glatte Muskelzellen aus der Media ins Stratum subendotheliale einwandern lässt (Sims et al., 1989). In dieser Schicht wurden ebenfalls vereinzelt Fibrozyten, Histozyten, Plasmazyten und Makrophagen nachgewiesen, sowie Grundsubstanzen mit eingelagerten kollagenen und elastischen Fasern, deren Masse mit dem Alter zunimmt. Eine Basalmembran konnte beim Endothel großer Arterien, wie der Aorta, nicht festgestellt werden. Je kleiner die Arterien Durchmesser wurden, desto deutlicher zeichnete sich dagegen eine Basalmembran ab (Reale and Ruska, 1965; Seifert, 1962).

Obwohl Endothelzellen verschiedenster Blutgefäße unter dem Lichtmikroskop relativ ähnlich erscheinen, gibt es doch sehr starke Unterschiede an ihrem Gehalt an Zellorganellen und Inhaltsstoffen und somit in ihrem Charakter mittels verschiedener Mechanismen im Organismus unter physiologischen Bedingungen oder in Experimenten zu reagieren.

Beispielsweise konnten in *In-vitro*-Versuchen sogenannte Weible-Palade bodies in einigen fetalen, isolierten Endothelzellen von Schweinen elektronenmikroskopisch nachgewiesen werden, jedoch nicht mehr in den gleichnamigen adulten Blutgefäßen (Plendl et al., 1996). Bei trächtigen Ratten konnte gezeigt werden, dass in der Arteria uterina die Dichte der Pinozytosebläschen in den Endothelzellen und glatten Muskelzellen zunahm, wobei die Dichtezunahme in den Endothelzellen größer war (Senadheera et al., 2013). Etwas weniger Zellorganellen (Mitochondrien, „Bläschen“, Cytosomen, Lysosomen) beobachtete Hager in seinen Versuchen an Endothelzellen von kleinen Arterien und Venen von Hirngefäßen bei Hamstern. Bei diesen Blutgefäßen und den Kapillaren zeigten sich die Endothelzellen und die Basalmembran durchgängig (Hager, 1961).

3 Untersuchte Tiere, Material und Methoden

Die Auswahl der 21 untersuchten Tiere (Anhang 9.10) erfolgte im Sinne der „3R“ nach Russel und Burch (1959). Diese Minimalanzahl an Tieren stammte aus anderen Forschungsprojekten und teils wurde das für die Ausbildung der Studenten verwendete Material für die Probengewinnung genutzt. Die Organentnahmen wurden vom Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin (LaGeSo) genehmigt und im Rahmen des Anatomie-Unterrichts im Institut für Veterinär-Anatomie der Freien Universität Berlin sowie in den Forschungseinrichtungen für experimentelle Medizin auf dem Campus Virchow-Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin (ISO 9001 zertifiziert) durchgeführt.

3.1 Tiere

Für die histologischen Untersuchungen ausgewählter arterieller ($n = 22$) und venöser ($n = 13$) Blutgefäße (Tab. 5) wurden fünf präadulte weibliche GM in einem Alter zwischen 17 und 18 Monaten und einer Masse zwischen 25 und 30 kg herangezogen. Für den Vergleich im Altersverlauf wurden exemplarisch Arterien ($n = 6$) und Venen ($n = 4$) von drei adulten (40 Monate) weiblichen GM mit $42,0 \pm 1,7$ kg Lebendmasse untersucht. Alle GM kamen vom Unternehmen Ellegaard Göttingen[®] Minipigs A/S aus Dänemark, einem Entwickler, Züchter und internationalen Vertreiber der Göttingen[®] Miniaturschweine. GM sind in Bezug auf Produktion, Gesundheit und Genetik definiert (Zertifikat Ellegaard Göttingen[®] Minipigs A/S). Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurde ein präadultes und drei adulte GM beprobt.

Für die Gegenüberstellung mit einem weiteren Tiermodell wurden für die Lichtmikroskopie sechs und für die Elektronenmikroskopie acht präadulte zwei Monate alte Schweine der DL herangezogen. Diese zwei Monate alten Schweine mit einer Masse von $10,3 \pm 2,6$ kg wurden für den Vergleich im Altersverlauf innerhalb der DL-Schweine herangezogen. Dabei besaßen die drei Monate alten DL-Schweine ($n = 7$) mit $39,0 \pm 2,5$ kg eine fast identische Masse wie die adulten GM. Diese Tiere stammten aus der Zucht des Instituts für Tierernährung aus dem Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin. Von allen DL-Schweinen wurden die klinisch relevante A. carotis communis, A. und V. femoralis und die V. jugularis externa untersucht.

Alle Tiere waren klinisch gesund und zeigten auch bei der Blutgefäßentnahme keine pathologischen Veränderungen.

In Anlehnung an die Dissertation von C. Müller (2010) wurden die Altersgruppen präadult und adult der GM und DL in dieser Arbeit ebenfalls nach dem Körpermassenverlauf entsprechend definiert. Demnach wurde als präadulte Phase der Zeitraum zwischen Absetzalter (GM: 6 bis 8 Wo = 3-5 kg; DL: 3 bis 5 Wochen = 6-9 kg) und Erreichen des Alters mit maxi-

maler Körpermasse (GM: 20 bis 24 Monate = $40,0 \pm 5$ kg; DL: 2,75 Jahre = $275,0 \pm 25$ kg) bezeichnet. Als adulte Phase wurde der Zeitraum nach dem Erzielen der maximalen Körpermasse bezeichnet.

3.2 Entnahme der Blutgefäße

Die ausgewählten Schweine wurden von mehreren Arbeitsgruppen genutzt und nicht ausschließlich für die vorliegende Studie euthanasiert.

Die Euthanasie erfolgte mittels intravenöser Injektion von 6 ml/50 kg T 61 (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland). Zuvor wurden die Tiere mittels 0,5 mg/kg Azaperon (Stresnil™, Janssen Animal Health, Neuss, Deutschland) und 10 mg/kg Ketamin (Ursotamin™, Serumwerk Bernburg, Deutschland) in der Mischspritze intramuskulär betäubt und die Narkose durch intravenöse Gabe in die Ohrvene von 0,5 mg/kg Azaperon und 10 mg/kg Ketamin vertieft.

Die Blutgefäße wurden sofort nach der Euthanasie an definierten Stellen entnommen (Tab. 5, Abb. 1 a, b, c). Bei der Präparation der Blutgefäße wurde auf Abweichungen im Blutgefäßverlauf und Duplikaturen geachtet und diese dokumentiert. Bei Vorhandensein von Duplikaturen wurde das jeweils größere Gefäß für die Entnahme ausgewählt. Bilateral angelegte Gefäße wurden stets rechtsseitig präpariert.

Tab. 5: Entnahmestellen der Blutgefäße für die Histologie bei den ¹präadulten GM, ²adulten GM, ³DL

Blutgefäße	Orte der Präparation für lichtmikroskopische Untersuchungen
Aorta ascendens ^{1,2}	direkt vor der Abzweigung des Truncus brachiocephalicus
Arcus aortae ¹	zwischen Abzweigung des Truncus brachiocephalicus und der A. subclavia sinistra
Aorta thoracica ^{1,2}	5 cm kranial vom Hiatus aorticus des Diaphragmas
Aorta abdominalis ^{1,2}	kaudal der A. mesenterica caudalis, kranial der A. iliaca externa
Truncus brachiocephalicus ¹	direkt nach Abzweigung vom Arcus aortae
Truncus bicaroticus ¹	direkt kaudal der A. carotis communis dextra und sinistra
A. carotis communis ^{1,2,3}	2 cm kranial der Abzweigung vom Truncus bicaroticus
A. carotis externa ¹	direkt kranial der Abzweigungsstelle der A. carotis interna

A. carotis interna ¹	direkt nach der Abzweigungsstelle von der A. carotis communis
Truncus pulmonalis ¹	direkt über der Herzbasis
A. coeliaca ¹	direkt kaudal der Abzweigung aus der Aorta abdominalis
A. mesenterica cran. ¹	direkt kaudal der Abzweigung aus der Aorta abdominalis
A. mesenterica caud. ¹	direkt kaudal der Abzweigung aus der Aorta abdominalis
A. iliaca externa ¹	zusammen mit der A. iliaca interna und A. sacralis mediana, direkt kaudal der Abzweigung aus der Aorta abdominalis
A. iliaca interna ¹	zusammen mit der A. iliaca externa und A. sacralis mediana, direkt kaudal der Abzweigung aus der Aorta abdominalis
A. sacralis mediana ¹	zusammen mit der A. iliaca externa und A. iliaca interna, direkt kaudal der Abzweigung aus der A. iliaca interna, als kaudale Verlängerung der Aorta
A. renalis ^{1,2}	direkt kaudal der Abzweigung aus der Aorta abdominalis, zusammen mit der V. renalis
A. subclavia ¹	kaudal der A. axillaris
A. axillaris ¹	direkt auf der Höhe der Apertura thoracis cranialis
A. brachialis ¹	medial des Ellenbogengelenkes
A. thoracica interna ¹	zwischen der Abzweigung aus der A. subclavia bis Höhe der ersten Rippe
A. femoralis ^{1,2,3}	im Trigonum femorale zusammen mit der Vena femoralis
V. cava caudalis ¹	zusammen mit der Aorta abdominalis (s. o.)
V. jugularis externa ^{1,2,3}	mittlerer Halsbereich
V. jugularis interna ¹	zusammen mit der A. carotis communis rechts, lateral der Trachea
V. cephalica ¹	ca. 5 mm vor der Mündung in die V. jugularis externa
V. subclavia ¹	direkt kranial der Apertura thoracis cranialis
V. axillaris ¹	auf Höhe der Costa prima nach distal
V. brachialis ¹	proximal von der Mündung der V. thoracica externa
V. thoracica interna ¹	auf Höhe der ersten Rippe bis zur Mündung in die Vena

	cava cranialis
V. femoralis ^{1,2,3}	aus dem Canalis femoralis zusammen mit der A. femoralis
V. portae ^{1,2}	direkt kaudal des Eintritts in die Leber
V. cava cranialis ¹	kaudal der Mündung der V. thoracica interna in die V. cava cranialis
V. iliaca externa ¹	Entnahme zusammen mit der V. iliaca interna und V. sacralis mediana, direkt hinter der Abzweigung von der V. cava caudalis
V. renalis ^{1,2}	direkt kaudal der Abzweigung von der V. cava caudalis, zusammen mit der A. renalis

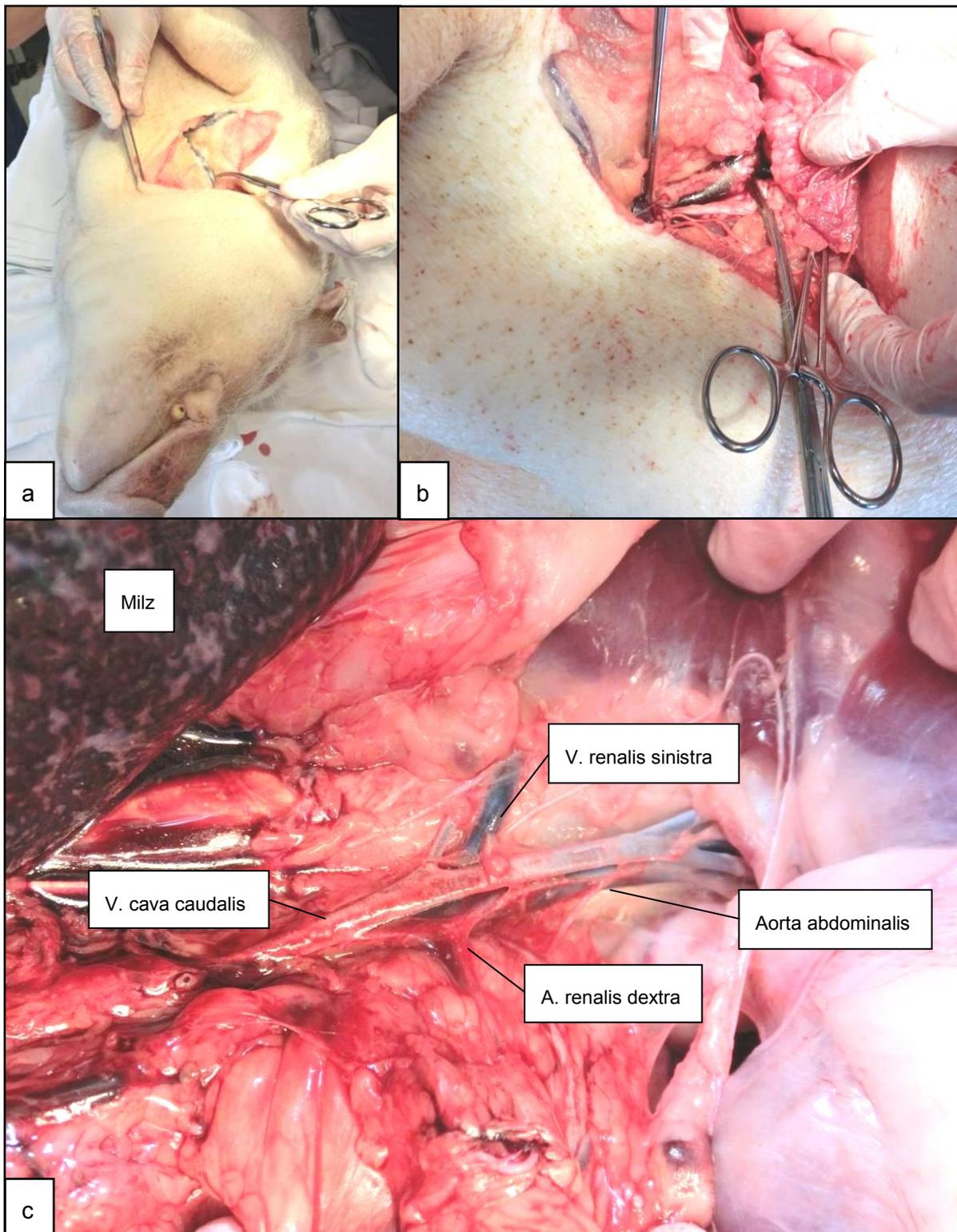


Abb. 1: Zugänge zu den Entnahmestellen der Blutgefäße: a: V. jugularis externa; b: A. carotis com.; c: Aorta abdominalis und V. cava caudalis mit ihren abzweigenden Blutgefäßen

3.3 Fixierung

Die verwendeten Substanzen sind im Kapitel 3.8 aufgelistet und nach Fixier- und Färbelösungen sowie Chemikalien und weitere Materialien unterteilt (Tab. 9, 10, 11).

3.3.1 Lichtmikroskopie

Die Fixierung der Blutgefäße erfolgte unmittelbar nach der Entnahme in PP-Zentrifugenröhrchen (TPP[®], Trasadingen, Schweiz) mittels 4 Vol.-% PBS-gepufferter Formaldehydlösung, unter anderem zur Inaktivierung von Enzymen und somit der Verhinderung einer autolytischen Veränderung des Gewebes der Blutgefäße. Anschließend wurden sie darin für mindestens 48 h bei 4 °C gelagert.

3.3.2 Elektronenmikroskopie

Die Blutgefäßproben für die Elektronenmikroskopie wurden sofort nach Entnahme in das Fixationsgemisch nach Karnovsky gebracht und anschließend ebenfalls bei 4 °C im Kühlschrank für mindestens 24 h gelagert. Danach wurden die Proben zunächst für dreimal zehn Minuten in Cacodylatpuffer gewaschen, anschließend für drei Stunden in Osmiumtetroxid nachfixiert und abschließend nochmal viermal zehn Minuten im Cacodylatpuffer gewaschen. Zur Vorbereitung für die Einbettung der Blutgefäße in ein Kunststoffgemisch erfolgte zunächst die Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe mit vergälltem Alkohol 30%ig, 50%ig, 70%ig, 80%ig, 90%ig und 100%ig für jeweils 20 Minuten. Danach kamen die Proben für 15 Minuten in reinsten Alkohol und anschließend zur vollständigen Entwässerung in Propylenoxid für 15 Minuten.

3.4 Einbettung der Proben

3.4.1 Lichtmikroskopie

Um die Einbettung zu ermöglichen, wurden die fixierten Blutgefäße zunächst einem Entwässerungsautomaten zugeführt. Dort wurde ihnen mit aufsteigender Alkoholreihe bei 38 °C das Wasser entzogen (Mulisch and Welsch, 2010). Für jeweils 60 Minuten wurden die Proben in 50 %, zweimal 70 % und zweimal 80 % Alkohol eingetaucht und anschließend für jeweils 120 Minuten in zweimal 96 % und dreimal 100 % Alkohol gebracht. Der Wasserentzug ist deshalb essentiell, da Paraffin eine hydrophobe Substanz ist und folglich sonst keine stabile Verbindung mit dem Gewebe möglich wäre.

Nachdem die Blutgefäße im Zwischenmedium Xylol für 15 min gelegen hatten, wurden Paraffinblöcke in Ausgießschälchen manuell an der Paraffin-Ausgießstation Microm EC 350-2 (Thermo Fischer, Dreieich, Deutschland) angefertigt und anschließend bei 4 °C gelagert.

3.4.2 **Elektronenmikroskopie**

Die fixierten Proben wurden zunächst in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert (Tab. 6).

Tab. 6: Entwässerungsschema der Proben für die Elektronenmikroskopie

Ethanol in % mit 1 % Methylethylketon	Dauer in min
30	20
50	20
70	20
80	20
90	20
100	20
100 absolut (ohne 1 % Methylethylketon)	15

Abschließend wurden die Proben für 15 Minuten in Propylenoxid endgültig entwässert. Die Einbettung erfolgte schrittweise. Zunächst kamen die Proben in ein kleines Glasgefäß, welches mit Propylenoxid und dem Agargemisch in einem Verhältnis von 1:1 aufgefüllt wurde. Die Proben wurden mit feinst durchlöcherter Alufolie abgedeckt und bei Raumtemperatur im Rüttler leicht bewegt.

Am nächsten Tag wurden die Proben für fünf Stunden in neue Gläschen mit einem Agar-/Kunststoffgemisch (24 g Agar100 Resin, 16 g Dodeceny Succinic Anhydride, 10 g Methyl Nadic Anhydride, 1,5 g Benzyl dimethylamine) gebracht. Im Anschluss erfolgte die Einbettung der Blutgefäße in den passenden Matrizen Pelco® (Ted Pella, Redding, USA). Zur Polymerisation des Kunststoffgemisches wurden die Matrizen samt der Proben für 24 Stunden in eine 45 °C warme Wärmekammer gebracht und anschließend nochmals für 24 Stunden auf 50 °C erhitzt.

3.5 Anfertigung von Schnittpräparaten

3.5.1 Lichtmikroskopie

Die Blutgefäße wurden an einem Schlittenmikrotom Jung Histoslid 2000 R (Leica, Nussloch Deutschland) mit einem 16 cm langen C-Messer (Jung AG, Heidelberg, Deutschland) 5 µm dick geschnitten und anschließend jeweils immer zwei Schnitte auf einen Objektträger (76 x 26 mm) Menzel-Gläser® (Thermo, Braunschweig, Deutschland) aufgezogen (Abb. 2).



Abb. 2: Schlittenmikrotom (Leica, Jung Histoslid 2000 R)

3.5.2 Elektronenmikroskopie

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden von den Proben zunächst Semidünnschnitte (1 µm) angefertigt, um unter dem Lichtmikroskop nach geeigneten Abschnitten zu schauen. Von diesen ausgewählten Stellen wurden dann nach dem Trimmen mit Hilfe eines Ultramikrotoms (Leica Reichert Ultracut S) Ultradünnschnitte (70 nm) erstellt.

3.6 Färbungen für die Lichtmikroskopie

3.6.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung)

Um einen Überblick über die Morphologie der Blutgefäße zu erhalten, wurden die Schnitte mit Hämatoxylin-Lösung nach Meyer und Eosin gefärbt (Mulisch and Welsch, 2010). Bei

dieser Übersichtsfärbung färben sich die Kerne, Kalk und Knorpel blau, das Zytoplasma, Kollagenfasern sowie die Erythrozyten dagegen rot.

Die Schnitte kamen dabei für 20 min zum Entparaffinieren in Xylol und durchliefen anschließend eine absteigende Ethanolreihe (zweimal 100 %, 96 %, 70 %). Danach wurden sie jeweils für 10 min in Hämatoxylin-Lösung und zur Darstellung der Zellkerne zum Bläuen in Leitungswasser gebracht. In Eosin 0,5 % verweilten die Schnitte für etwa 30 Sekunden und wurden danach in einer aufsteigenden Ethanolreihe (70 %, 96 %, viermal 100 %) entwässert. Bis zum Eindecken der Schnitte werden sie mit Xylol geklärt. Abschließend kam es zum Eindecken mit Hilfe von Deckgläsern (50 x 24 mm) und dem synthetischen Einschlussmittel Roti®-Histokitt II (Karlsruhe, Deutschland).

3.6.2 Resorcin-Fuchsin-Thiazinrot-Pikrinsäure-Färbung (RFTP-Färbung)

Für die Darstellung des Anteils an Elastin wurde die RFTP-Färbung verwendet. Dabei wurden die Paraffinschnitte zunächst 20 Minuten lang im Xylol entparaffiniert und nach in Tabelle 7 gezeigten Schema gefärbt. Die elastischen Fasern werden durch das Resorcinfuchsin blauschwarz bis violettschwarz gefärbt, die Muskulatur durch Pikrinsäure gelb und das Kollagen durch das Thiazinrot rot. Die Zellkerne werden durch das Weigertsche Hämatoxylin schwarz gefärbt.

Tab. 7: RFTP-Färbungsschema

Substanz	Dauer
1. Ethanol 100 %	10 s
2. Ethanol 96 %	10 s
3. Ethanol 80 %	10 s
4. Resorcin-Fuchsin	15 min
5. Leitungswasser	wenige Sekunden
6. Aqua dest.	wenige Sekunden
7. Weigertsches Eisenhämatoxylin	3 min
8. Aqua dest.	wenige Sekunden
9. Leitungswasser	10 min
10. Pikrinsäure-Thiazinrot	5 min
11. Aqua dest.	3 s
12. Ethanol 96 %	10 s

13. Ethanol 96 %	10 s
14. Ethanol 100 %	10 s
15. Xylol	bis zum Eindecken

3.6.3 Gallocyanin-Chromotrop 2R-Anilinblau-Färbung (GRA-Färbung)

Diese modifizierte Trichromfärbung dient der besseren Darstellung von Kollagenfasern, die sich blau färben. Die GRA-Färbung ist prinzipiell als gute Kontrastfärbung zwischen Bindegewebe und Muskulatur anzusehen. Die Muskulatur wird rot und das Cytoplasma rosa gefärbt. Die Kerne werden ebenfalls, wie die Kollagenfasern, blau dargestellt. Die nachfolgende Tabelle 8 zeigt dazu das Färbungsschema.

Tab. 8: GRA-Färbungsschema

Substanz	Dauer
1. Gallocyanin	24 h
2. Leitungswasser	15 min
3. Aqua dest.	15 s
4. Ethanol 70 %, 80 %, 96 %	je 15 s
5. Chromotrop 2R	30 min
6. Essigsäure 1 % (zweimal)	je 5 s
7. Phosphorwolfram-Säure	5 min
8. Essigsäure 1 % (zweimal)	je 5 s
9. Anilinblau	2,5 min
10. Essigsäure 1 % (zweimal)	je 5 s
11. Ethanol 96 % (zweimal)	10 s
12. Ethanol 100 % (dreimal)	je 5 s

3.7 Immunhistochemie/Nachweis von alpha-Smooth Muscle Actin (α -SMA)

Ausgewählte Arterien und Venen wurden immunhistochemisch durch den Nachweis von α -SMA auf ihren Gehalt an glatten Muskelzellen untersucht. Die Schnitte wurden zunächst entparaffiniert, in einer absteigenden Alkoholreihe gewässert und anschließend kurz mit Aqua dest. abgespült. Es folgte eine Spülung in Tris-gepufferter Kochsalzlösung (TBS) über fünf Minuten, sowie die Antigenmaskierung mit Hilfe der Proteinase K (Dako S3004, Glostrup, Dänemark) über drei Minuten bei Raumtemperatur. Anschließend wurden die Schnitte für zweimal drei Minuten bei Raumtemperatur gespült und über 20 Minuten in 3%igem Wasserstoffperoxid in TBS einem Peroxidase-Block unterzogen. Nachdem die Schnitte in TBS und dem nichtionischen Detergenz Tween 20 (Roth, Karlsruhe) gespült wurden, wurde der monoklonale Primärantikörper Mouse anti-human actin (smooth muscle; MaH MCA 1905H, AbDserotec) 1:50 verdünnt in Inkubationspuffer A (0,05M Tris-HCl (pH 7,4) + 0,9 % NaCl + 0,66mM MgCl₂ + 1 % BSA + 0,1 % Gelatine + 0,01 % Tween 20) hinzugegeben. Diese Proben wurden über Nacht bei 4 °C stehen gelassen. Ebenso verhielt es sich mit den Positivkontrollen (humane Haut) und den Negativkontrollen. Die Negativkontrollen bestanden zum einen aus Maus-NS (Dako X0910) 1:100 verdünnt in Inkubationspuffer A und zum anderen ausschließlich aus dem Inkubationspuffer A. Nach Spülung der Proben in TBS für dreimal drei Minuten bei Raumtemperatur wurde der mit Horseradish-Peroxidase (HRP) gekoppelte Sekundärantikörper Donkey Anti-Mouse IgG (Linaris ZMH2162, Dossenheim, Deutschland) 1:50 verdünnt in Inkubationspuffer A hinzugegeben, um über 30 Minuten einwirken zu können. Damit nachfolgend der HRP-Nachweis durchgeführt werden konnte, mussten die Proben vorher noch zweimal über fünf Minuten bei Raumtemperatur in PBS gespült werden. Der HRP-Nachweis erfolgte mit DAB (Diaminobenzidin, 0,1%) über zehn Minuten bei Raumtemperatur. Anschließend wurde wieder über drei Minuten mit PBS abgespült. Zur besseren Übersicht der Strukturen in den Blutgefäßen erfolgte unmittelbar danach eine Kernfärbung über eine Minute mit Hämalaun nach Mayer und danach die Spülung in Aqua dest., Leitungswasser und bidestilliertem Wasser. Zur anschließenden Entwässerung wurden die Schnitte in 100%igen Alkohol gebracht, um dann eingedeckt werden zu können.

3.8 Verwendete Substanzen

In den unten stehenden Tabellen sind die in dieser Arbeit verwendeten Fixierlösungen (Tab. 9), Färbelösungen (Tab. 10) sowie Chemikalien und weitere Materialien (Tab. 11) mit ihren Herstellerangaben aufgelistet.

Tab. 9: Fixierlösungen

Lösungen	Hersteller
Formaldehyd 4%ig	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Glutaraldehyd	Firma Agar scientific, Stansted-England
Osmiumtetroxid 1%ig	Firma Merck, Darmstadt-Deutschland

Tab. 10: Färbelösungen

Lösungen	Hersteller
Anilinblau	Firma Merck, Darmstadt-Deutschland
Chromotrop 2R	Firma Chroma, Stuttgart-Deutschland
Eosin	Firma Merck, Darmstadt-Deutschland
Gallocyanin	Firma Merck, Darmstadt-Deutschland
Hämalaun/Hämatoxylin	Firma Fluka, Buchs-Schweiz
p-Phenylendiamine Dihydrochlorid	Firma Fluka, Buchs-Schweiz

Tab. 11: Chemikalien und weitere Materialien

Substanzen	Hersteller
Äthanol	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Aceton	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
3-Aminopropyltriethoxysilane	Firma Sigma, Taufkirschen-Deutschland
BDMA (Benzyl dimethylamine)	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Cacodylsäure Natriumsalz Trihydrat	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Chromalaun (Kaliumchromsulfat)	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
DDSA (Dodeceny Succinic Anhydride)	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Eisessig	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Ethanol	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Eukitt	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland

Glycidether (Epon)	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Glyzerin (Eiweißglyzerin)	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
H ₂ O ₂ (Wasserstoffperoxid)	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Kanadabalsam	Firma Fluca, Buchs-Schweiz
Kupfergrids	Firma Plano, Wetzlar-Deutschland
MNA (Methyl-Nadic-Anhydride)	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
NaCl (Natriumchlorid)	Firma Merck, Darmstadt-Deutschland
Paraffin	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
PBS-Puffer	Firma Serva, Heidelberg-Deutschland
Phosphorwolframsäure	Firma Merck, Darmstadt-Deutschland
Propylenoxid (Epoxypropan)	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Salzsäure	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Tris Puffer	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland
Xylol	Firma Roth, Karlsruhe-Deutschland

3.9 Morphometrie

Die aufgearbeiteten Proben für die Lichtmikroskopie wurden mit Hilfe des Lichtmikroskops Axioskop HBO 50/AC (Carl Zeiss, Göttingen, Deutschland) untersucht. An diesem befand sich die DS-Ri1-Kamera von Nikon (Tokio, Japan), welche die Bilder an den Computer DELL PRECISION T 3500 übermittelte. Für die Auswertung der einzelnen Proben und die Erstellung der Fotos wurde mit der Bearbeitungssoftware Nis Elements AR 3.2 (Nikon, Tokio, Japan) gearbeitet (Abb. 3). Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen fanden am Transmissionselektronenmikroskop Zeiss EM 10 CR (Göttingen, Deutschland) statt. An ausgewählten Fotos wurden mit Hilfe der Bildbearbeitungssoftware AxioVision Rel. 4.8 von der Carl Zeiss AG (Oberkochen, Deutschland) einzelne Messwerte erhoben.

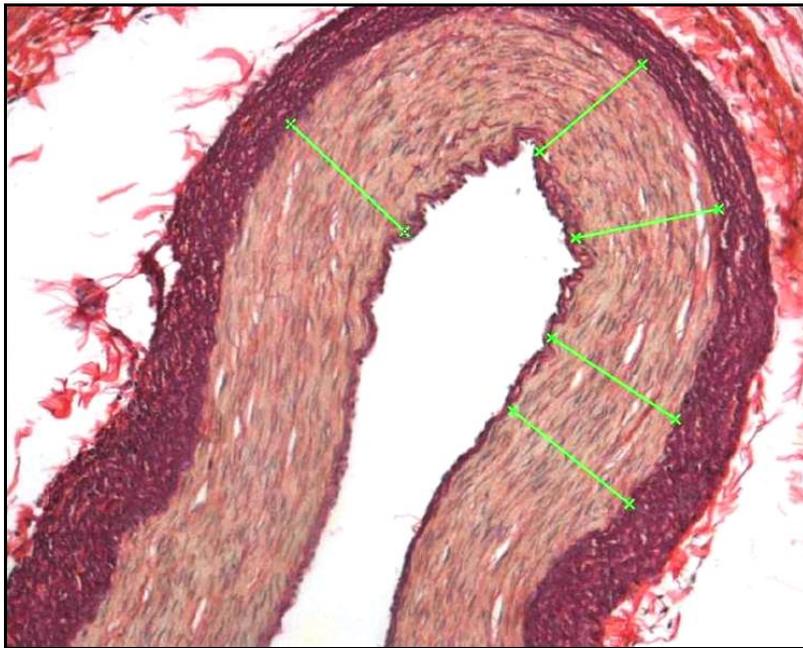


Abb. 3: Bildschirmausschnitt, A. femoralis; Messung der Mediadicke mit fünf markierten Messstellen, RFK-Färbung, 100-fache Vergrößerung

Zur Bestimmung des Mittelwertes der einzelnen Wandschichtdicken wurden insgesamt 40 Messungen pro Wandschicht und Blutgefäß durchgeführt. Die Messungen der Intimadicken erfolgten dabei immer in 400-facher Vergrößerung. Die Messungen der Media- und Adventitiadicken dagegen wurden je nach Blutgefäßwanddicke bei 12,5-, 50-, 100- oder 200-facher Vergrößerung durchgeführt. Dabei wurden die Messstrecken zur Vermessung der einzelnen Schichten quer zur Anschnittsfläche gelegt (Abb. 3). Die Membrana elastica interna und Membrana elastica externa dienten der Abgrenzung der Tunica media.

Zur Ermittlung der Anteile an extrazellulärer Matrix und glatten Muskelzellen in der Tunica media wurden bei 400-facher Vergrößerung und je Schnitt zehn Messungen manuell durchgeführt. Dabei wurde eine Fläche im mittleren Bereich der Tunica media von ca. 3,4 mm² ausgewählt und darin die elastischen und kollagenen Fasern, sowie die glatten Muskelzellen jeweils separat betrachtet. Für jede gemessene Struktur wurde eine entsprechende Farbschwelle zur automatischen Erkennung der entsprechenden Struktur gewählt (Abb. 4 a, b). Blutgefäße, die eine kleinere Media als die zu messende Fläche aufwiesen, wurden in ROI (region of interest) gemessen. Die ROI wurde dabei immer möglichst in der Mitte der Tunica media platziert.

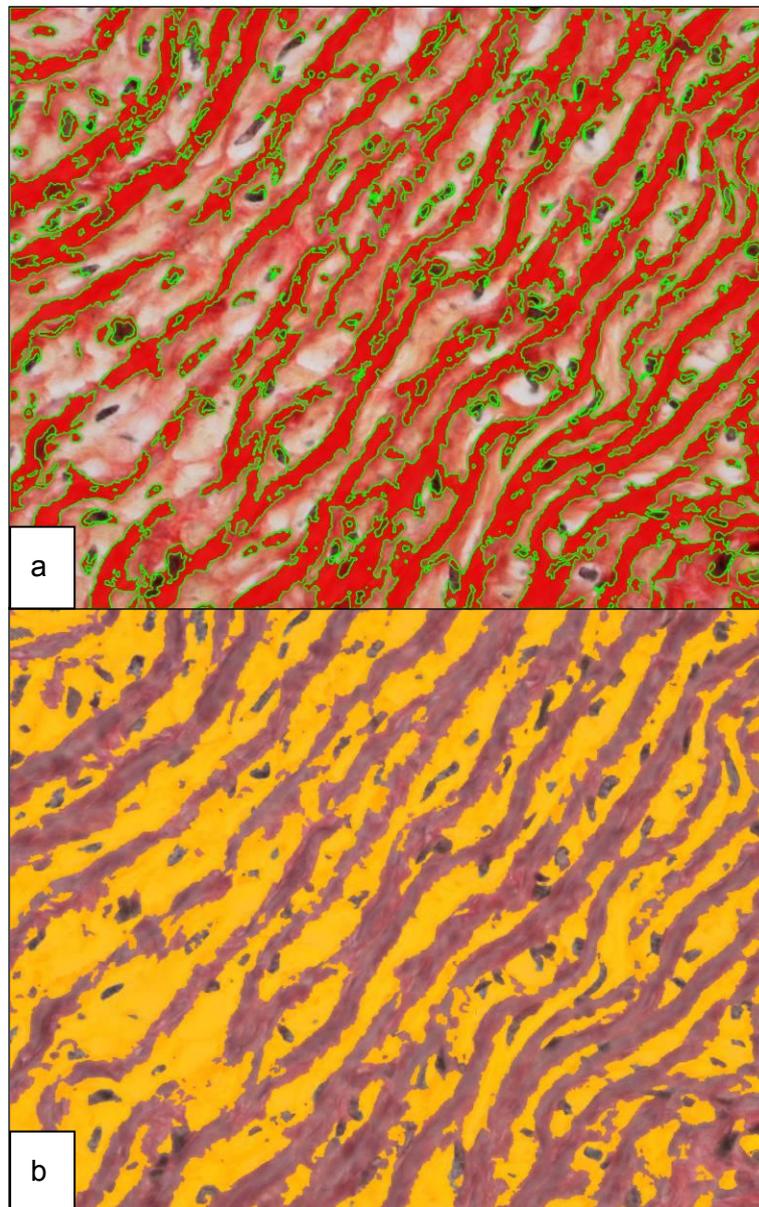


Abb. 4: Bildschirmausschnitt, Aorta thoracica; a: Binärmessung der elastischen Fasern (rot mit grüner Umrandung), b: Binärmessung der glatten Muskelzellen (gelb); RFK-Färbung, 400-fache Vergrößerung

3.10 Statistik

Nach Export der Primärdaten aus der Morphometrie-Software Nikon NIS Elements erfolgte die Datenbearbeitung mit Hilfe von Microsoft Excel 2010 und SPSS (PASW Statistics 21, Predictive Analytic Software, IBM).

