

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 MATERIAL UND METHODEN

3.1.1 Anforderungen an die zu etablierende, neue Methode

Das erste Ziel dieser Arbeit war die Etablierung eines neuartigen Modells, welches die Visualisierung kleinster koronarer Mikrogefäße mit Durchmessern $< 30 \mu\text{m}$ unter Aufrechterhaltung der Gefäßfunktionen erstmals ermöglichte. Die Gefäße sollten im natürlichen Gewebe eingebettet sein. Das weitere Ziel war die Beurteilung der Regulationsmechanismen präkapillärer Arteriolen. Die Untersuchungen sollten am isolierten, durch Tetrodotoxin arretierten Herzen unter Kontrolle von wahlweise Perfusionsdruck, Fluss, Sauerstoffangebot oder Perfusatzusammensetzung durchführbar sein. Aufgrund der hohen Toxizität und der Kosten des Fugu-Toxins wurde ein miniaturisiertes Perfusionssystem mit geschlossenem Kreislauf angestrebt, welches nur eines Mindestmaßes an Perfusatvolumen bedurfte.

3.1.2 Prinzip der Methode

Es wurden folgende Versuchsansätze kombiniert:

3.1.2.1 Modifizierte Methodik isoliert perfundierter Herzen nach Langendorff

Oskar Langendorff beschrieb eine von ihm entwickelte, weltweit anerkannte Methode der Perfusion isolierter Säugetierherzen erstmalig im Jahr 1895. Sie trug wesentlich zu heute selbstverständlich erscheinenden Erkenntnissen der Herzfunktionen bei (20) und wird im Nachfolgenden in leichter Modifikation kurz dargestellt.

Durch eine Kanüle, die in den proximalen Abschnitt der Aorta ascendens eingebunden wird, wird Blut oder eine andere mit Sauerstoff angereicherte, die Organtätigkeit erhaltende Flüssigkeit herzwärts gepumpt. Infolge des retrograd gerichteten Perfusionsflusses schließen sich die Aortenklappen analog diastolischer Gegebenheiten in situ. Das Perfusat strömt durch die Herzkranzarterien in das koronare Gefäßsystem, gelangt über den Sinus coronarius in den rechten Vorhof und fließt nach Passage der rechten Kammer über einen Katheter im Truncus pulmonalis ab. Linker Vorhof und linke Kammer bleiben bis auf einen kleinen Perfusatanteil, der über die Thebesischen Venen direkt einfließt, weitgehend leer.

3.1.2.2 Arretierung des Herzens durch Tetrodotoxin

Tetrodotoxin (TTX) ist ein von Meeresbakterien wie *Alteromonas*, *Vibrio*- und *Shewanella*-Arten produziertes und akkumuliertes Gift, welches vor allem in Ovarien, Testes, Leber und Eingeweiden von Kugelfischen vorgefunden wird (24). Es ist ein stark hydrophiles Nicht-Protein-Gift, welches die Natriumkanäle an den Ranvierschen Schnürringen von außen blockiert (1) und somit die Depolarisation und Aktionspotentiale in Nervenzellen verhindert. In der Perfusatkonzentration von $50 \mu\text{mol/l}$ wirkt es selektiv auf herzeigene Muskelzellen (53). Das Herz wird arretiert, während die Reagibilität der glatten Gefäßmuskulatur unverändert bleibt.

3.1.2.3 Fluoreszenzmikroskopie

Während die gängige Lichtmikroskopie durch Lichtabsorption und -beugung Gewebestrukturen sichtbar macht, ist das Prinzip der Fluoreszenzmikroskopie ein grundsätzlich anderes: Ein im Fluoreszenzmikroskop betrachtetes, nicht fluoreszierendes Präparat erscheint im Gesichtsfeld mehr oder weniger dunkel. Fluoreszierende Anteile im Gesichtsfeld leuchten hingegen nach Bestrahlung mit ultraviolettem, blauem oder grünem Anregungslicht auf. Es ist das Ziel, durch die Auswahl einer geeigneten Lichtquelle und Interposition passender Filter eine möglichst starke Fluoreszenz im mikroskopischen Bild zu erzeugen. Dabei ist eine auf das Präparat abgestimmte Kombination von Anregungsstrahlung und Sperrfiltern für eine optimale Visualisierung wesentlich.

3.1.3 Perfusionsapparatur

Vor jedem Versuch wurde eine Krebs-Henseleit-Lösung (KHL, Tab. 2) unter Verwendung von CaCl_2 , KH_2PO_4 , KCl, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , D(+)-Glucose-Monohydrat, NaCl (Merck, Darmstadt, Deutschland), Pyruvat, D-Mannitol und EDTA (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) und Insulin (Hoechst, Frankfurt a.M., Deutschland) zum Zwecke der Perfusion frisch angesetzt.

Tab. 2: Inhaltsstoffe der Krebs-Henseleit-Lösung für Ratten

Substanz	Molekular- masse (g/mol)	Konzentration in der KHL (mmol/l)
CaCl_2	110,99	1,25
KH_2PO_4	136,09	1,2
Pyruvat	110	2
KCl	74,55	3,8
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	203,3	1,2
NaHCO_3	84,01	15,5
Glukose	198,17	11,5
Mannitol	182,2	16
NaCl	58,44	123,4
EDTA	292,2	0,05
Insulin		5 IE

Die Perfusionslösung wurde in einem Vorratsbehälter bei 37 °C thermokonstant gehalten und über eine Schlauchpumpe (BVP ISM444, Ismatec, Glattbrugg, Schweiz) mit einem durch drei Rollen angetriebenen Pumpkopf (MASTERFLEX® L/S™, Cole-Parmer Instrument Co., Illinois, USA) in das speziell entwickelte Perfusionsystem (Abb. 4) mit geringem Perfusionsvolumen gepumpt. Dort durchströmte sie einen Mini-Oxygenator (Medtronic, Maastricht, Niederlande), in dem sie mit einem 37 °C warmen, angefeuchteten Gemisch aus 97 Vol. % O₂ und 3 Vol. % CO₂ begast wurde. Dies garantierte eine optimale Anwärmung und Befeuchtung des Gasmisches und verhinderte die Konzentrierung des Perfusats durch Wasserverdunstung über die Versuchsdauer. Über einen Filter von 5 µm Porengröße (Minisart, Satorius, Göttingen, Deutschland) und zwei Wärmeaustauscher gelangte das Perfusat zur aortalen Kanüle.

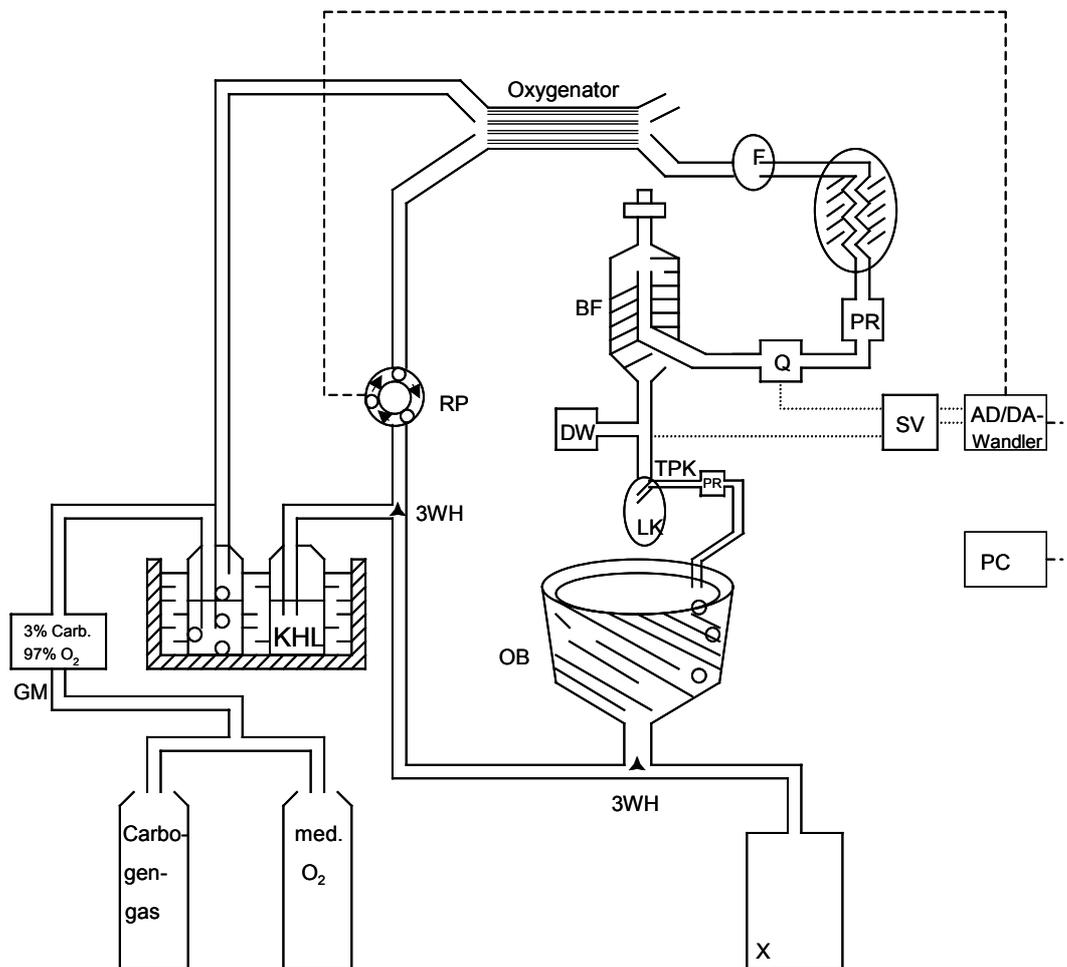


Abb. 4: Perfusionsapparat

BF Blasenfalle, **DW** Druckwandler, **F** Filter, **GM** Gasmischer, **KHL** Krebs-Henseleit-Lösung, **LK** linke Herzkammer, **OB** Organbad, **PC** Personal Computer, **PR** Probenentnahmestelle, **RP** Rollerpumpe, **TPK** Truncus pulmonalis Katheter, **Q** Flusssonde, **SV** Signalverstärker, **X** Sammelgefäß, **3WH** Dreiwegehahn

Zwischen den Wärmeaustauschern befand sich über einen sich nach Einstich wieder selbst verschliessenden Schlauchabschnitt (isoliertes Zuspritzstück aus penta[®]DEFLU, Purimex GmbH, Wesel, Deutschland) eine Möglichkeit zur Probenentnahme des arteriellen Perfusats. Über einen identischen Schlauchabschnitt im Katheter des Truncus pulmonalis wurden in den Vorversuchen Proben dem venösen Effluat entnommen. Auf letztere Analyse wurde in den Mikroskopieversuchen verzichtet, um Bewegungen des Organs und somit des mikroskopischen Bildes vorzubeugen. Die Perfusatanalyse hinsichtlich pH-Wert, pO₂ und pCO₂ erfolgte über das Blutgas- und Notfallanalysesystem Rapidlab[™] 348 (Bayer Vital GmbH, Fernwald, Deutschland). Über eine in das Kreislaufsystem integrierte Flusssonde (Transit time flowmeter; Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Deutschland) wurde der koronare Gesamtfluss bestimmt. Ein direkt vor der aortalen Kanüle platzierter Druckwandler (Viggo-Spectramed DT-XX, Ohmeda, Erlangen) maß den Perfusionsdruck. Beide Messgeräte wurden vor jedem Experiment kalibriert.

Grundsätzlich bestand die Möglichkeit, die Förderleistung der Rollerpumpe manuell einzustellen oder sie über das Computerprogramm DasyLab (Data Acquisition System Laboratory, Mönchengladbach, Deutschland) zu steuern. Die Signalverstärker für den Perfusionsdruck und für die Flussrate (DC Bridge Amplifier und Transit time flowmeter; Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Deutschland) waren über einen AD/DA-Wandler, welcher direkt mit der Pumpe in Kontakt stand, mit dem Computerprogramm Dasy-Lab verbunden.

Es gab zwei Wege, die das Perfusat nach Passieren des Organs nehmen konnte. Abhängig vom Versuchsprotokoll, d.h. davon, ob Arteriolen oder Venolen untersucht werden sollten, wurde einer der das Perfusat zurück zum Organbad leitenden Schläuche abgeklemmt. Diese Variationsmöglichkeit war nötig, da generell in der Rezirkulation lediglich mit 20 ml KHL perfundiert wurde, das Schlauchsystem dementsprechend möglichst kurz gehalten werden musste, ein längerer Abschnitt für die Möglichkeit eines venösen Versuchs mit Änderung der Höhe der dem Organ nachgeschalteten Wassersäule aber notwendig war. In diesem Fall wurde ab einer Höhe von 10 cm Wassersäule der Effluatweg, wie in Abbildung 5 dargestellt verwendet.

Als Schläuche für das Kreislaufsystem kamen Perfusorleitungen (Original Perfusor[®]-Leitung PE, B.Braun, Melsungen, Deutschland) zur Anwendung. Die dem Effluattrichter nachgeschalteten Abschnitte Richtung Organbad und das sich dem Dreiwegehahn (Discofix[®], B.Braun, Melsungen, Deutschland) unterhalb des Organbades in Richtung Sammelgefäß anschließende Stück wurden durch Silikonschläuche (Silikon Standardschlauch 1,6 X 1,6 mm, Ismatech Laboratoriumstechnik GmbH, Wertheim-Mondfeld, Deutschland) überbrückt.

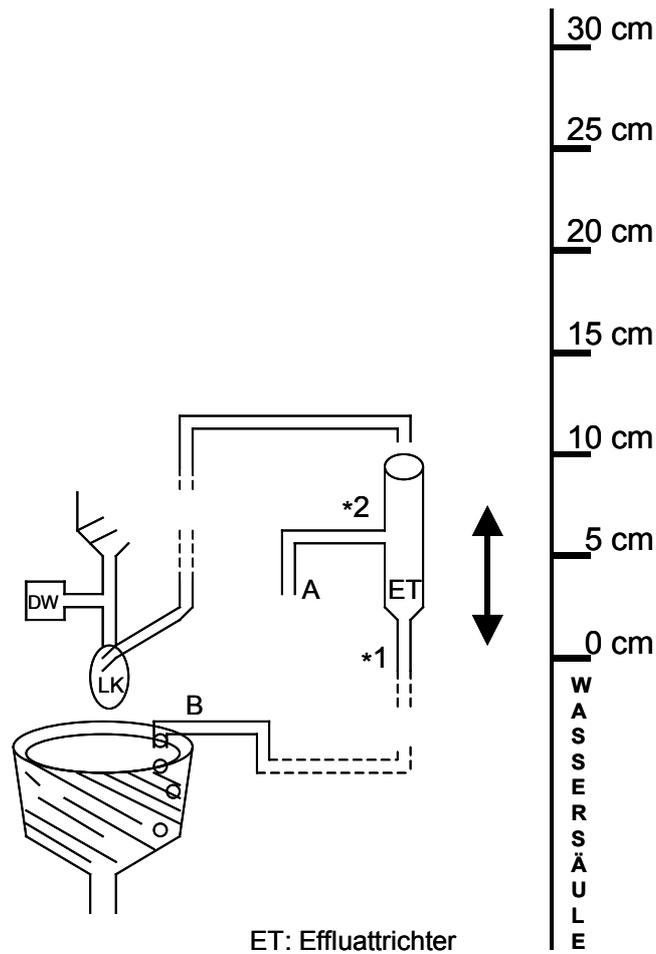


Abb. 5: Detaildarstellung aus Abbildung 4; es sind zwei mögliche Effluatwege dargestellt

- *1 Verschluss bei Arteriolenversuchen/ das Effluat fließt über den Ausgang A zurück in das Organbad/ dazu wird Ausgang A in das Organbad gehängt
- *2 Verschluss bei Venolenversuchen ab 10 cm Wassersäule/ das Effluat fließt über den Ausgang B zurück in das Organbad

3.1.4 Mikroskopischer Aufbau und Auflichtfluoreszenzmikroskopie (Epiillumination)

Zur Beobachtung terminaler Gefäßbetten im Epikard diente ein modifiziertes, um 90° gekipptes Mikroskop (Axiotech^{vario}100HD, Zeiss, Jena, Deutschland), (Abb. 6). Das Perfusionssystem wurde zu Beginn der Mikroskopierphase des Experimentes auf einen computer-gesteuerten Mikroskoptisch verbracht. Über ein Softwareprogramm (Lab VIEWTM5.1, National Instruments Co., Austin, USA) war es möglich, seine Position in zwei Ebenen, sowie die des Mikroskops in seiner Höhe, mikrometergenau zu variieren. Die Koordinaten konnten online verfolgt werden und waren in allen drei Ebenen jederzeit reproduzierbar.

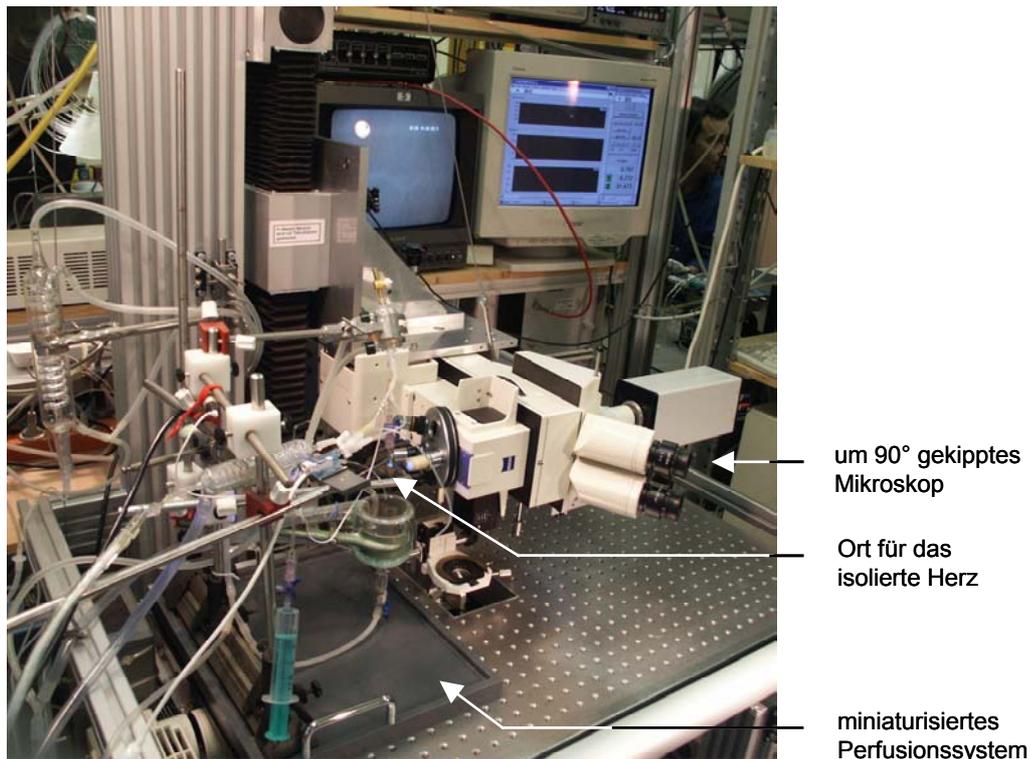


Abb. 6: Experimenteller Aufbau mit miniaturisiertem Kreislaufsystem, computer-kontrolliertem Mikroskoptisch und um 90° gekipptem Mikroskop.

Dem Perfusat wurde nach Arretierung des Herzens mittels Tetrodotoxin (Calbiochem-Novabiochem Corp., San Diego, USA) Fluoresceinisothiozyanat-Dextran (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) hinzugefügt, um einen deutlichen Kontrast zwischen Gefäßen und umgebendem Gewebe hervorzurufen.

Optischer Aufbau der Fluoreszenzmikroskopie

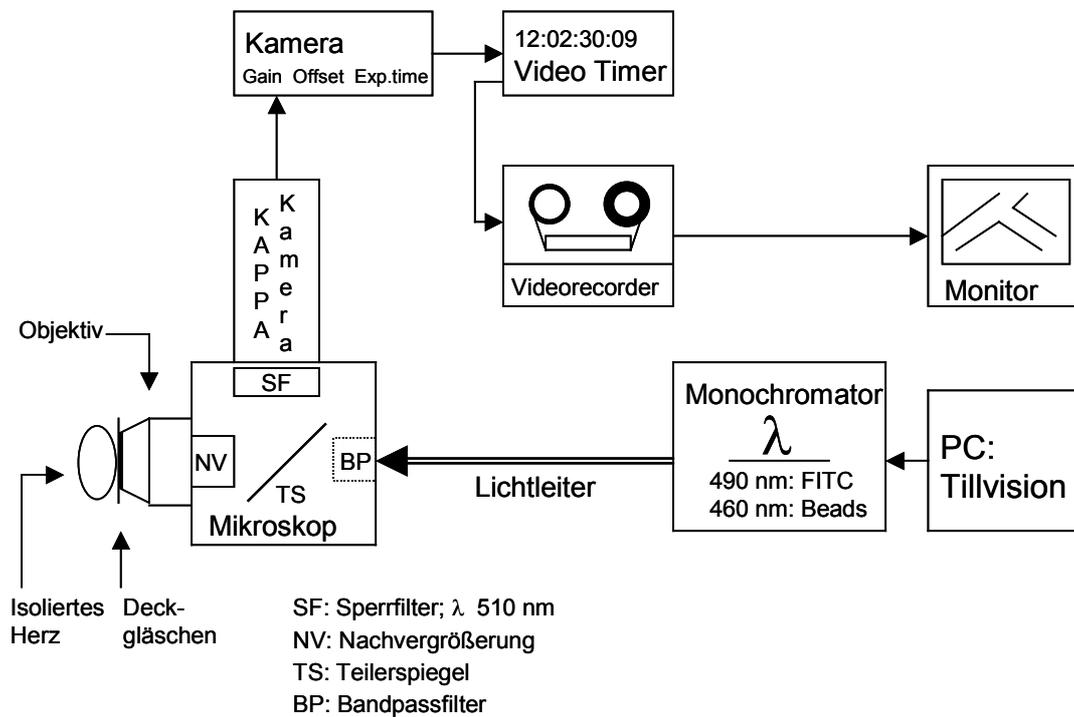


Abb. 7: Schematische Darstellung des Aufbaus zur Fluoreszenzmikroskopie

Der optische Aufbau der Mikroskopie ist in Abbildung 7 dargestellt. Die Auflichtbeleuchtung erfolgte über einen Lichtleiter. Dessen geführtes Licht wurde für die Fluoreszenzmikroskopie mit FITC-Dextran auf eine Anregungswellenlänge von exakt 490 nm eingestellt. Dies geschah mittels eines speziellen Softwareprogramms und eines Monochromators (Tillvision bzw. Polychrome 2, T.I.L.L. Photonics GmbH, Martinsried, Deutschland). Das Licht passierte den Bandpassfilter (Exzitationswellenlänge: 450 nm bis 490 nm) und den Teilerspiegel (Trennwellenlänge: 510 nm), und das 20x bzw. 40x Immersionsobjektiv (Achromplan 440049-9800 Zeiss, Jena, Deutschland; UAPO40XW2/340, Olympus Optical Co., Hamburg, Deutschland) konzentrierte das Erregerlicht im Objektfeld. Der Herzoberfläche lag ein Deckgläschen leicht an. Als Immersionsflüssigkeit zwischen Objektiv und Deckgläschen diente Ultraschallgel bzw. ein Tropfen destilliertes Wasser (20x bzw. 40x Objektiv). Emittedes Fluoreszenzlicht wurde in umgekehrter Richtung vom Objektiv gesammelt, vom Teilerspiegel in Richtung Sperrfilter (Langpassfilter mit einer Emissionswellenlänge von > 520 nm) abgelenkt und zur Kamera (CF8/4 FMC(c), KAPPA opto-electronics GmbH, Gleichen, Deutschland) geleitet (Filter set 09488009-0000, Zeiss, Jena, Deutschland). Von dort aus gelangten die Bilder der Herzoberfläche über einen Videozeitgenerator (VTG-33, For-A Company, Tokio, Japan) zum Videorekorder (DVCAM, Sony[®], Japan) und auf den Videomonitor (WV-BM1410, Panasonic, Osaka, Japan). Um das Herz vor zu hoher Lichtenergie zu schützen, wurde die Beleuchtung des Präparates zwischen den Videophasen abgeschaltet.

Die Einteilung in Arteriolen und Venolen erfolgte aufgrund der Gefäßmorphologie und der Flussrichtung 1 µm kleiner, fluoreszierender Mikrobeads (Fluoresbrite™ YG microspheres, Polysciences, Warrington, USA), die im Bolus injiziert wurden. Eine Anregungswellenlänge von 460 nm ermöglichte optimale Beobachtungen.



Abb. 8: Identifizierung koronarer Arteriolen anhand der Flussrichtung einzelner, fluoreszierender Mikrobeads.

Oberstes Ziel war das Auffinden eines oberflächlich verlaufenden, terminalen Arteriolenbaums, dessen Gefäßwände deutlich fokussierbar waren. Gelang dies nicht, dienten Venolen, die häufiger aufzufinden sind, alternativen Untersuchungen. Die Bilder in Abbildung 8 zeigen eine sich verzweigende Arteriole. Es wird die Bewegung eines Mikrobeads von einer größeren Arteriole in einen kleineren Seitenast in aufeinanderfolgenden Video-Zeitfenstern deutlich.

3.1.4.1 Etablierung der Mikroskopie

Die ersten zehn Mikroskopieversuche dienten der Optimierung der Einstellungen des optischen Aufbaus und der Vorbereitung des neuen Modells auf künftige Mikroskopieversuche mit TTX-arretierten Herzen. Dazu wurden die Herzen zunächst durch eine hyperkalämische Krebs-Henseleit-Lösung arretiert. Als optimale Anregungswellenlänge für die Darstellung mit FITC-Dextran wurden 490 nm ermittelt, für die fluoreszierenden Mikrobeads 460 nm.

Weitere sechs Mikroskopieversuche dienten der Beurteilung der Gefäßdarstellungen durch die verschiedenen Objektive. Wenn Arteriolen sehr oberflächlich im Epikard verliefen, ermöglichte das 20x-Immersionsobjektiv eine gute, differenzierte Beurteilung derselben. Das 40x-Immersionsobjektiv ließ die Untersuchung auch tiefer gelegener Schichten des Epikards zu. Schwieriger gestaltete sich dabei die Fokussierung und das Wiederauffinden des zu untersuchenden Gefäßgebietes. Letzteres war besonders in Versuchen, in denen der Perfusions-

druck verändert wurde und der Antrieb der Pumpenrollen zu leichten Bildverschiebungen führen konnte, ein Nachteil. In den sich anschließenden Versuchen kamen beide Objektive zur Anwendung.

3.1.5 Bestimmung der Gefäßdurchmesser

Abbildung 9 zeigt die intravitalmikroskopische Aufnahme einer Arteriole aus dem Epikard einer Ratte. Im Anschluss an das Experiment wurde anhand der Videosequenzen eine Skizze der zu beurteilenden Arteriolen oder Venen angefertigt. Es wurden Messpunkte festgelegt und eingezeichnet, an denen während der einzelnen Versuchsphasen die Durchmesser ermittelt werden konnten. Durch einen eigens im Institut entwickelten Kontrastverstärker konnte die Visualisierung der zu beobachtenden Gefäßabschnitte verbessert werden. Es erfolgte die Auswertung der Videoaufzeichnungen mittels eines computer-gestützten Bildanalysesystems (65). Eine mit einem Videorecorder (DVCAM, Sony[®], Japan) und Videomonitor (PVM-146E, Sony, Japan) verbundene Videobild-Prozessorkarte (FG 100 AT, Imaging Technology Inc., Woburn, USA) in einem Personal Computer digitalisierte das Bild mit einer Auflösung von 512 x 512 Bildelementpunkten (Pixel) und legte diese Information im Bildspeicher ab. Den Durchmesser- und Distanzmessungen diente eine in das Bild einblendbare und in Lage und Länge interaktiv steuerbare Cursorlinie. Sie wurde senkrecht zur Gefäßlängsachse zwischen die Endothelzellen der beiden gegenüberliegenden Gefäßwände definiert (79). Die Durchmesser wurden jeweils dreimal an identischer Stelle bestimmt und gemittelt.

