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

# Histomorphologische und ultrastrukturelle Untersuchungen an klinisch relevanten Blutgefäßen des Pferdes

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

> vorgelegt von Andre Lorenz Tierarzt aus Berlin

> > Berlin 2018

Journal-Nr.: 4020

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Dekan:	UnivProf. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter:	UnivProf. Dr. Johanna Plendl
Zweiter Gutachter:	UnivProf. Dr. Heidrun Gehlen
Dritter Gutachter:	UnivProf. Dr. Corinna Eule

#### Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

horses; arteries; endothelium; tunica intima; immunhistochemistry; histology; electron microscopy; thrombophlebitis

Tag der Promotion: 25.05.2018

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

ISBN: 978-3-86387-898-6 **Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2018** Dissertation, Freie Universität Berlin D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

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

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

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

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved © Mensch und Buch Verlag 2018 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

# Inhaltsverzeichnis

At	bild	ungsve	rzeichis			V
Та	belle	nverze	ichnis			XIII
At	okürz	ungsve	erzeichni	is		XIV
1	Einl	eitung				1
2	Lite	ratur				2
	2.1	Morph	nologie d	er Blutge	fäße	2
		2.1.1	Definitio	on Blutg	efäße	2
			2.1.1.1	Gefäßb	aum der Vordergliedmaße und der V. jugu-	
				laris de	s Pferdes	2
			2.1.1.2	Allgem	einer Aufbau der Blutgefäße	4
			2	.1.1.2.1	Tunica interna	5
			2	.1.1.2.2	Tunica media	6
			2	.1.1.2.3	Tunica externa	6
			2.1.1.3	Arterie	n	7
			2	.1.1.3.1	Arteria elastotypica	8
			2	.1.1.3.2	Arteria myotypica	8
			2.1.1.4	Arterio	len	8
			2.1.1.5	Kapilla	ren (Vasa capillaria)	9
			2	.1.1.5.1	Kontinuierliche Kapillaren	9
			2	.1.1.5.2	Fenestrierte Kapillaren	10
			2	.1.1.5.3	Sinuskapillaren	10
			2.1.1.6	Venen	und Venolen	10
		2.1.2	Vaskulä	re Adap	tation	11
		2.1.3	Faktore	n der Ge	fäßanpassung	12

		2.1.4	Morpho	logische	Besonderheiten beim Pferd	14
			2.1.4.1	Klinisch	ne Aspekte der Gefäßveränderungen beim	
				Pferd		15
		2.1.5	Quantita	ative und	l qualitative Untersuchung der elastischen	
			Fasern iı	n der Gef	äßwand	17
			2.1.5.1	Speziesa	assoziierte Unterschiede der Gefäßarchitektur	19
	2.2	Endot	hel	- · · · · ·		20
		2.2.1	Definitio	on und Fi	unktionen des Endothel	20
		2.2.2	Endothe	lzellen -	ein adaptiver Zellverbund	20
		2.2.3	Das End	othel als	Modulator	22
		2.2.4	Zellkont	akte		23
			2.2.4.1	Typen v	on Zellverbindungen	23
			2.	2.4.1.1	Tight junctions	23
			2.	2.4.1.2	Anchoring junctions	24
			2.	2.4.1.3	Gap junctions	25
			2.2.4.2	Besonde	erheiten endothelialer Zellkontakte	26
	2.3	Vasa u	nd Nervi	vasorum	1	27
		2.3.1	Vasa vas	orum .		27
			2.3.1.1	Heterog	enität der Vasa vasorum	28
			2.3.1.2	Critical	, Depth	29
		2.3.2	Nervi va	isorum		30
3	Mate	erial ur	d Metho	den		33
	3.1	Materi	ial	••••		33
		3.1.1	Probeng	ewinnun	g am Schlachthof	35
		3.1.2	Probeng	ewinnun	g am Institut für Veterinäranatomie	36
	3.2	Metho	den	••••		37
		3.2.1	Lichtmil	kroskopie	2	37
			3.2.1.1	Histolog	gische Färbemethoden	37
			3.	2.1.1.1	Hämatoxylin und Eosin (HE)	38
			3.	2.1.1.2	Resorcin-Fuchsin-Kernechtrot (RFK)	38
			3.	2.1.1.3	Elastin-, Muskulatur-, und Kollagen-Färbung	
					nach Volkmann-Strauß	38
			3.	2.1.1.4	Smooth Muscle Actin	39

		3.2.2	Transmi	ssionselektronenmikroskopie	41
			3.2.2.1	Einbettung in Kunststoff	42
			3.2.2.2	Semidünnschnitte	43
			3.2.2.3	Ultradünnschnitte und Kontrastierung	43
			3.2.2.4	Transmissionselektronmikroskopische Auswertung	
				und Dokumentation	44
		3.2.3	Morpho	metrie	44
			3.2.3.1	Morphometrische Analyse lichtmikroskopischer	
				Präparate	44
		3.2.4	Statistik		46
4	Erg	ebniss	е		48
	4.1	Lichtr	nikroskop	bische Untersuchungen der distalen Arterien	48
		4.1.1	Qualitat	ive Beschreibung	48
		4.1.2	Quantita	ative Analyse der Gefäßwand	57
			4.1.2.1	Lumendiameter	57
			4.1.2.2	Dicke der Tunica interna	58
			4.1.2.3	Dicke der Tunica media	64
			4.1.2.4	Fläche der Tunica media und Tunica externa	66
			4.1.2.5	Vasa vasorum in der Tunica externa	71
			4.1.2.6	Nervi vasorum in der Tunica externa	71
			4.1.2.7	Vasa vasorum in der Tunica media	72
			4.1.2.8	Avaskuläre Zone der Tunica media	76
			4.1.2.9	Anteil glatter Muskelzellen, kollagener und elas-	
				tischer Fasern in der Tunica media der distalen	
				Arterien des Pferdes	77
	4.2	Elektr	onenmikr	oskopische Untersuchungen	78
		4.2.1	Qualitat	ive Beschreibung	79
			4.2.1.1	Muskuläre Arterien (G1-G3)	79
			4.2.1.2	Vena jugularis	83
			4.2.1.3	Vasa vasorum der distalen Arterien	88
5	Disl	kussioi	n		94
	5.1	Qualit	ative Besc	chreibung der distalen Arterien der Vordergliedmaße	
		- Lich	tmikrosko	ppie	94
		5.1.1	Diskonti	inuierliche und mehrlagige Membrana elastica interna	95

		5.1.2	Morphologie der elastischen Fasern in der Tunica media	95
		5.1.3	Veränderungen im Verlauf der glatten Muskelzellen in der	
			Tunica media	96
	5.2	Quant	titative Analyse der Gefäßwand	97
		5.2.1	Lumendiameter	97
		5.2.2	Tunica interna - Abweichungen der sonst kontinuierlichen	
			Beschaffenheit	99
			5.2.2.1 Zirkuläre Intimaverdickung	100
		5.2.3	Tunica media - Gewichts- und altersabhängige Dickenzunahm	e101
		5.2.4	Fläche Tunica media und Tunica externa	105
		5.2.5	Vasa vasorum	105
			5.2.5.1 Qualitative Analyse	105
			5.2.5.2 Quantitative Analyse	106
			5.2.5.2.1 Avaskuläre Zone in der Tunica media	109
		5.2.6	Nervi vasorum	111
		5.2.7	Konstante Verteilung glatter Muskelzellen, kollagener und	
			elastischer Fasern in der Tunica media an distalen Arterien	
			des Pferdes	113
	5.3	Qualit	tative Beschreibung - Elektronenmikroskopie	115
		5.3.1	Vena jugularis	116
			5.3.1.1 Glykokalix - Verlust als Wegbereiter für endothelia-	
			le Dysfunktion?	116
			5.3.1.2 Protrusionen equiner Endothelzellen	117
		5.3.2	Distale Arterien	119
		5.3.3	Vasa vasorum	120
	5.4	Synop	osis	122
6	Zus	ammer	nfassung	124
7	Sun	omarv		197
'	Sun	innai y		121
Li	terati	urverze	eichnis	130
Ρι	ublika	ationsv	erzeichnis	155
Da	anksa	agung		156
Se	elbste	ständig	Jkeitserklärung	158

### Abbildungsverzeichnis

- 2.1 Vereinfachte schematische Übersicht der arteriellen Gefäßversorgung der Vordergliedmaße des Pferdes; Rot- in dieser Arbeit untersuchte Gefäße; 1. Aorta, 2. Truncus brachiocephalicus, 3. A. subclavia sinistra/dextra 4. A. axillaris, 5. A. brachialis, 6. A. mediana, 7. A. digitalis palmaris communis II, 8. a) A. digitalis palmaris medialis;
  b) A. digitalis palmaris lateralis, 9. Ramus dorsalis phalangis mediae
- Röntgenbild der Zehe eines Pferdes (Tier stammt nicht aus Unter-3.1 suchungspool, Alter 6 Jahre, Warmblut), Linke Vordergliedmaße, laterolateraler Strahlengang; postmortale Kontrastmittelaufnahme mit Bariumsulfat zur Darstellung der mittleren und distalen Entnahmestellen, Pfeil kurz- Entnahmestelle der A. digitalis palmaris med.; Pfeil lang- Entnahmestelle der A. dorsalis phalangis med. . . 36 Tunica media und Tunica externa der A. dorsalis phalangis med., Pferd 3.2 Nr. 1; Markierung durch Smooth Muscle Aktin; Selektive Darstellung von glatten Muskelzellen (dunkelbraun) in der Tunica externa, M- Tunica media, E- Tunica externa, Stern- Membrana elastica interna, Pfeile- Vasa vasorum in der Tunica externa 41 3.3 Gefäßquerschnitte der A. dorsalis phalangis med., Pferd Nr. 32; Übersicht der drei verwendeten Färbemethoden, Balken: 1mm; a) HE-Hämatoxylin und Eosin; b) RFK-Resorcin-Fuchsin-Kernechtrot; 41

4

3.4	Gefäßquerschnitte der A. dorsalis phalangis med., Pferd Nr. 32; Fär-	
	bung nach Volkmann-Strauß, a) Vermessung des Lumendiameters,	
	schwarze Linien- Horizontale, Vertikale und jeweilige Winkelhalbie-	
	rende als Messgröße, Balken: 1 mm; b) Vermessung der Wanddicke	
	(Tunica media), schwarze Linien- 8 separate Messungen stets auf	
	Höhe der Horizontalen, Vertikalen und deren Winkelhalbierenden,	
	Balken: 1 mm	45
3.5	Gefäßquerschnitte der A. dorsalis phalangis med., Pferd Nr. 32; Fär-	
	bung nach Volkmann-Strauß, a) Bestimmung der Fläche der Tunica	
	media, äußere grüne Linie- Fläche Tunica media und Lumenfläche	
	zusammen, innere grüne Linie- Lumenfläche; zur Flächenbestim-	
	mung wurde die Lumenfläche von der Gesamtfläche (Fläche Tunica	
	media + Lumenfläche) subtrahiert, Balken: 1 mm; b) Bestimmung	
	der Fläche der Tunica externa, äußere grüne Linie- Gesamtfläche des	
	Gefäßquerschnitts (beinhaltet Fläche Lumen + Fläche Tunica media +	
	Fläche Tunica externa), innere grüne Linie- Fläche Tunica media und	
	Lumenfläche zusammen; zur Flächenbestimmung wurde die Fläche	
	(Tunica media + Lumenfläche) von der Gesamtfläche subtrahiert,	
	Balken: 1 mm	46
3.6	Ausschnitt aus der Tunica media der A. dorsalis phalangis med.,Pferd	
	Nr. 32; Färbung nach Volkmann-Strauß, Ausschnitt aus Tunica	
	media, 40x Vergr.; Farbschwellenerkennung zur Bestimmung der	
	Verteilung von a) SMC, b) kollagene Fasern, c) elastische Fasern	46
4.1	Ausschnitt aus der Tunica media und Tunica interna, mehrlagige	
	Membrana elastica interna 20x Vergr., a) Pferd Nr. 20, Gefäß 1	
	(Volkmann Strauß, invertiert), b) Pferd Nr. 15, Gefäß 3 (Volkmann	
	Strauß, invertiert), c)+d) Pferd Nr. 15, Gefäß 1 Volkmann Strauß (d)	
	invertiert) M- Tunica media, L- Lumen, Sternchen (rot)- doppelte	
	Membrana elastica interna	50
4.2	Ausschnitt aus der Tunica media und Tunica interna, Elastische Fa-	
	sern in der Tunica media, Pferd Nr. 11 Gefäß 2, Volkmann Strauß (in-	
	vertiert), MEI- Membrana elastica interna, L- Lumen, I-Tunica inter-	
	na, Pfeil- rechtwinklig zum Lumen verlaufende Fasern, Doppelpfeil-	
	schräg verlaufende Fasern, Stern- parallel zum Lumen verlaufende	
	Fasern)	51

4.3	Gefäßquerschnitt der A. digitalis palmaris communis II mit begin-	
	nenden Gefäßabgang, a) Pferd Nr. 9, Gefäß 1, Volkmann Strauß,	
	10x Vergr., M- Tunica media, E- Tunica externa, N- N. palmaris	
	med.; Stern- Gefäßabgang, Pfeil- Gegenüberliegende Seite, Insert	
	siehe (b) b) Verlauf glatter Muskelzellen, 20 x Vergr., Pfeile schwarz-	
	longitudinal verlaufende glatte Muskelzellen, Pfeile weiß- zirkulär	
	verlaufende glatte Muskelzellen, Pfeilspitze- Membrana elastica	
	interna	52
4.4	Gefäßquerschnitt, a) Verlauf glatter Muskelzellen im Bereich des	
	beginnenden Gefäßabgangs Pferd Nr. 7, Gefäß 1, Volkmann Strauß,	
	10x Vergr., L- Lumen, M- Tunica media, E- Tunica externa, Stern-	
	Bereich der longitudinal zum Lumen verlaufenden glatten Mus-	
	kelzellen; Insert siehe b); b) 40x Vergr. Pfeile schwarz- zirkulärer	
	Verlauf glatter Muskelzellen, Pfeile weiß- longitudinaler Verlauf	
	glatter Muskelzellen, Stern- elastische Fasern, Pfeilspitze- Membrana	
	elastica interna	52
4.5	Vasa vasorum in der Tunica externa, Volkmann Strauß, Obere Reihe:	
	a) kleine Arterie, b) Arteriole (Pfeil), c) Kapillaren in der Tunica	
	media (Pfeile); Untere Reihe: d)+e) Arteriole, f) Kapillare; Balken in	
	a)-e) = $0,05 \text{ mm}$	53
4.6	Ausschnitt aus der Gefäßwand der A. digitalis palmaris medialis,	
	Netzwerk aus kollagenen Fasern in der Tunica media, a) Pferd Nr.	
	20, Gefäß 3, Volkmann-Strauß (invertiert), 10x Verg.; b) Pferd Nr.	
	35, Gefäß 3, Volkmann-Strauß (invertiert), Stern- Tunica interna, M-	
	Tunica media, E- Tunica externa, Pfeile- Netzwerk aus kollagenen	
	und elastischen Fasern in Tunica media	54
4.7	Ausschnitt aus der Tunica externa mit angrenzender Tunica me-	
	dia, Nervi und begleitende Vasa vasorum; Pferd Nr. 24, Gefäß 2,	
	Volkmann Strauß, M- Tunica media, E- Tunica externa, Vv- Vasa	
	vasorum, Sternchen- Nervi vasorum	55

4.8	Gefäßwandquerschnitt, Vater-Pacini-Lamellenkörperchen in der Tu-	
	nica externa a) Pferd Nr. 30, Gefäß 3, Volkmann-Strauß (invertiert	
	40x Vergr.); b) Pferd Nr. 21, Gefäß 3, Volkmann-Strauß (invertiert,	
	40x Vergr.); c) Pferd Nr. 35, Gefäß 3, Volkmann Strauß, M- Tunica	
	media, E- Tunica externa, VPL- Vater-Pacini-Lamellenkörperchen,	
	Nv- Nervi vasorum, Vv- Vasa vasorum, Balken = 0,05 mm	56
4.9	Abhängigkeit des Lumendiameters von der Lokalisation der drei	
	Gefäße (G1-G3); signifikante Lumenreduktion von G1 zu G2 und G1	
	zu G3	57
4.10	Lumendiameter in Abhängigkeit vom Alter; signifikante Lumenre-	
	duktion ausschließlich beim Gefäß 1 (A. digitalis palmaris communis	
	II) von Altersklasse (AK) 2 zu Altersklasse (AK) 3; bei den Gefäßen	
	2+3 hat das Alter keinen signifikanten Einfluss auf die Weite des	
	Gefäßrohres	58
4.11	Lumendiameter in Abhängigkeit von der Rasse, Kaltblüter zeigen	
	einen absolut größeren Gefäßinnendurchmesser gegenüber Warm-	
	blütern und Ponys	59
4.12	Dicke der Tunica interna, Gefäß 1 - Gefäß 3; Die Werte der Tunica	
	interna sind bei allen untersuchten Tieren (ausgenommen Pferd Nr.	
	8+11) konstant und lagen im Durchschnitt bei 6,8 μm	60
4.13	Gefäßwandquerschnitte mit Intimaverdickung, Pferd Nr. 8, Volk-	
	mann Strauß, 20x Vergr. a) Gefäß 1, L- Lumen, Pfeil- kollagene	
	Fasern, Pfeilspitze- Membrana elastica interna; b) Gefäß 3, L- Lumen,	
	Pfeil- kollagene Fasern, Pfeilspitze- Membrana elastica interna	61
4.14	Gefäßwandquerschnitte mit Intimaverdickung, Pferd Nr. 11, Volk-	
	mann Strauß, 20x Vergr. b) und d) Gefäß 2, Blitze- elastische Fasern	
	in Intimaverdickung, Pfeilspitze- Membrana elastica interna, a) und	
	c) Gefäß 3, Blitze- elastische Fasern in Intimaverdickung, Pfeilspitze-	
	Membrana elastica interna	62

4.15	Gefäßwandquerschnitte mit Intimaverdickung, Immunhistochemi-	
	sche Markierung (Smooth Muscle Actin) der Tunica interna mit	
	glatten Muskelzellen, a) und b) Pferd Nr.11, Gefäß 2(a) und Gefäß	
	3(b), L- Lumen, M- Tunica media, IV- Intimaverdickung, Stern- Mem-	
	brana elastica interna, Pfeile- glatte Muskelzellen; c) Intimapolster	
	am Gefäßabgang Pferd Nr. 15, Gefäß 2, L- Lumen, M- Tunica media,	
	IP- Intimapolster, Stern- Membrana elastica interna, Pfeile schwarz-	
	glatte Muskelzellen, Ec- Endothelzellen; d) Pferd Nr. 1, Gefäß 3,	
	L- Lumen, M- Tunica Media, IP- Intimapolster, Stern- Membrana	
	elastica interna, Pfeile schwarz- glatte Muskelzellen, Ec- Endothelzellen	63
4.16	Gefäßwandquerschnitte mit Intimapolster am Gefäßabgang der A.	
	dorsalis phalangis med., Pferd Nr. 1, a) Volkmann Strauß (invertiert),	
	5x Vergr., L- Lumen, M- Tunica media, IP- Intimapolster, Stern-	
	glatte Muskelzellen, Pfeilspitze weiß- Membrana elastica interna,	
	Pfeil- Beginn des Intimapolsters; b) Volkmann Strauß (invertiert),	
	20x Verg., L- Lumen, M- Tunica media, IP- Intimapolster, Pfeil-	
	Membrana elastica interna	64
4.17	Dicke der Tunica media der Gefäße 1,2 und 3	65
4.18	Dicke der Tunica media in Abhängigkeit vom Alter	65
4.19	Einfluss der Körpermasse auf die Dicke der Tunica media	66
4.20	Zusammenhang zwischen Abnahme des Lumendiameters und Zu-	
	nahme der Gefäßwanddicke (WTH- Wall thicknes) der Gefäße 1,2	
	und 3 mit zunehmendem Alter	67
4.21	Fläche der Tunica media und externa der Gefäße 1,2 und 3	68
4.22	Fläche der Tunica media in Abhängigkeit vom Alter	68
4.23	Fläche der Tunica media in Abhängigkeit von der Körpermasse	69
4.24	Fläche der Tunica externa in Abhängigkeit von der Körpermasse .	70
4.25	Zusammenhang zwischen der Fläche der Tunica media und der	
	Gefäßwanddicke (Wall thickness- WTH) bei der A. digitalis palmaris	
	communis II	70
4.26	Gesamtlumenfläche der Vasa vasorum in der Tunica externa	72
4.27	Anzahl Nervi vasorum in der Tunica externa im Altersvergleich	73
4.28	Anzahl Vasa vasorum in der Tunica media im Altersvergleich	73
4.29	Einfluss der Körpermasse auf die Anzahl der Vasa vasorum in der	
	Tunica media	74

4.30	Gesamtlumenfläche der Vasa vasorum in der Tunica media von	
	Gefäß 1-3	75
4.31	Einfluss der Körpermasse auf die Gesamtlumenfläche der Vasa	
	vasorum in der Tunica media	75
4.32	Durchschnittlicher avaskulärer Bereich der Tunica media; WTH-	
	Gefäßwanddicke (Wall thickness), Vv- Vasa vasorum	76
4.33	Gefäßwandquerschnitt mit Vasa vasorum in der Tunica media, L-	
	Lumen, M- Tunica media, Pfeilspitze- Vasa vasorum, Doppelpfeil-	
	Abstand der innersten Vasa vasorum zum Lumen a) Pferd Nr. 30	
	Gefäß 2, Volkmann Strauß 20x Vergr., Doppelpfeil- Länge 0,32 mm;	
	b) Pferd Nr. 4 Gefäß 2, Volkmann Strauß 20x Vergr., Doppelpfeil-	
	Länge 0,32 mm; c) Pferd Nr. 3 Gefäß 1, Volkmann Strauß 20x Vergr.,	
	Doppelpfeil- Länge 0,29 mm	77
4.34	Prozentualer Anteil glatter Muskelzellen, kollagener und elastischer	
	Fasern in der Tunica media der Gefäße 1,2 und 3 aller untersuchten	
	Pferden (Pferd Nr. 1-35)	78
4.35	Gefäßwandquerschnitt, Übersicht Tunica interna mit angrenzender	
	Tunica media der A. digitalis palmaris com. II; Pferd Nr. 5; L- Lumen,	
	E- Endothelzelle, N- Nukleus, F- Fibrozyt, M- Membrana elastica	
	interna, My- glatte Muskelzelle der Tunica media, Pfeil- Basallamina	
	der Endothelzellen, Stern- diskontinuierliche Membrana elastica	
	interna	79
4.36	Ausschnitt aus der Tunica interna, Pferd Nr. 5, Lumennaher Haft-	
	komplex mit apikalen tight junctions (Pfeile) und basolateraler	
	adherens junction (Pfeilspitze) zweier benachbarter Endothelzel-	
	len, E- Endothelzelle, N-Nukleus, L-Lumen, Gly- Glykokalix Blitz-	
	Interzellularspalt	81
4.37	Ausschnitt aus der Tunica interna, Pferd Nr. 5, Lumennaher Haft-	
	komplex mit apikaler tight junction (Pfeilspitze) und basolateraler	
	adherens junction (Pfeil) zweier benachbarter Endothelzellen, E-	
	Endothelzelle, Blitz-Interzellularspalt	82

4.38	Ausschnitte aus der Tunica interna, Pferd Nr. 5 a) Spitzkegelförmi-	
	ge Ausrichtung der arteriellen Endothelzellen mit angrenzendem	
	Stratum subendotheliale; L- Lumen, E- Endothelzelle, N- Nukleus,	
	St- Stratum subendotheliale, Pfeil- Glykokalix; b) Detail zweier	
	benachbarter Endothelzellen mit deutlich erkennbaren Zellgrenzen	
	und Interdigitationen, Gly- schwach ausgeprägte Glykokalix	83
4.39	Ausschnitt aus der Tunica interna, Pferd Nr. 5, Interdigitationen	
	zwischen benachbarten Endothelzellen, L- Lumen, E- Endothel-	
	zelle, Stern- Interdigitationen, Pfeile schwarz- Interzellulärer Stof-	
	faustausch über Vesikel, Pb- pinozytotische Bläschen, Pfeile weiß-	
	Basalmembran der Endothelzellen	84
4.40	Ausschnitt aus der Tunica interna, Pferd Nr. 5 a) Endothelzellen	
	mit deutlich erkennbarer Glykokalix, L- Lumen, E- Endothelzelle;	
	N- Nukleus; Pfeile- Zellmembran der Endothelzellen, St- Stratum	
	subendotheliale; b) Stoffaustausch zwischen benachbarten Endo-	
	thelzellen und Interzellularspalt, Pfeile- Interzellularspalt, Pb- pino-	
	zytotische Bläschen, N- Nukleus; E- Endothelzelle, Stern- doppelte	
	Kernmembran	85
4.41	Ausschnitt der Tunica interna mit angrenzender Tunica media der	
	Vena jugularis ext. ohne erkennbare Membrana elastica interna;	
	Pferd Nr. 4, E- Endothelzelle, N- Nukleus, El- elastische Fasern, K-	
	kollagene Fasern, F- Fibrozyt	86
4.42	Ausschnitt aus der Tunica interna der V. jugularis externa, Über-	
	lappung zweier Endothelzellen mit Interzellularspalt, Pferd Nr. 4	
	(Stern), L- Lumen, E- Endothelzelle, N- Nukleus, K- kollagene Fasern	87
4.43	Ausschnitt aus der Tunica interna mit angrenzender Tunica media	
	der V. jugularis externa, Protrusion einer Endothelzelle der Vena	
	jugularis ext. mit Zytoplasmaausläufern (Pfeile); Pferd Nr. 4, E-	
	Endothelzelle, N- Nukleus, El- elastische Fasern, K- kollagene Fa-	
	sern, F- Fibrozyt	89
4.44	Ausschnitt aus der Tunica interna mit angrenzender Tunica media	
	der V. jugularis externa, flache Endothelzelle mit Zytoplasmaausläu-	
	fern ins Gefäßlumen (Pfeile); Pferd Nr. 4, L- Lumen, E- Endothelzelle,	
	N- Nukleus, El- elastische Fasern, K- kollagene Fasern	90

- 4.45 Ausschnitt aus der Tunica media der A. digitalis palmaris com. II, Zellkontakte zwischen Endothelzellen eines Vas vasorum; Pferd Nr.
  4; a) L- Lumen, E- Endothelzelle, I- Interdigitationen, V- Vakuolen; Pb- pinozytotische Bläschen, Pfeil- Hemidesmosomen; b) sehr schmale Endothelzellen mit kontinuierlicher Basalmembran (Stern), angrenzendem Stratum subendotheliale (St), glatten Muskelzellen (My) und elastischen Fasern (El), N- Nukleus, Ey- Erythrozyt . . .
- 4.46 Ausschnitt aus der Tunica media der A. digitalis palmaris com. II, Endothelzellen der Vasa vasorum, Pferd Nr. 4, a) Langgestreckte Endothelzellen liegen zirkulär um das Gefäßlumen herum mit schmaler Kontaktfläche zu benachbarten Endothelzellen und deutlichem Abstand zur angrenzenden glatten Muskulatur, Ey- Erythrozyt, E- Endothelzelle; N- Nukleus, Pfeil- Hemidesmosomen, Stern-Basallamina, St- Stratum subendotheliale, My- glatte Muskelzelle;
  b) Übersicht der angrenzenden glatten Muskulatur in der Tunica media, My- glatte Muskelzelle, Ey- Erythrozyt; c) Endothelzelle mit kurzen (ca. 400 nm) Zytoplasmaausläufern ins Lumen . . . . . . .

91

# Tabellenverzeichnis

2.1	Funktionen des Endothels	21
3.1	Untersuchungspool (n=35),WB-Warmblüter; KB-Kaltblüter, COB-	
	Chronisch obstruktive Bronchitis, m- männlich, m(k)- männlich	
	(kastriert), w- weiblich	34
3.2	Färbeprotokoll: Färbung Resorcin-Fuchsin-Kernechtrot	39
3.3	Färbeprotokoll: Volkmann-Strauß (modifiziert)	40
3.4	Arbeitsanleitung zum Nachweis von Smooth Muscle Aktin	42
4.1	Durchschnittliche Dicke der Tunica interna der Gefäße 1,2 und 3	
	aller untersuchten Pferde (Pferd Nr. 1-35)	59
4.2	Prozentuale Verteilung der Gefäßwandbestandteile der Tunica me-	
	dia der Gefäße 1,2 und 3 aller untersuchten Pferde (Pferd Nr. 1-35)	78

# Abkürzungsverzeichnis

Abk.	Abkürzung
А.	Arteria
A. digt. com.	Arteria digitalis communis
AMC	Adventitia Mikrozirkulation
ANS	autonomic nervous system
Ca	Kalzium
DAB	Diaminobenzidine
DoaM-IgG-	Donkey anti Mouse- Immunglobulin G-horseradish per-
HRP	oxidase
COB	chronisch obstriktive Bronchitis
Ec	Endothelzellen
EMVE	Equine mikrovaskuläre Endothelzellen
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
EZM	extrazelluläre Matrix
F	Fibrozyt
Go	Golgi Apparat
HRP	horseradish peroxidase
i.v.	intravenös
IgG	Immunglobulin G
IP	Intimapolster
L	Lumen
LD	Lumendiameter
LPS	Lipopolysaccharid
Μ	molar
m	männlich
m(k)	männlich (kastriert)
MaH SMA	Mouse anti human Smooth Muscle Actin

MCA	Monoclonal Antibody
My	glatte Muskelzelle
Ν	Nukleus
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NO	Stickstoffmonoxid
Nv	Nervi vasorum
Pb	Pinozytose Bläschen
PBS	Phosphate buffered saline
post op	postoperativ
rER	Raues endoplasmatisches Retikulum
SA Beta- Galac-	Seneszenz Assoziierte Beta- Galactosidase
tosidose	
SMA	Smooth Muscle Actin
Т.	Tunica
TBS	Tris buffered saline
u.a.	unter anderem
V	Vakuolen
V.	Vena
VIII:RAg	von Willebrandt Faktor related Antigen
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VPL	Vater-Pacini-Lamellenkörperchen
Vv	Vasa vasorum
VVO	Vesikel-Vakuoläre-Organellen
vWF	von-Willebrand Faktor
w	weiblich
WTH	Wall thickness

## 1 Einleitung

Gefäßassoziierte Erkrankungen des Pferdes wie z.B. Thrombophlebitiden nach Injektion in die Vena jugluaris oder Permeabilitätssteigerungen und Mikrothromben der distalen Gefäße der Gliedmaßen im Zuge der Hufrehe werfen bislang ungeklärte Fragen zur Genese auf. Die Vena jugularis ist häufig Applikationsort für therapeutische und diagnostische Substanzen. Die Blutgefäße des Pferdes zeigen gegenüber anderen Spezies einige Besonderheiten. An das Gefäßsystem werden auf Grund der hohen Körpermasse und bedingt durch die große Leistungsfähigkeit des Bewegungsapparates als Fluchttier, besondere Anforderungen gestellt. Ziel dieser Arbeit ist es die distalen Gefäße der Vordergliedmaße zu charakterisieren und Hinweise zur Ursache der Empfindlichkeit von Pferden gegenüber der Ausbildung von Phlebitiden sowie der Hämatombildung nach einer Gefäßpunktion der Vena jugularis zu gewinnen.

Bei der Betrachtung distaler Arterien und deren Verlauf durch den Tierkörper, wird erhofft Aufschluss über die Histomorphologie der Gefäßwände, insbesondere der Tunica interna und Tunica media, in Abhängigkeit von der Lokalisation und an besonders beanspruchten Regionen wie z.B. an Gefäßaufzweigungen, zu erhalten. Vasa und Nervi vasorum sollen an den distalen Arterien qualitativ und quantitativ sowohl in der Tunica media als auch der Tunica externa charakterisiert werden. Biologische Parameter wie Alter und Körpermasse werden ebenso in die Auswertung mit einbezogen, um einen möglichen Einfluss dieser Parameter auf die Gefäßarchitektur zu verdeutlichen. Es stellt sich die Frage, ob es Hinweise zur unterschiedlichen Morphologie der Gefäßwände an verschiedenen Lokalisationen mit Hinblick auf die Architektur der einzelnen Wandschichten gibt. Es sollen auch die Endothelzellen mit angrenzendem Stratum subendotheliale der Vena jugularis und der distalen Arterien ultrastrukturell mit Hilfe des Elektronmikroskops untersucht werden.

### 2 Literatur

### 2.1 Morphologie der Blutgefäße

#### 2.1.1 Definition Blutgefäße

Der Grundaufbau des Blutgefäßsystems gliedert sich in einen arteriellen und venösen Schenkel, verbunden durch das Kapillarsystem. In Abhängigkeit von Funktion und Lokalisation im Organismus ist der strukturelle Aufbau der Gefäße geprägt von einer Vielzahl an Variationen. Dementsprechend erfolgt eine allgemein gültige Einteilung in Arterien, Arteriolen (präkapilläre Arterien), Kapillaren (Haargefäße), Venulen (postkapilläre Venulen) und Venen (LIEBICH, 2010). Zusätzlich verfügt das Blutgefäßsystem über arterio-venöse Anastomosen, die unter Umgehung des Kapillarbettes eine direkte Verbindung des arteriellen Hochdruck- mit dem venösen Niederdrucksystem darstellen (HOYER, 1877). Die heute gültige Definition der Blutgefäße (ausgenommen die Kapillaren) beinhaltet einen gemeinsamen Grundbauplan, der im folgenden Kapitel ausführlich behandelt werden soll.

#### 2.1.1.1 Gefäßbaum der Vordergliedmaße und der V. jugularis des Pferdes

Zum besseren Verständnis und zur Übersicht der Lokalisation der in dieser Arbeit betrachteten Gefäße soll hier der allgemeine Gefäßbaum der Vordergliedmaße des Pferdes beschrieben und schematisch dargestellt werden. Bei der schematischen Darstellung( 2.1) sei darauf hingewiesen, dass nicht alle Gefäßabgänge der benannten Arterien aufgeführt sind, sondern jeweils nur das Ursprungsgefäß der nach distal folgenden Arterie. Aus dem Aortenbogen geht als erstes der Truncus brachiocephalicus hervor, welcher neben dem Truncus bicaroticus auch die linke und rechte A. subclavia, zur Versorgung der linken bzw. rechten Vordergliedmaße entlässt. Auf Höhe des Schultergelenks entspringt die A. axillaris als Fortsetzung der A. subclavia (MÜLLING et al., 2013). Die A. brachialis entspringt aus der A. axillaris und zieht im geraden Verlauf am Oberarmknochen entlang zum Ellenbogengelenk. In Fortsetzung der A. brachialis zieht die A. mediana medial am Radius nach distal durch den Karpalkanal. Nach Zufluss durch einen Ast der A. radialis wird die A. mediana zur größten Arterie der Hand des Pferdes, der A. digitalis palmaris communis II. Die A. digitalis palmaris communis II ist Ursprung für die medial resp. lateral am Fesselbein nach distal ziehenden A. digitalis palmaris medialis resp. lateralis. Diese beiden Gefäße werden auch "besondere Zehenarterien "des Pferdes genannt (NICKEL et al., 2005). Beide Arterien verlaufen vom Rand der oberflächlichen Beugesehne verdeckt am Fesselgelenk vorbei und ziehen nach distal. Aus der medial gelegenen "besonderen Zehenarterie "geht die Kronbeinarterie hervor (A. dorsalis phalangis mediae), welche zunächst an der Innenfläche des Hufknorpels verläuft, anschließend die Strecksehne unterkreuzt um schließlich mit der entsprechenden Gegenseite zu anastomosieren (NICKEL et al., 2005).

Die V. jugularis externa (Drosselvene) wird gespeist durch die dorsal gelegene V. maxillaris und ventral liegende V. linguofacialis, welche das venöse Blut vom Kopf in die Jugularvene leiten (MÜLLING et al., 2013). Kurz vor der Mündung in den venösen Truncus bijugularis entlässt die Jugularvene die V. cervicalis superficialis und die V. cephalica, welche in der seitlichen Brustfurche zur Schultergliedmaße zieht. Zusammen mit der V. jugularis der kontralateralen Halsseite bilden beide Drosselvenen die Endaufzweigung der V. cava cranialis (craniale Hohlvene), welche das venöse Blut schließlich in den rechten Vorhof (Atrium dexter) des Herzens leitet (NICKEL et al., 2005). Die V. jugularis externa liegt ohne arterielle Begleitung zwischen dem M. scalenus und den Mm. sternothyreoideus (NICKEL et al., 2005). In der sogenannten Drosselrinne (Sulcus jugularis) liegend, wird sie ausschließlich im unteren Halsdrittel vom M. cutaneus colli bedeckt. Im oberen Halsdrittel überquert die V. jugularis den M. omohyoideus, liegt oberflächlich unter der Haut und ist hier für intravenöse Injektionen zugänglich.



Abbildung 2.1 Vereinfachte schematische Übersicht der arteriellen Gefäßversorgung der Vordergliedmaße des Pferdes; Rot- in dieser Arbeit untersuchte Gefäße; 1. Aorta, 2. Truncus brachiocephalicus, 3. A. subclavia sinistra/dextra 4. A. axillaris, 5. A. brachialis, 6. A. mediana, 7. A. digitalis palmaris communis II, 8. a) A. digitalis palmaris medialis; b) A. digitalis palmaris lateralis, 9. Ramus dorsalis phalangis mediae

#### 2.1.1.2 Allgemeiner Aufbau der Blutgefäße

Der Grundbauplan der Gefäße ist vergleichbar mit drei übereinander liegenden elastischen Schläuchen unterschiedlicher Dicke und Beschaffenheit, welche gefäßspezifisch verschiedenartig ineinander übergehen oder deutlich voneinander abzugrenzen sind. Namentlich sind diese Schichten bereits 1930 durch Benninghoff (BENNINGHOFF, 1930), als auch nach heute gültiger Definition, als Tunica interna (Intima oder Innenhaut), Tunica media (Media oder Ringfaserhaut) und Tunica externa (Adventitia oder äußere Gefäßhaut) zu bezeichnen (LIEBICH, 2010). Die einstigen Termini, wie dem Endothel aufliegende bzw. überziehende "perithele Gefäßwand" (BONNET, 1896), "Membrana accessoria" (SCHIEFFERDECKER, 1896), "Accessoria"- sekundäre Gefäßwand oder Perithel (BRAUS und ELZE, 1954) konnten sich nicht durchsetzen. Die Kernelemente der Gefäßwände wie glatte Muskelzellen, elastische und kollagene Fasern sind, abhängig von den dynamischen Faktoren des Blutstroms (Längszug, Seitendruck), über den Gefäßbaum quantitativ unterschiedlich stark ausgeprägt (BRAUS und ELZE, 1954). Die Qualität der einzelnen Komponenten fasste Benninghoff folgendermaßen zusammen: "So ist kein Bestandteil der Gefäßwand für sich bestehend, durch die gegenseitige Verknüpfung kann kein Teil für sich wirken. Der ganze Verband Gefäßwand ist eine anatomische und funktionelle Einheit " (BENNINGHOFF, 1930).

#### 2.1.1.2.1 Tunica interna

Die Tunica interna repräsentiert die innerste Wandauskleidung der Blutgefäße und setzt sich zusammen aus der dem Blutfluss direkt anliegenden Lamina endothelialis (Endothel, Angiothel), dem in größeren Arterien deutlich ausgeprägten Stratum subendotheliale und der Membrana elastica interna (BRAUS und ELZE, 1954; LIEBICH, 2010). Auf die funktionellen und morphologischen Besonderheiten des Endothels wird ausführlich im Kapitel 2.2 eingegangen. Kölliker beschrieb schon 1902 in seinem "Handbuch der Gewebelehre des Menschen", dass sich im Stratum subendotheliale "streifige Lagen" erkennen lassen, die er als in Längsrichtung des Gefäßes angeordnete elastische Fasern deutete (KÖLLIKER, 1902). Dieses feine Netz an elastischen Fasern verdichtet sich zur Grenze der Tunica media und bildet die Membrana elastica interna, welche über feinste elastische Fasern mit der Tunica media in direkter Verbindung steht (BENNINGHOFF, 1930). Neben den elastischen Fasern konnten auch vereinzelt glatte Muskelzellen im Stratum subendotheliale dargestellt werden, welche jedoch durch pathologische Prozesse (Endarteriitis) hervorgerufen waren (JORES, 1898). Besonders das Stratum subendotheliale bildet sowohl bei physiologischen (Gefäßabgang) als auch bei pathologischen (Arteriosklerose) Intimaverdickungen, den Ort der Substanzzunahme (JORES, 1903). In mehreren Untersuchungen beim Menschen wurde gezeigt, dass es zu Intimaverdickungen mit zunehmendem Alter kommen kann. Beispielgebend soll hier die Studie von Franz Oppenheim aus dem Jahre 1918 angeführt werden, der wachsende und alternde Nierenarterien auf ihren morphologischen Wandel untersucht hat (OPPENHEIM, 1918).

