

**Aus der Klinik für Herzchirurgie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. Hans-H. Sievers**

**Auswirkung des Abklemmens der Aorta
auf den endothelialen Schaden
der Aorta ascendens**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck.
- Aus der medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Kristin Gimpel-Henning
aus
Göttingen

Lübeck 2009

1. Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Bechtel
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Wolfgang Eichler
Tag der mündlichen Prüfung:	09.06.2010
Zum Druck genehmigt. Lübeck den	09.06.2010

*Für meine Eltern und meinen Freund Timo.
Vielen Dank für alles!*

Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Lübeck, den

1 INHALTSVERZEICHNIS

1 INHALTSVERZEICHNIS.....	5
2 EINLEITUNG.....	7
2.1 Einführung.....	7
2.2 Histologie der ascendierenden Aorta.....	7
2.3 Bereits erworbene Erkenntnisse über „aortic cross-clamping“.....	8
3 MATERIAL und METHODEN	12
3.1 Schweineherzen.....	12
3.2 Drucksystem und Aortenklemme.....	12
3.3 Aufbau des Wasser-Druck-Systems.....	14
3.4 Vorbereitung und Einbau der ascendierenden Aorta.....	14
3.5 Ablauf der experimentellen Druckmessung.....	15
3.6 Histologie.....	16
3.7 Datenerfassung.....	17
3.8 Statistik.....	17
4 ERGEBNISSE.....	19
4.1 Ergebnisse der Druckmessung.....	19
4.2 Hämatoxylin/Eosin-Färbung und Masson-Goldner.....	22
4.3 Qualitative Endothelanalyse.....	23
4.3.1 Referenzprobe.....	23
4.3.2 1 Minute Abklemmzeit.....	24
4.3.3 30 Minuten Abklemmzeit.....	30
4.4 Quantitative Endothelanalyse.....	35
4.4.1 Referenzprobe.....	35
4.4.2 1 Minute Abklemmzeit.....	36
4.4.3 30 Minuten Abklemmzeit.....	38
5 DISKUSSION.....	39
5.1 Wertung der Ergebnisse.....	39
6 ZUSAMMENFASSUNG.....	45
7 DANKSAGUNG.....	47

8 LITERATURVERZEICHNIS.....	49
9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	53
10 ABKÜRZUNGEN.....	55
11 ANHANG.....	56
11.1 Chemikalien	56
11.2 Lösungen für die Gewebe-Fixierung und - Färbungen.....	57
11.3 Einfluss des internen Gegendrucks auf die gemessenen Druckwerte an der Klemme.....	59
11.4 Einfluss des internen Gegendrucks auf die Anzahl der Endothelzellen.....	59
11.5 Lebenslauf.....	60

2 EINLEITUNG

2.1 Einführung

Bei der Mehrzahl der Herzoperationen bevorzugen Chirurgen ein ruhendes, blutleeres Herz. Mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine (HLM) wird dieser Zustand erreicht. Beispiele solcher Herzoperationen sind der Herzklappenersatz, die Rekonstruktion von Herzklappen, die Korrektur kongenitaler Herzfehler sowie Eingriffe an der Aorta ascendens. Die erste Herz-Lungen-Maschine kam 1953 bei einer offenen Herzoperation zum Einsatz. Es folgte eine beeindruckende Entwicklung. 1961 machte die HLM einen orthotopen Herzklappenersatz, 1964 eine Venenbypassoperation und 1967 eine Herztransplantation möglich. Heute gehört sie zu einer unverzichtbaren Technik. Um das Herz vom Kreislauf zu trennen, ist es notwendig, dass die Aorta ascendens oberhalb der Koronararterien unterhalb des Bogens mit Hilfe einer Klemme („aortic cross-clamping“) abgeklemmt wird. Die Auswirkungen des Abklemmens der Aorta ascendens soll in dieser Arbeit genauer untersucht werden.