Nach Überprüfen der Varianzen mit Hilfe der ein- bis mehrfaktoriellen ANOVA wurden die Daten der Altersgruppen und Rassen mittels nichtparametrischer Tests verglichen. Dazu wurden Post Hoc und Sheffé verwendet und eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0.05$ für signifikante Unterschiede zugrunde gelegt.

Um eine Beziehung zwischen und innerhalb der Gruppen feststellen zu können, wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman herangezogen.

4 Ergebnisse

Die Tiere waren zum Zeitpunkt der Euthanasie klinisch gesund. Bei der Präparation der Blutgefäße zeigten sich ebenfalls keinerlei Anzeichen von pathologischen Veränderungen.

Bei den präadulten GM konnten rechtsseitige Duplikaturen überwiegend im Bereich der Schultergliedmaßengefäße identifiziert werden. Zwei von fünf Tieren zeigten doppelte Vv. subclaviae. Fast alle Schweine besaßen doppelte Vv. axillares (n = 4 von 5) und drei GM Duplikaturen der Vv. brachiales. Jeweils ein GM besaß eine doppelte A. subclavia und ein anderes noch eine Doppelbildung der A. iliaca externa (Tab. 12). Zur Vermessung der Blutgefäßabschnitte wurde das jeweils größere Blutgefäß ausgewählt, welches dem normalen anatomischen Verlauf am ehesten entsprach.

Tab. 12: Duplikaturen der Blutgefäße bei den präadulten GM

Tiernummer	Blutgefäße (Duplikaturen)
Göttingen® Minipig 1	V. axillaris
Göttingen® Minipig 2	A. subclavia
Göttingen® Minipig 3	V. axillaris, V. brachialis
Göttingen® Minipig 4	V. subclavia, V. axillaris, V. brachialis
Göttingen® Minipig 5	V. subclavia, V. axillaris, V. brachialis, A. iliaca externa

4.1 Lichtmikroskopische Untersuchungen

Der überwiegende Anteil der aufbereiteten, transversal angeschnittenen Blutgefäße stellte sich auf den Objektträgern kreisrund dar. Einige Blutgefäße waren jedoch stellenweise kollabiert (Abb. 5 b). Gründe hierfür finden sich in dem verhältnismäßig instabilen Aufbau des Blutgefäßes selbst (v. a. Venen), sowie in der Entnahme (Immersionsfixation).

4.1.1 Qualitative Beschreibung

Die Untersuchungen am Lichtmikroskop zeigten zwischen den GM und der DL sowie zwischen den Altersgruppen keine wesentlichen qualitativen Unterschiede.

In Abbildung 5 a wurde als Vertreter einer typischen muskulären Arterie die Arteria femoralis mit ihrer deutlich erkennbaren Dreischichtung der Blutgefäßwand abgebildet. In Abbildung 5 b wurde dagegen eine klassische Vertreterin der elastischen Venen ausgewählt, die V. jugularis externa. Ihre Schichten der Venenwand waren nicht gut abgegrenzt. Die Vene stellte sich kollabiert dar.

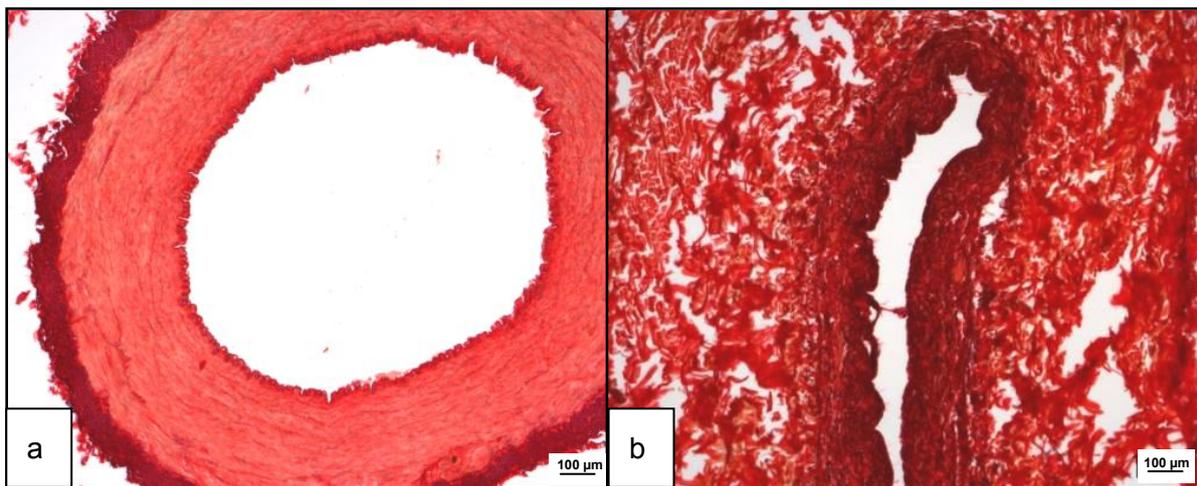


Abb. 5: Arteria femoralis und Vena jugularis externa im histologischen Anschnitt, quer, beide RFK, beide 50-fache Vergrößerung

4.1.1.1 Arterien

Bei allen präadulten und adulten GM und allen präadulten Schweinen der DL war der allgemeine Aufbau der Arterien gut zu erkennen. Die herznahen Arterien zeigten eine deutliche Tunica intima, sowie eine im Verhältnis sehr breite und den überwiegenden Anteil ausmachende mittlere Tunica media. Die äußere Tunica adventitia und ihre äußere elastische Membran war bei diesen Arterien relativ schwach ausgeprägt. Bei den herzfernen Arterien war die Tunica intima ebenfalls deutlich sichtbar und gut mit ihrer elastischen Membran zur Tunica media abgegrenzt. Die Tunica media dieser Arterien war auch hier die dickste Schicht, jedoch verhältnismäßig schmäler als die der herznahen Arterien.

Da die herznahen Arterien grundsätzlich einen hohen Anteil an elastischen Fasern in ihrer Tunica media besaßen, wurden sie auch als Arterien vom elastischen Typ (*Arteriae elastotypicae*) bezeichnet. Bei den herzfernen Arterien war dagegen der Anteil an elastischen Fa-

sern deutlich geringer und die glatten Muskelzellen übernahmen hier nun die wesentlichen Funktionen. Daher wurden diese auch als Arterien vom muskulären Typ (*Arteriae myotypicae*) bezeichnet. Arterien, die den Übergang zu den beiden Typen darstellten, wurden als *Arteriae mixtotypicae* bezeichnet (s. Kapitel 4.2.5). Die Anteile an extrazellulärer Matrix und die bestimmte Bauweise einzelner Strukturen der Blutgefäßwandschichten, auf die im Verlauf der Arbeit weiter eingegangen wird, führten zu der entsprechenden Einteilung der Blutgefäße der präadulten GM in Tab. 13. Zu den *Aa. elastotypicae* wurden die thorakalen Abschnitte der Aorta sowie der Truncus pulmonalis zugeordnet. Zu den *Aa. mixtotypicae* wurden die Aorta abdominalis und die Blutgefäße im Brustkorb mit Ausnahme der o. g. hinzugezählt. Alle weiteren Arterien in der Peripherie konnten den *Aa. myotypicae* hinzugerechnet werden.

Tab. 13: Zuordnung des Arterientyps bei den untersuchten Arterien der präadulten GM

<i>Aa. elastotypicae</i>	Aorta ascendens, Arcus aortae, Aorta thoracica, Truncus pulmonalis
<i>Aa. mixtotypicae</i>	Aorta abdominalis, Truncus brachiocephalicus, Truncus bicaroticus, A. subclavia
<i>Aa. myotypicae</i>	A. carotis communis, A. carotis externa und interna, A. brachialis, A. axillaris, A. femoralis, A. renalis, A. coeliaca, A. mesenterica cranialis und caudalis, A. iliaca interna und externa, A. sacralis mediana, A. thoracica interna

Die A. carotis communis stellte sich im Gegensatz zu den GM bei den zwei und drei Monate alten Schweinen der DL als Mischtyp dar.

4.1.1.2 *Aa. elastotypicae*

Zwischen den Altersgruppen der GM gab es bei dem Aufbau dieses Arterientyps kaum Unterschiede.

Die Tunica intima bestand zum einen aus Zellen, die ein lumenseitiges einschichtiges Endothel bildeten, die Zellkernanschnitte waren oval oder rund. Innerhalb der Aortenabschnitte der GM verringerte sich die Zellkernanzahl im Querschnitt pro gemessener Strecke (0,4 mm) von herznah zu herzfern. Die Arterien vom elastischen Typ der präadulten Minipigs wiesen dabei immer etwas weniger Zellkerne als die der adulten Minipigs auf (Tab. 14). Auf die Tunica intima folgend befand sich das Stratum subendotheliale, welches mehr Interzellulärsub-

stanz enthielt als das Stratum subendotheliale der Arterien vom muskulären Typ (Abb. 6 b). Die Membrana elastica interna war bei den Aa. elastotypicae die innerste elastische Membran, dicht gefolgt von weiteren elastischen Membranen der Tunica media (Abb. 6 b), wobei alle elastischen Membranen etwa gleich stark waren und miteinander vielfach in Verbindung standen.

Tab.14: Anzahl der Zellkerne pro 0,4 mm luminale Strecke ausgewählter Arterien der GM

Blutgefäß	Anzahl der Zellkerne, Präadulte GM	Anzahl der Zellkerne, Adulte GM
Aorta ascendens	20 ± 4,6	26 ± 2,8
Aorta thoracica	15 ± 5,1	23 ± 2,5
Aorta abdominalis	13 ± 4,8	11 ± 4,0
A. carotis communis	16 ± 3,8	14 ± 3,4
A. femoralis	19 ± 2,3	14 ± 2,8

Die Tunica media besaß verhältnismäßig viele durchgängig verlaufende elastische Fasern, die zur Tunica intima hin aus bis zu fünf dicht zusammengelagerten Fasern angeordnet waren und peripher in der Media sehr gleichmäßig und meanderförmig verliefen. Diese an der Tunica intima zusammengelagerten elastischen Fasern wurden im Gefäßverlauf von herznah zu herzfern immer weniger. Die glatten Muskelzellen verliefen im Querschnitt fast ausschließlich flachspiralig und weniger longitudinallyspiralig. Vasa vasorum kamen in dieser Schicht vereinzelt vor und waren gut zu erkennen. Deutliche Unterschiede in der Struktur dieser Schicht waren zwischen den präadulten und adulten GM nicht zu erkennen (Abb. 6 a, b).

Als relativ schlecht abzugrenzende Schicht stellte sich die äußere Tunica adventitia dar, die wie das umliegende Bindegewebe aus überwiegend kollagenen Fasern bestand und eng mit ihm verbunden war. Bei einigen Blutgefäßen wurde auch ein Teil der Tunica adventitia durch eine einschichtige Serosa gebildet. Dieser Anteil des Blutgefäßes lag nicht im umliegenden Gewebe, sondern frei in den Körperhöhlen, wie beispielsweise der ventrale Anteil der Aorta thoracica. Qualitative Unterschiede gab es innerhalb der untersuchten Tiere keine.

4.1.1.3 *Aa. myotypicae*

Bei allen untersuchten Schweinen waren die Endothelzellen bei diesem Arterientyp ebenfalls einschichtig angeordnet, abgeflacht und deren Kerne flach oder oval ausgeprägt. Die Zellkernanzahl war, im Gegensatz zu den *Aa. elastotypicae*, bei den präadulten GM höher als bei den adulten (Tab. 14). Die zwei und drei Monate alten DL-Schweine besaßen eine ähnliche Anzahl an Zellkernen, wie die präadulten GM (*A. carotis com.* ca. 19 Zellkerne, *A. femoralis* ca. 18 Zellkerne). Der subendotheliale Raum war bei den muskulären Arterien schmäler als bei den elastischen. Die präadulten Schweine der DL (2 Mo) und GM (18 Mo) hatten darüber hinaus ein noch schmäleres Stratum subendotheliale als die älteren DL-Schweine (3 Mo) und die adulten GM (40 Mo) (Abb. 16 a - d). Die abschließende und die Tunica intima von der Tunica media abgrenzende Struktur war die Membrana elastica interna, die bei diesem Arterientyp sehr deutlich sichtbar und charakteristisch war. Diese elastische Membran war bei den präadulten Schweinen der DL (2 Mo) und GM (18 Mo) überwiegend durchgängig, jedoch bei den präadulten DL (3 Mo) und adulten GM (40 Mo) häufig doppelt und unterbrochen angelegt (Abb. 16 b, d). Die Tunica intima besaß im Querschnitt bei den muskulären Arterien immer ein wellenförmiges Aussehen.

In der Tunica media waren bei den muskulären Arterien die glatten Muskelzellen vorherrschend. Diese verliefen in der mittleren Blutgefäßwandschicht flach- und longitudinallyspiralg. Jeweils eine elastische Lamelle lag zwischen glatten Muskelzellbündeln, wobei die elastischen Fasern miteinander netzförmig in Verbindung standen. Schnittbedingt erschienen sie oftmals nicht durchgängig. Die Dicke der elastischen Fasern war innerhalb der Media annähernd gleich, aber etwa halb so stark, wie die Membrana elastica interna. Die elastischen Fasern waren bei den adulten GM zum Gefäßlumen hin dichter angeordnet (Abb. 6 f).

Die Tunica adventitia bestand aus zwei Abschnitten. Der an die Tunica media angrenzende Abschnitt besaß einen hohen Anteil an überwiegend longitudinal verlaufenden elastischen Fasern und war deutlich abgrenzbar. Es konnte jedoch keine zirkulär verlaufende Membrana elastica externa von den anderen elastischen Fasern des Adventitiaabschnitts unterschieden werden. Der zweite Abschnitt bestand mehr aus lockerem kollagenem Bindegewebe und weniger elastischen Fasern. Dieser Abschnitt war meistens mit dem umliegenden Bindegewebe verbunden. Dadurch war dieser Bereich der Tunica adventitia nicht gut von den anderen Strukturen abzugrenzen. Grundsätzlich verschob sich das Media/Adventitia-Verhältnis von elastischen zu muskulären Arterien zugunsten der Adventitia.

Während bezüglich der Tunica intima die oben erwähnten altersabhängigen Unterschiede zu finden waren, war kein qualitativer Unterschied zwischen den Rassen erkennbar.

4.1.1.4 Aa. mixtotypicae

Bei den GM konnten Aa. mixtotypicae gefunden werden (Tab. 9). Sie zeichneten sich aus durch Merkmale der Arterien vom elastischen Typ und der vom muskulären Typ und stellten somit den Übergang im Blutgefäßverlauf zu diesen beiden Typen dar. Die Merkmale konnten unterschiedlich im Mischtyp vorkommen. Beispielsweise konnte die Tunica intima keine deutliche Membrana elastica interna besitzen und die elastischen Fasern der Tunica media waren dann etwas weniger und schmaler und erschienen stellenweise unterbrochen. Der Anteil an muskulären Fasern war höher als bei den Aa. elastotypicae jedoch niedriger als bei den Aa. myotypicae. Die Tunica externa war etwas deutlicher ausgebildet, erschien aber noch nicht eindeutig zweischichtig wie bei den muskulären Arterien (Abb. 6 c, d). Oder aber die Tunica intima besaß eine deutliche Membrana elastica interna, jedoch auch noch einen relativ hohen Anteil an elastischen Fasern in der Tunica media, die ebenfalls so stark erschienen, wie die innerste elastische Membran der Tunica intima. Die Adventitia war deutlich zweigeteilt.

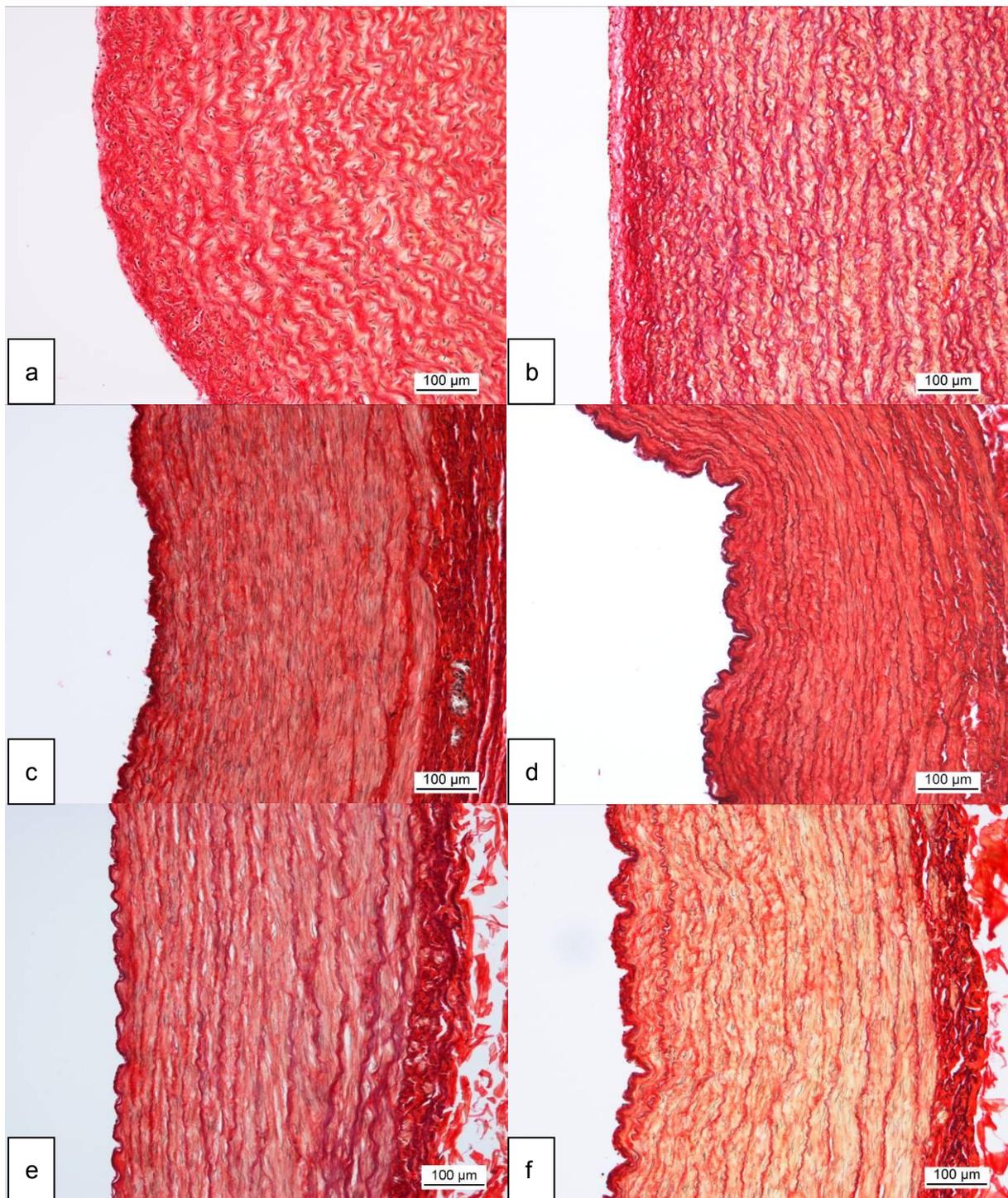


Abb. 6: Präadulte (a, c, e) und adulte (b, d, f) Arterien von GM im histologischen Anschnitt, quer, RFK; a, b: Aorta ascendens (Aa. elastotypicae); c, d: Aorta abdominalis (Aa. mixtotypicae); e, f: A. carotis communis (Aa. myotypicae)

4.1.1.5 Venen

Die Venen zeigten bis auf einige Ausnahmen ebenfalls einen ähnlichen Grundaufbau, wie die Arterien. Die Tunica intima war im Verhältnis zur Tunica intima der Arterien eine dünnere Schicht und besaß im Verhältnis zu diesen mehr Endothelzellen pro luminaler Strecke mit runden Kernanschnitten (Tab. 15). In Venen mit einer deutlich erkennbaren muskulären Tunica media, wie zum Beispiel der V. renalis und V. femoralis, war eine der Membrana elastica interna entsprechende, aber wesentlich dünnere elastische Lamelle zu erkennen (Abb. 7).

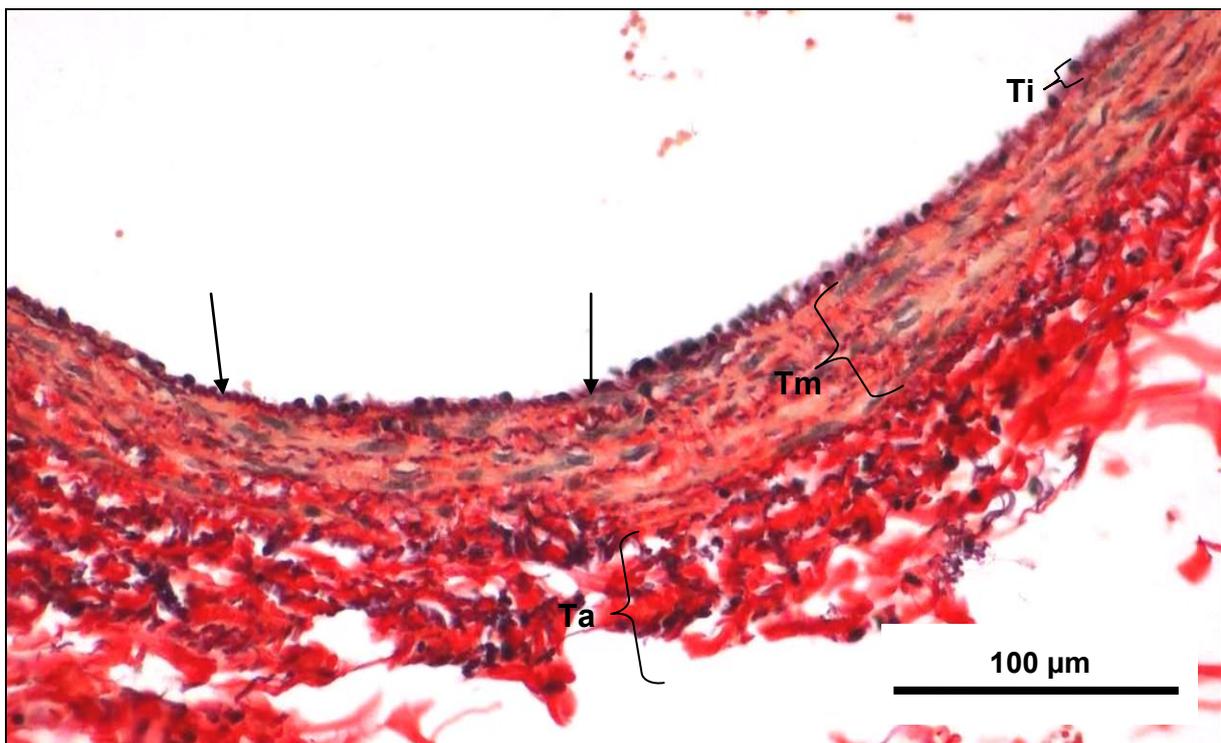


Abb. 7: DL (2 Mo), V. femoralis: Tunica intima (Ti), Membrana elastica interna (Pfeile), Tunica media (Tm), Tunica adventitia (Ta); RFK

Tab. 15: Anzahl der Zellkerne pro 0,4 mm luminale Strecke ausgewählter Venen der GM

Blutgefäß	Anzahl der Zellkerne, Präadulte GM	Anzahl der Zellkerne, Adulte GM
V. jugularis externa	25 ± 3,2	27 ± 4,2
V. femoralis	28 ± 4,1	22 ± 1,7
V. cava caudalis	29 ± 5,3	

Die Tunica media war bei den Venen eine sehr variable Schicht. Ähnlich wie bei den Arterien gab es auch Venen, die in ihrer mittleren Schicht mehr glatte Muskelzellen enthielten als elastische Fasern und umgekehrt. Als Besonderheit war die Tunica media der Vena cava cranialis zu sehen, die bei allen untersuchten präadulten GM ($n = 5$) überwiegend quer und längs angeschnittene Herzmuskelzellen aufwies (Abb. 8 c, d). Diese kompakten Muskelzellbündel wurden vor allem von elastischen Fasern umgeben, in denen häufig Vasa vasorum und auffällig viele Fettzellen enthalten waren. Eine auf die Tunica intima direkt folgende zirkulär verlaufende Muskelzellschicht aus glatten Muskelzellen, wie sie bei vielen Venen zu finden war, fehlte bei der Vena cava cranialis. Dagegen lag der Tunica intima zunächst überwiegend gebündelt zirkulär verlaufende elastische Fasern an, die von kollagenen Fasern begleitet wurden. Ebenfalls zeigte der Aufbau der Tunica media der Vena portae Besonderheiten. Sie besaß bei den präadulten wie auch adulten GM zwei Schichten an Muskelzellbündeln. Die innere, an der Tunica intima, angrenzende Schicht verlief zirkulär und die äußere Schicht longitudinal (Abb. 10 c, d). Bei Venen mit Venenklappen (Vv. jugulares externae) im Querschnitt war die Tunica media an dieser Stelle (Klappenbasis) verdickt (Abb. 9 a).

Die Tunica adventitia war bei den Venen sehr vielfältig. Bei vielen bestand sie lediglich aus lockerem Bindegewebe, welches kaum Vasa vasorum, Nerven oder andere Strukturen enthielt und mit dem umliegenden Gewebe in Verbindung stand (z. B. Vena jugularis externa). Die Vena portae besaß dagegen in ihrer Adventitia neben Fettgewebe zahlreiche Blut- und Lymphgefäße, Nerven und Vasa vasorum, die überwiegend von kollagenem Bindegewebe umgeben waren. Die Tunica adventitia der Vena cava cranialis fiel unter anderem durch ihre Ansiedlung von Fettzellen auf, die wie Polster an drei Stellen der Venenwand lagen, eine davon befand sich auf der dorsalen Seite des Blutgefäßes (Abb. 8 c). Auch bei diesem Blutgefäß befanden sich zahlreiche Vasa vasorum, Nerven und sogar vereinzelt Herzmuskelzellbündel. Die Tunica adventitia war grundsätzlich bei allen untersuchten Tieren nicht deutlich zum umliegenden Bindegewebe abzugrenzen.

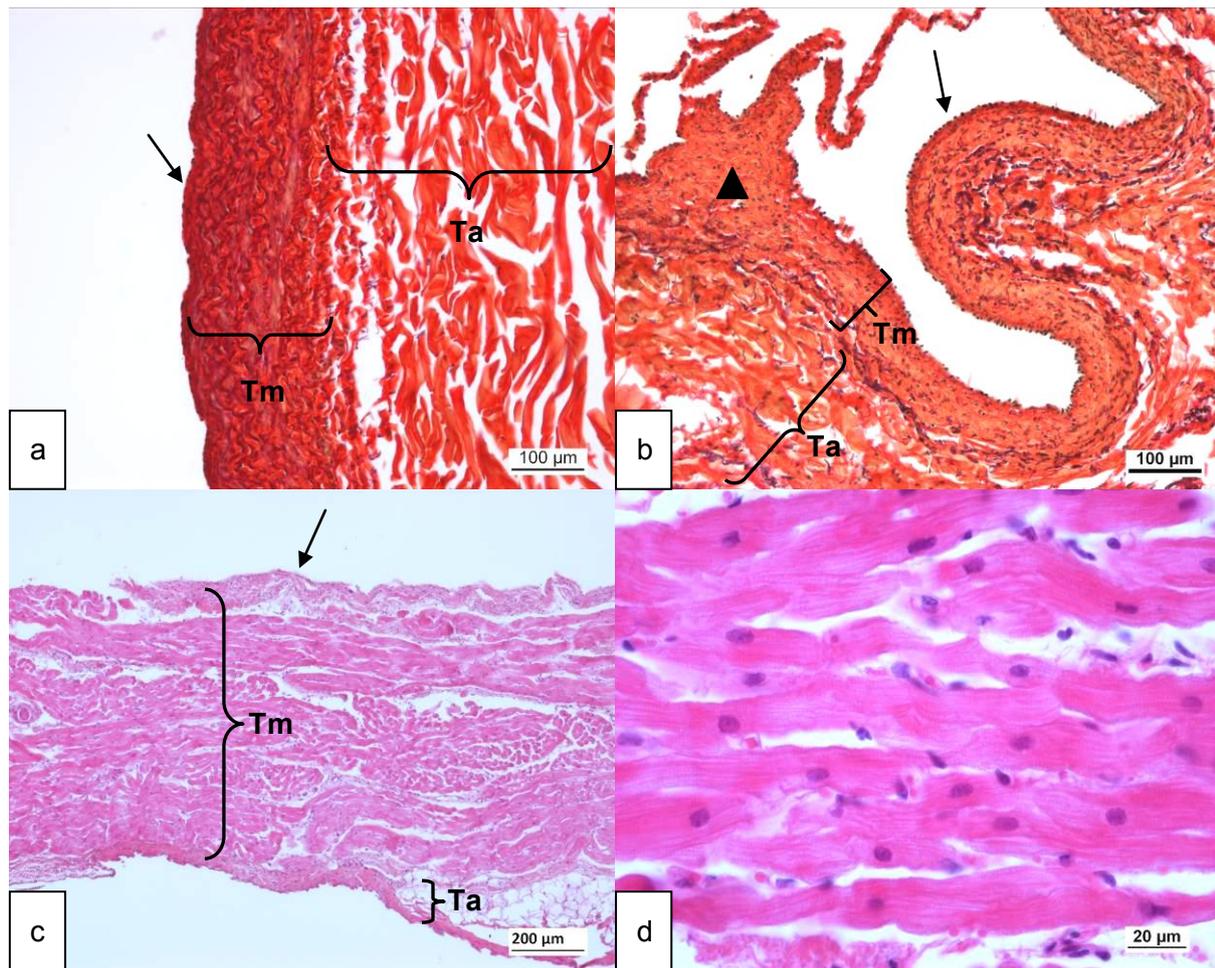


Abb. 8: GM, präadult (18 Mo), weiblich, 26 kg, Blutgefäße im Querschnitt; a: V. jugularis externa; RFK; b: V. brachialis, RFK; c: V. cava cranialis, HE; d: Herzmuskelzellen der V. cava cranialis in der Tunica media, HE; Tunica intima (Pfeile), Tunica media (Tm), Tunica adventitia (Ta), Klappenbasis (Pfeilkopf)

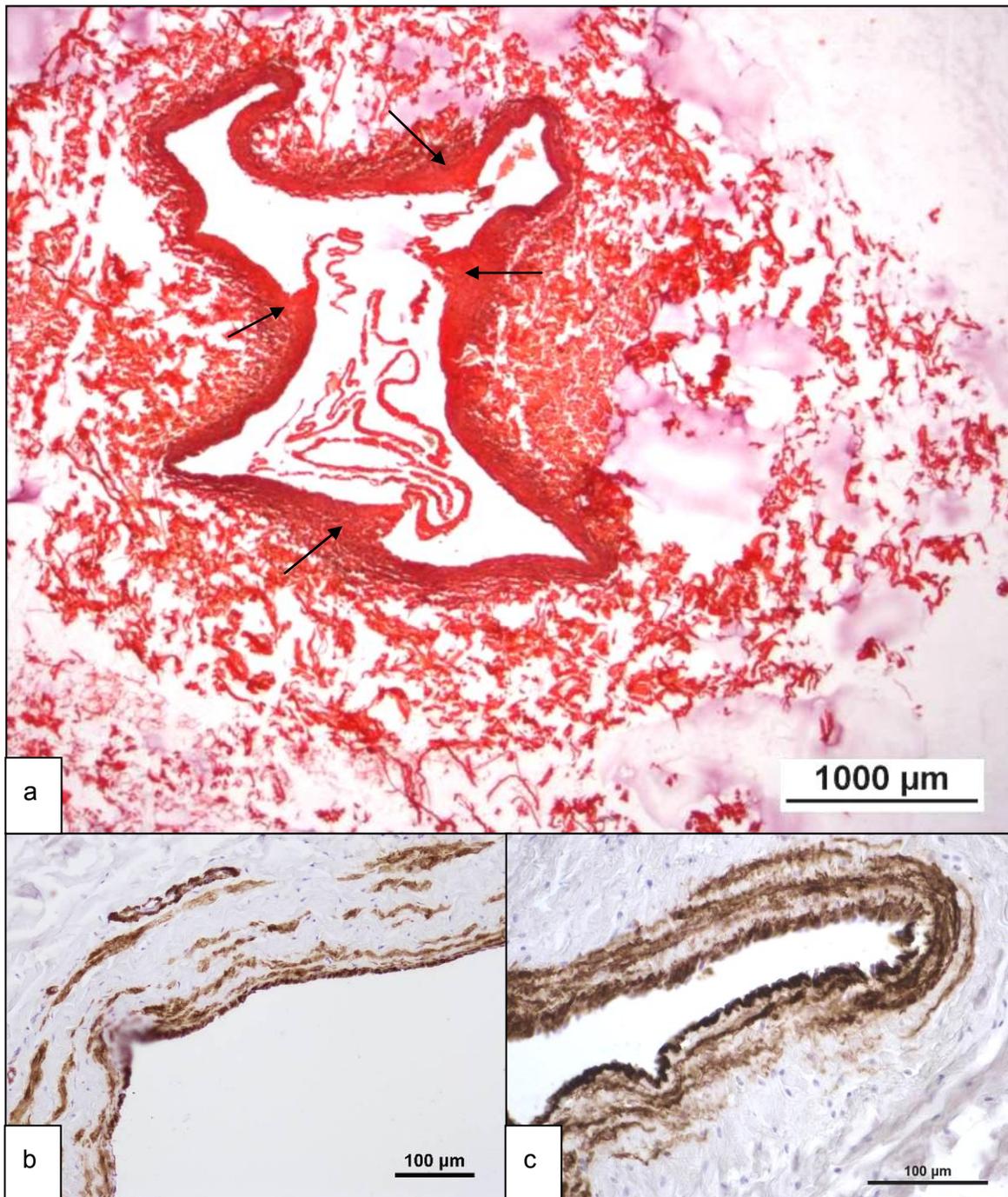


Abb. 9: a und b: V. jugularis externa im Querschnitt vom GM adult mit a: Klappenbasis (Pfeile) RFK; b: glatte Muskelzellen (braun), α -SMA-Nachweis; c: V. subclavia im Querschnitt mit glatten Muskelzellen (braun), α -SMA-Nachweis

Ähnlich wie bei den Arterien konnten die Venen in Typen eingeteilt werden, die gleiche Merkmale miteinander vereinten. Bei den Venen waren es zwei Typen – der elastische und muskuläre Typ (Tab. 16). Die Tunica intima war gleich aufgebaut bis auf eine Membrana elastica interna - ähnliche Struktur bei den muskulären Venen (Abb. 7). Die Tunica media war bei diesen Venen deutlich mit zirkulär angeordneten Muskelzellen durchzogen, welche durch die Anwesenheit von α -SMA nachgewiesen werden konnten (Abb. 9 c). Der Anteil an elastischen Fasern war dagegen bei den elastischen Venen sichtbar höher (Abb. 8 a) und der Anteil an glatten Muskelzellen geringer, was ebenfalls in den SMA-Schnitten sichtbar wurde (Abb. 9 b). Die Tunica adventitia war bei beiden Typen aus lockerem Bindegewebe. Der Nachweis von α -SMA in der Adventitia war bei allen Venen negativ.

