

4.3.4 Mikroskopische Untersuchung

a) lichtmikroskopische Untersuchung

Abbildung 4.53: Abkürzungen der Probenentnahmestellen für die lichtmikroskopische Untersuchung

K	Krone	Bd	Ballen distal
Wp	Wand, proximal	Bp	Ballen proximal
Wd	Wand, distal	L	Lateral
S	Sohle	M	Medial

Abbildung 4.54: Kodierung

0	keinerlei Zellschäden
1	Pyknose des Nucleolus
2	Kernwandhyperchromatose, Kernschwellung
3	Karyopyknose, -rrhexis oder Koagulation des Zytoplasmas, Gefäßmargination von Leukos
4	Verlust der Zellkonturen, Zellschrumpfung, Spaltenbildung
5	Ödem der Matrix, Kollagenolyse (Eosinophilie bzw. Nekrose)
a	Dilatierte Gefäße
b	Erythrozyten in Gefäßperipherie aufgrund erhöhten Perfusionsdrucks
A	mechanische Zerreißen (Artefakt)
B	Thromben
C	Lösung der dermo- epidermalen Verbindung
D	Ödem
E	Entzündung

Abbildung 4.55: Perfusion 0 (nicht perfundiert, 4,5 Stunden post mortem) zeigt die Morphologie der Klaue nach Ablauf der Ischämiezeit (siehe Kapitel 5.1.1). Die lichtmikroskopische Untersuchung zeigt in allen Segmenten ein vitales Zellbild.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	A	0	0	0
Wp L	0	0	0	0
Wd L	A	0	0	0
S L	0	0	0	0
Bd L	B	0	0	0
Bp L	0	0	0	0
K M	0	0	0	0
Wp M	0	0	0	0
Wd M	C	0	0	0
S M	0	0	0	0
Bd M	0	0	0	0
Bp M	A	0	0	0

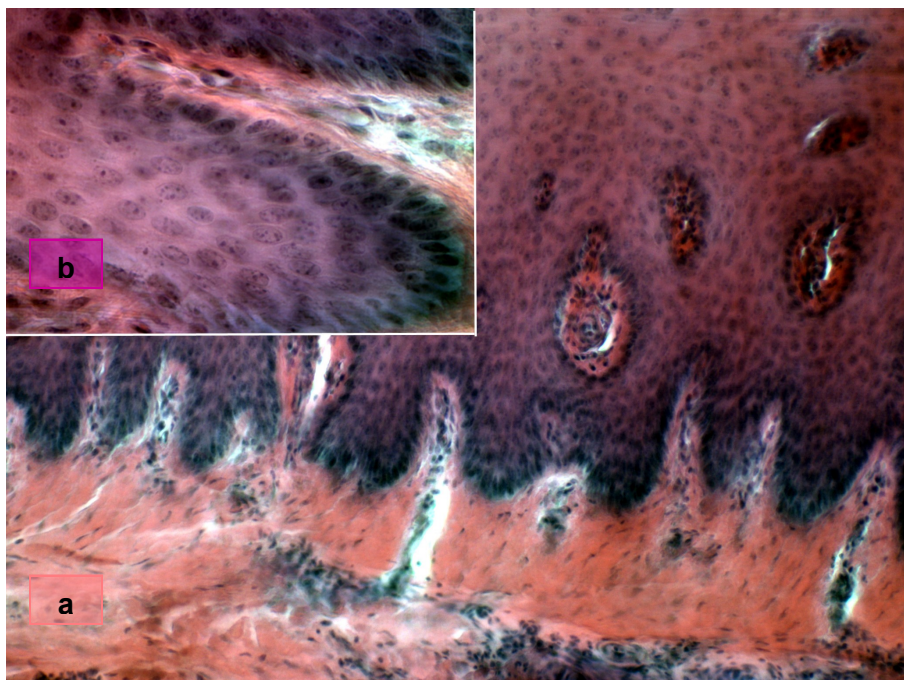


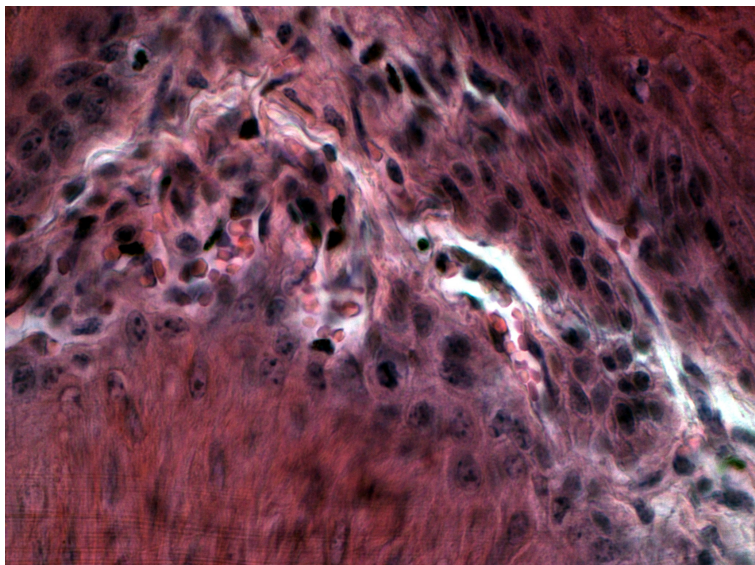
Abbildung 4.56:
a) Die lichtmikroskopische Aufnahme der Krone aus der Klaue (Perfusion 0) zeigt ein vitales Zellbild HE x 10 Vergrößerung
b) HE x 40 Vergrößerung der Krone der Klaue aus Perfusion 0

Perfusion 1 und 2: Beide Versuche wurden zur rein technischen Anpassung der Apparatur an die Rindergliedmaße durchgeführt. Es wurden keine Proben für die mikroskopische Untersuchung entnommen. Die Fragestellung galt erst einmal der generellen Durchführbarkeit der Perfusion und den gegebenenfalls erforderlichen baulichen Modifikationen der Perfusionsapparatur.

Abbildung 4.57: Perfusion 3

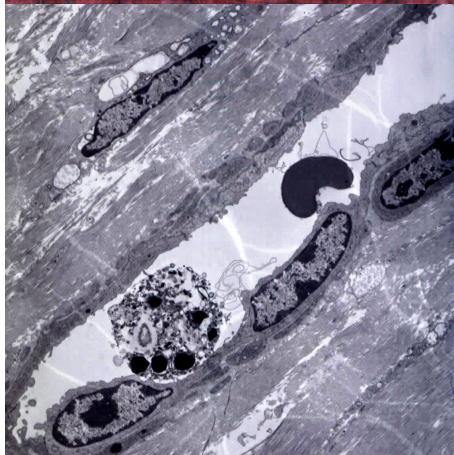
Perfusion 3 wurde bei einem Fluss von > 200 ml/ min durchgeführt. In allen Segmenten traten Dilatationen der Gefäße auf. Im Sohlen- und distalen Ballensegment waren Extravasate. Es zeigten sich keine Zellschäden.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	A, 0	A, 0	A, 0	A, 0
Wp L	/	/	/	/
Wd L	A, a, 0	A, 0	A, 0	A, 0
S L	a, b, 0	0	0	0
Bd L	a, b, 0	0	0	0
Bp L	/	/	/	/
K M	A, a, 0	A, 0	A, 0	A, 0
Wp M	/	/	/	/
Wd M	/	/	/	/
S M	a, 0	0	0	0
Bd M	/	/	/	/
Bp M	a, b, 0	0	0	0

**Abbildung 4.58:**

Perfusion 3 war der erste Versuch mit Erythrozyten angereicherter Pufferlösung als Perfusionsmedium. Die lichtmikroskopische Aufnahme zeigt Erythrozyten innerhalb der Gefäße.