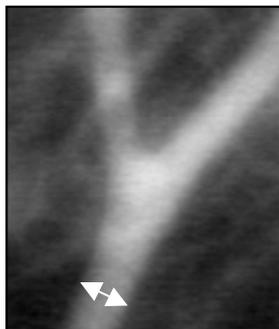


Abb. 9: Intravitalmikroskopische Aufnahme einer Arteriole aus dem Epikard der Ratte zur Messung des inneren Gefäßdurchmessers.

Allen Auswertungen ging folgende Kalibrierung voraus: zunächst erfolgte die Aufzeichnung der Skala eines Objektträgers (mehrere 100 μm) pro Objektiv (20x- und 40x-) bei verschiedenen Nachvergrößerungen sowohl in senkrechter als auch in horizontaler Ausrichtung. In die Skala der eingelesebenen Videobilder wurde je eine senkrechte Cursorlinie mit einer Länge von 100 μm platziert. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt, um die gemessenen Werte anschließend zu mitteln. Anhand der Distanz zwischen den beiden Endpunkten und ihrer entsprechenden Bildelementpunktezahl (Pixel) sowie eines berechneten Korrekturfaktors, die vor jeder Versuchsauswertung spezifisch für das verwendete Objektiv und die eingestellte Nachvergrößerung in das Auswertesystem eingegeben wurden, konnten die Entfernungen aus Bildelementpunkten in μm des Videobildes umgerechnet werden.

3.1.6 Gemessene und berechnete Parameter

- Perfusionsdruck, PP (mmHg), (mmHg x 0,133 = kPa)
 - pulsatil; gemittelt über 1min
- Koronarfluss, Q (ml/min)
 - pulsatil; gemittelt über 10 s und 1 min
- pH-Wert
- O₂- Partialdruck, pO₂ (mmHg)
- CO₂- Partialdruck, pCO₂ (mmHg)
- Temperatur (°C)

Aus der gemessenen Sauerstoffspannung im arteriellen Perfusat und der Flussrate ließ sich ermitteln:

- O₂ - Angebot, [$\mu\text{l} \times \text{min}^{-1}$]
arterieller pO₂ x O₂-Löslichkeit [$24\mu\text{l} \times \text{ml}_{\text{KHL}}^{-1} \times 760\text{mmHg}^{-1}$] x Fluss

Prozentuale Durchmesseränderungen der Einzelgefäße wurden wie folgt berechnet:

$$D_{\text{Gefäß}} (\Delta\%) = \left(\frac{D_{\text{Stimulus}} - D_{\text{Ausgang}}}{D_{\text{Ausgang}}} \right) \cdot 100$$

Prozentuale Widerstandsänderungen der Einzelgefäße wurden durch folgende Formel, die vom Hagen-Poiseuille-Gesetz abgeleitet ist (30), ermittelt:

$$R_{\text{Gefäß}} (\Delta\%) = \left(\frac{D_{\text{Ausgang}}^4}{D_{\text{Stimulus}}^4} - 1 \right) \cdot 100$$

Der Gesamtwiderstand des einzelnen Herzens wurde mittels des Ohm'schen-Gesetzes berechnet:

$$R_{\text{Gesamt}} = \frac{\text{Perfusionsdruck}(PP)}{\text{Koronarfluss}(Q)}$$

3.1.7 Statistik

Um den Einfluss der intraindividuellen Variabilität zu verringern, fanden die Experimente unter standardisierten Bedingungen statt. Die interindividuelle Variabilität wurde durch die Verwendung gleichmäßig gewichtiger, männlicher, im eigenen Tierhaus gezüchteter und standardmäßig versorgter Tiere minimiert.

Die Speicherung des Datenmaterials erfolgte jeweils in einer Excel-Tabelle (MS Office 2000, Microsoft Corporation, USA), und die Analyse fand anhand des Programmes Sigma-Stat[®] für Windows (SPSS Inc., Chicago, USA) statt. Die Graphiken wurden mittels Sigma-Plot[®] für Windows 95/98/2000 (SPSS Inc., Chicago, USA) erstellt.

Zusammengefasste, auf Durchmesserbestimmungen basierende Daten werden jeweils als Median mit Perzentilen (5, 25, 75, 95 %) in den Abbildungen dargestellt. Für gruppenübergreifende Beurteilungen der prozentualen Durchmesser- und Gefäßwiderstandsänderungen wurde der U-Test, für Beurteilungen innerhalb einer Gruppe der Wilcoxon-Test herangezogen. Zum Vergleich der Flussverläufe wurde die Steigung der Druck-Flussbeziehung (b_1) im Mittel der jeweiligen Gruppe berechnet und durch den t-Test verglichen.

Daten zu Fluss, Perfusionsdruck, pH-Wert, pO_2 , pCO_2 , O_2 -Angebot, O_2 -Verbrauch, O_2 -Extraktion und Körpermasse werden als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}) und Standardfehler des arithmetischen Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) angegeben. Dies soll einer besseren Vergleichbarkeit mit themenspezifischer Literatur dienen, in der hauptsächlich diese Art der Angabe erfolgt.

Die Untersuchung durch statistische Testverfahren diene nicht der Feststellung von Signifikanzen, die der Verallgemeinerung dienen. Sie wurden zur generell deskriptiven Betrachtung der in der Gefäßauswahl innerhalb und zwischen den einzelnen Gruppen beobachteten Unterschiede herangezogen. Diese explorative Arbeit soll der Generierung weiterer Hypothesen dienen.

3.1.8 Versuchstiere

Die tierexperimentellen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit waren durch das Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin genehmigt worden. Sie wurden in der Zeit von September 2000 bis Mai 2002 am Institut für Physiologie der medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin durchgeführt.

Da sich die Präparation und die Isolation von Meerschweinchenherzen relativ einfach gestaltet, wurden selbige in initialen 9 Vorversuchen zur Überprüfung des Modells und zur Präparationsübung verwendet. Als Versuchstiere dienten im Folgenden insgesamt 119 männliche Sprague-Dawley Ratten, die im eigenen Tierhaus gezüchtet und bis zum jeweiligen Versuch entsprechend den Richtlinien des deutschen Tierschutzgesetzes (BGBl.I) gehalten wurden. Ihre mittlere Körpermasse betrug 280 g. 62 Ratten wurden für die Etablierung und die Vorversuche (VV) verwendet. 57 isolierte Rattenherzen dienten, beginnend mit dem ersten auswertbaren Mikroskopieversuch, der mikroskopischen Untersuchung arteriöler und venöser Mikrogefäße.

3.1.9 Narkose und Präparation

Nach Perfusatzubereitung wurden 500 ml KHL in einen Erlenmeyerkolben verbracht und in einem eisgefüllten Isolationsgefäß auf 4 °C herabgekühlt. 10 Minuten vor der Präparation begann die Oxygenierung der kühlen KHL mittels eines Gasverteilers. Nach fünf Minuten erhielten die Versuchstiere eine intraperitoneale Injektion von 0,1 ml bis 0,2 ml Ketavet pro 100 g Körpermasse (Pharmacia & Upjohn GmbH, Erlangen, Deutschland) und 1000 IE Heparin (B. Braun, Melsungen, Deutschland), die innerhalb weniger Minuten ihre narkotische Wirkung entfaltete. Zur späteren Befestigung auf einem Präparationstisch wurden Leukosilkstreifen (Beiersdorf AG, Hamburg, Deutschland) um die vorderen Fesselgelenke gewunden, um die Tiere nach der Tötung mittels eines kleinen Dekapitators (Harvard, Marktheidenfeld, Deutschland) in Rückenlage hängend auf einem um etwa 60° angeschrägten Präparationstisch zu fixieren. Nach der Durchtrennung von Fell und Unterhaut entlang der Linea alba bis einschließlich Halsregion konnten selbige durch einen manuellen Seitwärtszug von der Muskulatur getrennt werden. Die Bauchhöhle wurde mittig eröffnet, das Zwerchfell nahe der Thoraxwand abpräpariert und sodann Brustbein und Rippen entfernt. Zur externen Kühlung gelangte die 4 °C kalte KHL über einen Infusionsschlauch (penta[®]DEFLU, Purimex GmbH, Wesel, Deutschland), einen Dreiwegehahn und die Aortenkanüle durch hydrostatischen Druck auf das Herz. Der Entfernung des Thymus schloss sich die Inzision und Kanülierung der Aorta an. Dabei war die Gewährleistung einer blasenfreien Perfusion eine Voraussetzung für ein funktionstüchtiges Gefäßnetzwerk. Unmittelbar nach Kanülierung wurde ein kleiner Schnitt in den Truncus pulmonalis gesetzt, um das Perfusat nach Passage des koronaren Gefäßsystems abfließen zu lassen. Es schloss sich die Ligatur der linken vorderen Hohlvene herzwärts der Einmündung der Vena azygos (und bei arteriölen Versuchsgruppen mit Druckänderungen die Ligatur des linken Herzohrs), der Vv. pulmonales und der rechten vorderen und der hinteren Hohlvene an. Die Lungenflügel wurden verworfen. Nach Isolation des Herzens erfolgte der luftblasenfreie, sofortige Anschluss desselben über die Aortenkanüle und den Dreiwegehahn an die Perfusionsapparatur, die während des Präparationsverlaufs eingeschaltet war. Die Phase zwischen Dekapitation und Einbringen in das Perfusionssystem dauerte maximal zehn Minuten. Die soweit manuelle Pumpensteuerung wurde sofort auf Computersteuerung umgeschaltet, um den vorgegebenen Perfusionsdruck von 80 mmHg zu erreichen. Regelschwankungen der computergesteuerten Rollerpumpe konnten durch Anpassung der Minima und Maxima begrenzt werden. Der Integration des Organs in das Perfusionsmodell schloss sich die Kanülierung des Truncus pulmonalis an.

3.1.10 Beurteilung der Stabilität des Modells

Voraussetzung für die Verwendung eines ex vivo Modells zur Beurteilung physiologischer bzw. pathophysiologischer Vorgänge ist die ausreichende Stabilität der Präparation über den gesamten Versuchszeitraum, damit die beobachteten Änderungen tatsächlich auf die gezielt gesetzten Stimuli zurückgeführt werden können. Dazu musste in dieser Studie am isoliert perfundierten Herzen für den Zeitraum des Versuches eine ausreichende Stabilität der Präparation unter den vorgegebenen Bedingungen in Bezug auf myokardiale und vaskuläre Funktionen gewährleistet sein. Daher wurde in ersten Versuchen zur Bestimmung der Leistung des linken Ventrikels ein flexibler, aus Küchenfolie erstellter Ballon in die linke Herzkammer eingebracht und soweit mit 0,9%iger Kochsalzlösung gefüllt, dass er den gesamten Ventrikel ausfüllte. Über einen Druckwandler (Viggo-Spectramed DT-XX, Ohmeda, Erlangen) ließ sich die isovolumetrische Druckkurve auf dem Bildschirm beobachten. Die Füllung des Ballons wurde so reguliert, dass kontinuierlich ein definierter, enddiastolischer, linksventri-

kulärer Druck von etwa 5 mmHg eingestellt war. Dies sorgte für eine ausreichende Vorlast und somit eine optimale Leistungsfähigkeit der linken Herzkammer (78). Gleichzeitig diente die Beobachtung des Flussverlaufes in ersten Versuchen ohne Stimulus über eine Zeit von mehreren Stunden Rezirkulation der Kontrolle des neuen Perfusionssystems. Es wurde ein Zeitraum von 120 Minuten mit stabilen Funktionswerten ermittelt.

3.1.11 VORVERSUCHE

In den Vorversuchen fand die Bestimmung des möglichen Regulationsspektrums der Herzen nach Setzen eines bestimmten Stimulus statt. Dazu wurden fünf Gruppen schlagender Herzen nach anfänglicher Perfusion bei offenem System (vgl. Kap. 3.1.12.1) während der Rezirkulation untersucht. Dies diente unter anderem der Festlegung der Druckstufen in der sich anschließenden, ersten Hauptuntersuchung. Pro Stimulus wurde jeweils eine Phase von fünf Minuten zusätzlich für die Mikroskopie in späteren Versuchen einkalkuliert, um in der Gesamtdauer der Rezirkulationsphase die ermittelte Stabilität von 120 Minuten nicht zu überschreiten.

Die kontinuierliche Angleichung des pH-Wertes auf 7,4 durch Justierung des CO₂-Gehaltes konnte während der Vorversuche zu unterschiedlichen Protokollzeitpunkten erprobt und verfeinert werden. Anhand der gemessenen Sauerstoffspannung in Perfusat und koronarvenösem Effluat war in den Vorversuchen auch die Ermittlung von Sauerstoffverbrauch und Sauerstoffextraktion nach folgenden Formeln möglich:

- O₂ - Verbrauch, [$\mu\text{l} \times \text{min}^{-1}$]
(arterieller pO₂ - venöser pO₂) x O₂-Löslichkeit [$24\mu\text{l} \times \text{ml}_{\text{KHL}}^{-1} \times 760\text{mmHg}^{-1}$] x Fluss
- O₂ - Extraktion, [%]
(arterieller pO₂ - venöser pO₂) x arterieller pO₂ x 100

Um den Koronarfluss, das O₂-Angebot und den O₂-Verbrauch pro Gramm Herzmasse zu berechnen, wurden die Organe im Anschluss an die Versuche bei 60 °C getrocknet und gewogen. Die mittlere Trockenherzmasse lag bei 0,17 g. In einem Vorversuch erfolgte die Bestimmung analoger Werte des durch Tetrodotoxin arretierten Herzens.

3.1.11.1 Änderungen des Perfusionsdruckes

In ersten sechs Versuchen wurde ein maximales Regulationsspektrum isolierter Herzen auf Perfusionsdrücke zwischen 40 mmHg und 140 mmHg ermittelt. Der Perfusionsdruck von 80 mmHg galt als Kontrolldruck. In der folgenden Vorversuchsgruppe wurde der Perfusionsdruck für jeweils 15 Minuten auf 80, 60, 40, 100, 120 und 140 mmHg eingestellt. Die Bestimmung der Ist-Perfusionsdrücke und Flussdaten pro Versuch fand durch Mittelung der Minuten 6 bis 10 nach Einstellung auf einen neuen Perfusionsdruck statt. Zu diesem Zeitpunkt war die Stabilität der Parameter bei myogener Reaktion zu erwarten. Im Anschluss an die Druckänderungen wurde in dieser Gruppe der Perfusionsdruck erneut auf den Ausgangswert von 80 mmHg eingestellt.

3.1.11.2 Änderungen des Perfusionsdruckes nach Arretierung durch Tetrodotoxin

In einem Vorversuch wurde das Herz analog zu zukünftigen Mikroskopieversuchen während der Rezirkulation arretiert. Anschließend wurden die Perfusionsdrücke von dem Kontrolldruck von 80mmHg ausgehend für jeweils 15 Minuten auf 60, 40, 100, 120 und 140 mmHg eingestellt. Eine zusätzliche Datenbestimmung (im Vergleich zu den dargestellten Vorversuchen mit Druckänderungen) erfolgte nach 45 Minuten Rezirkulation bei einem PP von 80 mmHg.

3.1.11.3 Änderungen des Perfusionsdruckes nach Maximaldilatation durch Dipyridamol

Dipyridamol kommt in der Klinik bei Herzdurchblutungsstörungen zur Koronardilatation und Steigerung des Sauerstoff- und Substratangebotes an das Herz zur Anwendung. In drei initialen Vorversuchen wurde die Konzentration von Dipyridamol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland), die zur maximalen Dilatation der koronaren Gefäße führt, durch die Erstellung einer Dosis-Wirkungsbeziehung bestimmt. In späteren Hauptversuchen sollten die Auswirkungen von Perfusionsdruckänderungen auf arterioläre Gefäßdurchmesser während maximaler Dilatation untersucht werden.

3.1.11.4 Abhängigkeit des Flusses von der Gewebeoxygenation

Es sollten reproduzierbare Oxygenierungsstufen des Perfusats erstellt werden, um im Folgenden das metabolische Regulationsspektrum der Herzen umfassend widerzuspiegeln.

3.1.11.5 Dosisabhängige Flusssteigerung durch Adenosin

Der Metabolit des Adenosintriphosphat-Abbaus Adenosin wirkt im Rahmen der metabolischen Reaktion vasodilatierend. Dies verursacht eine Flusssteigerung bis zu einem bestimmten Maximum, dem sich nach Metabolisierung des Adenosins die Rückkehr des Flusses auf den Ausgangswert anschließt. Die Vorversuche dienten der Bestimmung eines geeigneten Konzentrationsbereiches, der das Regulationsspektrum der Gefäße umfassend widerspiegelt, und der Ermittlung des Zeitpunktes des maximalen Flusses nach Adenosinverabreichung pro Konzentrationsstufe, um die Gefäße währenddessen in späteren Mikroskopieversuchen darzustellen. Der erste Versuch führte zur Abgrenzung eines effektiven Dosisbereichs. Im folgenden wurden die Auswirkungen vier verschiedener Konzentrationen von Adenosin auf den Koronarfluss innerhalb von 120 Minuten Rezirkulation beurteilt.

3.1.11.6 Dosisabhängige Flusssteigerung durch Nitroprussid-Natrium

Nitroprussid-Natrium findet beim Menschen als Antihypertensivum in der hypertensiven Krise therapeutischen Einsatz. Es wirkt relaxierend auf glatte Gefäßmuskelzellen. Zwei initiale Vorversuche dienten der Bestimmung eines geeigneten Konzentrationsbereichs, der das Regulationsspektrum der Gefäße umfassend widerspiegelt. Die Nitroprussid-Natrium Stammlösungen wurden täglich vor Versuchsbeginn angesetzt. Da der Wirkstoff lichtempfindlich ist, fanden die Versuche in abgedunkeltem Raum statt.

3.1.11.7 Kontrollversuche zu den Vorversuchsgruppen

Während der Kontrollversuche wurde der Perfusionsdruck konstant auf einen Sollwert von 80 mmHg eingestellt. Es wurden keine Änderungen hinsichtlich der Perfusatzusammensetzung vorgenommen. Diese Untersuchungen dienten der Überprüfung zeitlicher Einflüsse. Die Kontrollversuche fanden zum Zwecke der Randomisierung verstreut zwischen den zuvor genannten Vorversuchsgruppen statt.

3.1.12 HAUPTUNTERSUCHUNGEN

3.1.12.1 Versuchsablauf während der Organperfusion bei offenem System

Auf die Präparation des Herzens folgte in jedem Versuch eine 30-minütige Perfusionsphase ohne Rezirkulation bei einem Perfusionsdruck von 80 mmHg zur Stabilisierung. Zu Beginn und am Ende dieser Zeit wurde das Perfusat hinsichtlich pH-Wert, pO_2 und pCO_2 analysiert und der pH-Wert gegebenenfalls über eine Änderung der partiellen CO_2 -Spannung korrigiert. Ebenso wurden zu diesen Zeitpunkten der Perfusionsdruck und der Fluss verzeichnet. Nach 30 Minuten diente die minütliche Abtropfrate über die Außenfläche des Herzens als Indikator für die Dichte der Gefäßligaturen. Die Rate wurde auf maximal drei Tropfen pro Minute reduziert. Auf die Organperfusion bei offenem System folgte die Rezirkulation.

3.1.12.2 Versuchsablauf während der Rezirkulation

Nach anfänglicher Organperfusion bei offenem System, wurde letzteres zu einem Kreislauf geschlossen. Das Perfusativolumen betrug 20 ml KHL. TTX (50 $\mu\text{mol/l}$) wurde in das Organbad pipettiert, woraufhin das Herz innerhalb einer Minute arretiert war. In den sich anschließenden Minuten war der Perfusionsdruck über den Pumpregler und der pH-Wert zu korrigieren. Es folgte eine Stabilisierungsphase von 15 Minuten. Im Anschluss wurden Perfusionsdruck und Koronarfluss aufgezeichnet und eine pH- und Gasanalyse des Perfusats fand statt. Zur Kontrasterhöhung wurden 0,05 ml bis 0,1 ml von 0,5 % FITC-Dextran in das Organbad pipettiert und ein oberflächlich im Epikard eingebetteter, arteriöler Gefäßbaum mit Gefäßdurchmessern unter 30 μm wurde mäanderförmig aufgesucht. Gelingt dies nicht, dienen Venolen als Grundlage eines alternativen Versuchsprotokolls. Zum wiederholten Auffinden von Gefäßstellen dienten der Gefäßverlauf und markante Gewebestrukturen in der Umgebung sowie die dreidimensionalen Koordinaten, die mit der digitalen X/Y/Z-Positionskontrolle des Mikroskoptisches und des Mikroskops bestimmt wurden.

Nach der Videoaufzeichnung aller Beobachtungsstellen im Kontrollzustand erfolgte in einer festgelegten Reihenfolge die Beeinflussung durch versuchsgruppenspezifische Stimuli. Dies bedeutete im Wesentlichen eine Änderung der Bedingungen über 10 Minuten und eine sich anschließende Videosequenz. Zur Optimierung des Kontrastes zwischen Gefäßbaum und Umgebung war es zum Teil notwendig, FITC-Dextran Boli wahlweise manuell oder über einen Infusomaten (Perfusor[®] fm, B. Braun, Melsungen, Deutschland) kurz vor dem Herzen in das Perfusionssystem zu injizieren. Dabei war eine individuelle Dosierung erforderlich, um soviel wie nötig, aber so wenig wie möglich des Fluoreszenzfarbstoffes dem Perfusat zuzugeben. Ein Teil des Fluoreszenzfarbstoffes trat nach und nach in das umliegende Gewebe aus. Die Optimierungsmöglichkeit des Kontrastes sollte aber bis zum Ende der Untersuchungen gewährleistet werden.

Perfusionsdruck und Fluss wurden während der 10-minütigen Reaktionsphasen minütlich, schriftlich festgehalten. Zu jeder Videosequenz wurde das Perfusat hinsichtlich pH-Wert, O₂- und CO₂-Partialdruck kontrolliert. Änderungen des Perfusionsdruckes wurden jeweils über den PP-Sollwert im Programm Dasy-Lab eingestellt. Dabei war das Erreichen eines wenig pulsatilen Ist-Wertes über die Optimierung der Pumpreglereinstellung vorzunehmen.

In Abbildung 10 wird der Ablauf aller Hauptversuche schematisch dargestellt.

Als Vasodilatoren kamen Nitroprussid-Natrium 10 µmol/l (SNP; Sigma Chemical Co., St.Louis, USA) und Papaverin 200 µmol/l (PAP; Sigma Chemical Co., St.Louis, USA) zur Anwendung. Aus Nitroprussid-Natrium wird Stickstoffmonoxid freigesetzt, welches über die Stimulierung der Guanylatzyklase vasodilatierend wirkt (64). Papaverin führt durch Hemmung von Phosphodiesterasen zur myotropen Spasmolyse (70). Die Substanzen wurden nach der Videoaufzeichnung während eines Perfusionsdruckes von 80 mmHg in das Organbad pipettiert.

Zur Untersuchung eines venösen Gefäßabschnittes ersetzte nach Erreichen eines stabilen Flusswertes bei 80 mmHg Perfusionsdruck während der Rezirkulation die manuelle Pumpensteuerung die zuvor computergesteuerte Pumpenregulation. Dabei wurde die Pumpgeschwindigkeit so eingestellt, dass der zuvor ermittelte stabile Flusswert erreicht wurde. Änderungen des Druckes im rechten Vorhof erfolgten durch die stufenweise Erhöhung der im Anschluss an den Pulmonalkatheter befindlichen Wassersäule.

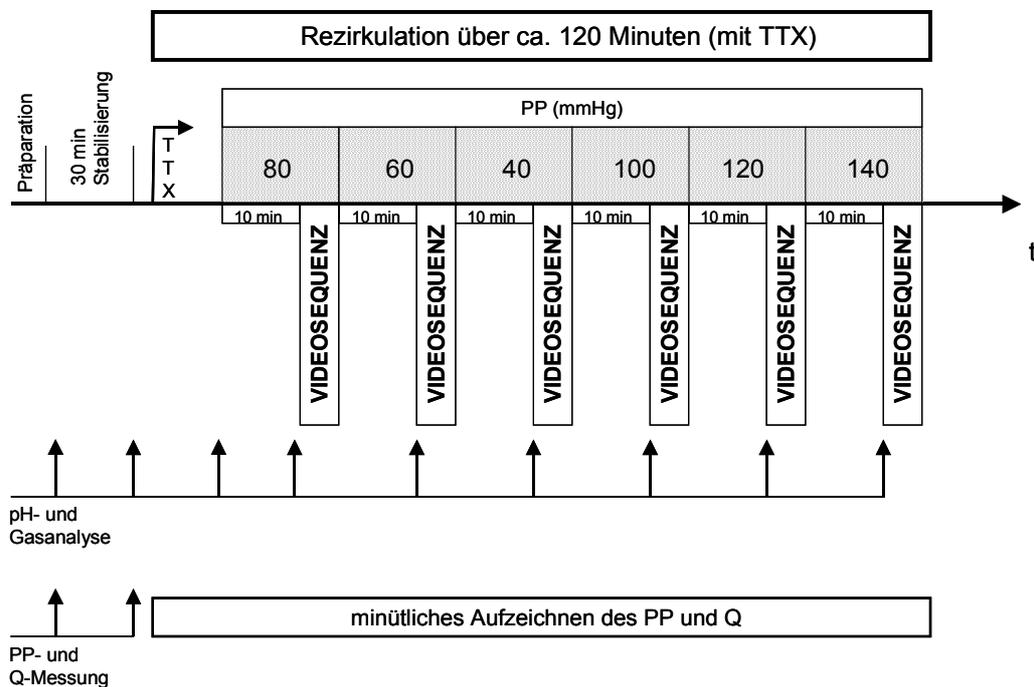


Abb. 10: Zugrundeliegendes Schema aller Hauptversuche, dargestellt anhand der Gruppe **PPArt**.

3.1.12.3 Versuchsgruppen zur ersten Hypothese (Arteriolen)

Zur Untersuchung der ersten Hypothese, dass eine Änderung des Perfusionsdrucks (PP) zu einer aktiven Durchmesserregulation terminaler, koronarer Arteriolen führt, wurden in einer ersten Versuchsreihe die Abhängigkeit der prozentualen Durchmesser- und Gefäßwiderstandsänderung einzelner Arteriolen von einer Verminderung bzw. Erhöhung des PP sowie der Flussverlauf untersucht.

Es wurden drei Gruppen in die Untersuchung aufgenommen:

In einer ersten Versuchsgruppe, **PPArt**, wurde das zu beobachtende Gefäßgebiet während der Rezirkulation im Anschluss an eine 10-minütige Perfusionsphase bei einem PP von 80 mmHg aufgezeichnet (Ausgangsdurchmesser). Danach wurde der Perfusionsdruck stufenweise verändert (60, 40, 100, 120 und 140 mmHg). Im Anschluss an eine jeweils 10-minütige Stabilisierungsphase nach jeder Druckänderung erfolgte die Aufzeichnung des zu beobachtenden Gefäßgebietes. Zwischen den Werten 40 mmHg und 100 mmHg fand eine stufenweise Erhöhung auf 60 mmHg und 80 mmHg statt, die jeweils 1 Minute andauerte. Auf der Grundlage der Ergebnisse der ersten Versuchsgruppe entstand eine zweite Gruppe, **PAP+SNP**, während der in die zu Versuchsgruppe 1 sonst identische Untersuchung nach der Rezirkulationsphase bei 80 mmHg eine zusätzliche, 10-minütige Versuchsphase eingeschoben wurde. Papaverin (200 $\mu\text{mol/l}$) und Nitroprussid-Natrium (10 $\mu\text{mol/l}$) riefen während derselben eine dauerhafte Maximaldilatation der Gefäße hervor (79). Die Durchmesser nach Dilatation dienten als Referenzwerte für die im Folgenden ermittelten, prozentualen Durchmesseränderungen. Bei der Kontrollgruppe, **PPArtKontrolle**, herrschte während der Rezirkulationsphase von 120 Minuten ein konstanter Perfusionsdruck von 80 mmHg. Die Videosequenzen wurden während zu der ersten Versuchsgruppe identischen Zeitpunkten durchgeführt. Die Gruppen **PPArt** und **PAP+SNP** umfassten je 6, die Gruppe **PPArtKontrolle** 3 Rattenherzen.