2.2 Histologie der ascendierenden Aorta

Die ascendierende Aorta gehört zu den Arterien vom elastischen Typ. Die große herznahe Arterie erfüllt Windkesselfunktion (z.B. zur Umwandlung des vom Herzen stoßweise betriebenen Blutauswurfes in eine kontinuierliche Strömung). Dazu ist eine reversibel dehbare Wand erforderlich. Die wichtigsten histologischen Komponenten der Gefäßwand sind das Endothel, ein einschichtiges Plattenepithel, das alle Gefäße auskleidet, die glatte Muskulatur, die für die Einstellung der Wandspannung und der Gefäßweite verantwortlich ist und die Extrazellulärmatrix produziert, und die Extrazellulärmatrix (kollagene und elastische Fasern, Proteoglykane), die die mechanischen Eigenschaften der Gefäßwand bestimmt.

Die Wände des Gefäßes lassen drei Schichten erkennen. Die Intima bzw. Tunica intima setzt sich aus dem Endothel und einer subendothelialen Schicht bestehend aus longitudinal ausgerichteten glatten Muskelzellen und Extrazellulärmatrix zusammen. Die Media besteht aus konzentrischen elastischen Membranen und glatten Muskelzellen, die in abwechselnden Lagen geschichtet sind. Die glatten Muskelzellen inserieren über Mikrofibrillen an den Lamellen und verbinden diese in schrägem Verlauf miteinander. Je nach Kontraktionszustand verleihen die Muskelzellen dem elastischen Lamellensystem eine bestimmte Vorspannung. Das Ganze wird durch Kollagenfaser stabilisiert und ist in eine proteoglykanreiche Grundsubstanz eingebettet. Membrana elastica interna und externa sind nicht klar von den übrigen elastischen Lamellen zu unterscheiden. Die Adventitia ist reich an Vasa vasorum, die auch in die äussere Hälfte der Media eindringen.

2.3 Bereits erworbene Erkenntnisse über „aortic cross-clamping“

Viele Autoren sprechen von „aortic manipulation“, wenn sie über „aortic cross-clamping“ schreiben [3][5][7][12][13][17][20][31]. Studien belegen, dass das Abklemmen der Aorta zu „neuen“ Läsionen im abgedrückten Bereich führt und der traumatische Effekt der Gefäßklemmen ein wesentliches klinisches Problem darstellt [9][14][30][33]. Es ist daher notwendig, Gefäßklemmen dahingehend zu modifizieren, dass das Verschließen der Gefäße und die Halterungsmöglichkeiten verbessert werden, um den traumatischen Effekt zu minimieren [14].

Das Abklemmen der Aorta kann Intima-Risse und -Wölbungen, Thrombose, Aneurysmen und Wandzerstörungen verursachen [6][8][30]. Mit Hilfe der Ultraschalluntersuchung und der Angiographie wurde das Vorkommen von Läsionen in der Aorta nach herzchirurgischen Eingriffen bewiesen [8][16][33].

Die luminale Oberfläche der Läsion besteht dann aus unregelmäßig orientierten glatten Muskelzellen. Es wird eine thrombogene Oberfläche geschaffen, auf der sich wiederum Thrombozyten, Leukozyten und Monozyten anheften können, aus denen sich evtl. ein Wandthrombus entwickelt [6][14]. Studienergebnisse belegen, dass das Anbringen und Loslösen der Klemme an der Aorta ascendens zu einer Plättchenaktivierung führt mit der eventuellen schwerwiegenden Folge von neurokognitiven Schäden durch Embolisierung des Thrombus [19][29]. Diese Vermutung wurde mit Hilfe eines Perfusion-Modells mit menschlichen Spender-Aorten, mit dem das multiple „Aortic Cross-Clamp“ (ACC) nachgeahmt wurde, bestätigt. Auch hier verursacht das wiederholte Abklemmen der Aorta ascendens ein Loslösen von Partikeln aus der Aorta-Wand mit der möglichen Folge einer Embolie [4][5].