HE x 40 Vergrößerung

**Abbildung 4.59:**

Die elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt eine Kapillare mit Erythrozyt im Lumen.

x 2000 Vergrößerung

Abbildung 4.60: Perfusion 4

Die Extremität erreichte sofort nach dem Anschluss einen Druck von > 150 mmHg. Es wurde deshalb nicht perfundiert. Die lichtmikroskopische Untersuchung zeigt ebenfalls den Zustand

nach Ablauf der in der Literatur angegebenen Ischämiezeit. Die Zellpopulation ist in allen Segmenten vital.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	0	0	0	0
Wp L	0	0	0	0
Wd L	0	0	0	0
S L	/	/	/	/
Bd L	0	0	0	0
Bp L	0	0	0	0
K M	0, A	0	0	0
Wp M	0	0	0	0
Wd M	0	0	0	0
S M	0	0	0	0
Bd M	0	0	0	0
Bp M	0	0	0	0

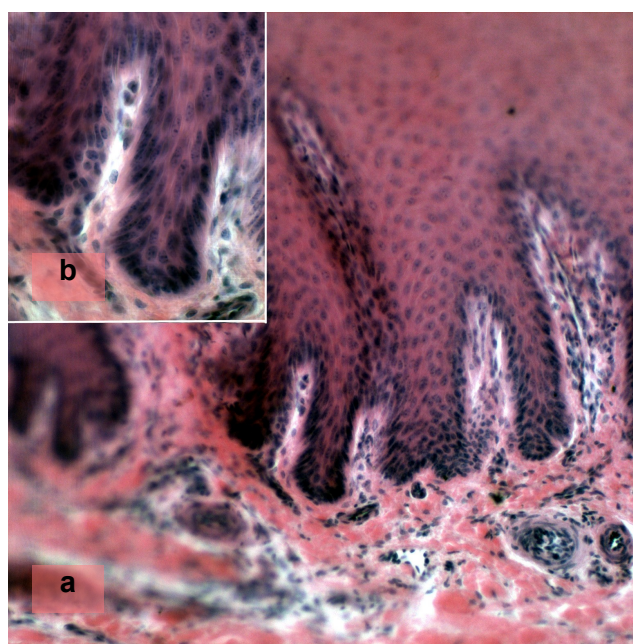


Abbildung 4.61:

a) Die lichtmikroskopische Aufnahme des distalen Ballensegments der Klaue aus Perfusion 4 zeigt keinerlei Zellschäden.

HE x 10 Vergrößerung

b) HE x 40 Vergrößerung des distalen Ballensegments der Klaue aus Perfusion 4

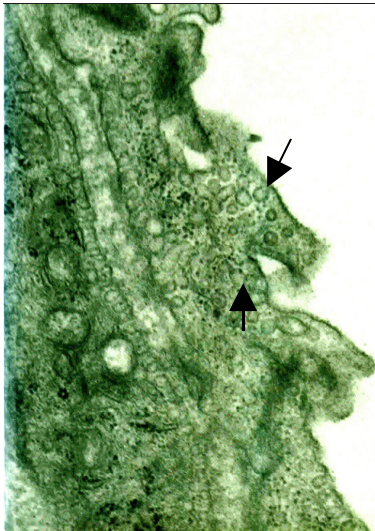


Abbildung 4.62:

Die elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt eine Endothelzelle mit Transportvesikeln, ein Zeichen für Stoffwechselaktivität.
x 25.000 Vergrößerung

Perfusion 5: Es wurden keine Proben für die mikroskopische Untersuchung entnommen. Es wurden weitere Einstellungen an der Apparatur vorgenommen, die die Ergebnisse der Morphologie beeinflussen konnten. Die Aussagekraft war damit in Frage zu stellen.

Abbildung 4.63 : Perfusion 6

Diese Extremität hatte eine Gewichtszunahme von > 10%. Der Druck stieg während der Perfusion über 150 mmHg. Eine Ödematisierung des Gewebes konnte nicht nachgewiesen werden. Die Gefäße waren jedoch massiv dilatiert (besonders im Wandsegment) und das Gewebe zeigte in allen Segmenten sowohl medial wie auch lateral (ausgenommen die Sohle und die Region des distalen Ballens) Zellschäden bis zur Zellschrumpfung und Spaltenbildung. Diese Gliedmaße war als nicht mehr vital zu beurteilen.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	/	/	/	/
Wp L	a, (C)	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4
Wd L	a, (C)	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4
S L	(a)	0	0	0
Bd L	(a)	0	0	0
Bp L	A, B	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4
K M	a, a	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4
Wp M	a, (C)	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4
Wd M	a, (C)	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4
S M	(a)	0	0	0
Bd M	(a)	0	0	0
Bp M	a, B	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4

Abbildung 4.64: Perfusion 7

Diese Extremität zeigt lediglich in einigen Segmenten geringgradige Dilatationen der Gefäße im Wandsegment. Kronsegmente und Sohlensegmente beider Klauen weisen Thromben auf. Es war keine Einschränkung der Vitalität erkennbar.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	A, B	A, 0	A, 0	A, 0
Wp L	A, (a)	A, 0	A, 0	A, 0
Wd L	A, (a)	A, 0	A, 0	A, 0
S L	A, B	A, 0	A, 0	A, 0
Bd L	0	0	0	0
Bp L	0	0	0	0
K M	A, B	A, 0	A, 0	A, 0
Wp M	A, (a)	A, 0	A, 0	A, 0
Wd M	A, (a)	A, 0	A, 0	A, 0
S M	A, B	A, 0	A, 0	A, 0
Bd M	0	0	0	0
Bp M	0	0	0	0