Zur Veranschaulichung ist der Versuchsablauf der einzelnen Gruppen graphisch in Abbildung 11 dargestellt.

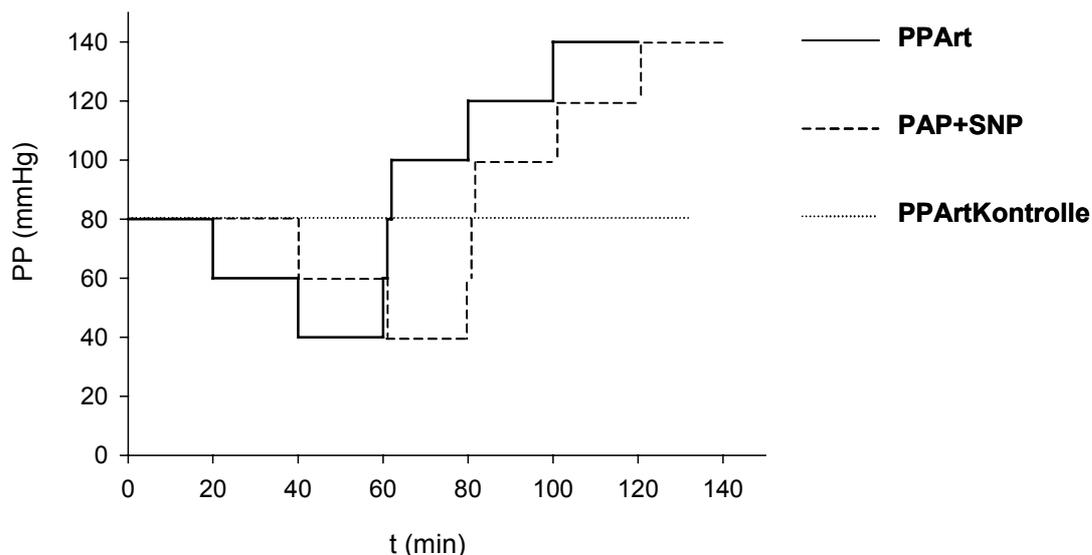


Abb. 11: Protokollschema während der Rezirkulation zur ersten Hypothese
(mmHg x 0,133 = kPa)

3.1.12.4 Versuchsgruppen zur zweiten Hypothese (Venolen)

Bedingt durch die Schwierigkeiten des Auffindens oberflächlicher Arteriolen von $\leq 30 \mu\text{m}$ im Epikard bzw. das seltene Auftreten derselben in oberflächlichen Gewebeschichten, mussten Überlegungen angestellt werden, interessante Fragestellungen hinsichtlich der regelmäßig auffindbaren Venolen zu beantworten. Damit sollte, nicht zuletzt aus Gründen des Tierschutzes, eine sinnvolle Verwertung dieser bereits präparierten Herzen erreicht werden. Die daraufhin entwickelte zweite Hypothese besagte, dass die Erhöhung des Druckes des rechten Vorhofes (cmH_2O) und damit in den koronaren Venen einen Einfluss auf postkapilläre Venolendurchmesser hat.

Hierzu wurden zwei Versuchsgruppen in die Untersuchung aufgenommen:

In der ersten Gruppe, **Venolen**, wurde der Druck des rechten Vorhofes während der Rezirkulation durch eine Höhenverstellung des Pulmonalkatheters stufenweise geändert (0, 5, 10, 15, 20, 25 und 30 cm Wassersäule). Nach einer 10-minütigen Stabilisierungsphase nach Druckänderung schloss sich jeweils eine Videosequenz an. Die bei dem Druck von 0 cm Wassersäule ermittelten Durchmesser dienten als Ausgangsdurchmesser, auf die sich die prozentualen Durchmesseränderungen im Folgenden bezogen. In der zweiten Gruppe, **KontrolleVenolen**, betrug der Druck des rechten Vorhofes unter identischen Bedingungen und während eines identischen Zeitraumes konstant 0 cm Wassersäule. Die Gruppe **Venolen** umfasste 5, die Gruppe **KontrolleVenolen** 4 Rattenherzen.

Zur Veranschaulichung ist der Versuchsablauf der einzelnen Gruppen graphisch in Abbildung 12 dargestellt.

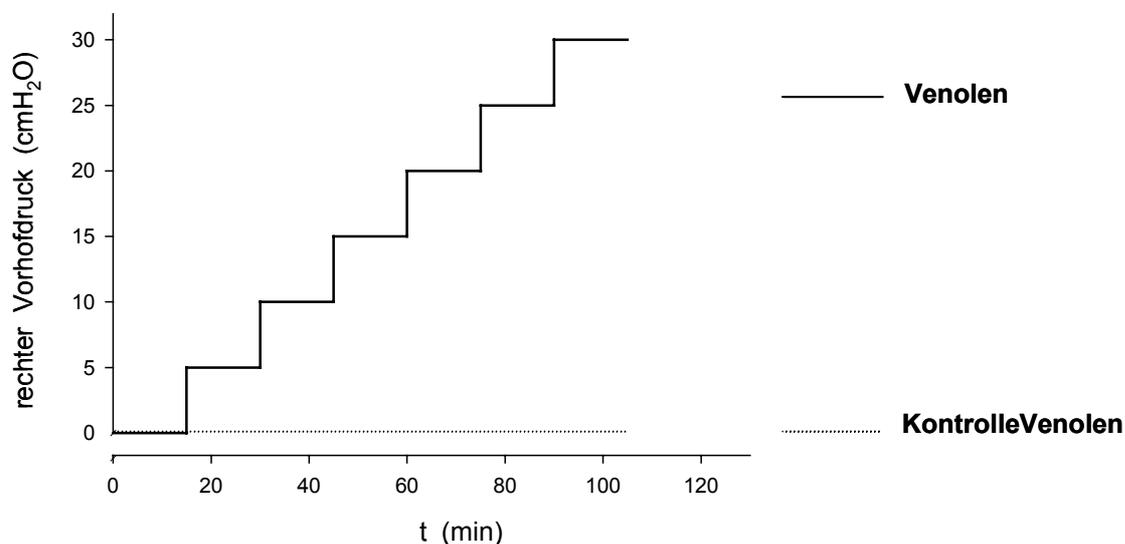


Abb. 12: Protokollschema während der Rezirkulation zur zweiten Hypothese
($\text{cmH}_2\text{O} \times 0,098 = \text{kPa}$)

3.2 ERGEBNISSE DER VORVERSUCHE

Die Daten aller Vorversuchsgruppen zeigen insgesamt, dass das neue Rezirkulationsmodell die Untersuchung aktiver Regulationen des koronaren Gefäßsystems erlaubt. Die Konstanthaltung von pH-Wert und Begasung des Perfusats während verschiedener Stimuli ist gewährleistet. Ergebnisse einzelner Vorversuchsgruppen, die im Rahmen dieser Arbeit nicht durch Fluoreszenzmikroskopie weiter verfolgt wurden, stellen die Grundlage für zukünftige Studien dar.

3.2.1 Änderungen des Perfusionsdruckes

Die Änderungen des Perfusionsdrucks führten zu relativ geringen Flussänderungen (Abb. 13). Bei passivem Verhalten der Gefäße wären deutlich stärkere Flussänderungen zu erwarten (58). Die erneute Einstellung des PP auf 80 mmHg im Anschluss an die Druckänderungen führte zu einem Fluss von $6,4 \pm 0,57$ ml/min ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$). Weitere gemessene und berechnete Werte sind in Tabelle 3 dargestellt. Ist-Werte entsprachen jederzeit vorgegebenen Soll-Werten.

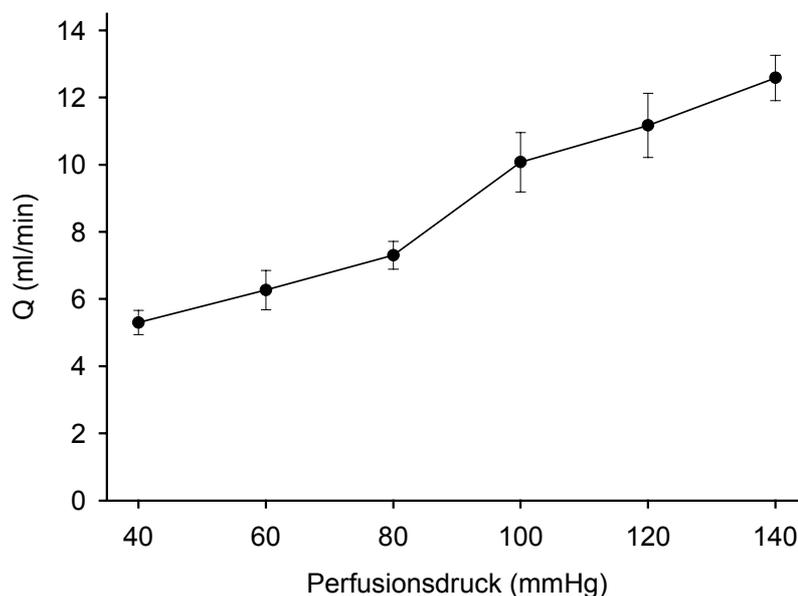


Abb. 13: Verlauf des koronaren Flusses während unterschiedlicher Perfusionsdrücke in der Rezirkulationsphase ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 5$, (mmHg x 0,133 = kPa).

Tab. 3: Vorversuchsgruppe zu Änderungen des Perfusionsdruckes von 80 mmHg auf 60, 40, 100, 120 und 140 mmHg ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), (mmHg x 0,133= kPa).

	Rezirkulation - Änderungen des PP						
Soll PP (mmHg)	80	60	40	100	120	140	80
Ist PP (mmHg)	79,5 ± 0,74	60,2 ± 0,16	39,8 ± 0,45	100,2 ± 0,31	119,8 ± 0,26	140,5 ± 0,22	80,2 ± 0,19
Q / Masse (ml/min)/g	45,9 ± 2,51	39,3 ± 3,53	33,2 ± 2,10	63,1 ± 4,86	70,0 ± 5,14	78,9 ± 3,17	40,1 ± 3,32
pH	7,38 ± 0,014	7,39 ± 0,014	7,40 ± 0,010	7,41 ± 0,012	7,40 ± 0,010	7,41 ± 0,011	7,42 ± 0,012
arterieller pO ₂ (mmHg)	631 ± 22,0	663 ± 12,9	677 ± 5,3	643 ± 8,5	627 ± 11,7	613 ± 13,9	648 ± 15,1
venöser pO ₂ (mmHg)	347 ± 17,8	379 ± 17,1	363 ± 15,7	381 ± 17,7	373 ± 23,3	339 ± 30,8	332 ± 12,1
arterieller pCO ₂ (mmHg)	24,9 ± 0,69	25,2 ± 0,97	24,4 ± 0,81	23,2 ± 0,93	22,1 ± 0,57	21,2 ± 0,77	20,6 ± 0,55
venöser pCO ₂ (mmHg)	29,3 ± 1,24	29,5 ± 0,80	30,7 ± 0,65	27,9 ± 0,92	26,9 ± 0,62	27,9 ± 1,43	27,2 ± 0,49
O ₂ -Angebot (µl/min)	146 ± 11,2	131 ± 10,6	115 ± 9,0	204 ± 17,2	220 ± 15,6	244 ± 15,8	131 ± 11,5
O ₂ -Angebot/ Masse (µl/min)/g	915 ± 62,9	821 ± 65,1	707 ± 53,0	1279 ± 94,8	1380 ± 83,1	1528 ± 74,8	819 ± 63,2
O ₂ -Verbrauch (µl/min)	66 ± 8,2	55 ± 5,4	54 ± 5,0	82 ± 4,1	87 ± 3,3	105 ± 10,6	64 ± 7,0
O ₂ -Verbrauch/ Masse (µl/min)/g	411 ± 49,1	348 ± 36,4	330 ± 29,7	515 ± 24,4	547 ± 21,2	675 ± 55,8	401 ± 39,1
O ₂ -Extraktion (%)	45 ± 4,1	43 ± 3,7	47 ± 2,8	41 ± 2,4	41 ± 3,8	44 ± 3,9	49 ± 2,0

n = 5

Herzmasse (g) 0,16 ± 0,01

3.2.2 Änderungen des Perfusionsdruckes nach Arretierung durch Tetrodotoxin

Der anfängliche Flusswert von 14,4 ml/min unmittelbar vor Beginn der Rezirkulation fiel während 15 Minuten nach TTX-Administration auf 7,9 ml/min ab (Tab. 4). Nach insgesamt 45 Minuten Rezirkulation lag er bei 9,1 ml/min. Da das Sauerstoffangebot direkt flussabhängig ist, verursachte ein geringerer Fluss eine Verminderung des O₂-Angebotes (Abb. 14). Die Arretierung des Herzens führte zur Abnahme des Sauerstoffverbrauchs. In der Graphik fällt die Kurve des O₂-Verbrauchs nach Arretierung deutlich, und die Differenz zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffverbrauch nimmt zu (Abb. 14). Die O₂-Extraktion betrug selbst während eines Perfusionsdruckes von 40 mmHg, bei dem die niedrigsten Flusswerte vorherrschten, lediglich 26,4 %. Dies verdeutlicht die optimale O₂-Versorgung des Herzmuskels zu allen Untersuchungszeitpunkten.

Tab. 4: Soll- und Ist-Perfusionsdrücke sowie Flüsse des schlagenden und des durch TTX arretierten Herzens (exemplarisch an einem Herz dargestellt), (mmHg x 0,133 = kPa).

	schlagend	TTX-arretiertes Herz / Rezirkulation						
Soll-PP (mmHg)	80	80	80	60	40	100	120	140
Ist-PP (mmHg)	81,4	82,5	75,8	58,4	40,3	103,2	122,3	140,1
Q (ml/min)	14,4	7,9	9,1	7,5	5,2	8,4	9,9	12,1

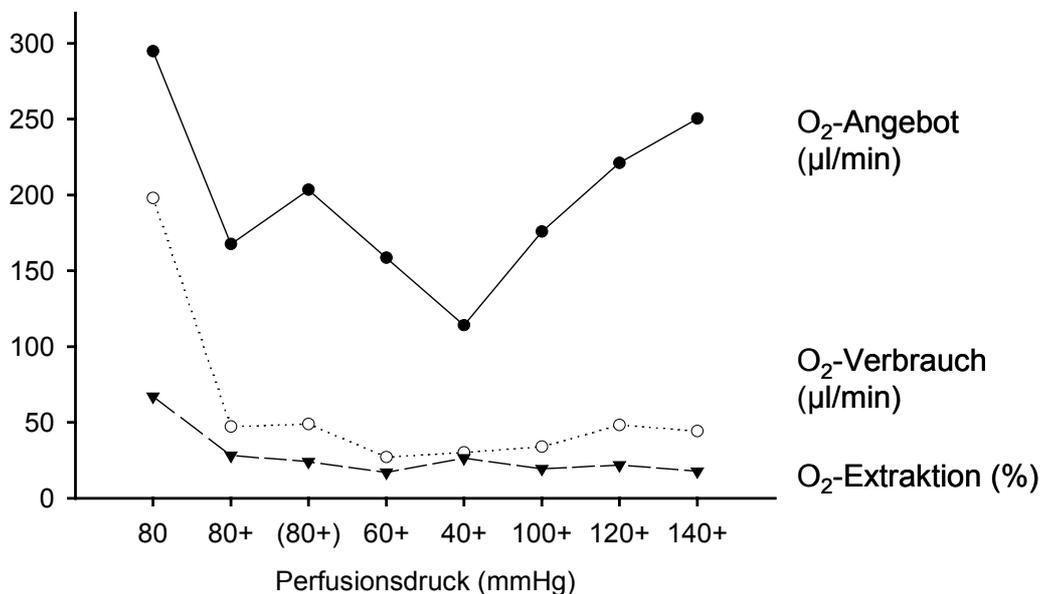


Abb. 14: O₂-Angebot, O₂-Verbrauch und O₂-Extraktion des schlagenden und des durch Tetrodotoxin (+) arretierten Herzens bei unterschiedlichen Perfusionsdrücken (exemplarisch an einem Herz dargestellt). (80+) stellt eine zusätzliche Messung nach 45min Rezirkulation dar, (mmHg x 0,133 = kPa).

3.2.3 Änderungen des Perfusionsdruckes nach Maximaldilatation durch Dipyridamol

Eine Konzentration von $1,25 \times 10^{-4}$ mol/l im Perfusat garantierte die gewünschte Gefäßwirksamkeit, d.h. eine Maximaldilatation. Eine Beeinflussung durch das Lösungsmittel Ethanol konnte nach Überprüfung ausgeschlossen werden.

In ersten Mikroskopieversuchen wurde eine starke Eigenfluoreszenz von Dipyridamol deutlich. Die resultierende Überstrahlung des Bildes verhinderte die Darstellung der Gefäße. Demzufolge kamen in den Hauptversuchen alternative Dilatatoren, Nitroprussid-Natrium und Papaverin, zur Anwendung. Die Beschreibung dieser Wirkstoffe findet unter 3.1.13.1 statt.

3.2.4 Abhängigkeit des Flusses von der Gewebeoxygenation

Unterschiedliche Oxygenierungsstufen des Perfusats konnten mit der vorhandenen, technischen Ausstattung in fünf Vorversuchen ohne und einem Versuch mit Organ nicht ausreichend reproduziert werden. Für zukünftige Versuche wird die Verwendung einer genauer einstellbaren Gasmischpumpe vorgeschlagen.

3.2.5 Dosisabhängige Flusssteigerung durch Adenosin

In der Vorversuchsgruppe i) betragen die Konzentrationen 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} und 10^{-4} mol/l (Tab. 5), in der Vorversuchsgruppe ii) 10^{-7} , 10^{-6} , 2×10^{-6} und 5×10^{-6} mol/l (Tab. 6). Die Vorversuchsgruppen i) und ii) sind gemeinsam in Abbildung 15 dargestellt. Eine Konzentration von 10^{-7} mol/l Adenosin verursacht keine Flusssteigerung. 10^{-4} mol/l Adenosin führen zu einem lang anhaltenden Flussanstieg und werden innerhalb von 15 Minuten nicht metabolisiert (Abb. 15). Zwei Kontrollversuche gehen in die Daten der Tabelle 8 ein. Vier Vorversuche mussten infolge technischer oder präparationsbedingter Schwierigkeiten vorzeitig beendet werden. Ihre Daten werden bei der Darstellung der Ergebnisse nicht berücksichtigt.

Tab. 5: Vorversuchsgruppe i) zu Reaktionen auf die Konzentrationen 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} und 10^{-4} mol/l Adenosin ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$; PP, Q und Q/Masse/g zum Zeitpunkt maximaler Reaktion), (mmHg x 0,133 = kPa).

	Rezirkulation				
	ohne ADO	+ Adenosin			
+ ADO (mol/l)	-	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
PP (mmHg)	80,5 ± 0,74	81,1 ± 0,33	81,1 ± 1,27	78,7 ± 1,17	80,2 ± 0,90
Q (ml/min)	7,4 ± 0,25	7,8 ± 0,33	9,9 ± 0,70	18,0 ± 0,51	18,5 ± 0,72
Q / Masse (ml/min)/g	45,4 ± 1,44	48,0 ± 1,84	60,2 ± 3,49	110,0 ± 2,25	113,3 ± 3,33
pH	7,39 ± 0,007	7,41 ± 0,007	7,39 ± 0,004	7,40 ± 0,008	7,40 ± 0,006
arterieller pO ₂ (mmHg)	666 ± 10,6	670 ± 13,7	675 ± 6,7	666 ± 16,4	611 ± 5,1
venöser pO ₂ (mmHg)	342 ± 10,8	379 ± 11,9	383 ± 14,3	399 ± 17,5	396 ± 8,0
arterieller pCO ₂ (mmHg)	23,5 ± 0,34	24,0 ± 0,20	24,5 ± 0,44	23,0 ± 0,63	21,8 ± 0,62
venöser pCO ₂ (mmHg)	28,9 ± 0,87	28,1 ± 0,52	27,7 ± 0,86	28,1 ± 0,27	25,3 ± 0,82
O ₂ -Angebot (µl/min)	155 ± 3,9	166 ± 7,6	210 ± 13,9	384 ± 3,3	357 ± 13,6
O ₂ -Angebot/ Masse (µl/min)/g	953 ± 32,9	1015 ± 39,5	1282 ± 72,7	2346 ± 83,6	2186 ± 60,8
O ₂ -Verbrauch (µl/min)	75 ± 2,3	72 ± 6,1	90 ± 5,7	163 ± 4,2	125 ± 4,6
O ₂ -Verbrauch/ Masse (µl/min)/g	462 ± 17,6	439 ± 32,2	551 ± 25,9	995 ± 44,4	767 ± 25,7
O ₂ -Extraktion (%)	49 ± 1,8	43 ± 2,5	43 ± 1,8	42 ± 1,4	35 ± 1,6

n = 5

Herzmasse (g) 0,16 ± 0,01

Tab. 6: Vorversuchsgruppe ii) zu Reaktionen auf die Konzentrationen 10^{-7} , 10^{-6} , 2×10^{-6} und 5×10^{-6} mol/l Adenosin, (PP und Q/Masse/g zum Zeitpunkt maximaler Reaktion), (mmHg x 0,133 = kPa).

	Rezirkulation				
	ohne ADO	+ Adenosin			
+ ADO (mol/l)	-	10^{-7}	10^{-6}	2×10^{-6}	5×10^{-6}
PP (mmHg)	78,6 / 78,4	80,7 / 82,0	84,5 / 81,4	79,0 / 79,2	80,2 / 78,0
Q / Masse (ml/min)/g	44,8 / 41,8	47,3 / 43,0	73,6 / 56,7	90,0 / 79,4	114,5 / 93,7
pH	7,42 / 7,40	7,40 / 7,40	7,39 / 7,39	7,38 / 7,38	7,36 / 7,38
arterieller pO_2 (mmHg)	462 / 598	465 / 625	472 / 574	457 / 605	423 / 626
venöser pO_2 (mmHg)	227 / 273	245 / 323	262 / 322	249 / 324	219 / 358
arterieller pCO_2 (mmHg)	25,1 / 24,8	25,8 / 24,7	26,2 / 24,2	26,8 / 23,5	27,5 / 23,3
venöser pCO_2 (mmHg)	29,8 / 31,7	29,6 / 31,8	30,4 / 30,4	31,7 / 28,8	29,9 / 28,6
O_2 -Angebot (μ l/min)	102 / 132	109 / 142	172 / 172	203 / 254	239 / 311
O_2 -Angebot/Masse (μ l/min)/g	654 / 789	695 / 848	1097 / 1029	1298 / 1517	1531 / 1854
O_2 -Verbrauch (μ l/min)	52 / 72	51 / 69	77 / 76	93 / 118	116 / 133
O_2 -Verbrauch/Masse (μ l/min)/g	333 / 429	329 / 410	490 / 453	592 / 705	741 / 795
O_2 -Extraktion (%)	51 / 54	47 / 48	45 / 44	46 / 47	48 / 43

n = 2

Herzmasse (g) 0,16 / 0,17

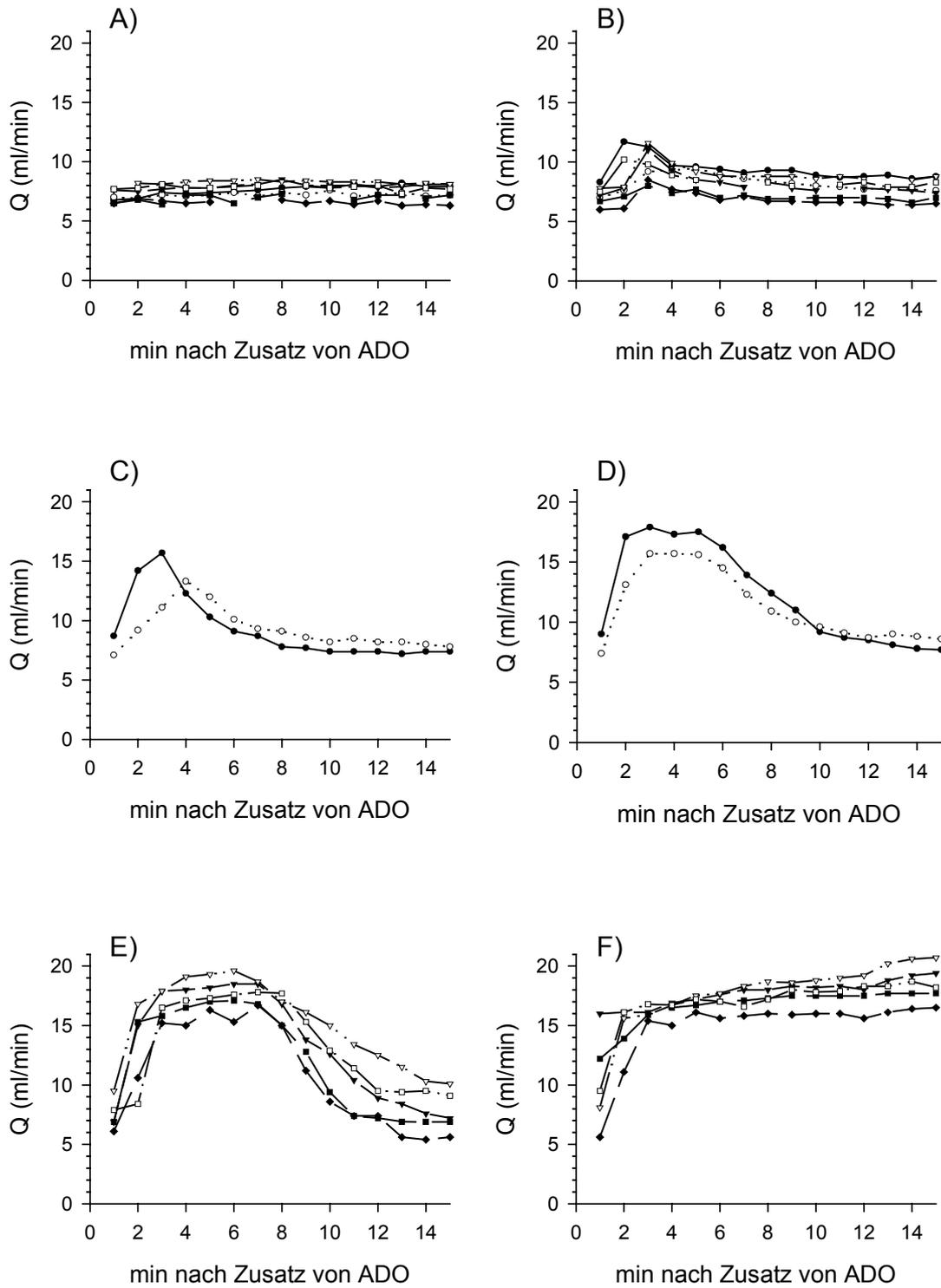


Abb. 15: Flussverläufe einzelner Herzen während unterschiedlicher Konzentrationen von Adenosin (ADO) in der Rezirkulation: A) 10^{-7} , B) 10^{-6} , C) 2×10^{-6} , D) 5×10^{-6} , E) 10^{-5} und F) 10^{-4} mol/l.