Tab. 16: Zuordnung der Venen der präadulten GM zu einem Venentyp

Venen elastischen Typs	V. jugularis externa, V. cephalica, V. subclavia, V. iliaca externa
Venen muskulären Typs	V. jugularis interna, V. cava cranialis und caudalis, V. axillaris, V. brachialis, V. thoracica interna, V. femoralis, Vena portae, V. renalis

Folgende Blutgefäße enthielten aufgrund ihrer engen topografischen Lagebeziehungen zu Nachbarstrukturen im Bereich der Adventitia Nerven, Ganglien, Vasa vasorum, Lymphgefäße und Parenchym (Abb.10).

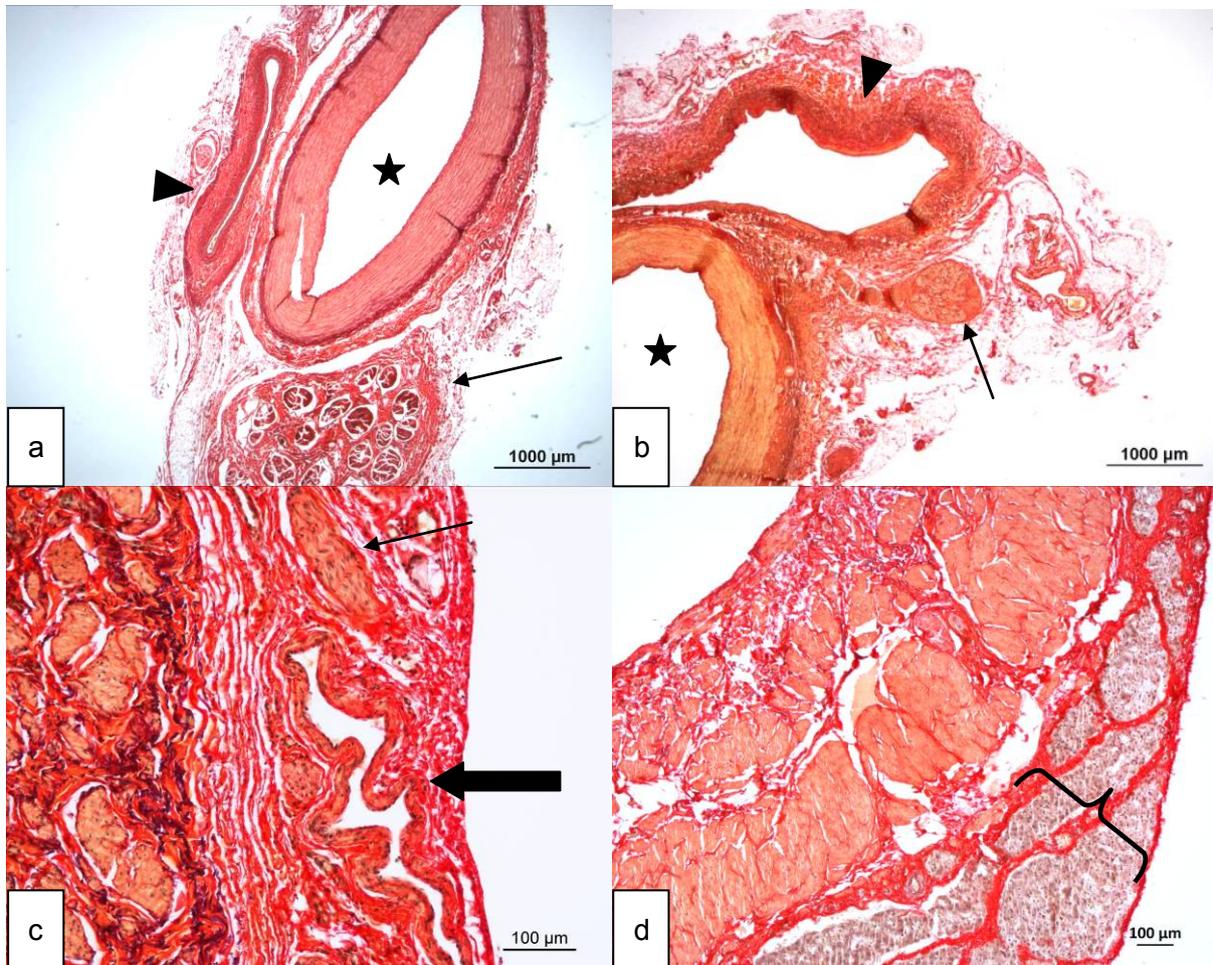


Abb. 10: GM, präadult (18 Mo) im Querschnitt, RFK (a-c), GM, adult (42 Mo) im Querschnitt, RFK (d); a: V. jugularis interna (Pfeilkopf) mit A. carotis communis (Stern) und N. vagus (Pfeil); b: V. cava caudalis (Pfeilkopf) mit Aorta abdominalis (Stern) und Ganglion mesentericum caudale (Pfeil); c, d: V. portae mit Vasa vasorum (dicker Pfeil), Nerven (Pfeil) und Leberparenchym (Klammer)

4.2 Quantitative Untersuchungen der Blutgefäßwand

4.2.1 Gefäßinnendurchmesser

Die Gefäßinnendurchmesser zeigten bei allen Schweinen ein einheitliches Verhalten im Blutgefäßverlauf. So nahm der Durchmesser von herznahen zu herzfernen Blutgefäßen ab, vergrößerte sich jedoch zunächst bei zwei von fünf präadulten GM (Tier 4 und 5) von der Aorta ascendens zum Arcus aortae hin (Abb. 11). Von der Aorta ascendens zur A. sacralis mediana ergab sich eine Verkleinerung des Innendurchmessers von 73 %. Bei der Betrachtung ausgewählter Arterien und Venen (Tab. 17) waren bei den präadulten und adulten GM unterschiedliche Messwerte zu sehen. Diese waren jedoch nicht signifikant. Bei den präadulten GM hatte die elastische V. jugularis externa einen signifikant größeren Innendurchmesser als die muskuläre V. jugularis interna ($p = 0,000$).

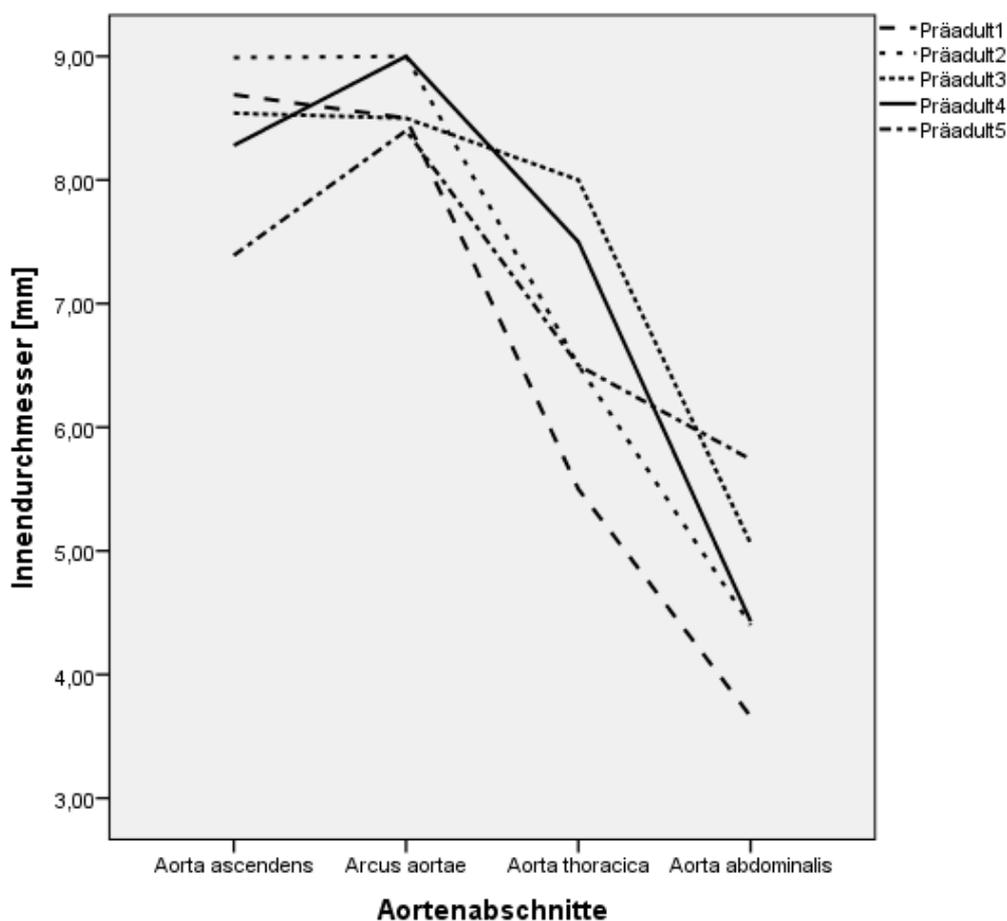


Abb. 11: Innendurchmesser der präadulten GM

Innerhalb der DL waren die Werte der A. carotis communis ähnlich. Der Innendurchmesser der älteren Schweine der DL war mit $1,6 \pm 0,5$ mm unwesentlich kleiner als bei den zwei Monate alten DL-Schweinen mit $1,8 \pm 0,3$ mm. Im Gegensatz dazu war der Innendurchmesser der A. femoralis ($p = 0,000$) und der V. femoralis ($p = 0,002$) bei den etwas älteren Schweinen (3 Mo) signifikant größer als bei den zwei Monate alten DL-Schweinen (Tab. 17). Bei der V. jugularis externa gab es innerhalb der DL-Schweine keine signifikanten Unterschiede.

Die Innendurchmesser der A. carotis communis der präadulten GM waren signifikant höher als die der DL-Schweine (DL (2 Mo): $p = 0,042$, DL (3 Mo): $p = 0,009$). Die Messwerte der A. femoralis von den 3 Monate alten Schweinen der DL waren signifikant höher als die der gleich schweren adulten GM ($p = 0,000$). Gegenüber den präadulten GM waren die Messwerte der V. femoralis ebenfalls signifikant höher ($p = 0,030$).

Tab. 17: Innendurchmesser [mm] der Aortenabschnitte und ausgewählter Blutgefäße der GM und DL

Blutgefäß	Innendurchmesser in mm							
	DL (2 Mo)		DL (3 Mo)		GM (präadult)		GM (adult)	
	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw
Aorta ascendens					7,8	0,3	8,3	1,1
Arcus aortae					8,7	0,3		
Aorta thoracica					6,8	1,0	7,2	0,3
Aorta abdominalis					4,7	0,8	3,0	0,8
A. sacralis mediana					2,1	0,4		
A. carotis communis	1,8	0,3	1,6	0,5	2,6	0,3	2,1	0,5
A. femoralis	1,6	0,3	2,6	0,4	2,3	0,2	1,0	0,2
V. femoralis	1,1	0,4	2,6	0,6	1,5	0,3	1,9	0,7
V. jugularis externa	6,0	0	5,2	0,8	4,0	0,6	4,8	1,2

Bei einigen Venen, wie zum Beispiel der V. cava caudalis und der V. renalis, war der Durchmesser signifikant größer als der der parallel verlaufenden Arterie (Tab. 18).

Tab. 18: Innendurchmesser parallel verlaufender Blutgefäße von den präadulten GM

Blutgefäß	Mittelwert, Innendurchmesser [mm]	Stabw
Aorta abdominalis	4,7	0,8
V. cava caudalis	5,2	2,2
A. carotis communis	2,6	0,3
V. jugularis interna	1,4	0,2
A. renalis	2,7	0,8
V. renalis	4,0	1,6
A. femoralis	2,3	0,2
V. femoralis	1,5	0,3

4.2.2 Dicke der Tunica intima

Es wurden folgende Strukturen zur Messung der Tunica intima herangezogen: die Lamina endothelialis, das Stratum subendotheliale und die Membrana elastica interna; daher wurde die Dicke der Tunica intima von der Form der Endothelzellen, der Ausbildung des Stratum subendotheliale und der Ausprägung der Membrana elastica interna bestimmt. Dabei hatten die Arterien normalerweise abgeflachte bis ovale Endothelzellkerne, währenddessen bei den Venen in der Regel ovale bis runde Endothelzellkerne erkennbar waren. Trotzdem war die Tunica intima der Arterien überwiegend breiter gegenüber der Tunica intima der Venen. Trotz des Vorhandenseins innerer elastischer Membranen der Venen vom muskulären Typ war das Stratum subendotheliale bei den Venen aufgrund weniger extrazellulärer Matrix sehr schwach ausgebildet (s. Kapitel 4.1.1).

Die Dicke der Tunica intima zeigte sich in den arteriellen Abschnitten sehr variabel (von 4,4 μm der A. renalis bis 8,7 μm der Aorta ascendens), wohingegen sie bei den venösen Abschnitten mit ca. 4 μm relativ konstant blieb (3,3 μm V. cava cranialis bis 4,9 μm V. femoralis). Die Tunica intima verhielt sich im Gefäßverlauf wie der Innendurchmesser und nahm von der herznahen Aorta ascendens zur herzfernen A. sacralis mediana bis zu 39 % ab (Tab. 19).

Bezüglich der Dicke der Tunica intima gab es innerhalb der GM keine signifikanten Unterschiede. Im Gegensatz dazu war anhand der Messwerte bei den Arterien ein signifikantes Wachstum der Tunica intima von den zwei zu den drei Monate alten Schweinen der DL zu sehen (A. carotis communis: $p = 0,001$, A. femoralis: $p = 0,000$). Die drei Monate alten DL-Schweine hatten, mit Ausnahme der A. femoralis (GM (18 Mo): $p = 0,001$; GM (40 Mo): $p = 0,009$), keine signifikant dickere Tunica intima als die GM (Tab. 19). Die Intimadicken der Venen verhielten sich jedoch zwischen den Altersgruppen sowie zwischen der Zuchtlinie GM und der konventionellen Schweinerasse DL relativ konstant.

Tab. 19: Dicke der Tunica intima [μm] der Aortenabschnitte und ausgewählter Blutgefäße der GM und DL

Blutgefäß	Tunica intima in μm							
	DL (2 Mo)		DL (3 Mo)		GM (präadult)		GM (adult)	
	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw
Aorta ascendens					8,4	0,6	8,7	0,7
Arcus aortae					6,7	1,1		
Aorta thoracica					5,7	0,5	7,7	1,7
Aorta abdominalis					6,0	0,3	6,0	0,8
A. sacralis mediana					5,1	0,6		
A. carotis communis	3,9	0,1	5,8	0,3	5,9	1,2	5,0	0,4
A. femoralis	4,1	0,5	6,5	0,7	4,7	0,3	4,9	0,8
V. femoralis	4,0	0,3	3,9	0,1	3,8	0,2	4,9	0,2
V. jugularis externa	3,5	0,0	4,0	0,1	3,7	0,5	3,7	0,3

4.2.3 Dicke der Tunica media

Die Tunica media, die zwischen der Tunica intima und Tunica adventitia liegt, stellte die stärkste Gefäßwandschicht dar. Ihre Dicke zeigte sich sehr variabel und reichte bei den Arterien von etwa 187 μm (A. mesenterica caud.) bis 1700 μm (Aorta ascendens). Dabei nahm sie ebenfalls wie der Innendurchmesser und wie die Tunica intima im Blutgefäßverlauf von herznah zu herzfern in ihrer Dicke ab. Innerhalb der Aortenabschnitte lag die Abnahme der Mediadicke bei etwa 71 % (Tab. 20).

Die Messwerte der Aortenabschnitte zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen der GM (Aorta ascendens: $p = 0,014$; Aorta thoracica: $p = 0,012$). Die Tunica media der älteren GM war bei den gemischten und muskulären Arterien nicht signifikant dicker. Bei den Venen gab es ebenfalls keine signifikanten Schwankungen der Mediadicken zwischen den Altersgruppen (Tab. 20). Bei den präadulten GM besaß die V. jugularis externa mit $142,2 \pm 20,1 \mu\text{m}$ keine signifikant dickere Tunica media als die V. jugularis interna mit $57,7 \pm 17,4 \mu\text{m}$ ($p = 0,078$).

Bei den Schweinen der DL verhielt es sich wie bei den GM. Die Blutgefäße der drei Monate alten Schweine hatten eine signifikant dickere Tunica media als die der zwei Monate alten Schweine (A. carotis communis und A. femoralis: $p = 0,000$) mit Ausnahme der V. femoralis. Die Tunica media der A. carotis communis verzeichnete von den zwei Monate alten zu den drei Monate alten DL-Schweinen ein Dickenwachstum von ca. 60 % (Tab. 20). Der Mittelwert der Tunica media der A. carotis communis und A. femoralis war bei den DL-Schweinen (2 Mo) von allen erhaltenen Mittelwerten der niedrigste. Die DL-Schweine (3 Mo) und die adulten GM (40 Mo) besaßen ähnlich hohe Mittelwerte. Die Vena jugularis externa der adulten GM hatte dagegen mit $109,5 \pm 24,2 \mu\text{m}$ die schmalste und die der drei Monate alten DL-Schweine mit $180 \pm 37,2 \mu\text{m}$ die dickste Tunica media. Die Mittelwerte der jüngeren Schweine waren bei der V. jugularis externa ähnlich (Tab. 20).

Tab. 20: Dicke der Tunica media [μm] der Aortenabschnitte und ausgewählter Blutgefäße der GM und DL

Blutgefäß	Tunica media in μm							
	DL (2 Mo)		DL (3 Mo)		GM (präadult)		GM (adult)	
	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw
Aorta ascendens					1369,9	169,4	1722,9	50,4
Arcus aortae					1399,8	113,8		
Aorta thoracica					827,1	147,0	1221,1	160,1
Aorta abdominalis					498,5	27,3	553,2	246,7
A. sacralis mediana					392,2	134,5		
A. carotis communis	206,4	32,6	522,7	105,7	386,8	42,9	510,0	58,1
A. femoralis	168,0	34,9	333,7	44,2	211,7	38,5	284,6	39,9
V. femoralis	69,5	37,7	48,7	10,4	59,4	8,8	65,0	16,3
V. jugularis externa	140,7	0,0	180,1	37,2	142,2	20,1	109,5	24,2

4.2.4 Dicke der Tunica externa

Die Tunica externa stellte eine sehr variable Schicht dar und war nicht immer eindeutig vom umliegenden Bindegewebe abzugrenzen, sodass sie nicht bei allen entnommenen Blutgefäßen vermessen werden konnte. Das war beispielsweise bei den thorakalen Abschnitten der Aorta und den großen Arterienstämmen der Fall, welche als Tunica externa vor allem dorsal eine relativ schmale Schicht aus lockerem Bindegewebe besaßen, das mit dem umliegenden Gewebe verbunden war. Überwiegend befand sich auf der ventralen Seite dieser Blutgefäße eine sehr dünne seröse Schicht. Bei den muskulären Arterien sowie bei den Arterien vom Mischtyp war die Tunica externa zweischichtig aufgebaut (Abb. 12 a, b). Bei den Messungen wurde jedoch nur die deutlich abgrenzbare, an der Tunica media angrenzende Schicht berücksichtigt, die überwiegend aus in Längsrichtung verlaufenden elastischen Fasern bestand. Die außen anliegende lockere, schlecht abgrenzbare Schicht aus überwiegend kollagenen Fasern wurde bei den Messungen außen vor gelassen.

Im Blutgefäßverlauf der präadulten GM war kein typisches Muster der Dicke von der Innenschicht der Tunica externa zu erkennen. Diese innere Schicht war sehr variabel. Innerhalb der GM gab es bei den Arterien vom Mischtyp keine signifikanten Unterschiede, während bei der muskulären A. femoralis eine signifikante Zunahme ($p = 0,002$) der inneren Schicht der Tunica externa bei den adulten GM zu verzeichnen war.

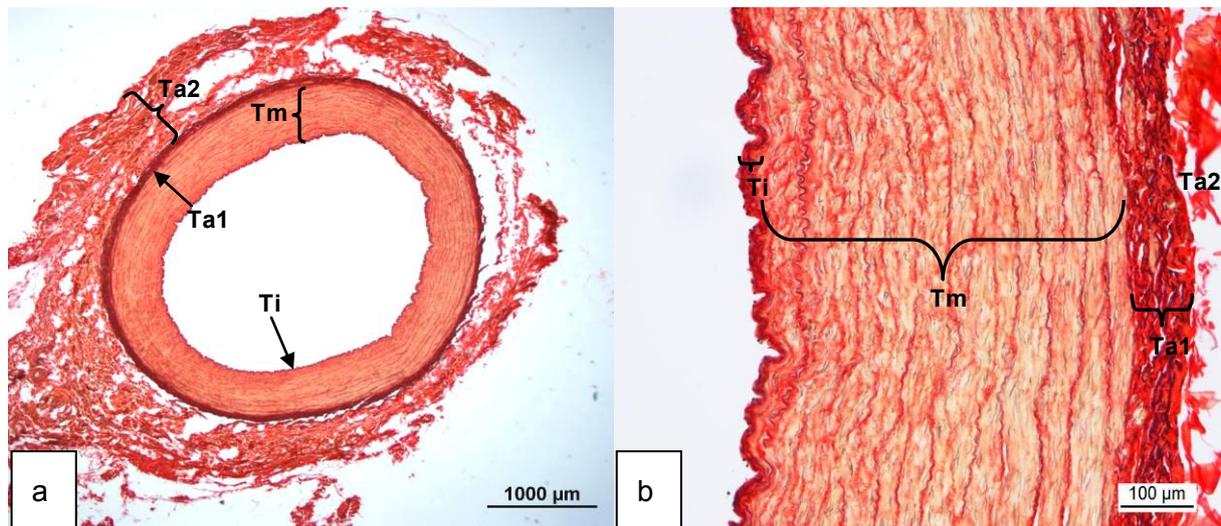


Abb. 12: A. carotis communis, GM, adult, RFK, quer; a, b: Tunica intima (Ti), Tunica media (Tm), innere Schicht der Tunica adventitia (Ta1), äußere Schicht der Tunica adventitia (Ta2)

Bei den Schweinen der drei Monate alten DL fielen die verhältnismäßig hohen Werte der inneren Schicht der Tunica externa der A. carotis communis und A. femoralis auf (Tab. 21). Die jüngeren zwei Monate alten Schweine hatten ähnliche Werte wie die adulten GM und die etwas älteren drei Monate alten Schweine der DL hatten signifikant höhere Werte als alle anderen untersuchten Schweine (A. carotis communis: $p = 0,000$).

Tab. 21: Dicke der Innenschicht der Tunica externa [μm] ausgewählter Arterien der GM und DL

Blutgefäß	Tunica externa in μm (Innenschicht)							
	DL (2 Mo)		DL (3 Mo)		GM (präadult)		GM (adult)	
	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw
Aorta abdominalis					103,5	16,9	95,9	16,9
A. carotis com.	67,0	9,4	120,2	19,9	54,8	6,4	62,7	2,9
A. carotis ext.					58,5	14,6		
A. carotis int.					50,1	1,2		
Truncus pulmonalis					235,5	58,3		
A. coeliaca					71,8	16,4		
A. mesenterica cran.					175,7	17,0		
A. mesenterica caud.					86,6	18,4		
A. iliaca ext.					63,6	16,1		
A. iliaca int.					68,8	15,6		
A. sacralis mediana					41,8	25,3		

A. renalis					82,2	16,6		
A. subclavia					53,8	14,0		
A. axillaris					72,2	6,6		
A. brachialis					42,6	13,0		
A. thoracica interna					28,8	4,9		
A. femoralis	63,3	8,0	94,7	10,8	47,8	4,9	76,8	7,8

4.2.5 Extrazelluläre Matrix und glatte Muskelzellen

Zur Messung der extrazellulären Matrix wurden die wesentlich funktionstragenden Strukturen - elastische und kollagene Fasern - herangezogen und zusammen mit den glatten Muskelzellen ins Verhältnis gesetzt. Diese drei Komponenten wurden in dieser Arbeit ausschließlich in der Tunica media von Arterien ermittelt, da sie in dieser Gefäßwandschicht den funktionellen Charakter des Blutgefäßes bestimmen.

Die kollagenen Fasern waren bei den vorliegenden Messungen im Verhältnis zu den elastischen Fasern und glatten Muskelzellen mit einem Anteil von ca. 30 % stets konstant. Dagegen waren die elastischen Fasern und die glatten Muskelzellen in ihrem Anteil sehr variabel. Dabei korrelierten die elastischen Fasern und glatten Muskelzellen in dieser Arbeit negativ miteinander (Abb. 13, 14).

Die herznahen Blutgefäße bzw. Aa. elastotypicae besaßen deutlich höhere Anteile an elastischen Fasern als die herzfernen Arterien bzw. Aa. myotypicae. Der Anteil an glatten Muskelzellen war bei gleichbleibendem Anteil an kollagenen Fasern in diesen Gefäßen relativ gering. Zu diesen Arterien zählten die thorakalen Abschnitte der Aorta mit dem Arcus aortae, der Aorta ascendens und der Aorta thoracica mit einem elastischen Fasergehalt von rund 37 % und einem Gehalt an glatten Muskelzellen von rund 35 %. Hierbei gab es zwischen den gemessenen Werten der präadulten und adulten GM keine signifikanten Unterschiede.

Die Aa. myotypicae besaßen in ihrer Tunica media einen überwiegenden Anteil an glatten Muskelzellen und einen verhältnismäßig geringen Anteil an elastischen Fasern. Sie hatten einen muskulären Zellanteil von etwa über 45 %, bei einem kollagenen Anteil von durchschnittlich 30 %. Dazu gehörten unter anderem die herzfernen Gliedmaßenarterien (A. bra-

chialis, A. femoralis) sowie die Halsschlagader A. carotis communis der präadulten und adulten GM.

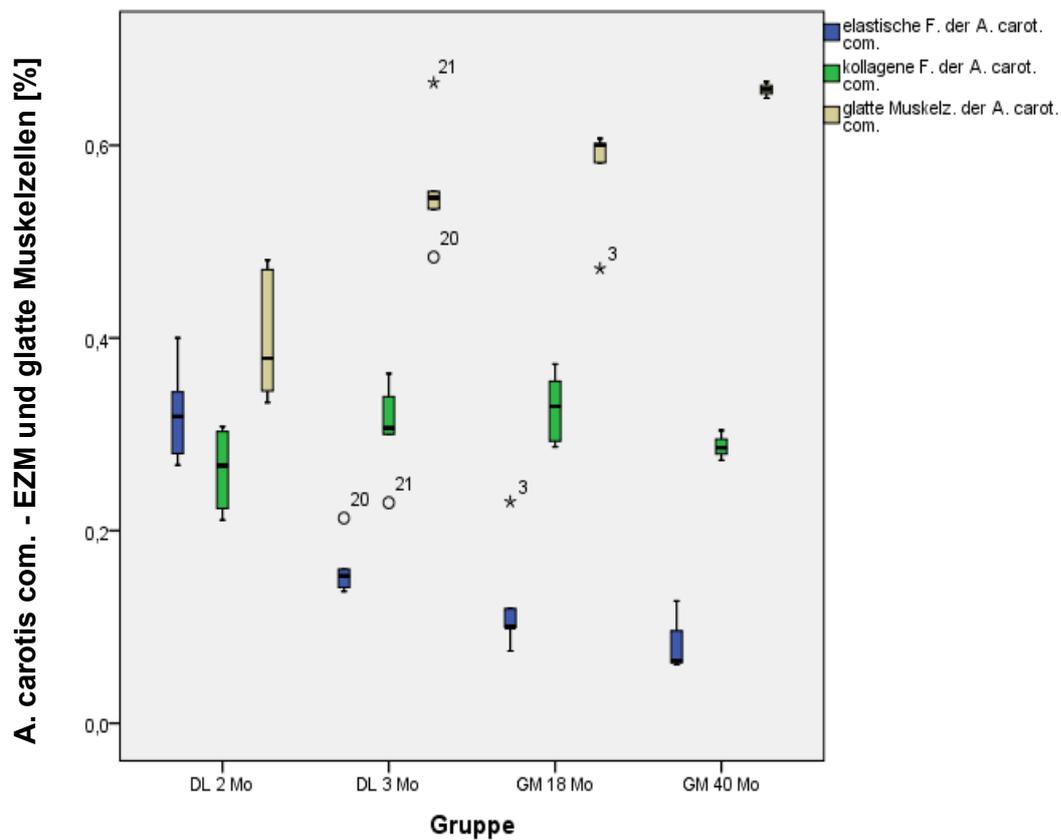


Abb. 13: Anteile der EZM und glatten Muskelzellen in der Tunica media der A. carotis communis aller Altersgruppen

Der Elastinanteil an der EZM betrug bei den intrathorakalen Arterien der GM durchschnittlich etwa 53 % und bei den muskulären Arterien, wie der A. carotis communis und der A. femoralis etwa 27 %.

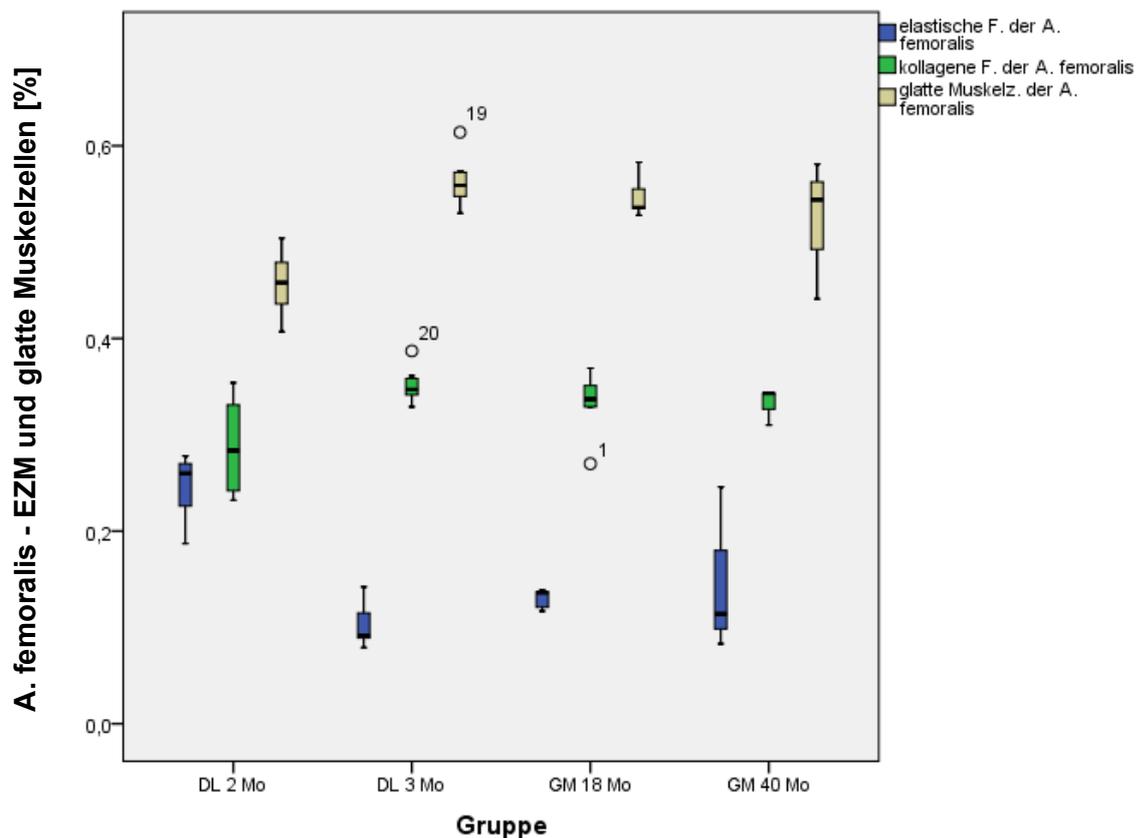


Abb. 14 : Anteile der EZM und glatten Muskelzellen in der Tunica media der A. femoralis aller Altersgruppen

Hinsichtlich der Flächenanteile der elastischen und kollagenen Fasern sowie glatten Muskelzellen in der Media der A. carotis communis und der A. femoralis gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den präadulten und adulten GM. Auch stimmten die Werte der GM mit denen der drei Monate alten DL überein. Dagegen wichen die Messwerte von den jungen Schweinen der DL (2 Mo) von denen der anderen signifikant ab (A. carotis communis: $p = \leq 0,002$). Hier lag der Anteil an glatten Muskelzellen zwischen 35 % und 40 % und der Anteil an elastischen Fasern bei etwa 32 % (Abb. 13, 14). Da die drei Monate alten DL etwa so schwer waren wie die GM, konnte eine Masseabhängigkeit vermutet werden. Die Körpermasse der Schweine korrelierte mittelgradig negativ (Spearman) mit dem Flächenanteil der elastischen Fasern in der Tunica media (A. carotis communis: $r = -0.69$, A. femoralis: $r = -0.74$) und mittelgradig positiv mit dem Flächenanteil der glatten Muskelzellen in der Tunica media (A. carotis communis: $r = 0.77$, A. femoralis: $r = 0.56$; Abb.15 a, b).