Abbildung 4.65: Perfusion 8

Obwohl kaum perfusionsbedingte Beeinträchtigungen (Dilatation der Gefäße, Thromben, Extravasate) lichtmikroskopisch in Erscheinung traten, war die Vitalität nicht mehr erhalten. Außer im medialen proximalen Ballensegment waren in allen Segmenten Kernwandhyperchromatosen, Kernschwellungen, Karyopygnosen und – rhexis und Zellschrumpfungen zu erkennen. Diese Gliedmaße wies im Vergleich zu den übrigen Gliedmaßen große Gefäßkaliber auf, so dass mit einem geringen Druck perfundiert wurde. Die Durchblutung könnte dadurch beeinflusst gewesen sein.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	0	0	0	0
Wp L	/	/	/	/
Wd L	/	/	/	/
S L	0	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4
Bd L	A, 0	A, 0	A, 0	A, 0
Bp L	0	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	0
K M	0	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	0
Wp M	A, b, B	A, 0	A, 0	A, 0
Wd M	/	/	/	/
S M	a	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4
Bd M	a	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	3, 4
Bp M	a	1, 2	1, 2	0

Abbildung 4.66: Perfusion 9

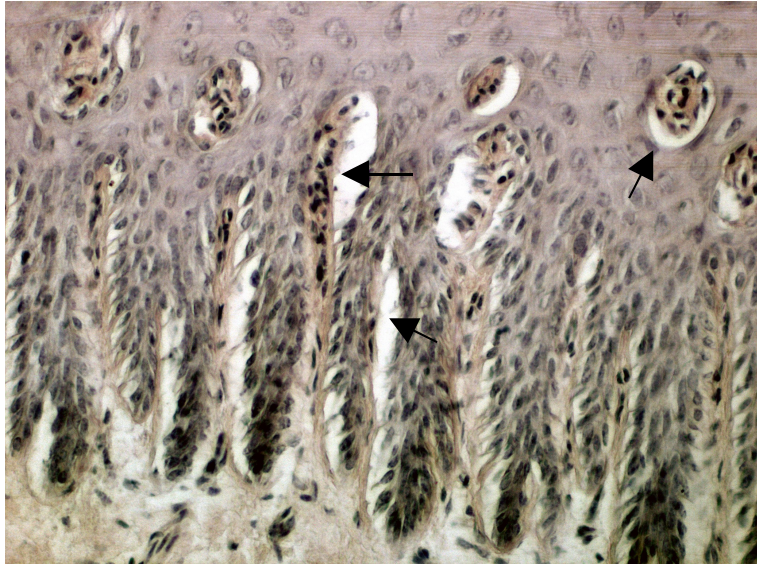
Das distale Wandsegmente wies dilatierete Gefäße auf. Die laterale Klaue zeigte hier Extravasate. Die mediale Klaue war im proximalen Wandsegment nekrotisch und im proximalen Ballensegment traten Zellschäden wie Kernwandhyperchromatose und Kernpyknose aber auch bereits schrumpfende Zellen auf. Diese Segmente sind deshalb nicht mehr als vital einzustufen. Alle anderen Segmente zeigten sich ohne Zellschäden.

	Dermis	Stratum basale	Untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	A, C	A	A	A
Wp L	A, (C)	A	A	A
Wd L	A, a, b	A	A	A
S L	0	0	0	0
Bd L	0	(2, 3)	(2, 3)	
Bp L	0	0	0	0
K M	/	/	/	/
Wp M	A	A, 5	A, 5	A
Wd M	A, a	A	A	A
S M	A	0	0	0
Bd M	0	0	0	0
Bp M	2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4	1, 2, 3, 4

Abbildung 4.67: Perfusion 10

Diese Extremität hatte eine perfusionsbedingte Gewichtszunahme von > 10%. Das Gewebe war stark durchtränkt. Krone und das laterale Wandsegment weisen eine Separation der dermoepidermalen Verbindung auf. In der medialen Krone zeigten sich thrombotische Gefäßverschlüsse. In den meisten Segmenten waren Zellschrumpfungen oder geringere Zellschäden zu erkennen. Die Gefäße waren nicht dilatiert.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/obere Spinosazellen
K L	C, 0	0	0	0
Wp L	C, D, 0	0	0	0
Wd L	C, D, 0	0	0	0
S L	D	2, 3	0	0
Bd L	D	2, 3	0	0
Bp L	D	2, 3, 4	2, 3, 4	0
K M	C, B	2, 3, 4	0	0
Wp M	A, 0	A, 0	A, 0	A, 0
Wd M	D	2, 3, 4	2, 3, 4	0
S M	D	2, 3, 4	2, 3, 4	0
Bd M	D	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Bp M	D	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4

**Abbildung: 4.68**

Die lichtmikroskopische Aufnahme des Kronensegments aus der Klaue (Perfusion 10) zeigt eine durch das Ödem verursachte deutliche dermoepidermale Separation.
HE x 20 Vergrößerung

Abbildung 4.69: Perfusion 11

Während dieser Perfusion kam es nach 4,5 Stunden zu einem steilen Druckanstieg. Im Wandsegment und im medialen Sohlensegment trat ein geringgradiges Ödem auf. Medial traten in den betroffenen Segmenten ebenfalls leichte Dilatationen der Gefäße auf. Das Gewebe war außer im medialen distalen Ballensegment als vital zu beurteilen.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	aB	0	0	0
Wp L	A, (D)	A, 0	A, 0	A, 0
Wd L	A	A, 0	A, 0	A, 0
S L	0	0	0	0
Bd L	0	0	0	0
Bp L	0	0	0	0
K M	0	0	0	0
Wp M	(a), (D)	0	0	0
Wd M	a, (D)	0	0	0
S M	a, (D)	0	0	0
Bd M	0	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Bp M	0	0	0	0

Abbildung 4.70: Perfusion 12

Das laterale Wandsegment zeigte ein leichtes Ödem und Thrombenbildung. Die laterale Klaue zeigte außer im Ballen und die mediale Klaue nur im Ballensegment in einigen Bereichen Kernwandhyperchromatose und Kernschwellung. Das mediale Wandsegment zeigte eine Lösung der dermoepidermalen Verbindung. Das Gewebe war als vital zu beurteilen.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/obere Spinosazellen
K L	0	1, 2	0	0
Wp L	(D), B	1, 2	0	0
Wd L	D	1, 2	0	0
S L	0	1, 2	0	0
Bd L	0	0	0	0
Bp L	0	0	0	0
K M	B	0	0	0
Wp M	C	0	0	0
Wd M	C	0	0	0
S M	0	0	0	0
Bd M	C	1, 2, 3	1, 2, 3	0
Bp M	A	1, 2	1, 2	0

Abbildung 4.71: Perfusion 13

Perfusion 13 war eine Vollblutperfusion. Das mediale Ballensegment zeigte eine Lösung der dermoepidermalen Verbindung und Kernwandhyperchromatose sowie Karyopyknose in einigen Bereichen. Trotz dilatierter Gefäße im Wand- und medialen Sohlensegment und Thrombenbildung des medialen Kron- und proximalen Wandsegments war das Gewebe außerordentlich vital.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	0	0	0	0
Wp L	/	/	/	/
Wd L	D, a	0	0	0
S L	0	0	0	0
Bd L	A	A, 0	A, 0	A, 0
Bp L	D	0	0	0
K M	B	0	0	0
Wp M	B	0	0	0
Wd M	a, b, D	0	0	0
S M	a, b	0	0	0
Bd M	C	2, 3	2, 3	2, 3
Bp M	C	2, 3	0	0