Zusätzlich beeinflussen bestehende Vorschädigungen des Gefäßes bzw. eine Gefäßerkrankung das Ausmaß der Läsion [4]. Eine der wichtigsten Gefäßerkrankungen ist die Arteriosklerose [3][4][12]. Je stärker das Gewebe vorgeschädigt ist, desto umfangreicher und folgenschwerer sind die neu entstehenden Läsionen [8][12][18]. Mögliche Folgen sind zerebrale Embolien und Insulte durch Loslösung von Plaques [1][4][5][6][16]. Daher sollte im Falle einer umfassenden Intimaerkrankung der Aorta ascendens von mehr als 3 mm Ausdehnung ein Abdrücken des Gefäßes in diesem Bereich vermieden werden [12]. Es wurde gezeigt, dass sklerosierte Arterien anfälliger für Verletzungen sind als normale Arterien [10]. Ebenso wurde über das Abklemmen von Karotiden oder Femoralarterien herausgefunden, dass die hervorgerufenen histologischen Verletzungen der Gefäße mindestens für sechs Monate nach dem Abklemmen bestehen bleiben, diese Verletzungen aber nicht assoziiert sind mit chronischen Veränderungen [10].

Neben der Vorschädigung des Gefäßes gibt es noch weitere wichtige Faktoren, die das Ausmaß der Schädigung beeinflussen. Zu diesen Faktoren zählen die Abklemmdauer bzw. -zeit, der Innendruck in der Aorta und der Druck, der mit der Klemme von aussen zugeführt wird.

Studien haben ergeben, dass sich die Schädigung des Endothels mit der Zunahme der Zeitdauer deutlich vergrößert, bis ab einer bestimmten Zeit der Schweregrad der Läsion des Gefäßes konstant bleibt und nicht weiter zunimmt. Der Endothelschaden ist nach 15 Minuten Abklemmen geringer als nach 30 Minuten oder längerer Abklemmzeit. Ab 30 Minuten konnten keine signifikanten Unterschiede mehr festgestellt werden [18]. Mit Hilfe des Elektronenmikroskops zeigte sich nach 15 Minuten eine leichtere Läsion, die sich mit der Zunahme der Zeitdauer zu kompletten Zerstörungen ausgeweitet hat.

Wie bei der Abklemmzeit wird in Studien auch bei dem von aussen ausgeübten Druck eine Art Grenzwert für die histologische Läsion als Folge des Abklemmens beschrieben [9][10]. Wird das Gefäß mit leichtem Druck abgedrückt, finden sich abhängig von der Abklemmzeit und dem Zustand des Gefäßes signifikante Unterschiede hinsichtlich der Gefäßschädigung. Wird starker Druck von aussen zugeführt, lassen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Faktoren mehr feststellen [10]. Zur Verbesserung der Abklemmtechnik und Verminderung der Gefäßläsion wurde der Lösungsvorschlag einer druck-kontrollierten Gefäßklemme gemacht [9]. Das Ergebnis war, dass eine externe druckkontrollierte Abklemmtechnik eine bessere Methode beim Verschließen von muskulären Gefäßen war, da kein unnötiger Kompressionsdruck auf die Gefäßwand ausgeübt werden musste. Die Technik hat an muskulären Arterien, wie zum Beispiel den Femoralarterien, Verletzungen vermieden, was potentiell zu weniger chirurgischen Komplikationen führt [9].

Der dritte wichtige Faktor ist der herrschende Innendruck in den Gefäßen während des Abklemmens, der in der Regel um die 60 mmHg lag [1][18][27]. Die meisten Studien wenden bei ihren Experimenten Femoralarterien oder Karotiden, also Arterien vom muskulären Typ, an [9][10][14]. Es ist noch fraglich, ob diese Ergebnisse auf die Aorta ascendens, also eine Arterie vom elastischen Typ, übertragen werden können. Eine systematische Untersuchung dazu wurde nicht publiziert und wird nun angestrebt.

Das Ziel dieser Arbeit ist, herauszufinden, welche Rolle die Zeit und der herrschende Innendruck in der Aorta sowie die Klemmkraft beim Abklemmen des Gefäßes spielen. In einem Modell-Aufbau wird der Zusammenhang von Aussen- druck, Innendruck und Abklemmzeit geprüft sowie histologische Untersuchungen an der Aorta selbst durchgeführt. Dabei werden der Innendruck und die Ab- klemmzeit systematisch variiert.

3 MATERIAL und METHODEN

3.1 Schweineherzen

Für die praktischen Versuche wurden frische, geschlossene juvenile Schweineherzen samt thorakaler Aorta aus einem Schlachthof verwendet. Da die Mastzeit von Schweinen durchschnittlich 100 Tage dauert, konnte davon ausgegangen werden, dass sich alle untersuchten Schweine in Bezug auf ihr Gewicht und Alter kaum von einander unterschieden; auf die menschliche Entwicklung bezogen entsprechen diese 100 Tage ungefähr 12 Lebensmonaten.