Ebenso konnte eine Altersabhängigkeit festgestellt werden. Die Korrelationskoeffizienten (Spearman) betragen für die elastischen Fasern $r = -0.87$ (A. carotis communis) und $r = -0.48$

(A. femoralis) sowie für die glatten Muskelzellen $r = 0.82$ (A. carotis communis) und $r = 0.48$ (A. femoralis). Weiterhin ergaben sich starke negative Korrelationen zwischen den Flächenanteilen der elastischen Fasern und glatten Muskelzellen in der Media der A. carotis communis ($r = -0.93$) sowie der A. femoralis ($r = -0.78$).

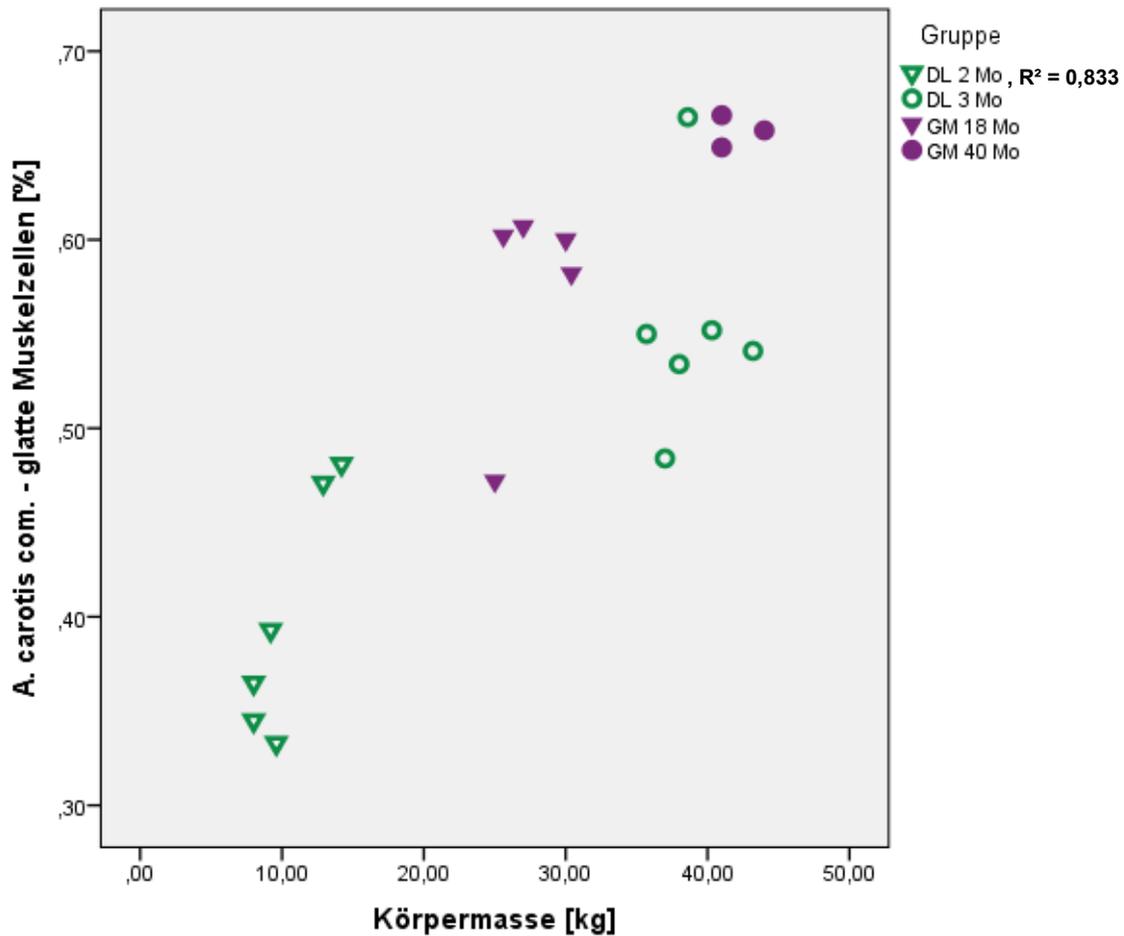


Abb.15 a: Anteil an glatten Muskelzellen in der Tunica media der A. carotis communis in Abhängigkeit von der Körpermasse

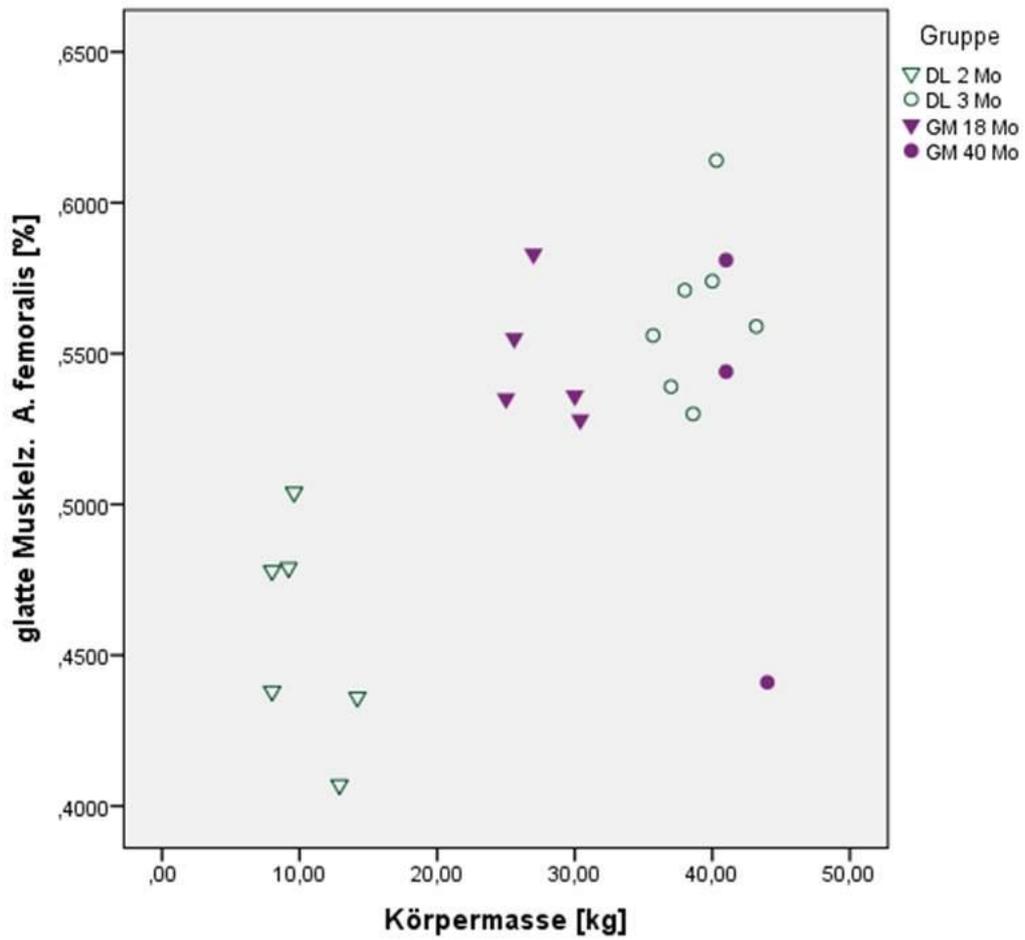


Abb.15 b: Anteil an glatten Muskelzellen in der Tunica media der A. femoralis in Abhängigkeit von der Körpermasse

4.3 Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Die Arteria carotis communis sowie die dazu parallel verlaufende Vena jugularis externa wurden zusätzlich mit Hilfe des Transmissionselektronenmikroskops charakterisiert. Dafür wurden die quergeschnittenen Blutgefäße von ausgewählten präadulten und adulten GM (n = 4) und von den präadulten Schweinen der DL (n = 15) verwendet.

4.3.1 *A. carotis communis*

Die *A. carotis communis* zeigte im Querschnitt stets eine Tunica intima mit einer kontinuierlichen Endothelzellschicht. Diese besaß häufig abgeflachte bis ovale Endothelzellen, deren Zellkerne sich an die Zellform anpassten und ebenfalls die gleiche Gestalt aufwiesen. An der tiefen Stelle des wellenförmigen Verlaufs der Tunica intima erschienen die Endothelzellen kubisch (Abb. 16 d). Nur bei den ovalen Endothelzellen war die dickste Stelle dort, wo der Zellkern lag. Ansonsten erschienen die Endothelzellen unregelmäßig mit ihren unterschiedlich stark ausgebildeten Zytoplasmaausläufern und Interdigitationen. Diese stellten den Kontakt zu benachbarten Zellen her und beinhalteten zahlreiche Nexus sowie auch Tight junctions. Es waren relativ häufig drei bis vier Interdigitationen zu sehen, wobei die luminal und basal gelegenen stets am längsten waren (Abb. 18 a). Bei flachen benachbarten Endothelzellen waren keine typischen Interdigitationen zu erkennen. Diese überlagerten sich einfach schräg parallel zueinander (Abb. 18 b). Bei dem präadulten Schwein konnte eine punktförmig erscheinende Glykokalyx auf der Endotheloberfläche erkannt werden (Abb. 17 a), welche bei den anderen Schweinen nicht ausgeprägt war.

Im Zytoplasma der Endothelzellen waren zahlreiche Zellorganellen zu erkennen, wie die beispielsweise in hoher Anzahl vorkommenden Pinozytosebläschen (40-80 nm) und Mitochondrien (100 nm) (Abb. 18 b). Die Zellkerne mit ihrer doppelten Kernmembran (20 nm breit) besaßen zahlreiche Invaginationen und Ausstülpungen, wodurch ihre Oberfläche unregelmäßig vergrößert wurde. Sie erschienen euchromatinreich und wiesen in der Regel keine Nucleoli auf. Das Heterochromatin lag, außer im Bereich der Kernporen, der Kernmembran innen an (Abb. 17 c, 18 b). Die endoplasmatischen Retikula waren häufig rau und erschienen aufgebläht. Ribosomen, Lysosomen und Golgi-Apparate waren ebenfalls in großer Anzahl vorhanden (Abb. 18 a, b).

Auf die Endothelzellschicht folgte eine, wie bei allen untersuchten Tieren beobachtet, kontinuierliche Basallamina (Abb. 17 a) mit darauf folgendem Stratum subendotheliale. Das Stratum subendotheliale war bei den Arterien immer vorhanden, jedoch je nach Alter und Rasse unterschiedlich stark ausgeprägt. Das der präadulten GM mit 1,4 µm und der präadulten DL mit bis zu 1 µm (2 Mo) bzw. etwa 2,1 µm (3 Mo) war verhältnismäßig schmal und zellarm (Abb. 16 a, c). Das Stratum subendotheliale der Arterien der adulten GM dagegen war relativ

breit (bis zu 7 μm) und enthielt kollagene und elastische Bindegewebsfasern sowie verschiedene Zellen, wie glatte Muskelzellen und Fibrozyten (Abb. 16 b). Die interne elastische Membran unterschied sich zwischen den jüngeren und den älteren Schweinen. Sie war bei den präadulten GM mit etwa 2,25 μm am schmalsten, während die anderen Tiere bis zu 7 μm dicke Membranen aufwiesen. Außerdem erschien sie bei den präadulten GM und den zwei Monate alten Schweinen der DL einfach und überwiegend durchgängig, wohingegen sie sich bei den älteren GM und DL (3 Mo) häufig doppelt und unterbrochen zeigte (Abb. 16 a-d). Dabei erschienen bei Dopplung der Membrana elastica interna die oberflächlichen und tieferen Anteile unterschiedlich dick. Weiterhin zeigten sie teilweise einen anderen Verlauf des extrazellulären fibrillären Materials (Abb. 16 a) und standen untereinander durch Verzweigungen in Verbindung (Abb. 16 a, b). An den Unterbrechungsstellen erschien die Membrana elastica interna glatt oder ausgefranst und war an den Stellen breiter ausgebildet. Es konnte bei allen Schweinen beobachtet werden, dass die Muskelzellen der Tunica media direkt an der elastischen Membran lagen. Diese Muskelzellen hatten außerdem eine Verbindung zu den elastischen Fasern der Tunica media.

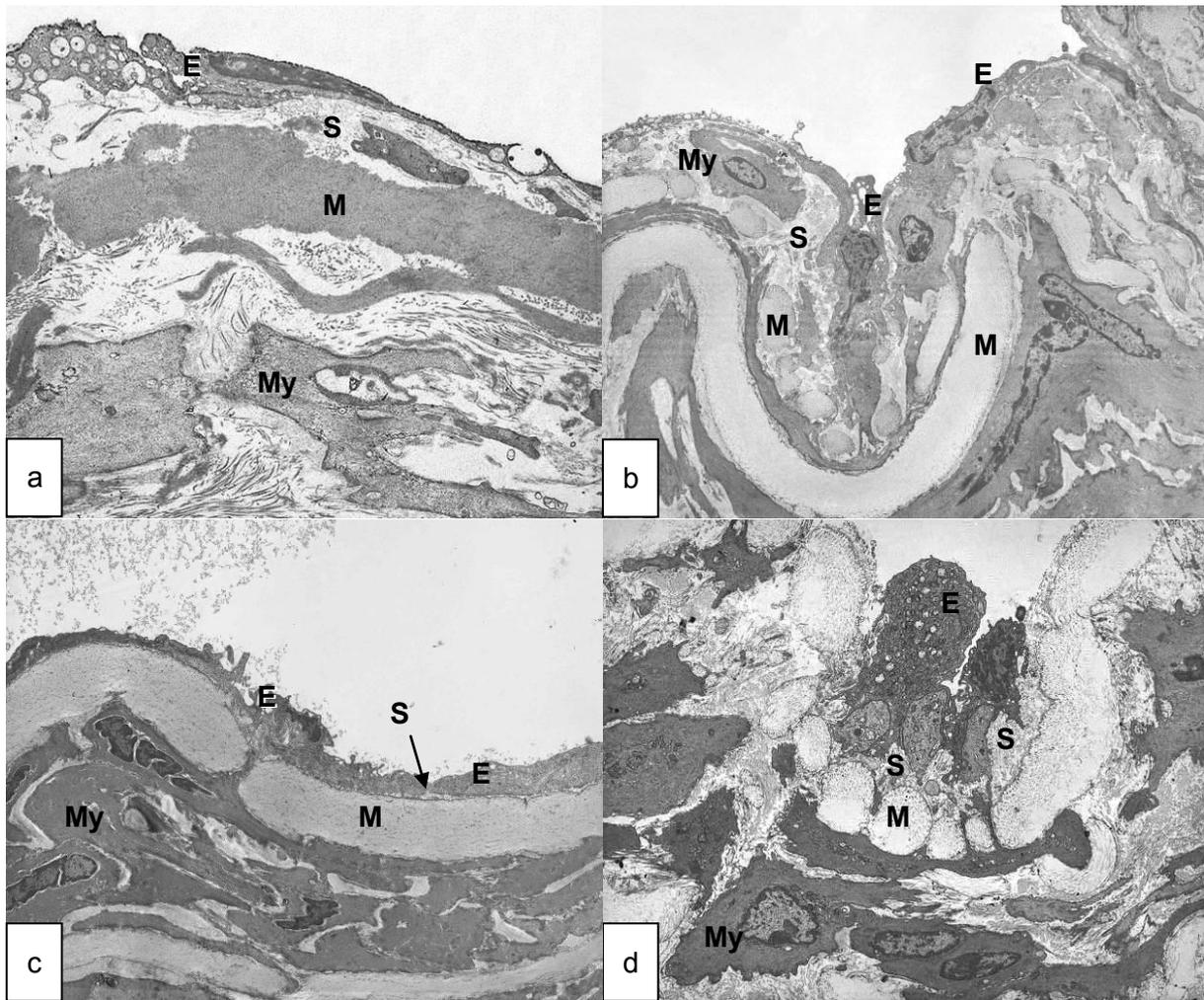


Abb.16: Tunica intima und angrenzende Tunica media der A. carotis communis; a: GM präadult, 4000x; b: GM adult, 2000x c: DL (2 Mo), 2000x; d: DL (3 Mo), 2000x; Endothelzelle (E), Stratum sub-endotheliale (S), Membrana elastica interna (M), glatte Muskelzelle (My)

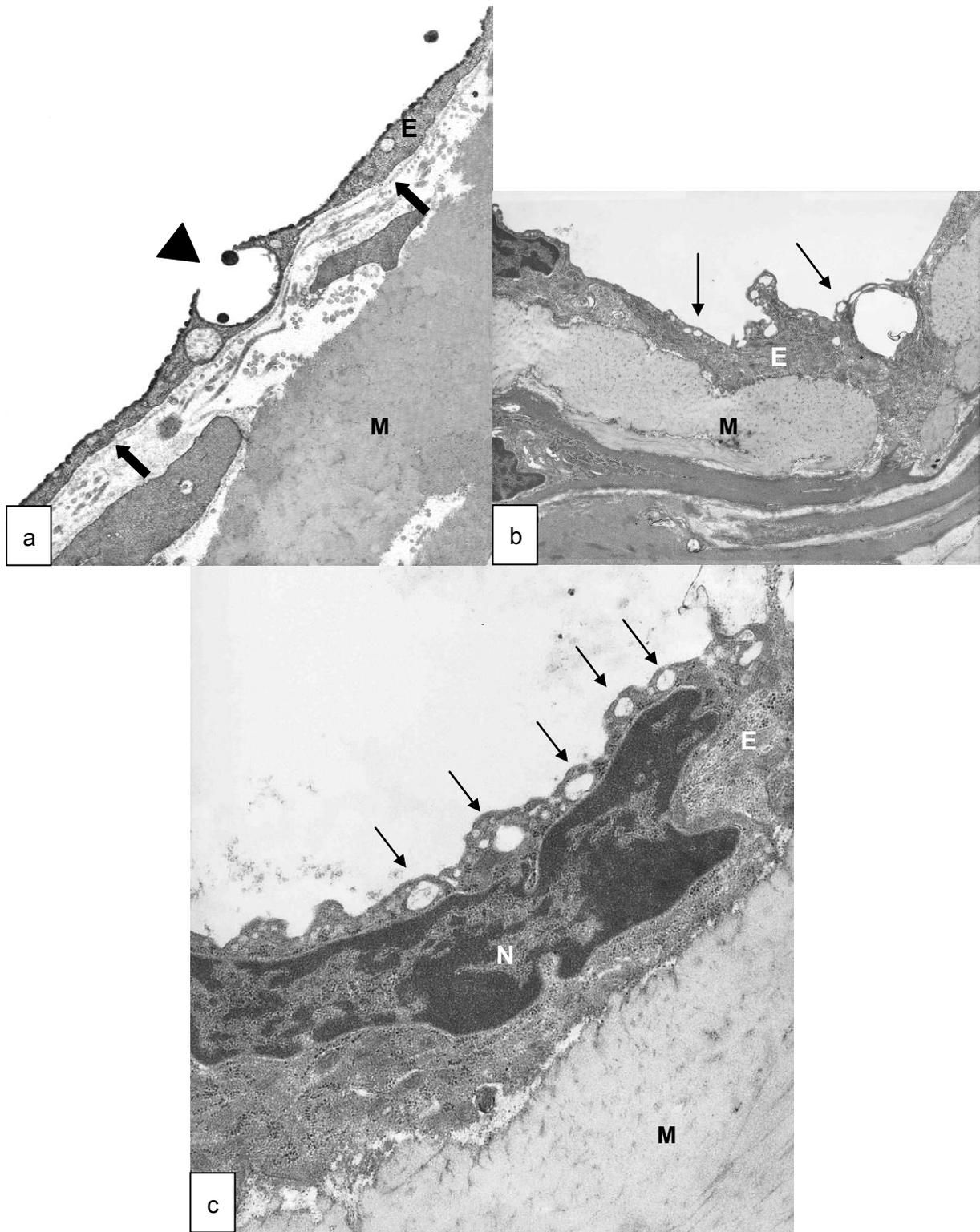


Abb.17: Tunica intima der A. carotis communis mit Pinozytosebläschen (b, c, Pfeile); a: GM präadult, 12500x, Endozytose (Pfeilkopf), Basallamina (dicke Pfeile); b: DL (2 Mo), 6300x, c: DL (2 Mo), 12500x; Endothelzelle (E), Membrana elastica interna (M), Nucleus (N)

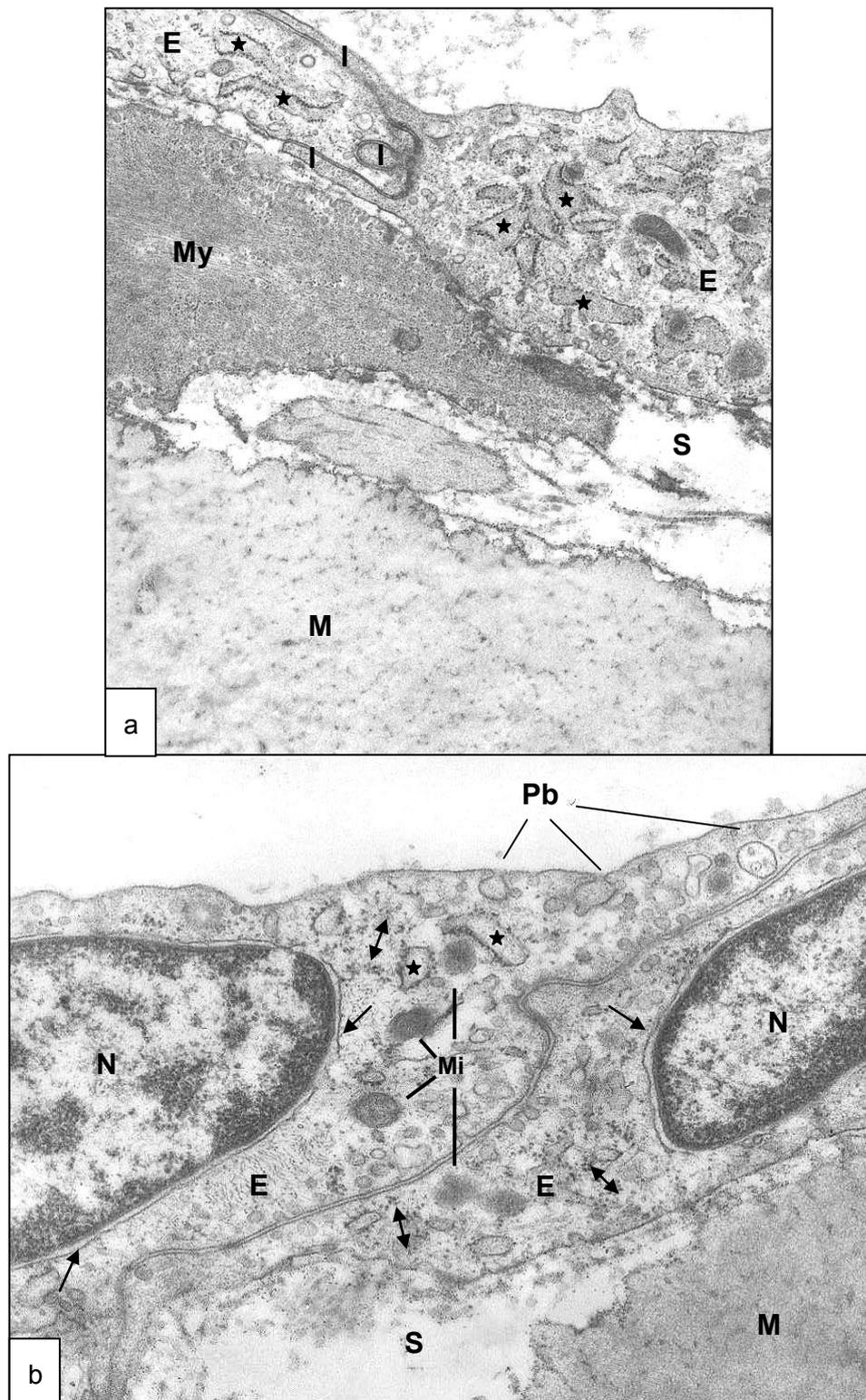


Abb. 18: Endothelzellen (E) der Arteria carotis com., DL (2 Mo) a: 12500x; b: 16000x; Stratum sub-endotheliale (S), M. elastica int. (M), glatte Muskelzelle (My), Nucleus (N), Kernmembran mit perinucleärer Zisterne (Pfeile) Interdigitationen (I), Pinozytosebläschen (Pb), Mitochondrien (Mi), raues endoplasmatisches Retikulum (Sternchen), Polyribosomen (Doppelpfeile)

Vasa vasorum (Abb. 19) waren gelegentlich in der Tunica media der A. carotis communis im Querschnitt zu sehen. Ihre Endothelzellen waren rund bis kubisch und besaßen einen oftmals gekerbten euchromatinreichen Zellkern, der fast die gesamte Zelle ausfüllte. Auch diese Endothelzellen besaßen viele Mitochondrien, raue endoplasmatische Retikula und viele Pinozytosebläschen. Die Nachbarzellen standen mit zwei- bis mehrzipfeligen Interdigitationen in Kontakt. Eine Membrana elastica interna war nicht ausgebildet. Auf die Basalmembran schloss eine Lage an glatten Muskelzellen an. Sie waren oval und hatten Kontakt zu mindestens zwei Endothelzellen. Das Zytoplasma der glatten Muskelzellen besaß im Verhältnis zu dem der Endothelzellen weniger Zellorganellen, vor allem weniger Mitochondrien. Die Zellorganellen befanden sich überwiegend in Zellkernnähe. Dieser war, ebenso wie der einer Endothelzelle, euchromatinreich und enthielt mindestens einen Nucleolus. Der Zellkern war jedoch größer als der einer Endothelzelle, er füllte aber nicht die ganze Zelle aus, da die glatte Muskelzelle insgesamt größer war.

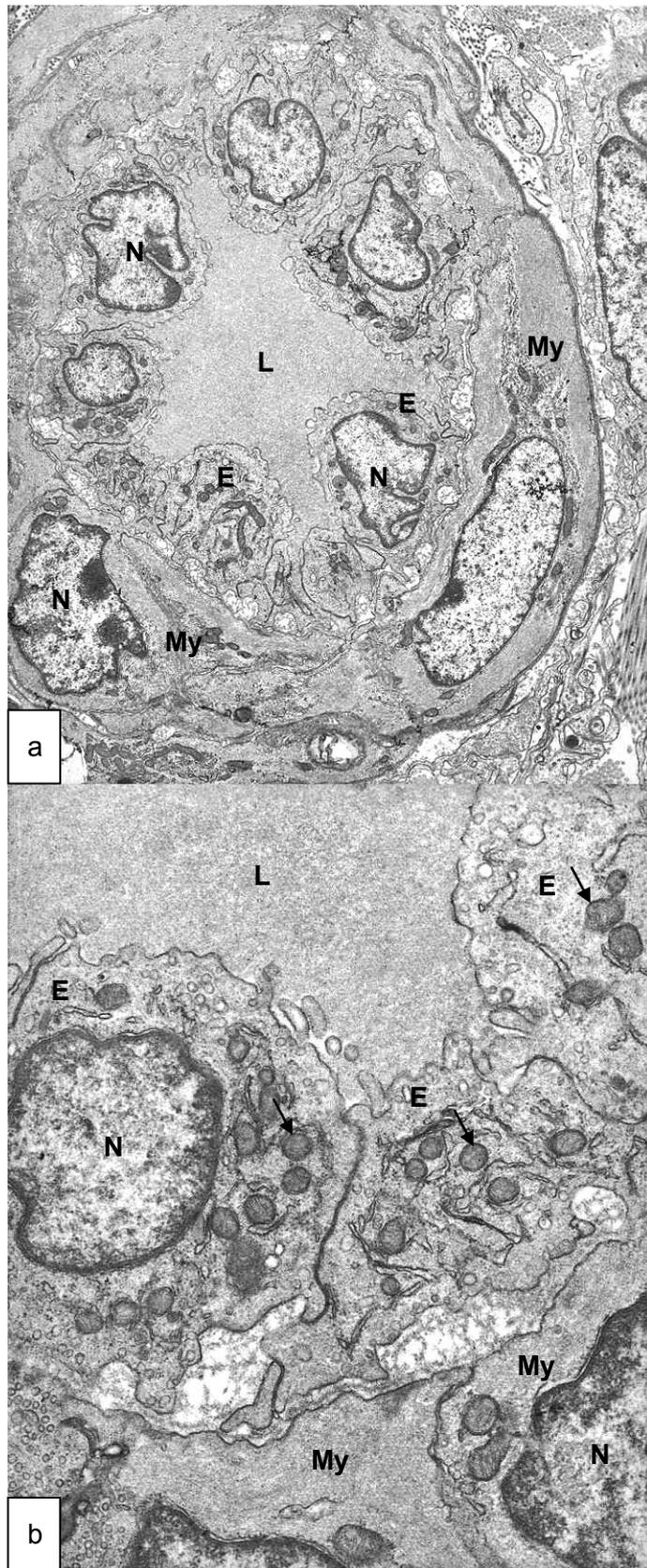


Abb.19: Arteriole in der Tunica media der A. carotis communis, DL (3 Mo), a: 3150x; b: 12500x; Endothelzelle (E), glatte Muskelzelle (My), Nucleus (N), Mitochondrien (Pfeile), Lumen (L)

4.3.2 Vena jugularis externa

Die Tunica intima der Vena jugularis externa wies flache bis kubische Endothelzellen auf (Abb. 20 a). Als wesentliches Hauptmerkmal waren wie auch bei allen anderen Endothelzellen die zahlreichen Pinozytosebläschen und Mitochondrien zu verzeichnen (Abb. 20 c-d). Ein Stratum subendotheliale, wie es bei den Arterien vorlag, gab es bei den untersuchten Venen nicht. Mikrovilli-ähnliche Strukturen konnten an der luminal gelegenen Oberfläche gelegentlich gesehen werden (Abb. 20 a, b).

In der Tunica media waren kräftige Kollagenfaserbündel geflechtartig angeordnet (Abb. 20 a-c). Im Gegensatz zur Tunica media der A. carotis communis konnte bei der Betrachtung der Tunica media der V. jugularis externa nur in vereinzelt Schnitten äußerst selten Vasa vasorum gefunden werden.

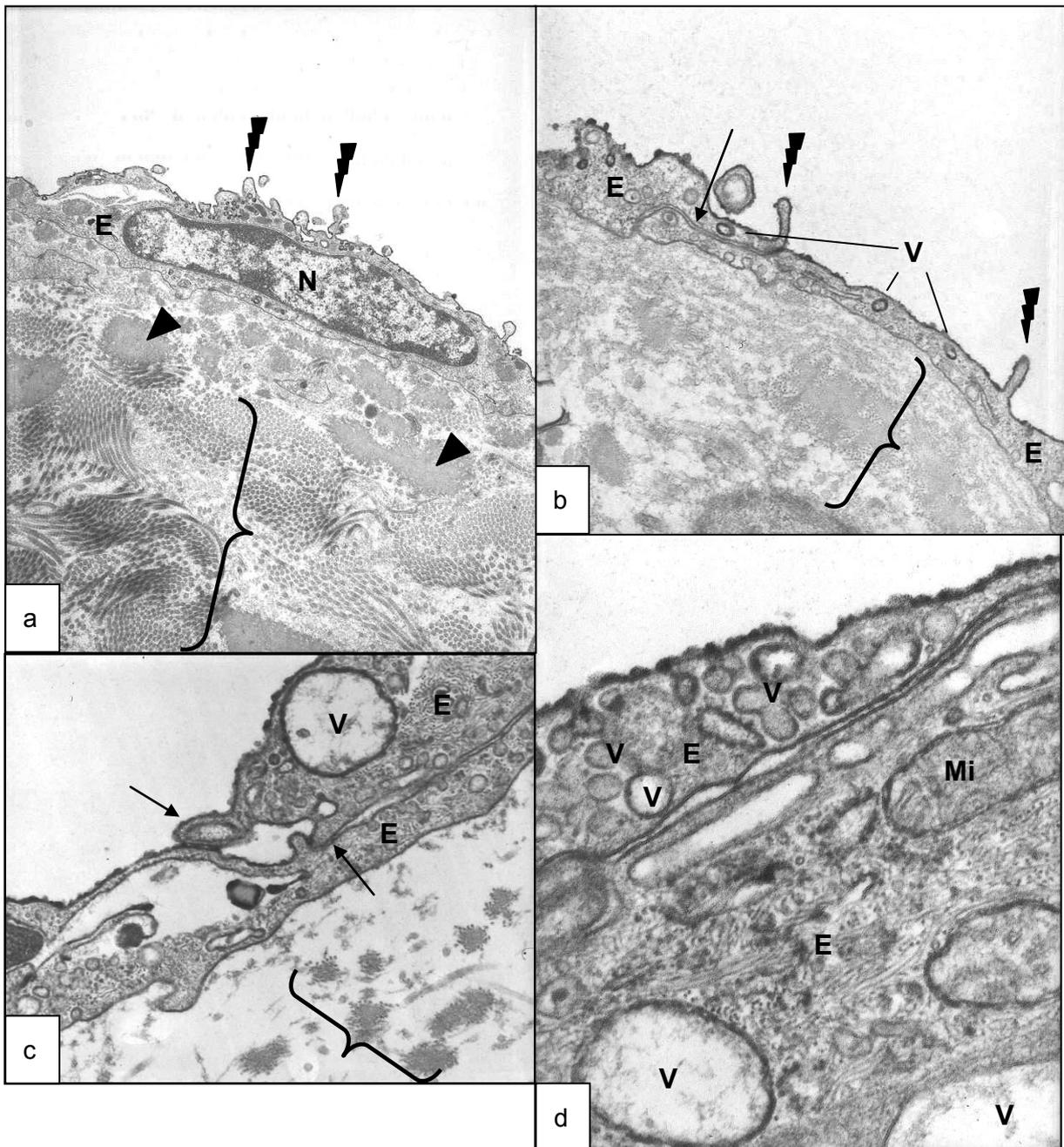


Abb. 20: Tunica intima und angrenzende Tunica media der V. jugularis externa, GM präadult; a: Nucleus (N), elastische Fasern (Pfeilkopf), 6300x; b: 20000x; c: 31500x; d: Zellkontakt: Mitochondrium (Mi), 50000x; a-d: Endothelzelle (E); a-c: kollagene Fasern (Klammer), Mikrovilli-ähnliche Strukturen (Blitze); b-c: Interdigitation (Pfeil); b-d: Pinozytose/Vesikel (V)

5 Diskussion

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind laut World Health Organization (WHO, 2015) weltweit eine der Haupttodesursachen. Entsprechend finden sich in der Forschung zahlreiche Ansätze zu kardiovaskulären Themen, die vielfach den Einsatz eines Tiermodells unumgänglich machen. Dabei kommen unter den Großtiermodellen überwiegend Schweine zum Einsatz (BMEL, 2014), da bei diesen Tieren das Herzkreislaufsystem anatomisch, wie auch physiologisch, dem Menschen sehr ähnlich ist (Swindle and Smith, 1998). Neben Schweinen der DL finden in Europa insbesondere Minischwein-Zuchtlinien wie das GM Verwendung (Hiebl, 2012). Allerdings gibt es bisher nur sehr wenige systematische Studien über den physiologischen Aufbau der Blutgefäße des Tiermodells Schwein. Daher beschäftigt sich diese Arbeit mit der altersabhängigen Erfassung mikromorphologischer und -morphometrischer Daten biomedizinisch relevanter Blutgefäße des Tiermodells Schwein unter Berücksichtigung des GM und der DL. Damit soll im Sinne des 3R-Konzeptes von Russel und Burch (Russell and Burch, 1959) ein Beitrag zum Refinement kardiovaskulärer *In-vivo*-Studien an Schweinen geleistet werden. Für die Untersuchungen wurden ausgewählte Blutgefäße, darunter Aortenabschnitte sowie Abschnitte aus der Halsregion und den Vorder- und Hintergliedmaßen der rechten Tierkörperseite, herangezogen und licht- sowie elektronenmikroskopisch analysiert.