Abbildung 4.72: Perfusion 14

Diese ebenfalls mit Vollblut perfundierte Extremität zeigte dilatierte Gefäße in allen Segmenten außer in der lateralen Krone und der medialen Sohle, sowie Thrombenbildung im lateralen Kronsegment und im proximalen Ballensegment. Die dermoepidermale Verbindung war in der Wand und im proximalen Ballensegment gelöst. Außer in der lateralen Krone gab es in allen Segmenten Kernwandhyperchromatosen. Das laterale und mediale Sohlensegment, sowie die mediale Wand zeigten darüberhinaus gehende Zellschäden wie Koagulation des Zytoplasmas und Zellschrumpfung. Die Gliedmaße war als organisch tot zu beurteilen.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	B	0	0	0
Wp L	a, C	2, 3	2, 3	0
Wd L	a, C	2, 3	2, 3	0
S L	(a)	2, 3, 4	2, 3	0
Bd L	/	/	/	/
Bp L	a	2, 3	2, 3	2, 3
K M	/	/	/	/
Wp M	C, a	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Wd M	a, D, C	2, 3	2, 3	2, 3
S M	0	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Bd M	B, a	2, 3	2, 3	0
Bp M	C, a, B	2, 3	2, 3	0

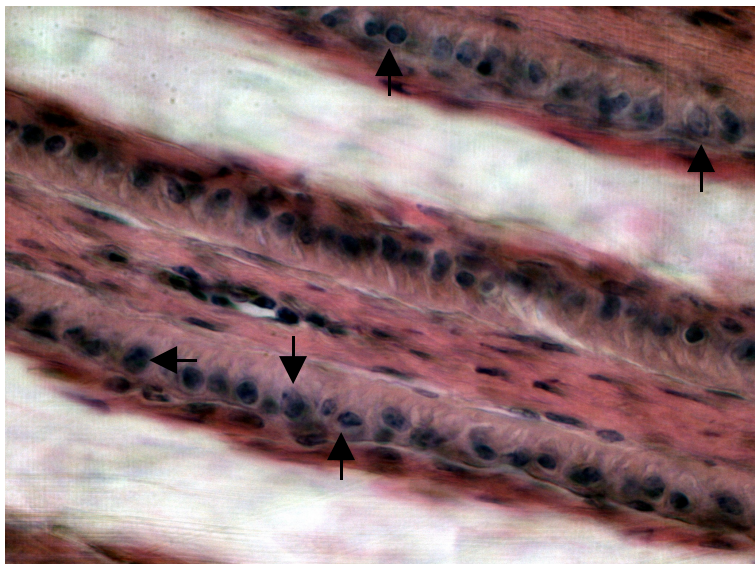


Abbildung 4.73:
Die lichtmikroskopische Aufnahme der Lederhaut- und Epidermisblättchen des Wandsegments (Perfusion 14) zeigt Zellen mit Kernwandhyperchromatose und Kernschwellung. HE x 40 Vergrößerung

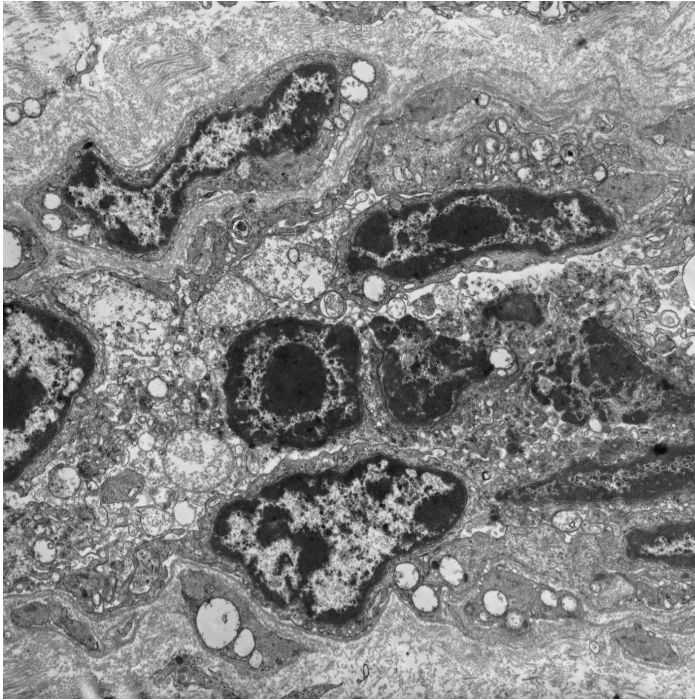


Abbildung 4.74:
Die elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt kondensiertes Chromatin und Kernwandhyperchromatose.
x 8000 Vergrößerung

Abbildung 4.75: Perfusion 15

Diese Extremität wurde mit Vollblut perfundiert. Thrombotisch verschlossene Gefäße waren in allen Segmenten zu finden. Beide Ballensegmente, das mediale Kronsegment, und beide Wandsegmente wiesen dilatierte Gefäße auf. Die dermoepidermale Verbindung war im medialen Kron- und proximalen Wandsegment gelöst, letzteres war zusätzlich ödematös aufgelockert. Der laterale proximale Ballen und die mediale Sohle wiesen keine Zellschäden auf. Alle anderen Segmente zeigten Kernwandhyperchromatose, Kernschwellung aber auch Karyopyknosen und Zellschrumpfung. Die Gliedmaße war als organisch tot zu bewerten.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	B	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Wp L	B	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Wd L	B, a	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
S L	B	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Bd L	B, a	2, 3	2, 3	2, 3
Bp L	B, a	0	0	2, 3
K M	C, b, a	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Wp M	D, a, C, A	A, 1, 2	A, 1, 2	A, 1, 2
Wd M	B	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
S M	B	0	0	0
Bd M	B, a	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Bp M	B, a	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4

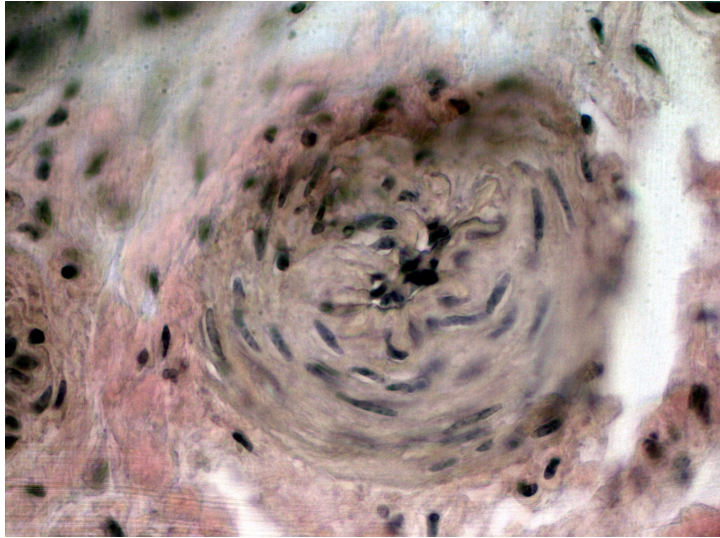


Abbildung 4.76:

Die lichtmikroskopische Aufnahme zeigt eine maximal kontrahierte Arteriole aus dem distalen Ballensegment der Klaue (Perfusion 15). Ebenfalls deutlich zu erkennen sind die Kernpyknoten im Bereich der Media des Gefäßes.