3.2.6 Dosisabhängige Flussteigerung durch Nitroprussid-Natrium

Zwei Vorversuche dienten der Bestimmung eines geeigneten Konzentrationsbereichs, der das Regulationsspektrum der Gefäße umfassend widerspiegelt (10^{-8} , 10^{-7} , 5×10^{-7} und 10^{-6} mol/l Nitroprussid-Natrium). Die Werte in Tabelle 7 demonstrieren die Ergebnisse der sich anschließenden vier Vorversuche. Durch die Administration von Nitroprussid-Natrium stieg der Fluss innerhalb weniger Minuten an und verblieb nach Erreichen des Maximums auf einem Plateau. Zur Bestimmung der Perfusionsdruck- und Flusswerte pro Konzentrationsstufe SNP wurden die minütlich aufgezeichneten Daten der Plateauphase gemittelt ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$), d.h. bei einer Konzentration von 10^{-8} mol/l die Minuten 5 bis 15, bei 10^{-7} mol/l die Minuten 4 bis 14 und bei 5×10^{-7} mol/l die Minuten 5 bis 14. Bei einer Konzentration von 10^{-6} mol/l fand keine oder eine nur allmähliche, geringe Flussteigerung während der 15 Minuten statt. Dies führte zur Mittelung aller 15 Perfusionsdruck- und Flusswerte. Zwei weitere Versuche dienten als Kontrolle ohne SNP. Ihre Ergebnisse gehen in die Daten der Tabelle 8 ein.

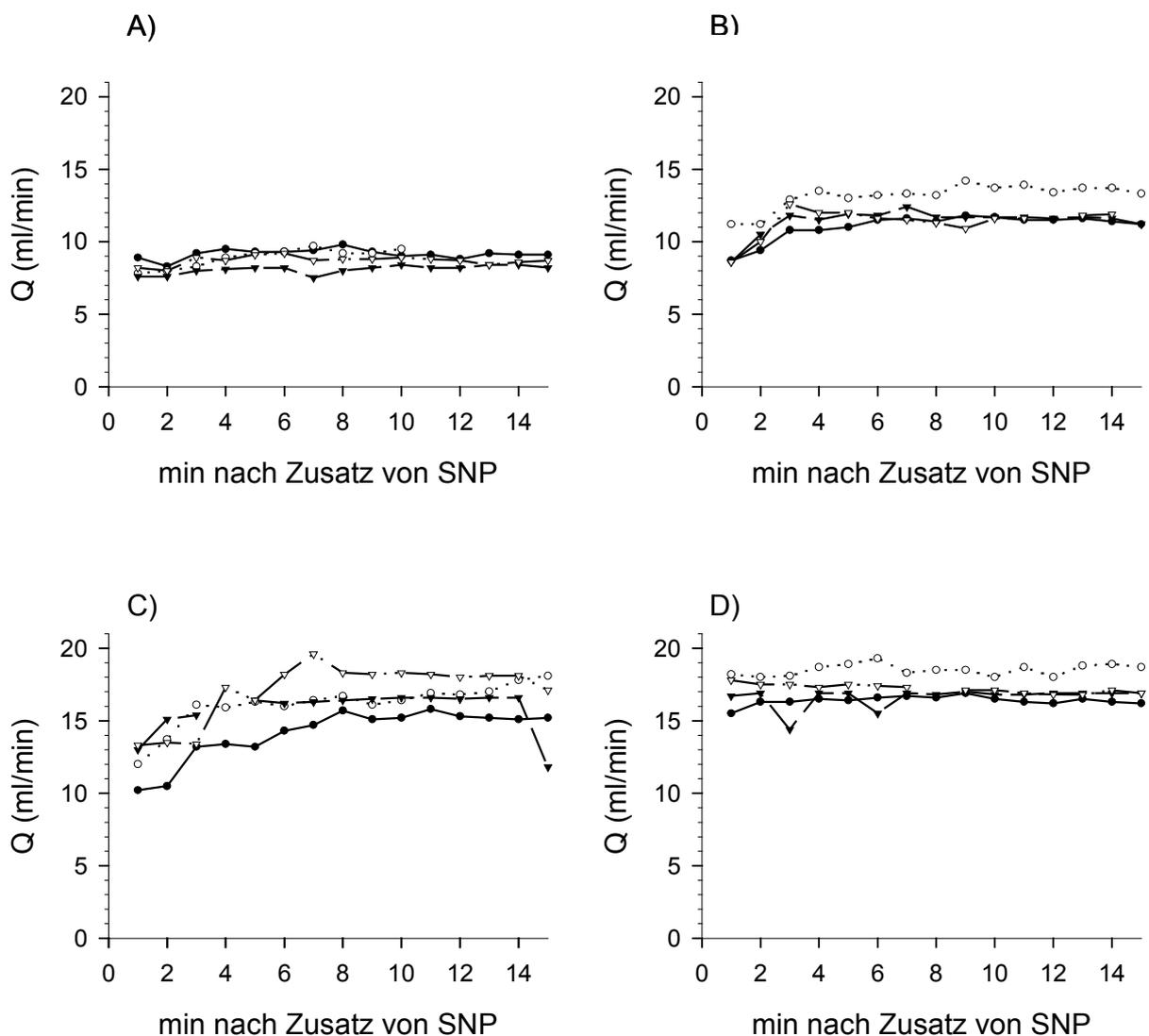


Abb. 16: Flussverläufe einzelner Herzen während unterschiedlicher Konzentrationen von Nitroprussid-Natrium (SNP) in der Rezikulation: A) 10^{-8} , B) 10^{-7} , C) 5×10^{-7} und D) 10^{-6} mol/l.

Tab. 7: Vorversuchsgruppe zu Reaktionen auf die Konzentrationen 10^{-8} , 10^{-7} , 5×10^{-7} und 10^{-6} mol/l Nitroprussid-Natrium ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$; PP, Q und Q/Masse/g während der Phase maximaler Reaktion), (mmHg x 0,133 = kPa).

	Rezirkulation				
	ohne SNP	+ Nitroprussid-Natrium			
+ SNP (mol/l)	-	10^{-8}	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}
PP (mmHg)	79,9 ± 0,21	79,1 ± 0,57	79,8 ± 0,33	77,9 ± 0,64	79,7 ± 0,29
Q (ml/min)	7,9 ± 0,48	8,9 ± 0,27	12,1 ± 0,49	16,6 ± 0,65	17,2 ± 0,48
Q / Masse (ml/min)/g	47,8 ± 1,82	54,4 ± 2,88	74,2 ± 5,38	101,5 ± 6,07	105,4 ± 6,37
pH	7,37 ± 0,008	7,38 ± 0,010	7,39 ± 0,003	7,39 ± 0,011	7,36 ± 0,027
arterieller pO ₂ (mmHg)	606 ± 10,8	597 ± 11,0	578 ± 27,7	531 ± 21,1	528 ± 43,7
venöser pO ₂ (mmHg)	297 ± 12,9	346 ± 17,3	343 ± 13,7	307 ± 53,5	318 ± 33,8
arterieller pCO ₂ (mmHg)	25,0 ± 0,21	25,5 ± 0,36	24,2 ± 0,34	23,2 ± 0,59	25,4 ± 1,68
venöser pCO ₂ (mmHg)	28,9 ± 1,87	29,7 ± 0,91	29,6 ± 1,89	27,6 ± 0,75	28,6 ± 0,52
O ₂ -Angebot (µl/min)	150 ± 6,9	168 ± 6,7	223 ± 12,0	268 ± 1,4	286 ± 22,4
O ₂ -Angebot/ Masse (µl/min)/g	912 ± 23,6	1026 ± 52,8	1366 ± 123,2	1636 ± 69,1	1747 ± 166,1
O ₂ -Verbrauch (µl/min)	76 ± 2,5	70 ± 4,1	90 ± 4,4	117 ± 17,1	114 ± 4,6
O ₂ -Verbrauch/ Masse (µl/min)/g	463 ± 13,5	427 ± 15,3	550 ± 31,7	686 ± 108,1	695 ± 45,2
O ₂ -Extraktion (%)	51 ± 2,7	42 ± 3,0	41 ± 1,7	44 ± 6,7	40 ± 1,6

n = 4

Herzmasse (g) 0,16 ± 0,01

3.2.7 Kontrollversuche zu den Vorversuchsgruppen

Die Kontrollversuche werden zusammengefasst dargestellt. Das Ziel war die Überprüfung der neu etablierten Methode auf zeitliche Einflüsse. Die Daten in Tabelle 8 verdeutlichen einen nahezu konstanten Fluss für etwa 120 Minuten in der Rezirkulation. Während dieser Dauer sind zeitlich bedingte Veränderungen des neu etablierten Modells so gut wie ausgeschlossen.

Tab. 8: Zusammenfassung der Kontrollversuche zu den Vorversuchen ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), (mmHg x 0,133 = kPa).

	Rezirkulation – Soll PP konstant 80mmHg								
nach min	15	35	55	75	95	115	135	155	175
Ist PP (mmHg)	79,3 ± 0,49	81,5 ± 1,70	79,1 ± 1,27	79,7 ± 0,80	80,9 ± 0,66	80,7 ± 0,61	81,2 ± 0,44	80,3 ± 0,65	80,5 ± 0,63
Q (ml/min)	7,1 ± 0,34	7,5 ± 0,36	7,9 ± 0,38	7,7 ± 0,34	7,6 ± 0,24	7,2 ± 0,25	6,4 ± 0,27	5,8 ± 0,38	6,3 ± 0,98
Q / Masse (ml/min)/g	42,9 ± 2,23	44,8 ± 2,85	48,5 ± 2,37	46,7 ± 2,40	45,6 ± 1,88	43,3 ± 2,03	38,9 ± 2,19	36,4 ± 3,19	38,7 ± 7,43
pH	7,38 ± 0,005	7,38 ± 0,015	7,39 ± 0,011	7,37 ± 0,011	7,37 ± 0,012	7,39 ± 0,011	7,37 ± 0,012	7,41 ± 0,011	7,40 ± 0,018
arterieller pO ₂ (mmHg)	645 ± 12,7	657 ± 12,1	645 ± 14,9	609 ± 15,8	644 ± 7,9	628 ± 20,0	641 ± 11,1	630 ± 18,3	634 ± 31,9
venöser pO ₂ (mmHg)	292 ± 9,5	324 ± 11,3	349 ± 9,8	334 ± 14,4	337 ± 6,3	309 ± 13,6	310 ± 14,1	295 ± 18,9	292 ± 22,2
arterieller pCO ₂ (mmHg)	24,8 ± 0,40	25,5 ± 0,99	24,6 ± 0,76	25,7 ± 0,66	24,7 ± 1,03	23,0 ± 0,68	24,4 ± 0,67	22,1 ± 0,99	20,8 ± 1,09
venöser pCO ₂ (mmHg)	30,6 ± 0,44	31,3 ± 0,65	29,7 ± 0,72	30,7 ± 0,50	29,1 ± 0,56	30,1 ± 0,58	29,2 ± 0,35	28,1 ± 1,29	28,0 ± 1,47
O ₂ -Angebot (µl/min)	144 ± 5,0	152 ± 7,0	160 ± 7,4	148 ± 6,8	154 ± 4,6	142 ± 4,3	128 ± 3,7	115 ± 5,2	124 ± 14,1
O ₂ -Angebot/ Masse (µl/min)/g	869 ± 33,9	906 ± 54,2	988 ± 40,5	892 ± 37,5	925 ± 32,7	866 ± 32,4	782 ± 34,4	719 ± 51,3	755± 112,0
O ₂ -Verbrauch (µl/min)	79 ± 3,9	76 ± 2,9	73 ± 4,1	68 ± 5,1	74 ± 3,5	72 ± 5,5	66 ± 4,3	62 ± 5,8	68 ± 10,2
O ₂ -Verbrauch/ Masse (µl/min)/g	473 ± 18,2	451 ± 14,7	448 ± 18,6	404 ± 24,4	439 ± 17,4	438 ± 30,1	399 ± 29,0	386 ± 44,1	413 ± 75,9
O ₂ -Extraktion (%)	55 ± 1,9	51 ± 2,3	46 ± 2,0	45 ± 2,8	48 ± 1,4	51 ± 2,6	52 ± 2,4	53 ± 2,4	54 ± 2,1

n = 10 Herzmasse (g) = 0,17 ± 0,00

3.3 ERGEBNISSE DER HAUPTUNTERSUCHUNGEN

3.3.1 Untersuchungen von Arteriolen – Hypothese 1

Zur Überprüfung der Hypothese, dass eine Änderung des Perfusionsdrucks zu einer aktiven Durchmesserregulation terminaler, koronarer Arteriolen führt, wurden drei Gruppen untersucht. Die aktive Durchmesserregulation wurde in der Gruppe **PPArt** (n = 6) verfolgt.

In der Gruppe **PAP+SNP** (n = 6) wurden die Gefäße durch Papaverin und Nitroprussid-Natrium vor Änderung der Perfusionsdrücke paralytisiert. Das Versuchsprotokoll dieser Gruppe entsprach in allen weiteren Aspekten dem der Gruppe **PPArt**. Als Kontrolle wurde während der Gruppe **PPArtKontrolle** (n = 3) der Perfusionsdruck konstant auf 80 mmHg für eine Versuchsdauer von 120 Minuten eingestellt. Die Videosequenzen fanden zu protokollanalogen Zeitpunkten statt.

3.3.1.1 Gemessene und berechnete hämodynamische und metabolische Parameter

Tab. 9: Gemessene und berechnete hämodynamische und metabolische Parameter der Gruppe **PPArt** ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), n = 6, (mmHg x 0,133 = kPa).

SoII-PP	Rezirkulationsphase PPArt					
	80 (mmHg)	60 (mmHg)	40 (mmHg)	100 (mmHg)	120 (mmHg)	140 (mmHg)
Ist-PP (mmHg)	82,3 ± 1,18	60,6 ± 0,18	42,9 ± 0,67	100,1 ± 0,49	119,6 ± 0,99	140,5 ± 0,38
Q (ml/min)	5,0 ± 0,34	3,9 ± 0,30	2,9 ± 0,25	5,9 ± 0,38	7,2 ± 0,42	8,2 ± 0,40
pH	7,36 ± 0,007	7,36 ± 0,011	7,37 ± 0,016	7,40 ± 0,009	7,40 ± 0,011	7,39 ± 0,006
pO ₂ (mmHg)	711 ± 16,3	612 ± 47,9	678 ± 17,0	620 ± 38,5	640 ± 22,5	653 ± 18,2
pCO ₂ (mmHg)	23,7 ± 0,40	24,4 ± 0,60	24,9 ± 0,86	22,2 ± 0,71	21,8 ± 0,65	21,7 ± 0,65
O ₂ -Angebot (µl/min)	107 ± 24,3	74 ± 5,6	58 ± 8,5	116 ± 10,0	143 ± 5,5	159 ± 5,4

Zwischen dem Ende der Stabilisierungsphase vor der Arretierung und 15 Minuten nach Arretierung während der Rezirkulation sank der Fluss der Herzen (Gruppe **PPArt**, **PAP+SNP** und **PPArtKontrolle**) im Mittel von 10,4 ± 0,49 ml/min auf 5,7 ± 0,36 ml/min ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$). Die hämodynamischen Parameter der einzelnen Untersuchungsgruppen sind in den Tabellen 9, 10 und 11 dargestellt.

Tab. 10: Gemessene und berechnete hämodynamische und metabolische Parameter der Gruppe **PAP+SNP** ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), n = 6, (mmHg x 0,133 = kPa).

	Rezirkulationsphase (PAP+SNP)					
SoII-PP	80 (mmHg)	60 (mmHg)	40 (mmHg)	100 (mmHg)	120 (mmHg)	140 (mmHg)
Ist-PP (mmHg)	79,4 ± 0,51	61,4 ± 0,79	41,2 ± 0,92	100,4 ± 0,46	118,4 ± 0,75	139,4 ± 0,93
Q (ml/min)	13,3 ± 1,46	9,0 ± 0,95	5,7 ± 0,44	13,7 ± 0,84	15,5 ± 0,87	21,0 ± 0,79
pH	7,36 ± 0,005	7,36 ± 0,011	7,36 ± 0,027	7,39 ± 0,016	7,40 ± 0,010	7,36 ± 0,015
pO ₂ (mmHg)	588 ± 23,9	630 ± 28,9	616 ± 22,1	595 ± 12,0	596 ± 15,2	569 ± 22,9
pCO ₂ (mmHg)	21,3 ± 1,83	19,3 ± 2,44	17,5 ± 2,80	18,4 ± 1,24	16,4 ± 0,96	14,4 ± 1,73
O ₂ -Angebot (µl/min)	245 ± 23,5	178 ± 14,2	112 ± 9,7	256 ± 14,5	292 ± 18,2	379 ± 29,1

Die hämodynamischen Parameter der Gruppen **PPArt**, **PAP+SNP** und **PPArtKontrolle** sind in den Tabellen 9 bis 11 dargestellt. In der Gruppe **PAP+SNP** wurde durch die Administration von Papaverin und Nitroprussid-Natrium der Fluss zu Beginn der Rezirkulation bei einem Perfusionsdruck von 80 mmHg von $6,4 \pm 0,74$ ml/min auf $13,3 \pm 1,33$ ml/min ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$) gesteigert.

Tab. 11: Gemessene und berechnete hämodynamische und metabolische Parameter der Gruppe **PPArtKontrolle** ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), n = 3, (mmHg x 0,133 = kPa).

	Rezirkulationsphase PPArtKontrolle (PP konstant 80mmHg)					
nach Minuten	20	40	60	80	100	120
PP (mmHg)	81,0 ± 0,51	79,9 ± 0,36	80,5 ± 0,36	81,2 ± 0,58	80,7 ± 0,66	80,7 ± 0,25
Q (ml/min)	5,7 ± 0,40	5,5 ± 0,43	5,0 ± 0,39	4,6 ± 0,36	4,2 ± 0,28	4,0 ± 0,33
pH	7,37 ± 0,015	7,37 ± 0,017	7,39 ± 0,012	7,40 ± 0,014	7,38 ± 0,010	7,37 ± 0,018
pO ₂ (mmHg)	656 ± 18,1	676 ± 11,1	670 ± 4,1	671 ± 18,8	664 ± 24,3	682 ± 6,5
pCO ₂ (mmHg)	24,8 ± 0,95	25,5 ± 0,35	24,7 ± 0,44	24,3 ± 0,97	25,0 ± 1,22	25,0 ± 0,50
O ₂ -Angebot (µl/min)	118 ± 9,4	116 ± 7,4	106 ± 7,9	98 ± 9,9	88 ± 8,9	86 ± 7,2

3.3.1.2 Durchmesseränderung koronarer, arteriöler Einzelgefäße während unterschiedlicher Perfusionsdrücke innerhalb der Gruppe 'PPArt'

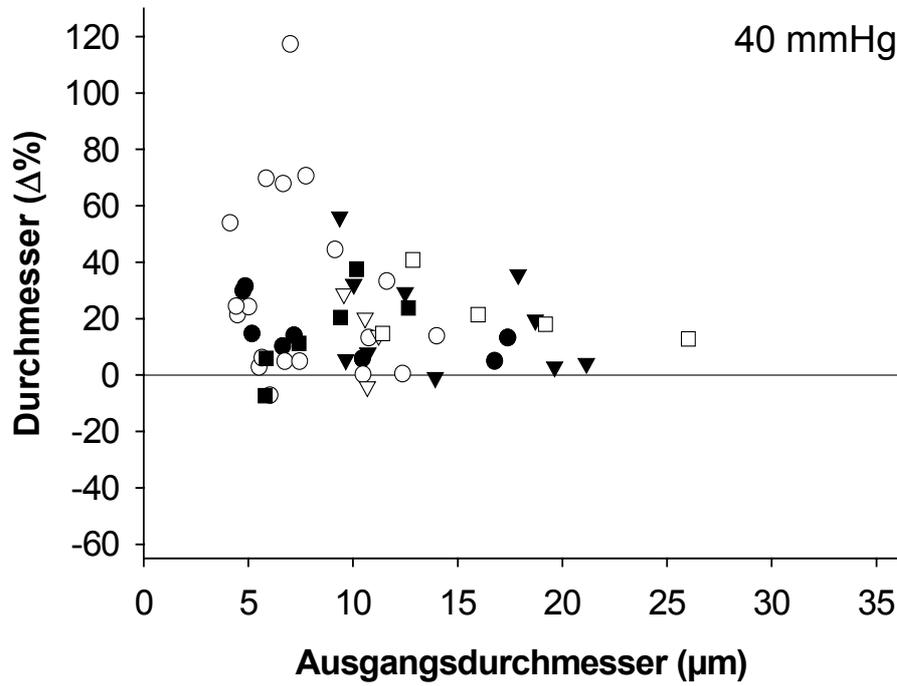


Abb. 17: Reaktion einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PPArt** auf einen verminderten Perfusionsdruck (40 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen), (mmHg x 0,133 = kPa).

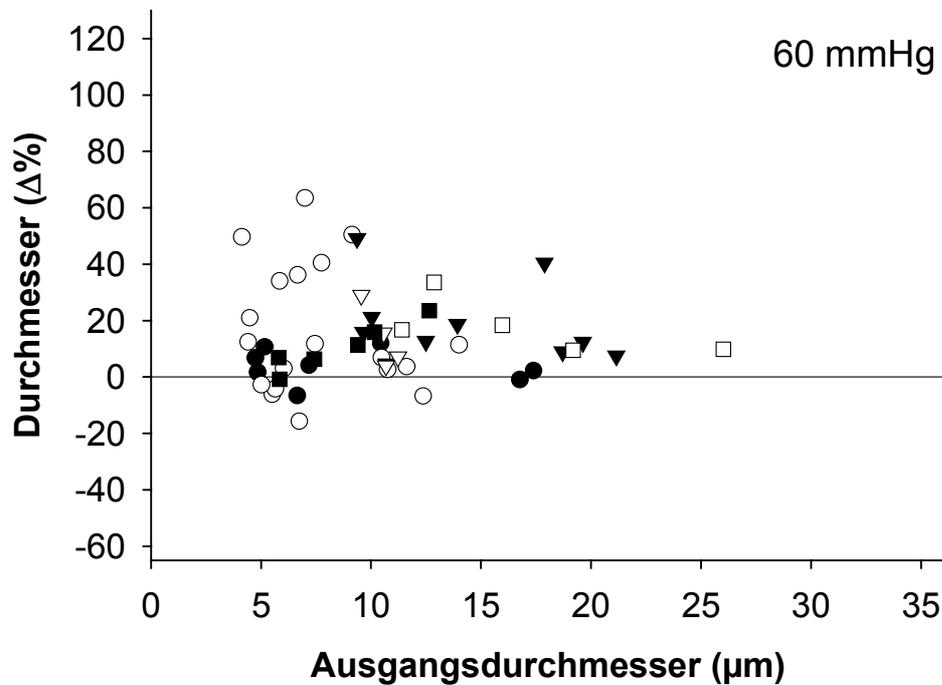


Abb. 18: Reaktion einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PPArt** auf einen verminderten Perfusionsdruck (60 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen), (mmHg x 0,133 = kPa).

Die Streudiagramme der Abbildungen 17 bis 21 stellen die Reaktionen einzelner, arteriöler Mikrogefäße auf veränderte Perfusionsdrücke innerhalb der Gruppe **PPart** dar. Gleiche Symbole verdeutlichen die Zugehörigkeit zu einem Herzen. Die individuelle, prozentuale Durchmesseränderung ($\Delta\%$) ist auf der Ordinate, der zugrundeliegende Ausgangsdurchmesser unter Kontrollbedingungen (80 mmHg) auf der Abszisse abgebildet. Datenpunkte oberhalb der Nulllinie veranschaulichen dilatierte Gefäße, jene unterhalb der Nulllinie konstringierte Gefäße. Trotz der offensichtlich nicht einheitlichen Antwort der Gefäße wird deutlich, dass eine Verminderung des Perfusionsdruckes (Abb. 17, 18) zu einer Dilatation der Gefäße und insbesondere der kleinsten Gefäße führte, während eine Steigerung des Perfusionsdruckes (Abb. 19 bis 21) eine Konstriktion der meisten Gefäße zur Folge hatte. Einzelne Gefäße reagierten mit einer passiven Erweiterung bei zunehmendem Perfusionsdruck; dies zeigte sich unabhängig von der Zugehörigkeit zu einem Organ (z.B.: Perfusionsdruck: 100 mmHg: Ausgangsdurchmesser (μm) = 9,14 und 9,36; Durchmesser ($\Delta\%$) = 54,38 und 54,59).

Die Untersuchung der Rohdaten der Gruppe **PPart** mittels Wilcoxon-Tests ergab, dass die Durchmesseränderung infolge Modifizierung des Perfusionsdruckes während aller Druckstufen ausgeprägter war, als es zufallsbedingt zu erwarten gewesen wäre.

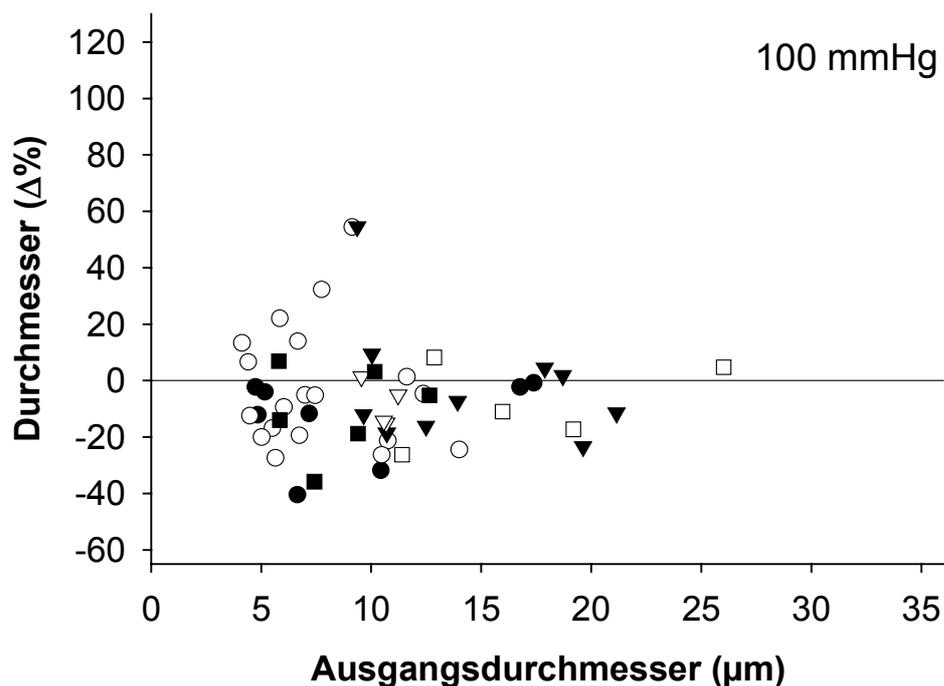


Abb. 19: Reaktion einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PPart** auf einen erhöhten Perfusionsdruck (100 mmHg), $n = 6$, (Symbole = Herzen), ($\text{mmHg} \times 0,133 = \text{kPa}$).