5.1 Einfluss der Körpermasse, des Alters und der Lokalisation auf die Entwicklung der Struktur der Blutgefäße – ein Vergleich zwischen Göttingen[®] Minipig und Schweinen der Deutschen Landrasse

5.1.1 Körpermasse

Schweine der DL erreichen die Adultphase mit 30-35 Monaten bzw. einem Gewicht von 250-300 kg (Sambras, 2011). Demgegenüber sind GM bereits ein Jahr früher mit 20-24 Monaten adult und weisen letztendlich ein deutlich geringeres Körpergewicht von 35-45 kg auf (Abd El-Nabi, 1975; Glodek and Oldigs, 1981; Köhn et al., 2007).

Anhand von CT-Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass es bei den herznahen Blutgefäßen der GM bis zu einem Alter von 17 Monaten zu einer deutlichen Zunahme der Gefäßinnendurchmesser und -längen kam. Ab dem 17. Lebensmonat trat allerdings eine Stabilisierung dieser beiden Gefäßparameter ein, obwohl das Körpergewicht der Tiere noch deutlich, mit 23 % zwischen dem 17. und 21. Lebensmonat, zunahm (Hiebl et al., 2009b).

In dieser Arbeit zeigten die Ergebnisse, dass die Schweine der DL im Alter von drei Monaten ähnliche Messwerte bezüglich der meisten metrischen Daten wie die GM aufwiesen (Tab. 17, Tab. 19, Tab. 20). Die Schweine der DL (3 Mo) wiesen gegenüber den gerade mal einen Monat jüngeren Schweinen der DL (2 Mo) ein verhältnismäßig starkes Massewachstum von etwa 80 % auf und zeigten eine nahezu gleiche Körpermasse ($39,0 \pm 2,5$ kg) wie die adulten GM ($42,0 \pm 1,7$ kg). Das Wachstum der Blutgefäße innerhalb DL war ebenso intensiv wie das Massewachstum (z. B. 58 % Wachstum des Innendurchmessers der V. femoralis und etwa 60 % Wachstum der Tunica media der A. femoralis und A. carotis communis). Zimmermann (1926) und weitere Autoren konnten unter anderem ebenfalls eine Masseabhängigkeit des Blutgefäßwachstums feststellen (Lopes-Berkas and Jorgenson, 2011; Zimmermann, 1926). Jedoch schrieb Zimmermann (1926) auch von einer Stagnation des Gefäßwachstums einiger Blutgefäße bis zum Erreichen der mittleren Körpermasse.

5.1.2 Innendurchmesser

In der Literatur zur histologischen Untersuchung der Schweineaorta wurde von ähnlichen Ergebnissen berichtet wie in dieser Arbeit. Es wurde beschrieben, dass sich die Aorta vom aufsteigenden Ast bis zur abdominalen Aorta um 60 % verjüngte (Witter and Tonar, 2012). Bei den präadulten GM und adulten GM lagen die Werte bei 40% und 64 %. Gründe für die Verjüngung der Innendurchmesser im Alter, wie es überwiegend bei den herzfernen Arterien der GM in dieser Arbeit der Fall war, gibt es verschiedene. Bezüglich der Blutgefäße des Menschen wurde von einer physiologischen Dickenzunahme der Intima und Media im Rahmen der Umbauprozesse im Alter berichtet, die für die Verkleinerung des Innendurchmessers zuständig sein könnte (Kawamoto et al., 2006). Dabei konnte allein die Tunica intima bzw. allein die Tunica media betroffen sein oder beide Gefäßwandschichten zusammen (Sims et al., 1989). Bei Untersuchungen zur Ermittlung des Durchmesser-Quotienten von der Intima-Media-Dicke konnte jedoch keine Korrelation dargestellt werden (Marcon, 2010). Für die Einengung des Lumens wurden auch noch andere Faktoren verantwortlich gemacht, wie beispielsweise die pathologische Plaquebildung im Blutgefäßinnern (Kawamoto et al., 2006; Sims et al., 1989).

Interessante Beobachtungen bezüglich der Wachstumsintensität der Blutgefäße im Altersverlauf wurden an Hausschweinen gemacht. Dabei war das Wachstum im ersten Lebenshalbjahr am stärksten. Danach verringerte es sich, bis es im 2. Lebensjahr nochmals zunahm (Zimmermann, 1926). In *In-vivo*-Studien an GM konnte bisher gezeigt werden, dass sich die Innendurchmesser bis zu einem Alter von 17 Monaten vergrößerten und danach für einen Zeitraum von vier Monaten relativ konstant blieben (Müller, 2010). Jedoch gibt es keine Studien, die untersuchten, wie es sich mit den Innendurchmessern in einem noch größeren Zeitraum nach diesen 21 Monaten verhält.

Die Messwerte der Blutgefäßinnendurchmesser dieser Arbeit waren mit anderen Ergebnissen aus histologischen Studien am Schwein vergleichbar (Solanes et al., 2005). Mit Messwerten aus *In-vivo*-Studien (s. Kapitel 2.4.2) konnten sie jedoch grundsätzlich nur bedingt verglichen werden. Für die Interpretation der Lumeneinengung mit zunehmendem Alter bei den GM der hier untersuchten Tiere, wie sie auch in der Literatur beschrieben wurde (Kawamoto et al., 2006), waren mehrere Aspekte zu berücksichtigen. Es war in jedem Fall die Schrumpfung des Gewebes bei der Fixierung für mikroskopische Zwecke zu berücksichtigen (Choy et al., 2005). Während der Formalin-Fixierung kam es zu einer Schrumpfung des Gewebes, deren Höhe vom Gehalt an Wasser in der Blutgefäßwand abhängig war. Der Gehalt an Wasser war bei den elastischen Arterien etwas höher als bei den muskulären (Fischer and Llauro, 1966). Für die Wasserbindung sind vor allem Proteoglykane und Mucopolysaccharide zuständig, welche im Alter signifikant zunahm (Andreotti et al., 1985).

Da in dieser Arbeit ausschließlich gesunde Schweine untersucht wurden und auch die lichtmikroskopischen qualitativen Ergebnisse keine pathologischen Auffälligkeiten zeigten, konnte von einer Lumeneinengung der Blutgefäße im Alter durch pathologische Gefäßwandverdickung und Plaquebildung abgesehen werden. Daher sprach die Verjüngung des Lumens der Aorta abdominalis, A. carotis communis, A. renalis und A. femoralis der adulten GM in dieser Arbeit eher für den Prozess des physiologischen Alterns bei gleichzeitiger Mediaverdickung. Von einem Einfluss der Fixierung auf die Verjüngung der Blutgefäße konnte ebenfalls ausgegangen werden. Ein möglicher höherer Wasserentzug, der einen höheren Wassergehalt der oben genannten Arterien voraussetzte (Andreotti et al., 1985), führte zu einer stärkeren Schrumpfung des Innendurchmessers. Die Arterien zeigten insgesamt im Vergleich mit einer aktuellen *In-vivo*-Studie (Müller, 2010) eine durchschnittliche Schrumpfung von 46 %. Dabei hatten die Aa. elastotypicae einen Schrumpfungsgrad von 55,5 % und die Aa. myotypicae einen von 45,5 %. Die Schrumpfung der A. carotis communis lag jedoch mit 61 % über dem Durchschnitt. Die Venen hatten eine durchschnittliche Schrumpfung von 56,1 % (Tab. 22). Hierbei war zu berücksichtigen, dass die Messstelle zwar gut übereinstimmte, es sich aber nicht um identische Tiere handelte. Choy (2005) untersuchte beispielsweise, wie groß der Einfluss von 6,5 % Glutaraldehyd-Lösung auf Coronararterien war und verglich die anschließenden Messergebnisse mit denen aus dem Frischmaterial derselben Schweine. Es kam ebenfalls zu einer Schrumpfung von Innen- und Außendurchmesser (5,6 %) sowie der Wanddicke (13,4 %) der Arterien (Choy et al., 2005). Die wesentlich geringeren Schrumpfungsergebnisse von Choy et al. gegenüber den Ergebnissen aus dieser Arbeit können darin begründet werden, dass Choy et al. (2005) das frische und fixierte Probenmaterial von denselben Tieren untersuchten. Außerdem verwendeten sie eine andere Gewebefixierung und fokussierten sich auf die Untersuchung kleiner Blutgefäße.

Tab. 22: Vergleich der Verhältnisse *in vivo* (Müller, 2010) mit fixiertem Material dieser Arbeit anhand der Innendurchmesser von Blutgefäßen präadulter GM im Alter von 17-21 Monaten

Blutgefäß	Innendurchmesser [mm], Müller (2010), <i>in vivo</i> (CT), Bauchlage	Innendurchmesser [mm], L. Proft, histologisch	Schrumpfung [%]
Aorta ascendens	19,3	7,8	60
Arcus aortae	17,9	8,7	51
Aorta thoracica	12,1	6,8	44
Aorta abdominalis	6,3	4,7	25
Truncus brachiocephalicus	10,1	5,3	48
Truncus bicaroticus	8,4	5,2	38
A. carotis communis	6,6	2,6	61
A. carotis externa	5,4	1,8	67
A. carotis interna	2,6	1,6	38
Truncus pulmonalis	20,9	6,9	67
A. coeliaca	5,6	2,9	48
A. mesenterica cran.	6,6	3,4	48
A. mesenterica caud.	1,9	1,1	42
A. iliaca externa	5,5	3,1	44
A. iliaca interna	4,2	2,1	50

A. sacralis mediana	2,4	2,1	12,5
A. renalis	4,4	2,7	39
A. subclavia	6,6	2,9	56
A. femoralis	3,9	2,3	41
V. cava cranialis	15,1	8,8	42
V. cava caudalis	10,9	5,2	52
V. portae	11,4	4,4	61
V. jugularis externa	8,8	4,0	55
V. jugularis interna	5,7	1,4	75
V. cephalica	4,8	1,2	75
V. thoracica interna	3,5	2,0	43
V. femoralis	4,2	1,5	64
V. iliaca externa	6,5	3,3	49
V. renalis	7,3	4,0	45

Weiterhin wurde beschrieben, dass die Körperlänge eines Tieres sowie das Geschlecht mit der Größe der Arterien korrelierten (Zimmermann, 1926). Die männlichen Schweine hatten in der Regel den größten Blutgefäßinnendurchmesser. Darauf folgten die der weiblichen, die der weiblich kastrierten und als letztes die der männlich kastrierten (Zimmermann, 1926). Hierbei spielte das Östrogen eine entscheidende Rolle, welches sich hemmend auf die Ausbildung von den bindegewebigen Bestandteilen der Blutgefäßwände Kollagen und Elastin auswirkte (Fischer and Swain, 1977). Eine Ausnahme stellte die A. mesenterica cranialis dar. Diese besaß bei den kastrierten Schweinen einen größeren Durchmesser als bei den nicht kastrierten (Zimmermann, 1926). Da Sexualhormone einen Einfluss auf die Blutgefäßent-

wicklung nehmen (Fischer and Swain, 1977), sollte ebenfalls das Geschlecht eines Tieres bzw. der Zustand kastriert oder nicht kastriert in der Tierversuchsplanung in kardiovaskulären Studien im Sinne des Refinements berücksichtigt werden. In dieser Arbeit wurden ausschließlich weibliche GM untersucht. Bei den DL-Schweinen waren das weibliche und männliche Geschlecht vertreten. Da sie jedoch aufgrund ihres Alters (2 und 3 Monate) noch nicht die Geschlechtsreife, die mit ca. fünf Monaten eintritt, erreicht hatten, konnte das Geschlecht bei der Beurteilung der Ergebnisse vernachlässigt werden.

5.1.3 Einteilung der Arterien und Venen

Arterien

Die in dieser Arbeit vorgenommene Zuordnung der Arterien in die A. elastotypica, A. myotypica und A. mixtotypica stimmten weitestgehend mit den Ergebnissen aus früheren Untersuchungen der Blutgefäße an präadulten GM überein (Tanigawa et al., 1986a). In der Studie von Tanigawa et al. wurden die Arterien ebenfalls den entsprechenden Typen zugeordnet. Es wurden dafür histologische Charakteristika der einzelnen Wandschichten herangezogen. Für die Tunica intima waren dies das Stratum subendotheliale und eine Membrana elastica interna. Für die Tunica media wurden die Charakteristika wie die Anordnung des elastischen Materials und der glatten Muskelzellen herangezogen, sowie für die Tunica externa das Vorhandensein einer Membrana elastica externa und kollagener und elastischer Fasern. Das Adventitia/Media-Verhältnis war ebenfalls ein Charakteristikum für die Einteilung der Arterien. Dabei nahm, sowohl in der Studie von Tanigawa (1986) als auch in dieser Arbeit, das Verhältnis zugunsten der Adventitia von elastischen zu muskulären Arterien zu. Abweichend zu den Ergebnissen in dieser Arbeit wurde beispielsweise angegeben, dass die Aa. mixtotypicae und Aa. myotypicae kein Stratum subendotheliale besaßen (Tanigawa et al., 1986a). Des Weiteren wurde eine Lamina elastica externa beschrieben, die der Tunica adventitia angehörte. Diese äußere elastische Lamelle konnte jedoch nicht in jeder Arterie, egal welchen Typs, in den Studien an GM bzw. am Menschen nachgewiesen werden (Gross et al., 1934; Tanigawa et al., 1986b). In einer älteren Studie über Untersuchungen der Blutgefäße von den Schultergliedmaßen verschiedener Tierarten wurde die Membrana elastica externa als eigene Schicht erfasst und es wurde von einer „Tunica elastica externa“ geschrieben. Jedoch konnte diese Schicht bei den Untersuchungen auch nicht immer nachgewiesen werden (Thienel, 1902). Andere Autoren, die die äußere elastische Membran deutlich sehen konnten, v. a. in den Blutgefäßen der Arme bzw. Vordergliedmaßen von Mensch und Hund, hielten sie für eine separate Struktur (Acar et al., 1991; Thienel, 1902) oder zählten diese zur Tunica media.

Als Besonderheit war in dieser Arbeit die A. carotis communis zu sehen. Diese Arterie wurde zum einem dem muskulären Typ (GM + DL (3 Mo)) und zum anderen dem Mischtyp (DL (2

Mo)) zugeordnet. Tanigawa et al. (1986) und andere Autoren (Gussenhoven et al., 1989; Lockwood et al., 1992) ordneten die A. carotis communis dem elastischen Typ zu. Näheres wird dazu im Abschnitt „A. carotis communis“ des Kapitels 5.2.1 beschrieben.

Bezüglich der A. carotis interna gab es keine Übereinstimmung der Befunde in dieser Arbeit mit den Untersuchungen von Tanigawa et al. (1986). Sie wurde von ihnen dem Mischtyp zugewiesen (Tanigawa et al., 1986a), wohingegen sie in dieser Arbeit dem muskulären Typ zugeordnet wurde. Da in der Studie von Tanigawa et al. (1986) Schweine bis zu 12 Monaten untersucht wurden, ist nicht auszuschließen, dass auch die A. carotis interna, wie die A. carotis communis, eine Entwicklung von dem einen in den anderen Typ durchmachte (Kapitel 5.2.1). Solch eine Entwicklung im Altersverlauf konnte auch an anderen Arterien, wie beispielsweise der Pulmonalarterie von Huftieren, gemacht werden (Zimmermann, 1926).

Die EZM wurde in sämtlichen Arterien des Hundes im Vergleich zum Schwein ermittelt. Dabei wurde ein gemeinsamer Gehalt an Elastin und Kollagen von 50 % in der Trockenmasse der gesamten Gefäßwand ermittelt (Harkness et al., 1957). Bei den herzfernen Arterien war der prozentuale Anteil etwas höher. An intrathorakalen Arterien, mit Ausnahme der Pulmonalarterie, konnte, wie auch in dieser Arbeit, nachgewiesen werden, dass der Elastinanteil an der EZM mit 60 % doppelt so hoch war wie bei den extrathorakalen Arterien mit 30 %. Der Übergang von intrathorakalen Anteilen an EZM nach extrathorakalen erschien verhältnismäßig abrupt (Harkness et al., 1957).

Venen

Die Einteilung der Venen erfolgte in dieser Arbeit aufgrund ähnlicher Kriterien wie bei den Arterien in elastische und muskuläre Typen (Tab. 16). In der Literatur gibt es bisher kaum eine systematische Festlegung über diese Einteilung der Venen. Hochrein (1929) schrieb von einer Einteilung der Venen in drei Typen, welche, unter Berücksichtigung des Venenaufbaus, eher aus topografischer Zuteilung der Venen im Körper erstellt wurden (Hochrein, 1929). Dennoch wurde von muskulären Venen beim Pferd (Keen et al., 2008) und großen muskulären Venen im Penis (Crowe et al., 1991) sowie kleinen subkutanen muskulären Venen (Chen, 2010) des Menschen gesprochen. Diese besaßen, wie auch die muskulären Venen in dieser Arbeit, konzentrisch angelegte innere elastische Fasern, welche der M. elastica interna der Arterien entsprachen (Chen, 2010).

Der histologisch beschriebene unterschiedliche Wandaufbau der Venen zeigte sich auch in ihrem Verhalten in den *In-vivo*-Studien von Müller (2010). Die in meinen Untersuchungen als elastische Vene charakterisierte V. jugularis externa zeigte in Müllers Untersuchungen bei Lagerung der GM im CT von Bauch- in Rückenlage eine wesentlich höhere Reduktion des Innendurchmessers (22,2 %) als die V. jugularis interna (7,9 %) (Müller, 2010), die von mir als muskuläre Vene charakterisiert wurde. Die Venenwand der V. jugularis interna scheint durch den höheren Gehalt an glatten Muskelzellen stabiler zu sein, sodass sich der verhält-

nismäßig kleine Innendurchmesser nicht erheblich verkleinert. Aufgrund des stark variierenden Aufbaus der Venenwände ist es für eine Versuchsplanung wichtig, die morphologischen Besonderheiten der Gefäße zu kennen.

Zellkernanzahl der Endothelzellen in den Blutgefäßen

Die Anzahl der Endothelzellkerne bei den adulten GM war pro Referenzstrecke bei den *Aa. elastotypicae* höher als bei den präadulten. Möglicherweise lag das daran, dass die adulten GM schmalere Zellen besaßen bzw. durch die dickere Tunica media der Gefäße eine stärkere Kontraktion der Arterien fixationsbedingt stattfand. Zellkernhaufen, wie sie im Alter in Endothelzellen von Venen beschrieben wurden (Hort, 1962b), waren bei den Endothelzellen dieser Arbeit nicht zu sehen. Bei den Venen der GM erschien die Zellkernzahl (22 - 29 Zellkerne pro 0,4 mm) zwischen den Venentypen relativ konstant und stimmten mit den Ergebnissen von Hort (1962) weitestgehend überein. Er machte Angaben zur Zellkerndichte bei der unteren Hohlvene des Menschen im Altersverlauf. Er zählte beispielsweise bei einer Strecke von 0,24 mm etwa 10 Zellkerne. Diese Anzahl veränderte sich auch nicht signifikant im Alter (Hort, 1962b).

5.1.4 Dicken der Wandschichten

Arterien

In der bestehenden Literatur konnten wenige Messwerte über die Intimadicken gefunden werden. Pinto et al. (1998) konnten beispielsweise bei der A. carotis communis der Ratte in Bereichen mit physiologisch erweitertem Stratum subendotheliale eine etwa 4 μm dicke Tunica intima messen (Pinto et al., 1998). Dieser Wert stimmt mit den Ergebnissen aus den Untersuchungen der A. carotis communis dieser Arbeit am Schwein mit durchschnittlich 5 μm weitestgehend überein.

In anderen Studien über Blutgefäße konnten die Mediadicken bestimmt werden. Die Aorta ascendens beim Hund beispielsweise (Beagle, 24 \pm 7 Monate) hatte mit 1368 \pm 64,64 μm Mediadicke (Isayama et al., 2013) fast dieselbe Dicke wie die Tunica media der präadulten GM (1369,9 \pm 169,4 μm) in dieser Arbeit. In einer Studie an Schweinen von Witter und Tonar (2012) konnte, wie auch in dieser Arbeit, beobachtet werden, dass die komplette Dicke der Gefäßwand von der Aorta ascendens bis zur Aorta abdominalis um ca. 55 % abnahm. Dabei hatten die Tunica intima und die Tunica externa bei den elastischen Arterien aufgrund ihrer geringen Dicken kaum Einfluss auf die Gesamtgefäßwanddicke. Weiterhin wurde berichtet, dass mit dem Alter die Wanddicke zunahm (Witter and Tonar, 2012).

Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die Dicke der Tunica media im Gegensatz zur Tunica intima bei den präadulten GM noch nicht voll ausgereift war. Hierbei war eine Altersabhängigkeit zu erkennen, während bei den Schweinen der DL ebenso eine Masseabhängigkeit bestand.

Die Dicke der Tunica externa war, wie ihr Gehalt an Strukturen (Vasa vasorum, Nervenbündel, Fettzellen, Parenchym; s. Kapitel 4.1.1), sehr variabel. Innerhalb des Blutgefäßverlaufs von herznah zu herzfern war die Tunica adventitia entsprechend ihrer Funktion bzw. Lokalisation im Tierkörper aufgebaut (Bundi et al., 2009; v. Kügelgen, 1955).

Zwischen den präadulten und adulten GM gab es nur vereinzelt Unterschiede. Die Messwerte der A. femoralis von den adulten GM waren höher als die von den präadulten GM. Bezüglich der A. carotis communis besaßen alle untersuchten Schweine der DL eine größere Dicke der gemessenen Schicht als die GM. Die Tunica externa war bei den elastischen Arterien aufgrund ihrer Verankerung zum umliegenden Gewebe nicht abzugrenzen und ihre Ausdehnung somit nicht zu ermitteln. Grundsätzlich wurde in dieser Arbeit die gut erkennbare elastische, an die Tunica media angrenzende Schicht gemessen und die äußere, aus lockerem Bindegewebe bestehende, nicht gut zur Umgebung abgrenzbare Schicht, unberücksichtigt gelassen. Shi et al. (1996) konnten dagegen bei Schweinen die Tunica externa der Koronar-

arterien komplett messen (Shi et al., 1996). Ihre Messergebnisse (etwa 131 – 224 μm) stimmten somit teilweise nicht mit den Ergebnissen der GM und DL in dieser Arbeit überein. Die Ergebnisse machen deutlich, welche Funktion den einzelnen Abschnitten der Blutgefäße zukommt. Während die herznahen Arterien dem Druck des Blutauswurfes direkt vom Herzen standhalten, diesen mit Hilfe ihrer Dehnbarkeit aufnehmen und für die Peripherie abschwächen müssen (Windkesselfunktion) (Belz, 1995; Ude, 1933), gilt für die herzfernen muskulären Arterien, dass sie mit Hilfe ihrer Muskelzellen einen den aktuellen Erfordernissen des Organismus entsprechenden Blutdruck aufrechterhalten müssen (Wezler and Böger, 1939).

Venen

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass die Werte sehr variabel waren und von der Lokalisation im Tierkörper bzw. ihrer speziellen Funktion (z. B. V. portae, Venae cavae) abhingen. Einige Autoren konnten in ihren Studien an Schweinen, Rindern, Schafen, Pferden und Hunden, sowie am Menschen ähnliches beschreiben (Bongartz, 1958; Hort, 1962a; Hort, 1962b). Bongartz (1958) beschrieb beispielsweise die Venenwand der V. cava caudalis in ihrer kompletten Länge und stellte fest, dass das muskulo-elastische System auf Höhe der Leber stärker ausgeprägt war als in den kaudalen Abschnitten der Vene (Bongartz, 1958). Er ging davon aus, dass die Vene kranial unter anderem dem Druck des Leberparenchyms standhalten muss.

Während die Tunica intima in dieser Arbeit bei allen untersuchten Schweinen eine konstante Breite von etwa 4 μm aufwies, variierten die Messwerte der Tunica media erheblich. Beispielsweise hatte die in der Halsregion liegende V. jugularis interna (60 μm) der GM im Vergleich zur V. portae (400 μm) eine deutlich kleinere Tunica media. Die Tunica intima der pathologisch verdickten Zugangsvenen von Hämodialysepatienten maß im Durchschnitt 6 μm und die Tunica media durchschnittlich 240 μm (Feinfeld et al., 1999). Diese Werte kamen durch die Manipulation an den Venen durch einen Venenkatheter zustande. Somit können physiologische Werte unter 6 μm und 240 μm angenommen werden, die vergleichbar mit den Werten der Schweine in dieser Arbeit wären. Da Intima-Media-Verdickungen beispielsweise auch ein Problem bei Venenbypassen darstellen (Dobrin et al., 1989; Schwartz et al., 1992), ist es wichtig, die physiologischen Daten der Venenwandabschnitte zu kennen, um das Ausmaß der Veränderungen abschätzen zu können.

5.2 Vergleich mit dem Menschen und anderen Spezies

Die mikromorphologischen Eigenschaften von den in der Literatur beschriebenen Arterien und Venen des Menschen und der hier untersuchten GM waren grundsätzlich ähnlich (Tab. 23, Tab. 24). Die Tunica intima der verschiedensten Spezies besaß mit etwa 4 bis 6 μm im Durchschnitt (Feinfeld et al., 1999; Pinto et al., 1998) den gleichen Wert wie bei den GM. Die

Werte der Mediadicken und die der Innendurchmesser, die mit unterschiedlichen Messmethoden ermittelt wurden, waren dagegen sehr variabel (Tab. 3, Tab. 4). Messwerte über die Tunica externa konnten in der Literatur auch vereinzelt gefunden werden, variierten jedoch ebenfalls sehr stark (Eckman et al., 2013; Shi et al., 1996).

5.2.1 Arterien

Der Grundaufbau der Arterien mit ihren drei Wandschichten (s. Kapitel 5.1.2) war bei den GM und den Schweinen der DL überwiegend gleich, sodass in diesem Kapitel an ausgewählten Blutgefäßen auf besondere Erkenntnisse bzw. Eigenschaften eingegangen wird.

Aorta

Die qualitativen Untersuchungen der EZM der Aorta (Aorta ascendens, Aorta thoracica, Aorta abdominalis) ergab bei den GM eine relativ gute Differenzierung der bindegewebigen Bestandteile in der Tunica media. Der Anteil an kollagenen Fasern beider Altersgruppen der GM war unter histologischer Betrachtung mit 30 % stets konstant und auch die Anteile an elastischen Fasern nahmen mit dem Alter nicht zu.

Benninghoff (1927) beschrieb qualitativ die Anordnung der elastischen Fasern und der glatten Muskelzellen an der thorakalen Aorta von großen Säugern (u.a. Ochsen, Pferd), kleinen Säugern (Hund, Kaninchen, Meerschweinchen) und dem Menschen. Dabei wurde je nach Anordnung der Strukturen zwischen zwei Arten von Aorten unterschieden. Er beschrieb, dass die großen Säuger eine Aorta von grober Struktur und höher differenzierten Muskelzellen besaßen, während kleine Säuger und der Mensch eine Aorta mit feiner Durchflechtung des Gewebes und „primitive“, glatte Muskelzellen hatten, die schlecht voneinander abzugrenzen waren (Benninghoff, 1927). In einer weiteren Studie wurde mit Hilfe biochemischer Verfahren unter anderem der Gehalt an kollagenen und elastischen Komponenten in der Aorta ascendens und Aorta descendens des Menschen erfasst. Mit 141 mg/g besaß die Aorta ascendens etwas mehr an Kollagen als die Aorta descendens mit 132 mg/g Trockensubstanz. Auch der Elastingehalt mit 387 mg/g war höher als in der absteigenden Aorta mit 360 mg/g. Es wurde weiterhin festgestellt, dass die Kollagene mit dem Alter zunahmen und die elastischen Bestandteile unverändert blieben. Auch die Wanddicke nahm mit dem Alter signifikant zu (Andreotti et al., 1985).

Die Tunica media ist die Gefäßwandschicht, die den größten Wandanteil eines Blutgefäßes bildet (Solanes et al., 2005). Die darin enthaltene EZM besteht zum einen aus kollagenen Fasern, die für die Zugstabilität zuständig sind, und zum anderen aus elastischen Fasern, die für die Dehnbarkeit des Blutgefäßes verantwortlich sind (Sokolis, 2007; Sokolis, 2008). Des Weiteren gibt es in der Tunica media kontrahierende Elemente – die glatten Muskelzellen

(Sokolis, 2010; Zimmermann, 1926). Je nach Zusammensetzung der drei oben genannten Strukturen werden die Eigenschaften des Blutgefäßes festgelegt. So besitzen beispielsweise die thorakalen Aortenabschnitte einen relativ hohen Anteil an elastischen Fasern, wodurch sie die „Windkesselfunktion“ erfüllen (Belz, 1995; Ude, 1933). Das Verhalten der EZM in der Tunica media spielt außerdem bei pathologischen Prozessen eine Rolle (Harkness et al., 1957; Intengan and Schiffrin, 2001) und auch während des Altersverlaufs kommt es zu Veränderungen (Gudiene et al., 2007). Die größere Gefäßwanddicke der Aortenabschnitte der adulten GM dieser Arbeit ist eher an ein konstantes Wachstum aller Bestandteile der EZM in der Tunica media gekoppelt, während beim Menschen eine Zunahme überwiegend kollagener Bestandteile vorliegt (Benninghoff, 1927). Die Unterschiede zwischen Mensch und GM sollten bei der Tierversuchsplanung mitberücksichtigt werden, da möglicherweise unterschiedliche Reaktionen des Gewebes auf gesetzte Stents erfolgen könnten.

A. carotis communis

Die A. carotis communis dient in der Humanmedizin unter anderem als wichtige Arterie zur Verifizierung kardiovaskulärer Risikoeinschätzung. Neben der Bestimmung der Blutflussgeschwindigkeit und der Beurteilung von Ablagerungen wird die Intima-Media-Dicke (IMT) als diagnostischer Parameter herangezogen (Simons et al., 1999). Die Differenzierung zwischen elastischen und muskulären Arterien ist mit Hilfe nicht-invasiver Verfahren möglich (Gussenhoven et al., 1989; Lockwood et al., 1992).

Die A. carotis communis, die bei allen untersuchten Tieren aus der Halsmitte entnommen wurde, zeigte sich bei den präadulten und adulten GM sowie den älteren Schweinen der DL (3 Mo) als klassische muskuläre Arterie mit ihren entsprechenden morphologischen Eigenschaften der einzelnen Blutgefäßwandschichten. Timmins et al. (2010) beschrieben die bovine A. carotis communis ebenfalls als eine muskuläre Arterie. In wissenschaftlichen Studien an Arterien präadultler GM und humaner Arterien wurde die Arteria carotis communis allerdings sonografisch und auch histologisch als elastische Arterie bezeichnet (Gussenhoven et al., 1989; Lockwood et al., 1992; Tanigawa et al., 1986a). Von wesentlicher Bedeutung schien bei der Beurteilung der Arterien die Entnahmestelle zu sein, da der Gefäßtyp innerhalb des Blutgefäßverlaufs der A. carotis communis unter anderem beim Menschen und Schwein wechselte. Es wurde ein Absinken des Elastingehaltes, eine Zunahme des Kollagens und des Anteils an glatten Muskelzellen von proximal nach distal gefunden (Garcia et al., 2011; Zimmermann, 1926). Dadurch entsprach der proximal untersuchte Abschnitt mehr dem elastischen Typ und der distal untersuchte, in der Halsmitte gelegene, eindeutig dem muskulären Typ. Die Messwerte der prozentualen Anteile der Strukturelemente der Tunica media unterschieden sich zwischen Mensch und 3 Monate alten Schweinen nicht voneinander (Garcia et al., 2011). Weiterhin wurde beobachtet, dass die A. carotis communis wäh-

rend des Wachstums Veränderungen vom elastischen zum muskulären Typ durchmachte (Gussenhoven et al., 1989; Lockwood et al., 1992). Dies trifft auch auf die in dieser Arbeit untersuchten Schweine der DL zu, bei denen im Alter von 2 Monaten noch der Mischtyp und einen Monat später der muskuläre Typ festgestellt wurde. Der Wechsel der Arterientypen bei den Schweinen der DL, der physiologischerweise vom elastischen zum muskulären Typ stattfand, kann darin begründet sein, dass bei den jüngeren Schweinen der Weg des pulsierenden Blutes vom Herzen zum Kopf kleiner als bei den älteren Schweinen ist (Wolkoff, 1924). Dadurch wird der Blutdruck des Herzens durch die elastischen Arterien abgefangen (Windkesselfunktion) (Ude, 1933; Wezler and Böger, 1939).

Bezüglich der Verteilung der EZM der A. carotis communis gab es Untersuchungen über die unterschiedliche Lage der elastischen Fasern in der Tunica media. Beispielsweise lagen sie in der A. carotis communis beim Schwein zu einem Drittel luminal und zu zwei Drittel abluminal (Garcia et al., 2011). Bei den GM und Schweinen der DL lagen sie dagegen überwiegend gleichmäßig verteilt in der Tunica media. Bei den adulten GM gab es eine dichtere Anordnung der elastischen Fasern nach luminal. Des Weiteren wurden in der A. carotis communis des Rindes unterschiedliche Verlaufsrichtungen der elastischen und kollagenen Fasern gefunden, die luminal axial und ab einem Abstand von 20 μm vom Endothel in die zirkuläre Anordnung übergangen (Timmins et al., 2010). Dieser Verlauf konnte bei den Schweinen in dieser Arbeit nicht festgestellt werden. Hier verliefen die elastischen Fasern zusammen mit der glatten Muskulatur überwiegend zirkulär.