#### 2.1.1.2.2 Tunica media

Die mittlere Schicht der Gefäßwand ist geprägt durch das geflechtartige Ineinandergreifen von glatten Muskelzellen, elastischen und kollagenen Fasern. Benninghoff beschrieb das quantitative Verhältnis dieser Komponenten und sah ein Gleichgewicht dieser am ehesten in der Aortenwand, da er die Wandschichten, bedingt durch die starke Durchflechtung der Komponenten, hier kaum zu unterscheiden vermochte. In den peripheren Arterien zeigen sich eine Massenzunahme der glatten Muskulatur und eine Verdrängung der elastischen- und kollagenen Fasern (BEN-NINGHOFF, 1930). Die Existenz und den Verlauf der elastischen Fasern in der Tunica media beschrieb als erstes Hermann Dürck im Jahre 1907. Als ein Gewirr, dass an Telegraphendrähte erinnert, beschrieb Dürck die meist in Zugrichtung des Gewebes verlaufenden, aber auch oft sich überschneidenden und kreuzenden Züge an elastischen Fasern. Je nach Kontraktions- bzw. Dilatationsgrad der Arterie sind die elastischen Fasern eher als Radiärfasern bzw. als zirkulär um das Gefäß verlaufende Fasern zu erkennen (DÜRCK, 1907). Bei größeren Arterien sind die elastischen Fasern sowohl longitudinal als auch zirkulär um das Gefäß angeordnet, zeigen eine variable Dicke und sind im Querschnitt meist oval (BENNINGHOFF, 1930). An den oberflächlichen Grenzen der Muskelringe sind die elastischen Fasern verdichtet und bilden die Membrana elastica externa (HENLE, 1868). Die Ausprägung der glatten Muskelzellen in der Tunica media ist variabel. So ist an Gefäßabzweigungen ein grundsätzlicher Wechsel der sonst zirkulär um das Gefäß verlaufenden Muskelfasern zu erkennen (THIENEL, 1902; BENNINGHOFF, 1930). Die Muskelzelle selbst kann, besonders in den kleinsten Arterien, spindel- oder spiraltourig angeordnet sein und das Gefäß 1,5 - 2,5 mal umschlingen (ZIMMERMANN, 1923). Baum beschrieb eine ähnliche Anordnung der Muskelzellen auch an großen Arterien des Pferdes (BAUM, 1903). Das kollagene Bindegewebe ist in der Tunica media so angeordnet, dass die physiologische Gefäßausdehnung in Längs- und Querrichtung während einer Pulswelle vollzogen werden kann (BENNINGHOFF, 1930).

#### 2.1.1.2.3 Tunica externa

Die äußere Gefäßhaut bildet eine lockere Verschiebeschicht, welche die Gefäße in

das umliegende Gewebe einbettet. Benninghoff beschrieb die Tunica externa als "am Gefäßrohr haftender Teil der Gefäßscheide, der bei der Präparation zum Teil abgelöst wird ". Eine Art elastische Aufhängung der Arterien wird gewährleistet, indem Radiärfasern aus der Adventitia in das umliegende Gewebe einstrahlen und diese dort verankern. Der Zwischenraum des elastischen Gewebes ist reichlich mit kollagenen Fasern ausgefüllt, welches für mechanische Stabilität der Arterie bei longitudinal (Dehnung der Arterie in Längsrichtung) und zirkulär (Ausdehnung senkrecht zur Längsachse) einwirkenden Kräften sorgt. Um beiden Zugrichtungen adäquat entgegenwirken zu können, ist der kollagene Faserverlauf meist schräg zur Längsachse ausgerichtet (BENNINGHOFF, 1930). Neben dem elastisch-kollagenen Netz, sind in der Tunica externa auch Nervenendigungen und Vater-Pacini-Körperchen zu finden (RACHMANOW, 1901). Auch die zur Eigenversorgung der Gefäßwände dienenden Vasa vasorum sind, abhängig vom Gefäßbett, unterschiedlich stark ausgebildet und vorzugsweise in der Adventitia anzutreffen (GALILI et al., 2004). Ausführlich wird auf die Vasa und Nervi vasorum in Kapitel 2.3 eingegangen.

#### 2.1.1.3 Arterien

Arterien sind Gefäße im Hochdrucksystem des Organismus. Durch ihren Wandaufbau sind sie befähigt, dem arteriellen Druck des Herzens einen Widerstand entgegen zu setzten und den Druckpuls über die Gefäßwand bis in die Peripherie zu leiten. Um den wechselnden Druckverhältnissen im Verlauf des Herz-Kreislauf-Systems vom Zentrum (mittlerer Blutdruck Aorta ca. 100 mmHg) bis in die Peripherie (Kapillaren der Haut < 20 mmHg) (VON ENGELHARDT und AHRENS, 2005) stand zu halten, sind die Arterien morphologisch und funktionell an diese Gegebenheiten angepasst (JAIN, 2003). Entscheidenden Einfluss auf die Adaptation und Reifung der Gefäße nehmen verschiedene Wachstumsfaktoren (YANCOPOULOS et al., 2000). Es wird zwischen Arterien des elastischen und des muskulären Typs unterschieden (BAUM, 1903; LIEBICH, 2010). Der Übergang wird als Transitionalzone bezeichnet (JANZEN, 2004) und ist je nach betrachteter Spezies und Lokalisation im Organismus unterschiedlich stark ausgeprägt (LAUPER et al., 1975).

#### 2.1.1.3.1 Arteria elastotypica

Hierbei handelt es sich um stets herznahe Gefäße. Das Endothel ist geschlossen und liegt einem breiten Stratum subendotheliale auf. Kollagene Fasern des Stratum subendotheliale stehen in engem Kontakt zu den elastischen Fasern der Tunica media. Die vereinzelt auftretenden glatten Muskelzellen der Tunica media haben Verbindung zu der großen Masse an elastischen Fasern und bilden ein elastisch-muskuläres System. An die Tunica media schließt sich nach außen eine kollagenfaserreiche Tunica externa an, die ebenfalls elastische Fasern enthält, vor Überdehnung schützt und das Gefäß in das angrenzende Gewebe integriert (THIE-NEL, 1902; LIEBICH, 2010).

#### 2.1.1.3.2 Arteria myotypica

Die Arterien vom muskulären Typ weisen ebenfalls die charakteristische Dreischichtung auf. Besonders deutlich ist die Membrana elastica interna als gewellte Struktur erkennbar. Dieser Typ ist eindeutig an den vorwiegend zirkulär oder leicht spiralig verlaufenden glatten Muskelzellschichten in der Tunica media zu identifizieren. Die einzelnen Muskelzellen sind über sogenannte myoendotheliale gap junctions mit angrenzenden Endothelzellen verbunden (SANDOW und HILL, 2000). Die nach außen abschließende Tunica externa ist reich an längsverlaufenden elastischen Fasern und bildet zusammen mit einem Netz aus kollagenen Fasern die Grundlage für die Membrana elastica externa. Die Adventitia dient als Verschiebeschicht zu anliegenden Organen und bettet die Arterie in das umliegende Gewebe ein (BAUM, 1903; LIEBICH, 2010).

#### 2.1.1.4 Arteriolen

Arteriolen sind kleinste noch mit glatten Muskelzellen ausgestattete Gefäße des arteriellen Hochdrucksystems. Sie gelten als periphere oder präkapilläre Widerstandsgefäße, welche wesentlich an der Regulation des Blutdruckes und der Durchblutung des Kapillargebietes beteiligt sind. Die Endothelzellen sind kubisch geformt, etwa 2 µm dick, 10-20 µm breit und 30-50 µm lang. Der Endothelzellverband ist kontinuierlich (CARLSON et al., 1982). Die Membrana elastica interna weist teilweise Lücken von 0,5 - 5 µm auf, durch die vereinzelt Endothelzellen direkten Kontakt zu glatten Muskelzellen der Tunica media erhalten (CARLSON et al., 1982). Der Gehalt an Lagen glatter Muskelzellen korreliert positiv mit dem Gefäßinnendurchmesser. So sind beispielsweise bei einem Lumendurchmesser von 300 µm in großen Arteriolen 6 Lagen (LEE et al., 1983a) und bei den kleinsten Arteriolen mit einem Durchmesser von 30-50 µm nur eine Lage glatter Muskelzellen vorhanden (WALMSLEY, 1982; GATTONE et al., 1986). Die einzelnen Muskelzellen sind zirkulär angeordnet und repräsentieren einen Wandvolumenanteil von 70-85 % des Gefäßquerschnittes (LEE et al., 1983a).

#### 2.1.1.5 Kapillaren (Vasa capillaria)

Kapillaren stellen ein fein verzweigtes, stoffwechselaktives Netz zwischen den kleinsten Arteriolen und den postkapillären Venolen dar. Der Wandaufbau der Kapillaren ist bis auf das Endothel reduziert. Nach außen schließt sich eine Basalmembran an, mit der die Endothelzellen in Verbindung stehen. In besonders stoffwechselaktiven Geweben (Leber) kann die Basalmembran auch fehlen, sog. Sinuskapillaren. Meistens liegen der Basalmembran nach außen Perizyten auf oder sie werden von der Basalmembran mit eingeschlossen (BRAUS und ELZE, 1954). Je nach Funktion und Potential des Stoffaustausches unterscheidet man 3 Typen von Kapillaren. In den folgenden drei Abschnitten wird auf die anatomische Einteilung und deren Merkmale eingegangen. Im Kapitel 2.2.1 wird die funktionelle Einteilung des Endothels erläutert.

#### 2.1.1.5.1 Kontinuierliche Kapillaren

Dieser Typ ist gekennzeichnet durch ein geschlossenes, nicht fenestriertes Endothel. Es ist mit Abstand der am häufigsten vorkommende Typ im Organismus. Durch seine geschlossene Endothelwand ist der transendotheliale Stoffaustausch (Zytopempsis) limitiert und bildet somit eine vom Organ und den lokalen Regulationsmechanismen beeinflusste Barriere (WOLF, 1964). Sowohl im Gehirn als auch in den Kapillaren der Haut, Lunge, Muskulatur und des Herzens ist dieser Typ zumeist anzutreffen (MOORE und RUSKA, 1957).

#### 2.1.1.5.2 Fenestrierte Kapillaren

Das Endothel ist wesentlich flacher als beim geschlossenem Typ und weist zusätzlich siebartige Löcher "Fenster "auf, die z.B. im Glomerulum oder der Skelettmuskulatur (HAMMERSEN, 1966) eine durchschnittliche Größe von 50-100 nm betragen und als transzelluläre Poren bezeichnet werden (YAMADA, 1955). Ist über diesen Löchern keine weitere dünne Membran (Diaphragma) ausgebildet, so spricht man von einer offenen Pore und der transendotheliale Stoffaustausch wird zusätzlich gefördert. Diese Art von Kapillaren sind durch eine geschlossene Basalmembran gekennzeichnet. Vorzugsweise in Geweben mit hohem Flüssigkeitsaustausch, wie im Glomerulum, einigen endokrinen Organen und den Tubuluskapillaren der Niere ist dieser Kapillartyp zu finden (RHODIN, 1962; ROSTGAARD und QVORTRUP, 1997).

#### 2.1.1.5.3 Sinuskapillaren

Hier ist ein lockerer Endothelverband mit interzellulären Spalten zu erkennen. Daher wird es auch diskontinuierliches Endothel genannt. Die Basalmembran ist teilweise unterbrochen oder fehlt gänzlich. Dieser Kapillartyp ist zum größtmöglichen Stoffaustausch befähigt und ist vorzugsweise in der Leber (Sinusoide der Leber) oder auch in endokrinen Organen wie der Adenohypophyse zu finden. Die Fenestration erstreckt sich bei den Sinuskapillaren der Leber über eine Strecke von durchschnittlich 115 nm (WISSE, 1970).

#### 2.1.1.6 Venen und Venolen

Hauptkennzeichen der Gefäße im Niederdrucksystem ist die hohe Elastizität der venösen Wand. Das Endothel ist geschlossen und liegt einem schwachen Stratum subendotheliale auf. Eine ausgeprägte Membrana elastica interna fehlt, ist jedoch durch ein dünnes und ziemlich lockeres Netz elastischer Fasern (Rete elastica) ersetzt. Die Tunica media ist im Vergleich zu den Arterien dünner und besteht vorwiegend aus kollagenen und elastischen Fasern. Glatte Muskelzellen sind vereinzelt anzutreffen (THIENEL, 1902). Diese Anordnung fibro-muskulärer Elemente verleiht der Venenwand die erforderliche Dehnfähigkeit. Den Kontakt zu den angrenzenden Geweben stellt, wie auch bei den Arterien, die Tunica externa dar. Zwischen der Tunica externa und der Tunica media ist eine Membrana elastica externa ausgebildet (LIEBICH, 2010). Als Besonderheit im Niederdrucksystem sind die Endothelzellduplikationen zu nennen, welche als Venenklappen dem gerichteten Blutstrom dienen (LEHMANN, 1908). Strukturelle Grundlage dieser Klappen ist kollagenes Bindegewebe, das dem Stratum subendotheliale angehört (STAUBESAND, 1958). Venolen sind dünnwandiger als Venen und finden ihren Ursprung in postkapillären Gefäßabschnitten (BRAUS und ELZE, 1954).

#### 2.1.2 Vaskuläre Adaptation

Die Ausprägung und Form der vaskulären Strukturen unterliegt einem ständigen dynamischen Prozess der Adaptation, bedingt durch eine Vielzahl verschiedener Stimuli. Diese Anpassung kann sowohl kurzfristig, als auch langfristig auf chronische Einflussfaktoren hin in Erscheinung treten. Als Barriere zwischen dem strömenden Blut und der Gefäßwand dient das Endothel hier als Modulator, welches auftretende Reize registriert und diese verarbeitet. Über die modulatorische Funktion des Endothels wird in Kapitel 2.2.3 eingegangen. Veränderungen der Wandarchitektur, des Gefäßdurchmessers aber auch der Abbau oder die Neubildung von Gefäßen können entsprechend des aktuellen Bedarfs des Organismus auftreten. Ausführlich wird in Kapitel 2.1.3 über die Faktoren der Gefäßanpassung berichtet. In der Fachliteratur werden diese Erscheinungen unter dem Begriff "Angioadaptation" zusammengefasst (ZAKRZEWICZ et al., 2002). Dazu gehört die Angiogenese, Anti-Angiogenese und Prozesse des Umbaus der Gefäßwand (Remodeling) entsprechend des Bedarfs oder der veränderten Bedingungen.

#### 2.1.3 Faktoren der Gefäßanpassung

Die Art der Stimuli um neue Gefäße zu bilden, hängt vom Entwicklungsstand des Organismus ab. In der Embryonalentwicklung spielen Hämodynamik des zirkulierenden Blutes, Nähr- und Sauerstoffversorgung keine Rolle. Hier sorgen genetische Grundmuster für die Bildung späterer Leitungsgefäße (ISOGAI et al., 2001). Bei reifen Individuen ist die Fähigkeit der Anpassung an funktionelle Gegebenheiten an den Bedarf des Organismus gekoppelt. Gefäße reagieren nun unter anderem auf hämodynamische und metabolische Reize. Dies lässt sich sowohl an physiologischen (Wachstum, Training, Menstruationszyklus), als auch an pathologischen (Entzündungsreaktion, Wundheilung, Tumorvaskularisation) Prozessen erkennen (ZAKRZEWICZ et al., 2002). Dass es sich bei den hämodynamischen Kräften des Blutflusses, welcher besonders bei den Arterien auf die Gefäßwand einwirkt, um einen Hauptstimulus der Endothelvermittelten Gefäßadaptation handelt, zeigten mehrere Untersuchungen (SKALAK und PRICE, 1996; COWAN und LANGILLE, 1996; PAPADAKI und ESKIN, 1997; ZAKRZEWICZ et al., 2002; RESNICK, 2003; PRIES et al., 2003). Hier vermittelt der Blutfluss die Expression und die Freisetzung von Wachstumsfaktoren, welche am Prozess des Remodelings direkt beteiligt sind. Dazu zählen NO (Stickstoffmonoxid), ET-1 (Endothelin1), FGF (Fibroblast Growth Factor) und PDGF (Platelet-derived growth factor) (PEIRCE und SKALAK, 2003). Le Noble und Kollegen studierten die arterio-venöse Differenzierung der Blutgefäße nach beginnender Perfusion im Dottersack von Hühnern. Sie zeigten, dass Hämodynamik entscheidend ist für die Differenzierung in Gefäße arteriellen und venösen Charakters (LE NOBLE et al., 2004). Eine Zusammenfassung der strukturellen Auswirkungen des mechanischen Stresses auf die Gefäßwände, bedingt durch die unterschiedliche geometrische Konfiguration des Gefäßbaumes im Tierkörper und daraus folgende Blutflussveränderungen, schilderten Glagov et al. bereits 1992 (GLAGOV et al., 1992). Voraussetzungen für die Adaptation der Blutgefäße an sich ändernde Druckverhältnisse und Fließgeschwindigkeiten sind intakte Zellverbindungen zur umliegenden Matrix, intakter Aufbau und intaktes Verhältnis der Wandbestandteile und die Fähigkeit den Radius des Gefäßes zu regulieren. Gefäße reagieren auf einen bestehenden gesteigerten Blutfluss mit der Erweiterung des Radius (Lumendiameter), bis der normale auf die Gefäßwand wirkende Druck von etwa 15 Dyn/cm<sup>2</sup> wiederhergestellt ist. Im Gegenzug nimmt die Tunica interna bei verminderten Fließeigenschaften an Stärke (Dicke) zu, um

eine Einengung des Lumens und dementsprechend einen kleineren Radius zu induzieren. Die fibromuskuläre Hypertrophie und die Hyperplasie der Intima werden als Formen der Intimaverdickung beschrieben. Ziel beider Formen ist es einen Druckanstieg auf den normalen Wert von 15 Dyn/cm<sup>2</sup> auf die Gefäßwand wiederherzustellen (KAMIYA und TOGAWA, 1980; ZARINS et al., 1983; ZARINS, 1987; GLAGOV, 1989). Wanddicke und Aufbau ermöglichen es den Arterien, kurz- oder langfristigen Veränderungen der Druck- und Fließeigenschaften standzuhalten. Die Orientierung der glatten Muskelzellen und elastischen Fasern an Gefäßabzweigungen lassen vermuten, dass sich diese Komponenten entsprechend der Zuglinien in der Gefäßwand ausrichten (CLARK und GLAGOV, 1985). Neben dem strukturellen Remodeling der Tunica media sind an stark beanspruchten Regionen auch Veränderungen in der Adventitia sichtbar. An Biegungen, Einengungen und Abknickungen der Gefäße wird vermutlich der hier lokal vermehrt auftretende intramurale Druck über die Tunica media auf die Adventitia übertragen. Auch die erhöhte Bewegung des umliegenden Gewebes (in Gelenksnähe) kann einen Einfluss auf die Morphologie der äußersten Gefäßschicht haben (GLAGOV et al., 1992). Dass es sich bei der "äußeren Gefäßhaut" der großen Arterien um eine wichtige Struktur handelt, die auch bei der Entwicklung von Gefäßerkrankungen eine Rolle spielt, zeigten Gingras und Kollegen 2009 (GINGRAS et al., 2009). Die Adventitia umgibt, schützt und ernährt die großen Leitungsgefäße. Neben der mechanischen Funktion als Gleit- und Verschiebeschicht, dienen zwei weitere mikrostrukturelle Systeme der Aufrechterhaltung physiologischer Funktionen der Gefäße. Zum Einen ist das adventitielle autonome Nervensystem (ANS) Hauptregion für afferente und efferente Nervenbahnen im Blutgefäßsystem (DAMON, 2005). Zum Anderen liegen die zur Eigenversorgung der Gefäßwand dienenden Vasa vasorum ebenfalls überwiegend in der Adventitia, ziehen in den äußeren Bereich der Tunica media und versorgen somit 2/3 der Gefäßwand (HEISTAD und MARCUS, 1979). Beide Systeme sind am Prozess des Remodelings und an pathologischen Veränderungen der Gefäßwände direkt beteiligt (BARKER et al., 1993; MANFRINI et al., 2008; MULLIGAN-KEHOE, 2010). Neben den bisher beschriebenen Einflussfaktoren auf die Beschaffenheit der Gefäßwand, analysierten London und Kollegen zusätzlich die Auswirkung des Geschlechts und der Körpergröße auf die Gefäße beim Menschen (LONDON et al., 1995). Es wurde gezeigt, dass sowohl das Alter als auch die Körpergröße und das Geschlecht die Elastizität der peripheren Gefäße direkt beeinflussen und somit Auswirkung auf den Blutdruck

haben. Es besteht eine positive Korrelation zwischen der Körpergröße und dem systolischem Blutdruck. Dies konnte auch in einer Studie an der Giraffe gezeigt werden, die eine wesentlich dickere Gefäßwand, sehr ausgeprägte Tunica media und im Vergleich zu anderen Säugetieren gesteigerte Konzentration an elastischen Fasern aufweist (GOETZ, 1958). Periphere Arterien bei weiblichen Individuen zeigen im Vergleich zu männlichen, nach Anpassung der Größe und des Alters, eine gesteigerte Dehnfähigkeit der Gefäße und dementsprechend niedrigeren Blutdruck. Gangar sieht den Zusammenhang in einem möglichen protektiven Einfluss des Östrogens auf die glatte Muskulatur der Gefäßwand (GANGAR, 1991), die nachweislich funktionelle Östrogenrezeptoren aufweist (KARAS et al., 1994; LOSORDO et al., 1994). Ohne den Einfluss des Östrogens (beim Menschen nach der Menopause) konnte kein Unterschied in der Dehnbarkeit peripherer Arterien bei beiden Geschlechtern mehr festgestellt werden. Ebenso hat das Geschlecht keinen Einfluss auf die Dehnfähigkeit zentral gelegener Arterien des elastischen Typs (LONDON et al., 1995).

#### 2.1.4 Morphologische Besonderheiten beim Pferd

Bereits 1902 wurden erste Untersuchungen von Gefäßstämmen in ihrem Verlauf durch den Tierkörper durchgeführt, auf der Suche nach möglichen Regeln oder Schemata, nach denen histologische Veränderungen im Bau der Gefäßwände auftreten. Baum vermutete auf Grund der unterschiedlichen Blutdruckverhältnisse verschiedener Tierspezies, dass es Unterschiede in der Blutgefäßarchitektur geben muss. Weiterhin sollten morphologische Besonderheiten, bedingt durch Gattung, Gebrauchsart derselben und des Alters der Tiere nachgewiesen werden (THIENEL, 1902).

Bei der Spezies Pferd gewinnt die Tunica interna mit Zunahme der Größe der Arterie bedeutend an Stärke und wird mehrschichtig. Die wesentlichen Unterschiede in der Gefäßarchitektur der einzelnen Spezies sind jedoch in der Tunica media zu finden, welche den Arterien ihren typischen Charakter verleiht. Bezogen auf die A. mediana beschrieb Baum den Übergang vom elastischen zum muskulären Typ beim Pferd auf Höhe des Ellenbogengelenks. Insbesondere ab der A. mediana sind die elastischen Fasern der Tunica media, bis auf äußerst dünne und feine Fäserchen, verschwunden (BAUM, 1903). Es wurden primär zirkulär verlaufende Muskelzellen gefunden, die jedoch und besonders beim Pferd an stark beanspruchten Stellen (in Gelenksnähe), durch längsverlaufende Muskelzellen ergänzt werden. In der äußeren Gefäßschicht (Tunica externa) ist bei allen Tieren eine von proximal nach distal gerichtete Zunahme der längsverlaufenden elastischen Fasern zu konstatieren. Diese Zunahme steht im umgekehrten Verhältnis zur Abnahme der elastischen Fasern der Tunica media. Somit herrscht ein Antagonismus zwischen elastischen Fasern der Tunica media und der Tunica externa. Das Auftreten der zur Eigenversorgung benötigten Vasa vasorum ist stark vom Gefäßtyp abhängig. Sowohl Gehalt an glatten Muskelzellen als auch Dicke der Gefäßwand haben einen Einfluss auf die quantitative Ausprägung dieser zur nutritiven Versorgung dienenden kleinen Gefäße. So sind bei Gefäßen mit einer dicken muskulären Wand viele Vasa vasorum zu finden (BAUM, 1903). Ausführlich wird über die nutritive Versorgung der Gefäßwand im Kapitel 2.3 berichtet. 1926 folgten Untersuchungen von Zimmermann an Arterienstämmen von Huftieren um deren Umfang, Durchmesser und Wanddicke zu beurteilten (ZIMMERMANN, 1926). Unter anderem konnte festgestellt werden, dass die Weite des Gefäßrohres (Lumendiameter) beim Pferd im Alter zunimmt. Studier zeigte 1951 in histologischen Untersuchungen Besonderheiten der Zehenendarterien des Pferdes auf. Sowohl bei jungen (6 Wochen) als auch bei älteren (26 Jahre) Pferden konnten Blutfluss-regulierende Einrichtungen in den Gefäßen in Form von Intimapolstern gefunden werden (STUDIER, 1951). Diese Polster ragen bis zu 1/3 in das Gefäßlumen hinein, sind meist an Gefäßabzweigungen zu finden und wurden als strömungsregulatorische Einrichtungen, Drossel- und Sperrvorrichtungen bezeichnet. Das Endothel ist im Bereich der Polster durch Bindegewebe und glatte Muskelzellen von der Membrana elastica interna abgehoben. Studier beschreibt 3 Typen von Intimapolstern, die unterschiedlich oft in Erscheinung treten. So überwiegt der muskulo-fibrilläre (59%) über den rein muskulären (28%) Typ. Am seltensten besteht das Polster aus Bindegewebe, glatten Muskelzellen und einem hohen Anteil an amorpher Interzellularsubstanz (18%) (STUDIER, 1951).

#### 2.1.4.1 Klinische Aspekte der Gefäßveränderungen beim Pferd

Heidenreich untersuchte die Morphologie der Blutgefäße der Lunge des Pferdes, da die "Dämpfigkeit" des Pferdes zuweilen auf Herz- und Blutgefäßerkrankungen

zurückzuführen ist (HEIDENREICH, 1960). Es konnte gezeigt werden, dass die Mehrzahl altersbedingter Veränderungen an Arterien des elastischen Typs zu finden sind. Eine allgemeine Dickenzunahme der Gefäßwände bis zum 5. Lebensjahr und eine bindegewebige Intimaerweiterung mit zunehmendem Alter sind Ergebnisse der Studie. Die Intimaverdickung im Alter ist einer Zunahme der subendothelialen Bindegewebsschichten, einer Elastikadegeneration und der Zunahme von kollagenen Fasern geschuldet. Hier beschriebene morphologische Veränderungen in der Gefäßwand zeigten sich an besonders beanspruchten Gefäßabschnitten (Aufgabelung des Gefäßrohres und Abzweigungen von Seitenästen) in verstärktem Maße und auch zu früheren Zeitpunkten als bei den restlichen Arterien (HEIDEN-REICH, 1960). Cranley beschrieb 1983 das Ausmaß der fokalen Kalzifikation der Lungenarterie an Vollblutpferden (CRANLEY, 1983). Eine Untersuchung über die Morphologie der Lungenarterien junger Vollblut-Rennpferde zeigte, dass es auch unabhängig vom Alter zu Gefäßveränderungen kommt (IMAIZUMI et al., 1989). Sklerotische und degenerative Veränderungen in der Tunica media sind hier eher auf die Nutzungsart als auf das Alter zurückzuführen. Diskussionen über mögliche Ursachen des morphologischen Erscheinungsbildes ergaben einen Zusammenhang zwischen den pathologischen Veränderungen der Vasa und Nervi vasorum und der daraus resultierenden Ischämie und Ödembildung in den Gefäßwänden. In direkter Nachbarschaft der sklerotischen Veränderungen an Lungenarterien und Aorten konnten an den Vasa vasorum folgende Veränderungen gezeigt werden: Vakuolisierung und Ödematisierung der glatten Muskelzellen, Erweiterung und Mineralisation der Membrana elastica interna, Muskelzelldegeneration mit kompensatorischer Kollagenproliferation und zum Teil auch Nekrosen in der Tunica media. Folgen dieser Prozesse sind Lumeneinengung und anschließende Minderperfusion der Gefäßwände. An den Nervenfasern konnten Schwellungen und auch partieller Verlust der Fasern dargestellt werden. Diese Erscheinungen wurden ausschließlich bei Rennpferden festgestellt. Ob die gesteigerte Hämodynamik bei Rennpferden, Blutdruckanstieg oder ein Verlust der Nervenfasern die Ursache sind, ist nicht geklärt (IMAIZUMI et al., 1989). Nakamura und Kollegen führten weitere Studien über die Kalzifizierung der Arterien bei Rennpferden durch. Hier konnte kein Zusammenhang zwischen der Nutzungsart (Rennpferd) oder des Alters und einer Kalzifizierung der Tunica media festgestellt werden, sodass Nakamura und Kollegen eine kongenitale Ursache vermuten (NAKAMURA et al., 1992). Neben den überwiegend untersuchten Hauptgefäßen Aorta, Lungenarterien

und Halsschlagader wurden nun auch peripher gelegene muskuläre Gefäße wie die Femoral- und Mesenterialarterie untersucht (ARROYO et al., 2008). Meist betroffene Struktur ist die Tunica media, die bei 82% der 101 untersuchten Pferde Formen der Gefäßmineralisierung zeigte. Diese Veränderungen zeigten sich unabhängig vom Alter, Geschlecht und Rasse der Pferde. Makroskopisch stellen sich diese Plaques primär an der Bifurkation der Lungenarterie als weiß-gelblich, harte Umfangsvermehrungen dar. Lichtmikroskopisch sind diese Bereiche gekennzeichnet durch eine Verdünnung, Fragmentierung und Mineralisierung der elastischen Fasern der Tunica media. Kollagene Faserbündel liegen unkoordiniert in der Gefäßwand und strahlen in alle Richtungen aus. Das Endothel in diesem Bereich ist ebenfalls verdickt und fragmentierte Bereiche ragen in das Gefäßlumen hinein. Veränderungen dieser Art konnten an peripheren Arterien des muskulären Typs nicht nachgewiesen werden. Basierend auf diesen Ergebnissen stimmen Arroyo und Kollegen (ARROYO et al., 2008) der Meinung von Imaizumi (IMAIZUMI et al., 1989) zu, dass eine offensichtliche Ursache nicht festzustellen ist.

### 2.1.5 Quantitative und qualitative Untersuchung der elastischen Fasern in der Gefäßwand

Die Anwendung von biochemischen Methoden zur Analyse der einzelnen Komponenten der Gefäßwand war Voraussetzung für eine Reihe weiter folgender Untersuchungen. Schon im Jahre 1950 entwickelten Neuman und Logan eine Methode zur Quantifizierung der Wandbestandteile von Arterien. Über die Bestimmung der Hydroxyprolinkonzentration im zu untersuchenden Gewebe konnten sie auf den prozentualen Anteil des Kollagens schließen (NEUMAN und LOGAN, 1950). Die strukturellen Komponenten der Tunica media sind systematisch angeordnet. Konzentrische dicke elastische Fibrillen sind untereinander durch ein kompliziertes Netzwerk feiner elastischer Fasern verbunden, die ebenfalls durchsetzt sind mit kollagenen Fasern und glatten Muskelzellen (KEECH, 1960; PEASE und PAULE, 1960; KARRER, 1961).

Harkness und McDonald führten Studien zur Bestimmung der Anteile an Elastin und Kollagen in Arterien des Hundes durch (HARKNESS, 1957). Eine Weiterentwicklung dieser Untersuchungen führten Apter und Mitarbeiter im Jahr 1966 durch.

#### KAPITEL 2. LITERATUR

Neben der prozentualen Bestimmung an elastischen Fasern, Kollagen und glatten Muskelzellen, wurde die Breite der elastischen Fasern ausgemessen und deren absolute Anzahl bestimmt (APTER, 1966). Ergebnis dieser Messung war, dass die absolute Anzahl an elastischen Fasern in verschiedenen Segmenten der Aorta keine Änderung erfährt, jedoch der prozentuale Anteil an Elastin im entsprechenden Segment von 46% auf 19% abfällt. Es wurde gezeigt, dass die morphologische Ausprägung der elastischen Fasern entscheidend ist für den Verlust an Elastizität der Arterienwand. Zusätzlich wurden phänotypische Unterschiede der elastischen Fasern im Verlauf der Gefäßwand beobachtet. So sind Fasern in Lumennähe dicker als im äußeren Bereich der Wand. Der Anteil an Muskelzellen steigt im Verlauf des Gefäßbaumes in den peripheren Gefäßen stark an. Um die elastischen ultrastrukturellen Gegebenheiten der Gefäßwände noch besser verstehen zu können, führten Farand und Kollegen 2007 eine Studie über die histomorphologischen Eigenschaften der elastischen Faser der Kaninchenaorta durch. In der Tunica interna sind die elastischen Fasern parallel zum Blutfluss ausgerichtet. Hingegen ist die Tunica media geprägt von perpendikular zur Blutflussrichtung orientierten elastischen Fasern. Die Autoren sehen diese geometrische Ausrichtung als Anpassung auf die wirkenden mechanischen Kräfte, wobei die Fasern der Tunica media eher den zirkulären (bedingt durch Pulswelle) und die Fasern der Tunica interna den longitudinalen (Wandschubspannung) Schubkräften entgegen wirken (FA-RAND et al., 2007). Mozersky fertigte transkutane Messungen an, um Aufschluss über den Grad der Gefäßwanddeformation (Änderung des Durchmessers) beim Auftreffen einer Pulswelle zu erhalten. Die sogenannte Blutdruck-Durchmesser-Beziehung (Pressure-Strain-Elastic Modulus) steigt mit zunehmendem Alter an. Somit konnte ein physiologischer Prozess der Gefäßversteifung im Alter gezeigt werden, der unabhängig von pathologischen Veränderungen der Gefäßwand vor sich geht (MOZERSKY et al., 1972). Als mögliche Ursachen sehen die Autoren den Hang der elastischen Fasern, im Alter zu Fragmentieren und Kalzifizieren. Ein Vergleich der Lungenstammgefäße mit der Aorta zeigte, dass der Verlust an elastischen Fasern im Alter von der Lokalisation im Tierkörper abhängig ist. So konnten in den Lungenarterien sowohl bei jungen, als auch bei älteren Individuen konstante Konzentrationen (ca. 26%) an elastischen Fasern nachgewiesen werden. Demgegenüber nahm die Konzentration in der Aorta im Alter von 48% auf 32% ab (Plank et al., 1980).
#### 2.1.5.1 Speziesassoziierte Unterschiede der Gefäßarchitektur

Um Aufschluss über mögliche Unterschiede der Gefäßwandarchitektur der Aorta thoracica bei verschiedenen Spezies zu erhalten, führten Wolinsky und Glagov Studien an 10 Säugetierspezies durch (WOLINSKY und GLAGOV, 1967). Bei allen Tieren wurden die Komponenten Elastin, Kollagen und glatte Muskelzellen als eine enge funktionelle Einheit (Lamellar Units) beschrieben, welche zirkulär in der Gefäßwand verlaufen und ein visko-elastisches Netzwerk bilden (WOLINSKY, 1967). Diese Vergleichsstudie zeigte, dass die Anzahl an konzentrisch um das Gefäß angeordneten Lagen an Lamellar units (funktionelle Einheit aus glatten Muskelzellen, elastischen und kollagenen Fasern) proportional zum Radius des Gefäßes ist, unabhängig von Spezies und Wanddicke. Innerer Gefäßdurchmesser der Aorta und Dicke der Tunica media steigen mit dem Körpergewicht der Tiere an. Jedoch ist dieser Anstieg beider Parameter bei allen Tieren die weniger als 50 kg wiegen sehr viel deutlicher als bei schwereren Tieren (Schwein, Schaf). Es besteht eine klare lineare Abhängigkeit zwischen Dicke der Tunica media und dem Diameter der Aorta bei Tieren. Je 1 mm Zunahme des Diameters stieg die Wanddicke um etwa 0,05 mm an, unabhängig von Gewicht und Spezies. Diese Ergebnisse werden als ein adaptives Verhalten der Arterien gegenüber gesteigerten Druckverhältnissen in den Gefäßen angesehen (WOLINSKY, 1967). Zwei Jahre später führten die gleichen Wissenschaftler erneut eine Vergleichsstudie durch, jedoch erweiterten sie ihre Untersuchung auf die Betrachtung der nutritiven Versorgung sowohl der Aorta thoracica als auch der Aorta abdominalis durch Vasa vasorum (WOLINSKY, 1969). Im Detail wird auf die Eigenversorgung der Gefäße im Kapitel 2.3 eingegangen. Es sei hier jedoch bereits erwähnt, dass es eine Zone in großen Arterien gibt, die avaskulär ist und somit ausschließlich durch Diffusion vom Lumen aus versorgt wird. Bei Tieren, deren Aortenwand weniger als 29 Lamellar units (entspricht etwa 0,5 mm) aufweisen, sind keine Vasa vasorum nachweisbar. Bei Schwein, Rind und Pferd konnten jedoch zur Eigenversorgung dienende Gefäße, die größer als 10µm im Durchmesser waren, im äußeren Gefäßwandbereich der Aorta abdominalis nachgewiesen werden (WOLINSKY, 1969). Gleiches gilt für die Aorta thoracica (WOLINSKY und GLAGOV, 1967).

# 2.2 Endothel

## 2.2.1 Definition und Funktionen des Endothel

Das Endothel bildet die innerste Auskleidung der Blut- und Lymphgefäße sowie der Herzinnenräume. Als einschichtige Zelllage gehört das Endothel, zusammen mit dem Stratum subendotheliale und der Membrana elastica interna, zur Tunica interna der Gefäßwände. Diese Zellen sind heterogen und komplex (RUBANYI, 1993). Neben den in Kapitel 2.1.1.5 beschriebenen anatomischen Eigenschaften des Endothels sind in Tab. 2.1 die funktionellen Merkmale zusammengefasst.

Endothelzellen besitzen die Fähigkeit sich sowohl morphologisch als auch funktionell anzupassen. Das Endothel unterliegt einer hohen metabolischen Aktivität und spielt somit eine wichtige Rolle in diversen physiologischen Prozessen. Es stellt eine permeable Barriere zwischen dem zirkulierenden Blut und dem angrenzenden Gewebe dar. Weiterhin ist es verantwortlich für die Adhäsion der Leukozyten an der Gefäßwand. Darüber hinaus ist das Endothel mit verantwortlich für die Regulation der Hämostase, der Angiogenese und des Gefäßtonus (PLENDL, 1992).

## 2.2.2 Endothelzellen - ein adaptiver Zellverbund

Der heterogene Charakter der Endothelzellen ist vielen äußeren und inneren Einflüssen, die auf das Endothel einwirken geschuldet. Aird beschrieb diese einwirkenden Faktoren in seiner Studie über die "räumliche und zeitliche Dynamik des Endothels" als Input, worauf die Endothelzellen mit einem entsprechenden Output reagieren (AIRD, 2005). Physiologische Reize biochemischer oder biomechanischer Natur, wie z.B. Gefäßdeformation und variierende Blutflussgeschwindigkeiten sind Voraussetzung für eine entsprechende Adaptation der Endothelzellen auf diese Reize. Form- und Größenveränderungen der Zellen in unterschiedlichen Gefäßen sind charakteristische Merkmale. So sind die Endothelzellen der Aorta von Ratten langgestreckt, schmal und in deren Längsachse ist in Flussrichtung ausgerichtet. Im Gegensatz dazu erscheinen die Endothelzellen der kaudalen Hohlvenen bei den gleichen Tieren oval bis dreieckig und wesentlich größer (KIBRIA et al., 1980). Das

Funktionelle Ein-	Merkmale	Quellen
teilung		
1. Regulation des	- Unterschiedliche Ausprägung der	(FISHMAN, 1982; BAZZONI und
Stoffaustausches/	Endothelzellen im Gefäßbaum, entspre-	DEJANA, 2004; DEJANA, 2004)
semipermeable	chend den speziellen Anforderungen des	
Barriere	versorgenden Gewebes	
	- Unterschiedliche Zellkontakte (tight-	
	adherens-gap junctions)	
2. Angiogenese	- Bildung neuer Blutgefäße aus bereits	(RISAU, 1997; MODLICH, 1996;
	bestehenden Gefäßsprossen.	MARTELLI et al., 2006)
	- Expression von Wachstumsfaktoren	
	(VEGF) v.a. im weiblichen Reprodukti-	
	onstrakt (Ovarien und Uterus)	
3. Hämostase	- Expression von Pro- (vWF) und Antiko-	(SENIS, 1996; LASZIK et al., 1997;
	agulantien (APC Rezeptor)	Үамамото et al., 1998)
4. Leukozyten	- E- und P-Selectin (Endothelzellligan-	(PICKER et al., 1991b,a; PETZEL-
transmigration	den)	BAUER et al., 1993)
	- ICAM, VCAM	
	- Findet fast ausschließlich in postkapillä-	
	ren Venulen statt	
5. high endotheli-	- Rezeptor gesteuerte Leukodiapedese in	(GALLATIN et al., 1983; Str;
al venules (HEV)	Lymphknoten und Peyer-Plaques	HOLZMANN et al., 1989)
6. Thermoregulati-	- NO Freisetzung aus Endothelzellen >	(TAYLOR et al., 1993)
on	Vasodilatation oberflächlicher Gefäße >	
	Wärmeabgabe	
7. Mikropinozyto-	- Endozytose via CAM- Cadherine	(Muro, 2004)
se	- Phagozytose	
	- Mikro- und Makropinozytose	
8. Regulation des	- Nitric Oxide (NO)	(Furchgott, 1980; Loscalzo
Gefäßtonus	- Endothelium-derived relaxing Factor	und WELCH, 1995)
	(EDRF)	

#### Tabelle 2.1 Funktionen des Endothels

adaptive Potential konnte besonders deutlich in einer klinischen Vergleichsstudie an arteriellen mit venösen Endothelzellen aufgezeigt werden. Kwei und Kollegen erstellten eine Anastomose zwischen dem venösen und arteriellen System (V. jugularis mit A. carotis) und betrachteten die morphologischen Veränderungen postoperativ. Strukturelle und funktionelle Reorganisation des Endothels und der Gefäßwand, verursacht durch die neue lokale biomechanische Umwelt, waren bereits nach kurzer Zeit nachweisbar (KWEI et al., 2004). Gleiche Ergebnisse konnten auf molekularbiologischer Ebene an isolierten menschlichen Endothelzellen erzielt werden (TSUKUROV, 2000). Eine im Jahr 1972 durchgeführte Studie zeigte, dass sich Endothelzellen und deren Zellkerne entlang der Fließrichtung des Blutes ausrichten. Die Zellen zeigen die Fähigkeit innerhalb von 10 Tagen auf eine veränderte Hämodynamik entsprechend zu reagieren und sich erneut in Richtung des Blutflusses auszurichten (FLAHERTY et al., 1972). Dieses strukturelle Remodeling, hervorgerufen durch hämodynamischen "Shear Stress", zeigt die adaptive Potenz dieser Zellen. Erst kürzlich konnte festgestellt werden, dass der Zellkern der Endothelzellen als Sensor fungiert, der die Richtung des Blutflusses und dessen Stärke wahrnehmen kann. Mikrotubuli und Golgi-Apparat richten sich zum Blutfluss hin vor den Zellkern aus. Die Polarisation gegen die Blutflussrichtung ist proportional zur Stärke der Fließgeschwindigkeit (TKACHENKO et al., 2013). Gleiche Ergebnisse konnten in in vivo Untersuchungen an Mäusen gezeigt werden, bei denen die Polarisation in stark durchbluteten Arterien größer war als in Venen (TKACHENKO et al., 2013).

