

2. Literaturübersicht

2.1 Biologie der Rinderklaue

2.1.1 Morphologie der Klaue

Die Rinderklaue besteht aus der stark verhornenden modifizierten Klauenhaut, die den Hornschuh bildet, und den davon umschlossenen Einrichtungen (BUDRAS et al., 2002; MÜLLING, 2002). Dazu gehören der distale Teil des Kronbeins, das Klauenbein und das distale Sesambein, die im Klauengelenk miteinander verbunden seien; weiterhin der Bandapparat und die Endabschnitte von Beuge- und Strecksehne sowie die Bursa podotrochlearis.

Die beiden Stützzehen (dritte und vierte Zehe) bilden die beiden Hauptklauen und tragen die zwei wesentlich kleineren (zweite und fünfte Zehe) Afterklauen (BUDRAS et al., 2002).

Der Aufbau der Klauenhaut entspricht dem der behaarten Haut, ist jedoch aufgrund der Funktion der Klaue als Stütz-, Trage- und Schutzorgan strukturell modifiziert (WILKENS, 1963; FÜRST, 1992; MÜLLING, 1993; WARZECHA, 1993; BUDRAS et al., 2002). Um an die unterschiedlichen Funktionen der Klaue optimal angepasst zu sein, seien die Modifikationen in den verschiedenen Abschnitten sehr spezifisch. Es könnten 5 Segmente unterschieden werden: Saumsegment, Kronsegment, Wandsegment, Sohlensegment und das Ballensegment.

Sagittalschnitt durch die Vorderklaue

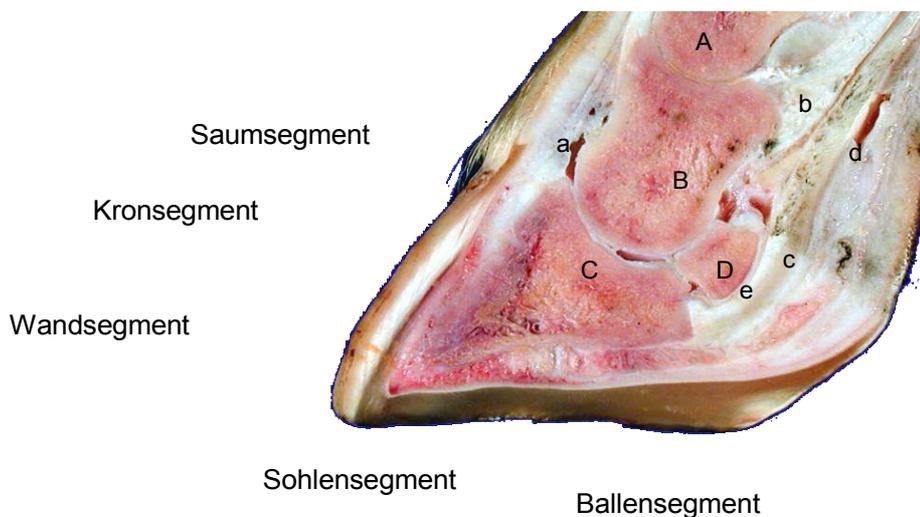


Abbildung 2.1: A = Fesselbein; B = Kronbein; C = Klauenbein; D = Klauensesambein; a = Sehne des M. extensor digitorum communis; b = Sehne des M. flexor digitorum superficialis; c = Sehne des M. flexor digitorum profundus; d = gemeinsame Fesselbeugesehnenscheide; e = Bursa podotrochlearis

Die Subkutis (Unterhaut) der Klaue besteht aus verfestigtem Bindegewebe, elastischen Fasern, Fettgewebe und Knorpel­einlagerungen (HOHMANN, 1902; FUCHS, 1993; MÜLLING, 1993). Sie enthält Blutgefäße samt Nerven und schließt Drüsen sowie Druckrezeptoren ein. Die Unterhaut ist im Saum-, Kron- und insbesondere im Ballensegment zu stoßbrechenden (Fett-)Polstern modifiziert (RÄBER, 2000; LISCHER, 2002; MAIERL, 2004). Im Wand- und Sohlensegment hingegen fehlt eine Subkutis, da hier weniger eine Stoßbrechung, als vielmehr eine unverschiebbliche Verbindung von Klauenbein und Lederhaut erforderlich ist (MÜLLING, 1993; MÜLLING, 2002).

Die Dermis (Lederhaut) der Klaue gliedert sich in das Stratum reticulare und das Stratum papillare (BOAS, 1881; ZIETSCHMANN, 1918; WILKENS, 1963; MÜLLING, 1993). Das Stratum reticulare bestehe hauptsächlich aus kräftigen Kollagenfaserbündeln und stelle somit die Verbindung zum Stützskelett bzw. zur modifizierten Klauenunterhaut her. Das stark vaskularisierte Stratum papillare bilde die versorgende, aber auch verankernde und formgebende Unterlage für die Epidermis. Die kleinen Papillen seien hier deutlicher als in der behaarten Haut, man spreche deshalb von Zotten. Im Wandsegment seien statt Lederhautzotten abwärts gerichtete, parallel angeordnete Blättchen (Lamellen) ausgebildet. Die Oberflächen von Dermis und Epidermis seien kongruent und verhalten sich wie Patz und Matrize zueinander. Dementsprechend entsteht über den Papillen Röhrenhorn und über den Lamellen Blättchenhorn (MÜLLING, 2002).

Die Epidermis (Oberhaut) der Klaue besteht sowohl aus lebenden als auch aus abgestorbenen (verhornten) Zellen, die zusammen die epidermale Klauenkapsel (Hornschuh) bilden (MÜLLING, 2002). Die tiefste Schicht der lebenden Epidermis ist das Stratum basale (FÜRST, 1992; MÜLLING 1993). Sie ist über die Basalmembran mit der Lederhaut verbunden. Die Oberflächenvergrößerung durch die Lederhautzotten und Lederhautblättchen ermögliche eine feste Verankerung, begünstige aber auch die Versorgung der gefäßlosen Epidermis per diffusionem. Auf das Stratum basale folge das Stratum spinosum. In den Bereichen vom weichen Verhornungstyp folge dann das Stratum granulosum, das den Namen aufgrund seines Reichtums an Keratohyalin granula erhalten hat. Das abgestorbene Stratum corneum ist die letzte Schicht der Oberhaut und bildet die Hornmasse (MÜLLING, 2002). Es diene dem Schutz der tieferen Strukturen und übernehme biomechanische Funktionen. Charakteristisch für die Rinderklaue ist eine sehr hohe Hornbildungsrate im distalen Teil des Wandsegments (BUDRAS et al., 1996). Die dort entstehenden weichen Hornanteile füllen die Zwischenräume zwischen den deutlich härteren Hornblättchen, die aus dem oberen Wandbereich stammen und distal geschoben werden (MÜLLING, 1993). Beide zusammen würden die weiße Linie (zona alba) bilden. Sie sei die Verbindungszone zwischen dem Horn der Klauenplatte und dem Sohlen- sowie dem Ballenhorn der Fußungsfläche.

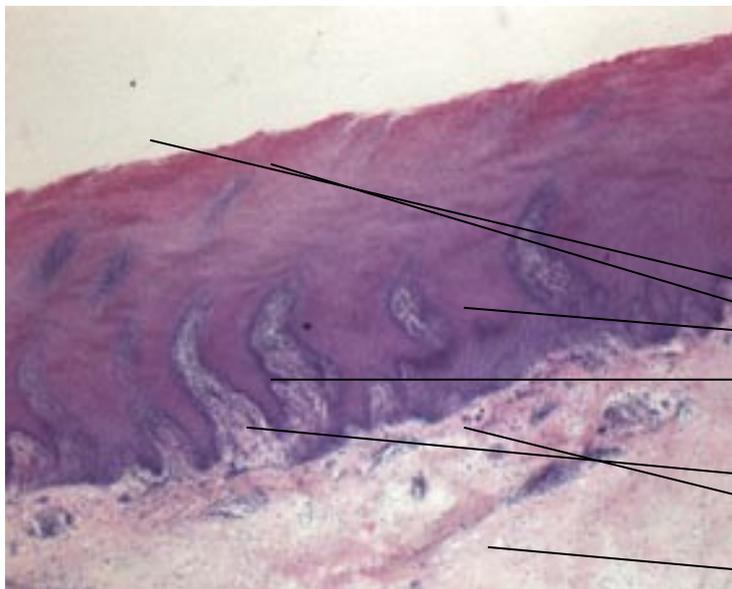
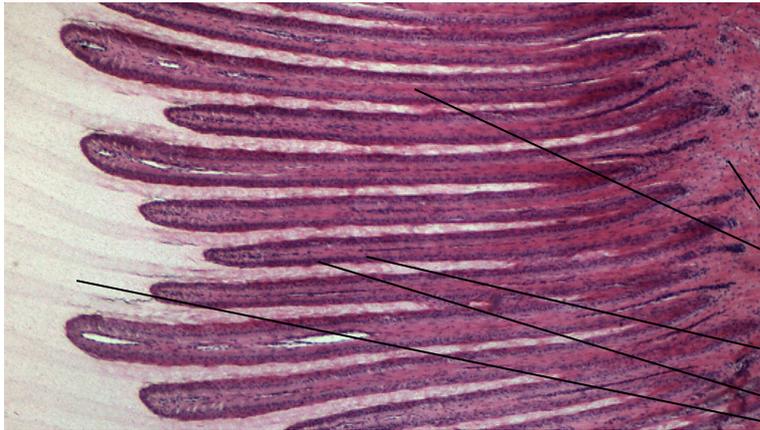


Abbildung 2.2:
lichtmikroskopische Aufnahme
des distalen Ballensegments
HE x 5 Vergrößerung

Epidermis:
Stratum corneum
Stratum granulosum
Stratum spinosum
Stratum basale

Dermis:
Stratum papillare
Stratum reticulare

Subcutis

**Abbildung 2.3:**

Lichtmikroskopische Aufnahme
des distalen Wandsegments HE
x 10 Vergrößerung

Dermis:
Stratum reticulare
Stratum papillare

Epidermis:
Stratum basale
Stratum spinosum
Stratum corneum

2.1.2 Der Klauenbeinhalteapparat

Die Hufrehe des Pferdes wird heute als eine Erkrankung des Hufbeinträgers mit Mikrozirkulation der Dermis definiert (BUDRAS und HUSKAMP, 1999). WESTERFELD (2003) beschrieb in Analogie zum Hufbeinträger des Pferdes (PELLMANN, 1997; BUDRAS, 1999) die Struktur des Klauenbeinträgers beim Rind. Im Wissen um seine Existenz sind nun neue Hypothesen im Hinblick auf die Pathogenese der Klauenrehe möglich. Bei vergleichenden Studien fallen erhebliche tierartliche Unterschiede auf. Das Wandsegment der Rinderklaue ist viel kleiner als das des Pferdes (WESTERFELD et al., 2000) und das Rind besitzt physiologischer Weise keine Sekundärblättchen (MÜLLING, 2002; MÜLLING und LISCHER, 2002). Die zu verbindende Oberfläche im Grenzbereich zwischen Dermis und Epidermis sei somit beim Rind wesentlich geringer, was die Tragekapazität des Klauenbeinträgers einschränke. Dieses biomechanische Defizit der Rinderklaue wird durch das Vorhandensein einer zweiten Struktur, der Klauenbeinstütze, ausgeglichen. Im Wesentlichen handelt es sich dabei um drei Fettgewebsskissen (LISCHER, 2000; RÄBER et al., 2004). Klauenbeinträger und Klauenbeinstütze können zum Klauenbeinhalteapparat zusammengefasst werden. Änderungen seiner Funktionalität und Konsistenz können die Lage des Klauenbeins maßgeblich verändern und sekundär eine Kompression der dermalen Gefäße herbeiführen (MÜLLING, 2002).