Tab. 23: Ausgewählte histologische Parameter der Arteria carotis communis: eigene Ergebnisse zu Göttingen[®] Minipigs (GM) und Schweinen der Deutschen Landrasse (DL) im Vergleich mit Literaturdaten zum Menschen

A. carotis communis					
Spezies	GM		DL		Mensch
Alter	18 Monate	40 Monate	2 Monate	3 Monate	10 Jahre (Tamura et al., 2011); 30 Jahre (Juonala et al., 2005)
Intima-Media-Dicke (IMT)	392,7 µm	515 µm	210,3 µm	528,5 µm	400 µm (Tamura et al., 2011); 580 µm (Juonala et al., 2005)
Zunahme der IMT im Untersuchungszeitraum	24% (im Durchschnitt 1,1% pro Monat) Untersuchungszeitraum: 22 Mo		60% Untersuchungszeitraum: 1 Mo		31 % (0,1 % pro Monat); Untersuchungszeitraum: 20 Jahre (Juonala et al., 2005; Tamura et al., 2011)
Einteilung der A. carotis communis in Typen	muskuläre Arterie	muskuläre Arterie	Mischtyp	muskuläre Arterie	elastische Arterie (Gussenhoven et al., 1989)
Lumendurchmesser	2,6 mm	2,1 mm	1,8 mm	1,5 mm	5 - 6 mm im Alter von 12 Jahren (Tounian et al.), 7 - 9 mm im Alter von 45 bis 70 Jahren (Hansen et al., 1995)

Tab. 24: Ausgewählte histologische Parameter der Arteria femoralis: eigene Ergebnisse zu Göttingen[®] Minipigs (GM) und Schweinen der Deutschen Landrasse (DL) im Vergleich mit Literaturdaten zum Menschen

A. femoralis					
Spezies	GM		DL		Mensch
Alter	18 Monate	40 Monate	2 Monate	3 Monate	13,5 ± 7 Jahre (Litwin et al., 2004); 42 ± 10 Jahre (Garipey et al., 1995)
Intima-Media-Dicke (IMT)	216,4 µm	289,5 µm	172,1 µm	340,2 µm	330 µm (Litwin et al., 2004); 500 µm (Garipey et al., 1995)
Zunahme der IMT im Untersuchungszeitraum	25 % (im Durchschnitt 1,1% pro Monat) Untersuchungszeitraum: 22 Mo		49 % Untersuchungszeitraum: 1 Mo		34 % (im Durchschnitt 0,1% pro Monat) Untersuchungszeitraum: 28,5 Jahre
Einteilung der A. femoralis in Typen	muskuläre Arterie	muskuläre Arterie	muskuläre Arterie	muskuläre Arterie	muskuläre Arterie (Sokolis, 2010)
Lumendurchmesser	2,3 mm	1,0 mm	1,6 mm	2,6 mm	6,4 mm (Sass et al., 1998); 8,4 mm (Garipey et al., 1995)

5.2.2 Große Venen (über 5 mm Innendurchmesser)

Zu den großen Venen (über 5 mm) wurden in dieser Arbeit die Vena cava cranialis, Vena cava caudalis und die Vena portae gezählt, da sie neben einem großen Gefäßinnendurchmesser auch besondere Strukturen in ihren einzelnen Wandschichten besaßen.

Die **Vena cava cranialis** der präadulten GM mit einem durchschnittlichen Innendurchmesser von $8,8 \pm 2,2$ mm besaß eine gewöhnlich schmale Tunica intima, die eine elastische Membran enthielt. Durch dieses Kriterium und den Aufbau der Tunica media mit ihrem relativ ho-

hen Muskelzellanteil wurde diese Vene dem muskulären Typ zugeordnet. Die V. cava cranialis besaß aufgrund ihrer Entnahmestelle eine Tunica media, die ausschließlich Herzmuskelzellbündel als kontraktile Elemente beinhaltete. Diese verliefen unregelmäßig longitudinal und zirkulär. Immunhistochemische SMA-Untersuchungen bestätigten, dass es keine α -SMA-positiven Muskelzellen gab.

Histologische Untersuchungen der oberen Hohlvene des Menschen ergaben, dass das Auftreten und die Lokalisation von longitudinal verlaufenden glatten Muskelzellen in der Tunica media von dem Ort der Entnahmestelle abhängig war. Bis 15 mm vom Atrium entfernt kamen glatte Muskelzellen im transversalen Anschnitt zusammen mit Herzmuskelzellen vor. Beim 20 mm Anschnitt waren nur Herzmuskelzellen in der Tunica media zu erkennen, während wiederum im weiter entfernten Anschnitt (50 mm) ausschließlich glatte Muskelzellen identifiziert werden konnten (Hashizume et al., 1995). Bei den Lungenvenen der Ratte konnten ebenfalls Herzmuskelzellen nachgewiesen werden. Diese besaßen jedoch einen zweischichtigen Aufbau der Tunica media mit zusätzlich zirkulär verlaufenden glatten Muskelzellen, die der Tunica intima anlagen (Ts'ao et al., 1970).

Da sich jedoch in dieser Arbeit die Entnahmestelle der Vv. cavae craniales nicht direkt am Übergang zum rechten Herzvorhof befand, sondern mindestens einen Zentimeter von diesem entfernt, enthielten sie somit über eine längere Strecke diese besonderen Muskelzellen. Hier kann von einer Beteiligung der Venen an einer Vorhofkontraktion ausgegangen werden. Ähnliche Befunde wurden unter anderem bereits an der V. cava cranialis von Hunden sowie an den Lungenvenen von Ratten gemacht. Es konnten ebenfalls Herzmuskelzellen identifiziert werden, die nachweislich auch Gap junctions als typische Zellverbindungen der Herzmuskelzellen enthielten (Kappagoda et al., 1972; Ludatscher, 1968; Yeh et al., 2001).

Die **Vena cava caudalis** der untersuchten Tiere, eine ebenfalls sehr große Vene mit einem Innendurchmesser von $5,2 \pm 2,2$ mm, besaß bei den präadulten GM eine schmale Tunica intima. Trotz Zuteilung dieser Vene in den muskulären Typ (Tab. 16) war keine eindeutige elastische innere Membran zu erkennen. Die Tunica media enthielt eine sehr schmale Schicht von zirkulär verlaufenden glatten Muskelzellen ($70 \mu\text{m}$), während ihr kraniales Gegenstück, die Vena cava cranialis, eine $650 \mu\text{m}$ dicke Muskelzellschicht in der Tunica media besaß. Auf die Tunica media folgte die etwas dicker ausgebildete Tunica adventitia. Diese Schicht besaß Verflechtungen aus kollagenen und elastischen Fasern, welche sich longitudinal ausrichteten.

In Untersuchungen am Menschen konnte an Orcein-gefärbten Schnitten keine innere elastische Membran identifiziert werden (Hort, 1962b). Bei Untersuchungen anderer Spezies, darunter auch das Schwein, wurde sie dagegen als „gut sichtbare Tunica elastica interna“ bezeichnet (Bongartz, 1958). Zur Tunica media wurden ebenfalls unterschiedliche Ergebnisse gefunden. In Abhängigkeit von der Entnahmestelle konnten im thorakalen Abschnitt der V.

cava caudalis beim Schwein und bei anderen Tierarten (Rind, Schaf, Pferd, Hund) Herzmuskelzellen nachgewiesen werden (Bongartz, 1958). Aufgrund der Entnahmestelle der Vene im Abdomen war das Auftreten von Herzmuskelzellen in der Tunica media in dieser Studie unwahrscheinlich. Die Dicke der Tunica media der unteren Hohlvene beim Hund war mit 15 μm (Isayama et al., 2013) spärlicher als die Tunica media der in dieser Arbeit untersuchten GM ausgebildet. Die Tunica adventitia der Vena cava caudalis des Menschen besaß, entgegen der hier vorliegenden Ergebnisse, Längsmuskulatur. Diese nahm in kaudalen Abschnitten ab, während die Muskulatur der Tunica media kaudal zunahm (Hort, 1962b).

Der variable Wandaufbau der V. cava caudalis in verschiedenen Spezies resultiert sicherlich aus der Lage im Organismus und den daraus resultierenden Druckverhältnissen (Bongartz, 1958; Müller, 2010). Hierbei spielt der aufrechte Gang des Menschen und im Gegensatz dazu die vierfüßige Gangart des Schweines eine große Rolle (Buckner et al., 1999). Bei den Schweinen ist dadurch ein erheblicher mechanischer Druck durch die Organe auf diese Vene physiologischer Weise nicht zu erwarten. Zur Überwindung der Druckverhältnisse spielt die Länge des Organismus wahrscheinlich auch eine Rolle, da die Venen dann ebenfalls entsprechend lang beschaffen sein müssen (Zimmermann, 1926).

Die **Vena portae** wurde mit einem Durchmesser von $4,4 \pm 0,5$ mm bei den präadulten GM und $6,9 \pm 2,2$ mm bei den adulten GM den großen Venen zugeordnet. Es gab zwischen den adulten und präadulten GM keine signifikanten qualitativen Unterschiede und auch nicht bezüglich der Beobachtungen an EZM. Die Vena portae besaß einen besonderen Aufbau der Venenwand, den es in keiner anderen Vene zu sehen gab. Die Tunica intima war zunächst ähnlich wie bei den anderen Venen muskulären Typs aufgebaut. Sie bestand aus einem schmalen Endothel und einer durchgehenden, aber sehr dünnen Membrana elastica interna. Die Tunica media besaß einen zweischichtigen Aufbau mit einer relativ schmalen Schicht an zirkulär angeordneten glatten Muskelzellen, die der Intima anlag, und einer darauf folgenden Schicht mit längsverlaufenden Muskelzellbündeln. Diese Muskelzellbündel waren in kollagene Fasern eingebettet. Die Tunica adventitia enthielt Vasa vasorum, Nerven sowie vereinzelt Leberzellen und war auf der ventralen Seite überwiegend mit einem einschichtigen Plattenepithel überzogen.

Es existieren viele histologische Untersuchungen zur Vena portae verschiedener Spezies. Dementsprechend gab es vereinzelt Unterschiede in den Beobachtungen. Beispielsweise berichteten einige Autoren, wie es auch in dieser Arbeit festgestellt wurde, von einer Tunica intima mit einer Membrana elastica interna bei der Ratte (Ts'ao et al., 1970) bzw. mit einer „Elastica interna“ beim Menschen (Hort, 1962a). Untersuchungen an der menschlichen Vena portae im Altersverlauf zeigten, dass vor allem der Gehalt an kollagenen Fasern und auch der Gehalt an elastischen Fasern im Alter anstieg (Hort, 1962a). Hort beschreibt weiterhin

längsverlaufende Muskelzellbündeln, die sich in der Tunica adventitia befanden und nicht in der Tunica media der Vena portae. Dieselben Befunde dokumentierten auch weitere Autoren, die histologische Untersuchungen an Portalvenen von Ziegen durchführten (Tadjalli and Ziyaei, 1998) bzw. mit Hilfe elektronenmikroskopischer Untersuchungen eine ähnliche Zuordnung der längsverlaufenden Muskelzellbündel in die Tunica adventitia bei der Ratte feststellten (Schipp et al., 1971).

Bei Untersuchungen der Portalvenen an Kaninchen und Ratten wurden die längsverlaufenden Muskelzellbündel wiederum zur Tunica media gezählt (Dong et al., 2010; Holman et al., 1968).

Diese uneinheitliche Zuordnung der Muskelzellbündel zur Tunica media oder Tunica adventitia erschien schwierig, da es keine eindeutigen Grenzen laut der Autoren gab. In dieser Arbeit wurde über die Einordnung der längsverlaufenden Muskelzellbündel in die Tunica media aus folgenden Gründen entschieden. Zum einen gab es eine Verdichtung der überwiegend zirkulär verlaufenden elastischen Fasern zwischen den längsverlaufenden Muskelzellen und dem lockeren Bindegewebe der Adventitia. Zum anderen waren die beiden Muskelzellschichten nicht eindeutig durch Bindegewebe voneinander abgegrenzt.

Für den enormen Anteil an glatten Muskelzellen in der Gefäßwand der Vena portae werden verschiedene Gründe angenommen. So könnte die frühe Entwicklung der Muskulatur der Vena portae im Gegensatz zu anderen Venen eine Ursache sein. Dies geschieht durch einen höheren Druck im Portalsystem, eine höhere Wandspannung und durch einen verhältnismäßig großen Durchmesser der V. portae (Hort, 1962a). Es wird auch über ein direktes Mitwirken der Muskulatur an der Blutflussrichtung diskutiert. So entdeckten wiederum andere Autoren an Portalvenen von Ratten und Mäusen sogenannte „Leberherzchen“ bzw. „richtungsweisende Kontraktionswellen“ (Attardi, 1955; Rolshoven, 1960). Die Lage der Vena portae im Organismus könnte, wie auch bereits bei der V. cava caudalis beschrieben, ebenfalls einen Grund für die Ausprägung der Muskelzellschicht sein. In dieser Arbeit konnte bei den Vv. portae der GM festgestellt werden, dass die Muskelzellbündel kräftiger erschienen, wenn die Schnittstelle näher an der Leber lag. Das lässt vermuten, dass es eventuell doch zu einer Kontraktion der Venenwand in Blutflussrichtung kommt, um den erhöhten Widerstand durch die Leber zu überwinden (Bongartz, 1958).

5.2.3 Große Venen (unter 5 mm Innendurchmesser)

Zu diesen Venen mit einem Innendurchmesser von 1,2 mm bis 4,8 mm wurden in dieser Arbeit die V. jugularis externa, V. jugularis interna, V. cephalica, V. subclavia, V. brachialis, V. axillaris, V. thoracica interna, V. femoralis, V. iliaca externa und die V. renalis gezählt. Diese Venen besaßen ebenfalls den klassischen Aufbau aus drei Gefäßwandschichten: eine Tunica intima mit einer durchschnittlichen Dicke von $4,1 \pm 0,3 \mu\text{m}$, eine Tunica media mit

einer Durchschnittsdicke von $83,5 \pm 38,4 \mu\text{m}$ und eine Tunica externa, die zum umliegenden Bindegewebe nicht abzugrenzen war. Grundsätzlich gab es bei den Untersuchungen der kleinen Venen keine deutlichen morphologischen Abweichungen zwischen den präadulten und adulten GM.

Gemäß der Literatur wurden viele histologische Untersuchungen an Venen verschiedenster Spezies vorgenommen. Die meisten Autoren beschreiben ebenfalls Venen, die aus drei Gefäßwandschichten bestanden (Bongartz, 1958; Hort, 1962a; Neumann, 1937; Tadjalli and Ziyaei, 1998). V. Kügelgen (1956) lehnte jedoch die klassische Einteilung für die Venen des Menschen ab. Er sprach von einer Intima und der „eigentlichen Venenwand“ sowie von einer „Verspannungseinrichtung“ und sogenannten „Hüllschichten“ (v. Kügelgen, 1956). In noch älterer Literatur wurde bei Untersuchungen an Katzen von einer Intima, bestehend aus Endothel, Subendothel mit subendothelialen Zellen und einem inneren elastischen Netz gesprochen. Auf diese Schicht folgte ein sogenanntes muskelelastisches System der Venenwand (Sčelkunow, 1935). Histologische Studien der Vena saphena magna des Menschen im Altersverlauf ergaben, abweichend zu den in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse, dass die Tunica media in eine innere, der Membrana elastica interna angrenzende „Media longitudinalis“ und eine äußere „Media circularis“ unterteilt werden konnte. Des Weiteren wurde festgestellt, dass sich die extrazelluläre Matrix während des Alterns unterschiedlich in den einzelnen Schichten verhielt. Beispielsweise stieg der Anteil an elastischen Fasern in der Tunica intima, während er in der Tunica adventitia fiel (Neumann, 1937). Bei ebenfalls an Menschen untersuchten Venen (Meyer and Klibsch, 1964) und auch bei einigen Tierarten (Bongartz, 1958) wurde in der Literatur von „elastisch-muskulösen Systemen“ in der Adventitia gesprochen sowie von fehlenden Vasa vasorum in dieser Schicht (Lang, 1961). Auch in dieser Arbeit wurden elastische Fasern und glatte Muskelzellen in den kleineren Venen der Schweine nachgewiesen, ebenfalls konnten bei ihnen im Querschnitt kaum Vasa vasorum gesehen werden.

5.3 Elektronenmikroskopie

Die Ultrastruktur von großen Blutgefäßen stellt einen Schwerpunkt im Rahmen der Arteriosklerose-Forschung dar. Hierbei sind sowohl die Morphologie als auch die pathologischen Veränderungen interessant und zwar im Hinblick auf den Alterungsprozess und dem Menschen vergleichbare Tiermodelle. Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen dieser Arbeit wurden die *A. carotis communis* sowie die *Vena jugularis externa* ausgewählt, da diese beiden Blutgefäße bedeutende Gefäße sind, die zudem gut zugänglich sind. Die Evaluierung der *A. carotis communis* dient in der Humanmedizin als diagnostischer Parameter, um kardiovaskuläre Veränderungen erfassen zu können. Eine Vielzahl experimenteller Ansätze bezieht sich auf die *A. carotis communis* (Kanters et al., 1997; Pasa et al., 2008; Tamura et al., 2011). Die *Vena jugularis externa* wird ebenfalls für diverse experimentelle Zwecke verwendet (Jones and Stehbens, 1995; Kling et al., 1989). Die elektronenmikroskopischen Ergebnisse sollen die Kenntnis über die Mikromorphologie dieser beiden Blutgefäße erweitern. Dazu wurde die Tunica intima sowie der unmittelbar angrenzende Bereich der Tunica media in dieser Arbeit von präadulten GM ($n = 1$), adulten GM ($n = 3$) und von präadulten DL-Schweinen (2 Mo: $n = 8$; 3 Mo: $n = 7$) untersucht.

5.3.1 *A. carotis communis*

Endothel

Die Ultrastruktur makrovaskulärer Endothelzellen wurde bislang überwiegend an der Aorta von Nagern (Ambrosini et al., 2005; Nishigaki et al., 1999; Zadrozny et al., 2015), und Schwein (Gerrity et al., 1977; Seifert, 1962) sowie an der *A. carotis communis* der Ratte (Pinto et al., 1998) und der *A. thoracica interna* des Menschen (Onan et al., 2014) dargestellt. Übereinstimmend mit diesen Befunden zeigte die Tunica intima der Halsschlagader bei allen untersuchten Schweinen dieser Studie eine kontinuierliche Endothelzellschicht mit an die Zellform angepassten querovalen Zellkernen. Abweichende Formen resultierten aus dem Zustand der Arterie nach Entnahme und Fixation. Beispielsweise erschienen die Endothelzellen durch den wellenförmigen Verlauf der Tunica intima, der durch Kontraktion entsteht, kubisch. Pathologisch abweichende Zellformen nach Einwirkung verschiedener Noxen (Ambrosini et al., 2005; Onan et al., 2014) wurden im vorliegenden Untersuchungsmaterial jedoch nicht gefunden. Die benachbarten Endothelzellen lagen mit ihren Zytoplasmaausläufern übereinander oder standen durch Interdigitationen mit ihren Nachbarzellen in Kontakt und bildeten zahlreiche Zellkontakte. Diese Beobachtungen konnten auch an der Aorta verschiedener Spezies beschrieben werden (Ambrosini et al., 2005; Gerrity et al., 1977; Nishigaki et al., 1999; Onan et al., 2014; Pinto et al., 1998). Übereinstimmend wurde in diesen Arbeiten, wie auch in der vorliegenden Untersuchung eine hohe Stoffwechselaktivität der

Endothelzellen gefunden. Diese stellte sich als euchromatinreicher Zellkern mit vielen Einbuchtungen, zahlreiche Pinozytosebläschen und Zellorganellen im Zytoplasma dar. Dagegen war in anderen subendothelial gesichteten Zellen, wie Fibroblasten und glatten Muskelzellen im Zytoplasma eine geringere Stoffwechselaktivität bei den untersuchten Tieren zu sehen. Hingegen fanden Gerrity et al. (1977) innerhalb des Aortenbogens des Schweines unterschiedliche Zonen der endothelialen Permeabilität und einer damit verbundenen unterschiedlichen Ultrastruktur der Endothelzellen und des subendothelialen Raumes (Gerrity et al., 1977). Zytoplasmatische Ansammlungen von Lipiden, die von Zadrozny et al. (2015) in den Endothelzellen der Aorta eines adulten Atherosklerose Modells an der Maus gefunden wurden, zeigten weder die präadulten Schweine noch die adulten GM dieser Studie.

Die Glykokalyx der luminalen endothelialen Oberfläche erschien bei dem präadulten Schwein dieser Studie, wie in der porcinen Aorta (Gerrity et al., 1977), teilweise punktförmig verdickt. Bei den adulten GM und den Schweinen der DL war dies aber nicht zu sehen. In der A. carotis communis adulter Mäuse betrug die Dicke der Glykokalyx ca. 2 μm , wobei in etwa 20 % der endothelialen Oberfläche keine Glykokalyx nachweisbar war (Reitsma et al., 2011). Chappell et al. (2009) konnten eine 1 μm dicke Glykokalyx an humanen Endothelzellen der Nabelschnurvene (HUVEC) *in situ*, sowie eine rudimentäre dichte Zone (30 nm) an kultivierten HUVECs, nicht jedoch an immersionsfixierten Proben feststellen. Eine 200 nm dicke Glykokalyx am Koronarendothel des Meerschweinchens konnte ebenfalls gemessen werden (Jacob et al., 2009). Diese Ergebnisse weisen auf eine große morphologische und funktionelle Variabilität der Glykokalyx hin.

Subendothelialer Spalt

Abluminal der Endothelzellen befand sich analog zu den Befunden an der A. thoracica interna des Menschen (Onan et al., 2014) sowie der porcinen Aorta (Gerrity et al., 1977) bei den hier untersuchten Schweinen eine überwiegend kontinuierliche Basallamina mit nachfolgendem Stratum subendotheliale. Die Basallamina wurde jedoch insbesondere am Endothel diabetischer Mäuse (Popov and Simionescu, 2006) und Hamster (Simionescu et al., 1996) als hyperplastisch und maschig, beziehungsweise an der Aorta des Schweines als fehlend (Seifert, 1962) beschrieben. An der gesunden A. carotis communis der Ratte war sie diskontinuierlich oder stellenweise fehlend (Pinto et al., 1998). Hier sahen Pinto et al., (1998) einen Zusammenhang mit Erweiterungen des subendothelialen Raumes im Bereich von Lücken in der angrenzenden Membrana elastica interna und einem damit verbundenen erhöhten Stoffaustausch bzw. der Migration von Zellen.

Auch in den vorliegenden Befunden beim Schwein, lagen die Erweiterungen des Stratum subendotheliale an den Stellen, an denen die innere elastische Membran unterbrochen war. Das Stratum subendotheliale war bei den hier untersuchten adulten GM mit bis zu 7,2 μm

deutlich dicker und bei den älteren DL-Schweinen (3 Mo) mit 2,1 μm etwas dicker als bei den jeweils jüngeren Schweinen, deren Stratum subendotheliale eine Breite von etwa 1 μm hatte. An der A. carotis communis der Ratte wurden bis zu 3 μm Stratum subendotheliale gemessen (Pinto et al., 1998). Die Erweiterungen enthielten bei den Schweinen in dieser Arbeit extrazelluläre Matrix und vereinzelt Zellen. Bei den Zellen handelte es sich um glatte Muskelzellen und Fibrozyten, wobei diese in unseren Untersuchungen zahlreicher bei den adulten GM und Schweinen der DL (3 Mo) zu sehen waren als bei den jeweils jüngeren Schweinen. Da jedoch nur einzelne Messwerte miteinander verglichen wurden, sind weitere Untersuchungen notwendig, um die Vermutungen zu verifizieren.

Membrana elastica interna

Lücken in der Membrana elastica interna großer Arterien, die lichtmikroskopisch nicht immer evident sind, fanden sich auch bei der Aorta der Maus bis zu einem Alter von 10 Tagen (Zadrozny et al., 2015), der Aorta der Ratte (Azuma et al., 2009; Kobayashi and Sakai, 1997), des Kaninchens (Potter and Roach, 1983) und des Hundes (Song and Roach, 1985) sowie beim jungen Schwein mit einer Körpermasse von 20 kg (Seifert, 1962). Dagegen zeigte die Aorta vom 12 Wochen alten Gerbil (Nishigaki et al., 1999) keine Unterbrechungen in der Membrana elastica interna. Seifert (1962) spricht nicht von einer M. elastica interna sondern von maschigen Verflechtungen kollagener Fasern und elastischen Fasern, welche die Intima mit der Media in der Aorta verbinden (Seifert, 1962). Somit bestätigen die vorliegenden lichtmikroskopische Befunde an der Aorta, dass eine solche Membran bei elastischen Arterien nicht deutlich ausgeprägt ist. Die Funktion der unterbrochenen M. elastica interna könnte darin liegen, dass sowohl im physiologischen Zustand des Gefäßes als auch insbesondere im Alter bei pathologischen Prozessen für die Durchlässigkeit von Stoffen und auch migrierenden Zellen gesorgt wird (Pinto et al., 1998; Smith and Staples, 1980).

In diesem Zusammenhang erscheint neben der Lückenhaftigkeit die Verdopplung der inneren elastischen Membran, wie sie in dieser Arbeit und auch von anderen Autoren (French et al., 1963; Solanes et al., 2005) an der Aorta und der A. femoralis des Schweines gefunden wurde, bedeutsam. Da diese morphologische Besonderheit bei anderen Spezies nicht beobachtet wurde, scheint die Verdopplung der Membrana elastica interna spezifisch für das Schwein zu sein. Dabei stehen die einzelnen Anteile der Membrana elastica interna netzförmig untereinander und mit den Lamellen der Media in Verbindung.

Wie auch von Pinto et al., (1998) beobachtet wurde, war die Membrana elastica interna in unserer Studie an den Unterbrechungsstellen entweder glatt oder aufgespalten und die zentralen Anteile erschienen dünner als die peripheren. Dies lässt vermuten, dass im Zuge des Wachstums der Arterienwand neue elastische Membranen gebildet werden, die durch Einwanderung von glatten Muskelzellen neue Ringsegmente aufbauen. Dies stützt das Konzept des arteriellen Wachstums nach innen, wodurch eine Wandverdickung und Lumenverkleine-

rung erreicht wird, wie in verschiedenen pathologischen Situationen des eutrophen oder hypertrophen Remodelling im Zusammenhang mit Hypertension beschrieben wurde (Arribas et al., 2006) und wofür auch unsere Daten zum Wachstum der Arterienwand mit gleichzeitiger Lumenreduktion sprechen.

Tunica media

Die der Tunica intima angrenzenden Muskelzellen der Tunica media lagen bei den hier untersuchten Schweinen häufig direkt an der inneren elastischen Membran und den anderen elastischen Fasern an. Derartige „Insertionen“ der Myozyten an den elastischen Lamellen in der A. carotis communis der Ratte (Pinto et al., 1998) bekräftigten die Annahme eines „muskulo-elastischen Systems“, welches lichtmikroskopisch bereits besprochen wurde (s. Kapitel 5.2.3).

5.3.2 V. jugularis externa

Die Tunica intima der Jugularvene und ihre angrenzenden Strukturen waren bei allen untersuchten Tiergruppen ähnlich aufgebaut. Die Endothelzellen zeigten sich im Querschnitt flachoval bis rundoval und besaßen, wie auch bereits lichtmikroskopisch beobachtet, einen ihnen angepassten flach- bis rundovalen Zellkern. Dies stimmt überein mit der V. jugularis externa des Kaninchens (Kling et al., 1989). In einer früheren Studie an verschiedenen Venen beim Menschen wurden ebenfalls rundovale Kerne im histologischen Querschnitt identifiziert, die im Alter jedoch polymorphe Gestalt annahmen (Sinapius, 1958). Die Endothelzellen in dieser Arbeit zeigten außerdem in allen Altersgruppen lumenseitig Mikrovilli-ähnliche Fortsätze, die von Kling et al. (1989) nicht beschrieben wurden. Lateral kam es gelegentlich zur Ausbildung von Interdigitationen, während sich die benachbarten Endothelzellen gleichzeitig mit ihren Zytoplasmaausläufen überlagerten und sich so lückenlos aneinander reihten, was auch von Kling et al. (1989) gefunden wurde (Kling et al., 1989). Wie bei der in dieser Arbeit untersuchten A. carotis communis waren auch in den venösen Endothelzellen zahlreiche Pinozytosebläschen sichtbar. Dagegen waren weder ein Stratum subendotheliale mit darin enthaltenen Zellen noch eine elastische Membran erkennbar. Direkt auf den Endothelzellen folgend befanden sich vor allem kollagene und elastische Fasern. Im Gegensatz zu den hier gemachten Beobachtungen folgten auf das Venenendothel bei Hautvenen von Kaninchen und Lungenvenen der Ratte eine oder mehrere Schichten von glatten Muskelzellen (Kling et al., 1989; Ludatscher, 1968; Rhodin, 1968). Aus diesen Feststellungen ist nicht ersichtlich, welche Einflussfaktoren (z. B. Spezies, Lokalisation und Alter) für die unterschiedlichen Ergebnisse zuständig sind.

Bei Untersuchungen des menschlichen Venenendothels im Zeitverlauf mittels Rasterelektronenmikroskop wurden abweichende Beobachtungen zu den Ergebnissen in dieser Arbeit

gemacht. Bei den älteren Menschen kam es zu Dehiszenzen im Relief des Endothels sowie zu villösen Oberflächenercheinungen. Des Weiteren wurden die Endothelzellen so dargestellt, dass die Nachbarzellen aneinander lagen und sich die Zytoplasmarränder bei Retraktion des Blutgefäßes nach oben wölbten (Mahrle and Orfanos, 1971).

Die Befunde und Literaturdaten sprechen somit für eine große Anpassungsfähigkeit der Morphologie des Venenendothels verschiedener Spezies an Lokalisation im Körper und an verschiedene physiologische und pathologische Zustände (v. Kügelgen, 1955, 1956).

5.4 Empfehlungen zum Refinement

Um die Belastungen am Tiermodell Göttingen[®] Minipig in kardiovaskulären Studien möglichst niedrig zu halten, ist es wichtig, die Ergebnisse dieser Arbeit beim Refinement gemäß der 3Rs (Russell and Burch, 1959) in der Tierversuchsplanung zu berücksichtigen. Daher sind in den unten stehenden Abschnitten noch einmal die wichtigsten mikroskopischen Ergebnisse im Vergleich zu anderen Spezies aufgeführt.

5.4.1 Gefäßinnendurchmesser und Gefäßwandschichten der Arterien

Die Gefäßinnendurchmesser und die Gefäßwandschichten der Arterien wachsen vom präadulten (17/18 Monate) zum adulten (40 Monate) Stadium der GM nicht isometrisch. Trotz deutlicher Massezunahme von 32 % der Tiere gab es so gut wie keine signifikanten Veränderungen bei der Betrachtung der Innendurchmesser, der Dicke der Tunica intima und der äußeren Schicht der Tunica externa. Dagegen konnte ein deutliches Wachstum von bis zu 30 % der Dicke der Tunica media festgestellt werden. Dies stimmt mit der altersabhängigen Zunahme der Wanddicke der A. carotis communis beim Menschen überein (Lakatta, 2003, Najjar, 2005).

Innerhalb der DL gab es zwischen den Altersgruppen stets ein deutliches Wachstum der Arterienwand, wie beispielsweise 60% Wachstum der Tunica media bei der A. carotis communis. Hierbei besteht bei einem geringen Altersunterschied von einem Monat und einer Massezunahme von 73 % eine deutliche Masseabhängigkeit. Die gleichen Beobachtungen konnten in Studien an ausgewählten Arterien von Pferden, Rindern, Schafen und Schweinen gemacht werden (Zimmermann, 1926). Dort war ebenfalls die Größenzunahme der Arterien körpermassenabhängig.

Eine Besonderheit in der Morphologie zeigte von den Arterien in dieser Arbeit die A. carotis communis. Die A. carotis communis der GM beider Altersgruppen sowie der DL im Alter von drei Monaten stellt eine A. myotypica dar, während bei der DL im Alter von zwei Monaten ein

Mischtyp vorliegt. Beim Menschen wird sie dagegen überwiegend als *A. elastotypica* identifiziert (Gussenhoven et al., 1989; Lockwood et al., 1992) bzw. wird ein Umbau des Arterientyps vom elastischen zum muskulären Typ innerhalb des Arterienverlaufs von proximal nach distal beim Schwein beschrieben (Garcia et al., 2011). Da durch die Entnahme der *A. carotis communis* aus der Halsmitte (Tab. 5) die Arterienwand lediglich über eine kurze Strecke charakterisiert wird, wären nachfolgende Untersuchungen am GM zur Charakterisierung der gesamten Gefäßstrecke sinnvoll. Dadurch könnte eine bessere Entscheidung über die Verwendung des Minipigs als Modelltier für den Menschen getroffen werden.

5.4.2 Extrazelluläre Matrix in der Tunica media der Arterien

Bei den präadulten (18 Mo) und adulten (40 Mo) GM besteht in der Tunica media der Aorta ein gleichbleibendes Verhältnis der kollagenen und elastischen Fasern in der EZM von jeweils 30 % Flächenanteil. Derselbe Flächenanteil konnte auch in der Tunica media der *A. carotis communis* und der *A. femoralis* beider Rassen und Altersgruppen gemessen werden, während die Kollagene beim Menschen von 4,5 mg/cm² in einem Alter von 20 Jahren um ca. ein Drittel bis zum 80. Lebensjahr zunehmen (6 mg/cm²) (Andreotti et al., 1985).

Der Anteil glatter Muskelzellen in der Tunica media der *A. carotis communis* und der *A. femoralis* steigt mit zunehmendem Alter und Körpermasse bei den GM und den DL zuungunsten des Anteils elastischer Fasern.

5.4.3 Besonderheiten der Venen

Aufgrund blutgefäßwandtypischer Merkmale erschien es sinnvoll die Venen der GM und der DL-Schweine in elastische und muskuläre Venen einzuteilen (Tab. 16). Dies erfolgte in Anlehnung an die übliche Zuteilung der qualitativen Kriterien für die Einstufung der Arterien in entsprechende Typen (Kapitel 4.1.1.). Die Messwerte der Venenwand aller untersuchten Schweine waren in dieser Arbeit entsprechend ihrer Lokalisation sehr variabel. Beispielsweise unterschieden sich die Tunica media der *V. jugularis interna* und die der *V. jugularis externa* der GM qualitativ sowie quantitativ deutlich voneinander, sodass die *V. jugularis interna* im Hinblick auf die Tunica media nicht als Kontrollgefäß der *V. jugularis externa* in Tierversuchen verwendet werden kann.