## 2.2.3 Das Endothel als Modulator

Neben der Fähigkeit eine Gefäßkontraktion zu bewirken, zeigten Untersuchungen von Zerpa, dass die Endothelzellen beim Einfluss von Kälte einer zu starken Kontraktion der Zehenendarterien des Pferdes auch entgegen wirken können (ZERPA et al., 2010). Dieser relaxierende Einfluss des Endothels auf die Blutgefäße ist in den peripheren Widerstandsgefäßen deutlicher ausgeprägter als bei Leitungsgefäßen. Zu diesen Gefäßen zählen die kleinen Arterien und Arteriolen im Hufbeinträger, deren besondere Eigenschaft es ist, eine im Verhältnis zum Lumen sehr dicke Gefäßwand zu haben. Ergebnis seiner Studie ist, dass Endothelzellen einen modulatorischen Effekt auf die Vasokonstriktion kleiner Arterien ausüben. Eine endotheliale Dysfunktion verschiebt die Balance zwischen Vasokonstriktion und Vasodilatation zugunsten der Konstriktion, was im Bereich des Hufes die Gefahr der Hypoperfusion der digitalen Gefäße erhöht. Infolge dieses pathologischen Prozesses, sind Pollitt (POLLITT und MOLYNEUX, 1990) und Moore (MOORE, 1996) der Ansicht, dass es zur Ischämie, Nekrose und Ödemen der Lamina kommt, was auf Grund des Kompartmentsyndroms das klinische Bild der Hufrehe induziert. Zusätzlich fördert eine moderate Kühlung des Hufes die Ausschüttung von NO aus den Endothelzellen, wodurch sich die Gefäße weiten und einer Hufrehe entgegengewirkt werden kann (ZERPA et al., 2010). Diese Untersuchungen zeigen

die heterogene Funktionalität der Endothelzellen, entsprechend ihrer Lokalisation, den unterschiedlichen hämodynamischen Gegebenheiten und des Alters dieser Zellen. Im Rahmen der Entstehung von Katheterassoziierten Thrombophlebitiden der V. jugularis bei Pferden kann der aktivierende Effekt auf die Endothelzellen durch mechanische Stimulation des in der Vene verweilenden Katheters dargestellt werden. Geraghty und Kollegen haben in klinischen Studien gezeigt, dass sich gebildete Thromben nicht von der Gefäßwand lösen, solange der Katheter in der Vene verweilt. Grund ist vermutlich die ständige Stimulation der Endothelzellen durch den Katheter (GERAGHTY et al., 2009). Gefäßareale, die einem gesteigerten lamellären Blutfluss, also hohem Shear Stress, ausgesetzt sind, sind weniger gefährdet, Gefäßläsionen auf Grund endothelialer Dysfunktionen zu entwickeln, als weniger stark durchblutete Areale (DAVIS et al., 2001). Die Ablagerung von Plaques an Gefäßwänden ist beim Menschen nachweißlich positiv korreliert mit einem verminderten Blutfluss in diesen Arealen (KU, 1985). Neuere Untersuchungen konnten auch zeigen, dass ein gesteigerter Trainingsumfang sowohl beim Menschen (TADDEI et al., 2000) als auch bei Tieren (TANABE, 2003; SPIER et al., 2004) zu einer erhöhten Expression der eNOS führt und somit Gefäßerkrankungen vorgebeugt werden kann.

# 2.2.4 Zellkontakte

## 2.2.4.1 Typen von Zellverbindungen

Die Zellkontakte zwischen benachbarten Endothelzellen sowohl der Mikrogefäße (MUIR und PETERS, 1962; KARNOVSKY, 1967; BRUNS und PALADE, 1968; HÜTTNER und BOUTET, 1973; YEE und RAVEL, 1975), als auch mittelgroßen (HÜTT-NER et al., 1970) und großen Arterien (GERRITY und CLIFF, 1972; HÜTTNER und BOUTET, 1973; GIACOMELLI und WIENER, 1974) und Venen (SIMIONESCU et al., 1976) setzen sich zusammen aus tight junctions, adherens junctions und gap junctions.

## 2.2.4.1.1 Tight junctions

Tight junctions (lat. Zona occludens) sind komplexe Proteinstrukturen und dienen der Abdichtung des Interzellularspaltes. Beteiligte Proteine am Komplex sind Occludin (FURUSE et al., 1993), Claudin (FURUSE et al., 1998; LIEBNER et al., 2000), ZO-1 (FANNING et al., 1998), JAM (MARTÌN-PADURA et al., 1998) und Aktin (FANNING et al., 1998). Diese engen Verbindungen sorgen zusätzlich für die Aufrechterhaltung der Polarität der Endothelzellen und stellen eine parazelluläre Diffusionsbarriere für im Blut gelöste Teilchen und Wasser dar. Es besteht eine Permeabilität für Teilchen mit einem Radius  $\leq$  0,36 nm (3,6 Ängstöm), jedoch sind tight junctions absolut impermeabel für gelöste Stoffe mit einem Radius > 1,5 nm (15 Ängström) (MADARA, 1985). Beschaffenheit und Funktion des Gewebes bestimmen den Ausprägungsgrad der tight junctions zwischen benachbarten Zellen (FARQUHAR und PALADE, 1963). So sind zwischen den Endothelzellen der Lebersinusoide bei Laborratten keine tight junctions vorhanden (YEE und RAVEL, 1975). Ob tight junctions eine eher undichte oder sehr dichte Barriere darstellen, hängt zusätzlich von der Lokalisation und der Dicke der Verbindung selbst ab. Tiefer liegende (apikal-basale Ausdehnung) und dickere (Anzahl an Proteinkomplexen) Zellverbindungen weisen einen höheren Widerstand auf, als dünnere und oberflächlich gelegene tight junctions (CLAUDE und GOODENOUGH, 1973). Diese Tatsache ist den funktionellen Ansprüchen der einzelnen Gewebe geschuldet (CLAUDE, 1978).

#### 2.2.4.1.2 Anchoring junctions

Anchoring junctions (Verankerungsverbindungen, Adhärens- oder Adhäsionskontakte) sorgen durch die Vernetzung von zytoplasmatischen Zellfilamenten für mechanische Stabilität im Zellverbund (GOODING et al., 2004). Sie werden auch als Haftplatten (Desmosomen) bezeichnet und kommen in mehrschichtigen Epithelien zumeist als Macula (punktförmig) und Zonula (gürtelförmig) adherens vor. Der Terminus Haftplatte (adhesions plate), als Zellverbindung zwischen benachbarten Endothelzellen wurde erstmals durch Georg Palade 1954 eingeführt (PALADE und PORTER, 1954). Ankerverbindungen überbrücken einen Interzellulären Spalt von etwa 15-20 nm über eine Strecke von 0,2-0,5 µm (FARQUHAR und PALADE, 1963; NIESSEN, 2007). Für die Verankerung sorgen sog. Ankerproteine (Vinculin, Catenine, Alpha- Aktin), welche ein Transmembranprotein (Cadherin) an den jeweiligen Zellmembranen fixieren (NAGAFUCHI et al., 1994). Neben dem klassischen Cadherin vermittelten Verankerungskomplex verfügen Endothelzellen auch über einen Nectin-Afadin Komplex, der bei der Anordnung und Ausprägung weiterer Zellkontakte eine Rolle spielt (IRIE et al., 2004). Als Hemidesmosomen werden die Verbindungen zwischen Epithel- oder Endothelzellen und der Basallamina bezeichnet. Als Transmembranprotein sind hier gegenüber dem Cadherin der Desmosomen Untereinheiten (Alpha, Beta) der Integrine eingeschaltet (SONNENBERG et al., 1991; WANG et al., 2012). Das Auftreten von apikal gelegenen tight- und basal gelegenen adherens junctions (Zonula adherens) wird als Haftkomplex oder Schlussleiste bezeichnet.

#### 2.2.4.1.3 Gap junctions

Gap junctions (lat. Nexus) oder Tunnelproteine (Connexon) sind für die Kommunikation zwischen den Zellen verantwortlich. Sie stellen eine direkte Verbindung zwischen dem Zytoplasma zweier benachbarter Zellen her, wodurch ein ständiger Ionen- und Elektronenaustausch gewährleistet werden kann (GOODENOUGH und PAUL, 2009). Neben dem Austausch von winzigen Ionen können auch weitere Metaboliten und Botenmolekühle bis zu einer Größe von ~ 1 kDa passieren (SIMON und GOODENOUGH, 1998). Die Tunnelproteine haben eine Länge von 20 nm, einen inneren Durchmesser von 2 nm und setzten sich aus 6 integralen Membranproteinen (Connexinen) zusammen (BRINK et al., 1997). Die Lücke (Gap) die zwischen den Biomembranen benachbarter Endothelzellen im Gereich der Gap junction verbleibt, beträgt 2-4 nm (HÜTTNER und BOUTET, 1973; GOODENOUGH und PAUL, 2009). Die Kommunikation zwischen den Zellen ist regulierbar, indem die Kanäle in einem geöffnetem oder eher geschlossenem Zustand vorliegen. Entscheidend ist hierbei die strukturelle Ausprägung der einzelnen Connexine, insbesondere C-43 und C-45 (MARTINEZ, 2002; O'DONNELL et al., 2014).

#### 2.2.4.2 Besonderheiten endothelialer Zellkontakte

An die Zellverbindungen der Endothelzellen werden besondere Ansprüche gestellt. Das koordinierte Öffnen und Schließen der Zell-Zellverbindungen, sorgt neben dem transzellulären Stoffaustausch (VVO- Vesikel-Vakuoläre Organellen) (DVORAK et al., 1996) für einen den Bedürfnissen angepassten interzellulären Stofftransport (STEVENS et al., 2000). Die Ausprägung dieser Komplexe ist stark vom Gefäßtyp, dem Bedarf an Permeabilität der Organe und der einzelnen Organsegmente abhängig (QIAO und BHATTACHARYA, 1991). Im arteriellen Schenkel des Gefäßsystems sind die tight junctions zahlreich anzutreffen, komplex strukturiert (weniger stark bei Arteriolen) und werden regelmäßig durch gap junctions unterbrochen. Weniger stark ausgeprägt sind die tight junctions im venösen Teil des Blutgefäßsystems, besonders in den postkapillären Venulen. Gap junctions sind in Venen, im Vergleich zu den Arterien, in geringem Maße ausgebildet (SIMIONESCU et al., 1975; SIMIONESCU und SIMIONESCU, 1991). Im Bereich der Kapillaren, besonders der Sinusoide sind die Zellkontakte nur spärlich ausgebildet, diskontinuierlich und zeigen ein punktuelles Verteilungsmuster. Die Verbindung benachbarter Endothelzellen ist hier auf eine kleine Fläche begrenzt und ist strukturell von echten tight junctions abzugrenzen (YEE und RAVEL, 1975). Neben mechanischen Einflüssen sind funktionelle Eigenschaften ebenso entscheidend für die quantitative Ausprägung der tight junctions. Dies zeigt sich an der Vielzahl von tight junctions zwischen Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke (REESE und KARNOVSKY, 1967). Endothelzellen besitzen im Gegensatz zum Epithel keine Desmosomen. Ursächlich liegt hier die fehlende Expression von Desmoglein, Desmocollin und Keratin zu Grunde (SCHWARZ et al., 1990). Im Unterschied zu den Epithelzellen, bei denen die tight junctions ausschließlich an der apikalen Seite der Zelle lokalisiert sind (FAR-QUHAR und PALADE, 1963), finden man diese bei den Endothelzellen über die gesamte Kontaktfläche (apikal-basolaterale Ausrichtung) zwischen benachbarten Zellen. Abwechselnd sind zwischen den tight junctions der Endothelzellen auch vermehrt adherens junctions ausgebildet (RISAU und RUBANYI, 2003; DEJANA, 2004).

Jedoch gibt es auch hier Unterschiede in der Anzahl der ausgebildeten tight junctions entsprechend des zu betrachtenden Gefäßes und des Grades an Permeabilität (SIMIONESCU und SIMIONESCU, 1991). Eine Besonderheit der adherens junctions von Endothelzellen besteht in der Expression eines endothelspezifischen Cadherins (VE- Cadherin, vascular endothelial- cadherine), welches als Marker der endothelialen adherens junctions in der Immunhistologie eingesetzt wird (LAMPUGNANI et al., 1992). Neben den tight- und adherens junctions, wurde ein weiteres interzelluläres Haftprotein (PECAM-1; CD31) entdeckt, welches auch auf Oberflächen der Leukozyten und Thrombozyten ausgebildet wird (MÜLLER et al., 2002). Bedingt durch eine im Alter verminderte Expression an Haftproteinen (Occludin, Claudin-5), welche für den Zell-Zell Kontakt und somit für die Integrität des Zellverbandes verantwortlich sind, kommt es auch zum Verlust der Barrierefunktion dieser Zelllage mit steigendem Alter der Endothelzellen (KROUWER et al., 2012). Für den Anstieg an Permeabilität bedingt durch die Minderfunktion als Barriere sind tight junctions im höheren Maße verantwortlich als adherens junctions (KROUWER et al., 2012).

# 2.3 Vasa und Nervi vasorum

## 2.3.1 Vasa vasorum

Die ersten anatomischen Berichte über die ernährenden Gefäßchen, welche die Wandungen großer Gefäße durchziehen, sind auf das Jahr 1835 datiert (BURDACH, 1835). Die Vasa vasorum versorgen sowohl die Gefäßwand der Arterien (HEISTAD et al., 1981) als auch der Venen (TONAR et al., 2012) mit Nähr- und Sauerstoff. Technischer Fortschritt wie die 3D Mikro Computer Tomographie brachten neuen Einblick in den heterogenen Charakter der Vasa vasorum. Heute unterscheidet man drei Typen von Vasa vasorum, entsprechend des Ursprunges der Gefäße (GöSSL et al., 2003). Als Vasa vasorum interna werden Gefäße bezeichnet, die ihren Ursprung im zu versorgenden Hauptgefäß (Muttergefäß) selbst finden. Liegt die Quelle in anderen Gefäßen, als das zu versorgende, spricht man von Vasa vasorum externa. Diese sind in den äußeren 2 /3 der Tunica media und in der Tunica externa anzutreffen (HEI-STAD et al., 1981). Als venöse Vasa vasorum bezeichnet man diejenigen Gefäße, die aus der Arterienwand in die parallel verlaufende Vene einmünden (GöSSL et al., 2003). Die einzelnen Typen sind jedoch nicht separat zu betrachten, vielmehr stehen sie stets untereinander in Verbindung und bilden Anastomosen aus (GöSSL

et al., 2003). Neben dem Ursprung der Vasa vasorum, wird entsprechend des Verlaufes der Gefäße in Vasa vasorum 1. Klasse bzw. 2. Klasse unterschieden. So laufen Vasa vasorum 1. Klasse longitudinal, zwischen der Adventitia und Tunica media des Hauptgefäßes, aus dem sie auch ursprünglich entstammen. Kleinere Åste die von den Vasa vasorum 1. Klasse abgehen und das Hauptgefäß zirkulär umgeben, werden als Vasa vasorum 2. Klasse bezeichnet (KWON et al., 1998). Grundsätzlich besteht eine dichotome Gefäßaufzweigung, wie sie auch im normalen Blutgefäßsystem bekannt ist (GÖSSL et al., 2003). Entsprechend des Bedarfs an Sauerstoff erfolgt eine uniforme Aufzweigung in der Gefäßwand. Mit jeder Verzweigung vermindert sich der innere Gefäßdurchmesser bis zur Kapillargröße (MULLIGAN-KEHOE, 2010). Auch die Gefäßwand der Vasa vasorum selbst unterliegt einem strukturellen Wandel. Größere in der Tunica externa befindliche Gefäße (Vasa vasorum externa) zeigen mehrere Lagen glatter Muskelzellen, die sich beim Eintritt in die Tunica media auf wenige, bis auf schließlich nur noch eine Lage reduzieren (WOLINSKY und GLAGOV, 1967). Ausgestattet mit glatten Muskelzellen, vermögen es die Vasa vasorum ebenso wie die Arteriolen des Blutgefäßsystems auf vasoaktive Stimuli zu reagieren (WILLIAMS et al., 1988). Die kleinsten Vasa vasorum werden als endotheliale Kanälchen beschrieben und zeigen den Aufbau von Kapillaren (WOLINSKY, 1967).

#### 2.3.1.1 Heterogenität der Vasa vasorum

Die Anzahl der zur Eigenversorgung von Hauptgefäßen dienenden Vasa vasorum ist, verteilt über das Blutgefäßsystem, sehr variabel (GALILI et al., 2004). So ist grundsätzlich zu sagen, dass ab einer bestimmten Wanddicke die Vasa vasorum für eine adäquate Versorgung der Tunica media verantwortlich sind. Dies konnte durch Studien bewiesen werden, in denen durch Ligatur der adventitiellen Vasa vasorum, Nekrosen im mittleren Drittel der Tunica media ausgelöst wurden (HEISTAD und MARCUS, 1979). Demzufolge ist die zu versorgende Fläche (Vessel Wall Area) der Gefäßwand und deren Bedarf an Sauerstoff entscheidendes Kriterium für die Ausbildung der Vasa vasorum (BARKER et al., 1993). Peripher gelegene Arterien (A. femoralis) zeigen im Vergleich zu herznahen Gefäßen (Aorta, Koronararterien) eine geringere Anzahl an Vasa vasorum. Entsprechend ist auch eine geringere Dichte an Vasa vasorum in peripheren Gefäßen zu verzeichnen (GALILI et al., 2004). Entwicklung und Ausgestaltung der Vasa vasorum in den Arterienwänden sind von vielerlei Gegebenheiten abhängig und dementsprechend heterogen im Organismus verteilt (STEUBESAND, 1959). Art und Verteilung der Gefäßwandbestandteile (SMC, elastische- und kollagene Fasern), Wandstärke und Gefäßkaliber, intimale Filtrationsfläche und der Blutdruck bestimmen den Ausprägungsgrad der Vasa vasorum (STEUBESAND, 1959). Neben diesen morphologischen Aspekten haben auch Speziesunterschiede (WOLINSKY und GLAGOV, 1967; MCGEACHIE, 1982), Erkrankungen des Gefäßsystems (z.B. Atherosklerose, Vaskulitis) (KWON et al., 1998; MORENO et al., 2004; DRINANE et al., 2009), Alter und Geschlecht (LUSZIG und MAK, 1974) einen Einfluss auf die quantitative Ausbildung der Vasa vasorum.

#### 2.3.1.2 Critical Depth

Neben der unterstützenden Versorgung durch Vasa vasorum vollzieht sich die nutritive Versorgung der Arterienwände durch lumenseitige Diffusion. Experimentell konnte gezeigt werden, dass die Diffusionsleistung aber auf die inneren Schichten der Arterienwände begrenzt ist (WERBER und HEISTAD, 1985). Demgegenüber sind Vasa vasorum nicht in der Lage, den Blutfluss bis tief in die Tunica media zu gewährleisten, da hier der intramurale Druck den vorherrschenden Druck in den Vasa vasorum übersteigt und das Gefäß komprimiert (RITMAN und LERMAN, 2007). Entsprechend dieser Grundlage, unterscheidet man eine vaskuläre und eine avaskuläre Zone (auch subintimale Media Zone) in der Arterienwand. Beim Pferd ist die Grenze zwischen vaskulärer Tunica media und avaskulärer Tunica interna nach Gefäßinjektion mit Gelatine, als abrupte Linie zu erkennen (WOODRUFF, 1926). Der Bereich der avaskulären Zone steigt bei noch wachsenden Tieren mit dem Alter an und zeigt schließlich bei adulten Tieren nur noch leichten Anstieg entsprechend einer Gewichtszunahme (WOLINSKY und GLAGOV, 1967). Wolinsky und Glagov (1967) untersuchten die Aortenwand von 12 verschiedenen Spezies auf deren Gehalt an Vasa vasorum. Besteht die Gefäßwand aus weniger als 29 Zelllagen sind keine Vasa vasorum nachweisbar. Bei allen untersuchten Tieren und auch beim Menschen sind, ab einer Wanddicke von  $\geq$  29 Zelllagen, Vasa vasorum nachgewiesen worden. Dickere Gefäßwände werden zusätzlich durch die Perfusion der Vasa vasorum versorgt. Bereits 1951 untersuchte Geiringer sowohl die Aorten als auch die Koronargefäße von Menschen und schilderte

die Abwesenheit von Vasa vasorum im lumenseitigen Bereich der Tunica media. Er prägte den Begriff "critical depth". Seine Vermessungen ergaben eine Strecke von 0,5 mm in der Aorta und 0,35 mm in den Koronararterien, welche durch lumenseitige Diffusion versorgt werden kann (GEIRINGER, 1951). Überschritt die Wanddicke diese "kritische" Grenze wurden auch Vasa vasorum nachgewiesen. Pathologische Prozesse, wie die Entstehung atherosklerotischer Plaques in den Gefäßwänden, führen zur Verdickung dieser (insbesondere der Tunica interna) und dementsprechend zu einer Überschreitung des Potentials an lumenseitiger Diffusion (critical depth). Resultierende Ischämie im Bereich der intimalen Plaques führen zur Neovaskularisation (Sprossung) aus bereits in der Tunica media oder Tunica externa befindlichen Vasa vasorum, welche die Membrana elastica interna penetrieren und in den Bereich der Intimaverdickung vordringen (SUBBOTIN, 2012).

#### 2.3.2 Nervi vasorum

Die Innervation der Blutgefäße erfolgt sowohl über marklose als auch markhaltige Nervenfasern, die aus verschiedenen Richtungen an die Gefäße heranziehen und sich geflechtartig in der Wand der Gefäße verzweigen (WOOLLARD und WEDDELL, 1935). Feinste markarme Nervenfasern sind in der Tunica media meist nur kleiner Arterien zu finden, wohingegen markreichere Fasern im äußeren Bereich der Tunica externa lokalisiert sind (HAGEN, 1969). Die Art der Verzweigung variiert zwischen Arterien, Venen und Kapillaren. Michailow beschrieb Jahre zuvor (1908) drei Nervengeflechte in den Wandungen von Arterien. Ein oberflächliches, aus marklosen Nervenfasern bestehendes Geflecht in der Tunica externa bezeichnet er als "Adventitialnervergeflecht". An der Grenze zwischen Tunica externa und Tunica media beschreibt er ein "Grenznervengeflecht". Als drittes konnte er Nervenfasern in der Muskelschicht (Tunica media) der Arterien darstellen, wobei deren Ausläufer knopfartig auf den Muskelzellen enden, mit der Bezeichnung "Muskelnervengeflecht" (MICHAILOW, 1908). Die Nervenfasern der letztgenannten beiden Geflechte entspringen aus dem Adventitialnervengeflecht. Einen ähnlichen dreiteiligen Aufbau der Nervengeflechte um die Arterien beschrieb Duncan 1977 Jahrzehnte später. Große, (myelinisierte) primäre Nervenfasern liegen außerhalb der Adventitia. Mittelgroße, (nicht myelinisierte) sekundäre Fasern dringen tief in

die Adventitia ein. Einen Plexus bilden kleine (nur mit Schwann-Zellen umgebene) tertiäre Nervenfasern an der Grenze von Adventitia zur Tunica media (DUNCAN, 1977). Neuere Untersuchungen an der menschlichen A. mesenterialis zeigen jedoch, dass die Nervi vasorum der Arterien zumeist auf die Adventitia beschränkt sind und außerhalb der Membrana elastica externa liegen. Im Gegensatz dazu sind in der Venenwand die Nervenfasern über die gesamte Tunica media verteilt anzutreffen (BIRCH et al., 2008). Die Innervation der Blutgefäße erfolgt autonom und die parallel, perpendikular und schräg zu den Gefäßen verlaufenden Nervenstränge beinhalten sympathische und parasympathische Faserqualitäten (SCHENK, 1968; DUNCAN, 1977). Schenk untersuchte, im Gegensatz zu Birch, die nervale Versorgung der Gefäße diverser Organe von Hund und Katze mit ähnlichem Ergebnis. Größere Arterien des muskulären Typs haben ein ausgeprägtes perivaskuläres Nervengeflecht, dass in erster Linie in der Tunica externa anzutreffen ist. Nur vereinzelt ziehen dünne Nervenfasern in die Tunica media und versiegen hier nach kurzer Strecke. Bei mittelgroßen und kleinen Arterien konnten sporadisch Nervenfasern, bis tief in der Tunica media und zum Teil bis an die Membrana elastica interna heran dargestellt werden. In der Tunica externa von Arteriolen laufen die Nervenfasern zum Teil isoliert oder bilden einen engmaschigen Plexus. Hier stehen die Nervenfasen in engem Kontakt zu glatten Muskelzellen oder zu Perizyten (SCHENK, 1968). Der Abstand der Nervenendigungen zu den glatten Muskelzellen variiert zwischen Arterien und Venen beträchtlich. So beträgt der Abstand bei Arterien etwa 2 µm und bei Venen nur 0,05 µm. Grundsätzlich besteht eine große Differenz zur Dichte der Nervi vasorum in Arterien und Venen. Die Dichte an Nervi vasorum in der Arterienwand beträgt 41/mm<sup>2</sup> wohingegen die der Venen bei 227/mm<sup>2</sup> liegt (BIRCH et al., 2008). Ein Zusammenhang zwischen dem inneren Gefäßdurchmesser und der Dichte an Nervi vasorum in der Tunica externa konnte nicht aufgezeigt werden, jedoch sind regionale Unterschiede in der Dichte der Nervi vasorum, an verschiedenen Gefäßabschnitten deutlich zu erkennen (BLEYS et al., 1996b). Duncan konnte jedoch an diaphysären Arterien bei Kaninchen nachweisen, dass eine positive Korrelation zwischen der Größe des Gefäßes und der Dichte an Nervi vasorum besteht (DUNCAN, 1977). Untersuchungen zur Abhängigkeit des Alters und der Ausprägung an Nervi vasorum zeigten, dass mit zunehmendem Alter die Dichte der Nervi vasorum in den Gefäßwänden reduziert wird (BLEYS et al., 1996a). Neben den Nervenfasern sind auch weitere sensible Endapparate der Gefäßwände beschrieben worden. So ist die Anwesenheit

von Vater-Pacinischen Körperchen in der Adventitia diverser Gefäße des Menschen und bei verschiedenen Säugetierarten nachgewiesen worden (RACHMANOW, 1901; WOOLLARD und WEDDELL, 1935).

# 3 Material und Methoden

# 3.1 Material

Für die histomorphologische und ultrastrukturelle Untersuchung klinisch relevanter Blutgefäße beim Pferd wurden Blutgefäßabschnitte von insgesamt 35 Tieren entnommen. Eine Übersicht der untersuchten Tiere ist in Tabelle 3.1 dargestellt. Der Haupanteil der Tiere (n=23) stammte von einem privaten Rossschlächter aus Genthin. Ebenfalls von privaten Schlachtunternehmen aus Prenzlau und Heinsdorf standen 3 bzw. 5 Pferde zur Verfügung. Im Rahmen der anatomischen Situsseminare des Institutes für Veterinär Anatomie konnten Proben von weiteren 4 Tieren für die Untersuchungen genommen werden. Alter, Geschlecht, Rasse und Gewicht wurden den Equidenpässen entnommen. Grund für die Schlachtung bzw. Euthanasie der einzelnen Pferde waren zum überwiegenden Teil Fleischgewinnung (85,7%), daneben chronische Erkrankungen des Respirationstraktes (8,6%) sowie des Bewegungsapparates (5,7%).

Es wurden bei allen Pferden die medial gelegene A. digitalis palmaris com. II der distalen linken oder rechten Vordergliedmaße entnommen. Um eine exakt replizierbare Probengewinnung bei jedem Pferd zu gewährleisten, wurde die A. digitalis palmaris com. II in ihrem distalen Verlauf an folgenden Stellen freipräpariert und entnommen: zunächst wurde die Haut mit einem Skalpell durchtrennt und das subcutane Fettgewebe entfernt. Die Zielstruktur wurde mit zwei chirurgischen Pinzetten stumpf freipräpariert, um ein Anschneiden des Gefäßes zu vermeiden und die später zu untersuchende Gefäßwand zu schonen. Nach Sichtbarwerden der A. digitalis palmaris com. II orientierte man sich am Caput des Os metacapale II (mediales Griffelbeinknöpfchen) und durchtrennte das Gefäß 4 cm proximal dieser Struktur. Eine Länge von 1-1,5 cm der Gefäßringsegmente sollte gewährleisten,

Pferd Nr.	Alter in Jahren	Geschlecht	Masse	Typ/Besonderheit
1	16	W	480 Kg	WB/COB
2	15	m(k)	450 Kg	WB/COB
3	4	w	300 Kg	WB/COB
4	3	m	300 Kg	WB
5	5	w	350 Kg	WB/Equines Sarkoid
6	17	w	550 Kg	WB/Springpferd
7	14	W	700 Kg	WB/Lahmheit
8	24	m	550 Kg	WB/Altersschwäche
9	2	m	400 Kg	WB
10	20	m	550 Kg	WB
11	17	W	450 Kg	WB/Hufrehe
12	12	w	500 Kg	WB
13	8	w	450 Kg	WB
14	14	m	550 Kg	WB
15	1	w	300 Kg	KB
16	1	w	300 Kg	KB
17	1	w	330 Kg	KB
18	18	W	170 Kg	Pony
19	21	w	200 Kg	Pony
20	14	W	350 Kg	WB
21	19	W	300 Kg	WB
22	20	m(k)	350 Kg	WB
23	23	w	400 Kg	WB
24	12	w	400 Kg	WB
25	2	m	430 Kg	WB
26	12	w	420 Kg	WB
27	14	w	540 Kg	WB
28	6	w	300 Kg	WB
29	6	w	300 Kg	WB
30	1	w	200 Kg	WB
31	6	w	350 Kg	WB
32	7	w	400 Kg	WB
33	21	w	450 Kg	WB
34	7	w	130 Kg	Pony
35	13	W	250 Kg	Pony

**Tabelle 3.1** Untersuchungspool (n=35),WB-Warmblüter; KB-Kaltblüter, COB- Chronisch obstruktive Bronchitis, m- männlich, m(k)- männlich (kastriert), w- weiblich

dass die Fixierlösung (4% Formaldehyd) schnell in alle Bereiche des entnommenen Gewebes diffundiert und Gewebsveränderungen oder autolytischen Prozesse minimiert werden. Die Entnahme der A. digitalis palmaris med. erfolgte auf gleiche Weise. Als orientierende Strukturen dienten jedoch nun die gut palpierbaren Ossa sesamoidea proximalia (Sesama bina) als obere und die Tuberositas flexoria der medialen Phalanx als untere Grenze. Der Mittelpunkt zwischen diesen Grenzlinien befindet sich in der Mitte der Fesselbeuge, was auch die Entnahmestelle darstellte. Die Präparation und Entnahme der A. dorsalis phalangis med. (dorsale Kronbeinarterie) erwies sich als schwierigste Aufgabe. Sie stellt die Anastomose zwischen der medialen resp. lateralen Zehenendarterien (A.digitalis palmaris med. resp. lat.) dar. Die Kronbeinarterie verläuft zuerst an der Innenfläche des Hufknorpels, zieht dann schräg dorsoproximal, unterkreuzt die Strecksehne und anastomosiert mit dem entsprechenden Gefäß der Gegenseite. Entnahmeort war der Bereich auf Höhe des Hufknorpels. Zum besseren Verständnis und bildlicher Darstellung der Entnahmeorte wurde bei einem Pferd postmortal Bariumsulfat in die zuvor freipräparierte A. digitalis palmaris com. II injiziert und Röntgenaufnahmen angefertigt (Abb. 3.1).

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung der Endothelzellen wurden zusätzlich Gefäßproben aus der Vena jugularis und den distalen Arterien von 3 Tieren entnommen. Für die Vena jugularis galt die Übergangsstelle vom oberen zum mittleren Drittel des Halses als Ort der Entnahme.

## 3.1.1 Probengewinnung am Schlachthof

Ziel bei der Probengewinnung war es, die Blutgefäße so schnell als möglich in eine Fixierlösung zu überführen, um mögliche postmortale Veränderungen zu vermeiden. Die Pferde wurden mit dem Bolzenschuss betäubt und unverzüglich mit einem Schnitt durch beide Halsschlagadern ausgeblutet. Anschließend wurden die Vorderextremitäten im Carpalgelenk abgesetzt und zur Verfügung gestellt. Somit wurde gewährleistet, dass zwischen dem Eintritt des Todes und der Präparation der Gefäße mit sofortiger Fixierung in 4 % Formaldehyd, weniger als 10 min vergingen.



Abbildung 3.1 Röntgenbild der Zehe eines Pferdes (Tier stammt nicht aus Untersuchungspool, Alter 6 Jahre, Warmblut), Linke Vordergliedmaße, laterolateraler Strahlengang; postmortale Kontrastmittelaufnahme mit Bariumsulfat zur Darstellung der mittleren und distalen Entnahmestellen, Pfeil kurz- Entnahmestelle der A. digitalis palmaris med.; Pfeil lang- Entnahmestelle der A. dorsalis phalangis med.

# 3.1.2 Probengewinnung am Institut für Veterinäranatomie

Im Unterschied zum Schlachthof wurden die Tiere im Institut für Veterinäranatomie der Freien Universität Berlin durch eine intravenöse Applikation von Xylazin und Ketamin in tiefe Narkose versetzt und anschließend ausgeblutet. Die Präparation der Blutgefäße erfolgte auch hier, analog dem in Paragraph 3.1.1 erläuterten Schema, nach Eintritt des Todes.

# 3.2 Methoden

## 3.2.1 Lichtmikroskopie

Zur lichtmikroskopischen Untersuchung wurden die 1-1,5 cm langen Gefäßringsegmente, in 4% Formaldehyd für 1-2 Wochen, fixiert. Die anschließende Entwässerung der Präparate erfolgte durch Überführen in eine aufsteigende Alkoholreihe (50-70-90-100 Prozent). Die nun entwässerten Gewebestücke wurden in flüssigem Paraffin eingebettet und manuell in Ausgießschälchen überführt, in denen sie bei 4°C aushärteten und zunächst gelagert wurden. Nach Aushärtung des Paraffins konnten transversale Serienschnitte mittels eines Schlittenmikrotoms (Fa. Reichert-Jung, Heidelberg) angefertigt werden. Die angefertigten Schnitte wurden auf Objektträger überführt. Die Schnittdicke betrug 8 µm. Für die folgenden histologischen Färbemethoden wurden die Schnitte zunächst mit Xylol entparaffiniert, über eine absteigende Alkoholreihe in Aqua. dest verbracht und entsprechend gefärbt. Nach den verschiedenen Färbungen erfolgte erneut eine Entwässerung über eine aufsteigende Alkoholreihe, Klärung in Xylol und Eindeckelung mit Eukitt. Für die lichtmikroskopische Untersuchung wurden von jedem in Kap. 3.1 aufgeführten Gefäß 25 Objektträger mit jeweils 3 Schnitten angefertigt. Von diesen 75 Schnitten wurden jeweils 20x HE Färbungen, 20x RFK und 20x Färbungen nach Volkmann-Strauß erstellt. Für die Markierung mit SMA (Smooth muscle Aktin) standen jeweils 15 Schnitte zur Verfügung. Für die histomorphologische Untersuchung standen somit pro Pferd 225 histologische Schnitte für die Auswertung zur Verfügung. Bei einem Untersuchungspool von 35 Pferden wurden insgesamt 7875 Schnittpräparate histomorphologisch betrachtet.

#### 3.2.1.1 Histologische Färbemethoden

Sowohl für die quantitativen als auch für die qualitativen Messungen wurden vier histologische Färbemethoden verwendet. Zur Darstellung sehr feiner elastischer Fasern in den Gefäßwänden wurden, mit Hilfe des Softwareprogramms NIS-Elements AR 3.2., die Farbtöne der histologischen Schnittpräparate invertiert. Diese Bilder sind jeweils als invertierte Bilder gekennzeichnet und stellen keine separate histologische Färbemethode dar.

**3.2.1.1.1 Hämatoxylin und Eosin (HE)** Diese standardisierte und wichtigste Färbung in der Histologie dient der differenzierten Darstellung von basophilen und azidophilen Zellbestandteilen (MULISCH und WELSCH, 2010). Zellkerne, ribosomale Nukleinsäuren und Knorpelgrundsubstanz stellen sich dunkelblau dar und heben sich somit von den rot gefärbten Kollagenfasern, Erythrozyten und dem Zytoplasma deutlich ab (Abb. 3.3). Zunächst werden die Schnitte mit Xylol entparaffiniert und werden anschließend in eine absteigende Alkoholreihe überführt. Danach erfolgt die Färbung in Hämatoxylin-Lösung für etwa 10 min, bevor die Schnitte zum Bläuen in Leitungswasser überführt werden. Anschließend werden die Objektträger in 0,5% Eosin für ca. 1 min. versetzt. Nun erfolgt die Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe. Vor dem Eindeckeln mit Eukitt werden die Schnitte in Xylol geklärt.

**3.2.1.1.2 Resorcin-Fuchsin-Kernechtrot (RFK)** Zur selektiven Darstellung der elastischen Fasern wurde die RFK-Färbung nach Weigert verwendet. Unter dem Lichtmikroskop erscheinen Muskelfasern gelb, Kollagenfasern rot und elastische Fasern tiefbraun bis schwarz (MULISCH und WELSCH, 2010); (Abb. 3.3).

**3.2.1.1.3 Elastin-, Muskulatur-, und Kollagen-Färbung nach Volkmann-Strauß** Diese Färbemethode wurde 1934 von R.v. Volkmann und F. Strauß in der "Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und mikroskopische Technik"beschrieben. Da zur besseren Sichtbarmachung der elastischen Fasern das ursprüngliche Färbeverfahren in der vorliegenden Arbeit modifiziert wurde, soll das Prozedere hier ausführlich dargestellt werden (Tab. 3.3).

Bei dieser Variante stellen sich die Zellkerne und die Muskulatur rotviolett, die elastischen Fasern schwarz-blau-violett und die kollagenen Fasern grün dar (Abb. 3.3). Die elastischen Fasern sind im Gegensatz zur RFK-Färbung nach Weigert wesentlich deutlicher zu erkennen. Daher wurde für die quantitative Bestimmung der

Verwendete Substanz	Dauer
1. Entparaffinieren in Xylol	20 min.
2. Ethanol 100%	1 min.
3. Ethanol 96%	1 min.
4. Ethanol 80%	1 min.
5. Resorcin-Fuchsin	15 min.
6. Leitungswasser	1 min.
7. Aqua dest.	1 min.
8. Eisenhämatoxilin Weigert	2-3 min.
9. Leitungswasser	10 min.
10. Pikrinsäure-Thiazinrot	5 min.
11. Aqua dest.	3 sek.
12. Ethanol 96%	30 sek.
13. Ethanol 96%	30 sek.
14. Ethanol 100%	30 sek.
15. Xylol	max. 30 min.
16. Eukitt	Eindeckeln

Tabelle 3.2 Färbeprotokoll: Färbung Resorcin-Fuchsin-Kernechtrot

elastischen Fasern in der Tunica media ausschließlich die Färbung nach Volkmann-Strauß verwendet.

**3.2.1.1.4 Smooth Muscle Actin** Zur separaten Darstellung glatter Muskelzellen verwendete ich den Nachweis von Smooth Muscle Aktin. Bei diesem Verfahren wird glattmuskuläres Aktin in den Gefäßwänden sichtbar gemacht. Glattmuskuläres Aktin wird ebenso in Myofibroblasten und Myoepithelzellen exprimiert. Die glatten Muskelzellen stellen sich braun dar (Abb. 3.2). Smooth Muscle Aktin Antikörper dienen neben der Detektierung der Vasa vasorum in der Tunica externa auch der Sichtbarmachung glatter Muskelzellen und Myofibroblasten in der Tunica interna (falls vorhanden). Vasa vasorum in der Tunica media lassen sich mit diesem Verfahren nur bedingt darstellen, da die umliegenden glatten Muskelzellen der Tunica media ebenfalls durch die Antigen-Antikörper-Reaktion sichtbar gemacht werden. Die in Tab. 3.4 unter Nr. 3 aufgeführte Antigendemaskierung soll kurz erläutert werden. Smooth Muscle Aktin ist ein hochmolekulares Protein welches mit spezifischen Epitopen (determinante Gruppen auf Antigenen) Bindungen

Arbeitsanleitung/Substanzen	Dauer
1. Entparaffinieren in Xylol	20 min.
2. Entwässerung bis 80% Ethanol	1 min.
3. Resorcin-Gentianviolett	1-12 h
4. Spülen in Leitungswasser	1 min.
5. Differenzierung in 70% Alkohol	1 min.
6. Spülen in Leitungswasser	1 min.
7. Azokarmin G bei 60-65°C	15-30 min.
8. Abkühlen bei Raumtemperatur	10 min.
9. Spülen in Aqua dest.	1 min.
10. Differenzierung in 90% Anilin-Alkohol	10 min.
11. Waschen in Essigsäure-Alkohol	1 min.
12. Beizen in 5% wässriger Lösung (einmal Lösung wechseln)	1 h
13. Spülen in Aqua dest.	1 min.
14. Naphtolgrün B	15-30 min.
15. Spülen in Aqua dest.	1 min.
16. Aufsteigende Alkoholreihe	je 1 min.
17. Xylol	1 min.
18. Eukitt	Eindeckeln

Tabelle 3.3 Färbeprotokoll: Volkmann-Strauß (modifiziert)

eingeht und somit eine Antigen-Antikörper-Reaktion ausgelöst wird. Als Antigendemaskierung beschreibt man den Vorgang, diese Epitope auf dem Antigen für die Antikörper besser zugänglich zu machen. In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Demaskierung durch eine 30-minütige Inkubation der histologischen Schnitte in einem 95°C Wasserbad einer 0,01M Citratpufferlösung (ph=6,1). Bei der Durchführung wurden folgende Antikörper verwendet: Primärantikörper: MaH SMA (Mouse anti human Smooth Muscle Actin, AbDserotec MCA 1905H ready-touse), (MCA-Monoclonal Antibody 1905H); Kontroll Isotyp: Maus-IgG2a, DAKO X0943, Lot. 00075486); Sekundärantikörper: DoaM-IgG-HRP (Donkey anti Mouse-IgG- horseradish peroxidase, Linaris ZMH2162) zur Sichtbarmachung des Primären Antikörpers Die vollständige Arbeitsanweisung ist in Tab. 3.4 aufgeführt.