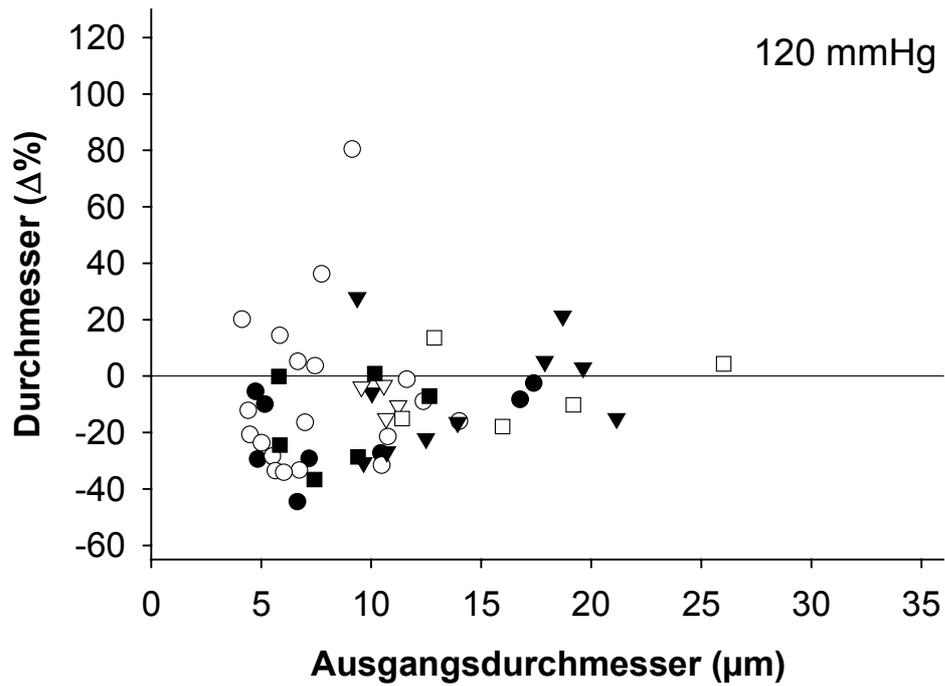


Abb. 20: Reaktion einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PPART** auf einen erhöhten Perfusionsdruck (120 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen), (mmHg x 0,133 = kPa).

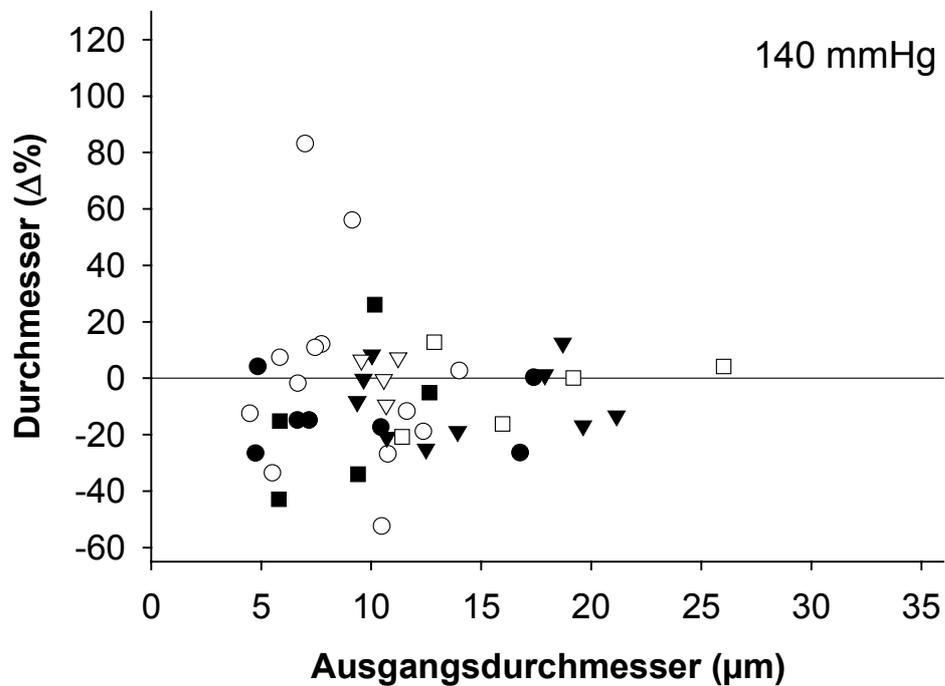


Abb. 21: Reaktion einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PPART** auf einen erhöhten Perfusionsdruck (140 mmHg). Während dieser Versuchsphase waren einige Gefäße nicht mehr sichtbar, n = 6, (Symbole = Herzen), (mmHg x 0,133 = kPa).

3.3.1.3 Durchmesseränderungen koronarer, arteriolärer Einzelgefäße während unterschiedlicher Perfusionsdrücke innerhalb der Gruppe 'PAP+SNP'

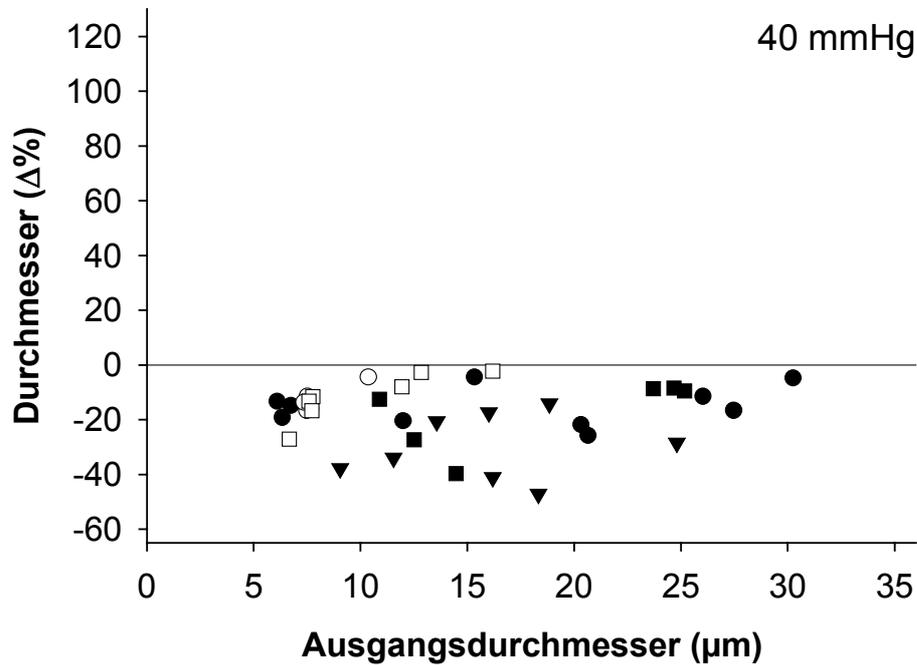


Abb. 22: Antwort paralysierter, koronarer Arteriolen der Gruppe **PAP+SNP** auf einen verminderten Perfusionsdruck (40 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen; die Gefäße des Herzens ▽ waren nach Drucksenkung nicht darstellbar), (mmHg x 0,133 = kPa).

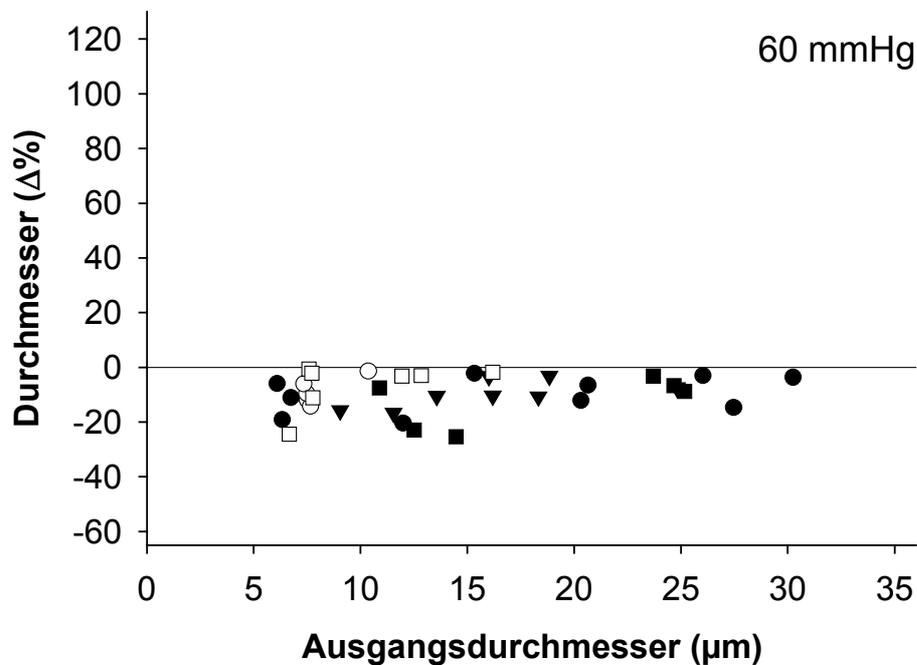


Abb. 23: Antwort paralysierter, koronarer Arteriolen der Gruppe **PAP+SNP** auf einen verminderten Perfusionsdruck (60 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen; die Gefäße des Herzens ▽ waren nach Drucksenkung nicht darstellbar), (mmHg x 0,133 = kPa).

Die Streudiagramme der Abbildungen 22 bis 26 demonstrieren die Antworten einzelner, arteriöler Mikrogefäße auf veränderte Perfusionsdrücke innerhalb der Gruppe **PAP+SNP**. Vor Änderung des Perfusionsdruckes wurden die Gefäße durch die Zugabe von Papaverin und Nitroprussid-Natrium in das rezirkulierende Perfusat paralytisiert. Analog zur Darstellung der Gruppe **PPArt** veranschaulichen gleiche Symbole der Einzelgefäße die Zugehörigkeit zu einem Herzen. Die Ausgangsdurchmesser auf der Abszisse entsprechen den durch Längenmessungen ermittelten Gefäßdurchmessern nach Paralyse der Gefäßmuskulatur. Prozentuale Durchmesseränderungen werden auf der Ordinate wiedergegeben. Datenpunkte unterhalb der Nulllinie zeigen Durchmesserabnahmen, jene oberhalb der Nulllinie Durchmesserzunahmen. Es wird deutlich, dass eine Senkung des Perfusionsdruckes in allen Fällen zu einer reaktionslosen, passiven Abnahme der Gefäßdurchmesser führte, während die Erhöhung des Perfusionsdruckes in den meisten Fällen eine passive Gefäßdurchmesserzunahme im Sinne einer Aufweitung verursachte. Zur besseren Vergleichbarkeit der Daten mit der Gruppe **PPArt** sind die Skalierungen der Achsen in beiden Versuchsgruppen identisch.

Die Untersuchung der Rohdaten der Gruppe **PAP+SNP** mittels Wilcoxon-Tests ergab, dass die Durchmesseränderung infolge Modifizierung des Perfusionsdruckes während aller Druckstufen ausgeprägter war, als dies zufallsbedingt zu erwarten gewesen wäre.

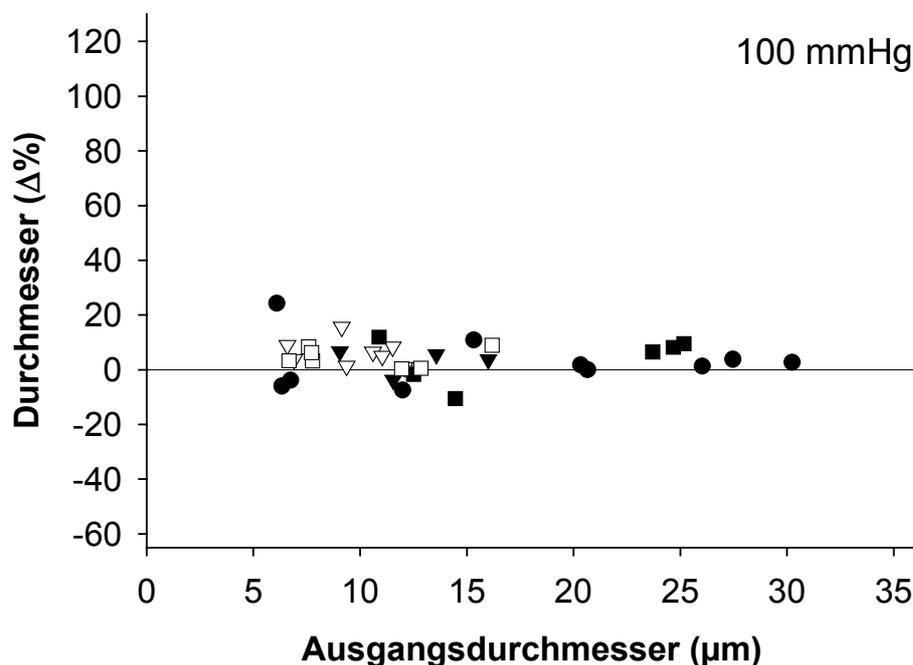


Abb. 24: Antwort paralytischer, koronarer Arteriolen der Gruppe **PAP+SNP** auf einen gesteigerten Perfusionsdruck (100 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen; die Gefäße des Herzens 0 waren nach Druckerhöhung nicht darstellbar), (mmHg x 0,133 = kPa).

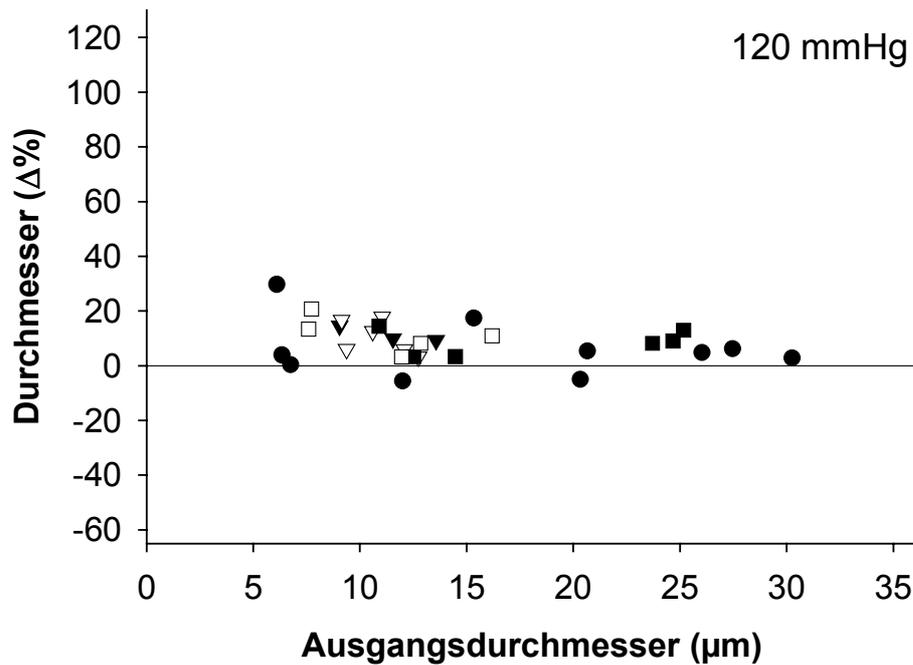


Abb. 25: Antwort paralyzierter, koronarer Arteriolen der Gruppe **PAP+SNP** auf einen gesteigerten Perfusionsdruck (120 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen; die Gefäße des Herzens \circ waren nach Druckerhöhung nicht darstellbar), (mmHg x 0,133 = kPa).

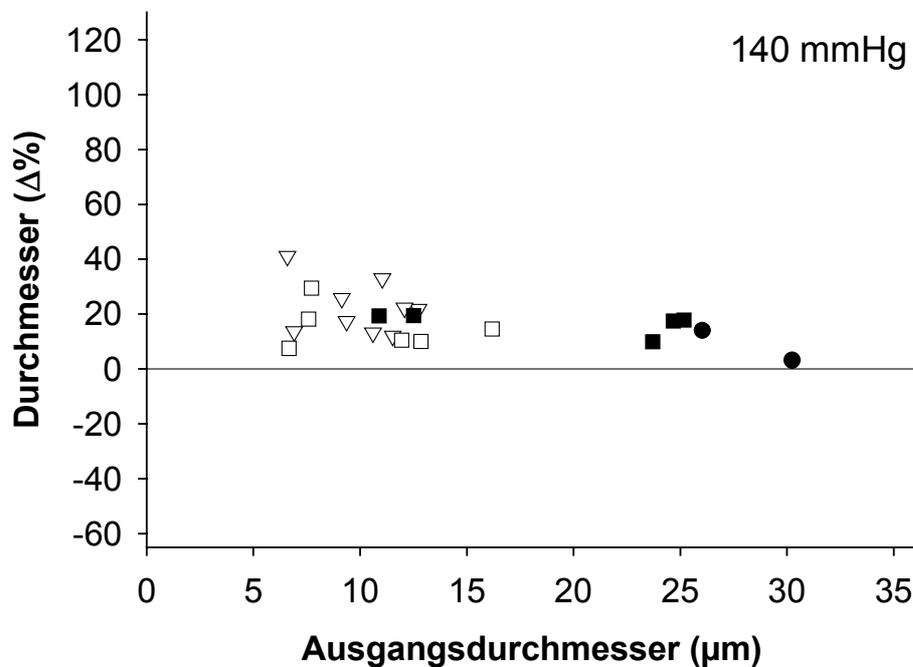


Abb. 26: Antwort paralyzierter, koronarer Arteriolen der Gruppe **PAP+SNP** auf einen gesteigerten Perfusionsdruck (140 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen; die Gefäße der Herzen \blacktriangledown und \circ waren während dieser Druckstufe nicht darstellbar), (mmHg x 0,133 = kPa).

3.3.1.4 Gruppenübergreifender Vergleich der Gesamtdurchmesseränderungen ($\Delta\%$)

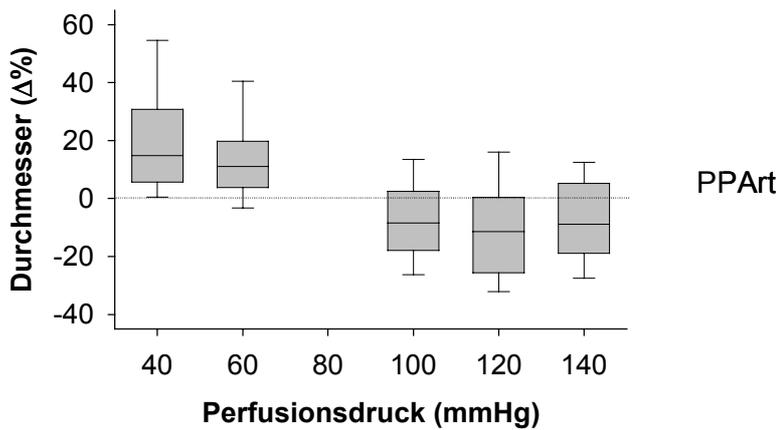


Abb. 27: Gesamtdurchmesseränderungen ($\Delta\%$) der Gefäße der Gruppe **PPArt** bei unterschiedlichen Perfusionsdrücken, $n = 6$, (mmHg $\times 0,133 =$ kPa).

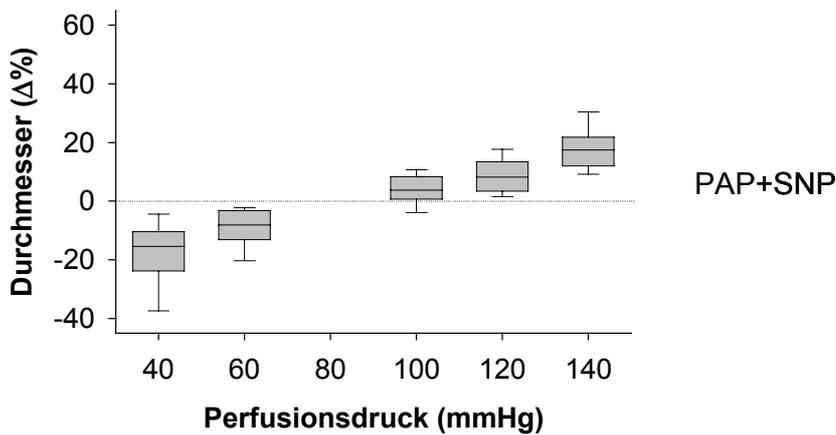


Abb. 28: Gesamtdurchmesseränderungen ($\Delta\%$) der Gefäße der Gruppe **PAP+SNP** bei unterschiedlichen Perfusionsdrücken, $n = 6$, (mmHg $\times 0,133 =$ kPa).

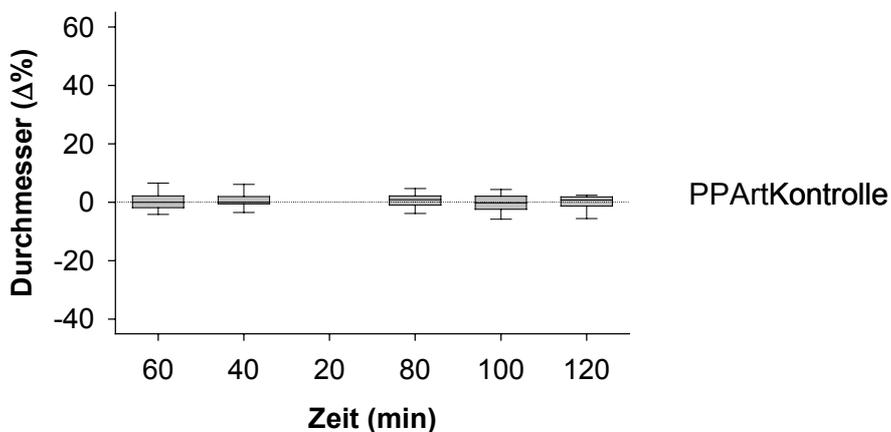


Abb. 29: Gesamtdurchmesseränderungen ($\Delta\%$) der Gefäße der Gruppe **PPArtKontrolle** bei konstantem Perfusionsdruck (80mmHg) über die Zeit, $n = 3$, (mmHg $\times 0,133 =$ kPa).

Die Abbildungen 27 bis 29 veranschaulichen die gruppenspezifischen Gesamtergebnisse der arteriölen Durchmesseränderungen zu den unterschiedlichen Protokollzeitpunkten (Median, Quartile und 5/95 %-Perzentile). Zu vergleichende Untersuchungsphasen der einzelnen Gruppen wurden untereinander angeordnet. Die zeitliche Reihenfolge lässt sich aus der x-Achse der Gruppe **PPartKontrolle** ersehen. Der Perfusionsdruck 80 mmHg entsprach in den Gruppen **PPart** und **PAP+SNP** dem Perfusionsdruck, während dessen die Ausgangsdurchmesser bestimmt wurden. Demzufolge befinden sich an diesen Stellen keine Datensymbole im Diagramm. Der Bereich oberhalb der Nulllinie zeigt prozentuale Durchmesserzunahmen, der Bereich unterhalb der Nulllinie prozentuale Durchmesserabnahmen.

In der Versuchsreihe **PPart** (Abb. 27) führte die Verminderung des Perfusionsdruckes im Mittel zu einer Dilatation der Arteriolen, welche bei einem Perfusionsdruck von 40 mmHg (Median: 14,8) deutlicher ausgeprägt war als bei 60 mmHg (Median: 11,0). In beiden Fällen liegen die 25 %-Perzentile oberhalb der Nulllinie, bei 40 mmHg trifft dies auch auf die 5 %-Perzentile zu. Die Streuung bei 40 mmHg ist größer als bei 60 mmHg. Die Erhöhung des Perfusionsdruckes führte im Mittel zu einer Konstriktion der Arteriolen, welche bei einem Perfusionsdruck von 120 mmHg deutlicher ausgeprägt war (Median: -11,4) als bei 100 mmHg (Median: -8,4). Die 75 %-Perzentile befinden sich während 120 mmHg Perfusionsdruck unterhalb der Nulllinie. Bei einem Perfusionsdruck von 140 mmHg liegt das Mittel der prozentualen Durchmesseränderung (Median: -8,9) oberhalb des dem Perfusionsdruck von 120 mmHg entsprechenden Wertes.

Eine Senkung des Perfusionsdruckes in der Versuchsgruppe **PAP+SNP** (Abb. 28) verursachte im Mittel eine passive Abnahme der Gefäßdurchmesser, während die Steigerung des Perfusionsdruckes zu einer Gefäßweitung mit passiver Zunahme der Gefäßdurchmesser führte. Die Streuung der Daten dieser Gruppe ist im Vergleich zur Gruppe **PPart** relativ gering, und es besteht eine Linearität bezüglich Perfusionsdruck und mittlerer prozentualer Durchmesseränderung: 40 mmHg: -15,4, 60 mmHg: -8,2, 100 mmHg: 3,8, 120 mmHg: 8,2, 140 mmHg: 17,5. Die 95 %-Perzentile befinden sich während Perfusionsdrucksenkung unterhalb der Nulllinie, die 25 %-Perzentile nach Perfusionsdrucksteigerung in allen drei Fällen oberhalb der Nulllinie. Dies trifft für die Perfusionsdrücke 120 mmHg und 140 mmHg auch für die 5 %-Perzentile zu.

In der Kontrollgruppe **PPartKontrolle** (Abb. 29) fanden bei konstantem Perfusionsdruck von 80 mmHg über den gesamten Versuchszeitraum von 120 Minuten im Mittel kaum Durchmesseränderungen statt. Während aller Versuchszeitpunkte ist die Streuung im Vergleich zu den ersten beiden Gruppen gering.

Der Vergleich der Gruppen untereinander mittels U-Tests ergab mit einer Ausnahme für alle Zeitpunkte eine deutlichere Differenz der Mediane als sie zufallsbedingt zu erwarten gewesen wäre. Bezüglich der Mediane der prozentualen Durchmesseränderungen der Gruppen **PPart** bei 140 mmHg und **PPartKontrolle** bei 120 Minuten konnte ein zufallsbedingter Unterschied nicht ausgeschlossen werden.

3.3.1.5 Vergleich der Gesamtdurchmesseränderungen innerhalb einer Gruppe nach Einteilung in Arteriolen mit einem Ausgangsdurchmesser $< 10 \mu\text{m}$ und $\geq 10 \mu\text{m}$

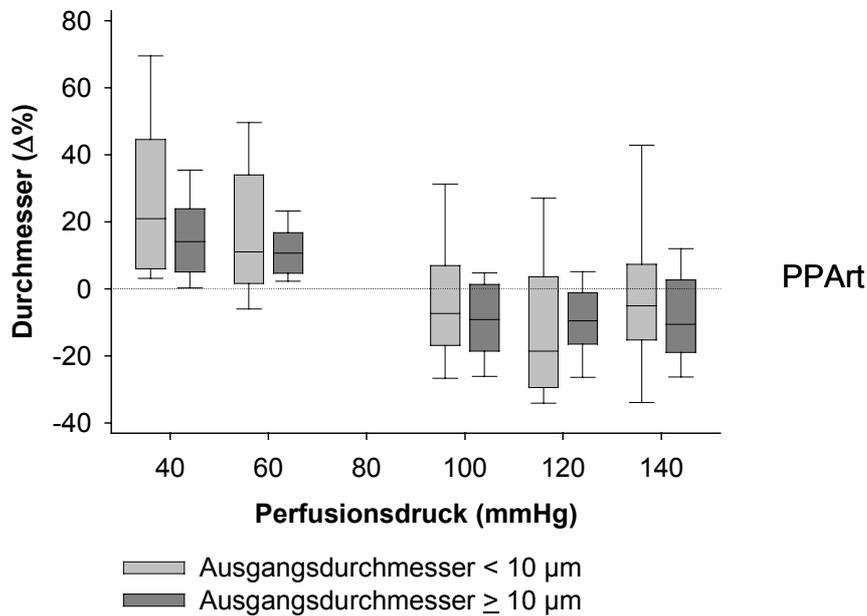


Abb. 30: Gesamtdurchmesseränderungen ($\Delta\%$) der Gefäße der Gruppe **PPArt** nach Einteilung aller Gefäße in zwei Größenklassen (Ausgangsdurchmesser $< 10 \mu\text{m}$ und $\geq 10 \mu\text{m}$), $n = 6$, ($\text{mmHg} \times 0,133 = \text{kPa}$).