Abbildung 4.77: Perfusion 16

Diese ebenfalls mit Vollblut perfundierte Extremität zeigte starke Thrombenbildung in allen Segmenten außer dem medialen Ballen. Während lateral das distale Wandsegment, die Sohle und der distale Ballen, medial der Ballen und das proximale Wandsegment keine oder kaum Zellschäden aufwiesen, waren in allen anderen Segmenten Kernwandhyperchromatosen, Kernschwellung aber auch Karyopyknoten und Zellschrumpfung zu finden. Die Gliedmaße war als nicht mehr vital zu beurteilen.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	B	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Wp L	B	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Wd L	0	0	0	0
S L	B	1, 2	0	0
Bd L	E	1, 2	1, 2	0
Bp L	B	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
K M	B	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
Wp M	0	1, 2	1, 2	0
Wd M	B	2, 3, 4	2, 3, 4	2, 3, 4
S M	/	/	/	/
Bd M	0	0	0	0
Bp M	0	1, 2	0	0

Abbildung 4.78: Perfusion 17

Die Proben zeigten im lateralen distalen Wandsegment, Sohlensegment und distalen Ballensegment sowie im medialen Sohlen- und distalen Ballensegment Dilatationen der Gefäße. Im lateralen proximalen Wandsegment und im lateralen proximalen Ballen waren Kernwandhyperchromatosen, Kernschwellung aber auch Karyopyknoten und Zellschrumpfung zu finden. Alle anderen Segmente waren vital, deshalb ist davon auszugehen, dass fokale Gefäßverschlüsse die Ursache der Zellschäden waren. Die Gliedmaße konnte somit als partiell vital beurteilt werden.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	/	/	/	/
Wp L	0	5	5	5
Wd L	0, a	2, 3	2, 3	2, 3
S L	a	1	1	1
Bd L	A, (a)	(A), 0	(A), 0	(A), 0
Bp L	D	5	5	5
K M	A, B	0	0	0
Wp M	C	0	0	0
Wd M	A	1	1	1
S M	(a)	0	0	0
Bd M	1	1	1	1
Bp M	a	0	0	0

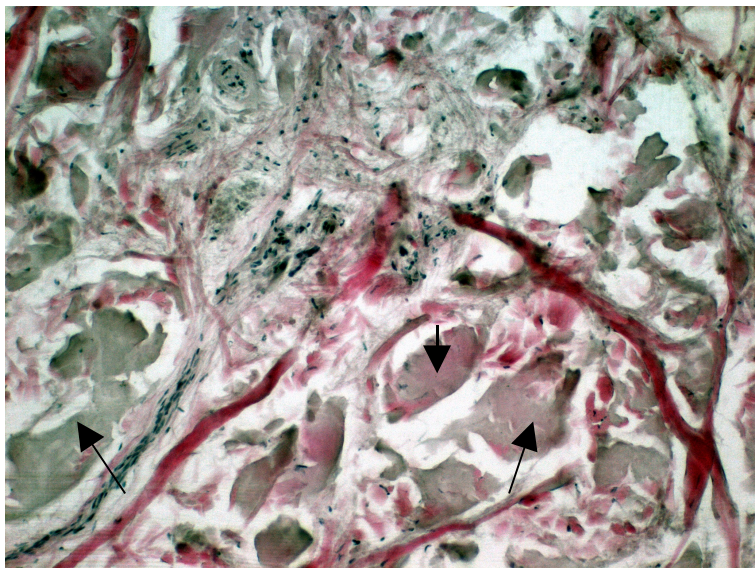


Abbildung 4.79:
Die lichtmikroskopische Aufnahme des proximalen Ballens der Gliedmaße (Perfusion 17) zeigt eine Nekrose.
HE x10 Vergrößerung

Abbildung 4.80: Perfusion 18

Die Extremität war insgesamt als vital zu bewerten. Lediglich das mediodistale Wandsegment zeigte Nekrose und der proximomediale Ballen war ödematös.

	Dermis	Stratum basale	Untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	0	0	0	0
Wp L	A	0	0	0
Wd L	A	0	0	0
S L	/	/	/	/
Bd L	0	0	0	0
Bp L	A	A	A	A
K M	a	0	0	0
Wp M	a	0	0	0
Wd M	5	5	5	5
S M	A	0	0	0
Bd M	A	0	0	0
Bp M	D	0	0	0

Abbildung 4.81: Perfusion 19

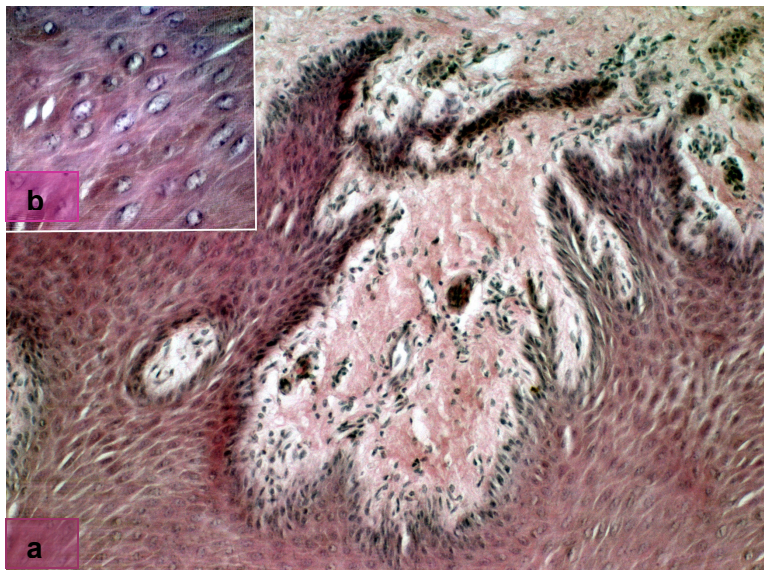
Die Gefäße aller Segmente außer dem proximomediale Wandsegment, dem Sohlensegment und dem proximalen Ballen zeigten Dilatationen. Das lateraloproximale Wandsegment war ödematös. Das Gewebe war dennoch überwiegend als vital einzustufen.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	a	0	2	2
Wp L	a, D	1, 2	1, 2	1, 2
Wd L	a	0	0	0
S L	a	1	1	1
Bd L	a	1	1	1
Bp L	/	/	/	/
K M	(a)	0	0	0
Wp M	A, (C)	0	0	0
Wd M	5, a, A	0	0	0
S M	A, (C)	0	0	0
Bd M	(a)	0	0	0
Bp M	5	0	0	0

Abbildung 4.82: Perfusion 20

Dilatierete Gefäße befanden sich lateral in der proximalen Wand und in der Sohle, medial in der distalen Wand und im gesamten Ballen. In den Sohlen beider Klauen war ödematös aufgelockertes Gewebe, ebenso in der medialen Krone und proximalen Wand. Ansonsten sehr vitales Gewebe in allen Segmenten.