Der Klauenbeinträger

Das Klauenbein ist im Wandsegment über zugbelastbare Strukturen im epidermalen Klauenschuh aufgehängt (WESTERFELD et al., 2000; MÜLLING, 2002). Die Verzahnung von Epidermis- und Lederhautblättchen im Wandsegment schaffe eine feste Verbindung. Die Gesamtheit dieser Strukturen werde als Klauenbeinträger bezeichnet.

Im Klauenbeinträger wird der Druck durch das Körpergewicht in einen Zug umgewandelt, der in der Klauenplatte in einen Druck zurückgewandelt wird (WESTERFELD et al., 2000; MÜLLING, 2002). Am Distalende der Klauenplatte entsteht dann eine Druckbelastung des Tragrandes, der damit auf sehr geringer Fläche die gesamten - im Wandsegment angreifenden - Kräfte aufzunehmen hat (MÜLLING, 2002).

Die Klauenbeinstütze

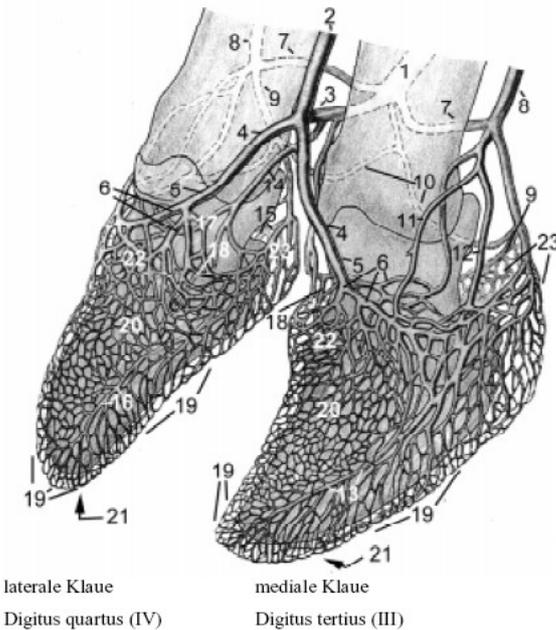
Die Klauenbeinstütze setzt sich zusammen aus dem weich – elastischen Ballenhorn und dem Ballenfettpolster (LISCHER, 2000; RÄBER, 2000; WESTERFELD, 2003; MAIERL, 2004, RÄBER et al., 2004). Die Fettgewebsanteile des Ballenpolsters seien in drei große zylindrische Fettgewebsskissen und zahlreiche kleinere unterteilt, die kapselartig durch Kollagenfasern gekammert sind. So spricht man von einem axialen, einem mittleren und einem abaxialen Fettgewebsskissen (LISCHER, 2000; RÄBER, 2000; WESTERFELD, 2003; MAIERL, 2004). Das axiale und abaxiale Kissen stünden über fingerförmige Ausläufer in Verbindung. Vor diesen lägen zahlreiche kleinere querorientierte Fettzylinder.

Die funktionelle Einheit aus weich – elastischem Ballenhorn und Ballenpolster nimmt die beim Fuß entstehen impulsartigen Druckkräfte auf und verteilt sie gleichmäßig auf alle umgebenden Gewebe (LISCHER, 2000; RÄBER, 2000; MÜLLING, 2002; WESTERFELD, 2003; MAIERL, 2004). In geringem Maße kommt auch dem druckbelasteten Kronpolster diese stoßbrechende Funktion zu (MÜLLING, 2002). Durch den Zug an der Klauenkapsel sinkt die Klauenplatte in der oberen Hälfte ein (LISCHER, 2000; RÄBER, 2000; MÜLLING, 2002; WESTERFELD, 2003; MAIERL, 2004). In diesem Moment komme es zu einer deutlichen Kompression und elastischen Verformung des Ballenpolsters. Der Belastungsdruck sei somit erfolgreich gedämpft.

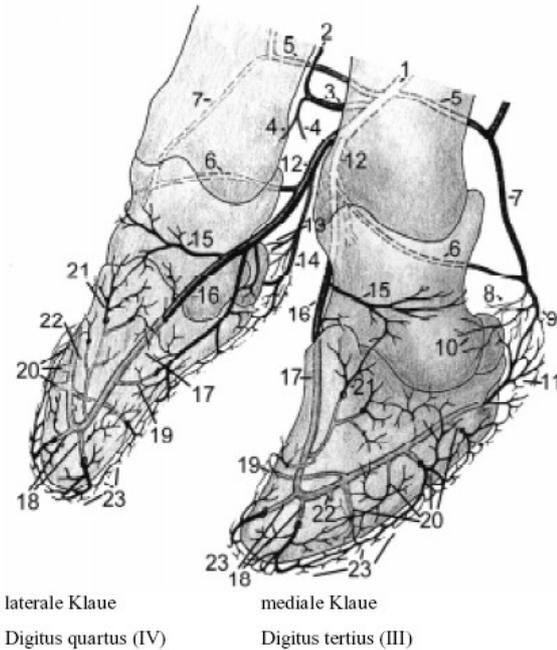
2.1.3 Makro – und Mikroangioarchitektur der Klaue

Die Blutversorgung der Klaue erfolgt hauptsächlich durch die palmare bzw. plantare Zehenarterie (Aa. digitales palmares bzw. plantares propriae axiales et abaxiales) der III. und IV. Zehe, während die dorsalen Zehenarterien (Aa. digitales dorsales propriae III et IV axiales) eine untergeordnete Rolle spielen (LECHNER, 1934; HEINZE und KANTOR, 1972a; HABERMEHL, 1984; SCHWEIZER und KÖNIG, 1990; VERMUNT und LEACH, 1992a; HIRSCHBERG, 1999). Das venöse Blut der Klaue wird durch eine dorsale Zehenvene (Vv. digitalis dorsalis propria III bzw. IV), die das Hauptabflussgefäß darstellt, und zwei seitliche Zehenvenen (Vv. digitalis plantaris bzw. palmaris propria III bzw. IV axialis et abaxialis) abgeführt (HEINZE und KANTOR, 1972a; HABERMEHL, 1984; VERMUNT und LEACH, 1992a; HIRSCHBERG, 1999). Der Verlauf der großen hin – ,bzw. ableitenden Blutgefäße ist an der Vorder- und Hintergliedmaße unterschiedlich, die Versorgung des jeweiligen Zehenendorgans verläuft jedoch nach dem gleichen Schema (LECHNER, 1934; HEINZE und KANTOR, 1972a; HABERMEHL, 1984; HIRSCHBERG, 1999). Die stärkeren palmaren, bzw. plantaren axialen Zehenarterien geben Rr. palmares resp. plantares ab und treten nahe der dorsalen Klauenkontur in den Hornschuh ein (NICKEL et al., 1964; HEINZE und KANTOR, 1972a; HABERMEHL, 1984; HIRSCHBERG, 1999). Nach Abgabe von Versorgungsästen für das Saum– und das Kronsegment, den Zehenstrecker und das Klauengelenk, dringen sie jeweils als Klauenbeinarterie am Foramen axiale des Klauenbeins in den Klauenbeinkanal ein (LECHNER, 1934; HEINZE und KANTOR, 1972a; SCHWEITZER und KÖNIG, 1990; VERMUNT LEACH, 1992a). An der Klauenbeinspitze schlage der Gefäßverlauf um und verlasse unter Abgabe von Versorgungsästen für die Lederhaut der Krone, der Wand, des Ballens und der Sohle, die den Knochen an den entsprechenden Bereichen durchdrängen, den Klauenbeinkanal wieder am abaxialen Wandloch. Die Gefäße anastomosieren im weiteren Verlauf bogenförmig am unguulären Sohlenrand zur Sohlenrandarterie, der A. marginis solearis (LECHNER, 1934; HEINZE und KANTOR, 1972a). Die dorsale Zehenvene jeder Hauptklaue verzweigt sich vielfach, bildet letztlich die oberflächlichen Kron – und Wandvenenplexus und anastomosiert mehrfach mit der axialen und abaxialen seitlichen Zehenvene (HABERMEHL, 1984; VERMUNT und LEACH, 1992a). Beide seitlichen Zehenvenen würden anastomosieren und sich darauf in eine tiefe Kronpolstervene und die Klauenbeinvene gabeln. Letztere umgebe das entsprechende arterielle Gefäß netzartig während ihres gemeinsamen Verlaufs durch den Klauenbeinkanal. Die tiefe Kronpolstervene bilde die tiefen Kron- und Wandlederhautnetze. Äste der abaxialen Zehenvene bilden mit ihren Endverzweigungen die venösen Ballenplexus (HABERMEHL, 1984; VERMUNT und LEACH, 1992a). Die Netze der Wand- und Sohlenlederhaut stünden durch besondere Kanälchen mit dem Klauenbeinvenengeflecht in Verbindung. An der Klauenbeinspitze bilden Anteile des Klauenbeingeflechtes die Abflusswege für das dort vorkommende innere venöse Sohlennetz (HABERMEHL, 1984; VERMUNT und LEACH, 1992a). Details sind der Abbildung 2.4 zu entnehmen.

Venöse Angioarchitektur der adulten Hauptklauen



Arterielle Angioarchitektur der adulten Hauptklauen



Legende:

1. V. digitalis palmaris communis III
2. V. digitalis dorsalis communis III
3. V. interdigitalis
4. V. digitalis dorsalis propria III bzw. IV axialis
5. R. dors. phalangis mediae axialis
6. V. coronalis superficialis et profunda axialis
7. R. palm. phalangis prox. anastomoticus
8. V. digitalis palm. propr. III bzw. IV abax.
9. Rr. tori digitales
10. R. palmaris phalangis mediae anastomoticus
11. R. dors. phalangis mediae abax.
12. V. coronalis superficialis et prof. abaxialis
13. V. dorsalis phalangis distalis abaxialis
14. V. digitalis palm. propr. III bzw. IV axialis
15. Rr. palmares phalanges distales
16. V. dorsalis phalangis distalis axialis
17. V. coronalis profunda axialis
18. V. bzw. Plexus phalangis distalis sive ungulae
19. V. bzw. Plexus venosus marginis solearis
20. venöse Netze der Wandlederhaut
21. venöse Sohlennetze
22. venöse Netze des Kronbereiches
23. venöse Ballennetze

Legende:

1. A. digitalis palmaris communis III
2. A. digitalis dorsalis communis III
3. A. interdigitalis
4. A. digitalis dors. propria III bzw. IV axialis
5. R. palm. phalangis prox. anastomoticus
6. R. palm. phalangis mediae anastomoticus
7. A. digitalis palm. propr. III bzw. IV abax.
8. Rr. tori digitales
9. R. palmaris phalangis distalis
10. Rr. coroneales abaxiales (R. dorsalis phalangis mediae et distalis)
11. R. anastomoticus cum arco terminale
12. A. digitalis palm. propr III bzw. IV axialis
13. Rr. tori digitales
14. R. palmaris phalangis distalis
15. A. coronalis supf. et profunda axialis
16. A. phalangis distalis sive ungulae
17. Arcus terminalis
18. apikale Primäräste
19. axiale Primäräste
20. abaxiale Primäräste
21. dorsale Äste
22. Sohlenäste
23. A. marginis solearis

Abbildung 2.4: Hirschberg, 1999 (modifiziert nach HABERMEHL, 1984; gezeichnet nach mit Technovit®7143 und Plastoid®injizierten Korrosionspräparaten, die Feinverzweigung der Gefäße ist schematisiert dargestellt).