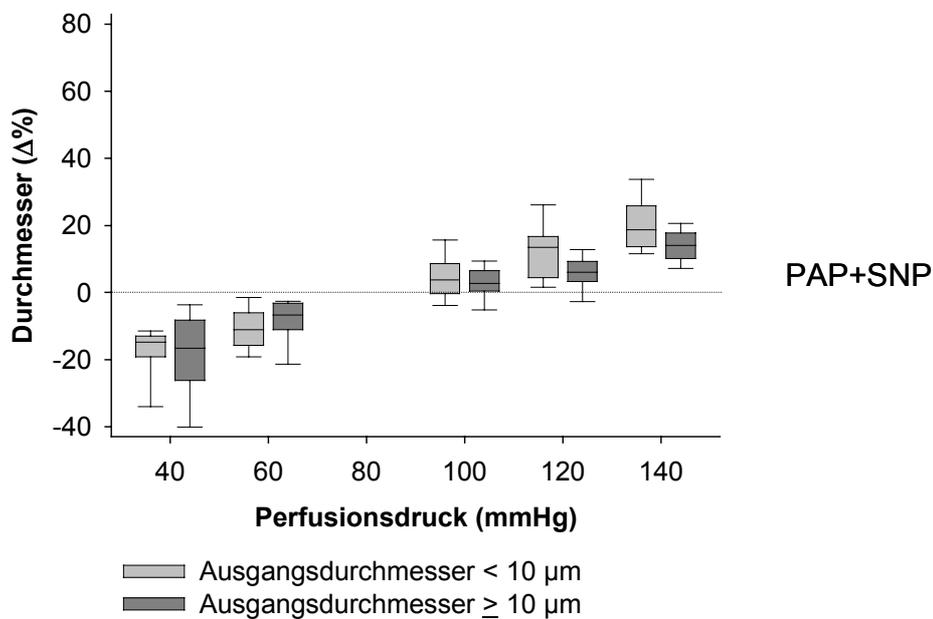


Abb. 31: Gesamtdurchmesseränderungen ($\Delta\%$) der Gefäße der Gruppe **PAP+SNP** nach Einteilung aller Gefäße in zwei Größenklassen (Ausgangsdurchmesser $< 10 \mu\text{m}$ und $\geq 10 \mu\text{m}$), $n = 6$, ($\text{mmHg} \times 0,133 = \text{kPa}$).

Die Abbildungen 30 (**PPArt**) und 31 (**PAP+SNP**) zeigen die gruppenspezifischen, prozentualen Durchmesseränderungen analog zu den Abbildungen 27 und 28 nach einer zusätzlichen Unterteilung aller Gefäße aufgrund ihrer Ausgangsdurchmesser in zwei Größenklassen (hellgrau $< 10 \mu\text{m}$, dunkelgrau $\geq 10 \mu\text{m}$). Diese Einteilung fand nach der Beurteilung der Streudiagramme statt, in denen Arteriolen mit Ausgangsdurchmessern $< 10 \mu\text{m}$ ausgeprägtere Durchmesseränderungen aufwiesen. Prozentuale Durchmesseränderungen ($\Delta\%$) der beiden Untergruppen werden auf der Ordinate zugehörig zum vorherrschenden Perfusionsdruck auf der Abszisse in Boxplots des Medians mit 5 % - und 95 % -Perzentilen dargestellt. Eine Zunahme des Gefäßdurchmessers zeigt sich oberhalb, eine Abnahme desselben unterhalb der Nulllinie. Die Reihenfolge der Druckänderung war mit 80, 60, 40, 100, 120 und 140 mmHg in den Gruppen **PPArt** und **PAP+SNP** identisch, und einander entsprechende Untersuchungsphasen werden untereinander dargestellt.

Da die Gesamtergebnisse der Gruppen **PPArt** und **PAP+SNP** schon zu den Abbildungen 27 und 28 beschrieben wurden, wird an dieser Stelle auf die Unterschiede der Größenklassen ($< 10 \mu\text{m}$ und $\geq 10 \mu\text{m}$ Ausgangsdurchmesser) eingegangen.

In der Gruppe **PPArt** zeigten Gefäße mit einem Ausgangsdurchmesser $< 10 \mu\text{m}$ bei allen Druckstufen eine größere Streuung, da einige Gefäße stärker, andere weniger stark reagierten und einzelne Ausreißerwerte die Verteilung mitbestimmten. Es wurden nach Verminderung des Perfusionsdruckes in den Kleinstgefäßen ($< 10 \mu\text{m}$ Ausgangsdurchmesser) Durchmesserzunahmen erreicht, die mehrfach über denen der größeren Gefäße ($\geq 10 \mu\text{m}$ Ausgangsdurchmesser) liegen. Die Zunahme des Perfusionsdruckes führte im Mittel in allen Fällen zu einer Gefäßkonstriktion, welche bei den größeren Gefäßen einheitlicher verlief als in den Kleinstgefäßen. Letztere zeigten im Vergleich zu größeren Arteriolen eine im Mittel ähnliche Konstriktion bei 100 mmHg, eine deutlichere Konstriktion bei 120 mmHg und eine geringere Durchmesserreduktion bei 140 mmHg.

Die Antworten der Gefäße in der Gruppe **PAP+SNP** waren passiv (Abb. 31). Die Streuung ist im Vergleich zur Gruppe **PPArt** geringer. In beiden Größenklassen ($< 10 \mu\text{m}$ und $\geq 10 \mu\text{m}$ Ausgangsdurchmesser) ist zwischen Änderung des Perfusionsdruckes und prozentualer Durchmesseränderung ($\Delta\%$) eine lineare Beziehung erkennbar.

3.3.1.6 Einzelflussverlauf, Steigung (b_1) und Regression (r^2) der Druck-Flussbeziehung innerhalb der Gruppen 'PPArt', 'PAP+SNP' und 'PPArtKontrolle'

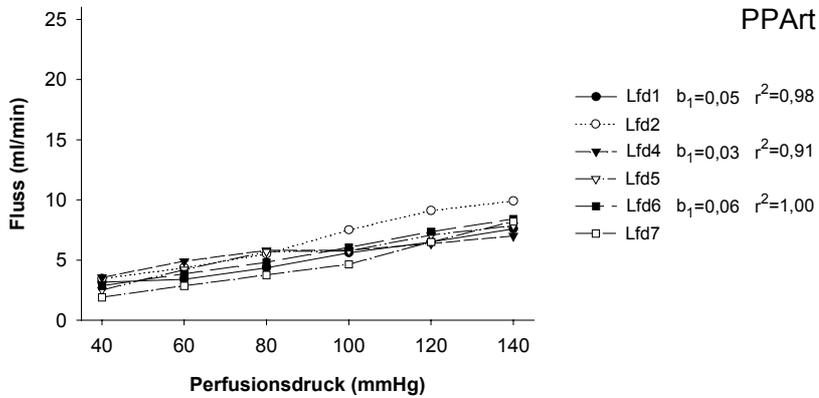


Abb. 32: Einzelflussverläufe der Gruppe **PPArt** bei unterschiedlichen Perfusionsdrücken, (mmHg x 0,133 = kPa).

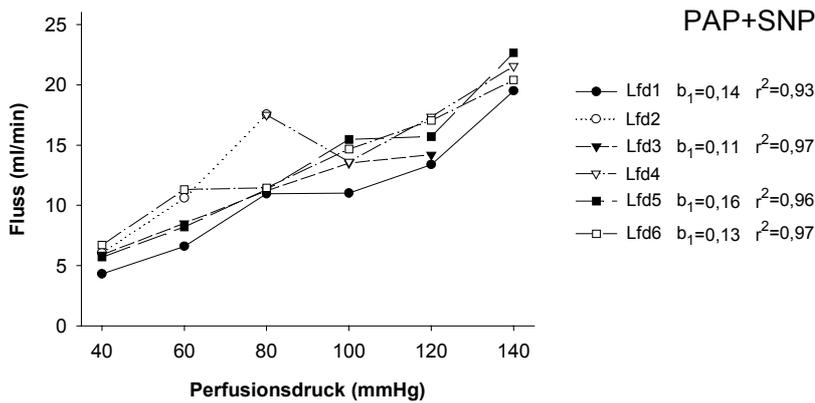


Abb. 33: Einzelflussverläufe der Gruppe **PAP+SNP** bei unterschiedlichen Perfusionsdrücken, (mmHg x 0,133 = kPa).

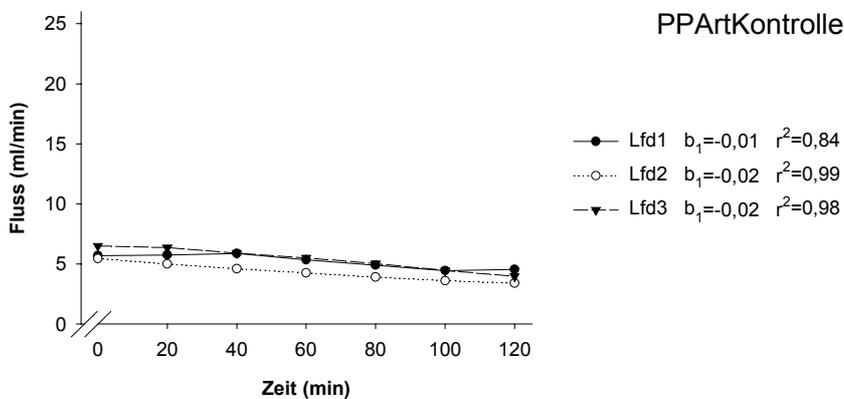


Abb. 34: Einzelflussverläufe der Gruppe **PPArtKontrolle** bei konstantem Perfusionsdruck (80mmHg) über die Zeit, (mmHg x 0,133 = kPa).

Die Abbildungen 32 bis 34 zeigen die Flussverläufe der einzelnen Versuche innerhalb der Gruppen **PPArt**, **PAP+SNP** und **PPArtKontrolle** mit dem Fluss (ml/min) auf der Ordinate und dem zeitlich entsprechenden Perfusionsdruck (mmHg) bzw. dem Zeitintervall (min) auf der Abszisse. Zusätzlich werden die Steigungskoeffizienten (b_1) und die Regressionen (r^2) derjenigen herzspezifischen Druck-Flussbeziehungen angegeben, bei denen technisch einwandfreie Werteangaben garantiert werden konnten. Während der Fluss in den einzelnen Versuchen der Gruppe **PPArtKontrolle** über 120 Minuten nahezu konstant blieb (Steigung im Mittel $-0,02 \pm 0,003$ ml/min/min ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)), kam es in der Gruppe **PPArt** mit zunehmendem Perfusionsdruck im Mittel zu einer Flusssteigung von $0,05 \pm 0,008$ ml/min/mmHg ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). Diese lag wesentlich unterhalb der Steigung der Gruppe **PAP+SNP**, welche im Mittel $0,13 \pm 0,011$ ml/min/mmHg ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) betrug. Die Daten weisen auf eine aktive myogene Reaktion der arteriölen Widerstandsgefäße in der Gruppe **PPArt** hin, um den Fluss unabhängig von Änderungen des Perfusionsdruckes annähernd konstant zu halten. Demgegenüber führte die Paralyse der Gefäße der Gruppe **PAP+SNP** zu Beginn der Rezirkulation zu passiven Antworten der Gefäße auf Änderungen des Perfusionsdruckes. Die passive Abnahme der Gefäßdurchmesser nach Verminderung des Perfusionsdruckes hatte eine deutliche Flussminderung zur Folge, während die Aufweitung der Gefäße infolge einer Steigerung des Perfusionsdruckes zu einer prominenten Flusszunahme führte.

Der Vergleich der Steigungsraten zwischen den drei Gruppen mittels t-Tests ergab in allen Fällen einen größeren Unterschied in den arithmetischen Mittelwerten als er durch Zufall erwartet worden wäre.

3.3.1.7 Berechnung der Widerstandsänderungen

Auf der Basis der ermittelten Gefäßdurchmesser wurden anhand folgender, vom Hagen-Poiseuille-Gesetz abgeleiteten Formel die einzelnen Gefäßwiderstandsänderungen ermittelt:

$$R_{\text{Gefäß}}(\Delta\%) = \left(\frac{D_{\text{Ausgang}}^4}{D_{\text{Stimulus}}^4} - 1 \right) \cdot 100$$

Durch den großen Einfluss des Durchmessers auf den Widerstand infolge vierfacher Potenzierung ist die Amplitude der Ordinatenkalierung wesentlich größer in diesen Darstellungen als in jenen der Durchmesseränderungen. An dieser Stelle sei angemerkt, dass sich auch nicht absolut auszuschließende Messfehler bei der Bestimmung der Gefäßdurchmesser stark auf die Ergebnisse dieser Widerstandsberechnung auswirken würden. Analog zu den Durchmesserdaten (Abb. 17 bis 31) zeigen die Abbildungen 35 bis 49 die Daten der auf Durchmesserermittlung beruhenden Widerstandsberechnungen. Die Streudiagramme demonstrieren prozentuale Widerstandsänderungen ($\Delta\%$) einzelner, arteriöler Mikrogefäße während unterschiedlicher Perfusionsdrücke der Gruppe **PPArt** (Abb. 35 bis 39) und **PAP+SNP** (Abb. 40 bis 44). In den Abbildungen 45 bis 47 werden prozentuale Widerstandsänderungen gruppenspezifisch pro Perfusionsdruck zusammengefasst durch die Darstellung von Median, Quartilen und 5/95 %-Perzentilen. Die Abbildungen 48 und 49 verdeutlichen gruppenspezifische, prozentuale Widerstandsänderungen nach der Einteilung aller Gefäße in zwei Größenklassen mit einem Ausgangsdurchmesser $< 10 \mu\text{m}$ bzw. $\geq 10 \mu\text{m}$. Nimmt der Durchmesser eines Gefäßes zu, bedeutet dies eine Verringerung des Gefäßwiderstandes, während die Verminderung des Durchmessers eine Widerstandserhöhung des Gefäßes darstellt. Vergleicht man die Darstellungen der Druckänderungen mit denen der Widerstandsänderungen, wird die inverse Relation zu den Ausgangsdurchmessern deutlich.

3.3.1.8 Widerstandsänderungen der Einzelgefäße während unterschiedlicher Perfusionsdrücke innerhalb der Gruppe 'PPArt'

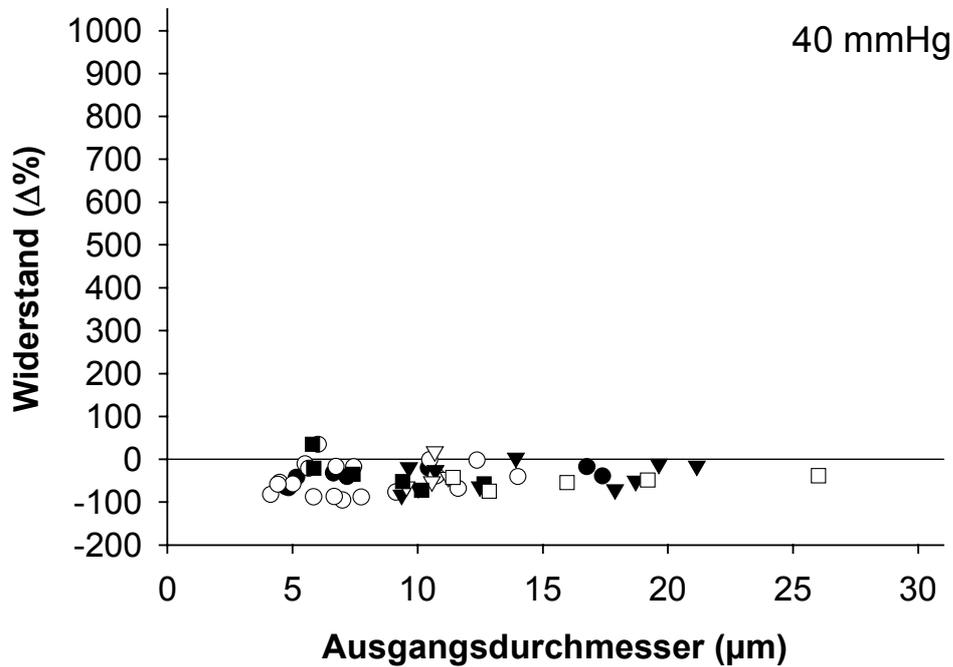


Abb. 35: Widerstandsänderungen einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PPArt** bei vermindertem Perfusionsdruck (40mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen), (mmHg x 0,133 = kPa).

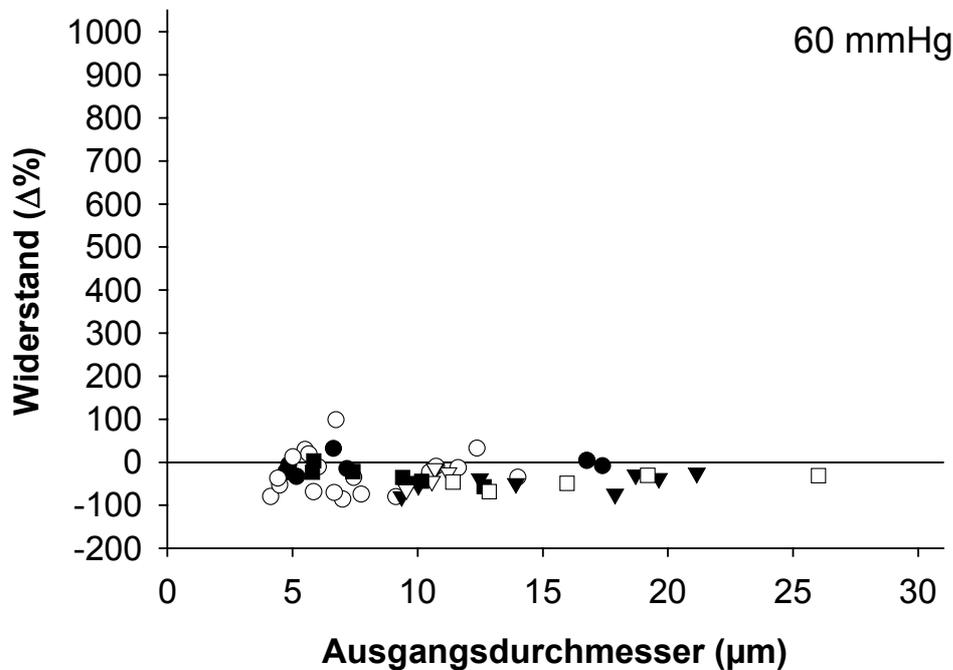


Abb. 36: Widerstandsänderungen einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PPArt** bei vermindertem Perfusionsdruck (60mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen), (mmHg x 0,133 = kPa).

Die Streudiagramme der Abbildungen 35 bis 39 zeigen die prozentualen Widerstandsänderungen einzelner, arteriöler Mikrogefäße während unterschiedlicher Perfusionsdrücke innerhalb der Gruppe **PPArt**. Einzelne Symbole zeigen analog zur Darstellung der prozentualen Durchmesseränderungen Zugehörigkeiten zu den einzelnen Herzen mit der prozentualen Widerstandsänderung auf der Ordinate und dem zugrundeliegenden Ausgangsdurchmesser auf der Abszisse. Es wird deutlich, dass durch die aktive Dilatation der Gefäße der Gruppe **PPArt** nach Verminderung des Perfusionsdruckes der Widerstand sank, während die Erhöhung des Perfusionsdruckes in den meisten Fällen zur aktiven Gefäßkonstriktion mit Steigerung des Widerstandes führte. Für eine bessere Vergleichbarkeit sind die Skalierungen aller Streudiagramme identisch. Dadurch wurde in Abbildung 39 (140 mmHg) folgender Wert nicht graphisch erfasst: Ausgangsdurchmesser = 10,48 μm , $R(\Delta\%) = 1861$.

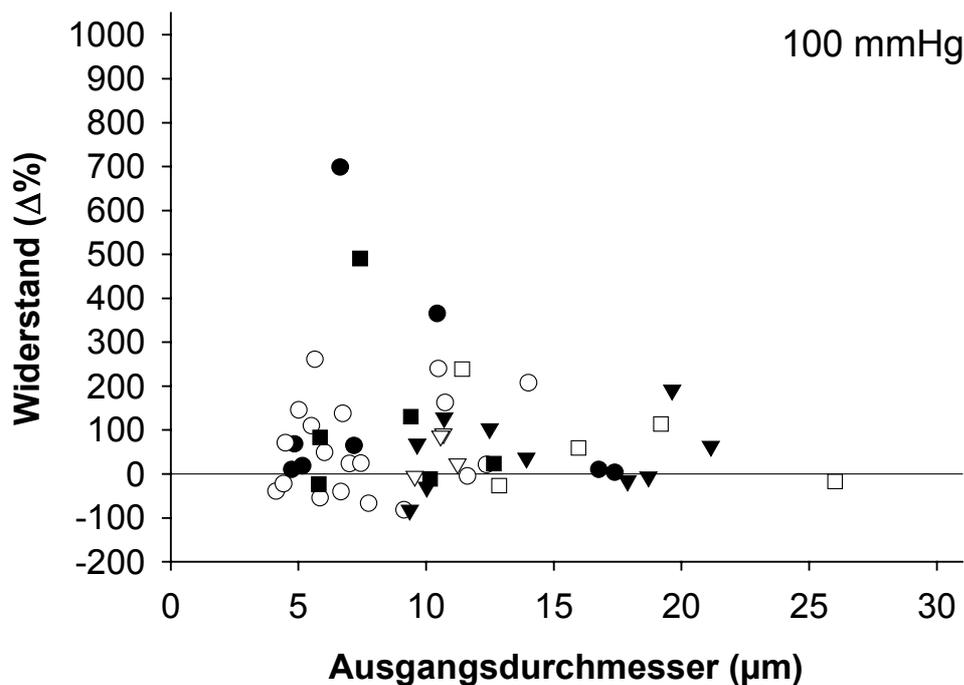


Abb. 37: Widerstandsänderungen einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PPArt** bei gesteigertem Perfusionsdruck (100 mmHg), $n = 6$, (Symbole = Herzen), (mmHg $\times 0,133 = \text{kPa}$).

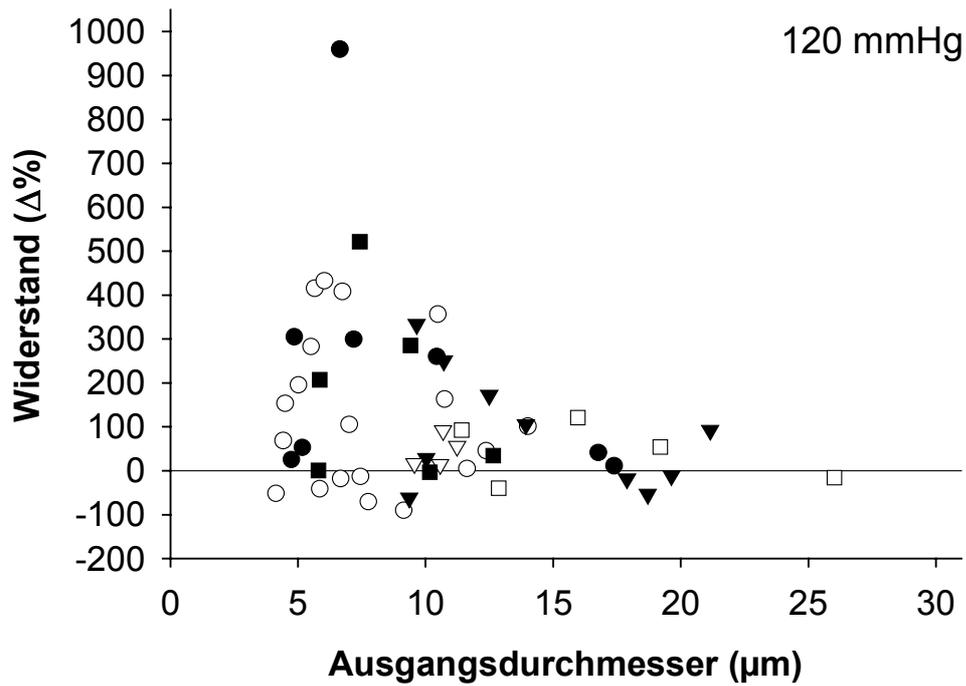


Abb. 38: Widerstandsänderungen einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PPArt** bei gesteigertem Perfusionsdruck (120 mmHg), $n = 6$, (Symbole = Herzen), (mmHg $\times 0,133 = \text{kPa}$).

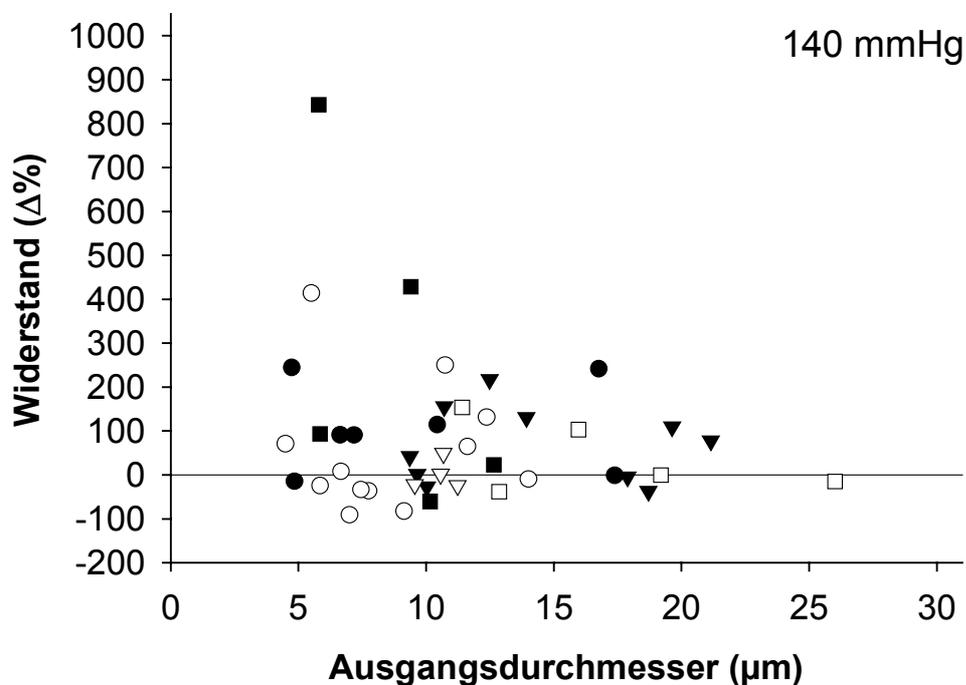


Abb. 39: Widerstandsänderungen einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PPArt** bei gesteigertem Perfusionsdruck (140 mmHg), $n = 6$, (Symbole = Herzen), (mmHg $\times 0,133 = \text{kPa}$).

3.3.1.9 Widerstandsänderungen der Einzelgefäße während unterschiedlicher Perfusionsdrücke innerhalb der Gruppe 'PAP+SNP'

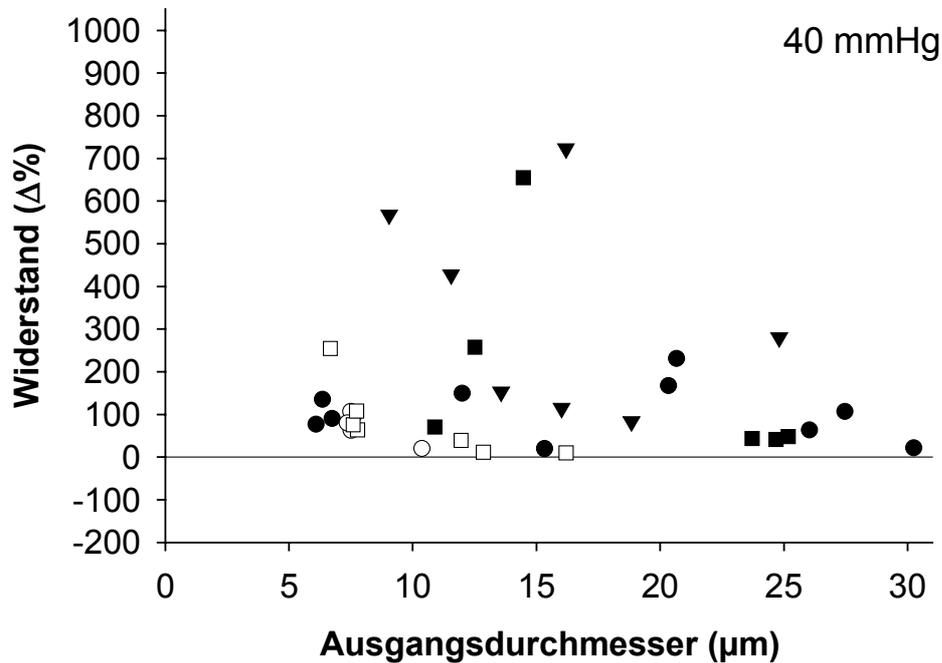


Abb. 40: Widerstandsänderungen einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PAP+SNP** bei vermindertem Perfusionsdruck (40 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen; die Gefäße des Herzens ▽ waren nach Drucksenkung nicht darstellbar), (mmHg x 0,133 = kPa).