3.2 Drucksystem und Aortenklemme



Abbildung 1: Handelsübliche Fogarty-Klemme mit Dehnungsmessstreifen

Zum Testen der Belastung der Aorta während des Klemmens wurde eine handelsübliche Aortenklemme, eine Fogarty-Klemme (Art. No. 45 32-28, Ulrich Medizintechnik, Germany; Hydrojaw Insert Set Hydra 86, Edwards Lifesciences Germany GmbH, Unterschleissheim, Germany), mit vier Dehnungsmessstreifen ausgestattet. Die Dehnungsmessstreifen formen Dehnungen, denen sie ausgesetzt werden, in proportionale Widerstandsänderungen um.

Den Zusammenhang zwischen der erzeugenden Dehnung ε ($\varepsilon = \Delta L / L_0$; ΔL : Längenänderung, L_0 : Anfangslänge) und der relativen Widerstandsänderung eines Dehnungsmessstreifen beschreibt die Gleichung $\Delta R / R_0 = \varepsilon \cdot k$ (ΔR : Widerstandsänderung, R_0 : Anfangswiderstand). Eine Wheatonsche Brückenschaltung wie in Abbildung 2 stellt das Prinzip der Dehnungsmessstreifen, wie in unserem Experiment verwendet, dar. Der Messaufbau besteht aus vier Dehnungsmessstreifen, die ähnlich wie in Abbildung 3 auf einem Biegestab positioniert sind.

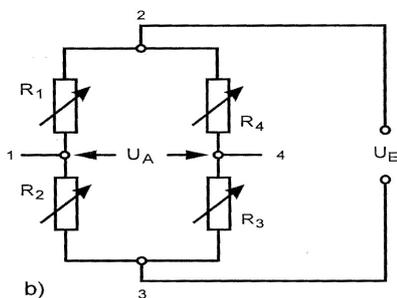


Abbildung 2: Wheatonsche Brückenschaltung

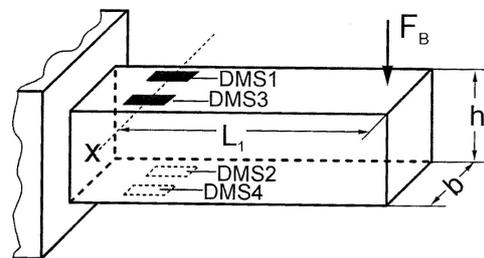


Abbildung 3: Biegestab

Zwei von ihnen reagieren auf Zugkräfte und zwei von ihnen auf Druckkräfte. Die Dehnungen sind entgegengesetzt gleich, die daraus resultierenden Widerstandsänderungen addieren sich in der vorliegenden Schaltung. Die Widerstandsveränderung ist proportional zur Verformung, diese wiederum ist proportional aufgebaut zur Kraft und über die Fläche proportional zu einem Druck. Die Klemme wurde mit Hilfe eines Stückes Kunststaorta und einem Drucksensors kalibriert, die Druckverläufe wurden aufgezeichnet.

3.3 Aufbau des Wasser-Druck-Systems

Der Versuchsaufbau bestand aus einem höhenverstellbaren Wasserbecken, welches mittels einer handelsüblichen Pumpe über einen Schlauch aus einem Vorratsbehälter befüllt wurde. Im Wasserbecken befand sich eine niedrige Trennwand, die als Überlaufmechanismus diente und somit eine gleichmäßige Druckerzeugung garantierte. Überschüssiges Wasser wurde zurück in den Wasserbehälter geleitet. Ein weiterer Schlauch war direkt mit der descendierenden Aorta des Schweineherzens verbunden. Sobald das Ventil dieser Schlauchverbindung geöffnet wurde, wurde der jeweils gewünschte Druck in der Aorta aufgebaut. Auf Grund der beschriebenen Höhenverstellbarkeit des Wasserbeckens konnte jeder beliebige Innendruck zwischen 30 mmHg und 80 mmHg auf die Aorta ausgeübt werden.