Die Feinstruktur des Gefäßsystems der Klaue ist einzigartig in seiner dreidimensionalen Anordnung, Komplexität und Dichte (Hirschberg et al., 2001). Besonders stark sei das Kapillarnetz an der dermoepidermalen Grenze, wobei die Bereiche hoher Hornproduktion (papilläre Bereiche) vergleichsweise dichter vaskularisiert seien als die mit niedriger Hornproduktion (lamelläre Bereiche). Die Aufsicht ähnelt prinzipiell dem Gefäßaufbau der Dermis (HEINZE und KANTOR, 1971; VERMUNT and LEACH, 1992; HIRSCHBERG, 1999), die Ausrichtung der Form, Länge und Dichte der Papillen und ihrer Angioarchitektur sei jedoch abhängig von der mechanischen Belastung. So seien die Gefäße der Krone und des Saumes eher gerade, die des Ballens dagegen verdreht und geschlängelt. Das ermöglicht bei Belastung den Impuls durch Streckung der Schlaufen zu retardieren (HIRSCHBERG et al., 1999; HIRSCHBERG et al, 2001). Die Basisarchitektur der Papillengefäße von Saum, Krone, Ballen und Sohle bestehe aus einer zentralen Arteriole und Venole, umschlossen von einem Netzwerk aus subepidermalen Kapillaren und Venolen. Die Papillengefäße entsprängen aus dem dichten subpapillären Dermalplexus, der parallel zur Oberfläche des Klauenbeins verlaufe. An der Spitze der Papille geht der Abfluss der Arteriole direkt in die Venole über; dieser Bereich wird als periphere arteriovenöse Schleife bezeichnet (VERMUNT and LEACH, 1992; HIRSCHBERG, 1999; HIRSCHBERG, 2001). Die Kapillarnetze entsprängen ebenfalls aus der Mittelarteriole und drainieren in dieselbe Venole wie die Ursprungsarteriole. Die Perfusion der Kapillaren würde durch präkapilläre Sphinkteren reguliert. Terminologisch müssen diese Schleifen als Strom- oder Bügelkapillaren, bzw. als arteriovenöser (AV) Zentralkanal bezeichnet werden (SCHRÖDER, 1952; ILLIG, 1957; BÖCK, 1980). Sie verbänden eine Arteriole direkt mit einer Venole und dienten als ein Kurzschlussystem innerhalb des kapillären Bettes. Echte arteriovenöse Anastomosen (AVA) regulieren durch den Verschluss bzw. die Öffnung ihres eigenen Lumens die Perfusion des Kapillarbettes (HIRSCHBERG, 1999). Sind sie geöffnet, leiten sie das Blut ohne Stoffaustausch direkt in die Venole, sind sie verschlossen, nimmt das Blut den Weg über die nachgeschalteten Kapillaren (CLARA, 1927; SHERMAN, 1963). Echte AVAs konnten in der Klaue nur vereinzelt nachgewiesen werden (HIRSCHBERG, 1999). Es gebe jedoch Hinweise darauf, dass die Zahl der AVAs in erkrankten Klauen als adaptive Strukturveränderung ansteige. In der Wandregion folgt das Gefäßsystem der Blättchenanordnung (HIRSCHBERG et al., 1999 und 2001). Die Lamellargefäße seien eher gerade. Die Lamellen seien daher unfähig, auf Streckung oder Druck zu reagieren. Als Besonderheit träten lokal in den Venolen und den Kapillarnetzen der Lamellen Dilatationen auf, die primär die Form von kapillären Aneurysmen resp. Teleangiektasien, Indikatoren für venöse Hyperämie, zeigen würden. HIRSCHBERG et al. (1999, 2001) halten diese Besonderheit für physiologisch. Da lokaler Blutstau als Stimulus für die Ausbildung von echten AVAs gelte, wäre damit das vermehrte Auftreten von AVAs (altersabhängig ansteigend) an der Basis der Lamellen erklärt.

Substanzen, die physiologisch an der Regulation der Durchblutung der Klaue beteiligt sind, werden in erster Linie in Vasokonstriktoren und Vasodilatoren eingeteilt, die weiter in neuronale, hormonale und lokale Regulation unterteilt werden (SILBERNAGEL et al., 1990).

	Vasokonstriktion	Vasodilatation
Neuronal	Sympathikus ↑ → Noradrenalin (α_1 -Rez)	Parasympathikus ↑ → Acetylcholin (m-Rez)
Lokal (Autoregulation)	Gefäßdehnung – myogene Rkt. erhöhte transmurale Druck führt zur Kontr. d. Gefäßmusk. (nicht in der Haut)	PO ₂ ↓ ADP, AMP, Adenosin, PCO ₂ ↑, H ⁺ , K ⁺ (Metaboliten)
Hormonal	(Adrenalin (α_1 -Rez)) Dopamin Renin - Angiotensin – Aldosteron - System ADH (= Vasopressin) ANP (Atrionatriuretisches Peptid)	Adrenalin (β_2) Noradrenalin (β_2)
Gewebshormone	Endothelin: ET _A -Rez Histamin (H ₁ -Rez): Gefäßkonst. + Kapillarpermeabilität ↑ + EDRF* Freisetzung Serotonin (5 - TH ₁ , 5 - TH ₂ , 5 - TH ₃) Thromboxane A ₂ , B ₂ Prostaglandine F _{2α}	Endothelin (ET _B -Rez) Histamin (H ₂ - Rez): Arterioldilatation Serotonin (5 - TH ₁ , 5 - TH ₃) NO ↑: aus Endothel freigesetzt Prostaglandin PGI ₂ , PGE ₂ Bradykinin, Kallidin CGRP

*EDRF = Endothelium - derived relaxing factor

Abbildung 2.5: Übersicht der Regulation der Gefäßweite (SILBERNAGEL et al., 1990; BUCKLEY et al., 1997; LÖSCHER et al., 1996; SIMON et al., 1999; CANNON, 1998; OLSON, 1995; KAPOOR et al., 2003; KURAHASHI et al., 2003)

Neuronale Regulation

Die neuronale Regulation der Durchblutung dient in erster Linie der Aufrechterhaltung der Homöostase (SILBERNAGEL et al., 1990; LÖSCHER und FREY, 1996). Durch sie werde der Blutdruck stabilisiert. Ein zu hoher Blutdruck führt zu einer Senkung des Sympathikotonus (SCOTT et al., 1978; ROBINSON et al., 1975). Es komme zur Gefäßerweiterung und damit zur Verminderung des peripheren Widerstandes. Diese Wirkung wird hauptsächlich durch die verringerte Noradrenalin ausschüttung aus den Neuronen erreicht (SILBERNAGEL et al., 1990; LÖSCHER und FREY, 1996). Ein zu niedriger Blutdruck hingegen provoziert eine Steigerung der Noradrenalinliberation, dessen Bindung am α_1 -Rezeptor zur Vasokonstriktion führt (ELMES und EYRE, 1977; VOET und VOET, 1994; LÖSCHER und FREY, 1996).

Der Parasympathicus erwirkt über die Freisetzung von Acetylcholin eine Stickstoffmonoxid (NO)- Ausschüttung an der Gefäßmuskulatur (FURCHGOTT et al., 1980). NO gewährleistet durch die Aktivierung der Guanylatcyclase eine Basisdilatation, die durch Steigerung bzw. Hemmung des Sympathikotonus beeinflusst wird (SIMON et al., 1999; BUCKLEY et al., 1997).

Lokale Regulation

Da die Gefäßgebiete ungleichen Anforderungen ausgesetzt sind, ist zusätzlich eine lokale Durchblutungsregulation notwendig:

myogene Reaktionen

Die myogene Reaktion besteht darin, blutdruckbedingte Gefäßerweiterungen mit einer Kontraktion der Gefäßwand zu beantworten (van BAVEL et al., 2002). JEPSEN und GAEHTGENS (1993) zeigten, dass diese Reaktion in der Haut hauptsächlich als Antwort auf Kompression oder Dehnung eine Rolle spielt.

lokale Metabolite

Eine Erhöhung der lokalen Konzentration an Stoffwechselprodukten (CO_2 , H^+ , ADP, AMP, K^+), die im Allgemeinen mit einer Hypoxie vergesellschaftet ist, hat eine Durchblutungssteigerung zur Folge (SILBERNAGEL et al., 1990). Der Abtransport der Metaboliten werde beschleunigt und eine adäquate Sauerstoffversorgung wieder hergestellt.

Lokale Hormone

endotheliale Faktoren

Endothelin - 1

Endothelin-1 wird von Endothelzellen gebildet (ELSHOURBAGY et al., 1993; BUCKLEY et al., 1997; DSCHIETZIG et al., 2003; KATZ et al., 2003; CHAN et al., 2004). Es binde an zwei Rezeptortypen. ET_A befinde sich an glatten Muskelzellen und vermittele eine Vasokonstriktion. ET_B komme hauptsächlich an der Endothelzelle selbst, aber auch an der glatten Muskelzelle vor. Eine hormonelle Bindung an diesem Rezeptor bewirkt eine Vasodilatation und fördert die NO- und PGI_2 - Ausschüttung, welche beide die ET-1 Produktion in der Endothelzelle hemmen und die Vasodilatation begünstigen (BUCKLEY et al., 1997; DSCHIETZIG et al., 2003). Isoliert perfundierte equine Digitalvenen reagierten auf Endothelin-1 mit einer Kontraktion ihrer glatten Muskelzellen (Katz et al., 2003).

NO (Stickstoffmonoxid)

NO wird vom Endothel freigesetzt (SIMON et al., 1999; CANNON, 1998; BUCKLEY et al., 1997). An den Gefäßen führt es nach Rezeptorbindung zu einer Verringerung der intrazellulären Ca^{2+} - Konzentration und damit sekundär zu einer Relaxation der glatten Muskelzelle (SIMON et al., 1999; CANNON, 1998; OLSON, 1995). Außerdem hemmt es das potente Endothelin-1 sowie die Noradrenalinausschüttung an den sympathischen Nervenendigungen (BUCKLEY et al., 1997; CANNON, 1998). NO gilt als wichtigster Faktor zur Aufrechterhaltung einer Basisdilatation (SIMON et al., 1999; CANNON, 1998; BUCKLEY et al., 1997; OLSON et al., 1995). Weitergehend unterstützt es den Blutfluss durch Inhibition der Plättchenaggregation und –adhäsion (CANNON, 1998). Cytokinexpression und –synthese werde durch Anwesenheit von NO gebremst.

CGRP (neuropeptide calcitonin gene–related peptide)

Der Transmitter wird über die terminalen Nervenendigungen ausgeschüttet (KAPOOR et al., 2003) und gilt als sehr potenter Vasodilatator (JARAJAPU et al., 2004; KAPOOR et al., 2003). In vielen Spezies sei CGRP bereits nachgewiesen, seine physiologische Rolle bleibe trotzdem unklar. In der Humanmedizin werde CGRP für den Migräneschmerz verantwortlich gemacht. Versuche an anästhesierten Schweinen haben gezeigt, dass CGRP die Potenz hat, rote Ohren zu erzeugen (KAPOOR et al., 2003). Insbesondere arteriovenöse Anastomosen sollen auf CGRP ansprechen, deren Dilatation, bzw. Öffnung immer wieder im Zusammenhang mit der Klauenreheerkrankung diskutiert wird (HIRSCHBERG et al., 1999, 2001).

Entzündungsmediatoren

Die bei der Entzündung wirksamen Mediatoren werden auch als lokale Hormone oder Gewebshormone bezeichnet (LÖSCHER und FREY, 1996). Dazu gehöre neben den Arachidonsäurederivaten das Histamin, Serotonin (5-Hydroxytryptamin) und Bradykinin.

Histamin

Histamin wird hauptsächlich in den Mastzellen gespeichert (LÖSCHER und FREY, 1996; CHAMPION et al., 1999). Es seien drei verschiedene Rezeptortypen bekannt, deren Wirkung sehr unterschiedlich sei. Der H_1 -Rezeptor führe an den Gefäßen zur Vasokonstriktion, fördere die Adrenalinausschüttung in der Nebenniere und vermittele die Endothelkontraktion, wodurch die Permeabilität erhöht werde. Außerdem führe er zur EDRF-Freisetzung aus dem Endothel mit Dilatation der Gefäße. Der H_2 -Rezeptor dagegen bewirke eine Gefäßdilatation und eine Inhibition der Histaminfreisetzung aus den Mastzellen. Der H_3 -Rezeptor autoreguliere die Liberation des Histamins. Im Gefäßsystem der Klaue des Rindes überwiegt der H_1 – Rezeptor (ELMES und EYRE, 1977), ebenso wie in den Gliedmaßen der meisten anderen Tiere (CHAMPION et al., 1999).