Abbildung 3.2 Tunica media und Tunica externa der A. dorsalis phalangis med.,Pferd Nr. 1; Markierung durch Smooth Muscle Aktin; Selektive Darstellung von glatten Muskelzellen (dunkelbraun) in der Tunica externa, M- Tunica media, E- Tunica externa, Stern- Membrana elastica interna, Pfeile- Vasa vasorum in der Tunica externa



Abbildung 3.3 Gefäßquerschnitte der A. dorsalis phalangis med.,Pferd Nr. 32; Übersicht der drei verwendeten Färbemethoden, Balken: 1mm; a) HE-Hämatoxylin und Eosin; b) RFK-Resorcin-Fuchsin-Kernechtrot; c) VS-Volkmann-Strauß (modifiziert)

# 3.2.2 Transmissionselektronenmikroskopie

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung dienten ebenfalls Gefäßringsegmende der in 3.1 bereits beschriebenen Gefäße. Jedoch beschränkte sich die Größe der einzelnen Fragmente auf 1x1x1 mm Gewebematerial. Die Proben wurden mehrere Tage in ein Fixationsgemisch nach Karnovsky gebracht (Stammlösung: 2,5% Glutaraldehyd (Fa. Roth); 3% Paraformaldehyd (Fa. Merck), ph7,4) und immersionsfixiert. Für die ultrastrukturelle Untersuchung wurden von 3 Pferden

	B
Arbeitsanleitung/Substanzen	Dauer
1. Entparaffinieren in Xylol und Einwässern in absteigender	20 min.
Alkoholreihe	
2. Spülung in 0,01M Citratpuffer ph6,1	5 min.
3. Antigendemaskierung	
4. Küvetten mit OT in heißem Puffer abkühlen lassen	15 min.
5. Küvetten in kaltes Wasserbad	10 min.
6. Spülen in TBS	2x15 min.
7. Aufbewahrung der Schnitte in TBS im Kühlschrank	3,5-4 h
8. Spülen in TBS und Tween 20	3 min.
9. Vorinkubation: 3% BSA in Puffer A	20 min.
10. MaH MCA 1905H 1/30 verdünnt in Inkubationspuffer A	über Nacht 4°C
11. 1. Kontrolle: Maus-IG2a 1/50 verdünnt bzw. 1/100 in	über Nacht 4°C
Puffer A	
12. Spülung in TBS	3x3 min.
13. Peroxidase-Block in 3% Wasserstoffperoxid in TBS	20 min.
14. Spülung in TBS	2x5 min.
15. DoaMlgG-HRP 1/50 in Inkubationspuffer A	35 min.
16. Spülung in TBS	2x5 min.
17. Spülung in TBS	2x5 min.
18. HRP-Nachweis mit DAB (Diaminobenzidine)	ca. 10 min.
19. Spülung in PBS	2x3 min.
20. Gegenfärbung: 1 min. in Hämalaun n. Mayer	5 min.
21. Entwässerung; Schnitte Eindecken mit Roti-Histol	

Tabelle 3.4 Arbeitsanleitung zum Nachweis von Smooth Muscle Aktin

jeweils 5 Gefäßproben der distalen Arterien und 5 Gefäßproben von der V. jugularis für die Auswertung bearbeitet. Entsprechend standen je Pferd 20 Ultradünnschnitte zur Verfügung. Bei 3 einem Untersuchungspool von 3 Pferden wurden somit 60 Schnittpräparate der ultrastrukturellen Analyse unterzogen.

## 3.2.2.1 Einbettung in Kunststoff

Vor der Weiterbearbeitung wurden die in Karnovsky Lösung befindlichen Gewebeproben in 0,1 molarem Cacodylatpuffer (Substanz: Cacodylsäurenatriumsalz; Fa. Roth, 3x10 Min. gespült. Anschließend folgte die Nachfixierung und Kontrastierung in einer 1%igen cacodylatgepufferten Osmiumtetroxidlösung (Fa. Chempur, Best.Nr. 006051) für mindestens 4 Stunden. Darauf folgte eine 4x10 Min. Spülung in Cacodylatpuffer und anschließende Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe (Fa. Roth). Als Intermedium diente nun Propylenoxid (1,2 Epoxypropan) in dem die Proben 2x10 Min. verweilten. Danach wurden die Proben für mindestens 4 Stunden in ein Propylenoxid/Agargemisch im Verhältnis 1:1 verbracht und letztendlich in ein reines Agargemisch (Agar 100, Fa. Agar Scientific) überführt. Die Polymerisation des Agars erfolgte in 2 Schritten im Polymerisationsofen bei zunächst 45°C und anschließend bei 50°C jeweils für 24 Stunden. Die Einbettung in Kunststoff ist Voraussetzung für das Erstellen von Semidünnschnitten am Ultramikrotom. Ziel ist es dem Objekt (Gewebe) eine schneidfähige Konsistenz zu geben. Paraffin als Einbettungsmedium, wie es bei lichtmikroskopischen Schnittpräparaten üblich ist, wäre als Medium zu weich und somit ungeeignet.

#### 3.2.2.2 Semidünnschnitte

Von den eingebetteten Gefäßfragmenten wurden am Ultramikrotom mit einem Glasmesser 0,5 µm dicke Semidünnschnitte angefertigt und auf Objektträger aufgezogen. Nach kurzer Trocknung der Objektträger auf einer Wärmeplatte erfolgte die Färbung mit einer 1%igen Methylenblau-Azur-II-Lösung nach Richardson (MULISCH und WELSCH, 2010). Die Semidünnschnitte dienten der gezielten Suche ausgewählter Gewebsareale für die ultrastrukturelle Untersuchung am Elektronenmikroskop.

#### 3.2.2.3 Ultradünnschnitte und Kontrastierung

Die Anfertigung der 50-80 nm dicken Ultradünnschnitte erfolgte mit Hilfe der Diamantmesser Histo-Diatome (Fa. Science Services GmbH) und des Ultramikrotoms Ultracut E (Fa. Reichert-Jung, Wien). Die Ultradünnschnitte wurden auf Nickelgrids (Fa. Plano) aufgezogen. Da die Ultradünnschnitte bei Verwendung von trockenen Messern daran haften würden, wird um das Glasmesser ein Flüssigkeitstrog montiert. Der Trog wird mit Wasser gefüllt, sodass die Flüssigkeit die Messerschneide benetzt. Somit können die Ultradünnschnitte direkt auf die Wasseroberfläche aufschwimmen und anschließend von dieser direkt auf den Trägernetzen (Nickelgrids) aufgenommen werden. Die anschließende Kontrastierung der Proben erfolgte mit Uranylazetat und Bleizitrat jeweils für 10 min.

## 3.2.2.4 Transmissionselektronmikroskopische Auswertung und Dokumentation

Die Untersuchung der Ultradünnschnitte erfolgte am Transmissionselektronmikroskops EM 109 (Fa. Zeiss). Auswertung und Bearbeitung der fertigen Bilder wurden mit Hilfe des Adope Fotoshop (Version CS5, Unterschleisheim, Deutschland) durchgeführt.

# 3.2.3 Morphometrie

## 3.2.3.1 Morphometrische Analyse lichtmikroskopischer Präparate

Die gefärbten Schnitte wurden unter einem Lichtmikroskop (Axioskop HBO 50/AC) betrachtet. Über eine am Lichtmikroskop installierte Kamera (Nikon DS-Ri1) konnten ausgewählte Strukturen zunächst abfotografiert und anschließend an einen Rechner (DELL Precision T3500) übermittelt werden. Das Softwareprogramm NIS-Elements AR 3.2. wurde zur Analyse der lichtmikroskopischen Schnittpräparate verwendet.

Folgende Parameter wurden bestimmt und sowohl qualitativen als auch quantitativen Analysen unterzogen. Zunächst wurde der Gefäßinnendurchmesser (Lumen) bestimmt. Es wurden 4 Messwerte je Schnitt ermittelt, indem die Horizontale, die Vertikale und die jeweiligen Winkelhalbierenden bei 2,5 facher Vergrößerung markiert wurden (Abb. 3.4 (a)). Der Mittelwert dieser Daten ergab den Gefäßinnendurchmesser. Somit konnte sichergestellt werden, dass das Messverfahren von allen weiteren im Laufe der Arbeit erhobenen Messungen dieses Parameters einheitlich und replizierbar war. Zusätzlich wurden die Stärken der Tunica interna und der Tunica media (Abb. 3.4 (b)) vermessen. Um die Stärke der Tunica interna zu ermitteln, wurden 8 Messungen an verschieden definierten Stellen des Gefäßquerschnittes durchgeführt und der Mittelwert bestimmt. Die definierten Stellen ergaben sich aus den Schnittstellen der Vertikalen, Horizontalen und deren Winkelhalbierenden mit der Tunica interna. Es wurden ausschließlich die Stellen vermessen, die keine sichtbaren Abweichungen in Form von Intimapolstern aufwiesen. Abweichungen dieser Art wurden notiert und im späteren Verlauf der Arbeit vermessen und weiter untersucht. Analog der Intima erfolgte die Vermessung der Tunica media.



Abbildung 3.4 Gefäßquerschnitte der A. dorsalis phalangis med.,Pferd Nr. 32; Färbung nach Volkmann-Strauß, a) Vermessung des Lumendiameters, schwarze Linien- Horizontale, Vertikale und jeweilige Winkelhalbierende als Messgröße, Balken: 1 mm; b) Vermessung der Wanddicke (Tunica media), schwarze Linien- 8 separate Messungen stets auf Höhe der Horizontalen, Vertikalen und deren Winkelhalbierenden, Balken: 1 mm

Den Anteil an Nervi und Vasa vasorum in der Gefäßwand wurde bei 10-20 facher Vergrößerung manuell ausgezählt. Um Aufschluss über den Anteil an Nervi und Vasa vasorum an der Gefäßwand zu erlangen, wurde der Flächenanteil sowohl der Nervi und Vasa vasorum als auch der Tunica media und Tunica externa bestimmt.

Um die morphologische Untersuchung der Blutgefäße zu vervollständigen, schloss sich die Quantifizierung der extrazellulären Matrix an. Der prozentuale Anteil an glatten Muskelzellen, elastischen und kollagenen Fasern in der Tunica media wurde bestimmt und vergleichenden Analysen unterzogen. Für die quantitative Bestimmung der extrazellulären Matrix wurden mit Hilfe des Softwareprogramms NIS-Elements AR 3.2. für jedes Schnittpräparat individuell Farbschwellen detektiert. Im Softwareprogramm wurden Areale mit identischer Farbschwelle markiert und deren Fläche bestimmt. Dieses Vorgehen wurde ja Schnittpräparat an 10 verschiedenen Stellen der Tunica media (40x Vergr.) durchgeführt. Das arithmetische Mittel



Abbildung 3.5 Gefäßquerschnitte der A. dorsalis phalangis med.,Pferd Nr. 32; Färbung nach Volkmann-Strauß, a) Bestimmung der Fläche der Tunica media, äußere grüne Linie-Fläche Tunica media und Lumenfläche zusammen, innere grüne Linie- Lumenfläche; zur Flächenbestimmung wurde die Lumenfläche von der Gesamtfläche (Fläche Tunica media + Lumenfläche) subtrahiert, Balken: 1 mm; b) Bestimmung der Fläche der Tunica externa, äußere grüne Linie- Gesamtfläche des Gefäßquerschnitts (beinhaltet Fläche Lumen + Fläche Tunica media + Fläche Tunica externa), innere grüne Linie- Fläche Tunica media und Lumenfläche zusammen; zur Flächenbestimmung wurde die Fläche (Tunica media + Lumenfläche) von der Gesamtfläche subtrahiert, Balken: 1 mm

aus den 10 Messungen je Schnittpräparat wurde bestimmt und als prozentuale Verteilung der entsprechend untersuchten Komponente angegeben (Abb. 3.6).



Abbildung 3.6 Ausschnitt aus der Tunica media der A. dorsalis phalangis med.,Pferd Nr. 32; Färbung nach Volkmann-Strauß, Ausschnitt aus Tunica media, 40x Vergr.; Farbschwellenerkennung zur Bestimmung der Verteilung von a) SMC, b) kollagene Fasern, c) elastische Fasern

# 3.2.4 Statistik

Die Rohdaten wurden aus der Morphometrie-Software Nikon NIS Elements in das statistische Datenverarbeitungsprogramm SPSS (PASW Statistik 21, Predictive Analytic Software, IBM) überführt. Hier wurden die Daten zunächst in geeignete Gruppen (Alter; Körpermasse; Geschlecht; Rasse) eingeteilt und anschließend mit Hilfe nichtparametrischer Tests miteinander verglichen.

Der Prüfung der Varianzen mit Hilfe der ein- bis mehrfaktoriellen ANOVA, folgte der Vergleich der verschiedenen Gruppen mittels Post Hoc und Sheffe.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von p<0,05 diente der Feststellung von signifikanten Unterschieden.

Um Korrelationen zwischen den einzelnen Gruppen zu erkennen, wurden die Korrelationskoeffizienten nach Sperman-Rho und Pearson berechnet.

# 4 Ergebnisse

# 4.1 Lichtmikroskopische Untersuchungen der distalen Arterien

In dieser Arbeit wurden Arterien der distalen Schultergliedmaße von Pferden (n=35) unterschiedlichen Alters, Geschlechts und Gewichts im proximo-distalen Verlauf untersucht und miteinander verglichen. Hierbei entspricht Gefäß 1 (G1) der proximalsten (A. palmaris com. II) und Gefäß 3 (G3) der distalsten (A. dorsalis phalangis med.) Entnahmestelle. Gefäß 2 (G2) entspricht der A. digitalis dorsalis med., welche sich im Verlauf zwischen G1 und G3 befindet. Die Pferde wurden sowohl in unterschiedliche Altersklassen (AK) AK 1 (n=14, 0-7 Jahre); AK 2 (n=11, 8-16 Jahre); AK 3 (n=10, 17-24 Jahre) als auch Gewichtsklassen (GK) GK 1 (n=4, 100-200 Kg); GK 2 (n=16, 201-400 Kg); GK 3 (n=15, 401-700 Kg) unterteilt. Da über den Aktivitätsgrad (Sportpferd, Hobbyhaltung) der meisten Pferde keine genauen Angaben bekannt waren, konnten hier keine separaten Gruppen erstellt und miteinander verglichen werden.

## 4.1.1 Qualitative Beschreibung

Bei allen untersuchten Schnittpräparaten waren die einzelnen Wandschichten gut voneinander abgrenzbar, die Wandbestandteile gut differenzierbar und Vasa – und Nervi vasorum deutlich zu erkennen. Die lichtmikroskopische Untersuchung zeigte bei keinem der untersuchten Pferde wesentliche qualitative Auffälligkeiten. G1-G3 zeigen die allgemeinen Charakteristika von muskulären Arterien. Eine dünne Tunica interna, bestehend aus Endothel, Stratum subendotheliale und Membrana elastica interna, bildet die innere Abgrenzung zum Lumen des Gefäßes. Die Membrana elastica interna der distalen Arterien erscheint bei der lichtmikroskopischen Untersuchung stets kontinuierlich, jedoch sind bei der elektronenmikroskopischen Betrachtung diskontinuierliche Bereiche erkennbar.

Die Zellkerne der Endothelzellen sind je nach Anschnitt als ovale bis rundliche Strukturen deutlich erkennbar. Das Stratum subendotheliale besteht vorwiegend aus Interzellularsubstanz, Fibrozyten und elastischen Fasern. Es konnten keine glatten Muskelzellen im Stratum subendotheliale bei der unveränderten Tunica interna nachgewiesen werden. Es sei an dieser Stelle bereits darauf hingewiesen, dass Besonderheiten wie Intimaverdickungen oder Intimapolster in Kapitel 4.1.2.2 näher erläutert werden. Die Abgrenzung zwischen Stratum subendotheliale und Tunica media bildet die in allen Schnitten sehr deutliche und z.T. mehrlagige Membrana elastica interna (Abb. 4.1).

Die Tunica media repräsentiert bei allen Gefäßen die stärkste Schicht und besteht überwiegend aus glatten Muskelzellen und wenigen kollagenen und elastischen Fasern. Die elastischen Fasern liegen im fixierten Zustand des Gefäßes als wellenförmig gestauchte Strukturen vor, welche das Gefäß zirkulär umgeben. Das Netzwerk der elastischen Fasern besteht aus unterschiedlich dicken Fasern, welche untereinander durch Querverbindungen in Kontakt stehen und sowohl zirkulär als auch parallel und rechtwinklig zum Lumen (perpendikular) in der Gefäßwand verlaufen (Abb. 4.2).

Die glatten Muskelzellen der Tunica media verlaufen zumeist zirkulär um das Gefäß herum und zeigen zum Teil einen gewundenen Zellkern. An einigen Stellen konnten jedoch Abweichungen festgestellt werden. So ist erkennbar, dass sich sowohl auf der gegenüberliegenden Seite von Gefäßabzweigungen (Abb. 4.3), als auch im Bereich des Gefäßabgangs selbst (Abb. 4.4), die Verlaufsrichtung der glatten Muskelzellen ändert. Die glatten Muskelzellen werden in diesen Bereichen nicht wie üblich im Längsschnitt, sondern im Querschnitt angetroffen, so dass von einer longitudinalen Ausrichtung ausgegangen werden kann.

Im mittleren und äußeren Drittel der Tunica media sind regelmäßig Vasa vasorum anzutreffen. Zumeist sind die Vasa vasorum im Querschnitt angeschnitten, nur selten und dann am Übergang zur Tunica externa sind sie im Längsschnitt erkennbar.



Abbildung 4.1 Ausschnitt aus der Tunica media und Tunica interna, mehrlagige Membrana elastica interna 20x Vergr., a) Pferd Nr. 20, Gefäß 1 (Volkmann Strauß, invertiert), b) Pferd Nr. 15, Gefäß 3 (Volkmann Strauß, invertiert), c)+d) Pferd Nr. 15, Gefäß 1 Volkmann Strauß (d) invertiert) M- Tunica media, L- Lumen, Sternchen (rot)- doppelte Membrana elastica interna



Abbildung 4.2 Ausschnitt aus der Tunica media und Tunica interna, Elastische Fasern in der Tunica media, Pferd Nr. 11 Gefäß 2, Volkmann Strauß (invertiert), MEI- Membrana elastica interna, L- Lumen, I-Tunica interna, Pfeil- rechtwinklig zum Lumen verlaufende Fasern, Doppelpfeil- schräg verlaufende Fasern, Stern- parallel zum Lumen verlaufende Fasern)



Abbildung 4.3 Gefäßquerschnitt der A. digitalis palmaris communis II mit beginnenden Gefäßabgang, a) Pferd Nr. 9, Gefäß 1, Volkmann Strauß, 10x Vergr., M- Tunica media, E- Tunica externa, N- N. palmaris med.; Stern- Gefäßabgang, Pfeil- Gegenüberliegende Seite, Insert siehe (b) b) Verlauf glatter Muskelzellen, 20 x Vergr., Pfeile schwarz-longitudinal verlaufende glatte Muskelzellen, Pfeile weiß- zirkulär verlaufende glatte Muskelzellen, Pfeile weiß- zirkulär verlaufende glatte Muskelzellen, Pfeile Weiß- zirkulär verlaufende glatte Muskelzellen, Pfeile Muskelzellen, Pfeile Weiß- zirkulär verlaufende glatte Muskelzel



Abbildung 4.4 Gefäßquerschnitt, a) Verlauf glatter Muskelzellen im Bereich des beginnenden Gefäßabgangs Pferd Nr. 7, Gefäß 1, Volkmann Strauß, 10x Vergr., L- Lumen, M-Tunica media, E- Tunica externa, Stern- Bereich der longitudinal zum Lumen verlaufenden glatten Muskelzellen; Insert siehe b); b) 40x Vergr. Pfeile schwarz- zirkulärer Verlauf glatter Muskelzellen, Pfeile weiß- longitudinaler Verlauf glatter Muskelzellen, Sternelastische Fasern, Pfeilspitze- Membrana elastica interna

Die Wandstärke der Vasa vasorum variiert stark. So sind tief in der Tunica media kapillarähnliche Gefäßstrukturen ohne glatte Muskelzellen erkennbar. Nahe am Übergang zur Tunica externa sind bereits kleine Gefäße, welche den Charakter von Arteriolen mit 1-3 Lagen an glatten Muskelzellen aufweisen, deutlich erkennbar (Abb. 4.5).



Abbildung 4.5 Vasa vasorum in der Tunica externa, Volkmann Strauß, Obere Reihe: a) kleine Arterie, b) Arteriole (Pfeil), c) Kapillaren in der Tunica media (Pfeile); Untere Reihe: d)+e) Arteriole, f) Kapillare; Balken in a)-e) = 0,05 mm

Die Vasa vasorum sind jedoch zum überwiegendem Teil in der Tunica externa anzutreffen und ziehen zumeist mit den kollagenen Fasern in die Tunica media hinein und verzweigen sich hier ebenfalls geflechtartig zwischen den Muskelzellen der Tunica media. Die Vasa vasorum der Tunica externa verlaufen sowohl parallel als auch zirkulär um das zu versorgende Gefäß herum und werden entsprechend im Quer- oder Längsschnitt angetroffen. In der morphologischen Ausprägung variieren die Vasa vasorum stark. Die größten Vasa vasorum erreichen Dimensionen kleiner Arterien, mit deutlich erkennbarer Wandschichtung und gut ausgeprägter Membrana elastica interna. Kleinere zeigen mit 1-3 Lagen glatten Muskelzellen den Charakter von Arteriolen (Abb. 4.5 (a)).

#### KAPITEL 4. ERGEBNISSE

Die Verbindung zum umliegenden Bindegewebe bildet die Tunica externa (Adventitia). Dieser Wandabschnitt besteht zum überwiegenden Teil aus kollagenem Bindegewebe und elastischen Fasern. Häufig ist erkennbar, dass die kollagenen Fasern der Tunica externa netzartig bis weit in die Tunica media ziehen und diese durchsetzen (Abb. 4.6).



Abbildung 4.6 Ausschnitt aus der Gefäßwand der A. digitalis palmaris medialis, Netzwerk aus kollagenen Fasern in der Tunica media, a) Pferd Nr. 20, Gefäß 3, Volkmann-Strauß (invertiert), 10x Verg.; b) Pferd Nr. 35, Gefäß 3, Volkmann-Strauß (invertiert), Stern-Tunica interna, M- Tunica media, E- Tunica externa, Pfeile- Netzwerk aus kollagenen und elastischen Fasern in Tunica media

Die lichtmikroskopisch sichtbaren Bündel der Nervi vasorum verlaufen zumeist parallel zur Gefäßwand gemeinsam mit Arterien und Venen und werden entsprechend im Querschnitt angeschnitten. Die Nervi vasorum waren stets markhaltig und zeigten eine deutliche Myelinscheide (Abb. 4.7). Nervi Vasorum konnten ausschließlich in der Tunica externa dargestellt werden.

Zusätzlich zu den genannten Strukturen konnten gehäuft Vater-Pacinische-Körperchen in der Tunica externa nachgewiesen werden (Abb. 4.8).


Abbildung 4.7 Ausschnitt aus der Tunica externa mit angrenzender Tunica media, Nervi und begleitende Vasa vasorum; Pferd Nr. 24, Gefäß 2, Volkmann Strauß, M- Tunica media, E- Tunica externa, Vv- Vasa vasorum, Sternchen- Nervi vasorum



Abbildung 4.8 Gefäßwandquerschnitt, Vater-Pacini-Lamellenkörperchen in der Tunica externa a) Pferd Nr. 30, Gefäß 3, Volkmann-Strauß (invertiert 40x Vergr.); b) Pferd Nr. 21, Gefäß 3, Volkmann-Strauß (invertiert, 40x Vergr.); c) Pferd Nr. 35, Gefäß 3, Volkmann Strauß, M- Tunica media, E- Tunica externa, VPL- Vater-Pacini-Lamellenkörperchen, Nv- Nervi vasorum, Vv- Vasa vasorum, Balken = 0,05 mm

## 4.1.2 Quantitative Analyse der Gefäßwand

## 4.1.2.1 Lumendiameter

Bei der Betrachtung des Gefäßinnendurchmessers konnten folgende Zusammenhänge festgestellt werden: Grundsätzlich ist ein Abfall des Gefäßinnendurchmessers von proximal nach distal zu verzeichnen. Die Reduktion des Lumendiameters ist unabhängig von Rasse, Geschlecht und Gewicht der Pferde signifikant von G1 zu G2 (p=0,001) und von G1 zu G3 (p=0,000) (Abb. 4.9).



Abbildung 4.9 Abhängigkeit des Lumendiameters von der Lokalisation der drei Gefäße (G1-G3); signifikante Lumenreduktion von G1 zu G2 und G1 zu G3

Betrachtet man den Abfall des Gefäßdurchmessers bezogen auf verschiedene Altersgruppen, so wird erkennbar, dass ausschließlich bei G1 von mittelalten zu älteren Pferden eine signifikante (p= 0,039) Reduktion des Gefäßdurchmessers deutlich wird (Abb. 4.10). Zwischen den jungen und mittelalten Pferden konnte bei keinem der untersuchten Gefäße ein signifikanter Abfall des Gefäßdurchmessers beschrieben werden. Ebenso verhält es sich bei den Gefäßen G2 und G3 bei allen drei Altersstufen (Abb. 4.10).



Abbildung 4.10 Lumendiameter in Abhängigkeit vom Alter; signifikante Lumenreduktion ausschließlich beim Gefäß 1 (A. digitalis palmaris communis II) von Altersklasse (AK) 2 zu Altersklasse (AK) 3; bei den Gefäßen 2+3 hat das Alter keinen signifikanten Einfluss auf die Weite des Gefäßrohres

Es ist bereits hier zu erwähnen, dass uns im Untersuchungspool nur drei Kaltblüter zur Verfügung standen, die jeweils mit 1 Jahr sehr jung waren. Bei dieser Gruppe von Pferden konnte jedoch gezeigt werden, dass Kaltblüter absolut größere Gefäßlumina haben als Warmblüter und Ponys (Abb. 4.11)

Es besteht keine Korrelation zwischen dem Gewicht der Pferde und deren Gefäßdurchmessern. Ebenso hat das Geschlecht der Pferde keinen Einfluss auf die Lumendiameter. Da im Untersuchungspool nur 2 Wallache vorhanden waren, kann über den Zusammenhang zwischen kastrierten und nicht kastrierten männlichen Pferden und deren Einfluss auf die Gefäßdurchmesser keine Aussage getroffen werden.

## 4.1.2.2 Dicke der Tunica interna

Bei der Analyse der Tunica interna konnten weder im proximo-distalen Verlauf noch in Abhängigkeit von Alter, Rasse oder Geschlecht der Pferde Zusammenhänge



Abbildung 4.11 Lumendiameter in Abhängigkeit von der Rasse, Kaltblüter zeigen einen absolut größeren Gefäßinnendurchmesser gegenüber Warmblütern und Ponys

dargestellt werden. Die Dicke dieses Gefäßwandabschnittes ist annähernd konstant und schwankt zwischen 3,7 und 9,7 µm. Im Durchschnitt aller untersuchten Gefäße beträgt die Dicke der Tunica interna 6,8 µm (Tab. 4.1; Abb. 4.12). In die Messung einbezogen wurden die bereits oben erwähnten Bestandteile der Tunica interna, Lamina endothelialis, Stratum subendotheliale und Membrana elastica interna.

**Tabelle 4.1** Durchschnittliche Dicke der Tunica interna der Gefäße 1,2 und 3 aller unter-<br/>suchten Pferde (Pferd Nr. 1-35)

Einheit µm	Minimum	Maximum	Mittelwert
Gefäß 1	3,71	9,09	6,86
Gefäß 2	4,29	9,72	6,84
Gefäß 3	5,36	9,49	6,96

Die Pferde Nr. 8 (Abb. 4.13) und Nr. 11 (Abb. 4.14) wurden aus der Datenanalyse ausgeschlossen, da bei beiden Pferden eine deutlich verdickte Tunica interna in Gefäß 3 nachgewiesen werden konnte. Pferd Nr. 8 zeigte zusätzlich eine Intimaverdickung in G1 und Pferd Nr. 11 in Gefäß 2.



Abbildung 4.12 Dicke der Tunica interna, Gefäß 1 - Gefäß 3; Die Werte der Tunica interna sind bei allen untersuchten Tieren (ausgenommen Pferd Nr. 8+11) konstant und lagen im Durchschnitt bei 6,8 μm

Beim Pferd Nr. 8 handelte es sich um ein 24 Jahre alten Hengst der lange als Reitpferd genutzt wurde und Pferd Nr. 11, eine 17 jährige Stute, welche wegen chronischer Hufrehe mit anschließender Hufdeformation euthanasiert wurde.

Bei beiden Pferden war im Bereich der Intimaverdickung die Erweiterung des Stratum subendotheliale deutlich zu erkennen. Die Ausprägung der Dickenzunahme differiert in den einzelnen Ringsegmenten zum Teil deutlich.

Das morphologische Bild der aufgelagerten Endothelzellen im Bereich der Intimaverdickung zeigt keine Abweichungen gegenüber den Endothelzellen von Gefäßen ohne Verdickung der Tunica interna, wie es in Kap. 4.2.1.1 beschrieben wird. Im Bereich der Verdickung sind vereinzelt basophil angefärbte, blau-violett, annähernd runde Strukturen erkennbar. Möglicherweise stellen diese Strukturen Zellkerne von Fibrozyten dar. Das Stratum subendotheliale besteht im Bereich der Verdickung aus ca. 2-5 Lamellen elastischer Fasern, welche im kontrahierten Zustand des Gefäßes stark gewellt, zirkulär um das Gefäß verlaufen. Zum Teil sind zwischen den zirkulär verlaufenden elastischen Fasern Quervernetzungen zu erkennen. Mit Hilfe der alpha Smooth Muscle Actin Färbung konnte gezeigt werden, dass sich im Bereich der Verdickung nur vereinzelt bis keine glatten Muskelzellen befinden (Abb. 4.15 a) und b)).

Die Intimadicke beim Pferd Nr. 8 erstreckt sich im Mittel auf eine Strecke (gemessen vom Lumen zur Membrana elastica interna im Gefäßquerschnitt) von 48  $\mu$ m im G1 und 30  $\mu$ m im G3. Die Tunica interna von G2 hat eine Dicke von 8,4  $\mu$ m. Noch ausgeprägter ist die Dickenzunahme der Tunica media beim Pferd Nr.11 erkennbar. Hier wurde im G2 eine Dicke von 49,08  $\mu$ m und im G3 von 63  $\mu$ m gemessen. Die Dicke der Tunica interna beim G1 beträgt 8,4  $\mu$ m. Bei beiden Pferden ist im Bereich der Intimaverdickung ein Anstieg um das 4-8 fache der durchschnittlich gemessenen Intimadicke zu verzeichnen.



Abbildung 4.13 Gefäßwandquerschnitte mit Intimaverdickung, Pferd Nr. 8, Volkmann Strauß, 20x Vergr. a) Gefäß 1, L- Lumen, Pfeil- kollagene Fasern, Pfeilspitze- Membrana elastica interna; b) Gefäß 3, L- Lumen, Pfeil- kollagene Fasern, Pfeilspitze- Membrana elastica interna

Neben den Intimaverdickungen der Pferde 8 und 11 konnten an Gefäßabgängen Intimapolster dargestellt werden, welche sich jedoch in ihrer strukturellen Zusammensetzung deutlich von den Intimaverdickungen unterscheiden. So sind die Intimapolster geprägt von einer Ansammlung glatter Muskelzellen und kollagenen Fasern im Stratum subendotheliale, wodurch das Endothel deutlich von der Membrana elastica interna abgehoben wird (Abb. 4.15 c und d; 4.16).



Abbildung 4.14 Gefäßwandquerschnitte mit Intimaverdickung, Pferd Nr. 11, Volkmann Strauß, 20x Vergr. b) und d) Gefäß 2, Blitze- elastische Fasern in Intimaverdickung, Pfeilspitze- Membrana elastica interna, a) und c) Gefäß 3, Blitze- elastische Fasern in Intimaverdickung, Pfeilspitze- Membrana elastica interna



Abbildung 4.15 Gefäßwandquerschnitte mit Intimaverdickung, Immunhistochemische Markierung (Smooth Muscle Actin) der Tunica interna mit glatten Muskelzellen, a) und b) Pferd Nr.11, Gefäß 2(a) und Gefäß 3(b), L- Lumen, M- Tunica media, IV- Intimaverdickung, Stern- Membrana elastica interna, Pfeile- glatte Muskelzellen; c) Intimapolster am Gefäßabgang Pferd Nr. 15, Gefäß 2, L- Lumen, M- Tunica media, IP- Intimapolster, Stern-Membrana elastica interna, Pfeile schwarz- glatte Muskelzellen, Ec- Endothelzellen; d) Pferd Nr. 1, Gefäß 3, L- Lumen, M- Tunica Media, IP- Intimapolster, Stern- Membrana elastica interna, Pfeile schwarz- glatte Muskelzellen, Ec- Endothelzellen;



Abbildung 4.16 Gefäßwandquerschnitte mit Intimapolster am Gefäßabgang der A. dorsalis phalangis med., Pferd Nr. 1, a) Volkmann Strauß (invertiert), 5x Vergr., L- Lumen, M-Tunica media, IP- Intimapolster, Stern- glatte Muskelzellen, Pfeilspitze weiß- Membrana elastica interna, Pfeil- Beginn des Intimapolsters; b) Volkmann Strauß (invertiert), 20x Verg., L- Lumen, M- Tunica media, IP- Intimapolster, Pfeil- Membrana elastica interna

## 4.1.2.3 Dicke der Tunica media

Im proximo-distalen Verlauf der Gefäße ist eine signifikante Abnahme der Gefäßwandstärke zwischen der proximalen und der mittleren Lokalisation zu verzeichnen (Abb. 4.17).

Diese Reduktion der Wanddicke im proximo-distalen Verlauf ist unabhängig von Gewicht und Rasse der Tiere. Bei der Betrachtung der verschiedenen Altersgruppen und deren Einfluss auf die Wanddicke wurden folgende Ergebnisse erzielt. G1 zeigt eine signifikante Dickenzunahme von jungen zu beiden älteren Gruppen. Beim G2 ist sowohl beim Übergang von jungen zu mittelalten als auch von jungen zu alten Pferden eine signifikante Dickenzunahme zu verzeichnen. Beim distalen Gefäß (G3) scheint das Alter keinen Einfluss auf die Gefäßwanddicke zu haben (Abb. 4.18).

Das Gewicht der Tiere hat einen Einfluss auf die Wanddicke. Mit steigendem Gewicht der Pferde nimmt die Gefäßwand an Dicke zu. Dies konnte sowohl an beiden Korrelationskoeffizienten (Pearson, Spearman-Rho) als auch graphisch deutlich gemacht werden (Abb. 4.19).



Abbildung 4.17 Dicke der Tunica media der Gefäße 1,2 und 3



Abbildung 4.18 Dicke der Tunica media in Abhängigkeit vom Alter



Abbildung 4.19 Einfluss der Körpermasse auf die Dicke der Tunica media

Zwischen der Dicke der Tunica media und dem Geschlecht der Tiere ist kein Zusammenhang festgestellt worden. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass es keine Korrelation zwischen dem Lumendiameter der Gefäße und deren Wanddicke gibt. Es ist zu erkennen, dass sich das Verhältnis Wanddicke/Lumendiameter im Alter bei allen betrachteten Gefäßen annähert bzw. beim G1 sogar umkehrt. Die Wanddicke (Wall thickness- WTH) wird repräsentiert durch die Dicke der Tunica media und Tunica interna. Es wird gezeigt, dass junge Tiere bezogen auf die arterielle Gefäßwand einen größeren Lumendiameter besitzen als ältere Pferde. Dieses Verhältnis gleicht sich bei den betrachteten Gefäßen im Alter an. In der Abb. 4.20 ist der Zusammenhang zwischen der Zunahme der Gefäßwanddicke und der Abnahme des Lumendiameters im Alter zusammengefasst.

## 4.1.2.4 Fläche der Tunica media und Tunica externa

Betrachten wir den Verlauf des Flächenanteils der Tunica media in den Gefäßringsegmenten, so lassen sich folgende Unterschiede an den verschiedenen Lokalisationen feststellen. Grundsätzlich fällt der Flächenanteil von proximal nach distal ab. Eine deutliche Abnahme der Fläche ist zwischen G1 und G2 zu erkennen, die



Abbildung 4.20 Zusammenhang zwischen Abnahme des Lumendiameters und Zunahme der Gefäßwanddicke (WTH- Wall thicknes) der Gefäße 1,2 und 3 mit zunehmendem Alter

20-25 cm voneinander entfernt liegen. Im Mittel beträgt die Reduktion 47,6%. Im weiteren Gefäßverlauf von G2 zu G3 beträgt die Abnahme nur noch 14,3%, wobei der Abstand von G2 zu G3 5-10 cm beträgt. Analog der Tunica media ist auch bei der Tunica externa eine Flächenreduktion von proximal nach distal zu erkennen, die jedoch nur von G1 zu G2 und G1 zu G3 signifikant ist und ab G2 in distalem Verlauf zu sistieren scheint (Abb. 4.21).

Das Alter hat auf die Flächenabnahme der Tunica media im Gefäßverlauf einen geringen Einfluss. Es konnte eine signifikante Zunahme des Flächenanteils ausschließlich im G2 von jungen zu mittelalten Pferden verzeichnet werden (Abb. 4.22), wobei die Signifikanz 0,009 (Scheffé) beträgt.

Das Alter sowie Rasse und Geschlecht haben auf die Fläche der Tunica externa keinen Einfluss.

Einen sichtlich größeren Einfluss als das Alter, zeigt die Körpermasse der Pferde auf die Fläche sowohl der Tunica media als auch der Tunica externa bei allen untersuchten Pferden. Es besteht eine mittelgradig positive Korrelation zwischen



Abbildung 4.21 Fläche der Tunica media und externa der Gefäße 1,2 und 3



Abbildung 4.22 Fläche der Tunica media in Abhängigkeit vom Alter

Körpermasse und Fläche der Tunica media im Bereich der proximalen Entnahmestelle (G1: r=0,642) und eine schwach positive Korrelation (G2: r=0,553; G3: r=0,358) distal davon. Rasse und Geschlecht zeigen keinen Einfluss.

Bei der Analyse der einzelnen Gewichtsklassen (GK 1-3) ist zu erkennen, dass die Flächenzunahme der Tunica media in Abhängigkeit von der Körpermasse auf die GK 1 zu GK 2 und GK 1 zu GK 3 beschränkt ist und sich bei allen Gefäßen keine signifikante Zunahme von den mittelschweren zu den schweren Tieren (GK 2 zu GK 3) zeigt (Abb. 4.23). Gleiche Ergebnisse sind bei der Untersuchung der Tunica externa zu verzeichnen. Es liegt eine signifikante Flächenzunahme von GK 1 zu GK 2 und von GK 1 zu GK 3 vor, nicht jedoch von mittelschweren zu schweren Tieren (GK 2 zu GK 3) (Abb. 4.24).



Abbildung 4.23 Fläche der Tunica media in Abhängigkeit von der Körpermasse

Es besteht eine direkte proportionale Abhängigkeit zwischen der WTH (Dicke der Tunica media und Tunica interna) und der Fläche der Tunica media, die am deutlichsten im G1 zu erkennen ist (Abb. 4.25).



Abbildung 4.24 Fläche der Tunica externa in Abhängigkeit von der Körpermasse



Abbildung 4.25 Zusammenhang zwischen der Fläche der Tunica media und der Gefäßwanddicke (Wall thickness- WTH) bei der A. digitalis palmaris communis II

## 4.1.2.5 Vasa vasorum in der Tunica externa

Um die Anzahl der Vasa vasorum je mm<sup>2</sup> der Tunica externa zu bestimmen, wurde die Fläche der Tunica externa ins Verhältnis zur absoluten Anzahl der Vasa vasorum gesetzt. Anschließend wurde untersucht, ob es eine Abhängigkeit zwischen Dichte der Vasa vasorum in der Tunica externa und Alter, Geschlecht oder Körpermasse der Tiere gibt. Im Durchschnitt kommen auf 1mm<sup>2</sup> Tunica externa 9,3 Vasa vasorum. Bei keinem der genannten drei Parameter konnte ein Einfluss auf die Dichte der Vasa vasorum (Anzahl Vasa vasorum je mm<sup>2</sup> Tunica externa) nachgewiesen werden. Bei den Untersuchungen zeigte sich deutlich, dass ausschließlich die zur Verfügung stehende Fläche der Tunica externa die Anzahl an Vasa vasorum bestimmt. Je größer die Fläche der Tunica externa desto mehr Vasa vasorum enthält sie. Die Korrelation ist stark im G1 (r=0,8) und mittelgradig bei G2 (r=0,54) und G3 (r=0,58). Weder Alter noch Rasse, Körpermasse oder Geschlecht über einen Einfluss auf die Anzahl an Vasa vasorum in der Tunica externa aus.

Unabhängig von Lokalisation, Alter, Gewicht und Geschlecht beträgt der Flächenanteil an Vasa vasorum im Durchschnitt 0,3 Prozent der Gesamtfläche der Tunica externa. Alter und Geschlecht der Pferde haben, wie auch bei der Anzahl der Vasa vasorum, keinen Einfluss auf die gesamte Lumenfläche der Vasa vasorum. Allein die Fläche der Tunica externa entscheidet auch hier über den Flächenanteil an Vasa vasorum. Auch ist kein signifikanter Unterschied von proximal nach distal zu verzeichnen. Ausschließlich beim G1 konnte zwischen dem Gewicht der Pferde und der Lumenfläche (gesamt) der Vasa vasorum eine signifikante Abhängigkeit festgestellt werden (Abb. 4.26).