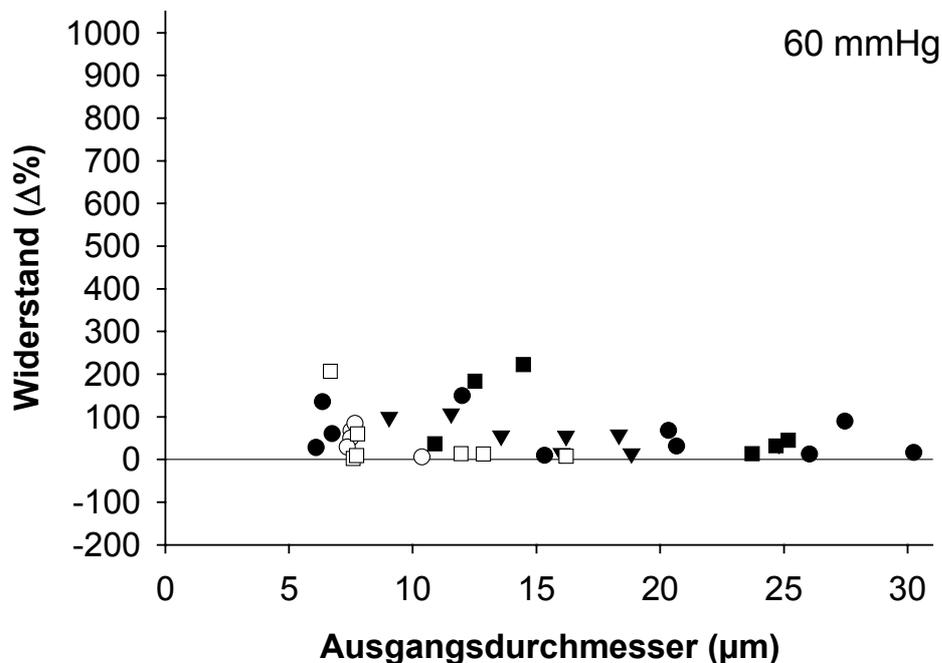


Abb. 41: Widerstandsänderungen einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PAP+SNP** bei vermindertem Perfusionsdruck (60 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen; die Gefäße des Herzens ▽ waren nach Drucksenkung nicht darstellbar), (mmHg x 0,133 = kPa).

Die Abbildungen 40 bis 44 demonstrieren die prozentualen Widerstandsänderungen ($\Delta\%$) der Einzelgefäße der Gruppe **PAP+SNP** während unterschiedlicher Perfusionsdrücke. Analog zur Gruppe **PPart** werden Gefäße desselben Herzens durch einheitliche Symbole dargestellt. Die passiven Antworten der Gefäße dieser Gruppe auf Änderungen des Perfusionsdruckes zeigen sich in einheitlichen Widerstandssteigerungen nach Senkung des Perfusionsdruckes (Abb. 40, 41) und Verminderungen der überwiegenden Zahl der Einzelwiderstände nach Steigerung des Perfusionsdruckes (Abb. 42 bis 44). Durch die einheitliche Skalierung der Ordinate zum Zweck der besseren Vergleichbarkeit wird folgendes Gefäß in Abbildung 40 (40 mmHg) nicht graphisch erfasst: Ausgangsdurchmesser = 18,33 μm , Widerstandsänderung = 1180 %.

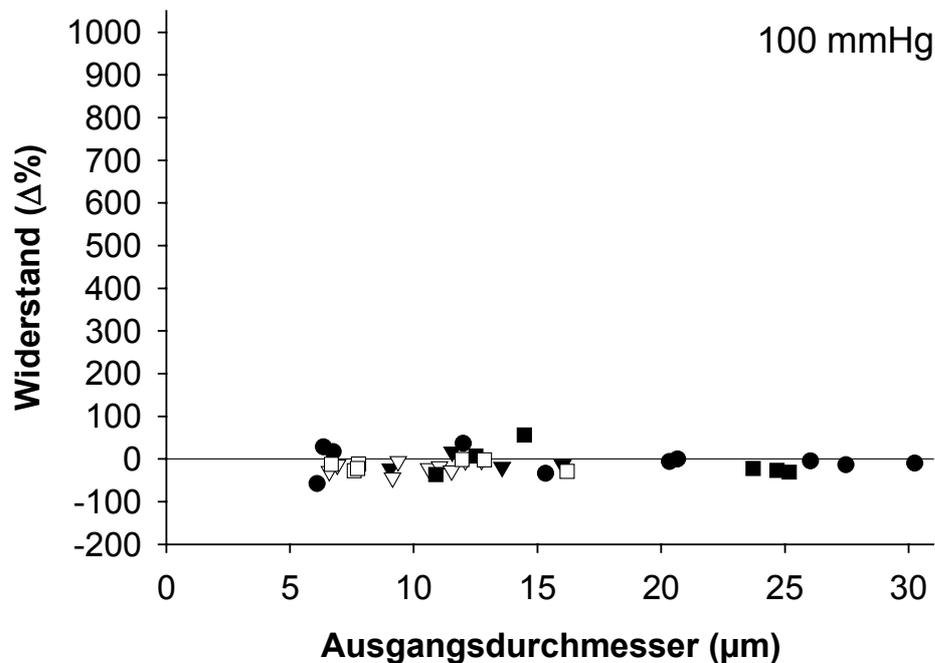


Abb. 42: Widerstandsänderungen einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PAP+SNP** bei gesteigertem Perfusionsdruck (100 mmHg), $n = 6$, (Symbole = Herzen; die Gefäße des Herzens o waren nach Druckerhöhung nicht darstellbar), (mmHg $\times 0,133 = \text{kPa}$).

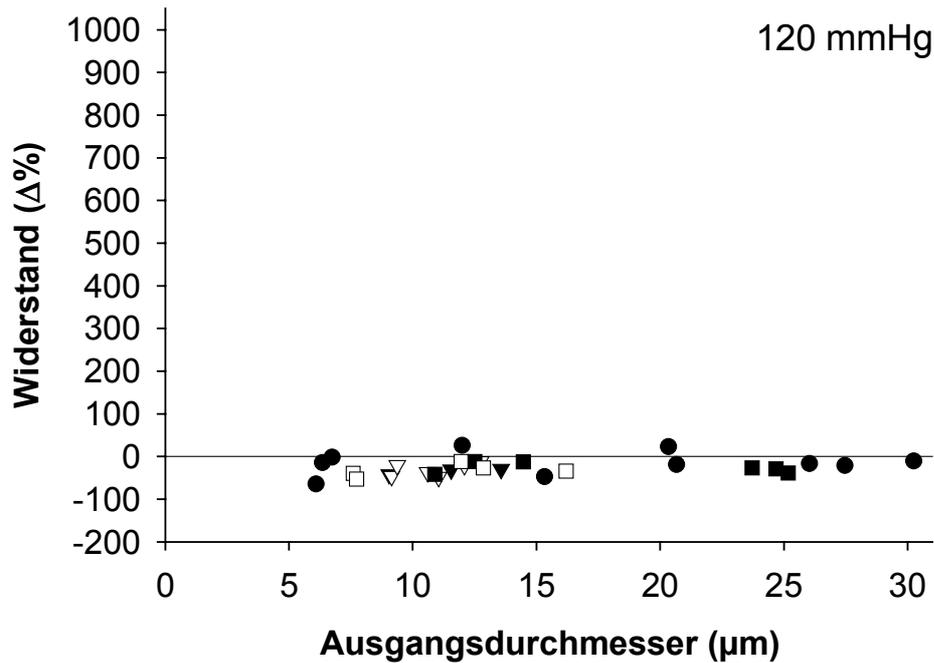


Abb. 43: Widerstandsänderungen einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PAP+SNP** bei gesteigertem Perfusionsdruck (120 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen; die Gefäße des Herzens o waren nach Druckerhöhung nicht darstellbar), (mmHg x 0,133 = kPa).

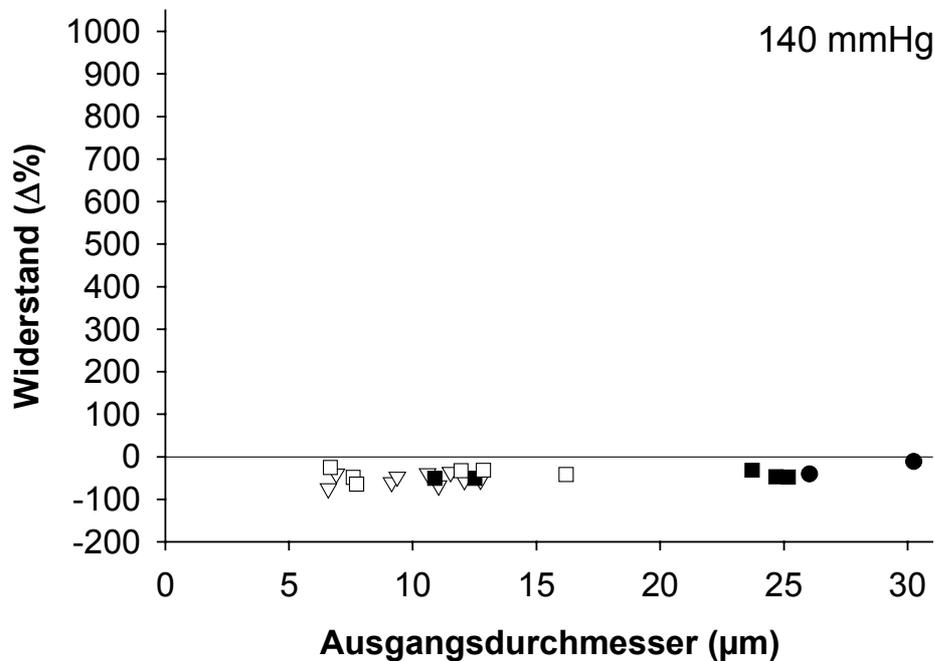


Abb. 44: Widerstandsänderungen einzelner, koronarer Arteriolen der Gruppe **PAP+SNP** bei gesteigertem Perfusionsdruck (140 mmHg), n = 6, (Symbole = Herzen; die Gefäße der Herzen ▼ und o waren während dieser Druckstufe nicht darstellbar), (mmHg x 0,133 = kPa).

3.3.1.10 Gruppenübergreifender Vergleich der Gesamtwiderstandsänderungen ($\Delta\%$)

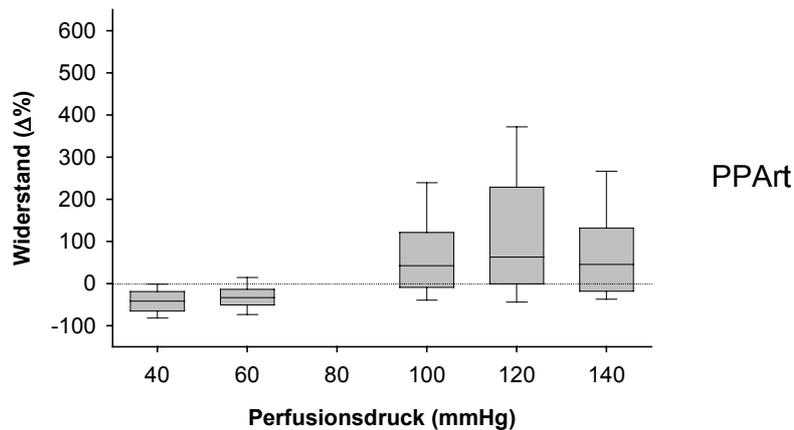


Abb. 45: Gesamtwiderstandsänderungen ($\Delta\%$) der Gefäße der Gruppe **PPArt** bei unterschiedlichen Perfusionsdrücken, $n = 6$, ($\text{mmHg} \times 0,133 = \text{kPa}$).

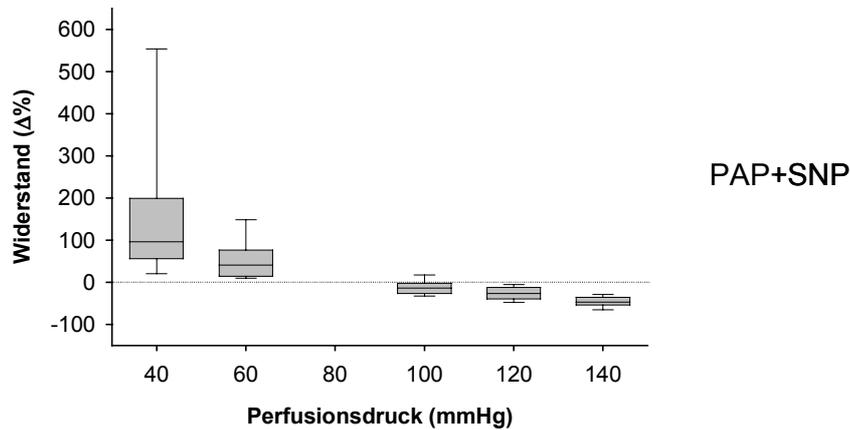


Abb. 46: Gesamtwiderstandsänderungen ($\Delta\%$) der Gefäße der Gruppe **PAP+SNP** bei unterschiedlichen Perfusionsdrücken, $n = 6$, ($\text{mmHg} \times 0,133 = \text{kPa}$).

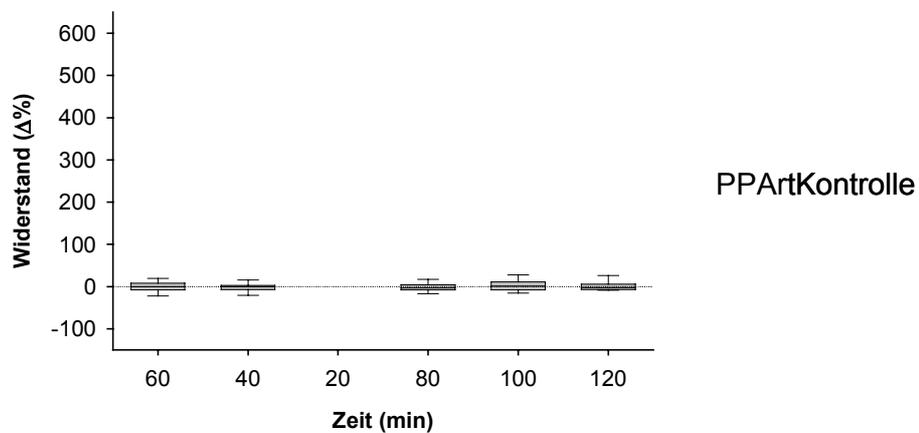


Abb. 47: Gesamtwiderstandsänderungen ($\Delta\%$) der Gefäße der Gruppe **PPArtKontrolle** bei konstantem Perfusionsdruck (80 mmHg) über die Zeit, $n = 3$, ($\text{mmHg} \times 0,133 = \text{kPa}$).

Dem gruppenübergreifenden Vergleich der prozentualen Durchmesseränderungen in den Abbildungen 27 bis 29 entsprechend zeigen die Abbildungen 45 bis 47 prozentuale Gesamtwiderstandsänderungen der Gruppen **PPArt**, **PAP+SNP** und **PPArtKontrolle**.

Innerhalb der Gruppe **PPArt** führte die Verminderung des Perfusionsdruckes zu einer relativ einheitlichen Verminderung der Widerstände der beobachteten Arteriolen, die bei 40 mmHg deutlicher ausgeprägt war als bei 60 mmHg. Die Erhöhung des Perfusionsdruckes führte zu einer Zunahme der Gefäßwiderstände, die sich bei 120 mmHg mit größerer Streuung im Mittel deutlicher darstellte als bei 100 mmHg. Bei einem Perfusionsdruck von 140 mmHg sank der Gefäßwiderstand im Mittel unter den zu PP 120 mmHg berechneten Wert.

Die Gruppe **PAP+SNP** zeigt insgesamt eine im Vergleich weniger starke Streuung der Widerstandsverteilung. Die deutlichste Streuung besteht bei einem Perfusionsdruck von 40 mmHg. Sie ist auf einzelne Ausreißerwerte zurückzuführen. Die prozentuale Widerstandsänderung nimmt in dieser Gruppe linear mit zunehmendem Perfusionsdruck ab. Dies verdeutlicht erneut die zu den prozentualen Durchmesseränderungen beschriebene passive Antwort auf veränderte Perfusionsdrücke, d.h. das sich passive Annähern der Gefäßwände bei vermindertem Perfusionsdruck und das passive Aufweiten derselben infolge Druckerhöhungen.

Die Gefäße der Gruppe **PPArtKontrolle** zeigten während 120 Minuten bei konstantem Perfusionsdruck von 80 mmHg nahezu keine Widerstandsänderungen (Abb. 47).

Die Abbildungen 48 und 49 zeigen prozentuale Widerstandsänderungen nach Einteilung der zugrundegelegten Durchmesserdaten in Gefäße mit Ausgangsdurchmessern $< 10 \mu\text{m}$ und $\geq 10 \mu\text{m}$.

Eine aktive Dilatation nach Perfusionsdrucksenkung und somit Widerstandsminderung findet in beiden Segmenten statt und ist bei PP 40 mmHg im Kleinstsegment deutlicher ausgeprägt in der Gruppe **PPArt** (Abb. 48). Die Steigerung des Perfusionsdruckes führt zu einer deutlicheren Streuung der prozentualen Widerstandsänderungen. Gefäße mit einem Ausgangsdurchmesser $\geq 10 \mu\text{m}$ zeigen insgesamt und im Mittel eine relativ einheitliche Verteilung der prozentualen Widerstandsänderung nach Erhöhungen des Perfusionsdruckes. Im Segment mit Ausgangsdurchmessern $< 10 \mu\text{m}$ ist bei 120 mmHg und 140 mmHg eine stärkere Streuung zu beobachten. Das Mittel liegt bei 120 mmHg etwa doppelt so hoch und bei 140 mmHg unterhalb des Medians des Gefäßsegmentes mit höheren Ausgangsdurchmessern.

Die Paralyse der Gefäßmuskulatur in der Gruppe **PAP+SNP** (Abb. 49) führte zu einer gleichsinnigen einheitlichen Widerstandsänderung. Bei einem Perfusionsdruck von 40 mmHg fällt die hohe Streuung des Segmentes der Gefäße mit einem Ausgangsdurchmesser $\geq 10 \mu\text{m}$ ins Auge. Der Grund dafür ist das schon beschriebene Ausreißergefäß mit einem Ausgangsdurchmesser von $18,33 \mu\text{m}$ und einer prozentualen Widerstandsänderung von 1180 %.

3.3.1.11 Vergleich der Gesamtwiderstandsänderungen innerhalb einer Gruppe nach Einteilung in Arteriolen mit einem Ausgangsdurchmesser $< 10 \mu\text{m}$ und $\geq 10 \mu\text{m}$

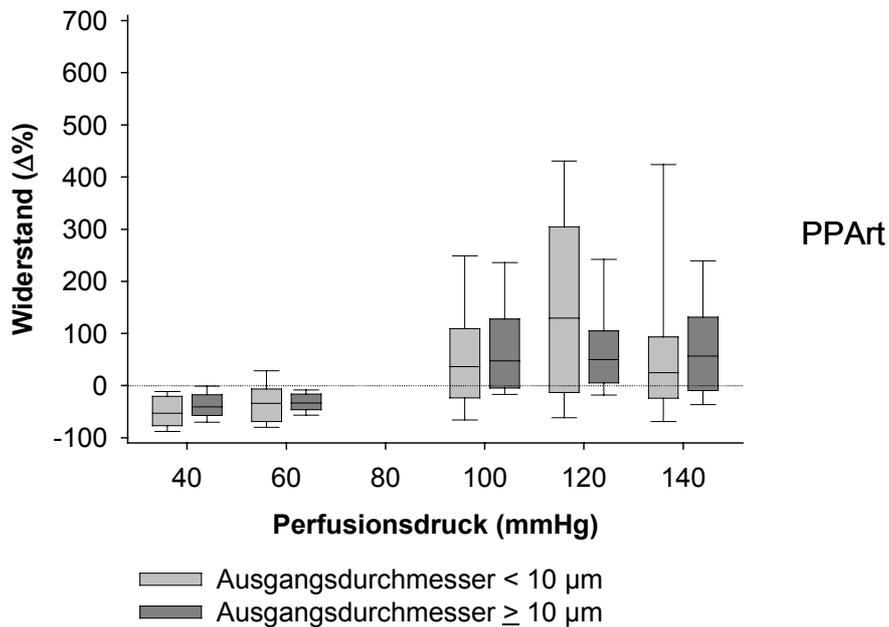


Abb. 48: Gesamtwiderstandsänderungen ($\Delta\%$) der Gefäße der Gruppe **PPArt** nach Einteilung aller Gefäße in zwei Größenklassen (Ausgangsdurchmesser $< 10 \mu\text{m}$ und $\geq 10 \mu\text{m}$), $n = 6$, ($\text{mmHg} \times 0,133 = \text{kPa}$).

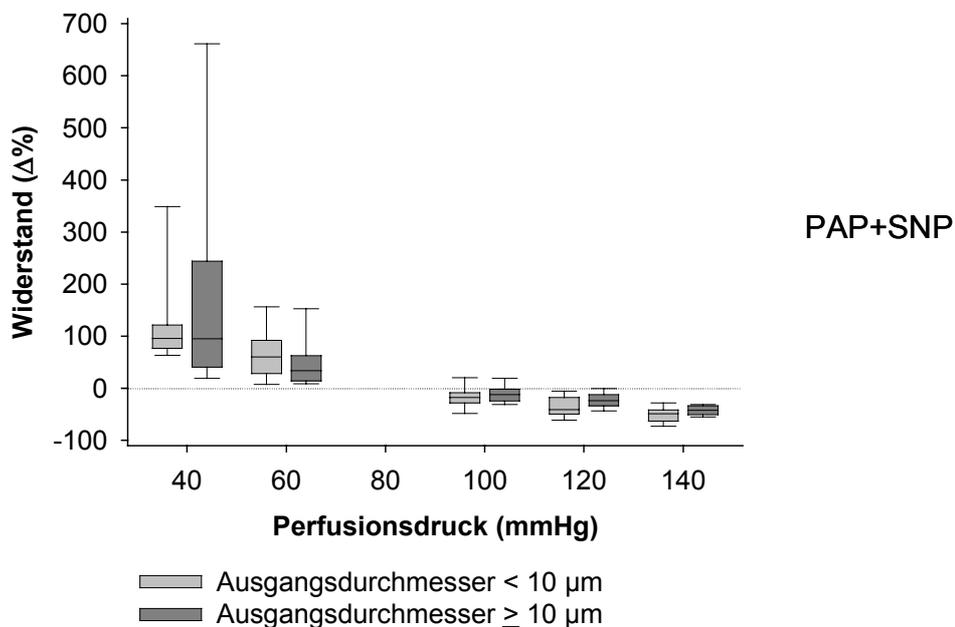


Abb. 49: Gesamtwiderstandsänderungen ($\Delta\%$) der Gefäße in der Gruppe **PAP+SNP** nach Einteilung aller Gefäße in zwei Größenklassen (Ausgangsdurchmesser $< 10 \mu\text{m}$ und $\geq 10 \mu\text{m}$), $n = 6$, ($\text{mmHg} \times 0,133 = \text{kPa}$).

In den eingangs beschriebenen Untersuchungsmethoden wurden jeweils nur die lokalen Effekte auf die epikardialen Gefäßdurchmesser ohne Beziehung zu Änderungen des gesamten Koronarflusses bzw. des koronaren Gefäßwiderstandes bestimmt. Da die Kenntnis der Veränderungen des gesamten koronarvaskulären Widerstandes aber unerlässlich für die korrekte Interpretation der Relevanz von lokalen Änderungen in einzelnen Gefäßsegmenten ist, wurden die Gesamtwiderstandsänderungen einzelner Herzen mittels Ohm-Gesetz berechnet und den auf Grund von Durchmesserbestimmungen berechneten Widerstandsänderungen des beobachteten Gefäßsegmentes gegenübergestellt. Der Widerstandsberechnung der Gesamt Herzen liegen die Herzen Lfd1, Lfd4 und Lfd6 (Abb. 32) der Gruppe **PPart** zugrunde, da diesbezüglich technisch einwandfreie Werteangaben garantiert werden konnten ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). Diese wurden mit den auf Durchmesserbestimmung beruhenden, berechneten Widerstandsänderungen gleicher Herzen verglichen (Median), und sind in Tabelle 12 dargestellt.

Perfusionsdruck (mmHg)	40	60	100	120	140
	Widerstand ($\Delta\%$)				
$R = \frac{\Delta P}{Q}$	-15,5 $\pm 3,63$	-8,2 $\pm 1,42$	6,0 $\pm 10,41$	11,0 $\pm 14,59$	13,9 $\pm 17,25$
$R_{Gefäß} (\Delta\%) = \left(\frac{D_{Ausgang}^4}{D_{Stimulus}^4} - 1 \right) \cdot 100$	-40,1	-31,2	49,5	72,4	90,7

Tab. 12: Vergleich der Gesamtwiderstandsänderung ($\Delta\%$) der Herzen Lfd1, Lfd4 und Lfd6 der Gruppe **PPart** mit der Widerstandsänderung ($\Delta\%$), die aus den Durchmesserdaten derselben Herzen berechnet wurde, bei unterschiedlichen Perfusionsdrücken, (mmHg x 0,133 = kPa).

Der Vergleich der Daten macht deutlich, dass das Ausmaß der prozentualen Widerstandsänderungen im untersuchten, präkapillären Gefäßsegment während aller Druckstufen wesentlich größer war als die Gesamtwiderstandsänderung der Herzen. Dies verdeutlicht einen enormen Einfluss kleinster Arteriolen auf die Durchblutungsregulation und somit einen erheblichen Anteil an der Regulation des Gesamtwiderstands nach Änderung des Perfusionsdruckes.

3.3.2 Untersuchungen von Venolen – Hypothese 2

Zur Überprüfung der Hypothese, dass ein stufenweise erhöhter, rechter Vorhofdruck und damit koronarvenöser Druck einen Einfluss auf die venolären Durchmesser besitzt, wurden zwei Versuchsgruppen untersucht.

In der ersten Gruppe, **Venolen**, wurde der Druck des rechten Vorhofes stufenweise erhöht. Als Kontrollgruppe dienten die Durchmesser der zweiten Gruppe, **KontrolleVenolen**, bei konstantem Druck von 0 cmH₂O über einen identischen Versuchszeitraum.

3.3.2.1 Gemessene und berechnete hämodynamische und metabolische Parameter

Tab. 13: Gemessene und berechnete hämodynamische und metabolische Parameter der Gruppe **Venolen** ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), n = 5, (cmH₂O x 0,098 = kPa).