Bradykinin

Die Bradykininwirkung ist ebenfalls an Rezeptoren (B_1 und B_2) gekoppelt (FREY und LÖSCHER, 1996). B_1 -Rezeptoren würden vorrangig bei Gewebeschäden oder

pathologischen Insulten gebildet und würden die Konstriktion von Venen und Arterien stimulieren. B_2 -Rezeptoren würden durch chemische Noxen aktiviert. Ihr Wirkungsspektrum sei dem der H_1 -Rezeptoren sehr ähnlich. ELMES und EYRE (1977) beschreiben eine Konstriktion isolierter Gefäße aus dem Kronbereich der Rinderklaue durch Bradykinin; eine Applikation von Bradykinin an eine isoliert perfundierte Rinderklaue bewirke dagegen einen Druckabfall. Systemische Verabreichung an Kälber führte zur Hypotension (SLOCOMBE et al., 1982).

Arachidonsäurederivate

Arachidonsäurederivate sind neben den Entzündungsprozessen auch im physiologischen Bereich bedeutungsvoll (Prostaglandin $F_{2\alpha}$ bewirkt durch Gefäßkontraktion die Luteolyse, hemmt die Schleimproduktion und HCl-Ausschüttung im Magen) (LÖSCHER und FREY, 1996; BUCKLEY et al., 1997; KURAHASHI et al., 2003). PGE_2 und PGI_2 bewirke eine Gefäßdilatation und eine erhöhte Kapillarpermeabilität. $PGF_{2\alpha}$, PGD_2 und TXA_2 würden zu einer Vasokonstriktion führen.

Serotonin

Serotonin wird neuronal gespeichert und hat Transmitterfunktion (LÖSCHER und FREY, 1996; LINDEN et al., 1996). Die biologischen Effekte würden durch Stimulation der drei spezifischen Rezeptortypen hervorgerufen. Der $5-HT_1$ -Rezeptor könne exzitatorisch und inhibitorisch wirken, während der $5-HT_2$ -Rezeptor nur in der Peripherie und postsynaptisch angelegt sei. Er löse nur exzitatorische Effekte aus. Am $5-HT_3$ -Rezeptor komme es zur Exzitation des entsprechenden Neurons. Die Wirkung auf das Gefäßsystem könne bei $5-HT_{1+3}$ -Rezeptoren sowohl dilatatorisch als auch konstriktorisch sein, da die Wirkung von dem postsynaptischen Transmitter abhängt. Mögliche Transmitter seien Noradrenalin oder Acetylcholin. Der überwiegende Effekt sei jedoch die Vasodilatation und EDRF-Liberation, während der $5-HT_2$ -Rezeptor eine Gefäßkontraktion bewirke. Nach MERCK (1976) kann Serotonin auch von Thrombozyten liberiert werden. Im Gefäßsystem der Rinderklaue überwiegt der $5-HT_2$ -Rezeptor (ELMES und EYRE, 1977). Die intravenöse in vivo - Applikation führt dagegen zu einer systemischen Hypotension (LINDEN et al., 1996; SYSTRONCK et al., 1996).

Die Wirkung von Histamin, Serotonin, Bradykinin und Endothelin-1 ist demnach abhängig von der Verteilung ihrer Rezeptoren. Diese Verteilung kann bei Endothelin-1 schon innerhalb einer Arteriole stark differieren (BUCKLEY et al., 1997). Die genaue Wirkung in einem speziellen Organsystem ist in den meisten Fällen noch gar nicht erforscht (SLOCOMBE et al., 1982) und, wie jüngere Untersuchungen zeigen, nicht ohne weiteres von einer Spezies auf die andere übertragbar (LINDEN et al., 1996; KURAHASHI, 2003).

Hormone

Die Catecholamine

Ihr Einfluss auf die Gefäßweite ist sehr viel gründlicher erforscht als der Einfluss der anderen Substanzen (SILBERNAGEL et al., 1990; VOET und VOET, 1994; BUCKLEY et al., 1997). Ausgeschüttet aus dem Nebennierenmark wirke Adrenalin in niedriger Konzentration an β_2 -Rezeptoren vasodilatatorisch, in hoher Konzentration vasokonstriktorisch über die α_1 -Rezeptoren. Noradrenalin habe eine höhere Affinität zum α_1 -Rezeptor, so dass bei geringer Konzentration eine Vasokonstriktion resultiere. Bei hoher Noradrenalin-Konzentration ist eine Vasodilatation an den β_2 -Rezeptoren möglich (VOET und VOET, 1994; BUCKLEY et al., 1997). Es werde jedoch hauptsächlich über die Nervenendigungen ausgeschüttet. In diesem Bereich befänden sich überwiegend α_1 -Rezeptoren. α_2 -Rezeptoren dienen der Gefäßregulation in der Peripherie hauptsächlich durch Autoregulation der Noradrenalinausschüttung (LÖSCHER und FREY, 1996). Die Verteilung dieser Rezeptoren ist tierartübergreifend gleich (DÖCKE et al., 1994). Bei Beachtung der Bezeichnung „Fluchthormon“ für Adrenalin ergibt sich das Verteilungsmuster von β_2 - und α_1 -Rezeptoren logisch: Die Gefäße der Niere und der Haut haben vorwiegend α_1 -Rezeptoren, die Skelettmuskulatur dagegen überwiegend β_2 -Rezeptoren (SILBERNAGEL et al., 1990; VOET und VOET, 1994; DÖCKE, 1994). In Magen, Darm und Herzkranzgefäßen sei das Ausmaß ausgewogen.

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, ADH und ANP

Die Hormone zur Steuerung des intra- und extravasalen Volumens haben neben vielfältigen Wirkungen auch direkte Gefäßwirkung (SILBERNAGEL et al., 1990; KURAHASHI, 2003). Angiotensin II habe eine starke vasokonstriktorische Wirkung an Arterien und eine schwache Wirkung an den Venen. Sekundär aktiviere es das sympathische System. Vasopressin (ADH – antidiuretisches Hormon) wirke ebenfalls gefäßverengend. ANP (atriatriuretisches Peptid) bewirkt eine Vasodilatation; jedoch nur an den Vasa afferentia der Nierenglomerula zur Steigerung der glomerulären Filtrationsrate (SILBERNAGEL et al., 1990; DÖCKE, 1994).

Östrogen

In humanmedizinischen Studien wurde festgestellt, dass der geringe Anteil koronarer Herzerkrankungen bei Frauen vor der Menopause auf die dilatative Wirkung von Östrogen an den Herzkranzgefäßen zurückzuführen ist (LOPEZ – JARAMILLO et al., 2004; RACKLEY, 2004). Östrogen erhöhe auch die Bereitschaft der Thrombozyten zur Aggregation. Die Wirkung beruht auf der Beeinflussung des NO- Tonus und der Veränderung der catecholaminvermittelten Gefäßkontraktion (ALTURA und ALTURA, 1977). Höchste physiologische Konzentrationen werden in der Gravidität gemessen (HIRAKO et al., 2002; PATEL et al., 1996). In der Milchviehhaltung wird heute eine Rastzeit von 50 - 90 Tagen angestrebt (WIESNER et al., 2000). Gravidität ist also der maßgebliche Zustand einer Milchkuh.

Im Hinblick auf pathologische Prozesse werden insbesondere Histamin, Endotoxin und Laktat aufgrund ihrer Gefäßwirksamkeit diskutiert (NILSSON, 1963; MORTENSEN et al., 1986; BOOSMAN, 1990; TAKAHASHI und YOUNG, 1981). Ihr Potential zur Auslösung einer Klauenrehe wird in Kapitel 2.1.5 erörtert.

2.1.4 Epidermale Differenzierung (Keratinisierung) und Verhornung

Die epitheliale Differenzierung ist in verschiedene Phasen unterteilt, die unterschiedlich reguliert, bzw. beeinflusst werden (EKFALCK, 1991). Die Keratinisierung beginnt mit der Proliferationsphase (MÜLLING, 2002; NEBEL, 2005). Hier teile sich eine Basalzelle, wonach eine der beiden Zellen weiter geschoben werde und mit der zweiten Phase, der Phase der Differenzierung beginnt. Die andere Zelle (Stammzelle) verbleibe auf der Basalmembran und teile sich erneut. Die Differenzierung der Zellen ist vor allem durch eine sehr umfangreiche Synthese von Keratinproteinen und von Interzellularkitt gekennzeichnet (MÜLLING, 1993). Die Keratine würden Filamentbündel bilden, durch deren Zusammenlagerung und chemische Bindung (insb. Disulfidbrücken) ein sehr stabiles dreidimensionales Zytoskelett entstehe. Der Interzellularkitt werde in den Zellen synthetisiert und erst gegen Ende der Differenzierung in den Interzellularrspalt ausgeschleust. Er stelle mit seinem Glykoproteinanteil in erster Linie den Zusammenhalt zwischen den Hornzellen her und baue mit seinen komplexen Lipiden eine Permeabilitätsbarriere im Interzellularraum auf. Die Differenzierung der Epidermiszellen endet mit dem programmierten Tod (MÜLLING und BUDRAS, 1998). Das Klauenhorn bestehe also aus Zellen und interzellulärer Kittsubstanz. Das Verhältnis von Zellproliferation und Zelltod in der lebenden Epidermis bestimme die Menge an gebildetem Horn. Diese sei spezifisch für die einzelnen Segmente und verantwortlich für die Form des Klauenschuhs. Alle Faktoren, welche Proliferation und Zelltod sowie deren Verhältnis zueinander beeinflussen, würden auch die Gestalt der Klaue als Ganzes verändern.

Die Klauenepidermis ist ein gefäßfreies Gewebe, das über Diffusion aus den Kapillaren in der Lederhaut mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt wird (MÜLLING, 2002). Störungen in der Mikrozirkulation in diesem Gefäßsystem würden schnell zu verminderter Versorgung der stoffwechselaktiven Epidermiszellen führen und damit zur Alteration der Synthesevorgänge in den Zellen. Das Ergebnis sei eine Verhornungsstörung, die in veränderter Struktur und Qualität des Horns sichtbar werde.

2.1.5 Klauenrehe und ihre Pathogenese

Mit Steigerung der Milch- und Mastleistung der Rinder und der damit verbundenen Intensivierung der Fütterung hat die Häufigkeit der Klauenrehe deutlich zugenommen. Sie ist weltweit ein herausragendes tierschützerisches und wirtschaftliches Problem.

Die Definition der Lehrbücher besagt, dass es sich bei dieser Erkrankung primär um eine auf Störung der Mikrozirkulation in den Blättchen und Zotten der Lederhaut beruhende diffuse aseptische Pododermatitis handelt, die meist mehrere Klauen zugleich betrifft (DIRKSEN et al., 2002). Sie könne akut, subakut oder chronisch verlaufen. Neuere Arbeiten sprechen insbesondere bei der chronischen Rehe nicht mehr von einer Entzündung, sondern eher von einer Pododermatose, die sich wahrscheinlich nicht nur auf den Blättchenbereich beschränkt (MÜLLING und LISCHER, 2002), wodurch auch die englische Bezeichnung „Laminitis“ neu überdacht werden muss. Die Hauptsymptome der akuten Rehe sind ein gespannter Gang und gekrümmter Rücken (NOCEK, 1997; MÜLLING and LISCHER, 2002), bei einer vermehrt warmen Klaue und verstärkter Pulsation. Beim Rind trete diese Form sehr selten auf. Die subakute Form zeigt sich erst nach mehreren Wochen durch rötlich und gelblich verfärbtes Sohlenhorn (LISCHER, 2000). Die chronische Rehe sei gekennzeichnet durch eine Formveränderung der Klaue. Weitere Reheschübe führen zu der klassischen Deformation (NOCEK, 1997; DIRKSEN et al., 2002). Die Klaue werde breit, abgeflacht und auf dem Rücken der Wandregion zerrissen, konkav und bilde eine Pantoffelklaue. Chronische Klauenrehe ist allgemein mit einer Reihe von sekundären Alterationen assoziiert (NILSSON, 1963; MACLEAN, 1971; NOCEK, 1997). Dazu würden Ballengeschwüre gehören, Blutung in das Horn, Doppelsohle, Geschwür der Sohle und Separation in der weißen Linie.