	Dermis	Stratum basale	untere Spinosazellen	mittlere/ obere Spinosazellen
K L	C	0	0	0
Wp L	a	0	0	0
Wd L	A	A	A	A
S L	a, D	0	0	0
Bd L	0	0	0	0
Bp L	/	/	/	/
K M	(D)	0	0	0
Wp M	(D), C	0	0	0
Wd M	(a)	0	0	0
S M	(D), A	0	0	0
Bd M	a	0	0	0
Bp M	a	0	0	1, 2

**Abbildung 4.83:**

a) Die lichtmikroskopische Aufnahme des proximalen Ballensegments aus der Klaue (Perfusion 20) zeigt ein vitales Zellbild.

HE x 10 Vergrößerung

b) Bei stärkerer Vergrößerung sind Vakuolen im Stratum spinosum zu erkennen.

HE x 40 Vergrößerung

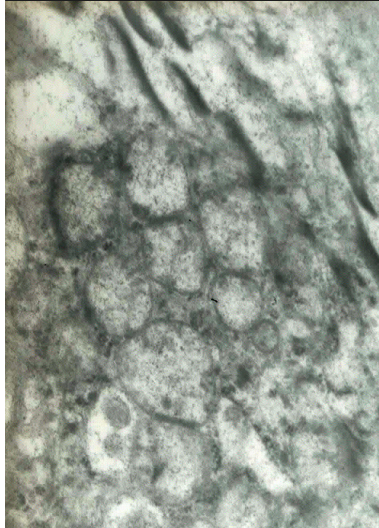


Abbildung 4.84:

Die elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt Mitochondrien, deren Cristae zum Teil nicht mehr vorhanden sind, ein Zeichen für Zellveränderung zum Beispiel durch Hypoxie.
x 20.000 Vergrößerung

Zusammenfassend ist auffällig, dass insbesondere im Wandsegment immer dilatierte Gefäße zu finden waren; in einigen Fällen vergesellschaftet mit einem Ödem. Ebenfalls ein empfindliches Segment scheint der proximale Ballen zu sein. Die Schäden an den Gefäßen haben bei einem Fluss von 190 ml/min in ihrer Intensität abgenommen. Dilatationen sind jedoch nicht gänzlich zu verhindern. Noch geringere Flussraten bergen bei dem gewählten Perfusionsmedium die Gefahr der Unterversorgung mit Sauerstoff.

b) elektronenmikroskopische Untersuchung

Eine Befundung der elektronenmikroskopischen Bilder wurde anhand von 30 Bildern durchgeführt. Jedes Segment wurde durch fünf Bilder repräsentiert. Die Auswahl erfolgte zufällig.

Abbildung 4.85 : Elektronenmikroskopische Befunde zur Beurteilung der Perfusionsqualität

Zeitlicher Ablauf der Ereignisse einer Nekrose
keinerlei Zellschäden
Kernverklumpung
Mitochondrienschwellung
Chromatinmargination
Lysosomen -& Ribosomenauflösung
Zellödem, Schwund der Organellen, Kernauflösung
Strukturauflösung von Zytoplasma & Kern

Die elektronenmikroskopischen Bilder gaben weitestgehend das lichtmikroskopische Ergebnis wieder. Insbesondere für stark geschädigtes Gewebe ergaben sich keine neuen Erkenntnisse. Lichtmikroskopisch vital beurteilte Perfusionen zeigten elektronenmikroskopisch intakte Mitochondrien. In einigen Präparaten konnten Transportvesikel nachgewiesen werden. Die Untersuchung des Zellkerns jedoch zeigte in vielen Präparaten beginnende Chromatinverklumpung, zum Teil mit Anordnung des Chromatins an der Kernwand.

4.3.5 Thermographie

In der Etablierungsphase wurde die Thermokamera zum Aufsuchen sogenannter „cold spots“ (ischämischer Bezirke) verwendet.

Die Thermokamera stand ab der Perfusion 18 zur Verfügung und zeigte in jeder der drei folgenden Perfusionen eine gleichmäßige und vollständige Erwärmung.

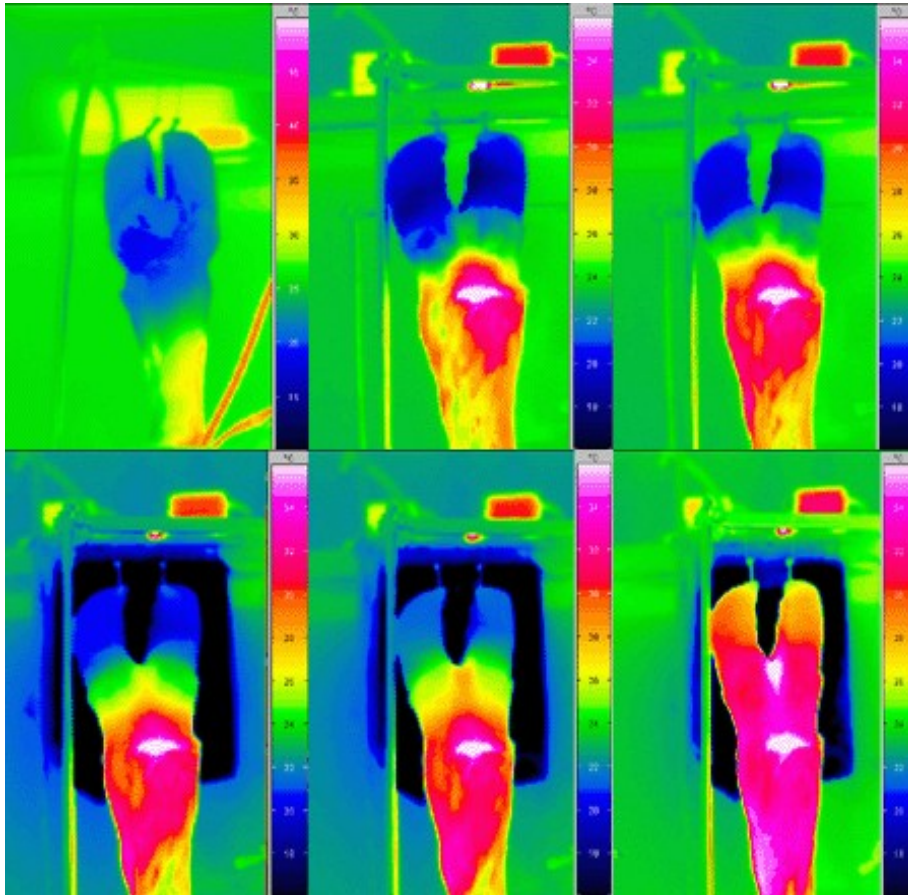


Abbildung 4.86:
Serie thermographischer Bilder der Perfusion 18 zu Beginn der Durchströmung, nach 1 Std., nach 2 Std., nach 3 Std., nach 4 Std. und nach 5 Std. Perfusionszeit. Sie zeigen eine gleichmäßige Erwärmung der Klaue ohne ischämische Bezirke.