## 4.1.2.6 Nervi vasorum in der Tunica externa

Im Durchschnitt kommen auf 1mm<sup>2</sup> Tunica externa 4,1 Nervi vasorum. Bei der Untersuchung der Nervi vasorum konnten ein Abfall von proximal nach distal von G1 zu G2 verzeichnet werden. Dieser Abfall setzt sich jedoch von G2 zu G3 nicht weiter fort, die Anzahl an Nervi vasorum stagniert in diesem Bereich. Bezogen auf das Alter der Tiere konnte ausschließlich beim G1 eine signifikante Altersabhängigkeit aufgezeigt werden. Die Anzahl an Nervi vasorum in der Tunica



Abbildung 4.26 Gesamtlumenfläche der Vasa vasorum in der Tunica externa

externa ist bei jungen (p=0,015) und mittelalten (p=0,038) Pferden geringer als bei älteren Tieren (Abb. 4.27). Körpermasse, Umfang und Fläche der Tunica externa haben keinen Einfluss auf die Anzahl an Nervi vasorum in diesem Teil der Gefäßwand. In der Tunica media konnten keine Nervi vasorum festgestellt werden.

## 4.1.2.7 Vasa vasorum in der Tunica media

Die Anzahl an Vasa vasorum in der muskelstarken Tunica media der untersuchten Arterien fällt deutlich von proximal nach distal ab. Es besteht keine Abhängigkeit zwischen dem Alter und Geschlecht der Pferde und der Anzahl an Vasa vasorum in der Tunica media. Zu erkennen ist, dass unabhängig vom Alter eine Reduktion an Vasa vasorum im proximo-distalen Verlauf vorliegt (Abb. 4.28).

Pferde der leichten Gewichtsgruppe haben signifikant weniger Vasa vasorum in der Tunica media als die Tiere der mittelschweren und schweren Gewichtsgruppe. Bei G2 und G3 besteht dieser Zusammenhang nicht (Abb. 4.29).



Abbildung 4.27 Anzahl Nervi vasorum in der Tunica externa im Altersvergleich



Abbildung 4.28 Anzahl Vasa vasorum in der Tunica media im Altersvergleich



Abbildung 4.29 Einfluss der Körpermasse auf die Anzahl der Vasa vasorum in der Tunica media

Es besteht eine mittelgradig positive Korrelation (r=0,5-0,7) sowohl zwischen der Dicke der Tunica media als auch der Fläche der Tunica media und der Anzahl an Vasa vasorum der 3 untersuchten Gefäße.

Der prozentuale Anteil der Wandkomponenten glatter Muskelzellen, elastischen und kollagenen Fasern hat keinen Einfluss auf die Dichte an Vasa vasorum in der Tunica media. Hinsichtlich des Flächenanteils an Vasa vasorum (Gesamtlumenfläche) in der Tunica media ist ein signifikanter Abfall von G1 zu G2 und von G1 zu G3 zu erkennen (Abb. 4.30).

Mit zunehmender Körpermasse steigt die Anzahl an Vasa vasorum von G 1 und G3 in der Tunica media signifikant an. Hier ist zwischen den leichten und den schwereren Gewichtsgruppen der Unterschied am deutlichsten (Abb. 4.31). Das Alter der Pferde hat keinen Einfluss auf die Anzahl an Vasa vasorum in der Tunica media.

Wanddicke (Wall thickness-WTH), Gesamtfläche der Tunica media und Anzahl an Vasa vasorum in der Tunica media korrelieren positiv mit der Fläche an Vasa vasorum in der Tunica media.



Abbildung 4.30 Gesamtlumenfläche der Vasa vasorum in der Tunica media von Gefäß 1-3



Abbildung 4.31 Einfluss der Körpermasse auf die Gesamtlumenfläche der Vasa vasorum in der Tunica media

Analog den Untersuchungen zur Tunica externa, wurde auch bei der Tunica media die Dichte an Vasa vasorum und deren prozentualer Anteil an der Gefäßwand bestimmt. Im Durchschnitt kommen auf 1mm<sup>2</sup> Tunica media 4,2 Vasa vasorum (Vergl. Tunica externa 9,3/mm<sup>2</sup>, entspricht einem Abfall von 44%). Die Vasa vasorum repräsentieren im Durchschnitt einen Flächenanteil von 0,16 Prozent an der Gesamtfläche der Tunica media (Vergl. Tunica externa 0,3 Prozent). Vergleichbar mit den Ergebnissen der Tunica externa haben auch hier weder Alter, Körpermasse oder Geschlecht noch die Lokalisation des Gefäßes Einfluss auf die Dichte an Vasa vasorum in der Tunica media.

#### 4.1.2.8 Avaskuläre Zone der Tunica media

Um die Diffusionsstrecke vom Lumen in die Gefäßwand zu ermitteln, wurde bestimmt, wie dicht die Vasa vasorum an das Gefäßlumen heran reichen. Unabhängig von Alter, Geschlecht, Körpermasse, Rasse sowie Wanddicke und qualitativer Zusammensetzung der Gefäßwand bleibt ein Teil der Gefäßwand avaskulär. Dieser durchschnittliche avaskuläre Bereich erstreckt sich auf eine Distanz von 0,467 mm vom Gefäßlumen (Abb. 4.32).



Abbildung 4.32 Durchschnittlicher avaskulärer Bereich der Tunica media; WTH- Gefäßwanddicke (Wall thickness), Vv- Vasa vasorum

Bei 3 von 35 Pferden (8,5%) konnten jedoch kleinste Gefäße kapillären Charakters in der Tunica media nachgewiesen werden, welche sich im Bereich der mittleren avaskulären Zone befinden. So konnten beispielsweise beim Pferd Nr. 30, einer 1 jährigen Stute, Vasa vasorum dargestellt werden, die bis auf 0,32 mm an das Gefäßlumen heranreichen (Abb. 4.33(a)). Ähnliche Ergebnisse wurden bei Pferd Nr. 3 (Abb. 4.33(c)), einer 4 jährigen Stute und Pferd Nr. 4 (Abb. 4.33(b)), einem 3 jährigen Hengst erzielt.



Abbildung 4.33 Gefäßwandquerschnitt mit Vasa vasorum in der Tunica media, L- Lumen, M- Tunica media, Pfeilspitze- Vasa vasorum, Doppelpfeil- Abstand der innersten Vasa vasorum zum Lumen a) Pferd Nr. 30 Gefäß 2, Volkmann Strauß 20x Vergr., Doppelpfeil-Länge 0,32 mm; b) Pferd Nr. 4 Gefäß 2, Volkmann Strauß 20x Vergr., Doppelpfeil- Länge 0,32 mm; c) Pferd Nr. 3 Gefäß 1, Volkmann Strauß 20x Vergr., Doppelpfeil- Länge 0,29 mm

# 4.1.2.9 Anteil glatter Muskelzellen, kollagener und elastischer Fasern in der Tunica media der distalen Arterien des Pferdes

Bei den in dieser Arbeit betrachteten muskulären Arterien konnte gezeigt werden, dass unabhängig von Alter, Gewicht, Geschlecht, Rasse und Lokalisation (G1-G3) eine konstante Verteilung an glatten Muskelzellen, kollagenen und elastischen Fasern anzutreffen ist (Abb. 4.34, Tab. 4.2).

Es besteht zusätzlich eine signifikant negative Korrelation zwischen dem Anteil an glatten Muskelzellen und kollagenen Fasern. Diese Signifikanz ist bei G1, G2 und G3 vorhanden. Ebenso zeigt sich eine negative Korrelation zwischen smc und elastischen Fasern, welche jedoch nur bei G1 signifikant ist. Zwischen den Anteilen elastischer und kollagener Fasern in der Tunica media ist keine Korrelation



Abbildung 4.34 Prozentualer Anteil glatter Muskelzellen, kollagener und elastischer Fasern in der Tunica media der Gefäße 1,2 und 3 aller untersuchten Pferden (Pferd Nr. 1-35)

Tabelle 4.2 Proz	zentuale	Verteilung	der	Gefäßwa	ndbesta	ndteile	der	Tunica	media	der
	Gefäße 1	,2 und 3 all	er ui	ntersucht	en Pferde	e (Pferd	Nr.	1-35)		

	glatte Muskelzellen	elast. Fasern	kollag. Fasern
Mittelwert	81,62%	7,24%	9,46%
Standardabweichung	6,45	3,88	5,92

nachweisbar. Gleichermaßen konnte kein Zusammenhang zwischen der WTH (Wall thickness- Dicke der Tunica media und interna) und den hier aufgeführten Parametern festgestellt werden.

# 4.2 Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Die elektronenmikroskopische Charakterisierung der Endothelzellen, des Stratum subendotheliale, der Membrana elastica interna und der Vasa vasorum erfolgte bei 3 Pferden. Die Anzahl an untersuchten Gewebeproben je Tier und Gefäß sind in Kap. 3.2.2 aufgeführt. Sowohl die Vena jugularis als auch die peripheren muskulären Arterien (G1-G3) wurden auf morphologische Besonderheiten mit Hilfe des Elektronenmikroskops (EM 10CR, Zeiss) untersucht.

# 4.2.1 Qualitative Beschreibung

## 4.2.1.1 Muskuläre Arterien (G1-G3)

Sämtliche untersuchten Arterien zeigen im Querschnitt eine deutliche Tunica interna mit einem stark ausgeprägten Stratum subendotheliale und Membrana elastica interna (Abb. 4.35). Gelegentlich sind Lücken in der Membrana elastica interna erkennbar gewesen. Die innerste Begrenzung zum Lumen bildet die in ihrer Ausprägung stark variierende, 200 - 2500 nm dicke Glykokalix der Endothelzellen.



Abbildung 4.35 Gefäßwandquerschnitt, Übersicht Tunica interna mit angrenzender Tunica media der A. digitalis palmaris com. II; Pferd Nr. 5; L- Lumen, E- Endothelzelle, N-Nukleus, F- Fibrozyt, M- Membrana elastica interna, My- glatte Muskelzelle der Tunica media, Pfeil- Basallamina der Endothelzellen, Stern- diskontinuierliche Membrana elastica interna

Die Endothelzellen erscheinen überwiegend kubisch geformt. Zumeist sind die Endothelzellen lumenseitig abgeflacht und ragen spitzkegelförmig in die Tiefe des Stratum subendotheliale hinein (Abb. 4.38). Die breiteste Stelle der Endothelzellen ist meist lumennah und parallel zur Blutflussrichtung. Hier ist auch der Zellkern lokalisiert, welcher stets eine unregelmäßige Form annimmt. Die seitliche Begrenzung der Endothelzellen zu benachbarten Endothelzellen erscheint zum einen linienförmig in geradem Verlauf mit sehr wenigen Zytoplasmaausläufern und Interdigitationen (Abb. 4.38). In diesen Arealen liegen die Endothelzellen dicht aneinander und sind über Haftkomplexe bestehend aus tight und adherens junctions miteinander verbunden. Besonders deutlich wird dies im Bereich von Überlappungen der Endothelzellen, die sich lumennah übereinander schieben und durch apikal befindliche tight- und basolateral lokalisierte adherens junctions in Verbindung stehen (Abb. 4.37, 4.36).

Ein interzellulärer Stoffaustausch über Vesikel ist auch im Bereich der Überlappungen zu erkennen. Diese Form von Überlappung ohne Interdigitationen ist ausschließlich an der apikalen Zellseite erkennbar.

Endothelzellen welche im Anschnitt tiefer in der Tunica interna anzutreffen sind zeigen stark geschlängelte Zellgrenzen mit deutlich erkennbaren Zytoplasmaausläufern und zahlreichen Interdigitationen (Abb. 4.39).

Bei diesen Zellen nimmt der Zellkern den flächenmäßig größten Anteil der Endothelzelle ein. Unabhängig von der Lokalisation der Endothelzellen ist zu benachbarten Zellen stets ein deutlicher Interzellularspalt (12-35 nm) erkennbar. Je nach Zellkontakt variiert die Ausprägung des Interzellularspaltes (Abb. 4.40 b).

Die Zellkerne der Endothelzellen sind unregelmäßig geformt, je nach Anschnitt variabel in ihrer Größe und zeigen zahlreiche Ausstülpungen an der Oberfläche. Bei allen betrachteten Zellkernen überwiegt der Anteil von Euchromatin über Heterochromatin. Heterochromatin ist primär in der Peripherie des Zellkerns lokalisiert. Die typische Doppelmembran der Zellkerne ist gut erkennbar (Abb. 4.40 b). Das Zytoplasma der Endothelzellen besitzt zahlreiche Zellorganellen. Zum überwiegenden Teil sind Pinozytosebläschen, Mitochondrien und endoplasmatisches Retikulum vorhanden, aber auch Ribosomen, Lysosomen und Golgi-Apparate sind erkennbar.



Abbildung 4.36 Ausschnitt aus der Tunica interna, Pferd Nr. 5, Lumennaher Haftkomplex mit apikalen tight junctions (Pfeile) und basolateraler adherens junction (Pfeilspitze) zweier benachbarter Endothelzellen, E- Endothelzelle, N-Nukleus, L-Lumen, Gly-Glykokalix Blitz- Interzellularspalt



Abbildung 4.37 Ausschnitt aus der Tunica interna, Pferd Nr. 5, Lumennaher Haftkomplex mit apikaler tight junction (Pfeilspitze) und basolateraler adherens junction (Pfeil) zweier benachbarter Endothelzellen, E- Endothelzelle, Blitz- Interzellularspalt



 Abbildung 4.38 Ausschnitte aus der Tunica interna, Pferd Nr. 5 a) Spitzkegelförmige Ausrichtung der arteriellen Endothelzellen mit angrenzendem Stratum subendotheliale; L- Lumen, E- Endothelzelle, N- Nukleus, St- Stratum subendotheliale, Pfeil- Glykokalix;
b) Detail zweier benachbarter Endothelzellen mit deutlich erkennbaren Zellgrenzen und Interdigitationen, Gly- schwach ausgeprägte Glykokalix

Das Stratum subendotheliale erscheint, durch die fixationsbedingt stark gewellt erscheinende Membrana elastica interna, in seiner Ausprägung unterschiedlich stark (ca. 5-10 µm). Es besteht zum Großteil aus amorpher Interzellularsubstanz sowie Anteilen von kollagenen Fasern und Fibrozyten.

Die Membrana elastica interna hat eine Dicke von 1-2 µm und zeigt eine unregelmäßig geformte Oberfläche mit teilweise deutlichen Auswölbungen und Fortsätzen sowohl in Richtung der Tunica interna als auch zur angrenzenden Tunica media und steht somit mit den Faseranteilen beider Gefäßwandschichten in Kontakt. Bei den elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Arterienwände wurden keine Duplikationen, jedoch Unterbrechungen und Poren in der Membrana elastica interna festgestellt.

### 4.2.1.2 Vena jugularis

Die ultrastrukturelle Untersuchung der Tunica interna bei der Vena jugularis differiert gegenüber den Arterien beträchtlich. Grundsätzlich ist zu erwähnen,



Abbildung 4.39 Ausschnitt aus der Tunica interna, Pferd Nr. 5, Interdigitationen zwischen benachbarten Endothelzellen, L- Lumen, E- Endothelzelle, Stern- Interdigitationen, Pfeile schwarz- Interzellulärer Stoffaustausch über Vesikel, Pb- pinozytotische Bläschen, Pfeile weiß- Basalmembran der Endothelzellen



Abbildung 4.40 Ausschnitt aus der Tunica interna, Pferd Nr. 5 a) Endothelzellen mit deutlich erkennbarer Glykokalix, L- Lumen, E- Endothelzelle; N- Nukleus; Pfeile-Zellmembran der Endothelzellen, St- Stratum subendotheliale; b) Stoffaustausch zwischen benachbarten Endothelzellen und Interzellularspalt, Pfeile- Interzellularspalt, Pbpinozytotische Bläschen, N- Nukleus; E- Endothelzelle, Stern- doppelte Kernmembran

dass eine klare Abgrenzung zwischen Tunica interna und Tunica media durch die Membrana elastica interna, wie sie bei den Arterien deutlich und kontinuierlich zu erkennen war, bei der Vena jugularis nicht darstellbar ist. Vielmehr zeigt sich hier ein wesentlich unstrukturierter Aufbau von Lamina endothelialis, Stratum subendotheliale und Membrana elastica interna (Abb. 4.41).

Zum Teil ergeben sich fließende Übergänge, die nur schwer voneinander abzugrenzen sind oder gänzlich fehlen. So ist anstatt einer kontinuierlichen Membrana elastica interna ein Netzwerk aus elastischen – und kollagenen Fasern erkennbar, welches sich direkt an die Endothelzellen anlagert und somit ein Stratum subendotheliale nur schwer als separate Schicht erkennen lässt. Die Kontaktfläche zwischen benachbarten Endothelzellen erstreckt sich in unserer Studie auf einen sehr schmalen Bereich. Teilweise ist ein Interzellularspalt zur Nachbarzelle an der apikalen Seite nur schwer darstellbar.

Die Endothelzellen der V. jugularis zeigen eine unregelmäßige Form mit teilweise nur sehr dünnen und schmalen Ausläufer zu den angrenzenden Endothelzellen.



Abbildung 4.41 Ausschnitt der Tunica interna mit angrenzender Tunica media der Vena jugularis ext. ohne erkennbare Membrana elastica interna; Pferd Nr. 4, E- Endothelzelle, N- Nukleus, El- elastische Fasern, K- kollagene Fasern, F- Fibrozyt



Abbildung 4.42 Ausschnitt aus der Tunica interna der V. jugularis externa, Überlappung zweier Endothelzellen mit Interzellularspalt, Pferd Nr. 4 (Stern), L- Lumen, E- Endothelzelle, N- Nukleus, K- kollagene Fasern

Die Endothelzellen erscheinen sehr platt und langgezogen mit stets sehr unterschiedlich geformter lumenseitiger Oberfläche (Abb. 4.41). Apikal sind diverse Zytoplasmaausläufer über die gesamte Länge der Zellen erkennbar, welche zum Teil weit in das Lumen hineinragen. Neben den Zytoplasmaausläufern sind Protrusionen der Endothelzellen anzutreffen. Hier ragen die Endothelzellen in fast ihrer gesamten Ausprägung, in das Gefäßlumen hinein (Abb. 4.43)

An benachbarten Endothelzellen, welche sich lumenseitig überlappen, konnten im Bereich des Interzellularspaltes keine tight junctions angetroffen werden (Abb. 4.42). Die Glykokalix der Endothelzellen der Vena jugularis ist bei allen untersuchten Präparaten nur sehr schwach ausgebildet.

Basal grenzen die Endothelzellen über die Basalmembran den elastischen oder kollagenen Fasern an, wodurch ein subendothelialer Spalt nicht zu erkennen ist (Abb. 4.44).

Der Zellkern der Endothelzellen ist entsprechend der Form der Zellen äußerst langgezogen und erstreckt sich nicht selten über die gesamte Länge der Endothelzelle. Zumeist sind die Kerne lumennah anzutreffen, sodass zwischen Zellkern und fließendem Blut oft weniger als 100-200 nm liegen. Die Oberfläche der Zellkerne ist unregelmäßig, zeigt meist tiefe Einsenkungen oder Ausstülpungen. Im Zellkern überwiegt der primär zentral lokalisierte Anteil an Euchromatin über dem Heterochromatin. Eine doppelte Kernmembran ist bei allen untersuchten Schnitten gut erkennbar. Im Zytoplasma der Endothelzellen sind typische Zellorganellen wie Mitochondrien, ER, Ribosomen, Lysosomen, Pinozytosebläschen und Golgi-Apparate vorhanden.

## 4.2.1.3 Vasa vasorum der distalen Arterien

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung der Vasa vasorum wurden gezielt Gefäße in Betracht gezogen, welche von glatten Muskelzellen umgeben sind, um myoendotheliale Verbindungen zu studieren. Der Durchmesser dieser Gefäße lag im Durchschnitt bei 10-27 µm. Bei allen Gefäßen bestand die innere Gefäßauskleidung aus einem geschlossenen Verband von Endothelzellen. Eine ausgeprägte Glykokalix konnte bei keinem der betrachteten Vasa vasorum aufgezeigt werden.



Abbildung 4.43 Ausschnitt aus der Tunica interna mit angrenzender Tunica media der V. jugularis externa, Protrusion einer Endothelzelle der Vena jugularis ext. mit Zytoplasmaausläufern (Pfeile); Pferd Nr. 4, E- Endothelzelle, N- Nukleus, El- elastische Fasern, K- kollagene Fasern, F- Fibrozyt



Abbildung 4.44 Ausschnitt aus der Tunica interna mit angrenzender Tunica media der V. jugularis externa, flache Endothelzelle mit Zytoplasmaausläufern ins Gefäßlumen (Pfeile); Pferd Nr. 4, L- Lumen, E- Endothelzelle, N- Nukleus, El- elastische Fasern, Kkollagene Fasern
Vielmehr grenzt die apikale Zellwand der einzelnen Endothelzellen direkt an das Lumen. Die Endothelzellen der Vasa vasorum sind geprägt von einer Vielzahl an Zytoplasmafortsätzen, welche unregelmäßig geformt in das Lumen hineinragen oder auf benachbarten Endothelzellen liegen (Abb. 4.45 a).



Abbildung 4.45 Ausschnitt aus der Tunica media der A. digitalis palmaris com. II, Zellkontakte zwischen Endothelzellen eines Vas vasorum; Pferd Nr. 4; a) L- Lumen, E-Endothelzelle, I- Interdigitationen, V- Vakuolen; Pb- pinozytotische Bläschen, Pfeil-Hemidesmosomen; b) sehr schmale Endothelzellen mit kontinuierlicher Basalmembran (Stern), angrenzendem Stratum subendotheliale (St), glatten Muskelzellen (My) und elastischen Fasern (El), N- Nukleus, Ey- Erythrozyt

Die Endothelzellen selbst sind unregelmäßig geformt, erscheinen jedoch überwiegend langgezogen (Abb. 4.46 a). Die Kontaktfläche zu benachbarten Endothelzellen erstreckt sich meist nur über eine kurze Distanz (Abb. 4.45 b).

Ein deutlicher Interzellularspalt kann bei der Betrachtung der Endothelzellen an Vasa vasorum nicht dargestellt werden. Zum Teil liegen die Endothelzellen so dicht aneinander, dass kein Interzellularspalt erkennbar ist. Im überwiegenden Teil ist jedoch ein Interzellularspalt vorhanden, welcher sich über eine Distanz von 10 nm erstreckt. Basal sind Vakuolen, Pinozytose, Endo- und Exozytose zu erkennen (Abb. 4.45 b).

Im Zytoplasma sind Lysosomen, Ribosomen, Golgi-Apparat und Mitochondrien erkennbar (Abb. 4.45 a).



Abbildung 4.46 Ausschnitt aus der Tunica media der A. digitalis palmaris com. II, Endothelzellen der Vasa vasorum, Pferd Nr. 4, a) Langgestreckte Endothelzellen liegen zirkulär um das Gefäßlumen herum mit schmaler Kontaktfläche zu benachbarten Endothelzellen und deutlichem Abstand zur angrenzenden glatten Muskulatur, Ey-Erythrozyt, E- Endothelzelle; N- Nukleus, Pfeil- Hemidesmosomen, Stern- Basallamina, St- Stratum subendotheliale, My- glatte Muskelzelle; b) Übersicht der angrenzenden glatten Muskulatur in der Tunica media, My- glatte Muskelzelle, Ey- Erythrozyt; c) Endothelzelle mit kurzen (ca. 400 nm) Zytoplasmaausläufern ins Lumen

Die Zellkerne der Endothelzellen erscheinen auffällig homogen in ihrer Form. Sie zeigen stets eine glatte Oberfläche und sind teilweise oval bis kreisrund mit nur sehr wenigen Ausstülpungen an der Oberfläche. Die Doppelmembran der Zellkerne ist nur schwach erkennbar. Im Zellkern überwiegt der Anteil an Euchromation über Heterochromatin und ist vorzugsweise im Zentrum des Zellkerns lokalisiert. Bei allen betrachteten Vasa vasorum ist eine deutliche Basalmembran zu erkennen, welcher die Endothelzellen aufsitzen (Abb. 4.45 b).

Die Basalmembran hat eine konstante Stärke von ca. 60 nm und ist kontinuierlich im Verlauf. Die Entfernung zwischen Basallamina und Endothelzelle ist meist konstant und erstreckt sich über eine Distanz von ca. 60-80 nm. Eine Membrana elastica ist nicht erkennbar. Zwischen den Endothelzellen und den zirkulär um das Gefäß liegenden glatten Muskelzellen befindet sich ein subendothelialer Spalt. Das Ausmaß des subendothelialen Spalts ist variabel. Im Spalt selbst befinden sich Anteile von elastischen und kollagenen Fasern und vereinzelt Fibrozyten. Ein enger Kontakt zwischen den Endothelzellen und den angrenzenden glatten Muskelzellen, welcher über eine längere Distanz zu verzeichnen wäre, ist nicht erkennbar. Entsprechend ist der subendotheliale Spalt im Bereich des myoendothelialen Kontaktes bis auf wenige Nanometer reduziert und im übrigen Bereich im Durchschnitt 17,86 µm breit.

# **5** Diskussion

Ziel dieser Studie war es, klinisch relevante Blutgefäße des Pferdes sowohl histomorphologisch als auch ultrastrukturell auf zelluläre und extrazelluläre Komponenten zu untersuchen. Bislang liegen zu den genannten Schwerpunkten keine systematischen Untersuchungen bei der Spezies Pferd vor.

Die in dieser Arbeit untersuchten Gefäße sind Applikationsort für diagnostische und therapeutische Substanzen und an der Genese verschiedenere Erkrankungen beteiligt. Daher sollen auch mögliche Ursachen der häufigen Ausbildung von (Thrombo-) Phlebitiden und der Hämatombildung nach einer Gefäßpunktion, sowohl an den distalen Gefäßen als auch der Vena jugularis, diskutiert werden.

# 5.1 Qualitative Beschreibung der distalen Arterien der Vordergliedmaße - Lichtmikroskopie

Die qualitative Beschaffenheit der unterschiedlichen Komponenten der hier untersuchten arteriellen Gefäßwände deckt sich zum überwiegenden Teil mit den Erkenntnissen des allgemein bekannten Aufbaus der Blutgefäße (LIEBICH, 2010). Auffälligkeiten und Abweichungen des allgemein bekannten Aufbaus der arteriellen Gefäßwände werden in diesem Kapitel abgehandelt.

### 5.1.1 Diskontinuierliche und mehrlagige Membrana elastica interna

Beginnend mit der Tunica interna konnte festgestellt werden, dass die Membrana elastica interna bei 2 von 35 von uns untersuchten Pferden (5,71%) nicht der einlagigen kontinuierlichen Struktur entspricht. So ist diese zum Teil mehrlagig und zeigt gelegentlich diskontinuierliche Bereiche. Die beschriebenen morphologischen Veränderungen sind jedoch nicht über die gesamte Länge der Membrana elastica interna erkennbar, sondern treten nur an einigen Bereichen auf (Abb. 4.1). Benninghoff beschrieb an Arterien des Menschen ähnliche morphologische Ausprägungen, jedoch sieht er ein feines Netz an elastischen Fasern in der Tunica interna, welches sich an der Grenze der Tunica media zur Membrana elastica interna vereinigt (BENNINGHOFF, 1930). Heidenreich beschrieb Formen der Elastikadegeneration in der Tunica interna mit kompensatorischem Ersatz durch kollagene Faser an Pulmonaratterien des Pferdes. Sie führte diese Ergebnisse sowohl auf das Alter der Tiere als auch auf die Lokalisation des Gefäßes zurück (HEIDENREICH, 1960). So sind diese Veränderungen an stark beanspruchten Regionen, an denen die mechanische Belastung erhöht ist (Gefäßabzweigungen, Biegungen der Arterie) deutlicher und auch bereits in jungem Alter nachgewiesen worden. Farand und Kollegen sehen die parallel zum Blutfluss ausgerichteten elastischen Fasern der Tunica interna als Gegenkraft zur longitudinal auf die Gefäßwand wirkende Wandschubspannung (FARAND et al., 2007).

Ob eine erhöhte Wandschubspannung oder durch Lokomotion hervorgerufene, gesteigerte mechanische Belastung für die Mehrlagigkeit der Membrana elastica interna verantwortlich ist, bleibt zu klären.

#### 5.1.2 Morphologie der elastischen Fasern in der Tunica media

Ausprägung, Stärke und Verlauf der elastischen Fasern variieren in der Tunica media. Es besteht eine Abhängigkeit sowohl von der Lokalisation der Fasern in der Gefäßwand selbst, als auch von der Lokalisation des Gefäßes im Tierkörper. Die in der vorliegenden Studie betrachteten elastischen Fasern der Tunica media stellten sich als haarfeine, unregelmäßig geschlängelte und zum Teil auch gerade verlaufende Linien dar, welche sowohl parallel aus auch rechtwinklig (perpendikular) und schräg zu den glatten Muskelzellen ausgerichtet sind und netzförmig untereinander in Kontakt stehen. Dabei stellen sich parallele Fasern meist dicker dar als rechtwinklig und schräg verlaufende Fasern (Abb. 4.2).

Farand beschrieb einen identischen Verlauf der elastischen Fasern in der Kaninchenaorta (FARAND et al., 2007). Verschiedene Untersuchungen stellten analog dieser Studie fest, dass in der Tunica media dicke elastische Fibrillen durch ein Netzwerk aus feinen elastischen Fasern untereinander in Kontakt stehen (KARRER, 1961; KEECH, 1960; PEASE und PAULE, 1960). Hermann Dürck beschrieb die Erscheinung der elastischen Fasern in der arteriellen Tunica media als ein "Gewirr", das an Telegraphendrähte erinnert. Analog zu den vorliegenden Ergebnissen stellte er fest, dass die Fasern sowohl parallel zum Gefäß als auch häufig sich selbst überschneidend und kreuzend auftreten (DÜRCK, 1907). Benninghoff festigte diese Erkenntnisse an Untersuchungen des Menschen und fügte hinzu, dass die Dicke der Fasern variiert und sie im Querschnitt meist oval erscheinen (BENNINGHOFF, 1930). Bei der Spezies Pferd wurden die elastischen Fasern in der Tunica media der muskulären A. mediana als äußerst dünne und feine Fäserchen beschrieben, welche in der Tunica media fast zu verschwinden erscheinen (BAUM, 1903).

### 5.1.3 Veränderungen im Verlauf der glatten Muskelzellen in der Tunica media

Die glatten Muskelzellen repräsentieren bei den hier betrachteten Gefäßen in der Tunica media den Hauptanteil. Eine Massenzunahme an glatten Muskelzellen bei gleichzeitiger Verdrängung an elastischen- und kollagenen Fasern in peripheren Arterien ist allgemein bekannt (BENNINGHOFF, 1930). Besonderes Augenmerk soll an dieser Stelle eher auf den Verlauf der glatten Muskelzellen an besonders beanspruchten Stellen gerichtet werden. Thienel und Benninghoff dokumentierten einen Wechsel des sonst zirkulären Verlaufes um das Gefäß an Gefäßabgängen (THIENEL, 1902; BENNINGHOFF, 1930). Baum beschrieb eine ähnliche Anordnung der glatten Muskelzellen bei den Gefäßen des Pferdes (BAUM, 1903). Zunächst kann in der vorliegenden Arbeit ein Verlaufsrichtungswechsel der glatten Muskelzellen an Gefäßabzweigungen, von ursprünglich zirkulär in einen longitudinalen Verlauf, bestätigen werden. Wie bereits in Kap. 4.1.1 beschrieben, ist jedoch aufgefallen, dass der Verlaufsrichtungswechsel auf die kontralaterale Seite eines Gefäßabganges beschränkt ist. Analog dieser Studie stellte Studier diese morphologische Veränderung in der Tunica interna bei der Zehenendarterie von Pferden auf der kontralateralen Seite eines Gefäßabganges fest und beschrieb ebenso Einlagerungen von längsverlaufenden Muskelzellen in der Tunica media (STUDIER, 1951). Somit ist an dieser Stelle ein möglicher Zusammenhang zu der Intimaverdickung an Gefäßabzweigungen erkennbar. Es ist möglich, dass sich sowohl die Tunica interna als auch die Tunica media entsprechend der strömungsregulatorischen Verhältnisse adaptieren. Clark und Glagov äußerten eine ähnliche Vermutung. Sie gehen davon aus, dass sich die glatten Muskelzellen und die elastischen Fasern entsprechend der Zugrichtung in der Gefäßwand ausrichten (CLARK und GLAGOV, 1985). Glagov erweiterte diese These und postuliert, dass der gesteigerte intramurale Druck, welcher an Gefäßabzweigungen auf die Gefäßwand einwirkt, über die Tunica media auf die Tunica externa übertragen wird und somit Einfluss auf die Morphologie der Adventitia hat (GLAGOV et al., 1992). Veränderungen dieser Art können bei den hier untersuchten Arterien nicht feststellen werden.

### 5.2 Quantitative Analyse der Gefäßwand

#### 5.2.1 Lumendiameter

Es besteht eine Reduktion des Lumendiameters von proximal nach distal. Bedingt durch die Entfernung der Entnahmestellen, ist die Reduktion von G1-G2 (hier beträgt der Abstand je nach Größe des Pferdes 20-30 cm) deutlicher als von G2-G3 (Abstand 5-10 cm). Dieses Ergebnis deckt sich mit der beschriebenen kontinuierlichen Abnahme des arteriellen Gefäßdurchmessers im proximo-distalen Verlauf (LIEBICH, 2010). Bezieht man das Alter der Pferde in die Untersuchung ein, so lässt sich erkennen, dass eine signifikante Einengung des Gefäßdurchmessers von mittelalten (8-16 Jahre) zu älteren Pferden (17-24 Jahre) deutlich wird. Dies konnte jedoch ausschließlich an der proximalsten Entnahmestelle (G1) nachgewiesen werden. Zimmermann und Kollegen (1927) stellten hingegen in ihren Untersuchungen fest, dass die Weite der Arterien (insbesondere Aorta; Truncus brachiocephalicus) bei Huftieren im Allgemeinen mit dem Alter zunimmt (ZIM-MERMANN, 1926). Plank und Kollegen analysierten die Aorta und Pulmonararterie des Menschen mit zunehmendem Alter mit gleichem Ergebnis (PLANK et al., 1980). Ebenso berichten Najjar, Yildiz und Laurent über eine Lumenerweiterung der Aorta (NAJJAR et al., 2005), der Koronararterien (YILDIZ, 2007) und der A. carotis communis (LAURENT, 2012) mit zunehmendem Alter beim Menschen, welche unabhängig von pathologischen Prozessen stattfindet. An peripheren Arterien jedoch (A. mesenterica cran.) konnten Zimmermann und Mitarbeiter analog der vorliegenden Studie Einengungen des Gefäßlumens mit zunehmendem Alter feststellen. Diese Einengung führten Sie auf die Zunahme der Wanddicke (insbesondere der Tunica media) mit steigendem Alter zurück (ZIMMERMANN, 1926). Diese Feststellung kann durch die vorliegende Arbeit bestätigt werden. Innerhalb derselben Tierart hat die Rasse einen erheblichen Einfluss auf die Weite des Gefäßrohres (ZIMMERMANN, 1926). So zeigen die Arterien der Kaltblüter die weitesten und die Pferde der Gebirgsrassen (kleine Rassen) die engsten Lumina. Da nach diesen Ergebnissen das Körpergewicht der Pferde keinen Einfluss auf die Weite des Gefäßrohres hat, stellt sich die Frage, ob stattdessen die größere Körperhöhe der Kaltblüter Einfluss auf die Zunahme der Gefäßlumina haben kann.

Entgegen dieser Ergebnisse zeigte Wolinsky, dass das Körpergewicht der Tiere einen Einfluss auf die Weite des inneren Gefäßdurchmessers hat (WOLINSKY, 1967). Der Einfluss der Körpermasse soll bei Tieren < 50 kg deutlicher sein als bei Tieren > 50 kg. Pferde wurden in diese Studie nicht einbezogen. Zimmermann postulierte zusätzlich, dass sowohl bei Pferd, Rind, Schwein und Schaf als auch beim Menschen männliche gegenüber weiblichen oder kastrierten Individuen weitere arterielle Gefäßlumina aufweisen (ZIMMERMANN, 1926). Bei den hier vermessenen Gefäßen konnte diese Tatsache nicht bestätigt werden. Es ist jedoch zu erwähnen, dass sich das Untersuchungsmaterial von Zimmerman, entgegen der vorliegenden Untersuchung, auf herznahe oder zumindest abdominal gelegene Arterien erstreckt hat.

# 5.2.2 Tunica interna - Abweichungen der sonst kontinuierlichen Beschaffenheit

Die Dicke der innersten Gefäßwandschicht zeigt weder im proximo-distalen Verlauf noch in Abhängigkeit verschiedener biologischer Parameter signifikante Veränderungen. Im Durchschnitt aller untersuchten Gefäße beträgt die Dicke der Tunica interna 6,89 µm. Heidenreich beschrieb bei der Untersuchung von Lungenarterien des Pferdes eine jenseits des 10. Lebensjahres eintretende bindegewebige Umwandlung der Tunica interna (HEIDENREICH, 1960). Sie beschreibt eine Dickenzunahme um das mehrfache der ursprünglichen Stärke, hervorgerufen durch eine Zunahme an subendothelialen Bindegewebsschichten und Einlagerung kollagener Fasern. Li et al. konnten eine Verdickung der Tunica interna, bedingt durch Einlagerung von extrazellulärer Matrix und zellulären Komponenten, an der Aorta von Ratten analog den Untersuchungen von Heidenreich bestätigen (LI et al., 1999). Da beide Studien an herznahen Arterien durchgeführt wurden, stellt sich die Frage, ob diese Intimaverdickungen im Alter auch an distalen muskulären Arterien der Pferde auftreten. Anhand der vorliegenden Studie kann diese These zunächst verneint werden. Interessant ist, dass sämtliche Altersveränderungen an besonders stark beanspruchten anatomischen Stellen, wie Aufgabelung des Gefäßes oder Abgänge von Seitenästen in verstärktem Maße aufgetreten sind (HEIDENREICH, 1960). Die Intimapolster an Gefäßabgängen konnte sowohl in dieser als auch in einer von Studier geleiteten Studie 1951 bestätigt werden (STUDIER, 1951). Intimapolster sind geprägt durch Einlagerung von glatten Muskelzellen und kollagenen Fasern. Somit erscheint das Endothel von der Membrana elastica interna abgehoben (STUDIER, 1951). Gegenüber diesen Resultaten bei Intimapolstern, konnte in der vorliegenden Arbeit bei Intimaverdickungen nur vereinzelt bis keine glatten Muskelzellen in der Tunica interna festgestellt werden (Abb. 4.15). Mit 59% stellt der muskulo-fibrilläre-Typ den Hauptanteil der Intimaverdickungen, über den rein muskulären (28%) und den bindegewebig-muskulären Typ mit viel Interzellularsubstanz (18%) (STUDIER, 1951). Es ist möglich, dass turbulente Strömungen im Bereich von Gefäßabgängen und somit hämodynamische Veränderungen diese strukturellen Veränderungen der Tunica interna als auch der Tunica media (Kap. 5.2) induzieren und strömungsregulatorisch wirksam sind. Studier (1951) konnte diese blutflussregulierende Einrichtung in Form von Intimapolstern sowohl schon bei sehr jungen als auch bei

älteren Pferden aufzeigen, sodass eine Altersassoziation fraglich erscheint. Ähnliche Erkenntnisse erlangte auch Thienel bereits 1902 bei seiner mikroskopischen Untersuchung der Schultergliedmaße des Pferdes (THIENEL, 1902). Jedoch sind in seinen Studien Verdickungen der Tunica media an der gegenüberliegenden Seite von Gefäßabgängen als strömungsregulatorische Einheiten beschrieben worden und keine Intimaverdickungen, wie es bei Heidenreich und in unserer Studie der Fall ist. Interessanter Weise kann diese Form der Verdickung der Tunica media nicht bestätigt werden, jedoch ist ein Wechsel der Verlaufsrichung der glatten Muskelzellen an der gegenüberliegenden Seite von Gefäßabgängen vorhanden (Abb. 4.3; 4.4). Zusätzlich sieht Thienel eine Dickenzunahme und Mehrschichtigkeit der Tunica interna mit Zunahme der Größe von Arterien. Dies kann jedoch an den hier untersuchten Arterien nicht bestätigt werden. Kürzlich konnte an Koronararterien beim Kanninchen gezeigt werden, dass entzündliche Prozesse in den Gefäßwänden zu Verdickungen der Tunica interna im Bereich der Entzündung führen (FUJII et al., 2016). Ebenso führt der Befall mit Strongylus vulgaris beim Pferd an der A. ileocolica zur deutlichen Verdickungen der Tunica interna im Bereich der parasitären Infektion (PILO et al., 2012).