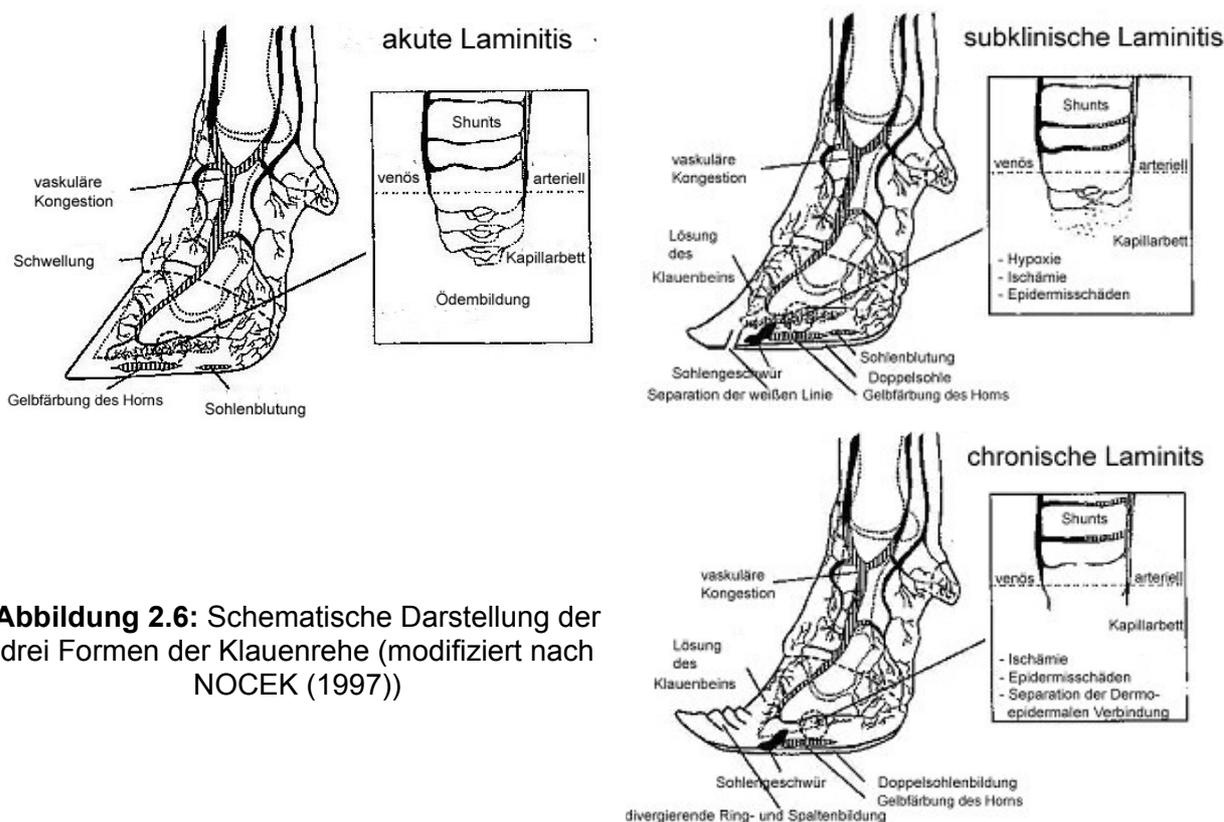


Abbildung 2.6: Schematische Darstellung der drei Formen der Klauenrehe (modifiziert nach NOCEK (1997))

Abgesehen von diesen drei Formen wird in der neueren Literatur von einer subklinischen Form gesprochen. Diese hat keine offensichtliche Lahmheit zur Folge (NOCEK, 1997; OSSENT, 1999). Sie sei charakterisiert durch weiches, gelbes Sohlen- und Ballenhorn mit Blutungen in der Sohle und entlang der weißen Linie. Ihre Existenz wird jedoch kontrovers diskutiert.

Die Ätiologie, so wird in der Literatur übereinstimmend beschrieben, ist multifaktoriell (MULLENNAX et al., 1966; BOOSMAN et al., 1990; GREENOUGH et al., 1991; LISCHER

and OSSENT, 1994; NOCEK, 1997; MÜLLING and LISCHER, 2002). Prädisponierend wirken sich Faktoren wie Management, Haltungssystem, Genetik, Zuchtauswahl, Ernährung (Gerste, Protein, Kohlenhydrate und Rohfaser) und physiologischer Zustand des Rindes (Trächtigkeit, Geburt, Laktationsstadium, Alter und Verhalten) aus (MACLEAN, 1971; BERGSTEN, 1994; LISCHER and OSSENT, 1994; VERMUNT and GREENOUGH, 1994).

Die Pathogenese wird in den Lehrbüchern als Störung der Mikrozirkulation in den Blättchen und Zöttchen der Lederhaut beschrieben (DIRKSEN, 1985, 2002; LISCHER und OSSENT, 1994; LOGUE, 1995). Am Anfang soll eine Konstriktion der Arteriolen stehen. Das führe zu einer Verlangsamung des Blutstroms im nachgeschalteten Kapillargebiet sowie Weitstellung der Blut- und Lymphkapillaren in den Zotten und Blättchen der Wandlederhaut. Es entstehen umschriebene Ischämien (unterstützt durch die AVAs), Gefäßthrombosen, Gewebehypoxie, Nährstoffarmut, erhöhte Endothelpermeabilität und Austritt von blutig-serösem Exsudat, Lymphstau, Ödembildung und zirkumskripte Nekrosen (SINGH et al., 1994; NOCEK, 1997; CHRISTMANN et al., 2002). Laut DIRKSEN et al. (2002) kommt es im Weiteren zur Lockerung des Zusammenhalts zwischen Dermis und Epidermis. Dieser Lösungsvorgang führe dann in schweren Fällen zur Rotation des Klauenbeins um seine Querachse, so dass seine Spitze die apikale Sohlenlederhaut komprimiere. Diese Erklärung der Verlagerung wurde jedoch bisher lediglich aus den Forschungsergebnissen zur Pathogenese der Hufrehe des Pferdes übertragen, der Beweis wurde weder von DIRKSEN et al. noch von anderen Forschungsgruppen erbracht. THOEFNER et al. (2004) zeigte im Tiermodell, dass sich durch die Verfütterung großer Mengen Fruktane, wie sie zum Beispiel in Frühlingsweidegras vorkommen, nicht nur eine Pansenazidose sondern auch akute Klauenrehe provozieren lässt. In der lichtmikroskopischen Untersuchung lasse sich jedoch keine Separation von Dermis und Epidermis nachweisen. Die Veränderung läge vielmehr in der Alteration der Basalzellschicht. Während der eine Teil der Zellen bereits abgestorben sei, wäre der andere Teil der Zellen in der Zellform von eher hochprismatisch nach isoprismatisch verändert. Man könne deshalb von einer Überdehnung der Zellen und somit des Klauenbeinträgers sprechen. Eine Veränderung der Basalzellschicht führt zu einer neuen Kraftverteilung im Klauenbeinträger. Ob damit die Rotation des Klauenbeins um seine Querachse letztlich bewiesen werden kann, steht weiterhin aus, bietet jedoch genug neue Fakten, um das alte Denkmodell in Frage zu stellen.

Die Entzündung mit entsprechender Schwellung der Lederhaut bereitet dem Tier erheblichen Schmerz (DIRKSEN et al., 2002). In der chronischen Phase entwickeln sich Proliferations- und Fibrosierungsprozesse einschließlich Sklerosierung der Gefäßwände (NILSSON, 1963; MACLEAN, 1971). In Folge der Minderversorgung sei die Belastbarkeit des neugebildeten Horns erheblich beeinträchtigt. Die Spitze des Klauenbeins verfällt gewöhnlich einer fortschreitenden Osteolyse und perforiert in schweren Fällen nach Drucknekrose der Lederhaut die Hornsohle (SINGH, 1994; NOCEK, 1997; DIRKSEN et al., 2002). Aufgrund der schubweise verlaufenden Störung des Hornwachstums würden sich die konkaven Einkerbungen des Hornschuhs entwickeln. Als Auslöser gelten gefäßwirksame Mediatoren, die unter verschiedenen Umständen im Tierkörper gebildet und freigesetzt werden. Die Klauenrehe scheint also ein lokales Symptom einer Gesamterkrankung zu sein. Der Zusammenhang zwischen der metabolischen Störung einerseits und den lokalen Veränderungen sowie deren Konsequenzen andererseits, ist jedoch bei weitem noch nicht abgeklärt.

Wie im Kapitel 2.1.3 beschrieben kommen eine ganze Reihe gefäßwirksamer Mediatoren für eine Veränderung der Mikrozirkulation in Frage. Einer der schon sehr lange diskutierten Stoffe ist das Histamin. Durch eine allergische Reaktion ausgeschüttet oder bakteriell gebildet und von Enteritis bzw. Azidose geschädigten Schleimhäuten resorbiert bzw. nach Histidin reicher Fütterung vermehrt im Gewebe angesammelt, wirkt es peripher vasokonstriktorisch und auf Kapillaren dilatierend und permeabilitätssteigernd (ASCHENBACH und GABEL, 2000; LÖSCHER et al., 1996; DIRKSEN, 1985; SANDFORD, 1963; RODWELL et al., 1953; CHAVANCE, 1946). NILSSON gelang es 1963 durch Injektion unterschiedlicher Histamindosen bei Milchrindern Rehesymptome auszulösen. BOOSMAN (1990) konnte diese Ergebnisse jedoch nicht reproduzieren. TAKAHASHI und

YOUNG (1981) injizierten Histamin direkt in die *A. digitalis palmaris communis* III eines Vorderbeines und induzierten damit einen Blutdruckanstieg, Temperaturanstieg sowie starke Schmerzen in der Klaue. Einen reheaähnlichen Symptomenkomplex erzielten sie nur bei einer zusätzlichen Kohlenhydratüberfütterung. Durch Histamin liberiert führen Serotonin, Bradykinin und Prostaglandin F2 alpha ebenfalls zu einer Vasokonstriktion (LÖSCHER und FREY, 1996).

Von den potentiell reheauslösenden und vasoaktiven Endotoxinen werden die Endotoxine von *E. coli* (Lipopolysacharid 0111:B4 (SINGH et al., 1994; WALDRON et al., 2003) und 055:B5 (PAWSON et al., 2000)), ein vasoaktiver Mediator, als Favoriten diskutiert. Der Erreger ist in der Rinderhaltung nicht selten verantwortlich für Euterentzündungen, Endometritiden oder Enteritiden und Pneumonien (SINGH et al., 1994; OHTSUKA et al., 1997). Bei der immunologischen Auseinandersetzung mit dem Erreger werde zwangsläufig Endotoxin frei. Eine zusätzlich erhöhte Konzentration im Blut kommt besonders nach einer Antibiotikabehandlung in Betracht (FRITSCHKE, 2000), die zu einem Massensterben der Bakterien führt und durch eine erhöhte Resorption über entzündungsgeschädigte Schleimhäute begünstigt wird (NOCEK, 1997). Das zusätzliche Erkranken an einer Pansenazidose kann die Reheentwicklung fördern, da sie durch eine kompensatorische metabolische Azidose die Ausscheidung der Endotoxine durch die Niere aus dem Körper hemmt (BOOSMAN, 1990; BOOSMAN et al., 1991a und b; NILSSON, 1963; KLEEN et al., 2003). Endotoxine wirken in der Kreislauperipherie über alpha-Rezeptoren neurohumeral vasokonstriktorisch und aktivieren das Blutgerinnungssystem (BOOSMAN et al., 1991a). Zentral ist dagegen mit einem Blutdruckabfall, einem verringertem Herzschlagvolumen, einer Hypoxie durch Bronchokonstriktion und einer Haemokonzentration zu rechnen (OLSON et al., 1995). MORTENSEN et al. (1986) gelang es über Injektion von hohen Dosen *E. coli* - Endotoxin leichte Rehesymptomatik zu induzieren. In geringen Dosen war der Versuch erfolglos (BOOSMAN et al., 1991a). So scheint das Endotoxin allein nicht ausreichend zu sein, es ist jedoch auch Liberator für Bradykinin, Serotonin, Histamin, Prostaglandin F2 alpha (OLSON et al., 1995), Interleukin – 1 (OLSON et al., 1995; OHTSUKA et al., 1997) und Tumor-Nekrose-Faktor (TNF)- alpha (OLSON et al., 1995; OHTSUKA et al., 1997; HISAEDA et al., 2001; KUSHIBIKI et al., 2003). Bei intravenöser Injektion erhöht sich die Noradrenalin- und Cortisolkonzentration im Plasma, was wiederum zu einer peripheren Vasokonstriktion führt (BOOSMAN, 1990).