Das erste Wärmebild wurde zur Stunde 0 angefertigt. Zu diesem Zeitpunkt hatte die Klaue eine gleichmäßige Oberflächentemperatur von ca. 20°C, nur im Bereich des Zwischenklauespalts betrug die Temperatur ca. 18°C. Eine Stunde später betrug die Temperatur des Zwischenklauenbereichs weiterhin 18°C, der proximale Wandbereich verblieb bei 20°C Krone und distaler Wandbereich stiegen auf ca. 21°C und die Klauenspitzen auf ca. 22°C. Der mediale (rechte) Saum erwärmte sich schneller als der laterale und erreichte zwischen 22 und 23°C. Nach zwei Stunden hatten sich beide Saumsegmente auf ca. 22°C erwärmt.

Zur Stunde drei war der Saum auf 24°C erwärmt, die Krone auf 23°C und die Wand zum größten Teil auf 21°C. Lediglich medial im mittleren Wandsegment verbleibt ein Areal bei 20°C ebenso wie der Zwischenklauenpalt. Vier Stunden Perfusion zeigen im Saum ca. 24°C, in der Krone ca. 23°C und im Wandsegment bei 22°C. Das kühlere Areal im medialen Wandsegment hat sich dem restlichen Wandsegment nahezu angeglichen. Nach fünf Stunden haben Saum- und Kronensegment eine Oberflächentemperatur von 32°C erreicht, Wandsegment und auch der Zwischenklauenpalt hatten eine Temperatur von 28°C.

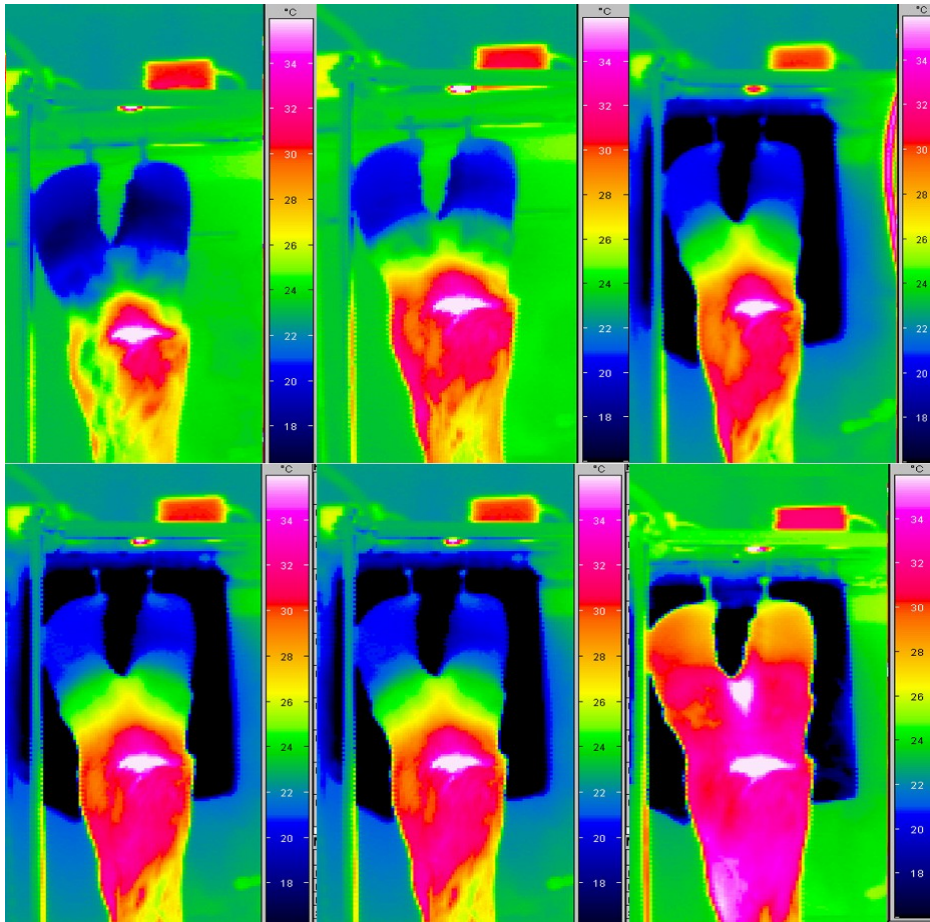


Abbildung 4.87:
Serie thermographischer Bilder der Perfusion 19 zur Stunde 0,5, nach 1 Std., nach 2 Std., nach 3 Std., nach 4 Std. und nach 5 Std. Durchströmungszeit. Sie zeigen eine gleichmäßige Erwärmung der Klaue ohne ischämische Bezirke.

Zu Beginn der Messung hatte der überwiegende Teil des Wand- und Kronbereichs der Klaue eine Oberflächentemperatur von ca. 20°C, im Bereich des Zwischenklauenspalts und im mittleren Wandbereich war die Temperatur ca. 18°C. Der mediale Saum zeigte eine Temperatur zwischen 21 und 22°C und der laterale Saum etwa 20°C. Eine halbe Stunde später waren die Saumregion und die Klauenspitzen auf 22°C erwärmt, Krone und Wandsegment hatten eine Oberflächentemperatur von 21°C, lediglich in der medialen Klaue verbleibt wieder im mittleren Wandsegment ein kleines Areal bei 20°C, ebenso der Zwischenklauenspalt.

Nach zwei Stunden hatten sich beide Saumsegmente auf ca. 24°C erwärmt. Das Kronsegment erreichte 22°C und das kühlere Areal im medialen Wandsegment war verkleinert. Zur Stunde drei und vier haben sich der Zwischenklauenspalt und das kühlere Areal des medialen Wandsegments auf 21°C erwärmt. Nach fünf Stunden haben Saum- und Kronsegment eine Oberflächentemperatur von 32°C erreicht, die proximale Wand weist eine Temperatur von ca. 31 – 32°C auf, die distale Wand war etwa zwischen 28 und 29°C warm. Es erfolgte eine gleichmäßige Erwärmung von unten nach oben.