3.4 Vorbereitung und Einbau der ascendierenden Aorta

Die von einem Schlachthof stammenden 20 Aorten wurden innerhalb von zwei Stunden nach Explantation der Schweineherzen präpariert. Die Aorta descendens wurde circa 15 cm unterhalb der Abgänge des Truncus brachiocephalicus und der Arteria subclavia sinistra von der Aorta abdominalis abgetrennt. Die nun erhaltene Aorta descendens, der Aortenbogen und die Aorta ascendens wurden von ihrem umgebenen Gewebe gelöst bis zum Ausgang aus der linken Herzkammer. Im nächsten Schritt wurde die Aorta mitsamt der Aortenklappe vom restlichen Schweineherzen getrennt. Kleine Abgänge sowie der Truncus brachiocephalicus, die Arteria subclavia sinistra und die Karotiden wurden abgebunden bzw. zugenäht. Die fertig präparierte Aorta inklusive der Aortenklappe wurde über den einen Schlauch mit dem Wasser-Druck-System in Verbindung gebracht und mit einem Kabelbinder fixiert.

3.5 Ablauf der experimentellen Druckmessung

Das Wasserbecken wurde auf die entsprechende Höhe gebracht, die Wasserpumpe wurde angestellt und das System füllte sich mit Wasser. Durch langsames Öffnen des Ventils der Schlauchverbindung zu der Aorta wurde der Druck in der Aorta aufgebaut, bis der gewünschte Druck erreicht wurde.



Abbildung 4: Aorta eingebaut in das Wasser-Druck-System

Die Aorta wurde mit einem Stift an der Stelle, an der mit der Aortenklemme abgedrückt werden sollte, markiert. Der Bereich, der abgeklemmt werden konnte, ist der Abschnitt oberhalb der Koronarien bis zu den Abgängen des Truncus brachiocephalicus und der Arteria subclavia sinistra. Dieser Bereich war so groß, dass eine Aorta in vier aufeinander folgenden Versuchen an vier verschiedenen nebeneinander liegenden Stellen abgeklemmt werden konnte. Um die Aorta zu verschließen, wurde die Klemme im zweiten Zahn eingerastet. Grund dafür ist, dass das Einrasten im ersten Zahn die Aorta nicht vollständig abdichtet, dagegen der zweite Zahn das Gefäß vollständig verschließt und gleichzeitig den geringstmöglichen Druck auf die Aorta ausübt. Mit Anbringen der Klemme wurden gleichzeitig eine Stoppuhr und das Druckmessgerät gestartet. Die Aorta wurde bei den Drücken 30, 40, 50, 60, 70 und 80 mmHg jeweils 1 Minute und 30 Minuten lang abgeklemmt.

Nach Beendigung wurde die Aorta vom Schlauch gelöst und wurde in physiologischer NaCl-Lösung bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt.

3.6 Histologie

Nach Abschluss der experimentellen Druckmessung wurde die Aorta für die histologische Weiterverarbeitung vorbereitet und präpariert. Die ascendierende Aorta wurde mit einem Skalpell an der Längsseite eröffnet, so dass man sie zu einer flachen Platte ausbreiten konnte. Mit Hilfe eines Messers mit zwei Klingen, die einen Abstand von circa 0,3 cm hatten, wurden die gekennzeichneten Bereiche von einander abgetrennt. Das Gewebe wurde mit der Endothelseite nach oben hingelegt, um das Endothel beim Präparieren nicht zu beschädigen. Nachfolgend wurden die ausgeschnittenen Gewebeproben in Bouinsche-Lösung bzw. in MONTI-Lösung gebracht. Eine Referenzprobe, ein ungeklemmtes Gewebestück, wurde von jeder Aorta mitausgeschnitten und wurde ebenfalls in beide Lösungen gebracht. Die Gewebeproben wurden nach der Fixierung standardmäßig in Paraffin eingebettet. Die fertig eingebetteten Paraffinproben wurden mit Hilfe eines Mikrotoms (Rotationsmikrotom) in 4 µm dicke Schnitte gebracht. Die Schnitte wurden dann mit den Färbungen behandelt. Die Hämatoxylin/Eosin-Färbung markiert die Zell- und Gewebsstrukturen wie z.B. Zellkerne, Mitochondrien, Myelin, Elastin und Kollagenfasern. Das Ergebnis sind blauschwarz bis violett angefärbte Kerne und rosa bis rote cytoplasmatische Bestandteile. Sie wird benutzt, um einen groben Überblick über den Aufbau zu bekommen. Die Masson-Goldner-Färbung kennzeichnet Kerne blauschwarz, das Cytoplasma schwachorange bis rot, Erythrozyten leuchtendrot, Bindegewebe und Schleim grün und Muskelgewebe blaßrot, und durch Resorcin-Fuchsin werden die elastischen Fasern im Bindegewebe violett. Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurden die Semidünnschnitte mit der Färbung nach Richardson angefärbt. Diese gefärbten Schnitte wurden unter dem Elektronenmikroskop angeschaut und ausgewertet. Mit einer Axio Cam (Zeiss, Göttingen, Germany) wurden Fotos von den histologischen Schnitten gemacht, auf denen der Zustand des Endothels, der Media und der Adventitia festgehalten wurde.