Laktat wird entsprechend den Verhältnissen beim Pferd auch beim Rind im Zusammenhang mit dem Auftreten einer Laktazidose (Pansenazidose, anaerobe Stoffwechsellage) für die Entstehung Klauenrehe mit verantwortlich gemacht (NILSSON, 1963; TAKAHASHI und YOUNG, 1981; BOOSMAN, 1991b; DIRKSEN, 1985 und 2002; KLEEN, 2003). Eine Überfütterung mit leicht verdaulichen Kohlenhydraten führe zu einer Vermehrung der laktatproduzierenden, grampositiven Bakterien im Pansen. Es resultiere eine Pansenazidose. Dadurch werde die Pansenschleimhaut geschädigt und eine Laktat- und Endotoxinresorption durch das Epithel gefördert. Versuche an Rindern und Schafen haben durch Laktatüberschuss allein keine Rehe auslösen können, mit zusätzlichen Histamininjektionen jedoch schon (TAKAHASHI und YOUNG, 1981; MORTENSEN, 1986). Der Wirkungsmechanismus des Laktates bleibt dabei unklar. Neuere Arbeiten von MORI et al. (1997) und TRABOLD et al. (2003) weisen Laktat eine dilatative Gefäßwirkung zu.

Diese Theorien fokussieren sich auf die Störung der Mikrozirkulation als Primärgeschehen allein. Bei der Hufrehe des Pferdes spricht man, wie oben erwähnt, aber von einer Erkrankung des Hufbeinträgers einschließlich der Mikrozirkulation der Dermis. In dem Wissen um die Unterschiede dieser Struktur beim Rind, beschäftigen sich andere Arbeiten mit Erkrankungen und metabolischen Störungen, die möglicherweise Einfluss auf die Gewebe des Klauenbeinhalteapparates nehmen. In diesem Zusammenhang werden seit jüngster Zeit die Matrix Metalloproteinasen (insbesondere MMP-2 und MMP-9) diskutiert (WEBSTER und TARLTON, 2002; HENDRY et al., 2003; MÜLLING et al., 2004). Es seien Enzyme, die bei exzessiver Aktivität die extrazelluläre Matrix von Geweben und ihre Basalmembran abbauen. Sie sind an physiologischen Entwicklungsprozessen und an der Wundheilung beteiligt, wo sie Kollagene, Gelatine, Proteoglykane u. a. spalten (ZHANG et

al., 2005; VISSE et al., 2003; UNSIKER, 2002). Ihre Expression werde durch Wachstumsfaktoren, Hormone, Zytokine und Entzündungsmediatoren (NO, IL-1 β und TNF-alpha) aktiviert. Suppressiv auf MMPs oder ihre Aktivatoren wirken TGF- β , Retinol und Glukokortikoide (VISSE et al., 2003; UNSIKER, 2002). Eine erhöhte Aktivität der Metalloproteinasen hat eine Veränderung der Struktur des Kollagenfasernetzes, besonders an der dermoepidermalen Verbindung des Klauenbeinträgers zur Folge (MÜLLING et al., 2004). Kommt es zur Degradation der kollagenen Fasern, verringert sich seine Stabilität. Die Konsequenz wäre ein Absinken des Klauenbeins im Zuge der chronischen Klauenreheerkrankung. Die Minderdurchblutung der Dermis würde hier durch die Kompression der Gefäße unterhalb des abgesunkenen Klauenbeins hervorgerufen, was sekundär hornbildendes Gewebe schädige.

Andere Arbeiten betonen die Wirkung von Relaxin (TARLTON und WEBSTER, 2000). Dabei handelt es sich um ein Hormon, das während des Geburtszeitraumes den Geburtsweg elastisch und weich hält. Es ist nicht ausgeschlossen, dass seine Wirkung auch in anderen Bereichen des Körpers die kollagenen Fasern strukturell verändert (MÜLLING and LISCHER, 2002). Die Konsistenz des Klauenbeinträgers würde damit ebenfalls weich und überdehnt, was hier ein Absinken des Klauenbeins ermögliche.

Die Funktionalität der zweiten Komponente des Klauenbeinhalteapparates, der Klauenbeinstütze, muss ebenfalls Beachtung geschenkt werden. Sowohl bei erhöhtem Bindegewebsanteil und vermindertem Fettgewebsgehalt im Ballen (LISCHER et al., 2000b) als auch bei verringertem Anteil an ungesättigten Fettsäuren innerhalb des Fettgewebes (RÄBER et al., 2002) verändern sich die stoßbrechenden Eigenschaften (MAIERL, 2004).

Es konnte ein Einfluss des Lebensalters auf die Klauenbeinstütze dargestellt werden (RÄBER, 2000 und 2002). Bei Kühen fände sich ein signifikant höherer Fettanteil als bei Färsen, der mit steigendem Alter ansteige. Das Fett habe dazu einen höheren Anteil ungesättigter Fettsäuren, was eine weichere Konsistenz bewirke. Die Umstellung erfolge in dem Zeitraum um die erste Kalbung. Nach dieser Hypothese wäre die dermoepidermale Separation entgegen vieler Autoren nicht das alleinige initiale Ereignis, sondern eine belastungsbedingte Minderdurchblutung der Dermis wäre ein weiterer initialer Faktor.

Andere morphologische und in vivo Versuche haben gezeigt, dass auch eine Störung der Differenzierung der Keratinozyten das entscheidende Ereignis in der Pathogenese sein kann. Growth factor und necrosis factor sind hier als möglicherweise entscheidend beteiligte Agentien genannt (ECKFALK, 1988; MÜLLING and LISCHER, 2002).

Faktoren, die die Proliferation und Differenzierung der Epidermiszellen beeinflussen und im Hinblick auf die Reheproblematik am meisten diskutiert werden, sind Calcium, epidermal growth factor (EGF), keratinocyte growth factor (KGF), Interleukin – 1, TNF – alpha, Glukokortikoide, Vitamin A, Vitamin D₃ und wiederum Endotoxine (ECKFALCK, 1988 und 1991; MÜLLING et al.2004; NEBEL, 2005).

Eine Absenkung der Calciumkonzentration (z.B. bei Milchfieber) behindert die Ausbildung einer widerstandsfähigen Hornhülle und hemmt die Enddifferenzierung der Keratinozyten (ECKFALK et al., 1990; TOMLINSON et al., 2004).

EGF und Glukokortikoide stimulieren die Zellteilung in der Epidermis, hemmen dagegen die epidermale Differenzierung und haben damit letztendlich einen negativen Effekt auf die Hornqualität (ECKFALK, 1988; ECKFALK et al., 1991; TOMLINSON et al., 2004). Die Konzentration von epidermalem Wachstumsfaktor im Plasma steige unter alpha-adrenergem Einfluss. Die Kortisolkonzentration steigt in Stresssituationen (Crowding, Kalbung, Nährstoffunterversorgung in der Hochlaktation), wobei hier die Behandlung mit Glukokortikoiden nicht außer Acht zu lassen ist (DIRKSEN, 2002).

Vitamin A ist für die physiologische Hornbildung essentiell, es sind jedoch keine Zustände bekannt, in denen die Konzentration von Vitamin A im Blut verändert ist (TOMLINSON, 2004). Ebenso sei Vitamin D zwar essentiell für die Homöostase der Calciumkonzentration im Blut, es sei jedoch nicht wahrscheinlich, dass unsere Milchkühe an einem Vitamin D Mangel leiden. Der Grund für den Abfall des Calciumspiegels um die Zeit der Kalbung ist vielmehr die mangelnde Adaptationsphase an den erhöhten Bedarf zur Milchproduktion, da der Regelmechanismus mindestens 48 Stunden braucht (DIRKSEN et al., 2002).

2.2 In vitro Organmodelle

2.2.1 Welche Modelle sind bekannt

Die Perfusion von isolierten Organen in der biomedizinischen Forschung ist keine Neuheit. Schon vor über einem Jahrhundert arbeitete Salaskin mit einer Säugerleber, die er mit Blut perfundierte, um Vorgänge im menschlichen und tierischen Organismus zu erforschen (WARD und BUTTERY, 1979). Gerade in den letzten Jahrzehnten wurden diese Versuche immer weiter perfektioniert, so dass viele Modelle für Studien eingesetzt werden konnten.

Um Tierversuche zu ersetzen oder zu reduzieren, ist der wissenschaftliche Nachweis zu führen, dass die neue Methode reproduzierbar und relevant ist (BALL et al., 1990). Eine solche Validierung mit behördlicher Anerkennung, d. h. dass dieses Modell national oder sogar international von jedem beliebigen Labor angewendet werden kann und darf, ist ein langer Weg. Eine solche Zulassung als Ersatzmethode für den Tierversuch wurde erst nur im Bereich der Zellkultur und der Computersimulationsprogramme vergeben (GRUBER und SPIELMANN, 1996). Auf diese Weise konnte im Bereich der biologischen Qualitätskontrollen z. B. auf den Schwangerschaftstest im Froschversuch verzichtet werden. Hier werde heute ein Immunassay verwendet. Pyrogenitätsprüfungen, früher am Kaninchen getestet, würden heute elegant mit dem Limulus - (LAL)-Test durchgeführt. Neuere Validierungen ersetzen häufig Tierversuche für sicherheitstoxikologische Untersuchungen. Neben der Verwendung von Schlachtierorganen, werden insbesondere auch Modelle aus humaner juveniler Vorhaut entwickelt (ZEBET, 2004). Eine Zulassung für einzelne Institute oder Industrieunternehmen ist dagegen viel leichter zu erreichen und gerade in der experimentellen Wissenschaft sogar lediglich durch die Erarbeitung einer Standardarbeitsanweisung zu verwirklichen (GRUBER und SPIELMANN, 1996). In diesem Bereich haben die in vitro Organmodelle schon eine nicht mehr wegzudenkende Stellung eingenommen.

Im Bewusstsein der Vor- wie auch der Nachteile der in vitro Modelle, muss für die jeweilige Fragestellung erörtert werden, ob der Tierversuch vollständig ersetzt werden kann oder ein in vitro Modell nur als Vorversuch die Zahl der benötigten Tiere reduzieren kann. Während die Kostenersparnis und die Reduktion der Tierversuche natürlich in jeder Hinsicht ein Vorteil der in vitro Systeme bleibt, kann der Ausschluss systemischer Einflüsse ebenso ein Nachteil sein. Der Vorteil ist die Verminderung der Variabilität der verschiedenen Experimente. So zeigte STOUGHTON (1964), dass der Wassergehalt des Stratum corneum den Barriereeffekt der Haut drastisch verändert, so dass in Penetrationsstudien der Haut psychische und physische Einflüsse auf das Versuchstier (z.B. Klima und Stress) das Ergebnis wesentlich beeinflussen können. Gerade bei sicherheitstoxikologischen Bewertungen von Arzneimitteln und toxikologischen Einstufungen von Stoffen und Zubereitungen wünscht die Behörde jedoch diesen systemischen Einfluss, nämlich die Interaktion der einzelnen Organe und die metabolischen und pharmakokinetischen Parameter (GRUBER und SPIELMANN, 1996).