5.4.4 Besonderheiten elektronenmikroskopischer Strukturen der *A. carotis communis* und *V. jugularis externa*

Die vorliegenden Befunde an der *A. carotis communis* und *V. jugularis externa* von GM und DL zeigen weitgehende Übereinstimmung aber auch einige Unterschiede zu den Befunden an anderen Spezies im prinzipiellen ultrastrukturellen Aufbau der Tunica intima und angrenzenden Bereichen der Tunica media. Die Unterschiede betreffen die Kontinuität der Basalmembran sowie die Ausprägung der Membrana elastica interna, welche sich beim Schwein durch Unterbrechungen und Verdoppelung auszeichnet.

Schlussfolgerung

Die in dieser Arbeit aufgezeigten Feststellungen tierartlicher, regionaler, alters- und mas-sebedingter Unterschiede sind von wesentlicher Bedeutung. Grundsätzlich zeigen die Daten, dass es in der juvenilen Phase zu großen Schwankungen im Bau der Blutgefäße der großen, relativ schnell wachsenden Landrasseschweine innerhalb kürzester Zeit kommen kann (Tab. 23, Tab. 24) und sie deshalb für Langzeitstudien weniger gut geeignet oder sogar unzweckmäßig sind. Dadurch ist die Verwendung von Minischweinen in Langzeitstudien nach wie vor sinnvoller als die konventioneller Schweinerassen sein.

6 Zusammenfassung

Seit einigen Jahren hat in Deutschland das Schwein als Großtiermodell in der biomedizinischen Forschung immer mehr an Bedeutung gewonnen. Aufgrund großer physiologischer und morphologischer Ähnlichkeiten bezüglich des Blutgefäßsystems von Schwein und Mensch hat sich das Schwein v.a. in der kardiovaskulären Forschung etabliert. Durch die Züchtung des Göttingen[®] Minipigs (GM) in den sechziger Jahren steht ein Modelltier mit geringem Adultgewicht von 35-40 kg für die biomedizinische Forschung zur Verfügung.

Da nur wenige systematische Untersuchungen zur Mikromorphologie des Blutgefäßsystems des GM vorliegen, soll die vorliegende Studie den Altersverlauf von präadult zu adult charakterisieren sowie einen Vergleich zu konventionellen Schweinerassen ähnlicher Gewichtsklassen erstellen. Diese Daten können für die Versuchsplanung, v.a. bei biomedizinischen Langzeitstudien, verwendet werden und somit einen Beitrag zum Refinement (nach Russel und Burch) leisten.

Die Auswahl der 23 untersuchten Tiere erfolgte im Sinne der „3R“ nach Russel und Burch (1959). Diese Minimalanzahl an Tieren stammte aus anderen Forschungsprojekten und teils wurde das für die Ausbildung der Studenten verwendete Material für die Probengewinnung genutzt.

Zur Erfassung der mikroskopisch qualitativen und quantitativen Daten des Blutgefäßsystems der GM wurden klinisch relevante Arterien (n= 22) und Venen (n= 13) von fünf präadulten GM (17-18 Monate, Masse: 27,6 ± 2,5 kg) und drei adulten GM (40 ± 2 Monate, Masse: 42 ± 1,7 kg) histologisch untersucht. Zum Vergleich wurden die Halsgefäße sowie die A. und V. femoralis an sechs präadulten Schweinen (2 Monate, Masse: 10,3 ± 2,6 kg) und sieben 3 Monate alten Tieren der Deutschen Landrasse (DL) (Masse: 39,0 ± 2,5 kg) untersucht.

Bei den präadulten GM konnten Duplikaturen von Blutgefäßen überwiegend im Bereich der Schultergliedmaßengefäße identifiziert werden.

Die Einteilung der Arterien der GM erfolgte in elastische und muskuläre Typen sowie in Mischtypen. Zu den Kriterien gehörten die Dicke der Tunica intima, die Existenz einer inneren elastischen Membran, der Anteil an Kollagen, elastischen Fasern und glatten Muskelzellen in der Tunica media und das Adventitia/Media-Verhältnis. Zu den Aa. elastotypicae (37 % elastische Fasern, 35 % glatte Muskelzellen) gehörten die Abschnitte der Aorta im Thorax. Zu den Aa. myotypicae (max. 25 % elastische Fasern, mindestens 45% glatte Muskelzellen) zählten die Gliedmaßengefäße. Die Arterien der Aa. mixtotypicae befanden sich zwischen den anderen beiden Typen, wie beispielsweise die Aorta abdominalis und A. subclavia. Als Besonderheit war die Heterogenität der A. carotis communis zu sehen. Diese stellte sich bei den GM und den älteren Schweinen der DL (3 Mo) als A. myotypica und bei den zwei Monate alten DL Schweinen als A. mixtotypica dar.

Bei den DL-Schweinen besteht eine positive Korrelation der glatten Muskulatur und EZM zur Körpermasse bei der A. carotis communis.

Bei den präadulten (18 Mo) und adulten (40 Mo) GM besteht in der Tunica media der Aorta ein gleichbleibendes Verhältnis der kollagenen und elastischen Fasern in der EZM von jeweils 30 % Flächenanteil.

Die Lumenreduktion der Aorta im proximo-distalen Verlauf belief sich bei den GM auf 40% (präadult) bis 60% (adult).

Innerhalb der GM gab es zwischen den beiden Altersgruppen präadult (17/18 Monate) und adult (40 Monate) trotz deutlicher Massezunahme von 32 % der Tiere keine signifikanten Veränderungen bei der Betrachtung der Innendurchmesser und der Dicke der Tunica intima der untersuchten Arterien und Venen. Dagegen konnte ein deutliches Wachstum von bis zu 30% bei der Dicke der Tunica media festgestellt werden. Dagegen gab es bei den DL zwischen den Altersgruppen stets ein masseabhängiges Wachstum der Blutgefäße.

Die Venen der GM und der DL-Schweine können aufgrund typischer Merkmale in elastische und muskuläre Venen eingeteilt werden. Da sich die Tunica media der V. jugularis interna von der V. jugularis externa der GM qualitativ sowie quantitativ signifikant unterscheidet, kann diese im Hinblick auf die Tunica media nicht als Kontrollgefäß der V. jugularis externa in Tierversuchen verwendet werden. Dieses Ergebnis muss beim Refinement gemäß der 3Rs in der Tierversuchsplanung berücksichtigt werden.

Grundsätzlich zeigen die Daten, dass es in der juvenilen Phase zu großen Schwankungen im Bau der Blutgefäße der großen, relativ schnell wachsenden Landrasseschweinen innerhalb kürzester Zeit kommen kann und sie deshalb für Langzeitstudien weniger gut geeignet oder sogar unzweckmäßig sind.

Daher stellt das Göttingen[®] Minipig für Langzeitstudien am Blutgefäßsystem das Tiermodell der Wahl dar.

7 Summary

Micromorphological and micromorphometrical investigations of the vascular system of the Göttingen[®] Minipig - A contribution to the refinement within the meaning of the 3R concept of Russel and Burch

Pigs belong to the advanced mammals most frequently used in biomedical studies done in laboratories in Europe. They have become increasingly popular in cardiovascular research, because anatomical and physiological characteristics of the porcine cardiovascular system show a closer similarity to human ones than those of dogs, cats or rodents. Due to their body size the use of traditional pig breeds (e.g. German landrace, DL) as laboratory animals is limited. By breeding the Göttingen[®] Minipigs (GM) in the sixties, an animal model with low adult weight (35-40 kg) was created for research.

However, there is only sparse systematic data on specific morphometric characteristics of the porcine vasculature available allowing biomedical study refinement according to the 3R-concept of Russel and Burch (1958). The aim of this study was to examine clinically important arteries and veins during ageing and compare the data to conventional pig breeds with similar weight. These findings should be used for planning experiments, especially for biomedical long-term studies, to make a contribution to the refinement (by Russel and Burch).

The selection of the 23 animals examined was made to comply with regulations according to the "3R", which were comprised by Russell and Burch (1959). The small number of animals used came from other research projects and samples were partly collected from material used for student training, as well.

Microscopic qualitative and quantitative data of the vascular system were collected of relevant arteries (n = 22) and veins (n = 13) of five präadult GM (17-18 months, mass: 27.6 ± 2.5 kg) and three adult GM (40 \pm 2 months, mass: 42 ± 1.7 kg). For comparison, the carotid artery and the femoral artery and vein of six präadult pigs (mass: 10.3 ± 2.6 kg, 2 months) and of seven 3 month old pigs (mass: 39.0 ± 2.5 kg) of the German Landrace (GL) were studied. Duplications of some vessels were detected mainly in the region of GM's foreleg.

The classification of the arteries of GM was made in elastic and muscular types and in mixed types. The histological features included thickness of the tunica intima, the existence of an internal elastic membrane, the amount of collagen, elastic fibers and smooth muscle cells in the tunica media and the adventitia/media ratio. The thoracic aorta represented the elastic artery type (37% elastic fibers, 35% smooth muscle cells) whereas limb vessels belonged to the muscular type of arteries (max. 25% elastic fibers, at least 45% smooth muscle cells). The arteries of the Aa. mixtotypicae such as the abdominal aorta and subclavian artery were in between these two types. The common carotid artery represents in the GM and the older

pigs of GL (3 Mo) an *A. myotypica* and in the two-month-old pigs of GL an *A. mixtotypica*. The amount of SMC and ECM of common carotid artery and femoral artery correlated to body mass in GL.

Furthermore a constant ratio of collagen (30 %) and elastic fibers (30 %) in the ECM of präadult (18 Mo) and adult (40 Mo) GM was found in the tunica media of the aorta.

The reduction of the diameter of the aorta in the proximo-distal orientation amounted in the GM 40% (präadult) to 60% (adult).

On consideration of the inner diameter and the thickness of the tunica intima of the examined arteries and veins there were no significant changes between the two age groups präadult (17/18 months) and adult GM (40 months) despite a significant increase in mass of 32%. In contrast, a significant growth of up to 30% in the thickness of the tunica media was found. There was always a mass-related blood vessel growth in the DL between the ages.

The veins of the GM and GL-pigs can be classified into muscular and elastic types like the arteries due to typical characteristics. As the tunica media of the internal jugular vein and external jugular vein of the GM differ qualitatively and quantitatively significant, this can not be used as a control vessel of the external jugular vein in animal testing in view of the tunica media. This result should consider the Refinement of the 3Rs in animal experimental design.

Basically, the data show that there may be large variations in the structure of blood vessels of large, relatively fast growing Landrace pigs within a very short time in the juvenile phase and they are therefore less suitable for long-term studies or even impractical.

Therefore, the Göttingen[®] minipig is for long-term studies on the vascular system the animal model of choice.

8 Literaturverzeichnis

- Abd El-Nabi, F.M., 1975, Züchtung eines Miniaturschweines als Versuchs- und Laboratoriumstier. Agr Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen.
- Abdel-Rahman, U., Margraf, S., Aybek, T., Logters, T., Bitu-Moreno, J., Francischetti, I., Kranert, T., Grunwald, F., Windolf, J., Moritz, A., Scholz, M., 2007, Inhibition of neutrophil activity improves cardiac function after cardiopulmonary bypass. *J Inflamm (Lond)* 4, 21.
- Acar, C., Jebara, V.A., Portoghèse, M., Fontaliran, F., Dervanian, P., Chachques, J.C., Meininger, V., Carpentier, A., 1991, Comparative anatomy and histology of the radial artery and the internal thoracic artery. *Surg Radiol Anat* 13, 283-288.
- Aksakal, D., Hückstädt, T., Richter, S., Klitscher, D., Wowra, T., de Laffolie, J., Kampmann, C., Schier, F., 2012, Comparison of femoral and carotid blood pressure during laparoscopy in piglets. *J Pediatr Surg* 47, 1688-1693.
- Ambrosini, M.V., Mariucci, G., Rambotti, M.G., Tantucci, M., Covarelli, C., De Angelis, L., Del Soldato, P., 2005, Ultrastructural investigations on protective effects of NCX 4016 (nitroaspirin) on macrovascular endothelium in diabetic Wistar rats. *J Submicrosc Cytol Pathol* 37, 205-213.
- Anderhuber, F., 1984, [Venous valves in the large branches of superior vena cava]. *Acta Anat (Basel)* 119, 184-192.
- Andreotti, L., Bussotti, A., Cammelli, D., di Giovine, F., Sampognaro, S., Sterrantino, G., Varcasia, G., Arcangeli, P., 1985, Aortic Connective Tissue in Ageing—A Biochemical Study. *Angiology* 36, 872-879.
- Araña, M., Gavira, J.J., Peña, E., González, A., Abizanda, G., Cilla, M., Pérez, M.M., Albiasu, E., Aguado, N., Casado, M., López, B., González, S., Soriano, M., Moreno, C., Merino, J., García-Verdugo, José M., Díez, J., Doblaré, M., Pelacho, B., Prosper, F., 2014, Epicardial delivery of collagen patches with adipose-derived stem cells in rat and minipig models of chronic myocardial infarction. *Biomaterials* 35, 143-151.
- Arribas, S.M., Hinek, A., Gonzalez, M.C., 2006, Elastic fibres and vascular structure in hypertension. *Pharmacol Ther* 111, 771-791.
- Attardi, G., 1955, Demonstration in vivo and in vitro of peristaltic contractions in the portal vein of adult mammals (rodents). *Nature* 176, 76-77.
- Authier, S., Gervais, J., Fournier, S., Gauvin, D., Maghezzi, S., Troncy, E., 2011, Cardiovascular and respiratory safety pharmacology in Gottingen minipigs: Pharmacological characterization. *J Pharmacol Toxicol Methods* 64, 53-59.
- Aydin, M., Sayin, M.R., 2009, Successful coronary stent retrieval from the saphenous vein graft to right coronary artery. *Case Rep Med* 2009, 718685.
- Azuma, K., Ichimura, K., Mita, T., Nakayama, S., Jin, W.L., Hirose, T., Fujitani, Y., Sumiyoshi, K., Shimada, K., Daida, H., Sakai, T., Mitsumata, M., Kawamori, R., Watada, H., 2009, Presence of alpha-smooth muscle actin-positive endothelial cells in the luminal surface of adult aorta. *Biochem Biophys Res Commun* 380, 620-626.
- Bader, A., Schilling, T., Teebken, O.E., Brandes, G., Herden, T., Steinhoff, G., Haverich, A., 1998, Tissue engineering of heart valves--human endothelial cell seeding of detergent acellularized porcine valves. *Eur J Cardiothorac Surg* 14, 279-284.
- Bader, A., Steinhoff, G., Strobl, K., Schilling, T., Brandes, G., Mertsching, H., Tsikas, D., Froelich, J., Haverich, A., 2000, Engineering of human vascular aortic tissue based on a xenogeneic starter matrix. *Transplantation* 70, 7-14.
- Baumert, J.H., Hein, M., Gerets, C., Baltus, T., Hecker, K.E., Rossaint, R., 2009, The effect of xenon on isoflurane protection against experimental myocardial infarction. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 23, 614-618.
- Belz, G.G., 1995, Elastic properties and Windkessel function of the human aorta. *Cardiovasc Drugs Ther* 9, 73-83.
- Bennett, A.R., Wiener, S.N., 1965, Intrarenal arteriovenous fistula and aneurysm. A complication of percutaneous renal biopsy. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 95, 372-382.

- Benninghoff, A., 1927, Über die Beziehungen zwischen elastischem Gerüst und glatter Muskulatur in der Arterienwand und ihre funktionelle Bedeutung. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 6, 348-396.
- Birck, M.M., Pesonen, E., Odermarsky, M., Hansen, A.K., Persson, K., Frikke-Schmidt, H., Heegaard, P.M., Liuba, P., 2011, Infection-induced coronary dysfunction and systemic inflammation in piglets are dampened in hypercholesterolemic milieu. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300, H1595-1601.
- BMEL, 2013, Tierversuchszahlen 2012. [http://: www. bmel.de/SharedDocs/ Downloads/Tier/Tierschutz/ 2012Tierversuchszahlen Gesamt.html](http://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Tier/Tierschutz/2012TierversuchszahlenGesamt.html).
- BMEL 2014. Tierversuchszahlen 2013. In <http://: www. bmel.de/SharedDocs/ Downloads/Tier/ Tierschutz/2013-Tierversuchszahlen Gesamt.html>.
- Bollen, P., Ellegaard, L., 1997, The Gottingen Minipig in Pharmacology and Toxicology. *Pharmacol Toxicol* 80, 3-4.
- Bolte, J., Neumann, U., Pfafferott, C., Vogt, A., Engel, H.J., Mehmel, H.C., von Olshausen, K.E., 2001, Incidence, management, and outcome of stent loss during intracoronary stenting. *Am J Cardiol* 88, 565-567.
- Bongartz, G., 1958, Über Struktur und Funktion der Vena cava caudalis bei Rind, Schaf, Pferd, Schwein und Hund. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 48, 24-50.
- Brener, B.J., Darling, R., Frederick, P.L., Linton, R.R., 1974, Major venous anomalies complicating abdominal aortic surgery. *Archives of Surgery* 108, 159-165.
- Briggs, H.M., 1983, International pig breed encyclopedia. Elanco.
- Buckner, P.S., Quail, A.W., Cottee, D.B., White, S.W., 1999, Venous hydrostatic indifference point as a marker of postnatal adaptation to orthostasis in swine. *J Appl Physiol* (1985) 87, 882-888.
- Bundi, P.K., Ogeng'o, J.A., Hassanali, J., Odula, P.O., 2009, Regional Histomorphometry of the Hepatic Inferior Vena Cava; a Possible Sphincteric Mechanism. *Int J Morphol* 27, 849-854.
- Che, W.Q., Dong, H., Jiang, X.J., Peng, M., Zou, Y.B., Qian, H.Y., Zhang, H.M., Wu, H.Y., Yang, Y.J., Gao, R.L., 2016, Stenting for left subclavian artery stenosis in patients scheduled for left internal mammary artery-coronary artery bypass grafting. *Catheter Cardiovasc Interv* 87 Suppl 1, 579-588.
- Chen, K.R., 2010, The misdiagnosis of superficial thrombophlebitis as cutaneous polyarteritis nodosa: features of the internal elastic lamina and the compact concentric muscular layer as diagnostic pitfalls. *Am J Dermatopathol* 32, 688-693.
- Choy, J.S., Mathieu-Costello, O., Kassab, G.S., 2005, The effect of fixation and histological preparation on coronary artery dimensions. *Ann Biomed Eng* 33, 1027-1033.
- Chunlai, S., Stella, P.R., Belkacemi, A., Agostoni, P., 2012, Aortic dissection, a complication during successful angioplasty of chronic total occlusion of the right coronary artery, was treated conservatively. *Cardiovasc J Afr* 23, e11-13.
- Crowe, R., Burnstock, G., Dickinson, I.K., Pryor, J.P., 1991, The human penis: an unusual penetration of NPY-immunoreactive nerves within the medial muscle coat of the deep dorsal vein. *J Urol* 145, 1292-1296.
- Dalloul, G., Feldman, D., Haddad, N., Amruthlal Jain, S.K., Zarghami, J., Zughuib, M., 2013, Carotid artery stenting in a community hospital: a success story. *J Invasive Cardiol* 25, 3-6.
- Dobrin, P.B., Littooy, F.N., Endean, E.D., 1989, Mechanical factors predisposing to intimal hyperplasia and medial thickening in autogenous vein grafts. *Surgery* 105, 393-400.
- Dolezal, O., Horakova, D., Gdovinova, Z., Szilasiova, J., 2012, Serious complication of percutaneous angioplasty with stent implantation in so called "chronic cerebrospinal venous insufficiency" in multiple sclerosis patient. *Prague Med Rep* 113, 289-293.
- Dong, H.-M., Ichimura, K., Sakai, T., 2010, Structural Organization of Hepatic Portal Vein in Rat with Special Reference to Musculature, Intimal Folds, and Endothelial Cell Alignment. *Anat Rec (Hoboken)* 293, 1887-1895.
- Eckman, D.M., Stacey, R.B., Rowe, R., D'Agostino, R., Jr., Kock, N.D., Sane, D.C., Torti, F.M., Yeboah, J., Workman, S., Lane, K.S., Hundley, W.G., 2013, Weekly doxorubicin increases coronary arteriolar wall and adventitial thickness. *PLoS One* 8, e57554.

- EU 2010. Richtlinie 2010/63/EU des europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere.
- Feinfeld, D.A., Batista, R., Mir, R., Babich, D., 1999, Changes in venous histology in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 34, 702-705.
- Fink, H., Blobner, M., Bogdanski, R., Hanel, F., Werner, C., Kochs, E., 2000, Effects of xenon on cerebral blood flow and autoregulation: an experimental study in pigs. *Br J Anaesth* 84, 221-225.
- Fischer, G.M., Llauro, J.G., 1966, Collagen and elastin content in canine arteries selected from functionally different vascular beds. *Circ Res* 19, 394-399.
- Fischer, G.M., Swain, M.L., 1977, Effect of sex hormones on blood pressure and vascular connective tissue in castrated and noncastrated male rats. *Am J Physiol* 232, H617-621.
- Foltys, D., Kath, M., Stempel, M., Weiler, N., Heimann, A., Knaak, J.M., Weyer, V., Hansen, T., Kempski, O., Otto, G., 2013, Comparative analysis of in situ versus ex situ perfusion on micro circulation in liver procurement--an experimental trial in a porcine model. *Transplant Proc* 45, 1693-1699.
- French, J.E., Jennings, M.A., Poole, J.C.F., Robinson, D.S., Florey, H., 1963, Intimal Changes in the Arteries of Ageing Swine. *Proc R Soc Lond [Biol]* 158, 24-42.
- Gallo, R., Padurean, A., Jayaraman, T., Marx, S., Roque, M., Adelman, S., Chesebro, J., Fallon, J., Fuster, V., Marks, A., Badimon, J.J., 1999, Inhibition of Intimal Thickening After Balloon Angioplasty in Porcine Coronary Arteries by Targeting Regulators of the Cell Cycle. *Circulation* 99, 2164-2170.
- Garcia, A., Pena, E., Laborda, A., Lostale, F., De Gregorio, M.A., Doblare, M., Martinez, M.A., 2011, Experimental study and constitutive modelling of the passive mechanical properties of the porcine carotid artery and its relation to histological analysis: Implications in animal cardiovascular device trials. *Med Eng Phys* 33, 665-676.
- Garipey, J., Simon, A., Massonneau, M., Linhart, A., Levenson, J., 1995, Wall thickening of carotid and femoral arteries in male subjects with isolated hypercholesterolemia. PCVMETRA Group. *Prevention Cardio-Vasculaire en Medecine du Travail. Atherosclerosis* 113, 141-151.
- Gerrity, R.G., Richardson, M., Somer, J.B., Bell, F.P., Schwartz, C.J., 1977, Endothelial cell morphology in areas of in vivo Evans blue uptake in the aorta of young pigs. II. Ultrastructure of the intima in areas of differing permeability to proteins. *Am J Pathol* 89, 313-334.
- Glodek, P., Oldigs, B., 1981, *Das Göttinger Miniaturschwein*. Schriftenreihe Versuchstierkunde; 7. Paul Parey Verlag, Berlin; Hamburg.
- Göppert, E., 1926, Die Wege des Blutes, In: Asher, L., Bethe, A., Dietlen, H., Frey, W., Ganter, G., Goldschmid, E., Göppert, E., Hesse, R., Kisch, B., Mönckeberg, J.G., Moritz, F., Rihl, J., Rothberger, C.J., Schott, A., Straub, H., v. Weizsäcker, V., Winterberg, H. (Eds.) *Blutzirkulation*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 73-81.
- Gross, L., Epstein, E.Z., Kugel, M.A., 1934, Histology of the Coronary Arteries and their Branches in the Human Heart*. *Am J Pathol* 10, 253-274 257.
- Gudiene, D., Valanciute, A., Velavicius, J., 2007, Collagen network changes in basilar artery in aging. *Medicina (Kaunas)* 43, 964-970.
- Gussenhoven, E.J., Essed, C.E., Lancee, C.T., Mastik, F., Fritman, P., van Egmond, F.C., Reiber, J., Bosch, H., van Urk, H., Roelandt, J., et al., 1989, Arterial wall characteristics determined by intravascular ultrasound imaging: an in vitro study. *J Am Coll Cardiol* 14, 947-952.
- Hager, H., 1961, [Electron microscopic studies on the fine structure of the blood vessels and perivascular spaces in the mammalian brain. A contribution to studies on the morphological principles of the so-called blood-brain barrier]. *Acta Neuropathol* 1, 9-33.
- Hansen, F., Mangell, P., Sonesson, B., Lanne, T., 1995, Diameter and compliance in the human common carotid artery--variations with age and sex. *Ultrasound Med Biol* 21, 1-9.

- Happel, C., Margraf, S., Diener, J., Kranert, W.T., Francischetti, I., Bitu-Moreno, J., Ackermann, H., Middendorp, M., Theisen, A., Moritz, A., Scholz, M., Grünwald, F., 2012, Einfluss der extrakorporalen Perfusion auf die Biodistribution 99mTc-HMPAO-markierter Granulozyten. Evaluierung im Schwein mittels planarer Szintigraphie und Sektionsanalytik. *Nuklearmedizin* 51, 205-211.
- Harig, F., Schmidt, J., Hoyer, E., Eckl, S., Adamek, E., Ertel, D., Nooh, E., Amann, K., Weyand, M., Ensminger, S.M., 2011, Long-term evaluation of a selective retrograde coronary venous perfusion model in pigs (*Sus scrofa domestica*). *Comp Med* 61, 150-157.
- Harkness, M.L.R., Harkness, R.D., McDonald, D.A., 1957, The Collagen and Elastin Content of the Arterial Wall in the Dog. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 146, 541-551.
- Hashizume, H., Ushiki, T., Abe, K., 1995, A histological study of the cardiac muscle of the human superior and inferior venae cavae. *Arch Histol Cytol* 58, 457-464.
- Hein, M., Roehl, A.B., Baumert, J.H., Rossaint, R., Steendijk, P., 2009, Continuous right ventricular volumetry by fast-response thermodilution during right ventricular ischemia: head-to-head comparison with conductance catheter measurements. *Crit Care Med* 37, 2962-2967.
- Hiebl, B., 2012, Untersuchungen zum Refinement biomedizinischer Forschung mit dem Tiermodell Schwein unter besonderer Berücksichtigung kardiovaskulärer Studien am Göttingen Minipig. Habilitationsschrift, Freie Universität Berlin.
- Hiebl, B., Mrowietz, C., Braune, S., Franke, R.P., Plendl, J., Jung, F., 2009a, Intravital microscopy of the capillary perfusion in the corium limbi of the third toe of the minipig. *Clin Hemorheol Microcirc* 43, 173-179.
- Hiebl, B., Mrowietz, C., Lee, S., Braune, S., Knaut, M., Lendlein, A., Franke, R.P., Jung, F., 2011, Influence of polymeric microspheres on the myocardial oxygen partial pressure in the beating heart of pigs. *Microvasc Res* 82, 52-57.
- Hiebl, B., Müller, C., Hünigen, H., Gemeinhardt, O., Plendl, J., Jung, F., Hamm, B., Niehues, S.M., 2010, Gross anatomical variants of the vasculature of the Göttingen minipig. *Appl Cardiopulm Pathophysiol* 14, 236-243.
- Hiebl, B., Müller, C., Jung, F., Hünigen, H., Hamm, B., Plendl, J., Niehues, S.M., 2009b, Macro- and micromorphometric studies of the vascular structures from the Göttingen® minipig. *Appl Cardiopulm Pathophysiol* 13, 318-321.
- Hildebrandt, A., 2000, Neointima und Neendothel in Gefäßprothesen Untersuchungsbe- funde von Dacron- und Teflonprothesen. med Dissertation, Medizinische Fakultät der Ruhr-Universität Bochum.
- Hochrein, M., 1929, Untersuchungen am venösen Teil des Kreislaufes. *Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol* 146, 265-281.
- Holman, M.E., Kasby, C.B., Suthers, M.B., Wilson, J.A.F., 1968, Some properties of the smooth muscle of rabbit portal vein. *J Physiol* 196, 111-132.
- Hort, W., 1962a, Untersuchungen über die Lebenswandlungen der Pfortader und Milzvene und ihre Veränderungen bei portaler Hypertonie. *Virchows Arch. path Anat.* 336, 194-208.
- Hort, W., 1962b, Untersuchungen über die Lebenswandlungen der unteren Hohlvene und ihre Veränderungen unter pathologischen Kreislaufverhältnissen. *Virchows Arch. path Anat.* 336, 165-193.
- Hughes, H.C., 1986, Swine in cardiovascular research. *Lab Anim Sci* 36, 348-350.
- Intengan, H.D., Schiffrin, E.L., 2001, Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. *Hypertension* 38, 581-587.
- Isayama, N., Matsumura, G., Yamazaki, K., 2013, Comparison of vascular smooth muscle cells in canine great vessels. *BMC Vet Res* 9, 54.
- Jacob, M., Paul, O., Mehringer, L., Chappell, D., Rehm, M., Welsch, U., Kaczmarek, I., Conzen, P., Becker, B.F., 2009, Albumin augmentation improves condition of guinea pig hearts after 4 hr of cold ischemia. *Transplantation* 87, 956-965.
- Jones, G.T., Stehbens, W.E., 1995, The ultrastructure of arteries proximal to chronic experimental carotid-jugular fistulae in rabbits. *Pathology* 27, 36-42.
- Juonala, M., Viikari, J.S., Kahonen, M., Taittonen, L., Ronnema, T., Laitinen, T., Maki-Torkko, N., Mikkilä, V., Rasanen, L., Akerblom, H.K., Pesonen, E., Raitakari, O.T.,

- 2005, Geographic origin as a determinant of carotid artery intima-media thickness and brachial artery flow-mediated dilation: the Cardiovascular Risk in Young Finns study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25, 392-398.
- Kanters, S.D., Algra, A., van Leeuwen, M.S., Banga, J.D., 1997, Reproducibility of in vivo carotid intima-media thickness measurements: a review. *Stroke* 28, 665-671.
- Kappagoda, C.T., Linden, R.J., Snow, H.M., 1972, The effect of stretching the superior vena caval-right atrial junction on right atrial receptors in the dog. *J Physiol* 227, 875-887.
- Kawamoto, R., Tomita, H., Oka, Y., Ohtsuka, N., 2006, Association between Risk Factors and Carotid Enlargement. *Internal Medicine* DOI: 10.2169/internalmedicine.45.1575.
- Keen, J.A., Hillier, C., McGorum, B.C., Bunton, D., Nally, J.E., 2008, Evaluation of equine laminar vein function: harvesting, dissection and the use of functional methods to distinguish between veins and arteries. *J Pharmacol Toxicol Methods* 57, 92-99.
- Kling, D., Lindner, V., Fingerle, J., Betz, E., 1989, Intimal thickenings of jugular veins after application of a stimulus known to be sclerogenic in arteries. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 415, 367-375.
- Ko, P.P., Pritt, S.L., Mundwiler, K.E., Ackley, V.K., Matthews, R.V., Unverdorben, M., 2011, Sinus of Valsalva aneurysm in a Gottingen minipig. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 50, 94-97.
- Kobayashi, N., Sakai, T., 1997, Emergence and distribution of intimal smooth muscle cells in the postnatal rat aorta. *Cell Tissue Res* 289, 487-497.
- Köhn, F., Sharifi, A.R., Simianer, H., 2007, Modeling the growth of the Goettingen minipig. *J Anim Sci* 85, 84-92.
- Komatsu, R., Ueda, M., Naruko, T., Kojima, A., Becker, A.E., 1998, Neointimal Tissue Response at Sites of Coronary Stenting in Humans: Macroscopic, Histological, and Immunohistochemical Analyses. *Circulation* 98, 224-233.
- Konrad, D., Weber, K., Corney, S., Allen, T.R., Terrier, C., 2000, Echocardiography, color-coded Doppler imaging, and abdominal sonography, a non-invasive method for investigation of heart and aortic morphology and function in female gottingen minipigs: method and reference values for M-mode, B-mode, and flow parameters. *Comp Med* 50, 405-409.
- Kornowski, R., Hong, M.K., Tio, F.O., Bramwell, O., Wu, H., Leon, M.B., 1998, In-stent restenosis: contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia. *J Am Coll Cardiol* 31, 224-230.
- Kuwahara, M., Tsujino, Y., Tsubone, H., Kumagai, E., Tsutsumi, H., Tanigawa, M., 2004, Effects of pair housing on diurnal rhythms of heart rate and heart rate variability in miniature swine. *Exp Anim* 53, 303-309.
- Kwon, H.M., Kang, S., Hong, B.K., Kim, D., Park, H.Y., Shin, M.S., Byun, K.H., 1999, Ultrastructural changes of the external elastic lamina in experimental hypercholesterolemic porcine coronary arteries. *Yonsei Med J* 40, 273-282.
- Kwon, H.M., Sangiorgi, G., Spagnoli, L.G., Miyauchi, K., Holmes Jr, D.R., Schwartz, R.S., Lerman, A., 1998, Experimental hypercholesterolemia induces ultrastructural changes in the internal elastic lamina of porcine coronary arteries. *Atherosclerosis* 139, 283-289.
- Lang, J., 1961, Über die Vascularisation der Wand und des Einbaugewebes mittelgroßer Gefäße des Unterschenkels. *Z Anat Entwicklungsgesch* 122, 482-517.
- Lang, R.M., Cholley, B.P., Korcarz, C., Marcus, R.H., Shroff, S.G., 1994, Measurement of regional elastic properties of the human aorta. A new application of transesophageal echocardiography with automated border detection and calibrated subclavian pulse tracings. *Circulation* 90, 1875-1882.
- Lange, R., Erhard, J., Sander, A., Kemnitz, J., Garkuwa, D.A., Eigler, F.W., 1997, [Animal experiment studies of arterialization of the portal vein in liver transplantation using the Gottingen minipig]. *Langenbecks Arch Chir* 382, 277-283.
- Laursen, M., Grunnet, M., Olesen, S.P., Jespersen, T., Mow, T., 2011a, Keeping the rhythm - pro-arrhythmic investigations in isolated Gottingen minipig hearts. *J Pharmacol Toxicol Methods* 64, 134-144.