3.7 Datenerfassung

Die während der Versuchsdurchführung auf die Aorta ausgeübten Drücke wurden mit Hilfe des Drucksystems erfasst und per Computerprogramm als Kurve aufgezeichnet. Nach Digitalisierung der Daten wurden der erste und der zweite Druckpunkt sowie das Plateau gekennzeichnet.

Abb. 5 zeigt beispielhaft eine Druckkurve und illustriert die Definition der Parameter.

- Erster Druckpunkt (grüner Pfeil): Der Druck, der auf die Aorta beim Einrasten des ersten Zahns der Klemme ausgeübt wird.
- Zweiter Druckpunkt (roter Pfeil): Der Druck, der auf die Aorta beim Einrasten des zweiten Zahns der Klemme ausgeübt wird. Gleichzeitig ist dieser Punkt in diesem Experiment der maximale Druckpunkt, der von aussen auf die Aorta ausgeübt wird, das heißt, die Klemme wurde nie weiter als bis zu diesem Punkt verschlossen.
- Plateau (blaue Schrift): Der Druck, der durch die belassene Klemme auf die Gefäßwand wirkt, nachdem der zweite Zahn eingerastet ist.

Zur quantitativen Endothelanalyse wurden als Referenz die Anzahl der Endothelzellen bei einer 10fachen Vergrößerung der Probe auf einer Länge von 500 µm einer ungeklemmten Aorta untersucht, siehe Abbildung 28. Für die weiteren Untersuchungen wurde die Anzahl der Endothelzellen bei den abgeklemmten Aortenproben ins Verhältnis dazu gesetzt.

3.8 Statistik

Mittelwerte und Standardabweichungen der Ergebnisse der Druckmessungen wurden ermittelt. 20 Aorten gehen in die Berechnung der Mittelwerte ein. Die Daten der Untersuchung werden als absolute und relative Häufigkeiten bzw. als Mittelwerte \pm Standardabweichung wiedergegeben. Der Einfluss des internen Gegendrucks auf den Peak- bzw. auf den Plateau-Druckwert bei der Aortenabklemmung wurde mittels Kruskal-Wallis-Test untersucht. Dabei wurden die nach einer bzw. nach 30 Minuten erhobenen Ergebnisse getrennt analysiert.

Peak- und Plateau-Druckwerte wurden mittels Wilcoxon-Test für gepaarte Stichproben verglichen. Der Einfluss des internen Gegendrucks beim Abklemmen auf die Anzahl der histologisch auffindbaren Zellen wurde mit der Funktion „Kurvenanpassung“ (lineares und exponentielles Modell) untersucht. Auch hierbei wurden die nach einer bzw. nach 30 Minuten erhobenen Ergebnisse getrennt analysiert. Alle Berechnungen erfolgen mittels „SPSS 15.0 für Windows“ (SPSS GmbH Software, München, Germany).