Selbst wenn die kontrollierten Versuchsbedingungen und die geringere Menge an zu testender Substanz eigentlich für den in vitro Versuch sprächen, so kann die benötigte Zeit für das Projekt diese Möglichkeit ausschließen. Die meisten Modelle ließen sich nicht über Tage oder sogar Wochen vital erhalten.

Die am häufigsten genutzten Organe für in vitro Modelle sind die Leber, die Niere, die Lunge und das Herz (HARTIG, 1997). Der Einsatzbereich ist hauptsächlich die pharmakologische Studie. Beispiele dafür sind das isoliert perfundierte Rindereuter (ARENS, 1991), an dem Versuche zur dermatologischen Penetration von Dexamethason durchgeführt wurden oder der isoliert perfundierte Rinderuterus (MERTENS, 2001; BRAUN, 2002), an dem antiinflammatorische Substanzen auf ihre Wirkung getestet wurden. WAGNER (2001, 2003) etablierte die isoliert perfundierte Schweineextremität als Testsystem für transdermale Pflastersysteme beim Menschen, da die geschorene Schweinehaut der menschlichen Haut sehr ähnlich ist. Das isolierte Schweineherz (AST et al., 2002) lässt eine Prüfung der Wirkung von Antiarrhythmika unter EKG Kontrolle zu und es können an diesem sogenannten „working heart“ neue OP-Techniken eingeübt werden. ENGELHARD (2003) zeigte, das isoliert perfundierte Schweinelungen als Testsystem für pharmakologische Studien ebenso aussagekräftig sind wie narkotisierte Schweine im entsprechenden Tierversuch.

Der Erfolg des in vitro Modells und die Verwendbarkeit der Ergebnisse hängen in hohem Maße davon ab, ob es gelingt, die Lebens- und Funktionsfähigkeit des isolierten Organs zu gewährleisten. Da der Gesamtorganismus nie ersetzt werden kann und daraus resultierend eine einfache Imitation der physiologischen Parameter nicht genügt, ist die Methodik jedes dieser Beispiele unterschiedlich, ebenso ihr Nachweis der Vitalität des Organs bis zum Ende des Versuchs. So verwendet ARENS (1991) Tyrode-Lösung als Perfusionsmedium und setzt lediglich Dextrane zur Verringerung der Ödembildung hinzu. Der Perfusionskreislauf besteht aus einem „single - pass“, d.h. es existiert kein echter Kreislauf, die Lösung wird nach der Organpassage verworfen. Dieses Modell kann für eine Versuchsdauer von 135 Minuten verwendet werden. Die Vitalität weißt ARENS durch die Bestimmung der LDH – Konzentration im Perfusat und einer Anfärbung des Euters mit Trypan - blau am Versuchsende nach. MERTENS (2001) und später BRAUN (2002) verwenden als Perfusionsmedium ein Gemisch aus 80% Rinderblut und 20% Tyrodelösung. Auch hier wird der „single - pass“ verwendet und der Versuchszeitraum beträgt 5 Stunden. Als Vitalitätsparameter werden der Glukoseverbrauch, die Laktatproduktion und das Laktat – Glukose – Verhältnis angegeben. WAGNER (2001) hat das Perfusat auf einen Hämoglobingehalt von 8 g/dl aus einem Acetat - Hämodialysekonzentrat und Schweineblut eingestellt, das entspricht ca. 60% Blutanteil. Die Perfusion findet im geschlossenen System statt. Es besteht aus einem Perfusat- und einem Dialysatkreislauf, die über ein Dialysem modul in Verbindung stehen. Die Extremität kann für Versuche über einen Zeitraum von 7 Stunden genutzt werden. Zur Beurteilung der Stoffwechsellage wird auch hier das Laktat – Glukose – Verhältnis bestimmt. Zusätzlich legt WAGNER fest, dass eine Gewichtszunahme des Organs von über 10% als nicht mehr physiologisch zu betrachten ist. Bei Modellen innerer Organe ist eine Zunahme von bis zu 20% tolerabel (ENGELHARDT, 2003). Der Kaliumgehalt darf während der Perfusion 5 mmol/l nicht überschreiten, der Organwiderstand wird bestimmt und durch Entnahme von Gewebeproben wird der Glykogenabbau in der Muskulatur licht – und elektronenmikroskopisch dargestellt. ENGELHARDT (2003) nutzt einen sehr ähnlichen Aufbau wie WAGNER. Der Unterschied ist, dass er autologes Vollblut verwendet und die Lunge über einen Respirator beatmet wird. Die Perfusion der Lunge erfolgt über einen Zeitraum von 135 Minuten. Hier bietet sich ein Funktionstest als Vitalitätsmessung an. Zusätzlich kontrolliert ENGELHARDT den Erfolg der Perfusion durch eine lichtmikroskopische Untersuchung auf Zelluntergang und perfusionsbedingte Schäden. Es werden der Organwiderstand und die Gewichtszunahme der Lunge gemessen.

2.2.2 Das Perfusionsmedium

Die Gründe für eine unzulängliche Perfusion werden hauptsächlich im Perfusionsmedium gesehen (WARD und BUTTERLY, 1979; HARTIG, 1997; NOGUEIRA, 1999). Bei der Auswahl muss ein Kompromiss zwischen einer möglichst realistischen Imitation der physiologischen Verhältnisse zur Aufrechterhaltung der Lebens- und Funktionsfähigkeit des isolierten Organs, aber auch um die Vergleichbarkeit mit dem in vivo Versuch zu gewährleisten, und der Realisierung der in der Untersuchung angestrebten Ziele gefunden werden.

Derzeit finden vier Arten von Perfusionsmedien Verwendung:

- a) einfache Salzlösungen
 - Tyrode – Lösung (ZIEGLER und BLATTNER, 1967; BÄUMER et al., 2002)
 - Krebs – Henseleit Bikarbonatpuffer (ELMES und EYRE, 1977; SCHIFFMANN, 2002; MEHRKENS et al., 2003)
 - Tris – Puffer (GILLESPIE und McKNIGHT, 1976)
- b) halbsynthetische Medien
 - Physiologische Puffer mit Dextran angereichert (ARENS, 1991)
 - Physiologische Puffer mit Albumin (PFANNENSCHMIDT, 2000)
 - Physiologische Puffer mit Erythrozyten angereichert (SCHAPER, 2003; WÜSTENBERG, 2004)
- c) Vollblut mit Puffer verdünnt (WARD und BUTTERFLY, 1979; WAGNER, 2001 und 2003; BRAUN, 2002)

d) Vollblut (ENGELHARDT, 2003; PFEFFER, 2002; GROSSE – SIESTRUP et al., 2001) Bei der Verwendung von azellulären Medien ist die Aufrechterhaltung einer stabilen Ionenkonzentration und damit eines konstanten pH Wertes wesentlich leichter zu realisieren (HIERNICKEL, 1983). Verwende man bradytrophes Gewebe, wie zum Beispiel die Haut, käme dieses auch ohne die O₂ – Transportkapazität der Erythrozyten aus und die Gefahr der Hämolyse bestehe erst gar nicht. Die geringe Viskosität der azellulären Lösung ermögliche bei wesentlich geringeren Perfusionsdrücken ausreichend zu perfundieren, wodurch die Gefahr der Ödematisierung des Gewebes verringert werde. PACINI und BOCCI (1983) zeigen, dass eine höhere Flussrate bei der Verwendung von erythrozytenfreien Medien eine ausreichende Sauerstoffzufuhr in Rattennieren gewährleistet.

In der Kaninchenniere stelle sich jedoch eine Funktionsminderung ein, so dass deutlich wird, dass die Ergebnisse aus dem Rattennierenversuch nicht bedingungslos zu übertragen sind. In den Untersuchungen von LOVE (1970) kam es bei höheren Perfusionsdrücken, um eine ausreichende Sauerstoffversorgung zu erreichen mit reinen Salzlösungen zur Ödembildung. Der hydrostatische Druck der Kapillaren übersteigt den des Interstitiums, wobei das Gegengewicht, der kolloidosmotische Druck in den Kapillaren, den des Interstitiums weit unterschreitet. Die Lösung kann bei dieser Problemstellung mit Plasmaexpandern oder Albumin angereichert werden (HARTIG, 1997). Liegt aber das Problem in einer ungenügenden Sauerstoffversorgung, kann nur unter Verwendung von Erythrozyten eine potente Perfusion durchgeführt werden (NOGUEIRA et al., 1999). LEVIN et al. (1965) unternahmen Versuche an isolierten Kaninchennieren. Sie verglichen azellulär perfundierte Nieren mit solchen, die mit gewaschenen Erythrozyten oder mit Vollblut perfundiert wurden. Als Vitalitätsparameter galten die Funktionsparameter der Niere. Die mit Blut perfundierten Nieren zeigten eine Clearance von 50 % - 75 %, die Nieren mit der azellulären Lösung zeigten die schlechtesten Ergebnisse. Bei der Verwendung von Vollblut berichten die Autoren insbesondere bei längerer Perfusion immer wieder von Druckanstiegen während der Perfusion und von Gewebeuntergang. PACINI und BOCCI (1983) gelangten zu der Überzeugung, dass die Aggregation von Thrombozyten und Leukozyten für die Druckerhöhung ihrer mit Vollblut perfundierten Kaninchennieren verantwortlich sei. WARD und BUTTERLY (1979) berichten ebenfalls von Komplikationen bei der Perfusion mit zellulären Medien. Es komme zur Freisetzung von Vasokonstriktoren und daraus folgend zum erhöhten Kapillarwiderstand, der Bildung von Konglomeraten aus roten und weißen Blutkörperchen wie auch zur Lipoproteinkonglomeratbildung besonders bei pH Wert- und Temperaturschwankungen, welche dann zur Entstehung von Emboli führen würden. Das Ergebnis seien ischämische Zustände und - bei Beibehaltung des Zustandes - auch der Zelluntergang.

2.2.3 Die Vitalitätsparameter

Zur Beurteilung des Aussagewertes der einzelnen Parameter muss ein fundiertes Wissen über die Vorgänge an der degenerierenden, bzw. sterbenden Zelle bestehen. Von dem Hauptproblem, der Hypoxie, ausgehend, führt der O₂ – Mangel zur Unterbrechung der ATP – Produktion (VOET, VOET, 1994). Die Zelle verfallt in eine anaerobe Stoffwechsellage. ATP könne über einen kurzen Zeitraum durch die anaerobe Glykolyse gewonnen werden. In diesem Fall werde aus Glukose statt Pyruvat Laktat gebildet. Hält dieser Zustand nun an, versagen zuerst die Natrium – Kalium – Pumpen (WAGNER, 2001). Es komme zur Retention von Natrium und Wasser und zum akuten Zellödem. Infolge der Anreicherung von Milchsäure entsteht eine erhöhte Azidität in der Zelle, die die Membransysteme weiter schädigt (HIERNICKEL, 1983). Die Ribosomen lösen sich vom rauen Endoplasmatischen Retikulum (rER), die Schläuche des ER werden zunehmend desorganisiert (STÜNZI und Weiss, 1990). Die freien Polyribosomen würden zu isolierten Ribosomen dissoziieren. Die Proteinsynthese unterbleibe. Und das führe zu Permeabilitätsstörungen der Zytomembranen, deren Funktion ohne Strukturprotein nicht aufrechterhalten werden könne. Ohne Produktion der Biokatalysatoren der Zelle, den Enzymen, stehe der Stoffwechsel der Zelle still. Kernwandhyperchromatose, Mitochondrienschwellung und Cristolyse treten auf (COTRAN et

al., 1999). Membranzerstörungen führen zum Ausstrom hydrolytischer Enzyme in das Hyaloplasma, die weitere Zerstörungen hervorrufen (STÜNZI und WEISS, 1990). Andere Enzyme und die intrazelluläre Azidose würden ebenfalls Denaturierung und Gerinnung der flüssigen Plasmaproteine hervorrufen. Auch der Ausstrom der Enzyme durch das geschädigte Plasmalemm in den extrazellulären Raum sei möglich. Ihr Auftreten im Perfusat sei dann messbar. Ist die Zelle irreversibel geschädigt, sterbe sie unweigerlich. Das lichtmikroskopische Merkmal dafür sei die Kernpyknose, der Kernzerfall und schließlich die Auflösung aller Zellstrukturen - die Nekrose.