#### 5.2.2.1 Zirkuläre Intimaverdickung

Die bisher beschriebenen Dickenzunahmen der Tunica interna beschränken sich vermutlich auf physiologische, lokal vorkommenden strömungsregulatorische Einrichtungen. Bei zwei von 36 Pferden (Pferd Nr. 8+11) in dieser Studie konnten Verdickungen der Tunica interna dargestellt werden, welche sich zirkulär um das Gefäßlumen erstrecken und das 5-10 fache der durchschnittlichen Intimadicke betragen. Da der Ort der Blutgefäßentnahme bei allen Pferden definiert war, ist davon auszugehen, dass kein Gefäßabgang oder eine anatomische Besonderheit bei diesen beiden Pferden an der Entnahmestelle vorlag, sodass von einer möglichen pathologischen Genese der Intimaverdickung ausgegangen werden kann. Pferd Nr. 8 wurde als Rennpferd im Leistungssport viele Jahre eingesetzt und im Alter von 24 Jahren geschlachtet. Pferd Nr. 11 wurde wegen chronischer Hufrehe und anschließender Hufdeformation euthanasiert. Ähnliche Veränderungen der Intima mit vermehrt eingelagerten elastischen Fasern und glatten Muskelzellen im Stratum

subendotheliale stellte Jores im Rahmen von pathologischen Prozessen (Endarteritis, Arteriosklerose) fest (JORES, 1903, 1898). Grundsätzlich sieht Jores das Stratum subendotheliale als Ort der physiologischen (Gefäßabgänge) und pathologischen (Arteriosklerose) Substanzzunahme bei Intimaverdickungen. Einen kompletten Verschluss der Digitalarterien bei Pferden, welche an Podotrochlose erkrankten, stellte Fricker in seinen Untersuchungen fest (FRICKER et al., 1982). Histologische Untersuchungen an vollständigen Gefäßverschlüssen spiegeln das Bild eines organisierten Thrombus wieder. Partielle Verschlüsse bzw. Lumeneinengungen lassen das Bild einer im Sinne der Endarteritis obliterans veränderten Gefäßwand erkennen (STU-DIER, 1951; FRICKER et al., 1982). Oppenheim beschreibt eine ähnliche Form der Intimaverdickung, welche er auf das Alter zurückführte (OPPENHEIM, 1918). Zwei aktuelle Studien von Najjar et al. und Lakatta zeigen, dass sich bei zentralen elastischen Arterien (Aorta) Intimaverdickungen, unabhängig von Gefäßerkrankungen, bei gesunden Menschen, bereits im mittleren Alterssegment zeigen (NAJJAR et al., 2005; LAKATTA, 2003). Versteifung der Blutgefäße und endotheliale Dysfunktion sehen die Autoren als mögliche Ursache. Obgleich beide hier betrachteten Pferde (17 und 24 Jahren) ein hohes Alter haben, sind dennoch bei gleichaltrigen und auch älteren Pferden ähnliche generalisierte Intimaverdickungen nicht erkennbar. Ob die Nutzungsart des einen oder die Erkrankung des anderen Pferdes für die morphologischen Veränderungen verantwortlich sind, bleibt fraglich. In den beiden nachfolgend aufgeführten Studien sind jeweils pathologische Prozesse für das Auftreten von zirkulären Intimaverdickungen verantwortlich. So konnte Buck im Rahmen seiner experimentellen Studien zirkuläre Intimaverdickungen und Duplikationen der Membrana elastica interna an der A. carotis communis bei Ratten nachweisen (BUCK, 1961). Ebenso sind zirkuläre Intimaverdickungen im Rahmen der Atherosklerose des Menschen bekannt und vielfach beschrieben worden (SUBBOTIN, 2012).

### 5.2.3 Tunica media - Gewichts- und altersabhängige Dickenzunahme

Im proximo-distalen Gefäßverlauf ist eine Reduktion der Wanddicke (Dicke der Tunica media) erkennbar. Diese Reduktion ist signifikant zwischen G1-G2 und G1-G3. Hier spielt vermutlich die Distanz der Entnahmestellen eine entscheidende Rolle für die nur schwach ausgeprägte Reduktion zwischen G2-G3. Körpergewicht und Rasse der Pferde haben keinen Einfluss auf die Abnahme der Wandstärke im proximo-distalen Verlauf. Über den Einfluss dieser biologischer Parameter auf die Gefäßwandstärke der hier untersuchten distalen Gefäße liegen keine Quellen vor. Wolinsky untersuchte den Einfluss des Körpergewichtes verschiedener Tiere auf die Wanddicke (Tunica media) der Aorta (WOLINSKY, 1967). Er stellte fest, dass bei Tieren < 20 kg eine deutliche Abhängigkeit zwischen dem Körpergewicht und der Wanddicke besteht. Hier steigt je 1 kg Körpergewicht die Dicke der Tunica media um 0,5 mm an. Geringe bis keine Abhängigkeit sieht Wolinsky bei Tieren über 50 kg. Diese Erkenntnisse stehen im Wiederspruch zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Entgegen dem geringen Einfluss des Körpergewichtes auf das Gefäßlumen, zeigt sich hier eine deutliche Abhängigkeit zur Dicke der Tunica media. Wie Abb. 4.19 deutlich macht, steigt mit zunehmendem Körpergewicht die Dicke der Tunica media an. Dieser Anstieg ist im G1 am deutlichsten zu erkennen. Kürzlich konnte in einer Studie gezeigt werden, dass die Tunica media der Aorta bei schweren Pferderassen (Friesen) im Vergleich zu Warmblutpferden eine deutlich dickere Tunica media aufzeigt (SAEY et al., 2016). Eine weitere interessante Studie von Goetz über die Dicke der arteriellen Gefäßwand der Giraffe zeigt, dass diese Tiere eine wesentlich dickere Gefäßwand (insbesondere Tunica media) als andere Säugetiere aufweisen (GOETZ, 1958). Es stellt sich nun die Frage, ob die Körperhöhe, welche mit steigendem Gewicht einhergeht eher für die Wanddickenzunahme verantwortlich ist als das Gewicht selbst. Es scheint möglich, dass diese Wanddickenzunahme bis in periphere Arterien ein adaptives Verhalten widerspiegelt, welches auf den gesteigerten systolischen Blutdruck (bis 220 mmHg) (VON EN-GELHARDT und AHRENS, 2005) bei hochgewachsenen Tieren reagiert. London und Kollegen zeigten in einer Studie am Menschen, dass die Körpergröße und der systolische Blutdruck positiv korrelieren (LONDON et al., 1995). Demzufolge wäre die Dickenzunahme der Tunica media in peripheren Arterien mit steigendem Gewicht auf das Größenwachstum zurückzuführen und dementsprechend eine physiologische Adaptation auf hämodynamische Gegebenheiten (z.B. Blutdruck). Diese Vermutung könnte durch die folgende Studie gestützt werden: Ratzlaff und Kollegen zeigten, dass die intramuralen Druckverhältnisse in den distalen Gefäßen der Pferde sowohl in Ruhe als auch in Bewegung Extremwerte erreichen (RATZLAFF et al., 1985). So sind während normaler Belastungen Werte von 500 mmHG in den digitalen palmaren Venen gemessen worden. Diesen extremen Druckbelastungen

entgegnen die Venen mit einer Dickenzunahme der Gefäßwände (KEEN et al., 2008; ALLEN et al., 1990).

Blutdruckveränderungen und Turbulenzen im Blutfluss (Gefäßabzweigung) werden von Glagov als "shear stress" oder "shear forces" bezeichnet, woran sich Gefäße entsprechend adaptieren (GLAGOV et al., 1992; MULVANY und AALKJAER, 1990). In mehreren interessanten Studien wurde gezeigt, dass Gefäße bei gesteigertem "shear stress" mit einer Wandverdickung reagieren, bis der normal auf die Wand wirkende Druck von 15 dyn/cm<sup>2</sup> wiederhergestellt ist (ZARINS, 1987; KAMIYA und TOGAWA, 1980). Im Gegenzug proliferieren glatte Muskelzellen bei Reduktion der "shear forces" und migrieren aus der Tunica media in die Tunica intima um eine Lumeneinengung zu induzieren und den Druck auf die Gefäßwand wieder auf den Normalwert von 15 dyn/cm<sup>2</sup> herzustellen (ZARINS et al., 1983; GLAGOV, 1989).

Thienel stellte bereits 1902 bei seinen Untersuchungen fest, dass die Ausprägung der Tunica media entscheidend davon abhängt, in welches Gewebe die Arterien eingebettet sind (THIENEL, 1902). So erkannte er, dass z.B. die A. circumflexa humeri anterior beim Pferd in dem Bereich, wo die Arterie dem Knochen direkt aufliegt, die Wanddicke um das 4- fache geringer ausfällt als auf der gegenüber liegenden knochenfernen Seite der Gefäßwand. Er stellte fest, dass immer dort, wo kein Gegendruck durch starke Muskelbäuche oder Knochen vorhanden war, die Tunica media bedeutend stärker ausgeprägt ist (THIENEL, 1902). Bezieht man diese Erkenntnis auf die vorliegende Studie, so ist zu erwähnen, dass keines der distalen Gefäße in Muskulatur eingebettet ist. Vielmehr verlaufen die Gefäße parallel zu Sehnen und Bändern und sind in lockeres Bindegewebe gehüllt. Eine generalisierte Wandverdickung würde die fehlende Unterstützung durch Muskulatur bei den hier betrachteten Gefäßen kompensieren.

Betrachten wir den Einfluss des Alters der Pferde auf die Dicke der Tunica media, so ist analog des Körpergewichtes eine deutliche Abhängigkeit erkennbar. Sowohl bei G1 als auch bei G2 steigt mit dem Alter die Dicke der Tunica media signifikant an. Keine signifikante Zunahme konnte beim distalen Gefäß G3 verzeichnet werden. Heidenreich beschrieb eine kontinuierliche Dickenzunahme der Tunica media (A. pulmonalis) beim Pferd bis zu einem Alter von 5 Jahren (HEIDENREICH, 1960). Dies ist vermutlich auf das kontinuierliche Wachstum der Pferde bis ins das 5.-6. Lebensjahr zurückzuführen. Die weitere Dickenzunahme der Tunica media bei Tieren jenseits dieses Alters ist vermutlich nicht dem physiologischen Wachstum der Pferde geschuldet. Plank schilderte ebenso eine altersabhängige Dickenzunahme der Tunica media an Lungenarterien beim Menschen (PLANK et al., 1980). In einer im Jahre 2010 durchgeführten Studie von Bjarnegard und Länne wurde die A. brachialis des Menschen, ähnlich dieser Studie an 3 definierten Stellen (proximal, medial, distal) u.a. auf die Parameter Lumendiameter und Wanddicke im Alter untersucht (BJARNEGÅ RD und LÄNNE, 2010). Interessanterweise ähneln die Ergebnisse von Bjarnegard und Länne vom Menschen den erhobenen Daten dieser Studie an der distalen Gliedmaße des Pferdes. Eine deutliche Zunahme der Wanddicke mit zunehmendem Alter ist auch hier vornehmlich an der proximalen Stelle zu erkennen. Nur eine schwache Zunahme der Wanddicke ist an der mittleren und distalen Stelle zu verzeichnen gewesen (BJARNEGÅ RD und LÄNNE, 2010).

Abschließend soll der Zusammenhang zwischen Lumendiameter und Dicke der Tunica media dargestellt werden (Abb. 4.20). Grundsätzlich besteht keine Korrelation dieser beiden Parameter bei den hier untersuchten Gefäßen. Es ist jedoch zu erwähnen, dass sich das Verhältnis beider Parameter zueinander mit zunehmendem Alter angleicht und bei G1 sogar umkehrt. Dies bedeutet, dass junge Pferde eine dünnere Wand bei gleichzeitig großem Lumen aufweisen. Im Verlauf des Alters wird die Gefäßwand dicker mit entsprechender Einengung des Lumens. Somit kann an dieser Stelle die These von Zimmermann (siehe 5.2.1), dass die Einengung des Lumens im Alter mit einer Zunahme der Gefäßwandstärke einhergeht, auch an peripheren muskulären Gefäßen bestätigt werden. Beim proximalen Gefäß (G1) zeigt sich, dass die Tunica media dicker ist als das Gefäßlumen selbst. Wolinsky führte eine Studie an der Aorta von verschiedenen Tierspezies durch, mit dem Ziel einen Zusammenhang zwischen Lumendiameter und Wanddicke zu erhalten (WO-LINSKY, 1967). Er konnte eine klare lineare Abhängigkeit feststellen. Unabhängig von Spezies und Körpergewicht, verdickt sich die Aortenwand um 0,05 mm, je 1 mm Zunahme des Aortendiameters. Er sieht diesen Zusammenhang als ein adaptives Verhalten der Aortenwand gegenüber gesteigerten Druckverhältnissen. An peripheren muskulären Arterien dieser Studie kann dieser lineare Zusammenhang nicht dargestellt werden.

#### 5.2.4 Fläche Tunica media und Tunica externa

Die Flächenanteile der Tunica media und externa wurden bestimmt, um in späteren Untersuchungen die Dichte der Vasa vasorum in den entsprechenden Gefäßwandschichten zu ermitteln. Über den Flächenanteil der Tunica media und externa bei den hier betrachteten Gefäßen liegen bislang keine Quellen vor. Analog zur Dicke der Tunica media konnte eine Abnahme der Fläche im proximo-distalen Verlauf festgestellt werden. Auch hier, vermutlich bedingt durch die Distanz der einzelnen Entnahmestellen zueinander, ist eine sehr viel deutlichere Reduktion der Fläche der Tunica media von G1 zu G2 (47,6%) als von G2 zu G3 (14,3%) erkennbar. Ebenso verhält es sich mit dem Flächenanteil der Tunica externa. Ein signifikanter Abfall ist ausschließlich von G1 zu G2 und von G1 zu G3 ermittelbar und scheint ab G2 in distaler Richtung zu sistieren. Entgegen Alter, Rasse und Geschlecht der Pferde, hat die Körpermasse der Tiere einen wesentlichen Einfluss auf die Flächenanteile der einzelnen Wandschichten. Die Körpermasse korreliert positiv mit der Fläche der Tunica media und externa. Zusätzlich besteht eine lineare Abhängigkeit zwischen Fläche und Dicke der Tunica media.

#### 5.2.5 Vasa vasorum

#### 5.2.5.1 Qualitative Analyse

Die für die Eigenversorgung der großen Gefäße (Arterien und Venen) verantwortlichen Vasa vasorum waren bei allen untersuchten Tieren sowohl in der Tunica media als auch in der Tunica externa deutlich zu erkennen. Der überwiegende Teil der Vasa vasorum befindet sich in den äußeren 2/3 der Tunica media und in der Tunica externa. Heistadt et al. und Witter et al. konnten gleiche Resultate während ihrer Untersuchungen der Aorta von Hund und Mensch (HEISTAD et al., 1981) als auch beim Schwein (WITTER et al., 2010) feststellen.

Kwon et al. stellten eine netzartige Verflechtung der Vasa vasorum mit Hilfe der 3D Computertomographie an Koronararterien von Schweinen dar (KWON et al., 1998). Die Arbeitsgruppe beschreibt die Vasa vasorum entsprechend des Verlaufes als Vasa vasorum 1. Klasse (verlaufen longitudinal zwischen Tunica media und Adventitia) und Vasa vasorum 2. Klasse, welche aus den Vasa vasorum 1. Klasse entspringen und das Gefäß zirkulär umgeben.

Bedingt durch die Vielzahl an quer, längs und schräg angeschnittenen Vasa vasorum, ist davon auszugehen, dass in der vorliegenden Studie ein Netzwerk von Vasa vasorum an herzfernen muskulären Arterien der Pferde vorliegt. Unabhängig vom Verlauf der Vasa vasorum differenzieren Gössl et al. entsprechend des Ursprungs der Vasa vasorum und unterscheiden Vasa vasorum interna (Ursprung im Hauptgefäß selbst), Vasa vasorum externa (Ursprung außerhalb des Hauptgefäßes) und venöse Vasa vasorum (Entstehung in Gefäßwand des Hauptgefäßes und Mündung in parallel verlaufender Vene) (GÖSSL et al., 2003). Über den Ursprung und die Mündung der hier betrachteten Vasa vasorum können keine Aussagen getroffen werden. Zusätzlich stehen die oben beschrieben Typen von Vasa vasorum stets über Anastomosen untereinander in Kontakt und sind nicht separat zu betrachten (MULLIGAN-KEHOE, 2010; GÖSSL et al., 2003). Es ist bekannt, dass das Geflecht an Vasa vasorum analog der dichotomen Gefäßaufzweigung des normalen Blutgefäßsystems vorliegt. So verringert sich der innere Gefäßdurchmesser mit jeder Aufzweigung bis zur Kapillargröße (MULLIGAN-KEHOE, 2010). Entsprechend der vorliegenden Daten können diese Ergebnisse auch an peripheren muskulären Gefäßen bestätigen werden. Ebenso beschrieben Wolinsky und Glagov bereits 1967 Vasa vasorum in der Tunica externa mit mehreren Lagen glatter Muskelzellen, welche beim Eintritt in die Tunica media die glatten Muskelzellen verlieren, um schließlich als endotheliale Kanälchen in das Kapillarbett der Gefäßwand überzugehen (WOLINSKY und GLAGOV, 1967).

#### 5.2.5.2 Quantitative Analyse

Neben den Nervi vasorum haben auch die Vasa vasorum in der Tunica externa entscheidenden Einfluss für die Aufrechterhaltung physiologischer Funktionen der Gefäßwand (GINGRAS et al., 2009; DAMON, 2005; HEISTAD und MARCUS, 1979). Sowohl bei physiologischen als auch bei pathologischen Prozessen der Blutgefäßwand sind die Vasa vasorum in direktem Maße beteiligt (MULLIGAN-KEHOE, 2010; MANFRINI et al., 2008; RITMAN und LERMAN, 2007; WILLIAMS und HEISTAD, 1996; BARKER et al., 1993; IMAIZUMI et al., 1989). In der vorliegenden Untersuchung konnte festgestellt werden, dass die quantitative Ausprägung der Vasa vasorum in der Tunica externa ausschließlich durch die zur Verfügung stehende Fläche beeinflusst wird. Je größer die Fläche der Tunica externa, desto mehr Vasa vasorum konnten identifiziert werden. Somit besteht eine positive Korrelation zwischen Fläche der Tunica externa und Anzahl an Vasa vasorum in der Tunica externa, welche bei G1 stark (r=0,8) und mittelgradig bei G2 (0,54) und G3 (r=0,58) ist. Weder Lokalisation noch Alter oder Geschlecht üben einen Einfluss auf die Anzahl der Vasa vasorum in der Tunica externa an distalen Gefäßen des Pferdes aus. Analog der vorliegenden Erkenntnisse konnten Lusztig und Kollegen bei der Analyse der Aortenadventitia beim Menschen feststellen, dass weder das Alter noch das Geschlecht der Menschen einen Einfluss auf die Anzahl der Vasa vasorum in der Tunica externa haben (LUSZIG und MAK, 1974).

Bei der Analyse der Vasa vasorum in der Tunica media konnte gezeigt werden, dass hier die Lokalisation des zu versorgenden Gefäßes einen Einfluss auf die Anzahl an Vasa vasorum hat. Unabhängig vom Alter der Pferde, fällt von proximal nach distal die absolute Anzahl an Vasa vasorum in der Tunica media ab (siehe 4.28).

Galili und Mitarbeiter stellten 2004 die Hypothese auf, dass sich sowohl Anzahl als auch Dichte der Vasa vasorum in der Gefäßwand entsprechend der Lokalisation des zu versorgenden Gefäßes ändert (GALILI et al., 2004). Das Forschungsteam konnte an Gefäßen der Spezies Schwein zeigen, dass sowohl Anzahl als auch Dichte der Vasa vasorum von herznahen (Koronararterien) zu herzfernen (A. femoralis) Gefäßen abnimmt. Entsprechend dieser Ergebnisse, kann die These von Galili et al. auch an den distalen Gefäßen des Pferdes bestätigt werden. Zusätzlich wurde festgestellt, dass sowohl die Dicke der Tunica media als auch die Fläche der Tunica media mittelgradig positiv mit der Anzahl an Vasa vasorum in der Tunica media korrelieren.

Baum stellte während seiner Studien ebenso fest, dass Gefäßtyp und Wanddicke die Anzahl an Vasa vasorum in der Gefäßwand dahingehend beeinflussen und dass bei Gefäßen mit dicken Wänden mehr Vasa vasorum anzutreffen sind (BAUM, 1903). Vermutlich ist die Reduktion der Wanddicke vom Herzen in die Peripherie für die gleichzeitige Reduktion der Vasa vasorum in der Gefäßwand verantwortlich. Der Ausbau des Gefäßnetzes an Vasa vasorum und damit einhergehende Regulation der absoluten Anzahl an Vasa vasorum, stellt die adäquate Sauerstoffversorgung in

#### KAPITEL 5. DISKUSSION

der Gefäßwand sicher. Barker und Kollegen sehen in der zu versorgenden Fläche der Gefäßwand und deren Bedarf an Sauerstoff das entscheidende Kriterium für die Ausbildung an Vasa vasorum (BARKER et al., 1993). Entgegen der bislang aufgeführten Ergebnisse (inkl. der vorliegenden Studie) stellten Tonar et al. kürzlich bei ihrer Untersuchung über die quantitative Ausprägung der Vasa vasorum in Varizen fest, dass die Anzahl an Vasa vasorum mit zunehmender Wanddicke abfällt. Sie konnten eine schwache negative Korrelation (Spearman R= -0,25) feststellen (TONAR et al., 2012).

Während sich die Tunica interna großer Arterien stets frei von Vasa vasorum zeigt, konnte an atherosklerotisch veränderten Arterien gezeigt werden, dass Vasa vasorum bis in die Tunica interna vordringen (WILLIAMS und HEISTAD, 1996). Verursacht durch die lumenseitigen atherosklerotischen Plaques, verdickte sich die Gefäßwand, sodass hypoxische Areale in der Gefäßwand entstanden. Diese Hypoxie in Verbindung mit der verdickten Gefäßwand sehen auch Williams und Heistad als entscheidenden Stimulus für das Vordringen der Vasa vasorum in die Tunica interna (WILLIAMS und HEISTAD, 1996). Vielleicht ist dies auch der Grund, weshalb herznahe Gefäße in den Gefäßwänden im Vergleich zu peripher gelegenen Gefäßen mehr Vasa vasorum besitzen.

Weiterhin konnte ein Zusammenhang zwischen dem Gewicht der Pferde und der Anzahl an Vasa vasorum in der Tunica media festgestellt werden. Da bereits gezeigt wurde, dass mit steigendem Körpergewicht der Pferde die Dicke der Tunica media zunimmt, ist davon auszugehen, dass der gezeigte Einfluss der Körpermasse auf die Anzahl der Vasa vasorum in der Tunica media eher auf die Zunahme der Wanddicke als auf das Gewicht selbst zurückzuführen ist. Diese Annahme, wird durch die Tatsache gestützt, dass die Körpermasse keinen Einfluss auf die Anzahl an Vasa vasorum in der Tunica externa hat. Die Anteile der einzelnen Wandkomponenten, glatte Muskelzellen, elastische und kollagene Fasern der Tunica media, haben keinen Einfluss auf die Anzahl an Vasa vasorum in der Tunica media. Steubesand sieht entgegen diesen Ergebnissen die Art und Verteilung der Wandkomponenten als entscheidendes Kriterium für den Ausprägungsgrad der Vasa vasorum (STEUBESAND, 1959). Da sich die Wandkomponenten bei einer Dickenzunahme der Tunica media (herznahe Gefäße) zu Gunsten der elastischen Fasern verschieben, wäre es an dieser Stelle interessant zu untersuchen, ob hier nicht die Wanddicke selbst anstelle der veränderten Faseranteile den Hauptstimulus für die Zunahme an Vasa vasorum ausübt. Eine Erklärung für die Ergebnisse könnte die konstante Verteilung der Komponenten bei allen untersuchten Gefäßen sein (siehe Abb. 4.2).

Die Dichte an Vasa vasorum bei den hier betrachteten Gefäßen beträgt in der Tunica externa 9,3 Vasa vasorum/mm<sup>2</sup> und in der Tunica media 4,2 Vasa vasorum/mm<sup>2</sup>. Die Dichte der Vasa vasorum ist bei beiden Wandschichten unabhängig von Alter, Rasse und Geschlecht der Pferde. Es konnte gezeigt werden, dass der Hauptanteil der Vasa vasorum in der Tunica externa verläuft und deutlich zur Tunica media abfällt. Der Abfall beträgt 46%. McGeachie bestimmte an 20 adulten Ratten die Dichte der Vasa vasorum in der Tunica externa der A. iliaca (MCGEACHIE, 1982). Zunächst konnte er eine enorme Varianz in der quantitativen Ausprägung feststellen. Die Spanne reichte von 0-124 Vasa vasorum/mm<sup>2</sup>. Im Mittel betrug die Dichte 33,95±29,86 Vasa vasorum/mm<sup>2</sup>.

**5.2.5.2.1 Avaskuläre Zone in der Tunica media** Die quantitative Ausprägung der Vasa vasorum ist über das Blutgefäßsystem sehr variabel verteilt (GALILI et al., 2004). Es ist festzustellen, dass ab einer bestimmten Gefäßwanddicke die Vasa vasorum für eine adäquate Versorgung der Tunica media verantwortlich sind. Im Rahmen experimenteller Versuche konnte dies bewiesen werden. So entstanden durch Ligatur der adventitiellen Vasa vasorum Nekrosen im mittleren Drittel der Tunica media (HEISTAD und MARCUS, 1979). Neben der unterstützenden Versorgung durch Vasa vasorum, vollzieht sich die nutritive Versorgung der Gefäßwände durch lumenseitige Diffusion, welche jedoch auf die Tunica interna und lumennahe Bereiche der Tunica media begrenzt ist (WERBER und HEISTAD, 1985). Entsprechend dieser Grundlage wird eine vaskuläre und eine avaskuläre Zone der Gefäßwand unterschieden, auch subintimale Mediazone genannt (RITMAN und LERMAN, 2007). Bei den in dieser Arbeit präsentierten Untersuchungen konnte diese Tatsache bestätigt werden. Unabhängig von Alter, Körpermasse, Geschlecht, Wanddicke oder qualitativer Zusammensetzung der Gefäßwand bleibt ein Teil der Gefäßwand avaskulär. Dieser mittlere avaskuläre Bereich erstreckt sich über eine Distanz von 0,467 mm vom Lumen aus gemessen (Abb. 4.32). Geiringer prägte erstmalig den Begriff "critical depth", als Zone welche über Diffusion vom Lumen aus versorgt wird (GEIRINGER, 1951). In seinen Untersuchungen an über

300 Aorten und 100 Koronararterien beim Menschen beschrieb er die "critical depth" für die Aorta mit 0,5mm und für die Koronararterien mit 0,35mm. Die in Kapitel 4.1.2.8 beschriebenen Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich grundsätzlich eine Übereinstimmung zeigt. Jedoch konnte bei 3 von 35 Pferden (8,57%) gezeigt werden, dass sich Vasa vasorum innerhalb der von Geiringer beschriebenen avaskulären Zone befinden. Woodruff konnte mit Hilfe von Gefäßinjektionen bei der Aorta des Pferdes eine Grenze erkennen, welche die vaskuläre Media von der avaskulären Intima trennte (WOODRUFF, 1926). Über die Distanz, welche avaskulär blieb oder ob die innere Mediazone ebenfalls avaskulär blieb, äußerte er sich jedoch nicht, sodass zu diesen Ergebnissen kein Vergleich gezogen werden kann. Es ist möglich, dass Woodruff die Membrana elastica interna als Grenzlinie interpretierte, welche die vaskuläre Media von der avaskulären Intima abgrenzt. Übereinstimmend kann jedoch gesagt werden, dass neben der Aorta auch die distalen muskulären Gefäße des Pferdes eine avaskuläre Zone aufweisen. Wolinsky und Glagov analysierten die Tunica media der Aorta von 12 Tierspezies und betrachteten die vaskuläre und avaskuläre Zone der Gefäßwand im Alter und mit zunehmendem Körpergewicht (WOLINSKY und GLAGOV, 1967). Entgegen den Analysen von Geiringer (1951) definierten Wolinsky und Glagov die avaskuläre Zone nicht im Längenmaß sondern als "Lamellar units". Diese "Lamellar units" entsprechen einer fibromuskulären Lage bestehend aus elastischen und kollagenen Fasern und glatten Muskelzellen. Für Wolinsky und Glagov (1967) sind diese "Lamellar unit" die strukturelle und funktionelle Einheit der Aortenwand. Besteht die Aortenwand aus weniger als 29 "Lamellar units" sind keine Vasa vasorum nachweisbar. Analog sind bei allen von Wolinsky untersuchten Tieren und beim Menschen Vasa vasorum nachgewiesen worden, bei denen die Wand aus 29 oder mehr "Lamellar units" bestand (WOLINSKY und GLAGOV, 1967). Da die Gefäßwände der vorliegenden Studie zum überwiegenden Teil aus glatten Muskelzellen bestehen und eine "Lamellar unit" schwer zu definieren wäre, ist ein Vergleich schwierig. Abschließend soll auf ein weiteres Ergebnis von Geiringer eingegangen werden. Er stellte die Hypothese auf, dass bei Gefäßen, welche einen kleineren Lumendiameter als 0,5 mm aufweisen, keine Vasa vasorum auftreten (GEIRINGER, 1951). Diese Hypothese kann durch die vorliegenden Ergebnisse nicht bestätigt werden. Pferd Nr.1 (G2+G3) und Nr.5 (G2) zeigten trotz einem Lumendiameter < 0,5 mm eine erhebliche Anzahl an Vasa vasorum sowohl in der Tunica externa als auch in der Tunica media. Mögliche Ursachen der unterschiedlichen Ergebnisse

könnten die Betrachtung unterschiedlicher Gefäße bei unterschiedlichen Spezies sowie der Einfluss der Fixation sein.

#### 5.2.6 Nervi vasorum

Die Innervation der Blutgefäße erfolgt über ein Geflecht aus markhaltigen und marklosen Nervenfasern (WOOLLARD und WEDDELL, 1935). Heute wird dieses Geflecht als adventitielles ANS (autonomic nervous system) bezeichnet und ist die Hauptregion für afferente und efferente Nervenbahnen im Blutgefäßsystem (GIN-GRAS et al., 2009; DAMON, 2005). Sowohl das adventitielle ANS als auch die Vasa vasorum dienen der Aufrechterhaltung physiologischer Funktionen des Blutgefäßsystems (MULLIGAN-KEHOE, 2010; MANFRINI et al., 2008; BARKER et al., 1993). Bei den distalen Gefäßen der Vordergliedmaße des Pferdes konnten ausschließlich in der Tunica externa und am Übergang zur Tunica media Nervi vasorum dokumentiert werden. Die Nervi vasorum waren stets markhaltig und zeigten eine deutliche Myelinscheide. Analog dieser Studie stellte Hagen bei der Untersuchung von Piagefäßen beim Menschen, Hund und Meerschweinchen fest, dass markreiche Nervenfasern ausschließlich im äußeren Bereich der Tunica externa lokalisiert sind. Sehr feine marklose Fasern konnte er jedoch auch in der Tunica media feststellen (HAGEN, 1969). Dies konnte bei den hier betrachteten Gefäßen nicht beobachtet werden. Sato und Suzuki konnten ebenso ausschließlich in der Tunica externa und hier primär im äußeren Drittel myelinisierte Nervenfasern dokumentieren. Keine Nervenfasern konnten sie in der Tunica media zwischen den glatten Muskelzellen nachweisen (SATO und SUZUKI, 1975). Ähnlich den Beobachtungen von Woollard und Kollegen (1935) beschrieb Michailov (MICHAILOW, 1908) bereits Jahre zuvor die Dreiteilung der Nervengeflechte der Blutgefäße, welche er aus der Harnblasenwand von Pferden isolierte. In der vorliegenden Studie kann ein "Adventitialnervengeflecht" und "Grenznervengeflecht" bestätigt werden, mit dem Unterschied, dass die Nervenfasern in der Tunica externa markhaltig und nicht marklos sind, wie sie Michailov (1908) beschrieb. Duncan beschrieb die Dreiteilung der arteriellen Nervengeflechte bei seinen Studien über die Diaphysenarterie der Tibia beim Kaninchen (DUNCAN, 1977). Seine Bezeichnung als primäre, sekundäre und tertiäre Nervenfasern erfolgt anhand der Größe und Lokalisation der Fasern. Große primäre Fasern liegen außerhalb des Gefäßes, mittlere sekundäre dringen

bis tief in die Adventitia ein und sehr feine tertiäre Fasern bilden einen Plexus an der äußeren Grenze der Tunica media. Die Basalmembranen der tertiären Fasern verschmelzen zuweilen mit den glatten Muskelzellen und bilden neuromuskuläre junctions (DUNCAN, 1977; NELSON und RENNELS, 1970; SATO, 1966). Entgegen den aufgeführten Forschungsergebnissen, zeigten Studien von Schenk an muskulären Arterien von Hunden und Katzen (SCHENK, 1968) und eine aktuelle Untersuchung an der Mesenterialarterie des Menschen (BIRCH et al., 2008), dass die Nervenversorgung der arteriellen Gefäßwände auf die Adventitia beschränkt und zumeist nahe der Membrana elastica externa lokalisiert ist. Entsprechend der vorliegenden Studie kann den Aussagen beider Forschungsgruppen zugestimmt werden. Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass die lichtmikroskopische Untersuchung der Nervi vasorum mit Routinefärbungen eine limitierende Aussagekraft hat. Die Anzahl an Nervi vasorum in der Tunica externa ist ein gutes Kriterium für den Grad der Innervation, da alle potenziellen Abzweigungen in der Tunica media aus diesen Nervi vasorum hervorgehen. Hinsichtlich der Fragestellung, ob die Lokalisation des Gefäßes einen Einfluss auf die Anzahl der Nervi vasorum hat, ist folgendes festzustellen: im proximo-disalen Verlauf ist ein Abfall der Anzahl an Nervi vasorum ausschließlich von G1 zu G2 zu verzeichnen. Keine Reduktion ist von G2 zu G3 zu verzeichnen. Ältere Pferde weisen im Vergleich zu jungen und mittelalten Pferden mehr Nervi vasorum in der Tunica externa auf. Dies konnte jedoch ausschließlich beim G1 festgestellt werden. Bleys und Kollegen (1996) führten Studien über die nervale Versorgung der Cerebralarterien beim Menschen im Alter und an Alzheimer erkrankten Menschen durch. Entgegen den vorliegenden Daten stellte das Forschungsteam fest, dass sowohl im Alter, aus auch bei an Alzheimer erkrankten Personen, die Anzahl an Nervi vasorum mit zunehmendem Alter signifikant abfällt (BLEYS et al., 1996a,b). Es ist fraglich, ob beide Studien vergleichbar sind, da weder Spezies noch untersuchtes Gefäß identisch sind. Zusätzlich ist zu erwähnen, dass die untersuchte Altersgruppe von Bleys et al. (1996) 62-85 Jahre betrug. Da die Pferde dieser Studie ein vergleichbares Alter (35-40 Jahre) nicht erreichten, ist es nur spekulativ, ob eine eventuelle Reduktion der nervalen Versorgung der Blutgefäße auch beim Pferd eintreten würde.

Zusätzlich zu den markhaltigen und marklosen Nervenfasern in den Gefäßwänden wurden weitere sensible Endapparate in der Tunica externa beschrieben. Namentlich ist hier das Auftreten von Vater-Pacinischen Körperchen in der Tunica externa von verschiedenen Säugetierarten und des Menschen zu nennen (RACHMANOW, 1901; WOOLLARD und WEDDELL, 1935). Das Auftreten dieser Strukturen kann nun ebenso in unmittelbarer Umgebung zur Tunica externa, bei den hier untersuchten equinen Blutgefäße, bestätigt werden. Über die Funktion dieser sensiblen Endapparate an den peripheren Arterien ist bisher wenig bekannt. Ihr Vorkommen in der Unterhaut, im Periost, an Beugesehnen, Gelenken und im Pankreas ist lange bekannt und vielfach beschrieben worden (CEELEN, 1912). In Gefäßnähe beschrieb Kölliker das Vorkommen der Lamellenkörperchen in dichter Umgebung der Aorta abdominalis (KÖLLIKER, 1902). Yamashita und Buendia beschrieben die Funktion dieser sensiblen Nervenendigungen auf das Blutgefäßsystem (YA-MASHITA und BUENDIA, 1968). Es konnte gezeigt werden, dass die Impulsrate der Lamellenkörperchen simultan mit jeder systolischen Pulswelle der Arterien ansteigt. So sehen Yamashita und Buendia die Vibration des Blutdrucks in der Arterienwand als stimulierendes Element auf die Lamellenkörperchen. Gammon und Bronk sehen hingegen den Grad der Ausdehnung einer Arterie beim Auftreffen der Pulswelle als Reiz für die Lamellenkörperchen (GAMMON und BRONK, 1935). Die Funktionsweise der Pacinischen Körperchen, welche hochfrequente Vibrationsreize (20-1000 Hz) verarbeiten, wurde kürzlich dargelegt (QUINDLEN et al., 2016). Das gehäufte Auftreten dieser Lamellenkörperchen an den distalen muskulären Arterien in dieser Studie könnte ein Hinweis auf die Erfassung der statischen und dynamischen Belastung des Zehenendorgans bei der Spezies Pferd sein. Bowker et al. konnten Lamellenkörperchen in der Huflederhaut von Pferden nachweisen (BOWKER et al., 1993). Diese Wissenschaftler sehen diese anatomischen Strukturen als sensible Druck - und Schmerzdetektoren.

### 5.2.7 Konstante Verteilung glatter Muskelzellen, kollagener und elastischer Fasern in der Tunica media an distalen Arterien des Pferdes

Die distalen muskulären Arterien der Vordergliedmaße beim Pferd zeigen unabhängig vom Alter, Geschlecht, Rasse und Lokalisation (G1-G3) eine konstante Verteilung an glatten Muskelzellen, elastischen und kollagenen Fasern. Mit 81,62% überwiegt der Anteil an glatten Muskelzellen über den elastischen (7,42%) und kollagenen (9,46%) Fasern.

Lee und Kollegen untersuchten den Gehalt glatter Muskelzellen an großen Arteriolen (Lumendiameter 300 µm) 10-28 Wochen alter Ratten (LEE et al., 1983b). Bei diesen Gefäßen entspricht der Wandvolumenanteil der glatten Muskelzellen 70-85% und ist somit mit den hier erhobenen Daten vergleichbar. Es ist interessant, dass Gefäße mit sehr unterschiedlichen Lumendiametern ähnliche Verteilungen an glatten Muskelzellen aufweisen. Lee et al. sehen bei der Betrachtung der Arteriolen eine positive Korrelation zwischen dem Lumendiameter und der Anzahl an Lagen glatter Muskelzellen. Diese Begründung findet bei der Betrachtung größerer Gefäße keine Anwendung, da mit steigendem Lumendiameter die Gefäße, entsprechend der Nähe zum Herzen, eine Reduktion an glatten Muskelzellen bei gleichzeitiger Zunahme an elastischen Fasern erfahren (BENNINGHOFF, 1930). Somit wäre die Korrelation negativ. Inwieweit eine solche negative Korrelation bei den Blutgefäßen des Pferdes besteht, ist in weiteren Untersuchungen zu klären. Im Umkehrschluss erfahren die herznahen Gefäße mit zunehmender Entfernung zum Herzen eine progressive Zunahme an glatten Muskelzellen und kollagenen Fasern, bei gleichzeitigem Verlust an elastischen Fasern (TONAR et al., 2015; SE GREENWALD, 2007; Apter, 1966).

Heijden-Spek et al. und Bartolotto et al. analysierten die Dehnfähigkeit von Arterien und welchen Einfluss das Alters und die Lokalisation der Gefäße auf die Dehnfähigkeit ausüben (VAN DER HEIJDEN-SPEK et al., 2000; BORTOLOTTO et al., 1999). Es konnte gezeigt werden, dass das Alter, anders als es bei den Arterien des elastischen Typs der Fall ist, keinen Einfluss auf die Dehnfähigkeit hat. Lee und Oh fassten die morphologischen Veränderungen der Gefäßwände im Alter und deren Folgen zusammen (LEE und OH, 2010). Versteifung der Arterien, Wandverdickung, endotheliale Dysfunktion, Lumeneinengung und Fragmentierung der elastischen Fasern sind altersassoziierte Veränderungen der arteriellen Gefäßwände. Die Folgen sind ein Verlust der Fähigkeit, die ankommende Druckwelle abpuffern zu können mit nachfolgender Erhöhung von Blutdruck, Pulsdruck und Pulswellengeschwindigkeit (LEE und OH, 2010). Diese Erscheinungen konnten interessanterweise ausschließlich an Arterien des elastischen Typs gezeigt werden. Diese Studien zeigen, dass der Einfluss des Alters auf die Morphologie der arteriellen Gefäßwand, von der Lokalisation der Arterien abhängig ist. Entsprechend dieser Studien könnte der Schluss gezogen werden, dass eine verminderte Dehnfähigkeit der in der vorliegenden Arbeit untersuchten muskulären Arterienwände mit zunehmendem Alter bei der Pathogenese von Gefäßerkrankungen oder Hufrehe eine untergeordnete Rolle spielt. Unterstützt werden könnte diese These durch eine klinische Studie, welche zeigt, dass die distalen Gliedmaßengefäße beim Pferd beim Einfluss von Endotoxinen oder Sepsis mit einer Thrombenbildung und somit Minderperfusion der distalen Extremität reagieren (BRIANCEAU und DIVERS, 2001). Somit wäre die endotheliale Dysfunktion als eine mögliche Ursache für das Auftreten von gefäßassoziierten Erkrankungen des Pferdes wahrscheinlicher, als die morphologische Veränderung der Tunica media. Das an chronischer Hufrehe erkrankte Pferd (Nr.11) dieser Studie zeigt eine deutliche Intimaverdickung der distalen Gliedmaßengefäße. Es ist möglich, dass der Einfluss von Endotoxinen auf das Endothel, ähnlich der Studie von Brianceau (BRIANCEAU und DIVERS, 2001), diese Veränderungen an der Tunica interna induziert hat und somit adaptive Langzeitveränderungen an den Gefäßwänden auftreten.

## 5.3 Qualitative Beschreibung -Elektronenmikroskopie

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Ultrastruktur der Vena jugularis, der distalen Arterien sowie deren Vasa vasorum sind auf die morphologischen Details insbesondere der Tunica interna ausgerichtet. Der Grundaufbau der Tunica interna ist gekennzeichnet durch die Lamina endothelialis mit aufliegender Glykokalix, Stratum subendotheliale und Membrana elastica interna.