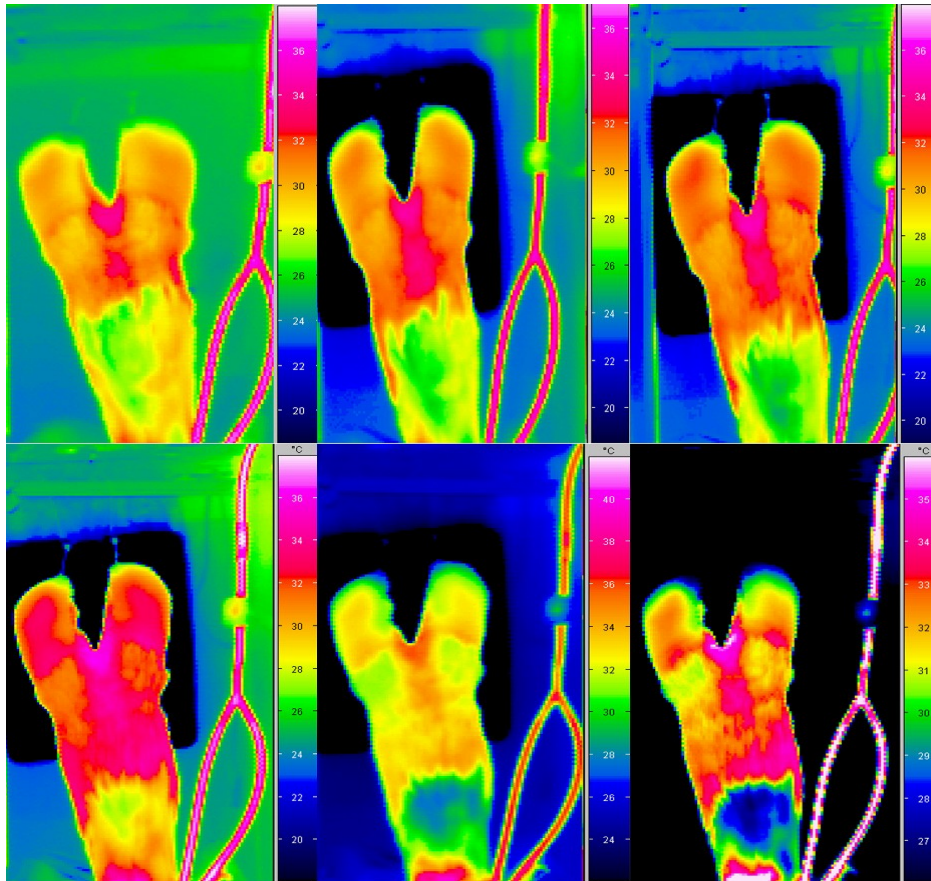


Abbildung 4.88: Serie thermographischer Bilder der Perfusion 20 nach einer Perfusionszeit von 2 ½, 3, 3 ½, 4, 4 ½ und 5 Stunden. Sie zeigen eine schnelle, im Vergleich zu Perfusion 18 und 19, und gleichmäßige Erwärmung der Klaue.

Für die Perfusion 20 stand die Kamera erst ab einer Perfusionszeit von 2,5 Stunden zur Verfügung. Insgesamt war die Klaue wärmer als die beiden anderen. Das Saumsegment und der Zwischenklauenspalt hatten eine Oberflächentemperatur von etwa 30 – 32°C, das Zwischenklauensegment zeigte eine Temperatur von ca. 33 – 34°C. Das Wandsegment war größtenteils auf ungefähr 29°C erwärmt, nur das distale Wandsegment zeigte einen Übergang von proximal 27 und weiter distal auf 28°C. Nach drei Stunden hat das Wandsegment auch im distalen Bereich 29°C erreicht. Eine halbe Stunde später hat der Saum 32°C erreicht und das Wandsegment und die Krone sind auf ca. 31 – 32°C erwärmt. Nach vier Stunden hatten die distale Wand und der Zwischenklauenspalt eine Temperatur von 30°C. Die anderen Segmente zeigten einen Temperaturanstieg auf ca. 33°C. Bei einer Perfusionszeit von viereinhalb Stunden war keine Veränderung zu erkennen. Nach fünf Stunden erreichte das Saumsegment eine Temperatur 35 – 36°C. Die distale Wand und der Zwischenklauenspalt hatten weiterhin eine Temperatur von 30°C und die restliche Klaue hatte weiterhin 33°C. Es erfolgte eine gleichmäßige Erwärmung von unten nach oben.

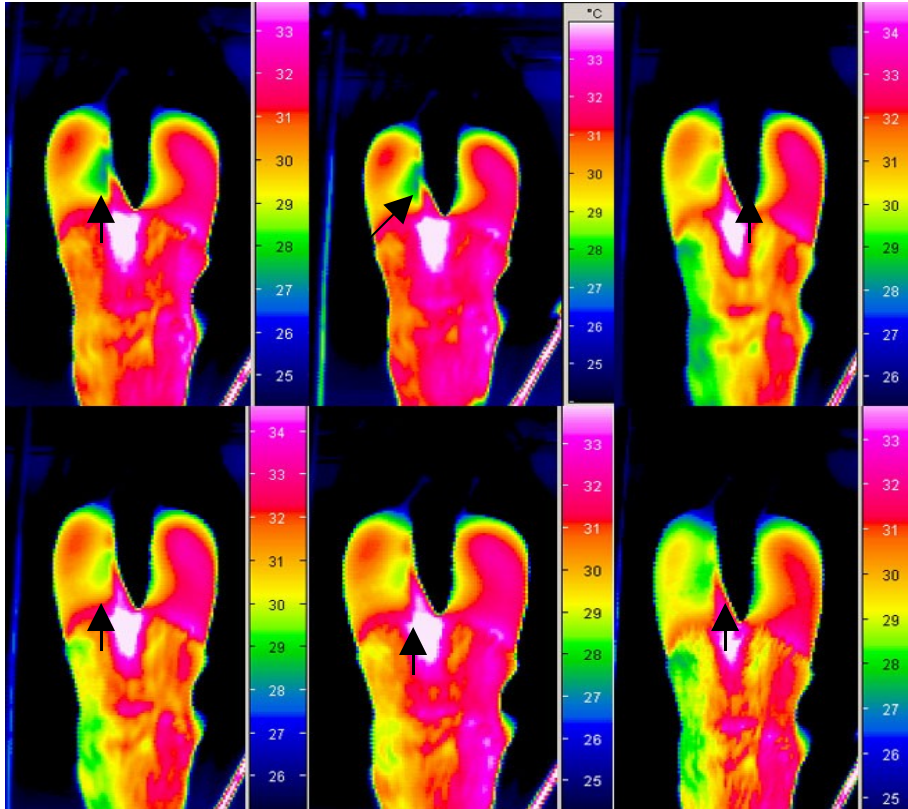


Abbildung 4.89:
 Serie thermographischer Bilder der 31 (getestete Substanz war cGRP). Perfusion nach 2 ½, 3, 3 ½, 4, 4 ½ und 5 Stunden Perfusionszeit. Diese Perfusion ist aus der Experimentalphase im Rahmen des EU – Projektes und soll hier erwähnt werden, da diese Klaue als einzige sehr deutlich einen kälteren Bezirk in der lateralen (linken) Klaue zeigt.