- Laursen, M., Olesen, S.P., Grønnet, M., Mow, T., Jespersen, T., 2011b, Characterization of cardiac repolarization in the Gottingen minipig. *J Pharmacol Toxicol Methods* 63, 186-195.
- Lindholt, J.S., 2010, Abdominal aortic aneurysms. *Dan Med Bull* 57, B4219.
- Litwin, M., Trelewicz, J., Wawer, Z., Antoniewicz, J., Wierzbicka, A., Rajszyś, P., Grenda, R., 2004, Intima-media thickness and arterial elasticity in hypertensive children: controlled study. *Pediatr Nephrol* 19, 767-774.
- Lockwood, G.R., Ryan, L.K., Avrum I. Gotlieb, M.E.L., MD; John W. Hunt, PhD; Peter Liu, MD; F. Stuart Foster, PhD, 1992, In vitro high resolution intravascular imaging in muscular and elastic arteries. *J Am Coll Cardiol* 20, 153-160.
- Lopes-Berkas, V.C., Jorgenson, M.A., 2011, Measurement of peripheral arterial vasculature in domestic Yorkshire swine by using quantitative vascular angiography. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 50, 628-634.
- Ludatscher, R.M., 1968, Fine structure of the muscular wall of rat pulmonary veins. *J Anat* 103, 345-357.
- Mahrle, G., Orfanos, C.E., 1971, Stereo-elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Venenwand. *Arch. Derm. Forsch.* 242, 43-54.
- Maratea, K.A., Snyder, P.W., Stevenson, G.W., 2006, Vascular lesions in nine Gottingen minipigs with thrombocytopenic purpura syndrome. *Vet Pathol* 43, 447-454.
- Marcon, C., 2010, Präoperative sonographische Untersuchung der Halsgefäße in der Anästhesie. Inaugural-Dissertation, Ruhr-Universität Bochum.
- Markert, M., Stubhan, M., Mayer, K., Trautmann, T., Klumpp, A., Schuler-Metz, A., Schumacher, K., Guth, B., 2009, Validation of the normal, freely moving Gottingen minipig for pharmacological safety testing. *J Pharmacol Toxicol Methods* 60, 79-87.
- Matschke, K., Knaut, M., Kanig, R., Mrowietz, C., Hiebl, B., Jung, F., 2012, Influence of systemic hypothermia on the myocardial oxygen tension during extracorporeal circulation: comparative study in German Landrace pigs. *Clin Hemorheol Microcirc* 52, 115-122.
- Meyer, W.W., Kliebsch, N., 1964, Über das Vorkommen von elastisch-muskulösen Systemen in den Venen des Menschen. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 62, 504-513.
- Mitchell, G.F., Conlin, P.R., Dunlap, M.E., Lacourcière, Y., Arnold, J.M.O., Ogilvie, R.I., Neutel, J., Izzo, J.L., Pfeffer, M.A., 2008, Aortic Diameter, Wall Stiffness, and Wave Reflection in Systolic Hypertension. *Hypertension* 51, 105-111.
- Moroni, M., Coolbaugh, T.V., Mitchell, J.M., Lombardini, E., Moccia, K.D., Shelton, L.J., Nagy, V., Whitnall, M.H., 2011, Vascular access port implantation and serial blood sampling in a Gottingen minipig (*Sus scrofa domestica*) model of acute radiation injury. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 50, 65-72.
- Mühlberger, D., Morandini, L., Brenner, E., 2009, Venous valves and major superficial tributary veins near the saphenofemoral junction. *J Vasc Surg* 49, 1562-1569.
- Mulisch, M., Welsch, U., 2010, Romeis - Mikroskopische Technik. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Müller, C., 2010, Computertomographisch gestützte Makro- und Mikromorphometrie von Blutgefäßen des Göttingen Minipigs - Ein Beitrag zum Refinement biomedizinischer Forschungsansätze. *Vet med Dissertation*, Freie Universität Berlin.
- Nahas, K., Baneux, P., Detweiler, D., 2002, Electrocardiographic monitoring in the Göttingen minipig. *Comp Med* 52, 258-264.
- Neumann, R., 1937, Histologie der Vena saphena magna unter dem Gesichtswinkel der Architektur-Pathologie. *Virchows Arch. path Anat.* 299, 479-512.
- Nishigaki, R., Guo, F., Onda, M., Yamada, N., Yokoyama, M., Naito, Z., Asano, G., Shimizu, Suganuma, M., Shichinohe, K., Aramaki, T., 1999, Ultrastructural changes and immunohistochemical localization of nitric oxide synthase, advanced glycation end products and NF-kappa B in aorta of streptozotocin treated Mongolian gerbils. *J Nippon Med Sch* 66, 166-175.
- Onan, B., Yeniterzi, M., Onan, I.S., Ersoy, B., Gonca, S., Gelenli, E., Solakoglu, S., Bakir, I., 2014, Effect of electrocautery on endothelial integrity of the internal thoracic artery: ultrastructural analysis with transmission electron microscopy. *Tex Heart Inst J* 41, 484-490.

- Pasa, M.B., Pereira, A.H., Castro Junior, C., 2008, Morphometric analysis of intimal thickening secondary to stent placement in pig carotid arteries. *Acta Cir Bras* 23, 165-172.
- Pinto, Y.M., Pinto, S.J., Paul, M., Merker, H.J., 1998, The electron microscopic morphology of the common carotid artery in rats. *Ann Anat* 180, 223-235.
- Plendl, J., Neumuller, C., Vollmar, A., Auerbach, R., Sinowatz, F., 1996, Isolation and characterization of endothelial cells from different organs of fetal pigs. *Anat Embryol (Berl)* 194, 445-456.
- Popov, A.F., Dorge, H., Hinz, J., Schmitto, J.D., Stojanovic, T., Seipelt, R., Didilis, V., Schoendube, F.A., 2008, Accelerated intimal hyperplasia in aortocoronary internal mammary vein grafts in minipigs. *J Cardiothorac Surg* 3, 20.
- Popov, D., Simionescu, M., 2006, Cellular mechanisms and signalling pathways activated by high glucose and AGE-albumin in the aortic endothelium. *Arch Physiol Biochem* 112, 265-273.
- Potter, R.F., Roach, M.R., 1983, Are enlarged fenestrations in the internal elastic lamina of the rabbit thoracic aorta associated with poststenotic dilatation? *Can J Physiol Pharmacol* 61, 101-104.
- Reale, E., Ruska, H., 1965, [The fine structure of the blood vessel walls]. *Angiologica* 2, 314-366.
- Reitsma, S., oude Egbrink, M.G.A., Vink, H., van den Berg, B.M., Lima Passos, V., Engels, W., Slaaf, D.W., van Zandvoort, M.A.M.J., 2011, Endothelial Glycocalyx Structure in the Intact Carotid Artery: A Two-Photon Laser Scanning Microscopy Study. *J Vasc Res* 48, 297-306.
- Rhodin, J.A., 1968, Ultrastructure of mammalian venous capillaries, venules, and small collecting veins. *J Ultrastruct Res* 25, 452-500.
- Rolshoven, E., 1960, Beitrag zur Problematik des Leberkreislaufs. *Arch Kreislaufforsch* 33, 145-154.
- Russell, W.M.S., Burch, R.L., 1959, *The Principles of Humane Experimental Technique* London Methuen and Co LTD.
- Sambras, H.H., 2011, *Farbatlas Nutztierassen*. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.
- Sass, C., Herbeth, B., Chapet, O., Siest, G., Visvikis, S., Zannad, F., 1998, Intima-media thickness and diameter of carotid and femoral arteries in children, adolescents and adults from the Stanislas cohort: effect of age, sex, anthropometry and blood pressure. *J Hypertens* 16, 1593-1602.
- Sčelkunow, S., 1935, Beiträge zur Frage über den Bau der Blutgefäße unter normalen und experimentellen Bedingungen. *Z Anat Entwicklungsgesch* 105, 94-107.
- Schipp, R., Voth, D., Schipp, I., 1971, Feinstrukturelle Besonderheiten und Funktion autonom-contractiler Vertebratengefäße. *Z Anat Entwicklungsgesch* 134, 81-100.
- Scholz, M., Simon, A., Berg, M., Schuller, A.M., Hacibayramoglu, M., Margraf, S., Theisen, A., Windolf, J., Wimmer-Greinecker, G., Moritz, A., 2004, In vivo inhibition of neutrophil activity by a FAS (CD95) stimulating module: arterial in-line application in a porcine cardiac surgery model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 127, 1735-1742.
- Schuleri, K.H., Boyle, A.J., Centola, M., Amado, L.C., Evers, R., Zimet, J.M., Evers, K.S., Ostbye, K.M., Scorpio, D.G., Hare, J.M., Lardo, A.C., 2008, The adult Gottingen minipig as a model for chronic heart failure after myocardial infarction: focus on cardiovascular imaging and regenerative therapies. *Comp Med* 58, 568-579.
- Schwartz, L.B., O'Donohoe, M.K., Purut, C.M., Mikat, E.M., Hagen, P.O., McCann, R.L., 1992, Myointimal thickening in experimental vein grafts is dependent on wall tension. *J Vasc Surg* 15, 176-186.
- Seifert, K., 1962, Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Aorta des Hausschweines. *Z Zellforsch und Mikrosk Anat* 58, 331-368.
- Senadheera, S., Bertrand, P.P., Grayson, T.H., Leader, L., Murphy, T.V., Sandow, S.L., 2013, Pregnancy-induced remodelling and enhanced endothelium-derived hyperpolarization-type vasodilator activity in rat uterine radial artery: transient receptor potential vanilloid type 4 channels, caveolae and myoendothelial gap junctions. *J Anat* 223, 677-686.

- Shaffer, K.M., Mullins, C.E., Grifka, R.G., O'Laughlin, M.P., McMahon, W., Ing, F.F., Nihill, M.R., 1998, Intravascular stents in congenital heart disease: short- and long-term results from a large single-center experience. *J Am Coll Cardiol* 31, 661-667.
- Shi, Y., Pieniek, M., Fard, A., O'Brien, J., Mannion, J.D., Zalewski, A., 1996, Adventitial remodeling after coronary arterial injury. *Circulation* 93, 340-348.
- Simionescu, M., Popov, D., Sima, A., Hasu, M., Costache, G., Faitar, S., Vulpanovici, A., Stancu, C., Stern, D., Simionescu, N., 1996, Pathobiochemistry of combined diabetes and atherosclerosis studied on a novel animal model. The hyperlipemic-hyperglycemic hamster. *Am J Pathol* 148, 997-1014.
- Simons, P.C.G., Algra, A., Bots, M.L., Grobbee, D.E., van der Graaf, Y., 1999, Common Carotid Intima-Media Thickness and Arterial Stiffness: Indicators of Cardiovascular Risk in High-Risk Patients The SMART Study (Second Manifestations of ARterial disease). *Circulation* 100, 951-957.
- Sims, F.H., Gavin, J.B., Vanderwee, M.A., 1989, The intima of human coronary arteries. *Am Heart J* 118, 32-38.
- Sinapius, D., 1958, Über das Endothel der Venen. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 47, 560-630.
- Smidt, D., Kather, L., 1975, Untersuchungen zur Beeinflussung der sexuellen Entwicklung bei infantilen weiblichen Göttingen Miniaturschweinen mittels gonotroper Hormone. *Z Versuchstierk* 17, 4-10.
- Smith, E.B., Staples, E.M., 1980, Distribution of plasma proteins across the human aortic wall Barrier functions of endothelium and internal elastic lamina. *Atherosclerosis* 37, 579-590.
- Sokolis, D.P., 2007, Passive mechanical properties and structure of the aorta: segmental analysis. *Acta Physiol (Oxf)* 190, 277-289.
- Sokolis, D.P., 2008, Passive mechanical properties and constitutive modeling of blood vessels in relation to microstructure. *Med Biol Eng Comput* 46, 1187-1199.
- Sokolis, D.P., 2010, A passive strain-energy function for elastic and muscular arteries: correlation of material parameters with histological data. *Med Biol Eng Comput* 48, 507-518.
- Solanes, N., Rigol, M., Ramirez, J., Segales, J., Roque, M., Marimon, J.M., Perez-Villa, F., Roig, E., Sanz, G., Heras, M., 2005, Histological basis of the porcine femoral artery for vascular research. *Anat Histol Embryol* 34, 105-111.
- Song, S.H., Roach, M.R., 1985, A Morphological Comparison of Aortic Elastin from Five Species as Seen with the Scanning Electron Microscope. *Cells Tissues Organs* 123, 45-50.
- Stöllberger, C., 2014, Lifeblood Flow: The Circulatory Systems, In: Jensen-Jarolim, E. (Ed.) *Comparative Medicine: Anatomy and Physiology*. Springer Vienna, Vienna, pp. 61-70.
- Strotmann, J.M., Bauersachs, J., Fraccarollo, D., Kirchengast, M., Schnabel, P.A., Sykora, J., Ertl, G., Voelker, W., 2002, Trauma induced by nontraumatic coronary devices and its impact on vascular reactivity and morphology. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283, H2356-2362.
- Stubhan, M., Markert, M., Mayer, K., Trautmann, T., Klumpp, A., Henke, J., Guth, B., 2008, Evaluation of cardiovascular and ECG parameters in the normal, freely moving Gottingen Minipig. *J Pharmacol Toxicol Methods* 57, 202-211.
- Sun, F., Sanchez, F.M., Fernandez-Portales, J., Crisostomo, V., Diaz-Guemes, I., Baez-Diaz, C., Uson, J., Maynar, M., 2012, Chronic intrapericardial catheterization for repeated drug delivery: technical feasibility study in the Gottingen minipig. *J Invasive Cardiol* 24, 210-214.
- Svensden, O., 2006, The minipig in toxicology. *Exp Toxicol Pathol* 57, 335-339.
- Swindle, M.M., Makin, A., Herron, A.J., Clubb, F.J., Jr., Frazier, K.S., 2012, Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Vet Pathol* 49, 344-356.
- Swindle, M.M., Smith, A.C., 1998, Comparative anatomy and physiology of the pig. *Scand J Lab Anim Sci* 25, 11-21.
- Tadjalli, M., Ziyaei, D., 1998, Histological Studies on Portal Vein and its Intrahepatic Branching Pattern in Goat. *J Appl Anim Res* 13, 185-190.

- Tamura, H., Suzue, T., Jitsunari, F., Hirao, T., 2011, Evaluation of carotid arterial intima-media thickness (IMT) and its relation to clinical parameters in Japanese children. *Acta Med Okayama* 65, 21-25.
- Tanigawa, M., Adachi, J., Mochizuki, K., 1986a, [Histological study on the arterial wall of Gottingen miniature swine]. *Jikken Dobutsu* 35, 35-45.
- Tanigawa, M., Akaike, I., Adachi, J., Shinkai, H., Tokoi, K., Uchiyama, T., Ibaraki, T., Mochizuki, K., 1986b, [Gottingen miniature swine as a model for diet-induced atherosclerosis]. *Jikken Dobutsu* 35, 47-57.
- Thienel, M., 1902, Vergleichende Untersuchungen über den mikroskopischen Bau der Blutgefäße der Schultergliedmaße von Pferd, Esel, Rind, Kalb, Schaf, Schwein und Hund. *Ved med Dissertation, Universität Bern*.
- Timmins, L.H., Wu, Q., Yeh, A.T., Moore, J.E., Jr., Greenwald, S.E., 2010, Structural inhomogeneity and fiber orientation in the inner arterial media. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 298, H1537-1545.
- Tounian, P., Aggoun, Y., Dubern, B., Varille, V., Guy-Grand, B., Sidi, D., Girardet, J.-P., Bonnet, D., Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: a prospective study. *The Lancet* 358, 1400-1404.
- Ts'ao, C.H., Glagov, S., Kelsey, B.F., 1970, Special structural features of the rat portal vein. *Anat Rec* 166, 529-539.
- Tsutsumi, H., Katagiri, K., Takeda, S., Nasu, T., Igarashi, S., Tanigawa, M., Mamba, K., 2004, Standardized data and relationship between bone growth and bone metabolism in female Gottingen minipigs. *Exp Anim* 53, 331-337.
- Tsutsumi, H., Miyawaki, F., Arakawa, H., Tsuji, T., Tanigawa, M., 2001, Experience of vein grafting in Gottingen minipigs. *Exp Anim* 50, 191-195.
- Ude, H., 1933, Die Beurteilung der Windkesselfunktion der Aorta mit Hilfe der Pulswellengeschwindigkeit. *Klin Wochenschr* 12, 1484-1488.
- Uhlmann, D., Gabel, G., Ludwig, S., Armann, B., Hess, J., Pietsch, U.C., Tannapfel, A., Fiedler, M., Kratzsch, J., Hass, J., Witzigmann, H., 2005, Effects of ET(A) receptor antagonism on proinflammatory gene expression and microcirculation following hepatic ischemia/reperfusion. *Microcirculation* 12, 405-419.
- Unterberg, C., Sandrock, D., Nebendahl, K., Buchwald, A.B., 1995, Reduced acute thrombus formation results in decreased neointimal proliferation after coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 26, 1747-1754.
- v. Kügelgen, A., 1955, Über das Verhältnis von Ringmuskulatur und Innendruck in menschlichen grossen Venen. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 43, 168-183.
- v. Kügelgen, A., 1956, Weitere Mitteilungen über den Wandbau der grossen Venen des Menschen unter besonderer Berücksichtigung ihrer Kollagenstrukturen. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 44, 121-174.
- v. Kügelgen, A., Zuleger, S., 1958, Nachweis von Venenklappen in der Niere von Hund, Schwein und Mensch. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 47, 320-330.
- Varleta, P., Concepcion, R., Vargas, P., Casanova, H., 2013, [Association of carotid intima-media thickness with traditional cardiovascular risk and metabolic factors]. *Rev Med Chil* 141, 695-703.
- Weymann, A., Loganathan, S., Takahashi, H., Schies, C., Claus, B., Hirschberg, K., Soos, P., Korkmaz, S., Schmack, B., Karck, M., Szabo, G., 2011, Development and evaluation of a perfusion decellularization porcine heart model--generation of 3-dimensional myocardial neoscaffolds. *Circ J* 75, 852-860.
- Weymann, A., Radovits, T., Schmack, B., Li, S., Korkmaz, S., Soos, P., Istok, R., Veres, G., Chaimow, N., Karck, M., Szabo, G., 2014, In vitro generation of atrioventricular heart valve neoscaffolds. *Artif Organs* 38, E118-128.
- Wezler, K., Böger, A., 1939, Die Dynamik des arteriellen systems. *Ergeb Physiol* 41, 292-606.
- WHO, 2015, Health in 2015: from MDGs to SDGs. World Health Organization 204 p.
- Wilson, G.J., 2011, Interpreting arterial wall inflammation around stents in the porcine coronary artery model. *J Vasc Interv Radiol* 22, 260-261.

- Witter, K., Tonar, Z., 2012, Morphology of the porcine aorta - differences related to age and aorta segments. *BJVM* 15, 26-27.
- Wolkoff, K., 1924, Über die Altersveränderungen der Arterien bei Tieren. *Virchows Arch. path Anat.* 252, 208-228.
- Yamaji, K., Inoue, K., Nakahashi, T., Noguchi, M., Domei, T., Hyodo, M., Soga, Y., Shirai, S., Ando, K., Kondo, K., Sakai, K., Iwabuchi, M., Yokoi, H., Nosaka, H., Nobuyoshi, M., Kimura, T., 2012, Bare Metal Stent Thrombosis and In-Stent Neoatherosclerosis. *Circulation: Cardiovascular Interventions* 5, 47-54.
- Yeh, H.-I., Lai, Y.-J., Lee, S.-H., Lee, Y.-N., Ko, Y.-S., Chen, S.-A., Severs, N.J., Tsai, C.-H., 2001, Heterogeneity of Myocardial Sleeve Morphology and Gap Junctions in Canine Superior Vena Cava. *Circulation* 104, 3152-3157.
- Zadrozny, L.M., Neufeld, E.B., Lucotte, B.M., Connelly, P.S., Yu, Z.X., Dao, L., Hsu, L.Y., Balaban, R.S., 2015, Study of the development of the mouse thoracic aorta three-dimensional macromolecular structure using two-photon microscopy. *J Histochem Cytochem* 63, 8-21.
- Zimmermann, A., 1926, Vergleichend-anatomische Untersuchungen über den Umfang, den Durchmesser und die Wanddicke einiger Arterienstämme bei Huftieren. *Z Anat Entwicklungsgesch* 81, 778-784.

9 Anhang

9.1 Blutgefäßinnendurchmesser der Arterien und Venen der präadulten (17-18 Monate) und adulten (40 ± 2 Monate) Göttingen® Minipigs

Blutgefäß	Innendurchmesser in mm, Präadult		Innendurchmesser in mm, Adult	
	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw
Aorta ascendens	7,8	0,3	8,3	1,1
Arcus aortae	8,7	0,3		
Aorta thoracica	6,8	1,0	7,2	0,3
Aorta abdominalis	4,7	0,8	3,0	0,8
Truncus brachioceph.	5,3	1,8		
Truncus bicaroticus	5,2	0,9		
A. carotis com.	2,6	0,3	2,1	0,5
A. carotis ext.	1,8	0,7		
A. carotis int.	1,6	0,5		
Truncus pulmonalis	6,9	1,6		
A. coeliaca	2,9	0,4		
A. mesenterica cran.	3,4	0,4		
A. mesenterica caud	1,1	0,1		
A. iliaca ext.	3,1	0,3		
A. iliaca int.	2,1	0,6		
A. sacralis mediana	2,1	0,4		
A. renalis	2,7	0,8	2,0	0,9
A. subclavia	2,9	0,2		
A. axillaris	2,5	0,2		
A. brachialis	1,8	0,6		
A. thoracica interna	2,2	0,2		
A. femoralis	2,3	0,2	1,0	0,2
V. cava caud.	5,2	2,2		
V. jugularis ext.	4,0	0,6	4,8	1,2
V. jugularis int.	1,4	0,2		
V. cephalica	1,2	0,6		
V. subclavia	3,7	0		

V. axillaris	2,0	0,6		
V. brachialis	1,2	0,6		
V. thoracica interna	2,0	0,9		
V. femoralis	1,5	0,3	1,9	0,7
V. portae	4,4	0,5	6,9	2,2
V. cava cran.	8,8	2,2		
V. iliaca ext.	3,3	0,3		
V. renalis	4,0	1,6	5,2	1,1

9.2 Blutgefäßinnendurchmesser in mm der Arterien und Venen der präadulten DL-Schweine (zwei und drei Monate)

Blutgefäß	DL (2 Mo)	Stabw	DL (3 Mo)	Stabw
A. carotis com.	1,8	0,3	1,5	0,5
A. femoralis	1,6	0,3	2,6	0,4
V. femoralis	1,1	0,4	2,6	0,6
V. jugularis ext.	6,0	0	5,2	0,8

9.3 Dicke der Tunica intima der Arterien und Venen der präadulten (17-18 Monate) und adulten (40 ± 2 Monate) Göttingen® Minipigs

Blutgefäß	Tunica intima in µm, Präadult		Tunica intima in µm, Adult	
	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw
Aorta ascendens	8,4	0,6	8,7	0,7
Arcus aortae	6,7	1,1		
Aorta thoracica	5,7	0,5	7,7	1,7
Aorta abdominalis	6,0	0,3	6,0	0,8
Truncus brachiocephalicus	6,5	0,1		
Truncus bicaroticus	7,2	1,0		
A. carotis communis	5,9	1,2	5,0	0,4
A. carotis externa	5,0	0,4		
A. carotis interna	7,1	1,2		
Truncus pulmonalis	6,4	0,4		
A. coeliaca	6,1	1,1		
A. mesenterica cranialis	5,8	0,1		
A. mesenterica caudalis	5,2	0,4		
A. iliaca ext.	5,7	0,1		
A. iliaca int.	4,5	0,7		
A. sacralis mediana	5,1	0,6		
A. renalis	4,4	0,5	4,5	0,7
A. subclavia	5,4	0,4		
A. axillaris	5,4	0,3		
A. brachialis	4,6	0,8		
A. thoracica interna	4,5	0,4		
A. femoralis	4,7	0,3	4,9	0,8
V. cava caud.	3,7	0,2		
V. jugularis ext.	3,7	0,5	3,7	0,3
V. jugularis int.	4,2	0,2		
V. cephalica	4,4	0,6		
V. subclavia	4,3	0		
V. axillaris	4,5	0,2		
V. brachialis	4,5	0,7		

V. thoracica interna	4,1	0,2		
V. femoralis	3,8	0,2	4,9	0,2
V. portae	3,9	0,2	3,6	0,2
V. cava cran.	3,3	0,1		
V. iliaca ext.	3,6	0,3		
V. renalis	3,8	0,1	3,4	0,2

9.4 Dicke der Tunica intima in μm der Arterien und Venen der präadulten DL-Schweine (zwei und drei Monate)

Blutgefäß	DL (2 Mo)	Stabw	DL (3 Mo)	Stabw
A. carotis com.	3,9	0,1	5,8	0,3
A. femoralis	4,1	0,5	6,5	0,7
V. femoralis	4,0	0,3	3,9	0,1
V. jugularis ext.	3,5	0	4,0	0,1

9.5 Dicke der Tunica media der Arterien und Venen der präadulten (17-18 Monate) und adulten (40 ± 2 Monate) Göttingen® Minipigs

Blutgefäß	Tunica media in µm, Präadult		Tunica media in µm, Adult	
	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw
Aorta ascendens	1369,9	169,4	1722,9	50,4
Arcus aortae	1399,8	113,8		
Aorta thoracica	827,1	147,0	1221,1	160,1
Aorta abdominalis	498,5	27,3	553,2	246,7
Truncus brachioceph.	912,9	370,8		
Truncus bicaroticus	869,7	84,8		
A. carotis com.	386,8	42,9	510,0	58,14
A. carotis ext.	332,6	84,0		
A. carotis int.	308,3	10,0		
Truncus pulmonalis	959,1	291,0		
A. coeliaca	346,4	25,4		
A. mesenterica cran.	356,7	27,9		
A. mesenterica caud.	187,6	49,1		
A. iliaca ext.	294,9	74,6		
A. iliaca int.	252,5	86,3		
A. sacralis mediana	392,2	134,5		
A. renalis	320,3	45,4	293,2	19,1
A. subclavia	480,3	156,2		
A. axillaris	328,8	43,9		
A. brachialis	249,5	48,8		
A. thoracica interna	281,9	88,7		
A. femoralis	211,7	38,5	284,6	39,9
V. cava caud.	67,9	20,3		
V. jugularis ext.	142,2	20,1	109,5	24,2
V. jugularis int.	57,7	17,4		
V. cephalica	162,1	61,0		
V. subclavia	78,2	0		
V. axillaris	86,1	6,1		
V. brachialis	70,7	14,1		

V. thoracica interna	71,8	29,3		
V. femoralis	59,4	8,8	65,0	16,3
V. portae	333,3	59,0	392,0	204,4
V. cava cran.	653,0	110,0		
V. iliaca ext.	42,6	10,3		
V. renalis	64,5	41,9	44,6	10,1

9.6 Dicke der Tunica media in μm der Arterien und Venen der präadulten DL-Schweine (zwei und drei Monate)

Blutgefäß	DL (2 Mo)	Stabw	DL (3 Mo)	Stabw
A. carotis com.	206,4	32,6	522,7	105,7
A. femoralis	168,0	34,9	333,7	44,2
V. femoralis	69,5	37,7	48,7	10,4
V. jugularis ext.	140,7	0	180,1	37,2

**9.7 Dicke der Tunica externa der Arterien der prädulthen (17-18 Monate) und adul-
ten (40 ± 2 Monate) Göttingen® Minipigs**

Blutgefäß	Tunica externa in µm, Präadult		Tunica externa in µm, Adult	
	Mittelwert	Stabw	Mittelwert	Stabw
Aorta ascendens	-	-	-	-
Arcus aortae	-	-		
Aorta thoracica	-	-	-	-
Aorta abdominalis	103,5	16,9	95,9	16,9
Truncus brachioceph.	-	-		
Truncus bicaroticus	-	-		
A. carotis com.	54,8	6,4	62,7	2,9
A. carotis ext.	58,5	14,6		
A. carotis int.	50,1	1,2		
Truncus pulmonalis	235,5	58,3		
A. coeliaca	71,8	16,4		
A. mesenterica cran.	175,7	17,0		
A. mesenterica caud.	86,6	18,4		
A. iliaca ext.	63,6	16,1		
A. iliaca int.	68,8	15,6		
A. sacralis mediana	41,8	25,3		
A. renalis	82,2	16,6		
A. subclavia	53,8	14,0		
A. axillaris	72,2	6,6		
A. brachialis	42,6	13,0		
A. thoracica interna	28,8	4,9		
A. femoralis	47,8	4,9	76,8	7,8

9.8 Dicke der Tunica externa in μm der Arterien der prädulthen DL-Schweine (zwei und drei Monate)

Blutgefäß	DL (2 Mo)	Stabw	DL (3 Mo)	Stabw
A. carotis com.	67,0	9,4	120,2	19,9
A. femoralis	63,3	8,0	94,7	10,8

9.9 Durchschnittlicher Gehalt an extrazellulärer Matrix und glatten Muskelzellen

Anteile in Prozent der extrazellulären Matrix und glatten Muskelzellen von der Tunica media ausgewählter Blutgefäße der prädulthen Göttingen[®] Minipigs

Blutgefäß	Elastische Fasern [%]	Kollagene Fasern [%]	Glatte Muskelzellen [%]
Aorta ascendens	36	33	34
Aorta thoracica	37	29	37
Aorta abdominalis	20	31	50
A. carotis communis	12	33	57
A. femoralis	13	33	55
A. subclavia*	30	31	43

Anteile in Prozent der extrazellulären Matrix und glatten Muskelzellen von der Tunica media ausgewählter Blutgefäße der adulten Göttingen® Minipigs

Blutgefäß	Elastische Fasern [%]	Kollagene Fasern [%]	Glatte Muskelzellen [%]
Aorta ascendens	38	29	38
Aorta thoracica	38	34	30
Aorta abdominalis	15	33	54
A. carotis communis	8	29	66
A. femoralis	15	33	52
A. renalis	18	30	48

Anteile in Prozent der extrazellulären Matrix und glatten Muskelzellen von der Tunica media ausgewählter Blutgefäße der DL-Schweine (2 Mo)

Blutgefäß	Elastische Fasern [%]	Kollagene Fasern [%]	Glatte Muskelzellen [%]
A. carotis communis	32	26	40
A. femoralis	25	29	46

Anteile in Prozent der extrazellulären Matrix und glatten Muskelzellen von der Tunica media ausgewählter Blutgefäße der DL-Schweine (3 Mo)

Blutgefäß	Elastische Fasern [%]	Kollagene Fasern [%]	Glatte Muskelzellen [%]
A. carotis communis	16	31	55
A. femoralis	10	35	56

* GM Nr. 3

9.10 Daten der untersuchten Tiere

Tiernummer	Rasse	Alter in Monate	Lebensphase	Geschlecht	Körpermasse in kg
1	GM	18	präadult	weiblich	27,0
2	GM	18	präadult	weiblich	25,6
3	GM	18	präadult	weiblich	25,0
4	GM	17	präadult	weiblich	30,4
5	GM	18	präadult	weiblich	30,0
6	GM	42	adult	weiblich	41,0
7	GM	40	adult	weiblich	44,0
8	GM	38	adult	weiblich	41,0
9	DL	2	präadult	weiblich	10,8
10	DL	2	präadult	weiblich	11,0
11	DL	2	präadult	weiblich	9,6
12	DL	2	präadult	weiblich	8,0
13	DL	2	präadult	weiblich	9,2
14	DL	2	präadult	weiblich	8,0
15	DL	2	präadult	männlich	12,9
16	DL	2	präadult	männlich	14,2
17	DL	3	präadult	weiblich	40,0
18	DL	3	präadult	weiblich	43,2
19	DL	3	präadult	weiblich	38,0
20	DL	3	präadult	männlich	35,7
21	DL	3	präadult	männlich	40,3
22	DL	3	präadult	männlich	37,0
23	DL	3	präadult	männlich	38,6

10 Publikationsverzeichnis

Poster

„Mikromorphometrische Untersuchungen zum Gefäßsystem und der Haut des Göttingen[®] Minipig als Beitrag für ein Refinement im Sinne des 3R-Konzeptes von Russel & Burch“; 5. Doktorandensymposium, Berlin, 02.07.2010

„Mikromorphometrische Untersuchungen zum Gefäßsystem des Göttingen[®] Minipig als Beitrag für ein Refinement im Sinne des 3R-Konzeptes von Russel & Burch“; 29. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für klinische Mikrozirkulation und Hämorheologie, Berlin, 18.09.2010

„Ultrastrukturelle Untersuchungen der Tunica intima der Arteria carotis communis und der Vena jugularis externa beim Modelltier Göttingen[®] Minipig und der Deutschen Landrasse“; 32. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für klinische Mikrozirkulation und Hämorheologie, Dresden, 25.05.2013

Vorträge

„Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen des Blutgefäßsystems am Tiermodell Göttinger[®] Miniaturschwein“; 7. Doktorandensymposium, Berlin, 13.07.2012

11 Danksagung

Meiner Mentorin Frau Univ.-Prof. Dr. J. Plendl möchte ich einen großen Dank für das entgegengebrachte Vertrauen bei der Erstellung meiner Dissertation und für die ausdauernde Betreuung aussprechen.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meiner Betreuerin Frau Dr. H. Hünigen, die mir durchweg fachlich kompetent und menschlich bedeutsam zur Seite stand.

Ebenso bin ich sehr dankbar über die engagierte Unterstützung von Dr. O. Gemeinhardt und PD Dr. B. Hiebl sowie der TFAs des Instituts für Veterinär-Anatomie. Dabei war mir Frau K. Briest-Forch bei der Erstellung der histologischen Präparate eine wertvolle Unterstützung und Frau T. Fuhrmann-Selter bei der Aufbereitung der immunhistochemischen Präparate. Frau M. Sachtleben gab mir dagegen in der Elektronenmikroskopie die hervorragende fachliche Unterstützung.

Einen herzlichen Dank auch für die Hilfe bei der Präparation der Blutgefäße an Dr. A. Alaiyan, C. Hopperdietzel und J. Büttner.

Für die freundliche Unterstützung in der statistischen Datenaufbereitung bedanke ich mich bei Herrn M. Groß aus dem Fachbereich Wirtschaftswissenschaft der Freien Universität Berlin.

Grundsätzlich möchte ich mich bei all denen bedanken, die mich bei der Erstellung meiner Arbeit unterstützt haben, darunter auch den Präparatoren des Instituts für Veterinär-Anatomie und den Tierpflegern des Instituts für Pharmakologie und Toxikologie.

Einen besonderen Dank gilt meiner Familie, die mir stets unterstützend zur Seite stand.

12 Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt und ausschließlich die in dieser Arbeit angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Berlin, den

Lilly Proft