Die Glykokalix bildet einen Komplex aus Proteoglykanen, Glykosaminoglykanen und Glykoproteinen, unterstützt den Stoffwechsel der Gefäßwand und ist somit bei partiellem oder komplettem Verlust Wegbereiter für eine Dysfunktion der Gefäßwand (MAKSIMENKO und TURASHEV, 2014). In der vorliegenden Studie variiert die Ausprägung der Glykokalix bei Arterien, Vena jugularis und Vasa vasorum beträchtlich. Eine präparationsbedingte Ablösung der Glykokalix kann jedoch nicht ausgeschlossen werden. Es sei kurz auf die Problematik der exakten Vermessung der Glykokalix bei den Gefäßen hingewiesen. Neben den genannten Bestandteilen der Glykokalix besteht diese aus > 90% Wasser (VINK und DU-LING, 1996). Bei der Entwässerung der Schnittpräparate in Vorbereitung auf die elektronenmikroskopische Untersuchung besteht die Gefahr, dass die Glykokalix kollabiert (SIMS und HORNE, 1994) und die tatsächliche Dicke in vivo wohl noch stärker ausfällt als hier vermessen wurde. Entgegen der zumeist homogenen Form und glatten Oberfläche der Zellkerne bei den Endothelzellen der distalen Arterien erscheint die Zellkernoberfläche bei den Endothelzellen der Vena jugularis unregelmäßig mit tiefen Einsenkungen und Ausstülpungen.

#### 5.3.1 Vena jugularis

Die klinische Relevanz der häufig auftretenden Thrombophlebitiden nach intravenöser Applikation in die Vena jugularis war mit ein Grund für diese Untersuchungen. Der ursprünglich angenommenen mangelnden Hygiene während der Punktion einer Vene als Ursache für das Auftreten eitriger Thrombophlebitiden (ZELLER, 1978; NUSSBACH, 1923), stehen heute andere Ursachen gegenüber. So gelten die Applikation von reizenden Arzneimitteln selbst und die mechanische Irritation der Tunica interna durch die Kanülen oder Venenverweilkatheter ursächlich für die Entstehung von Thrombophlebitiden (DOLENTE et al., 2005; DIVERS, 2003; BONFIG, 1985; EIKMEIER, 1985; HUSKAMP, 1985; SCHLICHTING, 1976; PETERS, 1930; SÖRENSEN, 1929). Büttiker konnte in klinischen Studien zeigen, dass die intravenöse Infusion von Guaifenesin (10%ig) in die Vena jugularis thrombotische Endothelläsionen hervorruft. Interessanter Weise sind die Prädilektionsstellen zumeist nicht an der Einstichstelle selbst, sondern distal davon und auch vorzugsweise an den Venenklappen lokalisiert worden, sodass Büttiker weniger die mechanische Irritation als vielmehr die infundierte Substanz als Ursache sieht (BÜTTIKER, 1989).

#### 5.3.1.1 Glykokalix - Verlust als Wegbereiter für endotheliale Dysfunktion?

In der vorliegenden Studie wurde bei der Vena jugularis eine nur sehr schwach oder gar nicht ausgeprägte Glykokalix gefunden. Hingegen zeigen die distalen Gliedmaßenarterien eine deutliche Glykokalix, die in der Breite zwischen 0,25-2

µm variiert. Da alle untersuchten Gefäßproben gleich behandelt wurden, ist ein präparationsbedingter Verlust zwar möglich, jedoch eher unwahrscheinlich. Auf Funktion und strukturelle Zusammensetzung der endothelialen Glykokalix wurde in den letzten Jahrzehnten, im Hinblick auf die Beteiligung an physiologischen und pathologischen Prozessen, spezielles Augenmerk in der Gefäßforschung gelegt (REITSMA et al., 2007). Partieller oder kompletter Verlust der Glykokalix bilden den Wegbereiter für eine Dysfunktion im Stoffwechsel der Gefäßwand (MAK-SIMENKO und TURASHEV, 2014). Mechanotransduktion, Aufrechterhaltung der Hämostase, Signalvermittlung und Interaktion zwischen zirkulierenden Blutzellen und der Gefäßwand sind Hauptaufgaben der endothelialen Glykokalix (REITSMA et al., 2007). Es stellt sich die Frage, ob weniger die Endothelzellen selbst, als der Verlust der schützenden Glykokalix oder eine verminderte Interaktion beider Komponenten als Wegbereiter für gefäßassoziierte Erkrankungen verantwortlich gemacht werden können. Diese Vermutung wird durch folgenden Studien gestützt: Yen et al. konnten zeigen, dass eine reduzierte Integrität der endothelialen Glykokalix die Funktionalität der Endothelzellen selbst eingeschränkt (YEN et al., 2015). Darüber hinaus sehen Tarbell und Ebong die Glykokalix als wichtigen Bestandteil im Prozess des durch Shear Stress induzierten Remodelings des endothelialen Zytoskeletts (TARBELL und EBONG, 2008).

#### 5.3.1.2 Protrusionen equiner Endothelzellen

Als weitere Besonderheit der vorliegenden Studie, werden Protrusionen von Endothelzellen der Vena jugularis beschrieben, welche sich senkrecht in das Lumen erstrecken. Nur die schmale Basis dieser Endothelzellen steht mit der Basalmembran in Kontakt. Ähnlich beschrieben Mahrle und Orfanos die Endothelzellen großer Venen des Menschen. Sie führten diese Beobachtungen auf die postmortale Kontraktion den Venenwand und dementsprechend verkleinerter Venenwandoberfläche zurück, wodurch sich Endothelzellen ins Lumen vorschieben (MAHRLE und ORFANOS, 1971). Zamboni et al. beschrieben kürzlich die Endothelzellen der Venenklappen der Vena jugularis beim Menschen und schilderten keine Vorwölbungen der Zellen in das Gefäßlumen (ZAMBONI et al., 2015). Neben der postmortalen Kontraktion ist die fixationsbedingte Retraktion der Venenwand als mögliche Ursache für diese Erscheinungen zu sehen. Interessant ist hier jedoch zu erwähnen, dass sich diese Erscheinungen nicht bei allen untersuchten Arterien, welche auf gleiche Art und Weise fixiert wurden, zeigen. Eine Erklärung wäre die große Anzahl an Zellkontakten zwischen den Endothelzellen der Arterien, welche eine solche Vorwölbung vermutlich nicht möglich machen. Zhuo und Kollegen postulierten kürzlich, dass die Protrusion migrierender Endothelzellen essentielle Ereignisse in Prozessen wie Wundheilungen und Angiogenese darstellen (ZHUO et al., 2015).

Verschiedene Formen von endothelialen Protrusionen zeigten kürzlich Chen et al. (CHEN et al., 2016) und Onan et al. (ONAN et al., 2014). Bei beiden Untersuchungen wurden physikalisch und mechanisch einwirkende Kräfte auf das Endothel für die morphologisch veränderten Endothelzellen verantwortlich gemacht. Eine mechanische oder physikalische Reizung der Endothelzellen der Vena jugularis ist in der vorliegenden Studie unwahrscheinlich, da die Gefäßproben kurz nach Eintritt des Todes entnommen wurden ohne die Gefäßinnenauskleidung zu verletzen. Inwieweit die Tötungsmethode einen Einfluss auf die Struktur des Endothels ausübt, ist nicht bekannt.

Gagliardi und Mitarbeiter zeigten unter anderem an Endothelzellen der menschlichen Nabelvene (HUVEC), dass Zellprotrusionen dynamische Strukturen darstellen, welche entscheidend für fundamentale Prozesse wie Zellmigration und Zellinvasion sind. Wachstumsfaktoren wie VEGF (vascular endothelial growth factor) und EGF (endothelial growth factor) stimulieren die Zellmigration und Zellinvasion, welche durch anhaltende Aktinpolymerisation charakterisiert sind (GAGLIARDI et al., 2015). Weiterhin konnten Zellprotrusionen mit einer gesteigerten Aktinpolymerisation gehäuft an Tumoren nachgewiesen werden, welche vermutlich für die Metastasierung der Tumorzellen verantwortlich sind (BRAVO-CORDERO et al., 2014). Disanza et al. beschrieben bereits 2005 die Aktinpolymerisation in den Zellen als Ausgangspunkt für eine gesteigerte Zellbewegung und Zellmigration (DISANZA et al., 2005).

Es ist möglich, dass eine reduzierte Anzahl an Zellkontakten eine entscheidende Rolle bei der Entstehung der oben beschriebenen gefäßassoziierten Erkrankungen spielt. Protrusionen einzelner Endothelzellen, wie sie in der Vena jugularis gehäuft anzutreffen sind, konnten in der vorliegenden Studie weder bei den distalen Arterien noch bei den Vasa vasorum verzeichnet werden. Während die Arterien über eine durchgehende Membrana elastica interna verfügen, ist diese bei den Venen durch ein Netzwerk aus elastischen und kollagenen Fasern ersetzt, welches in unregelmäßiger Ausprägung anzutreffen war. Somit entfällt möglicherweise ein das Endothel stabilisierender Faktor.

#### 5.3.2 Distale Arterien

Bei den Arterien ist die Ausprägung der Glykokalix bei den in der vorliegenden Studie betrachteten Gefäßen am deutlichsten und variiert zwischen 0,25-2,0 µm. Weniger starke Varianzen jedoch analoge Ergebnisse zeigten Reitsma und Kollegen (REITSMA et al., 2011). Hier wurde die A. carotis von 8-25 Wochen alten Mäusen untersucht. Die Dicke der Glykokalix entspricht 2,3 µm bei der A. carotis communis und 2,5 µm bei der A. carotis externa (REITSMA et al., 2011).

Analog der vorliegenden Studie beschreiben Onan et al. die Lamina endothelialis arterieller Gefäße beim Menschen als Aneinanderreihung der Endothelzellen mit deutlichem Kontakt zur Basalmembran, ausgeprägtem Gehalt an Zellorganellen und Interzellularkontakten (ONAN et al., 2014). Lumennahe Endothelzellen erscheinen überwiegend kubisch geformt. Zumeist sind die Endothelzellen lumenseitig abgeflacht und ragen spitzkegelförmig in die Tiefe des Stratum subendotheliale hinein. Die große Diversität der morphologischen Ausprägung der arteriellen Endothelzellen ist bereits bekannt (SCHWARTZ und BENDITT, 1972).

Deutliche Überlappungen der Endothelzellen konnten ausschließlich bei den Arterien dargestellt werden. Gerrity et al. konnten ähnliche Überlappungen arterieller Endothelzellen an der Aorta des Schweines feststellen (GERRITY et al., 1977). Lang beschrieb zusätzlich, dass die stromaufwärts gelegenen Zellen die stromabwärts liegenden übergreifen (LANG, 1974). Eine stets gerichtete Überlappung arterieller Endothelzellen, wie sie Lang (1974) beim Menschen beschreibt, konnte in der vorliegenden Studie nicht festgestellt werden.

Die Dicke des in den Arterien stets erkennbaren Stratum subendotheliale, variierte in unserer Studie deutlich (5-10  $\mu$ m). Mit 7-8  $\mu$ m Dicke beschreiben Gerrity et al. analog dieser Studie die Dicke des Stratum subendotheliale bei der Aorta des Schweines (GERRITY et al., 1977). Merklich geringer und zum Teil nur 100 nm dick,

#### KAPITEL 5. DISKUSSION

beschrieb Schwarzt und Benditt das Stratum subendotheliale bei der Aorta von Ratten (SCHWARTZ und BENDITT, 1972). Einen solch engen Kontakt zwischen den Endothelzellen und der Membrana elastica interna, wie ihn Schwartz und Benditt beschreiben, konnte bei den Arterien der Pferde nicht festgestellt werden. Ebenso ist der Interzellularspalt zwischen den Endothelzellen der Aorta bei der Ratte (10 nm) (SCHWARTZ und BENDITT, 1972) deutlich schmaler als er sich bei den distalen Arterien dieser Studie darstellt (12-35 nm).

Eine deutlich erkennbare Membrana elastica interna war ausschließlich bei den Arterien zu verzeichnen. Diese ist jedoch nicht kontinuierlich sondern durch Lücken und Poren gekennzeichnet. Form und Dicke (1-2 µm) der hier beschriebenen Membrana elastica interna entsprechen den Ergebnissen früherer Studien an Arterien des muskulären Typs (LANG, 1974). Die Fenestration oder vollständige Unterbrechung der Membrana elastica interna an muskulären Arterien ist bereits vielfach beschrieben worden (SANDOW et al., 2009; DUNMORE et al., 1990; COUTARD und OSBORNE-PELLEGRIN, 1987). Kirby und Kollegen konnten analog unserer Studie diese Fenestrationen der Membrana elastica interna ebenso an muskulären Arterien der Hintergliedmaße bei Ratten nachweisen. Zusätzlich stellten sie fest, dass die Membrana elastica interna bei proximal gelegenen Arterien deutlich weniger Lücken aufweist als bei weiter distal lokalisierten Arteriolen (KIRBY et al., 2013). Die Anwesenheit von Haftkomplexen, bestehend aus tight und adherens junctions zwischen benachbarten Endothelzellen kann in der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Neben der Aufrechterhaltung der Gewebepermeabilität und Barrierefunktion sind diese Haftkomplexe auch an der Angiogenese und Extravasation von Leukozyten bei Entzündungsprozessen direkt beteiligt (WALLEZ und HUBER, 2008).

#### 5.3.3 Vasa vasorum

Analog der Vena jugularis ist auch bei den Vasa vasorum nur eine sehr schwache und zum überwiegenden Teil fehlende Glykokalix ausgebildet. Eine präparationsbedingte mechanische Ablösung der Glykokalix ist im Falle der Vasa vasorum unwahrscheinlich. Ein fixationsbedingtes Kollabieren der Glykokalix, wie in Kapitel 5.3 beschrieben, könnte für ihr Fehlen verantwortlich sein. Auch im Bereich der Mikrogefäße spielt die Glykokalix eine entscheidende Rolle, v.a. beim transkapillären Transport zwischen dem Blutplasma und dem Interstitium (FLESSNER, 2008). Vink und Duling untersuchten die Glykokalix kleinster Kapillaren und stellten eine Dicke dieser Schicht von 0,4-0,5 µm fest (VINK und DULING, 1996). Eine solch dicke kontinuierliche Schicht konnte in der vorliegenden Studie an den intramuralen Kapillaren der Gefäßwände bei der Spezies Pferd nicht bestätigt werden. Uhl et al. konnten in einer aktuellen Studie neben dem Vorkommen der Glykokalix in Kapillaren von Mäusen, ebenso die Wichtigkeit dieser Gefäßschicht für die Interaktion zwischen Endothel und Gefäßwand nachweisen. Der Verlust einer intakten Glykokalix initialisiert verschiedene pathologische Prozesse wie Ischämie, Perfusionsstörung, Sepsis, Atherosklerosis, Diabetes und sogar Krebs (UHL et al., 2017).

In den Vasa vasorum sitzen die Endothelzellen einer geschlossenen Basalmembran auf, eine Membrana elastica interna ist nicht vorhanden. Fernando und Movat beschreiben die Ultrastruktur kleinster Arterien ohne Membrana elastica interna und ohne glatte Muskelzellen als Metarteriolen (FERNANDO und MOVAT, 1964). Entsprechend der vorliegenden Ergebnisse kann das Auftreten dieser Metarteriolen sowohl in der Tunica externa als auch der Tunica media der distalen muskulären Arterien der Pferde bestätigt werden.

Die Form und Ausrichtung der Endothelzellen erfolgt parallel zur Blutflussrichtung (AMBROSINI et al., 2005) und ist abhängig vom Gefäß und der Lokalisation im Körper (KIBRIA et al., 1980). Diese Ergebnisse können durch diese Studie bestätigt werden. So sind die Endothelzellen in den Vasa vasorum deutlich schmaler und länglich im Gegensatz zu den breiten, kubisch geformten Endothelzellen in den Arterien. Dies könnte mit dem Grad der Gefäßkontraktion zusammenhängen, die bei den distalen Gliedmaßenarterien anhand der gewundenen Form des Zellkerns der glatten Muskelzellen sehr deutlich sichtbar ist.

### 5.4 Synopsis

Abschließend sollen einige Punkte aufgegriffen werden, um deren klinische Relevanz zu verdeutlichen und auf die Wichtigkeit von weiterführenden Untersuchungen zu verweisen. Weiterhin soll versucht werden zu erläutern, warum die Spezies Pferd im Rahmen histomorphologischer Untersuchungen von Blutgefäßen im Vergleich zu anderen Spezies (Schwein, Nagetieren) eine untergeordnete Rolle spielt und sich die Forschungsergebnisse in diesen Bereichen zumeist auf ältere Quellen beziehen.

Betrachtet man die Vielzahl ungeklärter Fragen zur Genese der Entstehung von Hufrehe beim Pferd, wird deutlich, dass dieses Krankheitsbild multifaktorielle Einflussfaktoren aufweist. Im überwiegenden Maße scheinen jedoch gefäßassoziierte Dysfunktionen, bei der Entstehung des Syndroms Hufrehe, Einfluss zu nehmen (MORGAN et al., 2016).

Eine Minderperfusion der Gefäße in der Huflederhaut führt zur Ischämie im betroffenen Gebiet und letztendlich zur Ablösung der Huflederhaut von der Hornkapsel (POLLITT und DAVIES, 1998).

Ist es möglich, dass nicht die Minderperfusion der Huflederhautgefäße selbst, sondern die Lumenreduktion der zuführenden Gefäße als Ursache für eine generalisierte Minderperfusion des gesamten Hufbeinträgers in Frage kommt? Deutliche Intimaverdickungen der zuführenden Gefäße konnten bei einem an Rehe erkrankten Tier in dieser Arbeit aufgezeigt werden. Zusätzlich erfahren alle in der vorliegenden Studie betrachteten Gefäße eine Wandverdickung im Alter mit resultierender Lumenreduktion derselben. Es wäre in weiterführenden Untersuchungen zu analysieren, wie sich die Altersverteilung der an Rehe erkrankten Pferde darstellt. Dabei müssten metabolisch bedingte Ursachen ausgeschlossen werden, um eine altersbedinge Lumeneinengung der zuführenden Gefäße als mögliche Ursache zu bestätigen.

Es wäre weiterhin von Interesse herauszufinden, ob das umliegende Gewebe in welches Gefäße eingebettet sind, Einfluss auf die Gefäßwanddicke und dementsprechend auch auf den Lumendiameter hat. Hierzu müsste man Gefäße mit gleichem Lumendiameter, wie hier untersucht, im Tierkörper aufsuchen und diese miteinander vergleichen. Sollten Gefäße, welche in Weichteilgewebe eigebettet sind, wesentlich dünnere Gefäßwände aufweisen, so könnte das Pferd durch die anatomische Lage der distalen Gefäße prädisponiert sein, eine Wandverdickung mit resultierender Lumenreduktion der zuführenden Gefäße zur Huflederhaut auszubilden. Neben der Hufrehe zeigt die Spezies Pferd die Neigung eine Thrombophlebitis bei der Punktion der Vena jugularis ext. zu entwickeln. Die Gesamtheit der in der vorliegenden Arbeit aufgezeigten ultrastrukturellen Besonderheiten der Tunica interna der Vena jugularis (reduzierte Zellkontakte, Protrusionen von Endothelzellen und verminderte Glykokalix) scheinen möglicherweise die Prädisposition der Spezies Pferd eine Phlebitis zu entwickeln, zu fördern. Hier sollte in weiterführenden Untersuchungen die Anzahl der untersuchten Proben ausgeweitet werden, um diese These zu stützen.

Weltweit wurden in den letzten Jahrzehnten statt histomorphologischen eher molekulabiologische Forschungen gefördert, obwohl durchaus der Bedarf besteht, physiologische Anpassungsvorgänge oder pathologische Gefäßveränderungen histomorphologisch zu untersuchen. Insofern wäre es wichtig, die Mikroarchitektur der equinen Gefäße zu erforschen, um die Ergebnisse auf molekularbiologischer Ebene im Gesamtbild besser verstehen zu können. Ein weitere mögliche Erklärung, warum die histomorphologischen Untersuchungen der Gefäße bei der Spezies Pferd im Vergleich zu anderen Spezies (typische Labortiere: Schwein, Ratten, Mäusen) heutzutage nur eine untergeordnete Rolle spielen, ist möglicherweise der gesellschaftliche Blickwinkel zu dieser Spezies. Galten früher Pferde noch als "Nutztiere" und Fleischlieferanten, sind sie in der jetzigen Zeit vielmehr Liebhaberund Hobbytiere geworden, welche einen gehobenen Stellenwert in der Gesellschaft einnehmen. Große Menge an Probenmaterial zu erhalten ist schwierig, da nur noch wenige Pferde laut Equidenpass "zur Schlachtung zugelassen" sind und dementsprechend die Gewinnung am Schlachthof erschwert ist. Zusätzlich ist die Aufbereitung der Proben langwierig und kostenintensiv.

Beim Pferd sind sonographische in vivo Untersuchungen der Blutgefäße etabliert. Aussagen über Diameter, Wanddicken, Erkennen von entzündlichen Prozessen und Thrombenbildung sind dann möglich. Um letztendlich Aussagen auf zellulärer Ebene über die Blutgefäße treffen zu können, bleibt aber die histomorphologische Untersuchung oder die Kultivierung equiner Endothelzellen das Mittel der Wahl.

# 6 Zusammenfassung

#### Histomorphologische und ultrastrukturelle Untersuchungen an klinisch relevanten Blutgefäßen des Pferdes

Für die histomorphologische und ultrastrukturelle Analyse klinisch relevanter Blutgefäße wurden zelluläre und extrazelluläre Komponenten der distalen Arterien der Vordergliedmaße und der Vena jugularis externa von 35 Pferden untersucht. Dabei wurde das Alter und die Körpermasse der Pferde und deren Einfluss auf die Gefäßwandarchitektur berücksichtigt. Es sollten Hinweise über mögliche Ursachen von Hämatombildung nach Gefäßpunktion sowie zur Empfindlichkeit von Pferden für die Ausbildung von Thrombophlebitiden der Vena jugularis gewonnen werden. Es wurden Abschnitte der A. palmaris com. II in ihrem distalen Verlauf an 3 definierten Stellen entnommen. Gefäß 1 (G1) entspricht der proximalsten (A. palmaris com. II) und Gefäß 3 (G3) der distalsten (A. dorsalis phalangis med.) Entnahmestelle. Gefäß 2 (G2) entspricht der A. digitalis dorsalis med., welche sich im Verlauf zwischen G1 und G3 befindet. Die Pferde (n=35) wurden sowohl in unterschiedliche Altersklassen (AK) AK 1 (n=14, 0-7 Jahre), AK 2 (n=11, 8-16 Jahre), AK 3 (n=10, 17-24 Jahre) als auch Gewichtsklassen (GK) GK 1 (n=4, 100-200 Kg), GK 2 (n=16, 201-400 Kg), GK 3 (n=15, 401-700 Kg) unterteilt um einen möglichen Einfluss dieser Parameter auf die Gefäßarchitektur zu verdeutlichen.

Die quantitative Analyse verschiedener Parameter wie z.B. Lumendurchmesser, Dicke der Tunica interna und der Tunica externa, Intimaverdickungen, Anzahl und Dichte von Vasa und Nervi vasorum in der Tunica media und Tunica externa sowie die prozentuale Verteilung von glatten Muskelzellen, elastischen und kollagenen Fasern in der Tunica media, erfolgte mit Hilfe verschiedener Färbungen und einer immunhistochemischen Markierung an Formalin-fixierten Schnittpräparaten. Eine qualitative Betrachtung der Tunica interna der Vena jugularis, der distalen Gliedmaßenarterien und deren Vasa vasorum erfolgte am Elektronenmikroskop. Die in der vorliegenden Arbeit erstmals beschriebenen Ergebnisse bei der Spezies Pferd sind:

- Die distalen Schultergliedmaßenarterien der Pferde gehören zum muskulären Typ und zeigen eine Alters- und gewichtsabhängige Gefäßwanddickenzunahme mit resultierender Lumenreduktion.
- An Gefäßabzweigungen erfahren die glatten Muskelzellen der distalen Arterien eine Verlaufsänderung von ursprünglich zirkulär in einen longitudinalen Verlauf entlang des abzweigenden Gefäßes.
- Es konnten Intimaverdickungen und Intimapolster an den distalen Arterien nachgewiesen werden, welche sich morphologisch deutlich voneinander unterscheiden.
- Der Hauptanteil der Vasa vasorum befindet sich in der Tunica externa (9,3 Vasa vasorum /mm<sup>2</sup>) und fällt zur Tunica media (4,2 Vasa vasorum / mm<sup>2</sup>) um mehr als die Hälfte (54,84%) ab.
- Ausschließlich die zur Verfügung stehende Fläche (Fläche der Tunica externa oder Tunica media) entscheidet über die Anzahl (Dichte) an Vasa vasorum.
- Die Tunica media der distalen Arterien zeigt eine durchschnittliche (0,467 mm) und eine minimale (0,29 mm) avaskuläre Zone, welche ausschließlich über Diffusion vom Lumen versorgt wird.
- Vater-Pacini-Lamellenkörperchen konnten regelmäßig in unmittelbarer Umgebung zur Tunica externa der distalen Arterien nachgewiesen werden.
- Die Ausprägung der Glykokalix variiert zwischen Arterien und der Vena jugularis beträchtlich. Arterien zeigen eine deutliche Glykokalix, welche bei der Jugularvene teilweise vollständig fehlt.
- Ausschließlich bei der Vena jugularis konnten Protrusionen equiner Endothelzellen aufgezeigt werden.
- In Einzelfällen konnte an den distalen Arterien Mehrlagigkeit und Diskontinuität der Membrana elastica interna nachgewiesen werden.
- Benachbarte Endothelzellen von Arterien zeigen gegenüber den Endothelzellen der Vena jugularis deutlich mehr Interdigitationen.
- Lumennahe Haftkomplexe (tight- und adherens junctions) zwischen Endothelzellen der distalen Arterien sind entgegen denen der Vena jugularis gehäuft anzutreffen.

Zusammenfassend ist bei der Betrachtung des Endothels der Vena jugularis festzustellen, dass im Vergleich zu den distalen Arterien, die Kontaktfläche benachbarter Endothelzellen, das Ausmaß an Überlappungen, die Anzahl an Zellkontakten, insbesondere der tight junctions und die Glykokalix deutlich schwächer ausgeprägt sind als bei den Arterien. Das Zusammenspiel dieser Faktoren führt möglicherweise zur gesteigerten Neigung der Jugularvene eine (Thrombo)- Phlebitis zu entwickeln. Die Protrusionen der Endothelzellen können bei der Entwicklung einer Phlebitis eine Rolle spielen.

Es konnte zusätzlich gezeigt werden, dass sowohl das Gewicht der Pferde als auch das Alter der Tiere Einfluss auf die Gefäßarchitektur ausübt. Die distalen Blutgefäße der Schultergliedmaße reagieren mit einer Gefäßwandverdickung und entsprechender Lumenreduktion und zeigen somit ein adaptives Verhalten auf veränderte hämodynamische Verhältnisse.
#### 7 Summary

#### Histomorphological and ultrastructural examination of clinically relevant equine blood vessels

The objective of the study was to examine micro-morphometric data of the arterial wall of clinically relevant equine distal limb arteries as a function of localization, age, body mass, gender and breed. Furthermore, we aimed to investigate micromorphological characteristics of the endothelial lining within the external jugular vein of healthy horses, which might explain the high propensity of this vein to develop thrombophlebitis. Cellular and extracellular components of equine distal limb arteries were examined in 35 horses. Samples of the A. digitalis palmaris communis II and two distal branches were taken immediately post mortally at a slaughter house. Vessel 1 (G1) represents the proximal (A.palmaris com. II) and Vessel 3 (G3) the distal (A. dorsalis phalangis med.) sample. Vessel 2 (G2) corresponds to the A. digitalis dorsalis media in the middle between G1 and G3. To clarify a possible impact of body mass or age to the micro-morphometric data, we divided the total number of horses (n=35) into different groups of age (AG): AG 1 (n=14, 0-7 years), AG 2 (n=11, 8-16 years), AG 3 (n=10, 17-24 years) and groups of weight (WG): WG 1 (n=4, 100-200 kg), WG 2 (n=16, 201-400 kg), WG 3 (n=15, 401-700 kg).

Quantitative analysis of different parameters was based on light microscopic evaluation. To analyze the ultrastructure of the Tunica interna of the distal limb arteries and the jugular vein, transmission electron microscopic evaluation was used.

New Results of the present study are as follows:

- The equine medial palmar artery belongs to a type of very thick-walled muscular arteries. Wall thickness of thigh arteries increases with rising age and weight, resulting in vessel lumen reduction
- orientation of smooth muscle cells of the Tunica media of distal limb arteries changes at branching points from originally circular into a longitudinal orientation along the new branch
- Intimal plaques and thickening of the Tunica interna were found in the distal limb arteries of 3 horses. These intimal thickenings showed notable differences in their morphological structure.
- In individual cases, the elastic membrane of the distal limb arteries appeared discontinuous and multilayered.
- Vasa vasorum were located mainly in the Tunica externa (9.3 Vasa vasorum/mm2) and their amount decreases towards the Tunica media (4.2 Vasa vasorum/mm2) by more than half (54.84%).
- Only the area of the Tunica media and Tunica externa determines the number (density) of supplying Vasa vasorum in the Tunica media and Tunica externa.
- The inner part of the Tunica media of the distal limb arteries represents an avascular zone, which is supplied only by diffusion from the lumen of the vessel. The avascular zone measured 0.467mm on average and a minimum of 0.29mm.
- Vater-Pacini-lamellar corpuscles where regular found close to the Tunica externa of the distal limb arteries.
- There is a notable difference in the expression of the glycocalix from the distal limb arteries (high expression) to the jugular vein (few or complete loss of glycocalix).
- Solitary endothelial cells of the jugular vein could be observed in between flat endothelial cells, which protrude into the lumen.
- Adjacent endothelial cells of arteries clearly show more interdigitations, compared to the endothelial cells of the jugular vein.
- The expression of tight- and adherent junctions between endothelial cells of distal limb arteries is more frequently compared to the jugular vein.

In summary, there are significant differences between the endothelial layer of the distal limb arteries and the jugular vein regarding the contact area of adjacent endothelial cells, the number of overlapping endothelial cells, the amount of cell

contacts and the expression of the glycocalix. The interaction of these factors possibly leads to a high propensity of the jugular vein to develop thrombophlebitis. Additionally, protruding endothelial cells of the jugular vein may be important in developing phlebitis. This study has also shown that age and weight of the horses have an impact on the vascular architecture of the arteries. The distal limb arteries react with thickening of the vessel wall, resulting in lumen reduction as an adaptive process under different hemodynamic conditions.

#### Literaturverzeichnis

- AIRD W.C. (2005) *Spatial and temporal dynamics of the endothelium*. J Thromb Haemost **3**(7): 1392–406.
- ALLEN D., CLARK E.S., MOORE J.N. und PRASSE K.W. (1990) Evaluation of equine digital Starling forces and hemodynamics during early laminitis. Am J Vet Res 51(12): 1930–1934.
- AMBROSINI M.V., MARIUCCI G., RAMBOTTI M.G., TANTUCCI M., COVARELLI C., DE ANGELIS L. und DEL SOLDATO P. (2005) Ultrastructural investigations on protective effects of NCX 4016 (nitroaspirin) on macrovascular endothelium in diabetic Wistar rats. J Submicrosc Cytol Pathol 37(2): 205–213.
- APTER J. (1966) Correlation of viscero-elastic Properties of Large Arteries with microvascular Structure. Circ Res 19: 104–121.
- ARROYO L.G., HAYES M.A., DELAY J., RAO C., DUNCAN B. und VIEL L. (2008) *Arterial calcification in race horses*. Vet Pathol **45**(5): 617–625.
- BARKER S.G., TALBERT A., COTTAM S., BASKERVILLE P.A. und MARTIN J.F. (1993) Arterial intimal hyperplasia after occlusion of the adventitial vasa vasorum in the pig. Arterioscler Thromb **13**(1): 70–77.
- BAUM (1903) Über Besonderheiten im Bau der Blutgefäße. Arch Mikroskop Anat **63**(1): 10–34.

- BAZZONI G. und DEJANA E. (2004) Endothelial cell-to-cell junctions: molecular organization and role in vascular homeostasis. Physiol Rev 84(3): 869–901.
- BENNINGHOFF A. (1930) Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen Bd. 6. Springer. Kapitel: Blutgefäße und Herz, Lymphgefäße und lymphatische Organe, Milz.
- BIRCH D.J., TURMAINE M., BOULOS P.B. und BURNSTOCK G. (2008) *Sympathetic innervation of human mesenteric artery and vein*. J Vasc Res **45**(4): 323–32.
- BJARNEGÅ RD N. und LÄNNE T. (2010) *Arterial properties along the upper arm in humans: age-related effects and the consequence of anatomical location*. J Appl Physiol **108**(1): 34–38.
- BLEYS R.L., COWEN T., GROEN G.J. und HILLEN B. (1996a) Perivascular nerves of the human basal cerebral arteries: II. Changes in aging and Alzheimer's disease. J Cereb Blood Flow Metab 16(5): 1048–1057.
- BLEYS R.L., COWEN T., GROEN G.J., HILLEN B. und IBRAHIM N.B. (1996b) *Perivascular nerves of the human basal cerebral arteries: I. Topographical distribution.* J Cereb Blood Flow Metab **16**(5): 1034–47.
- BONFIG H. (1985) Injektions- und Infusionstechniken an der Vena jugularis und der Vena thoracica externa. Prakt Tierarzt **66**: 41–42.
- BONNET R. (1896) Über den Bau der Arterienwand. DTW 23(1,2).
- BORTOLOTTO L.A., HANON O., FRANCONI G., BOUTOUYRIE P., LEGRAIN S. und GIRERD X. (1999) *The aging process modifies the distensibility of elastic but not muscular arteries*. Hypertension **34**(4 Pt 2): 889–892.
- BOWKER R.M., BREWER A.M., VEX K.B., GUIDA L.A., LINDER K.E., SONEA I.M. und STINSON A.W. (1993) *Sensory receptors in the equine foot*. Am J Vet Res **54**(11): 1840–1844.
- BRAUS H. und ELZE C. (1954) Anatomie Des Menschen. Ein Lehrbuch Für Studierende Und Ärzte: Band 1: Bewegungsapparat. Anatomie des Menschen.

Springer-Verlag GmbH.

- BRAVO-CORDERO J.J., HODGSON L. und CONDEELIS J.S. (2014) Spatial regulation of tumor cell protrusions by RhoC. Cell Adh Migr 8(3): 263–267.
- BRIANCEAU P. und DIVERS T.J. (2001) *Acute thrombosis of limb arteries in horses with sepsis: five cases (1988-1998)*. Equine Vet J **33**(1): 105–109.
- BRINK P.R., CRONIN K., BANACH K., PETERSON E., WESTPHALE E.M., SEUL K.H., RAMANAN S.V. und BEYER E.C. (1997) Evidence for heteromeric gap junction channels formed from rat connexin43 and human connexin37. Am J Physiol Cell Physiol 273(4): C1386–1396.
- BRUNS R.R. und PALADE G.E. (1968) *Studies on blood capillaries. I. General organization of blood capillaries in muscle.* J Cell Biol **37**(2): 244–276.
- BUCK R.C. (1961) Intimal Thickening After Ligature of Arteries An Electron-Microscopic Study. Circ Res 9(2): 418–426.
- BURDACH E. (1835) Achter Bericht. Mit Bermerkungen über die ernährenden Gefässe der Puls- und Blut-Adern. Berichte von der Königlichen anatomischen Anstalt zu Königsberg, 12–61.
- BÜTTIKER R. (1989) Untersuchungen über Gefäßwandveränderungen der Vena jugularis externa des Pferdes nach intravenösen Infusionen. Pferdeheilkunde 5: 247–255.
- CARLSON E.C., BURROWS M.E. und JOHNSONI P.C. (1982) Electron Microscopic Studies of Cat Mesenteric Arterioles: A Structure-Function Analysis. Microvasc Res 24(2): 123–141.
- CEELEN W. (1912) Über das Vorkommen von Vater-Pacini'schen Körperchen am menschlichen Pankreas und über eine krankhafte Veränderung derselben. Virchows Arch **208**(3): 460–472.
- CHEN Y., LU L. und SHAO J.Y. (2016) *Endothelial Surface Protrusion by a Point Force*. Biophys J **110**(5): 1150–1157.

- CLARK J.M. und GLAGOV S. (1985) *Transmural organization of the arterial media*. *The lamellar unit revisited*. Arteriosclerosis **5**(1): 19–34.
- CLAUDE P. (1978) Morphological factors influencing transepithelial permeability: A model for the resistance of the zonula occludens. J Membrane Biol **39**(2-3): 219–232.
- CLAUDE P. und GOODENOUGH D.A. (1973) Fracture faces of zonulae occludentes from tight and leaky epithelia. J Cell Biol 58(2): 390–400.
- COUTARD M. und OSBORNE-PELLEGRIN M. (1987) Formation of disruptions of the internal elastica lamina, spontaneous and BAPN induced, in arteries of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Arch Mal Coeur Vaiss **80**(6): 783–787.
- COWAN D.B. und LANGILLE B.L. (1996) *Cellular and molecular biology of vascular remodeling*. Curr Opin Lipidol 7(2): 94–100.
- CRANLEY J. (1983) Focal medial calcification of the pulmonary artery: A survey of 1066 *horses*. Equine Vet J **15**(3): 278–280.
- DAMON D. (2005) *Sympathetic innervation promotes vascular smooth muscle differentiation*. Am J of Physiol - Heart and Circ Physiol **288**: H2785–H2791.
- DAVIS M.E., CAI H., DRUMMOND G.R. und HARRISON D.G. (2001) Shear Stress Regulates Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression Through c-Src by Divergent Signaling Pathways. Circ Res **89**(11): 1073–1080.
- DEJANA E. (2004) *Endothelial cell–cell junctions: happy together*. Nat Rev Mol Cell Biol **5**: 261–270.
- DISANZA A., STEFFEN A., HERTZOG M., FRITTOLI E., ROTTNER K. und SCITA G. (2005) *Actin polymerization machinery: The finish line of signaling networks, the starting point of cellular movement*. Cell Mol Life Sci **62**(9): 955–970.
- DIVERS T.J. (2003) *Prevention and treatment of thrombosis, phlebitis, and laminitis in horses with gastrointestinal diseases.* Vet Clin North Am Equine Pract **19**(3): 779–790.

- DOLENTE B.A., BEECH J., LINDBORG S. und SMITH G. (2005) *Evaluation of risk factors for development of catheter-associated jugular thrombophlebitis in horses: 50 cases* (1993-1998). J Am Vet Med Assoc **227**(7): 1134–1141.
- DRINANE M., MOLLMARK J., ZAGORCHEV L., MOODIE K., SUN B., HALL A., SHIP-MAN S., MORGANELLI P., SIMONS M. und MULLIGAN-KEHOE M.J. (2009) *The antiangiogenic activity of rPAI-1(23) inhibits vasa vasorum and growth of atherosclerotic plaque*. Circ Res **104**(3): 337–45.
- DUNCAN C. (1977) The autonomic nerve supply of bone. Interosseus nervi vasorum supply in the Rabbit. J Bone Joint Surg **59**(3): 323–330.
- DUNMORE P.J., SONG S.H. und ROACH M.R. (1990) A comparison of the size of fenestrations in the internal elastic lamina of young and old porcine aortas as seen with the scanning electron microscope. Can J Physiol Pharmacol **68**(2): 139–143.
- DÜRCK H. (1907) Über eine neue Art von Fasern im Bindegewebe und in der Blutgefäßwand. Virchows Arch **189**: 62–69.
- DVORAK A.M., KOHN S., MORGAN E.S., FOX P., NAGY J.A. und DVORAK H.F. (1996) The vesiculo-vacuolar organelle (VVO): A distinct endothelial cell structure that provides a transcellular pathway for macromolecular extravasation. J Leukoc Biol **59**(1): 100–15.

EIKMEIER H. (1985) Haftpflichtfragen bei der i.v. Injektion. Prakt Tierarzt 66: 41–45.

VON ENGELHARDT W. und AHRENS F. (2005) Physiologie der Haustiere. Enke.

- FANNING A.S., JAMESON B.J., JESAITIS L.A. und ANDERSON J.M. (1998) *The tight junction protein ZO-1 establishes a link between the transmembrane protein occludin and the actin cytoskeleton*. J Biol Chem **273**(45): 29745–29753.
- FARAND P., GARON A. und PLANTE G.E. (2007) Structure of large arteries: Orientation of elastin in rabbit aortic internal elastic lamina and in the elastic lamellae of aortic media. Microvasc Res 73(2): 95–99.

- FARQUHAR M.G. und PALADE G.E. (1963) *Junctional complexes in various epithelia*. J Cell Biol **17**: 375–412.
- FERNANDO N.V. und MOVAT H.Z. (1964) The fine structure of the terminal vascular bed: II. The smallest arterial vessels: Terminal arterioles and metarterioles. Exp Mol Pathol 33: 1–9.
- FISHMAN A. (1982) *Endothelium: a distributed organ of diverse capabilities*. Ann N Y Acad Sci **401**: 1–8.
- FLAHERTY J.T., PIERCE J.E., FERRANS V.J., PATEL D.J., TUCKER W.K. und FRY D.L. (1972) Endothelial Nuclear Patterns in the Canine Arterial Tree with Particular Reference to Hemodynamic Events. Cihenlerc Res 30(1): 23–33.
- FLESSNER M.F. (2008) *Endothelial glycocalyx and the peritoneal barrier*. Perit Dial Int **28**(1): 6–12.
- FRICKER C., RIEK W. und HUGELSHOFER J. (1982) Occlusion of the digital arteries *A model for pathogenesis of navicular disease*. Equine Vet J **14**(3): 203–207.
- FUJII M., TANAKA H., NAKAMURA A., SUZUKI C., HARADA Y., TAKAMATSU T. und HAMAOKA K. (2016) Histopathological Characteristics of Post-inflamed Coronary Arteries in Kawasaki Disease-like Vasculitis of Rabbits. Acta Histochem Cytochem 49(1): 29–36.
- FURCHGOTT R. (1980) *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine*. Nature **27**(5798): 373–376.
- FURUSE M., FUJITA K., HIIRAGI T., FUJIMOTO K. und TSUKITA S. (1998) *Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin.* J Cell Biol **141**(7): 1539–50.
- FURUSE M., HIRASE T., ITOH M., NAGAFUCHI A., YONEMURA S. und TSUKITA S. (1993) Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. J Cell Biol 123(6 Pt 2): 1777–88.