Die lichtmikroskopische und elektronenmikroskopische Untersuchung

Alle oben genannten Merkmale, die auf einen Vitalitätsverlust hinweisen, können durch diese Verfahren festgestellt werden. Nachteilig ist jedoch, dass erst nach Versuchsende Proben entnommen werden können, so dass die Entwicklung während des Versuchs nicht erfasst wird. Ein Basisbild, was einer Probenentnahme vor dem Versuch entspräche, ist in den meisten Fällen ebenfalls nicht möglich, da die Unversehrtheit des Organs von größter Wichtigkeit ist.

Zusätzlich kann elektronenmikroskopisch der Verlust der Glykogenspeicher (z.B. in der Muskulatur) qualitativ dargestellt werden (WAGNER, 2001). Dazu sei eine Probe direkt nach der Schlachtung zu entnehmen und eine weitere Probe nach Versuchsende. Ein Verlust der Glykogenspeicher ist ein Indikator für eine zumindest länger andauernde anaerobe Stoffwechsellaage (VOET, VOET, 1994; WAGNER, 2001; ENGELHARDT, 2003).

Kalium

Vom Gesamtkörperkalium befinden sich 96% bis 98% im Intrazellularraum (IZR), wo es wesentlich den osmotischen Druck mitbestimmt. Außerhalb der Zellen, in der Extrazellularflüssigkeit, sind die restlichen zwei bis vier Prozent zu finden (SILBERNAGEL et al., 1990). Es besteht ein Konzentrationsgefälle zwischen beiden Räumen, das durch die Natrium – Kalium – ATPase der Zellmembran aufrechterhalten wird (KRAFT und DÜRR, 1999). Bei Membranschäden wird dieses intrazelluläre Kalium frei. Erhöhte Werte weisen damit auf degenerative Prozesse hin, die jedoch von der Hämolyse abgegrenzt werden müssen (HIERNICKEL, 1985; NOGUIERA, 1999; SCHREY, 2000; WAGNER, 2001).

LDH

Die Laktat – Dehydrogenase katalysiert bei hohem ATP- Bedarf und wenn der Sauerstoff verbraucht ist, die Reduktion von Pyruvat zu Laktat (VOET und VOET, 1994). Prinzipiell kommt das Enzym in allen Geweben vor (VOET und VOET, 1994). Eine Erhöhung der Konzentration im Serum weist auf eine Schädigung von Zellmembranen hin, da es extrazellulär nicht vorkommt (MONTEIRO und REVIERE et al., 1987; RIVIERE et al., 1986). Charakteristisch sei dieses Enzym hauptsächlich für den Skelettmuskel, den Herzmuskel und die Leber. Degenerative Prozesse in diesen Organen sind durch eine signifikante Erhöhung der Plasmaspiegel der LDH gekennzeichnet, die jedoch durch eine Hämolyse (auch Erythrozyten haben eine LDH) vorgetäuscht sein können (SCHREY, 2000).

Laktat

Laktat ist, wie oben beschrieben, das Endprodukt der anaeroben Glykolyse. Die Zelle schleust den Grossteil des gebildeten Laktats aus, um es unter in vivo Bedingungen in der Leber wieder zu Glukose umzusetzen zu lassen (VOET und VOET, 1994). Ein Anstieg der Laktatkonzentration im Serum ist damit ein Indikator für Hypoxie.

Glukoseverbrauch

CARVER et al. (1986) sehen im Nachweis eines Verbrauches der zugegebenen Glukose einen Indikator für die Lebensfähigkeit des Organs. Die von ihnen perfundierten Schweinehautlappen mussten vor Wirkstoffapplikation einen Glukoseverbrauch von 10 mg/h aufweisen. Auch RIEVIERE et al. (1987), BRAUN (2002) und BÄUMER et al. (2002) nutzen diesen Parameter für ihre Modelle. BRAUN hält ihn sogar für den wichtigsten Parameter zur Erfassung der Vitalität des Organmodells.

Laktat – Glukose – Verhältnis

Erst das Laktat – Glukose – Verhältnis erlaubt einen Vergleich der verschiedenen Modelle untereinander (BRAUN, 2002). Die unterschiedlichen Methoden des Versuchsaufbaus und der Perfusionsmedien würden sehr unterschiedliche Absolutwerte erzielen. MONTEIRO und

REVIERE (1990), MAASS (1992) und MERTENS (2001) sehen es als zusätzlichen Vitalitätsparameter. Danach weise ein Verhältnis von unter zwei auf eine aerobe Stoffwechsellage hin.

Organgewicht

Die Veränderung des Organgewichts im Versuchsverlauf gibt Auskunft über den Grad der Ödematisierung des Gewebes (ARENS, 1991; WAGNER, 2001; BRAUN, 2002; ENGELHARDT, 2003). Die Ursache für eine Ödembildung, d. h. eine Schwellung des Organs infolge von Flüssigkeitsansammlungen im Interstitium, könne vielfältig sein:

- a) Ausfall der Natrium – Kalium – Pumpen
- b) Falsches Perfusionsmedium
- c) Zu hohe Flussrate/zu hoher Druck
- d) Zu kurze Adaptationsphase

Im ersten Fall führe der degenerative Prozess zu einer Ansammlung von Wasser. In den anderen drei Fällen werde das Wasser im Interstitium eingelagert. Der resultierende hohe Druck führe zur Druckatrophie der Zellen. DE LANGE et al. (1992) und WAGNER (2001) halten eine Gewichtszunahme bis zu 10 % für tolerabel. ARENS (1991), BRAUN (2002), PFEFFER (2002) und ENGELHARD (2003) sprechen von 20 %. Werte von 20 - 26 % stehen immer im Zusammenhang mit inneren Organen; für Haut und Hautanhangsorgane wird in der Literatur ab 10 % vom allgemeinen Organtod gesprochen (de LANGE et al., 1992).

Farbinjektion

Die Injektion einer Farblösung (z. B. Trypan – Blau) am Ende des Versuchs dient als Indikator für ischämische Bezirke (HIERNICKEL, 1985; ARENS, 1991). Die Anwendung von Farbstoffen schließt jedoch in aller Regel eine nachfolgende licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung aus und gibt keine Auskunft über die Qualität der Perfusion.

O₂ Verbrauch

BEHREND und KAMPFMEYER (1987) halten den Sauerstoffverbrauch, gemessen im Perfusat, für aussagekräftig. Es darf jedoch nicht vernachlässigt werden, dass es sich hier nicht um sterile und teilweise auch nicht luftdicht verschlossene Systeme handelt. Der Sauerstoffverbrauch der Keimflora und der Gasaustausch mit der Umgebungsluft seien hier als Fehlerquelle zu beachten.

Funktionstests

Bei in vitro Modellen von Organen wie der Niere (PACINI und BOCCI, 1983), des Uterus (BRAUN, 2002) oder der Leber (PFEFFER, 2002) kann die Funktion des Organs überprüft werden. Es werden dafür klinische Parameter herangezogen. Für die Niere wird die Clearance bestimmt, am Uterus wird seine myometriale Kontraktionsfähigkeit überprüft und in der Leber werden die leberspezifischen Enzyme bestimmt.

2.2.4 Perfusionsdruck und Flussrate

Grundsätzlich unterscheidet man druckkonstante und flusskonstante Perfusionen (HARTIG, 1997). Im Falle einer Gefäßkontraktion erfolge bei der druckkonstanten Perfusion eine konstriktorische Flussverminderung aufgrund der einsetzenden Verminderung des Gefäßradius und der Zunahme der Gefäßwanddicke, wobei der Innendruck unverändert bleibe. Bei der flusskonstanten Perfusion komme es durch die Kontraktion zum Druckanstieg. Im Organismus erfolgt die Blutverteilung der meisten Teilkreisläufe unter druckkonstanten Verhältnissen (LUTZ, 1989). Die Lungenstrombahn und der Pfortadereinstrom der Leber würden mit einer flusskonstanten Durchblutungsregulation die Ausnahme bilden.

Die Wahl des adäquaten Wertes gestaltet sich mitunter schwierig. WAGNER (2001) konnte weder auf Fluss- noch auf Druckwerte aus der Literatur zurückgreifen, die schweinespezifisch gewesen wären. Sie behalf sich mit Literatur über Perfusionsmodelle von menschlichen Gliedmaßen. Die angegebenen Werte befanden sich zwischen 200 und 350 ml/ min für den Perfusionsfluss und 70 – 100 mmHg für den Perfusionsdruck. Anhand von verschiedenen Versuchsgruppen fand WAGNER heraus, dass eine Perfusion zwischen 230 – 250 ml/ min Flussgeschwindigkeit und ca. 100 mmHg die besten Ergebnisse liefert.

HARTIG (1997) dagegen konnte auf eine ganze Reihe von Modellen für das isoliert perfundierte Kaninchenohr zurückgreifen (BEHREND und KAMPFMEYER, 1987; RISCHBIETER, 1913; RANDALL et al., 1992, 1993, 1994; SUHAILA, 1971 und 1972), deren Optimalwerte sich alle bei 40 mmHg und 2-3 ml/ min befanden. Flussgeschwindigkeiten und Druckwerte der Rindergliedmaße sind bisher weder in Form von in vitro Modellen, noch in Form physiologischer in vivo Messungen verfügbar. Da das Pferd in Größe und Gewicht dem Rind am ähnlichsten ist und das Gefäßsystem von Pferdehuf und Rinderklaue nicht gleich ist, aber zahlreiche Übereinstimmungen aufweist, wird in dieser Arbeit auf Literatur über das Pferd zurückgegriffen. ROBINSON (1974) hat Fluss- und Druckmessungen an Pferdegliedmaßen vorgenommen, die Werte für den Blutdruck in der Gliedmaße von 93 – 154 mmHg und einen Blutfluss von 24 – 116 ml/ min ergeben. SCOTT et al. (1978) erhalten Werte zwischen 78 und 130 mmHg für den Druck und 25,5 bis 80 ml/ min für den Blutfluss. ALLEN et al. (1990) und EATON et al. (1995) erhalten ähnliche Basiswerte.

Das verwendete Perfusionsmedium kann den Verlauf des Perfusionsdruckes und der Flussrate beeinflussen. HOCHBERGER und ZWIEFACH (1968) untersuchten den Einfluss verschiedener Perfusionsmedien am isolierten Kaninchenohr. Sie perfundierten zuerst mit einer azellulären Lösung, die mit 5 % Albumin angereichert war und später mit Kaninchenplasma bei konstantem Druck. Es erfolgte sofort eine Verminderung des Flusses. Der Gefäßwiderstand erhöhte sich durchschnittlich um 122 %. HOCHBERGER und ZWIEFACH (1968) erklären dieses Phänomen durch den hohen Anteil an Vasotoninen im Plasma, welche zu einer fortschreitenden Vasokonstriktion führen würden. GAGOV et al. (1976) stellten auch eine Steigerung des Gefäßwiderstandes bei Verwendung von Blut als Perfusionsmedium fest. Sie nehmen an, die Katecholamine des Blutes seien für die Vasokonstriktion verantwortlich.