Soll-Druck im re. Vorhof	Rezirkulationsphase Venolen						
	0 cmH ₂ O	5 cmH ₂ O	10 cmH ₂ O	15 cmH ₂ O	20 cmH ₂ O	25 cmH ₂ O	30 cmH ₂ O
PP (mmHg)	80,2 ± 4,99	82,8 ± 6,74	88,8 ± 6,26	90,4 ± 7,09	97,1 ± 8,21	102,6 ± 9,93	119,8 ± 2,53
Q (ml/min)	6,0 ± 0,67	6,0 ± 0,66	6,0 ± 0,66	6,0 ± 0,67	6,1 ± 0,66	6,0 ± 0,69	6,2 ± 0,83
pH	7,39 ± 0,019	7,40 ± 0,008	7,42 ± 0,018	7,42 ± 0,016	7,41 ± 0,020	7,41 ± 0,022	7,42 ± 0,018
pO ₂ (mmHg)	622 ± 18,1	606 ± 17,8	630 ± 18,5	597 ± 12,7	594 ± 23,2	569 ± 41,6	576 ± 22,5
pCO ₂ (mmHg)	23,8 ± 0,66	23,0 ± 0,90	22,8 ± 0,94	22,1 ± 0,52	22,6 ± 0,79	21,5 ± 1,46	21,3 ± 1,28
O ₂ -Angebot (µl/min)	120 ± 17,1	115 ± 13,2	126 ± 24,7	120 ± 25,1	120 ± 22,9	109 ± 16,7	112 ± 13,1

Die Tabellen 13 und 14 zeigen die hämodynamischen und metabolischen Parameter der Versuchsgruppen **Venolen** und **KontrolleVenolen** während einzelner Untersuchungsphasen. Zwischen dem Ende der Stabilisierungsphase vor der Arretierung und 15 Minuten nach Arretierung während der Rezirkulation sank der Fluss in den Herzen (Gruppe **Venolen** und **KontrolleVenolen**) im Mittel von 10,2 ± 0,91 ml/min auf 5,6 ± 0,72 ml/min ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$). Ein Herz wurde diesbezüglich aufgrund des fehlenden Wertes vor der TTX-Administration nicht berücksichtigt. Auffällig ist der Druckanstieg (PP) während des konstanten Flusses in der Gruppe **KontrolleVenolen**.

Tab. 14: Gemessene und berechnete hämodynamische und metabolische Parameter der Gruppe **KontrolleVenolen** ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), n = 4, (cmH₂O x 0,098 = kPa).

	Rezirkulationsphase Kontrolle Venolen (rechter Vorhofdruck konstant 0cmH₂O)						
nach min	15	30	45	60	75	90	105
PP (mmHg)	72,8 ± 4,90	77,6 ± 4,46	83,5 ± 4,38	87,9 ± 5,47	101,2 ± 7,87	104,1 ± 9,88	114,6 ± 13,11
Q (ml/min)	5,1 ± 1,26	5,2 ± 1,28	5,1 ± 1,24	5,0 ± 1,19	5,5 ± 1,18	5,5 ± 1,26	5,0 ± 1,99
pH	7,39 ± 0,007	7,39 ± 0,009	7,38 ± 0,010	7,38 ± 0,006	7,40 ± 0,011	7,40 ± 0,016	7,41 ± 0,008
pO ₂ (mmHg)	692 ± 11,0	711 ± 5,1	688 ± 34,3	713 ± 6,7	716 ± 10,9	693 ± 1,4	731 ± n.d.
pCO ₂ (mmHg)	23,6 ± 0,45	24,1 ± 0,59	24,8 ± 0,35	23,6 ± 0,34	22,9 ± 0,18	22,6 ± 0,25	22,8 ± 0,65
O ₂ -Angebot (µl/min)	112 ± 27,8	115 ± 28,2	103 ± 37,7	113 ± 26,3	123 ± 26,0	106 ± 40,3	161 ± n.d.

3.3.2.2 Durchmesseränderungen der Einzelgefäße während unterschiedlicher Drücke des rechten Vorhofs innerhalb der Gruppe 'Venolen'

Die Abbildungen 50 bis 55 zeigen Durchmesserantworten einzelner, venolärer Gefäße innerhalb der Gruppe **Venolen** auf steigende Drücke des rechten Vorhofs. Gefäße, die an identischen Herzen untersucht wurden, sind mit gleichem Symbol abgebildet. Ausgangsdurchmesser (µm) sind auf der Abszisse, prozentuale Durchmesseränderungen (Δ%) auf der Ordinate dargestellt. In einem Organ (offene Dreiecke) wurden ausnahmslos Gefäße mit Ausgangsdurchmessern zwischen 40 µm und 110 µm beurteilt. Werte oberhalb der Nulllinie beschreiben Zunahmen des Gefäßdurchmessers, solche unterhalb der Nulllinie Abnahmen desselben. Die Erhöhung der Wassersäule auf 5 und 10 cmH₂O steigerte den Durchmesser der meisten Gefäße, während einzelne Gefäße verminderte Durchmesser aufwiesen. Mit zunehmender Erhöhung der Wassersäule stiegen die Anzahl und das Ausmaß der Durchmesserzunahme. Insgesamt zeigten die kleineren Gefäße bei allen Druckstufen deutlichere Durchmesserzunahmen als die Gefäße des Versuches mit Ausgangsdurchmessern > 40 µm.

Die Untersuchung der Rohdaten der Gruppe **Venolen** mittels Wilcoxon-Tests ergab, dass die Durchmesseränderung infolge Modifizierung des rechten Vorhofdruckes während aller Druckstufen ausgeprägter war, als es zufallsbedingt zu erwarten gewesen wäre.

Der Vergleich der Gruppen **Venolen** und **KontrolleVenolen** untereinander während sich entsprechender Untersuchungszeitpunkte mittels U-Tests ergab für alle Zeitpunkte eine deutlichere Differenz der Mediane als sie zufallsbedingt zu erwarten gewesen wäre.

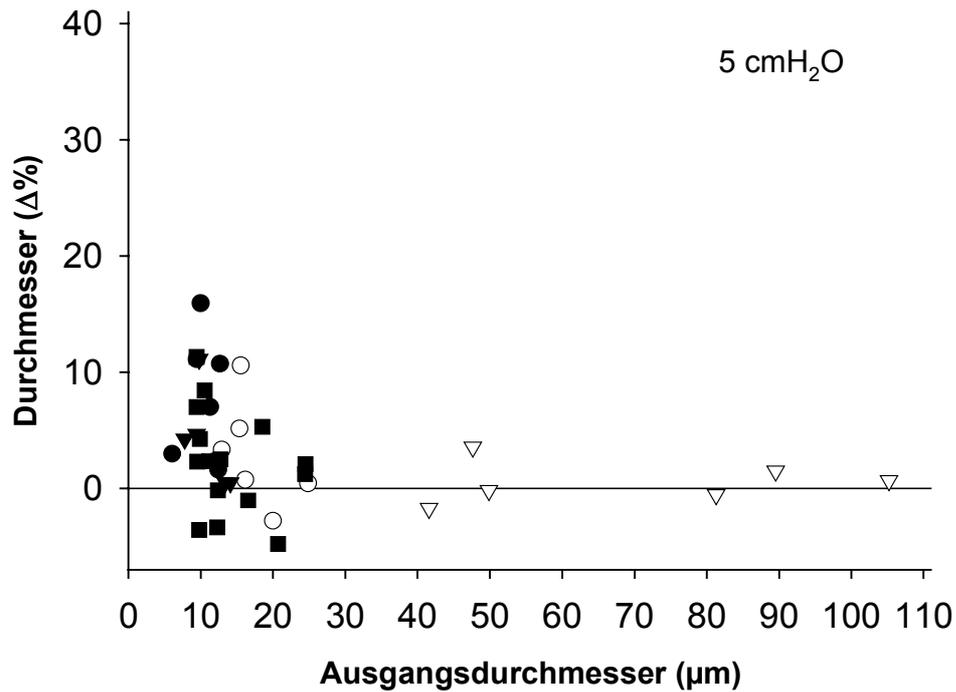


Abb. 50: Prozentuale Durchmesseränderung koronarer, postkapillärer Venolen auf einen gesteigerten Druck des rechten Vorhofes (5 cmH₂O), n = 5, (Symbole = Herzen), (cmH₂O x 0,098 = kPa).

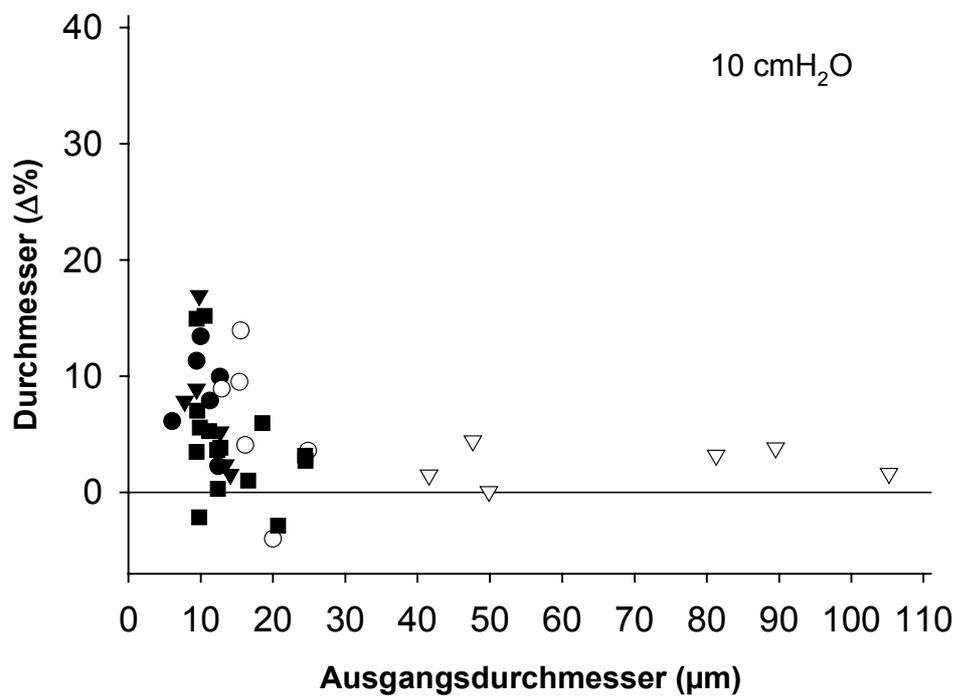


Abb. 51: Prozentuale Durchmesseränderung koronarer, postkapillärer Venolen auf einen gesteigerten Druck des rechten Vorhofes (10 cmH₂O), n = 5, (Symbole = Herzen), (cmH₂O x 0,098 = kPa).

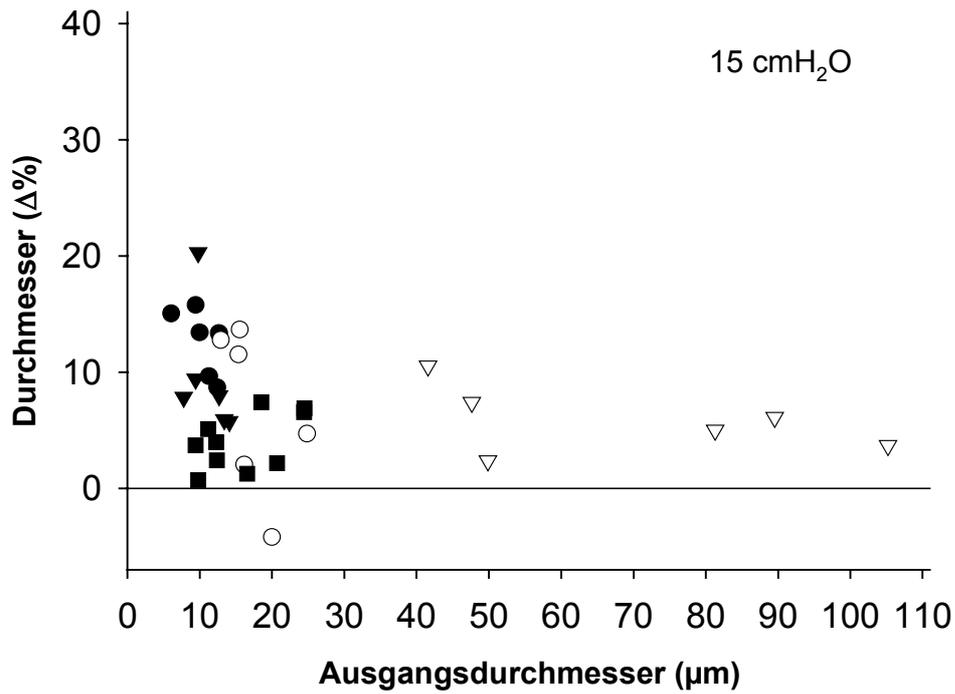


Abb. 52: Prozentuale Durchmesseränderung koronarer, postkapillärer Venolen auf einen gesteigerten Druck des rechten Vorhofes (15 cmH₂O), n = 5, (Symbole = Herzen), (cmH₂O x 0,098 = kPa).

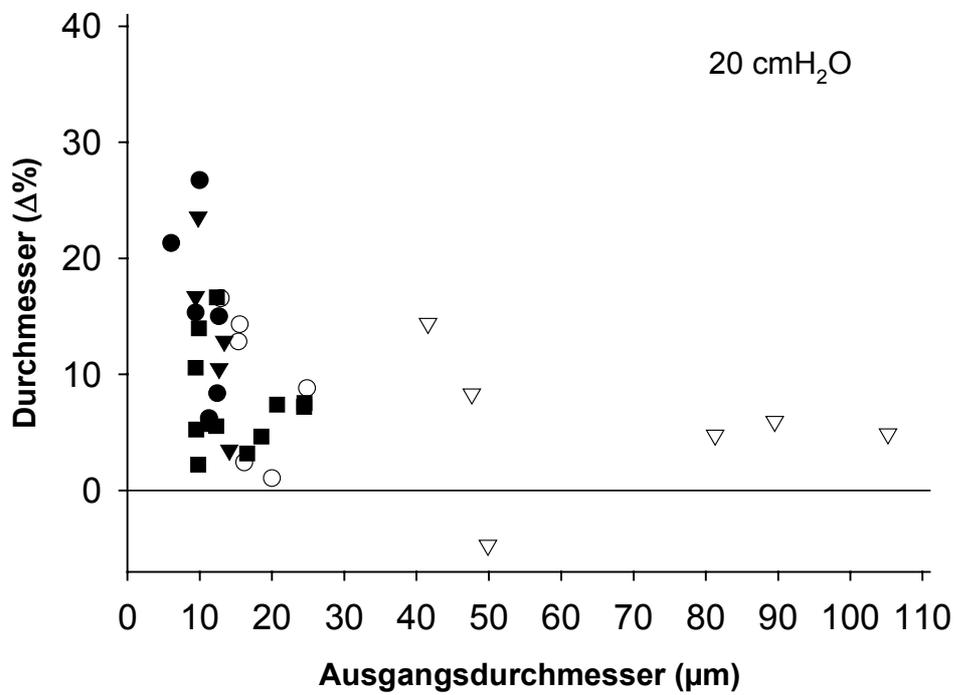


Abb. 53: Prozentuale Durchmesseränderung koronarer, postkapillärer Venolen auf einen gesteigerten Druck des rechten Vorhofes (20 cmH₂O), n = 5, (Symbole = Herzen), (cmH₂O x 0,098 = kPa).

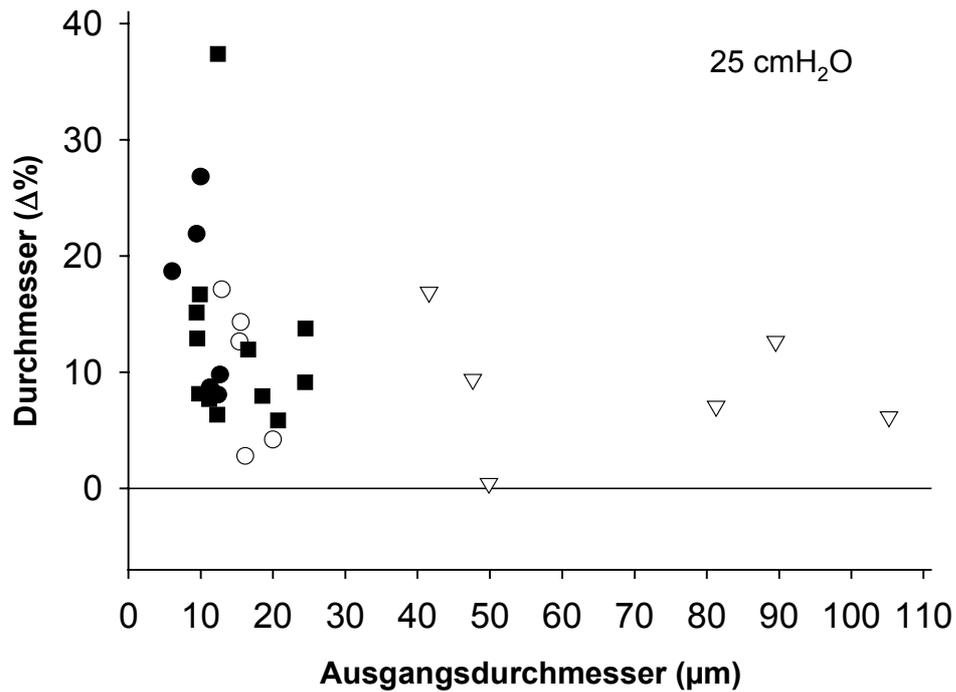


Abb. 54: Prozentuale Durchmesseränderung koronarer, postkapillärer Venolen auf einen gesteigerten Druck des rechten Vorhofes (25 cmH₂O), n = 5, (Symbole = Herzen; Gefäße des Herzens ▼ waren während dieser Druckstufe nicht darstellbar), (cmH₂O x 0,098 = kPa).

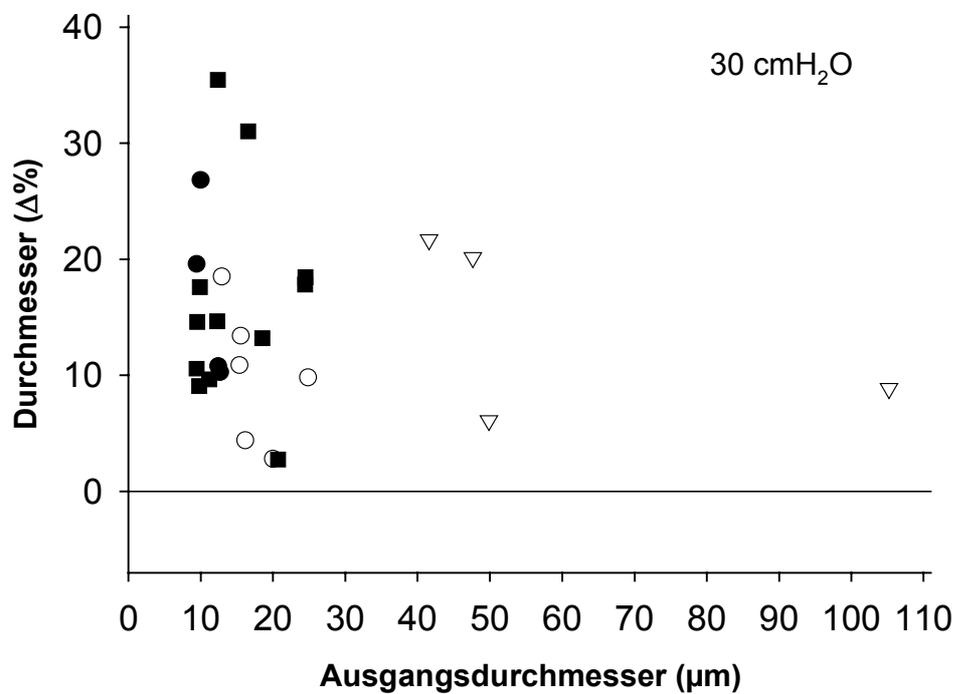


Abb. 55: Prozentuale Durchmesseränderung koronarer, postkapillärer Venolen auf einen gesteigerten Druck des rechten Vorhofes (30 cmH₂O), n = 5, (Symbole = Herzen; Gefäße des Herzens ▼ waren während dieser Druckstufe nicht darstellbar), (cmH₂O x 0,098 = kPa).

3.3.2.3 Gruppenübergreifender Vergleich der Gesamtdurchmesseränderungen ($\Delta\%$)

Die Abbildungen 56 und 57 zeigen die Gesamtdurchmesseränderungen (Median, Quartile und 5/95 %-Perzentile) der Gefäße innerhalb der Gruppe **Venolen** (Abb. 56) während unterschiedlicher Drücke und **KontrolleVenolen** (Abb. 57) über die Zeit zu sich zeitlich entsprechenden Untersuchungsphasen. Der Bereich oberhalb der Nulllinie zeigt analog zu den Darstellungen der Ergebnisse arteriöler Versuchsgruppen prozentuale Durchmesserzunahmen, der Bereich unterhalb der Nulllinie prozentuale Durchmesserabnahmen. Die zugrundeliegenden Venolen beider Versuchsgruppen wurden ihrem Ausgangsdurchmesser entsprechend in $< 15 \mu\text{m}$ und $\geq 15 \mu\text{m}$ eingeteilt. Die Grenze dieser Einteilung wurde nach der Beurteilung der Streudiagramme gewählt, in denen Gefäße mit einem Ausgangsdurchmesser $< 15 \mu\text{m}$ ausgeprägtere Durchmesseränderungen aufwiesen.

Die Boxplots in Abbildung 56 verdeutlichen, dass die Gefäße der Gruppe **Venolen** mit einem Ausgangsdurchmesser $< 15 \mu\text{m}$ während aller Druckstufen im Mittel stärkere Durchmesserzunahmen zeigten als die des zweiten Segments mit Ausgangsdurchmessern $\geq 15 \mu\text{m}$. Analog zu den Streudiagrammen (Abb. 50 bis 55) wird deutlich, dass ein rechter Vorhofdruck von $5 \text{ cmH}_2\text{O}$ bzw. $10 \text{ cmH}_2\text{O}$ zur Durchmesserabnahme einzelner Venolen führte.

In der Gruppe **KontrolleVenolen** waren während konstantem Druck ($0 \text{ cmH}_2\text{O}$) zu untersuchungsidentischen Messzeitpunkten im Mittel vergleichsweise geringe Durchmesseränderungen zu beobachten (Abb. 57). Die Durchmesseränderungen, die zu beobachten waren, nahmen in ihrem Ausmaß mit fortschreitender Versuchsdauer zu.

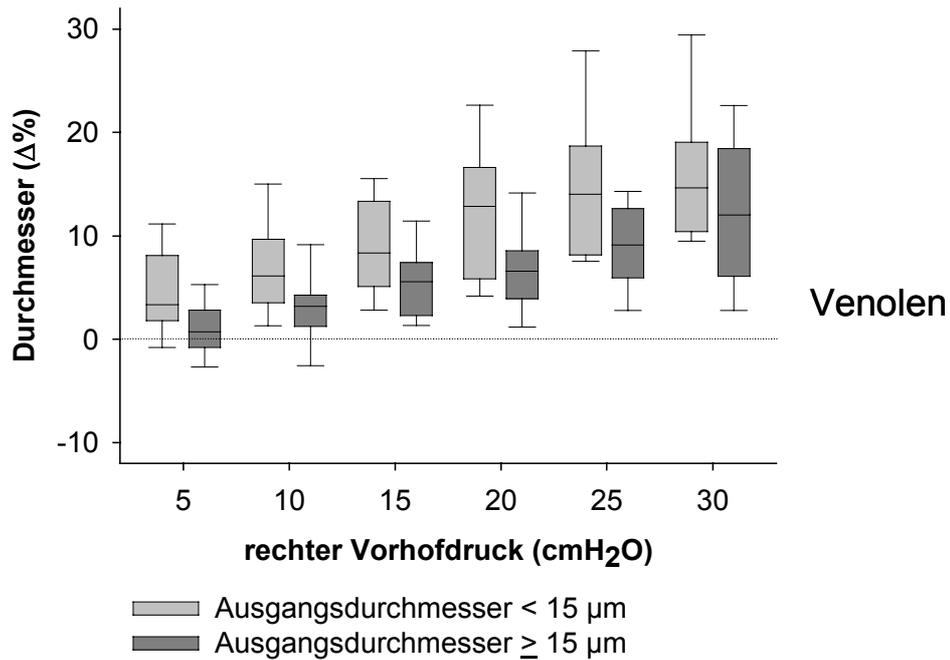


Abb. 56: Gesamtdurchmesseränderungen ($\Delta\%$) der Gefäße der Gruppe **Venolen** nach Einteilung in zwei Größenklassen (Ausgangsdurchmesser $< 15 \mu\text{m}$ und $\geq 15 \mu\text{m}$) bei unterschiedlichen Drücken des rechten Vorhofes, $n = 5$, ($\text{cmH}_2\text{O} \times 0,098 = \text{kPa}$).

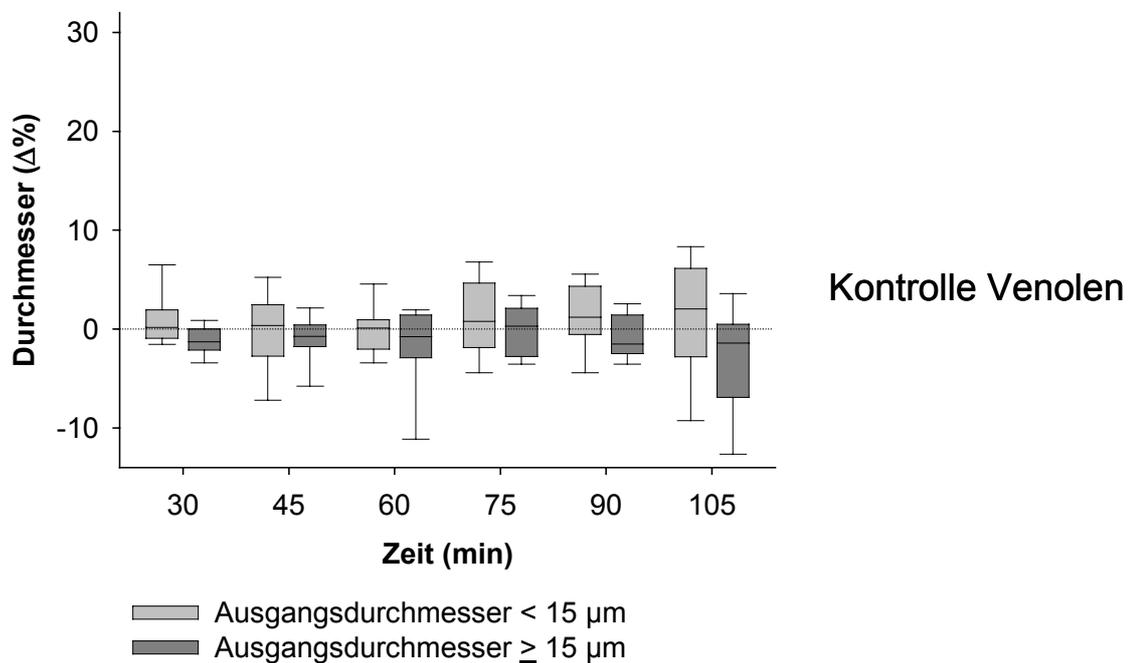


Abb. 57: Gesamtdurchmesseränderungen ($\Delta\%$) der Gefäße der Gruppe **Kontrolle Venolen** nach Einteilung in zwei Größenklassen (Ausgangsdurchmesser $< 15 \mu\text{m}$ und $\geq 15 \mu\text{m}$) bei konstantem Druck des rechten Vorhofes ($0 \text{ cmH}_2\text{O}$) über die Zeit, $n = 4$, ($\text{cmH}_2\text{O} \times 0,098 = \text{kPa}$).