- GAGLIARDI P.A., PULIAFITO A., DI BLASIO L., CHIANALE F., SOMALE D., SEANO G., BUSSOLINO F. und PRIMO L. (2015) *Real-time monitoring of cell protrusion dynamics by impedance responses*. Sci Rep 5: 10206.
- GALILI O., HERRMANN J., WOODRUM J., SATTLER K.J., LERMAN L.O. und LERMAN A. (2004) *Adventitial vasa vasorum heterogeneity among different vascular beds*. J Vasc Surg **40**(3): 529–535.
- GALLATIN W., WEISSMAN I. und BUTCHER E. (1983) A cell-surface molecule involved in organ-specific homing of lymphocytes. Nature **304**: 30–34.
- GAMMON G. und BRONK D. (1935) *The discharge of impulses from Pacinian corpuscles in the mesentery and its relation to vascular changes.* Am J Physiol **114**(1): 77–84.
- GANGAR K. (1991) Pulsatility index in internal carotid artery in relation to transdermal oestradiol and time since menopause. The Lancet **338**: 839–842.
- GATTONE V.H., MILLER B.G. und EVAN A.P. (1986) *Microvascular smooth muscle cell quantitation from scanning electron microscopic preparations*. Anat Rec **216**(3): 443–7.
- GEIRINGER E. (1951) Intimal vascularisation and artherosclerosis. J Path Bact 63: 201–211.
- GERAGHTY T.E., LOVE S., TAYLOR D.J., HELLER J., MELLOR D.J. und HUGHES K.J. (2009) Assessment of subclinical venous catheter-related diseases in horses and associated risk factors. Vet Rec 164(8): 227–231.
- GERRITY R. und CLIFF W. (1972) *The Aortic Tunica in Young Aging Rats*. Exp Mol Pathol **16**(3): 382–402.
- GERRITY R.G., RICHARDSON M., SOMER J.B., BELL F.P. und SCHWARTZ C.J. (1977) Endothelial cell morphology in areas of in vivo Evans blue uptake in the aorta of young pigs. II. Ultrastructure of the intima in areas of differing permeability to proteins. Am J Pathol **89**(2): 313–334.

- GIACOMELLI F. und WIENER J. (1974) *Regional variation in the permeability of rat thoracic aorta*. Am J Pathol **75**(3): 513–28.
- GINGRAS M., FARAND P., SAFAR M.E. und PLANTE G.E. (2009) *Adventitia: the vital wall of conduit arteries.* J Am Soc Hypertes JASH **3**(3): 166–183.
- GLAGOV S. (1989) Is intimal hyperplasia an adaptive response or a pathologic process. J Vasc Surg **10**(5): 571–573.
- GLAGOV S., VITO R., GIDDENS D.P. und ZARINS C.K. (1992) *Micro-architecture and composition of artery walls: relationship to location, diameter and the distribution of mechanical stress.* J Hypertens Suppl **10**(6): S101–S104.
- GOETZ R. (1958) Some structural characteristics of the aorta and pulmonary artery of the giraffe, a mammal with high arterial pressure. Z Kreislaufforsch 47(7-8): 338–346.
- GOODENOUGH D.A. und PAUL D.L. (2009) *Gap junctions*. Cold Spring Harb Perspect Biol **1**(1): a002576.
- GOODING J.M., YAP K.L. und IKURA M. (2004) *The cadherin-catenin complex as a focal point of cell adhesion and signalling: New insights from three-dimensional structures.* BioEssays **26**(5): 497–511.
- GÖSSL M., ROSOL M., MALYAR N.M., FITZPATRICK L.A., BEIGHLEY P.E., ZAMIR M. und RITMAN E.L. (2003) Functional anatomy and hemodynamic characteristics of vasa vasorum in the walls of porcine coronary arteries. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol 272(2): 526–537.
- HAGEN E. (1969) Licht u. elektronenmikroskopische Untersuchung zur Innervation der Piagefäße. Z Zellforsch **95**: 429.
- HAMMERSEN F. (1966) Poren- und Fenster-Endothelien der Kapillaren in der Skeletmuskulatur der Ratte. Z Zellforsch 69: 296–310.
- HARKNESS M. (1957) *The Collagen and Elastin Content of the Arterial Wall in the Dog*. Proc. R. Soc. Lond. B, 541–551.

- HEIDENREICH J. (1960) *Morphologische Studien am Kreislauf der Lunge des Pferdes*. Zentralblatt Vet Med 7: 794–828.
- HEISTAD D. und MARCUS M.L. (1979) *Role of vasa vasorum in nourishment of the aorta*. Blood Vessels **16**(5): 225–238.
- HEISTAD D.D., MARCUS M.L., LARSEN G.E. und ARMSTRONG M.L. (1981) *Role of vasa vasorum in nourishment of the aortic wall*. Am J Physiol Heart Circ Physiol **240**(5): H781–787.
- HENLE J. (1868) Handbuch der systematischen Anatomie des Menschen Bd. 3. F. Vieweg.
- HOLZMANN B., MCINTYRE B.W. und WEISSMAN I.L. (1989) *Identification of a murine Peyer's patch–specific lymphocyte homing receptor as an integrin molecule with an alpha chain homologous to human VLA-4 alpha*. Cell **56**(1): 37–46.
- HOYER H. (1877) Über unmittelbare Einmündung kleinster Arterien in Gefässäste venösen Charakters. Arch Mikroskop Anat **13**(1): 603–644.
- HUSKAMP B. (1985) *Die chirurgische Behandlung der Thrombophlebitis*. Prakt Tierarzt **66**: 38–40.
- HÜTTNER I. und BOUTET M. (1973) *Gap Junction in Arterial Endothelium*. J Cell Biol 57(1): 247–252.
- HÜTTNER I., MORE R.H. und RONA G. (1970) Fine structural evidence of specific mechanism for increased endothelial permeability in experimental hypertension. Am J Pathol **61**(3): 395–412.
- IMAIZUMI K., NAKAMURA T., KIRYU K., KANEMARU T. und KANEKO M. (1989) Morphological changes of the aorta and pulmonary artery in thoroughbred racehorses. J Comp Pathol **101**(1): 1–9.
- IRIE K., SHIMIZU K., SAKISAKA T., IKEDA W. und TAKAI Y. (2004) *Roles and modes of action of nectins in cell-cell adhesion*. Semin Cell Dev Biol **15**(6): 643–656.

- ISOGAI S., HORIGUCHI M. und WEINSTEIN B.M. (2001) *The vascular anatomy of the developing zebrafish: an atlas of embryonic and early larval development*. Dev Biol **230**(2): 278–301.
- JAIN R.K. (2003) Molecular regulation of vessel maturation. Nat Med 9(6): 685–93.
- JANZEN J. (2004) *The microscopic transitional zone between elastic and muscular arteries*. Arch Mal Coeur Vaiss **97**(9): 909–914.
- JORES L. (1898) Über die Neubildung elastischer Fasern in der Intima bei Endarteriitis. Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie **24**: 458.
- JORES L. (1903) Wesen und Entwicklung der Arteriosklerose. Wiesbaden: Bergmann.
- KAMIYA A. und TOGAWA T. (1980) Adaptive regulation of wall shear stress to flow change in the canine carotid artery. Am J Physiol Heart Circ Physiol **239**(1): H14–21.
- KARAS R.H., PATTERSON B.L. und MENDELSOHN M.E. (1994) *Human vascular smooth muscle cells contain functional estrogen receptor*. Circulation **89**(5): 1943–1950.
- KARNOVSKY M.J. (1967) *The ultrastructural basis of capillary permeability studied with peroxidase as a tracer.* J Cell Biol **35**(1): 213–36.
- KARRER H. (1961) *An electron microscope study of the aorta in young and in aging mice.* J Ultrastruct Res **5**(1): 1–27.
- KEECH M.K. (1960) *Electron microscope study of the normal rat aorta*. J Biophys Biochem Cytol 7(3): 533–8.
- KEEN J.A., HILLIER C., MCGORUM B.C., BUNTON D. und NALLY J.E. (2008) Evaluation of equine laminar vein function: harvesting, dissection and the use of functional methods to distinguish between veins and arteries. J Pharmacol Toxicol Methods 57(2): 92–99.
- KIBRIA G., HEATH D., SMITH P. und BIGGAR R. (1980) Pulmonary endothelial pavement patterns. Thorax 35: 186–191.

- KIRBY B.S., BRUHL A., SULLIVAN M.N., FRANCIS M., DINENNO F.A. und EARLEY S. (2013) Robust internal elastic lamina fenestration in skeletal muscle arteries. PLoS ONE 8(1): e54849.
- KÖLLIKER A. (1902) Handbuch der Gewebelehre des Menschen 6. Aufl. Leipzig, Engelmann.
- KROUWER V.J.D., HEKKING L.H.P., LANGELAAR-MAKKINJE M., REGAN-KLAPISZ E. und POST J.A. (2012) Endothelial cell senescence is associated with disrupted cell-cell junctions and increased monolayer permeability. Vascular Cells 4: 1–10.
- KU D. (1985) Pulsatile Flow and Atherosclerosis in the Human Carotid Bifurcation Positive Correlation between Plaque Location and Low and Oscillating Shear Stress. Arterioscl Thromb Vasc Biol 5: 293–302.
- KWEI S., STAVRAKIS G., TAKAHAS M., TAYLOR G., FOLKMAN M.J., GIMBRONE M.A. und GARCÍA-CARDEÑA G. (2004) *Early adaptive responses of the vascular wall during venous arterialization in mice*. Am J Pathol **164**(1): 81–9.
- KWON H.M., SANGIORGI G., RITMAN E.L., LERMAN A., MCKENNA C., VIRMANI R., EDWARDS W.D., HOLMES D.R. und SCHWARTZ R.S. (1998) Adventitial vasa vasorum in balloon-injured coronary arteries: visualization and quantitation by a microscopic three-dimensional computed tomography technique. J Am Coll Cardiol 32(7): 2072–9.
- LAKATTA E.G. (2003) Arterial and Cardiac Aging: Major Shareholders in Cardiovascular Disease Enterprises: Part III: Cellular and Molecular Clues to Heart and Arterial Aging. Circulation **107**(3): 490–497.
- LAMPUGNANI M.G., RESNATI M., RAITERI M., PIGOTT R., PISACANE A., HOUEN G., RUCO L.P. und DEJANA E. (1992) *A novel endothelial-specific membrane protein is a marker of cell-cell contacts*. J Cell Biol **118**(6): 1511–22.
- LANG J. (1974) Das Arterielle System, Kap. Feinstruktur der Arterienwand, 1–14. Steinkopff, Heidelberg.

- LASZIK Z., MITRO A., TAYLOR F.B., FERRELL G. und ESMON C.T. (1997) *Human Protein C Receptor Is Present Primarily on Endothelium of Large Blood Vessels: Implications for the Control of the Protein C Pathway.* Circulation **96**(10): 3633–3640.
- LAUPER N.T., UNNI K.K., KOTTKE B.A. und TITUS J.L. (1975) Anatomy and histology of aorta of White Carneau pigeon. Lab Invest **32**(4): 536–551.
- LAURENT S. (2012) *Defining vascular aging and cardiovascular risk*. J Hypertens **30 Suppl**: 3–8.
- LEE H.Y. und OH B.H. (2010) Aging and arterial stiffness. Circ J 74(11): 2257–2262.
- LEE R.M., FORREST J.B., GARFIELD R.E. und DANIEL E.E. (1983a) Ultrastructural changes in mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. A morphometric study. Blood Vessels 20(2): 72–91.
- LEE R.M., GARFIELD R.E., FORREST J.B. und DANIEL E.E. (1983b) Morphometric study of structural changes in the mesenteric blood vessels of spontaneously hypertensive rats. Blood Vessels **20**(2): 57–71.
- LEHMANN W. (1908) Über Bau und Entwicklung der Wand der hinteren Hohlvene des Rindes und Venenklappen bei Pferd und Rind. Ph.D. thesis.
- LI Z., FROEHLICH J., GALIS Z.S. und LAKATTA E.G. (1999) *Increased expression of matrix metalloproteinase-2 in the thickened intima of aged rats*. Hypertension **33**(1): 116–123.
- LIEBICH H. (2010) Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel. Schattauer.
- LIEBNER S., FISCHMANN A., RASCHER G., DUFFNER F., GROTE E.H., KALBACHER H. und WOLBURG H. (2000) *Claudin-1 and claudin-5 expression and tight junction morphology are altered in blood vessels of human glioblastoma multiforme*. Acta Neuropathol **100**(3): 323–331.
- LONDON G.M., GUERIN A.P., PANNIER B., MARCHAIS S.J. und STIMPEL M. (1995) Influence of Sex on Arterial Hemodynamics and Blood Pressure : Role of Body Height.

Hypertension **26**(3): 514–519.

- LOSCALZO J. und WELCH G. (1995) Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. Prog Cardiovasc Dis 38(2): 87–104.
- LOSORDO D.W., KEARNEY M., KIM E.A., JEKANOWSKI J. und ISNER J.M. (1994) Variable Expression of the Estrogen Receptor in Normal and Atherosclerotic Coronary Arteries of Premenopausal Women. Circulation **89**: 1501–1510.
- LUSZIG G. und MAK L. (1974) *Lumen und die Anzahl der sich in der Aortenadventitia befindlichen Vasa vasorum in Relation zu Alter und Geschlecht*. Z Alternsforsch **29**(1): 81–87.
- MADARA J.L. (1985) Occluding junction structure-function relationships in a cultured epithelial monolayer. J Cell Biol **101**(6): 2124–2133.
- MAHRLE G. und ORFANOS C.E. (1971) *Scanning electron microscopic observations on the vein wall the endothelium of healthy veins*. Arch Dermatol Forsch **242**(1): 43–54.
- MAKSIMENKO A.V. und TURASHEV A.D. (2014) Endothelial glycocalyx of blood circulation. I. Finding, components, structure organization. Bioorg Khim 40(2): 131–141.
- MANFRINI O., PIZZI C., VIECCA M. und BUGIARDINI R. (2008) *Abnormalities of cardiac autonomic nervous activity correlate with expansive coronary artery remodeling*. Atherosclerosis **197**(1): 183–9.
- MARTELLI A., BERARDINELLI P., RUSSO V., MAURO A., BERNABÒ N., GIOIA L., MATTIOLI M. und BARBONI B. (2006) *Spatio-temporal analysis of vascular endothelial* growth factor expression and blood vessel remodelling in pig ovarian follicles during the periovulatory period. J Mol Endocrinol **36**(1): 107–19.
- MARTÌN-PADURA I., LOSTAGLIO S., SCHNEEMANN M., WILLIAMS L., ROMANO M., FRUSCELLA P., PANZERI C., STOPPACCIARO A., RUCO L., VILLA A., SIM-MONS D. und DEJANA E. (1998) Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. J Cell Biol 142(1): 117–27.

- MARTINEZ A.D. (2002) Connexin43 and Connexin45 Form Heteromeric Gap Junction Channels in Which Individual Components Determine Permeability and Regulation. Circ Res **90**(10): 1100–1107.
- MCGEACHIE J. (1982) *Arterial Vasa Vasorum: A quantitative study in the rat.* J Anat **134**(2): 193–197.
- MICHAILOW S. (1908) Zur Frage über die Innervation der Blutgefäße. Arch Mikroskop Anat **72**: 540–553.
- MODLICH U. (1996) Cyclic angiogenesis and blood vessel regression in the ovary: blood vessel regression during luteolysis involves endothelial cell detachment and vessel occlusion. Lab Invest **74**(4): 771–780.
- MOORE D.H. und RUSKA H. (1957) *The fine structure of capillaries and small arteries*. J Biophys Biochem Cytol **3**(3): 457–462.
- MOORE J. (1996) The pathophysiology of acute Laminitis. Vet Med 91: 936–939.
- MORENO P.R., PURUSHOTHAMAN K.R., FUSTER V., ECHEVERRI D., TRUSZC-ZYNSKA H., SHARMA S.K., BADIMON J.J. und O'CONNOR W.N. (2004) Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability. Circulation **110**(14): 2032–8.
- MORGAN R.A., KEEN J.A., WALKER B.R. und HADOKE P.W. (2016) *Vascular Dysfunction in Horses with Endocrinopathic Laminitis*. PLoS ONE **11**(9): e0163815.
- MOZERSKY D.J., SUMNFR D.S., HOKANSON D.E. und STRANDNESS D.E. (1972) *Transcutaneous Measurement of the Elastic Properties of the Human Femoral Artery*. Circulation **46**(5): 948–955.
- MUIR A.R. und PETERS A. (1962) *Quintuple-layered membrane junctions at terminal bars between endothelial cells.* J Cell Biol **12**: 443–448.
- MULISCH M. und WELSCH U. (2010) Romeis Mikroskopische Technik. Spektrum Akademischer Verlag.

- MÜLLER A.M., HERMANNS M.I., SKRZYNSKI C., NESSLINGER M., MÜLLER K.M. und KIRKPATRICK C.J. (2002) *Expression of the endothelial markers PECAM-1*, *vWf*, *and CD34 in vivo and in vitro*. Exp Mol Pathol **72**(3): 221–9.
- MULLIGAN-KEHOE M.J. (2010) *The vasa vasorum in diseased and nondiseased arteries*. Am J Physiol Heart Circ Physiol **298**(2): H295–H305.
- MÜLLING C., PFARRER C., REESE S., KÖLLE S. und BUDRAS K. (2013) Atlas der Anatomie des Pferdes. Budras Anatomie. Schlütersche.
- MULVANY M.J. und AALKJAER C. (1990) *Structure and function of small arteries*. Physiol Rev **70**(4): 921–961.
- MURO S. (2004) Endothelial Endocytic Pathways: Gates for Vascular Drug Delivery. Curr Vasc Pharmacol **2**(3): 281–299.
- NAGAFUCHI A., ISHIHARA S. und TSUKITA S. (1994) The roles of catenins in the cadherin-mediated cell adhesion: functional analysis of E-cadherin-alpha catenin fusion molecules. J Cell Biol **127**(1): 235–245.
- NAJJAR S.S., SCUTERI A. und LAKATTA E.G. (2005) *Arterial aging: is it an immutable cardiovascular risk factor*. Hypertension **46**(3): 454–462.
- NAKAMURA T., KIRYU K., MACHIDA N., IWATA T., OIKAWA M. und KANEKO M. (1992) *Histologic features of the carotid artery trifurcation in thoroughbreds*. Am J Vet Res **53**(3): 288–290.
- NELSON E. und RENNELS M. (1970) *Innervation of intracranial arteries*. Brain **93**(3): 475–490.
- NEUMAN R.E. und LOGAN M.A. (1950) *The determination of collagen and elastin in tissues*. J Biol Chem **186**(2): 549–556.
- NICKEL R., SCHUMMER A., HABERMEHL K., SEIFERLE E., VOLLMERHAUS B., WILKENS H. und WAIBL H. (2005) Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Parey.

- NIESSEN C.M. (2007) *Tight junctions/adherens junctions: basic structure and function*. J Invest Dermatol **127**(11): 2525–32.
- LE NOBLE F., MOYON D., PARDANAUD L., YUAN L., DJONOV V., MATTHIJSEN R., BRÉANT C., FLEURY V. und EICHMANN A. (2004) *Flow regulates arterial-venous differentiation in the chick embryo yolk sac.* Development (Cambridge, England) **131**(2): 361–75.
- NUSSBACH A. W. UND MAAS (1923) Über die eitrige Entzündung der Drosselvene. Tierärztliche Rundschau **29**: 545–550.
- O'DONNELL J.J., BIRUKOVA A.A., BEYER E.C. und BIRUKOV K.G. (2014) *Gap junction protein connexin43 exacerbates lung vascular permeability*. PloS one **9**(6): e100931.
- ONAN B., YENITERZI M., ONAN I.S., ERSOY B., GONCA S., GELENLI E., SOLA-KOGLU S. und BAKIR I. (2014) *Effect of electrocautery on endothelial integrity of the internal thoracic artery: ultrastructural analysis with transmission electron microscopy*. Tex Heart Inst J **41**(5): 484–490.
- OPPENHEIM F. (1918) Über den histologischen Bau der Arterien in der wachsenden und alternden Niere. Frankfurter Z Pathol **21**.
- PALADE G.E. und PORTER K.R. (1954) Studies on the endoplasmic reticulum. I. Its identification in cells in situ. J Exp Med **100**(6): 641–656.
- PAPADAKI M. und ESKIN S.G. (1997) *Effects of fluid shear stress on gene regulation of vascular cells*. Biotechnol Prog **13**(3): 209–221.
- PEASE D.C. und PAULE W.J. (1960) *Electron microscopy of elastic arteries; the thoracic aorta of the rat.* J Ultrastruct Res **3**: 469–483.
- PEIRCE S.M. und SKALAK T.C. (2003) *Microvascular remodeling: a complex continuum spanning angiogenesis to arteriogenesis*. Microcirc (New York, NY : 1994) **10**(1): 99–111.

- PETERS (1930) Über einen Fall der vollständigen Thrombosierung und Zerreißung der Vena jugularis. Dt tierärztl Wschr **51**: 807–808.
- PETZELBAUER P., BENDER J.R., WILSON J. und POBER J.S. (1993) *Heterogeneity of dermal microvascular endothelial cell antigen expression and cytokine responsiveness in situ and in cell culture*. J Immunol (Baltimore, Md : 1950) **151**(9): 5062–5072.
- PICKER L.J., KISHIMOTO T.K., SMITH C.W., WARNOCK R.A. und BUTCHER E.C. (1991a) *ELAM-1 is an adhesion molecule for skin-homing T cells*. Nature **349**(6312): 796–799.
- PICKER L.J., WARNOCK R.A., BURNS A.R., DOERSCHUK C.M., BERG E.L. und BUTCHER E.C. (1991b) *The neutrophil selectin LECAM-1 presents carbohydrate ligands to the vascular selectins ELAM-1 and GMP-140.* Cell **66**(5): 921–33.
- PILO C., ALTEA A., PIRINO S., NICOLUSSI P., VARCASIA A., GENCHI M. und SCALA A. (2012) *Strongylus vulgaris (Looss, 1900) in horses in Italy: is it still a problem.* Vet Parasitol **184**(2-4): 161–167.
- PLANK L., JAMES J. und WAGENVOORT C.A. (1980) *Caliber and elastin content of the pulmonary trunk*. Arch Pathol Lab Med **104**(5): 238–241.
- PLENDL J. (1992) *Die Heterogenität des vaskulären Endothels*. Anat Histol Embryol **21**: 256–262.
- POLLITT C.C. und DAVIES C.T. (1998) Equine laminitis: its development coincides with increased sublamellar blood flow. Equine Vet J Suppl (26): 125–132.
- POLLITT C.C. und MOLYNEUX G.S. (1990) *A scanning electron microscopical study of the dermal microcirculation of the equine foot*. Equine Vet J **22**(2): 79–87.
- PRIES A.R., REGLIN B. und SECOMB T.W. (2003) *Structural response of microcirculatory networks to changes in demand: information transfer by shear stress*. Am J Physiol Heart Circ Physiol **284**(6): H2204–12.
- QIAO R.L. und BHATTACHARYA J. (1991) Segmental barrier properties of the pulmonary microvascular bed. J Appl Physiol **71**(6): 2152–2159.

- QUINDLEN J.C., STOLARSKI H.K., JOHNSON M.D. und BAROCAS V.H. (2016) *A multiphysics model of the Pacinian corpuscle*. Integr Biol (Camb) 8(11): 1111–1125.
- RACHMANOW A. (1901) Zur Frage der Nervenendigungen in den Gefäßen. Anat Anz 19: 555–559.
- RATZLAFF M.H., SHINDELL R.M. und DEBOWES R.M. (1985) *Changes in digital* venous pressures of horses moving at the walk and trot. Am J Vet Res **46**(7): 1545–1549.
- REESE T.S. und KARNOVSKY M.J. (1967) *Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase.* J Cell Biol **34**(1): 207–217.
- REITSMA S., OUDE EGBRINK M.G., VINK H., VAN DEN BERG B.M., PASSOS V.L., ENGELS W., SLAAF D.W. und VAN ZANDVOORT M.A. (2011) Endothelial glycocalyx structure in the intact carotid artery: a two-photon laser scanning microscopy study. J Vasc Res **48**(4): 297–306.
- REITSMA S., SLAAF D.W., VINK H., VAN ZANDVOORT M.A. und OUDE EGBRINK M.G. (2007) *The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization*. Pflugers Arch 454(3): 345–359.
- RESNICK N. (2003) Fluid shear stress and the vascular endothelium: for better and for worse. Prog Biophys Mol Biol **81**(3): 177–199.
- RHODIN J.A. (1962) *The diaphragm of capillary endothelial fenestrations*. J Ultrastruct Res **6**(1): 171–85.
- RISAU W. (1997) Mechanisms of angiogenesis. Nature 386(6626): 671-674.
- RISAU W. und RUBANYI G. (2003) Morphogenesis of Endothelium. Endothelial cell research series. Taylor & Francis.
- RITMAN E.L. und LERMAN A. (2007) *The dynamic vasa vasorum*. Cardiovasc Res 75(4): 649–658.
- ROSTGAARD J. und QVORTRUP K. (1997) Electron microscopic demonstrations of filamentous molecular sieve plugs in capillary fenestrae. Microvasc Res 53(1): 1–13.

- RUBANYI G.M. (1993) *The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases*. J Cardiovasc Pharmacol **22 Suppl 4**: S1–S14.
- SAEY V., PLOEG M., DELESALLE C., VAN LOON G., GRONE A., DUCATELLE R., DUCHATEAU L. und CHIERS K. (2016) *Morphometric Properties of the Thoracic Aorta of Warmblood and Friesian Horses with and without Aortic Rupture*. J Comp Pathol **154**(2-3): 225–230.
- SANDOW S.L., GZIK D.J. und LEE R.M. (2009) *Arterial internal elastic lamina holes: relationship to function.* J Anat **214**(2): 258–266.
- SANDOW S.L. und HILL C.E. (2000) *Incidence of myoendothelial gap junctions in the proximal and distal mesenteric arteries of the rat is suggestive of a role in endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated responses*. Circ Res **86**(3): 341–346.
- SATO S. (1966) An electron microscopic study on the innervation of the intracranial artery of the rat. Am J Anat **118**(3): 873–889.
- SATO S. und SUZUKI J. (1975) *Anatomical mapping of the cerebral nervi vasorum in the human brain*. J Neurosurg **43**(5): 559–568.
- SCHENK E. (1968) Dual Innervation of Arteries and Arterioles. Z Zellforsch 91: 170–177.
- SCHIEFFERDECKER P. (1896) Über den Bau der Wandung der Blutgefäße. Technical report.
- SCHLICHTING K. (1976) Untersuchungen über Gefässwandschäden an der Vena jugularis externa des Pferdes bei Verwendung einer Kunststoffkanüle. Hanover Tierärztliche Hochschule. Inaugural-Dissertation.
- SCHWARTZ S.M. und BENDITT E.P. (1972) Studies on aortic intima. I. Structure and permeability of rat thoracic aortic intima. Am J Pathol 66(2): 241–264.
- SCHWARZ M.A., OWARIBE K., KARTENBECK J. und FRANKE W.W. (1990) *Desmosomes and hemidesmosomes: constitutive molecular components*. Annu Rev Cell Biol **6**: 461–491.

- SE GREENWALD (2007) Ageing of the conduit arteries. J Pathol 211: 157–172.
- SENIS Y. (1996) Changes in the pattern of distribution of von Willebrand factor in rat aortic endothelial cells following thrombin generation in vivo. Br J Heamatol 93(1): 195–203.
- SIMIONESCU M. und SIMIONESCU N. (1991) Endothelial transport of macromolecules: transcytosis and endocytosis. A look from cell biology. Cell Biol Rev 25(1): 5–78.
- SIMIONESCU M., SIMIONESCU N. und PALADE G.E. (1975) Segmental differentiations of cell junctions in the vascular endothelium. The microvasculature. J Cell Biol **67**(3): 863–885.
- SIMIONESCU M., SIMIONESCU N. und PALADE G.E. (1976) Segmental differentiations of cell junctions in the vascular endothelium. Arteries and veins. J Cell Biol **68**(3): 705–723.
- SIMON A.M. und GOODENOUGH D.A. (1998) *Diverse functions of vertebrate gap junctions*. Trends Cell Biol **8**(12): 477–482.
- SIMS D.E. und HORNE M.M. (1994) *Non-aqueous fixative preserves macromolecules on the endothelial cell surface: an in situ study.* Eur J Morphol **32**(1): 59–64.
- SKALAK T.C. und PRICE R.J. (1996) *The role of mechanical stresses in microvascular remodeling*. Microcirculation (New York, NY : 1994) **3**(2): 143–165.
- SONNENBERG A., CALAFAT J., JANSSEN H., DAAMS H., VAN DER RAAIJ-HELMER L.M., FALCIONI R., KENNEL S.J., APLIN J.D., BAKER J. und LOIZIDOU M. (1991) Integrin alpha 6/beta 4 complex is located in hemidesmosomes, suggesting a major role in epidermal cell-basement membrane adhesion. J Cell Biol **113**(4): 907–17.
- SPIER S.A., DELP M.D., MEININGER C.J., DONATO A.J., RAMSEY M.W. und MULLER-DELP J.M. (2004) Effects of ageing and exercise training on endotheliumdependent vasodilatation and structure of rat skeletal muscle arterioles. J Physiol 556(Pt 3): 947–58.

STAUBESAND J. (1958) *Die Klappen kleiner Venen*. Z Anat Entwickl Gesch **120**(5): 392–423.

STEUBESAND J. (1959) Über die Versorgung der Arterienwand. Anat Anz 107: 332–339.

- STEVENS T., GARCIA J.G., SHASBY D.M., BHATTACHARYA J. und MALIK A.B. (2000) *Mechanisms regulating endothelial cell barrier function*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **279**(3): L419–22.
- STUDIER E. (1951) Histologische Untersuchung der Zehenendarterie beim Pferd mit besonderer Berücksichtigung von Sperrvorichtung und der Endarteritis obliterans. Ph.D. thesis.
- SUBBOTIN V.M. (2012) Neovascularization of coronary tunica intima (DIT) is the cause of coronary atherosclerosis. Lipoproteins invade coronary intima via neovascularization from adventitial vasa vasorum, but not from the arterial lumen: a hypothesis. Theor Biol Med Model 9: 11.
- SÖRENSEN M. (1929) Thrombose der Vena jugularis mit phlegmonöser Periphlebitis und Nekrose des ganzen Musc. sternocephalicus beim Pferd nach einer Injektion. Tierärztliche Rundschau **35**: 335–336.
- TADDEI S., GALETTA F., VIRDIS A., GHIADONI L., SALVETTI G., FRANZONI F., GIUSTI C. und SALVETTI A. (2000) Physical Activity Prevents Age-Related Impairment in Nitric Oxide Availability in Elderly Athletes. Circulation 101(25): 2896–2901.
- TANABE T. (2003) *Exercise training improves ageing-induced decrease in eNOS expression of the aorta*. Acta Physiol Scand **178**(1): 3–10.
- TARBELL J.M. und EBONG E.E. (2008) *The endothelial glycocalyx: a mechano-sensor and -transducer*. Sci Signal 1(40): pt8.
- TAYLOR W.F., BISHOP S. und FRED W. (1993) *A role for nitric thermoregulatory oxide in active vasodilation*. Am J Physiol (Heart Circ Physiol) **264**(33): 1355–1359.

- THIENEL (1902) Vergleichende Untersuchung über den Mikroskopischen Bau der Blutgefäße der Schultergliedmaße von Pferd, Esel, Rind, Kalb, Schaf, Schwein und Hund. Ph.D. thesis.
- TKACHENKO E., GUTIERREZ E., SAIKIN S.K., FOGELSTRAND P., KIM C., GROIS-MAN A. und GINSBERG M.H. (2013) *The nucleus of endothelial cell as a sensor of blood flow direction*. Biology Open **2**(10): 1007–12.
- TONAR Z., KUBIKOVA T., PRIOR C., DEMJEN E., LIKA V., KRALIKOVA M. und WITTER K. (2015) Segmental and age differences in the elastin network, collagen, and smooth muscle phenotype in the tunica media of the porcine aorta. Ann Anat 201: 79–90.
- TONAR Z., KURAL T., KOCHOVA P., NEDOROST L. und WITTER K. (2012) Vasa vasorum quantification in human varicose great and small saphenous veins. Ann Anat **194**(5): 473–481.
- TSUKUROV O. (2000) *The response of adult human saphenous vein endothelial cells to combined pressurized pulsatile flow and cyclic strain, in vitro.* Ann Vasc Surg **14**(3): 260–267.
- UHL B., HIRN S., IMMLER R., MILDNER K., MOCKL L., SPERANDIO M., BRAEUCH-LE C., REICHEL C.A., ZEUSCHNER D. und KROMBACH F. (2017) *The Endothelial Glycocalyx Controls Interactions of Quantum Dots with the Endothelium and Their Translocation Across the Blood-Tissue Border*. ACS Nano.
- VAN DER HEIJDEN-SPEK J.J., STAESSEN J.A., FAGARD R.H., HOEKS A.P., BOUDIER H.A. und VAN BORTEL L.M. (2000) *Effect of age on brachial artery wall properties differs from the aorta and is gender dependent: a population study*. Hypertension **35**(2): 637–642.
- VINK H. und DULING B.R. (1996) Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leukocytes within mammalian capillaries. Circ Res 79(3): 581–589.
- WALLEZ Y. und HUBER P. (2008) Endothelial adherens and tight junctions in vascular homeostasis, inflammation and angiogenesis. Biochim Biophys Acta **1778**(3): 794–809.

- WALMSLEY J. (1982) Quantitative Morphology of Arterioles from the Hamster Cheek Pouch Related to Mechanical Analysis. Microvasc Res 24(3): 249–271.
- WANG L., DONG Z., ZHANG Y. und MIAO J. (2012) The roles of integrin  $\beta$ 4 in vascular endothelial cells. J Cell Physiol **227**(2): 474–8.
- WERBER A.H. und HEISTAD D.D. (1985) *Diffusional support of arteries*. Am J Physiol Heart Circ Physiol **248**(6): H901–906.
- WILLIAMS J.K., ARMSTRONG M.L. und HEISTAD D.D. (1988) Vasa vasorum in atherosclerotic coronary arteries: responses to vasoactive stimuli and regression of atherosclerosis. Circ Res 62(3): 515–523.
- WILLIAMS J.K. und HEISTAD D.D. (1996) *Structure and function of vasa vasorum*. Trends Cardiovasc Med **6**(2): 53–57.
- WISSE E. (1970) An Electron Microscopic Study of the Fenestrated Endothelial Lining of Rat Liver Sinusoids. J Ultrastruct Res **31**: 125–150.
- WITTER K., TONAR Z., MATEJKA V.M., MARTINCA T., JONÁK M., ROKOSNÝ S. und PIRK J. (2010) *Tissue reaction to three different types of tissue glues in an experimental aorta dissection model: a quantitative approach*. Histochem Cell Biol 133(2): 241–259.
- WOLF J. (1964) *Ein Beitrag zur Ultrastruktur der Blutkapillaren: Das Nahtlose Endothel.* Z Zellforsch **64**: 290–300.
- WOLINSKY H. (1967) A Lamellar Unit of Aortic Medial Structure and Function in Mammals. Circ Res 20: 99–111.
- WOLINSKY H. (1969) Comparison of Abdominal and Thoracic Aortic Medial Structure in Mammals. Circ Res 25: 677–686.
- WOLINSKY H. und GLAGOV S. (1967) Nature of species differences in the medial distribution of aortic vasa vasorum in mammals. Circ Res **20**(4): 409–421.
- WOODRUFF E. (1926) Studies on the Vasa Vasorum. Am J Pathol 2(6): 567–570.

- WOOLLARD H.H. und WEDDELL G. (1935) *The Composition and Distribution of Vascular Nerves in the Extremities.* J Anat **69**(Pt 2): 165–176.3.
- YAMADA E. (1955) *The fine structure of the renal glomerulus of the mouse*. J Biophys Biochem Cytol **1**(6): 551–566.
- YAMAMOTO K., DE WAARD V., FEARNS C. und LOSKUTOFF D.J. (1998) *Tissue* distribution and regulation of murine von Willebrand factor gene expression in vivo. Blood **92**(8): 2791–801.
- YAMASHITA E. und BUENDIA N. (1968) *Functional relation of Pacinian corpuscle to the vascular system*. Tohoku J Exp Med **96**(2): 119–126.
- YANCOPOULOS G.D., DAVIS S., GALE N.W., RUDGE J.S., WIEGAND S.J. und HOLASH J. (2000) *Vascular-specific growth factors and blood vessel formation*. Nature **407**(6801): 242–248.
- YEE A. und RAVEL J. (1975) Endothelial Cell Junction. J Cell Biol 66(1): 200–204.
- YEN W., CAI B., YANG J., ZHANG L., ZENG M., TARBELL J.M. und FU B.M. (2015) Endothelial surface glycocalyx can regulate flow-induced nitric oxide production in microvessels in vivo. PLoS ONE **10**(1): e0117133.
- YILDIZ O. (2007) *Vascular smooth muscle and endothelial functions in aging*. Ann N Y Acad Sci **1100**(1): 353–360.
- ZAKRZEWICZ A., SECOMB T.W. und PRIES A.R. (2002) *Angioadaptation: keeping the vascular system in shape*. News Physiol Sci **17**: 197–201.
- ZAMBONI P., TISATO V., MENEGATTI E., MASCOLI F., GIANESINI S., SALVI F. und SECCHIERO P. (2015) *Ultrastructure of internal jugular vein defective valves*. Phlebology **30**(9): 644–647.
- ZARINS C.K. (1987) Shear stress regulation of artery lumen diameter in experimental atherogenesis. J Vasc Surg 5(3): 413–420.

- ZARINS C.K., GIDDENS D.P., BHARADVAJ B.K., SOTTIURAI V.S., MABON R.F. und GLAGOV S. (1983) Carotid bifurcation atherosclerosis. Quantitative correlation of plaque localization with flow velocity profiles and wall shear stress. Circ Res 53(4): 502–514.
- ZELLER R. (1978) *Die Thrombophlebitis der Vena jugularis beim Pferd*. Arch tierärztliche Fortbildung **2**(2): 181–186.
- ZERPA H., BERHANE Y., ELLIOTT J. und BAILEY S.R. (2010) The effect of cooling on the contractility of equine digital small lamellar arteries: modulating role of the endothelium. Exp Physiol **95**(10): 1033–1042.
- ZHUO Y., QIAN T., WU Y., SEONG J., GONG Y., MA H., WANG Y. und LU S. (2015) Subcellular and Dynamic Coordination between Src Activity and Cell Protrusion in Microenvironment. Sci Rep 5: 12963.
- ZIMMERMANN A. (1926) Vergleichend-anatomische Untersuehungen fiber den Umfang, den Durehmesser und die Wanddieke einiger Arterienstämme bei Huftieren. Z Anat Entwickl Gesch **81**(5-6): 778–784.
- ZIMMERMANN K.W. (1923) *Der feinere Bau der Blutkapillaren*. Z Anat Entwickl Gesch **68**: 29–109.

## Publikationsverzeichnis

9. Doktorandensymposium & DRS Präsentationsseminar "Biomedical Sciences" : von Doktoranden für Doktoranden : 16. September 2016, Programm & Abstracts / Dahlem Research School (DRS), Freie Universität Berlin ; Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

Thema:

# Body mass and age dependency of the micro-morphological structure of equine distal limb arteries

A. Lorenz, O. Gemeinhardt, B. Hiebl, J. Plendl, H. Hünigen

10. Doktorandensymposium & DRS Präsentationsseminar "Biomedical Sciences" : von Doktoranden für Doktoranden : 22. September 2017, Programm & Abstracts / Dahlem Research School (DRS), Freie Universität Berlin ; Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

Thema:

The equine jugular vein: micromorphological structure of the endothelium A. Lorenz, O. Gemeinhardt, B. Hiebl, J. Plendl, H. Hünigen

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen besonderen Dank nachstehenden Personen entgegen bringen, ohne deren Mithilfe die Anfertigung dieser Promotionsschrift nicht zustande gekommen wäre:

Mein besonderer Dank gilt zunächst Frau Prof. Dr. Plendl, meiner Doktormutter, die mir die Möglichkeit gegeben hat noch während meines Studiums der Veterinärmedizin mit dieser Arbeit zu beginnen.

Ganz herzlich möchte ich mich insbesondere bei Frau Dr. Hana Hünigen und Herrn Dr. Ole Gemeinhardt für die großartige Unterstützung in den letzten 5 Jahren bedanken. Durch Ihre akribische und stets konstruktive Hilfe bei der Planung, Durchführung und Auswertung dieser Arbeit tragen Sie maßgeblich zum Gelingen und Fertigstellung dieser Arbeit bei.

Frau Monika Sachtleben danke ich für die stets herzliche und motivierende Art und ausgezeichnete Hilfe bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen.

Bei Frau Verena Holle und Frau Franziska Ermisch möchte ich mich für die ausdauernde und sehr gute Betreuung bei der Erstellung und Auswertung von elektronenmikroskopischen Präparaten bedanken.

Ein besonderer Dank gilt meinen Eltern Gerd und Meike Lorenz sowie meinem Bruder Martin, die mich sowohl in der schweren Zeit vor, als auch während und weiterhin nach meinem Studium sehr liebevoll und uneingeschränkt unterstützt haben. Ich danke Euch von ganzem Herzen für diesen sicheren Rückhalt in meinem Leben. Ohne Eure Unterstützung und Mithilfe wäre diese Arbeit wohl nicht fertiggestellt worden. Danken möchte ich an dieser Stelle auch meiner Freundin Franziska Reister, die mich durch das gesamte Studium begleitet hat und durch unzählige motivierende und aufbauende Gespräche einen maßgeblichen Teil zu dieser Arbeit beigetragen hat.

## Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

"Histomorphologische und ultrastrukturelle Untersuchungen an klinisch relevanten Blutgefäßen des Pferdes"

selbstständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt habe.

Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 25.08.2017

Andre Lorenz