4 ERGEBNISSE

4.1 Ergebnisse der Druckmessung

Ziel der experimentell erhaltenen Druckkurven war, herauszufinden ob sich der auf die Aorta wirkende externe Druck bei unterschiedlichen Innendrüken in der Aorta ändert. Anhand der digitalisierten Druckkurven wurde das Verhalten des externen Druckes dargestellt. Die Abbildung 5 zeigt die Druckkurve der Aorta Nr.19 bei 30 mmHg und einer Abklemmzeit von 30 Minuten. Der Peak befindet sich bei 649,5 mmHg und das Plateau schmiegt sich dem Wert 586,9 mmHg an. Das bedeutet, der von aussen zugefügte maximale Druck steigt bis auf 649,5 mmHg an, fällt dann wieder leicht ab und pendelt sich bei 586,9 mmHg ein. Der maximal aufgebrachte Aussendruck am Peak ist ca. das 22fache des herrschenden Innendruckes in der Aorta. Um weiterhin die ascendierende Aorta verschlossen zu halten, ist das ca. 19 fache des Innendruckes nötig. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der zweiten Druckpunkte und der Plateaus sind in den Säulendiagrammen 6 und 7 dargestellt. Mit Hilfe der beiden Säulendiagramme wird gezeigt, dass der Aussendruck bei zunehmendem Innendruck sowohl auf den zweiten Druckpunkt bezogen als auch auf das Plateau nicht steigt. Die Mittelwerte unterliegen statistischen Schwankungen, angedeutet wird dies auch dadurch, dass die Standardabweichungen bei den verschiedenen Innendrüken sich überschneiden bzw. in einander liegen. Der Streubereich des Mittelwertes des zweiten Druckpunktes reicht von 561,2 mmHg bis 668,3 mmHg, der Streubereich des Plateauwertes umfasst Aussendrüke von 493,9 mmHg (80 mmHg) bis 550 mmHg (60 mmHg). Es ist keine Zunahme des von aussen auf die Aorta zugefügten Druckes bei einer Änderung des Innendruckes von 30 mmHg bis maximal 80 mmHg zu bemerken. Die Plateauwerte pendeln sich in einem Niveau ein, unabhängig welcher Innendruck herrscht.

Statistisch ausgedrückt heißt das zusammengefasst, dass weder die Veränderung des Innendrucks im Bereich zwischen 30 und 80 mmHg noch der Unterschied der Abklemmzeit zwischen einer Minute und 30 Minuten einen statistischen Einfluss auf den Peak- und Plateau-Druckwert haben. Der Zusammenhang zwischen dem Peak- und dem Plateau-Druckwert zeigt eine hohe statistische Signifikanz ($p < 0,001$). Der Peak-Wert ist immer deutlich höher als der Plateau-Wert.

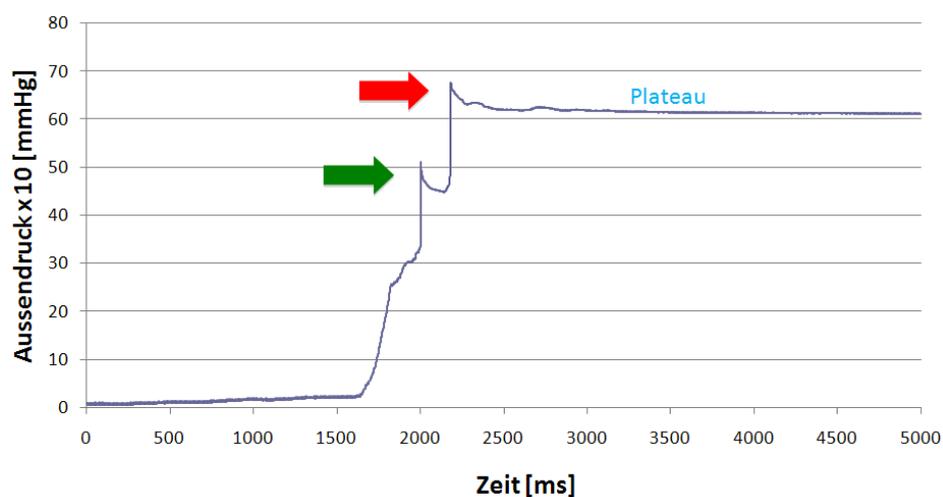


Abbildung 5: Beispiel einer Druckkurve (A19N3030). Markiert sind der 1. Druckpunkt (grüner Pfeil) und der 2. Druckpunkt (roter Pfeil), beschriftet ist das Plateau (blau). Die Zeit wird gegen den von aussen hinzugefügten Druck der Klemme dargestellt.

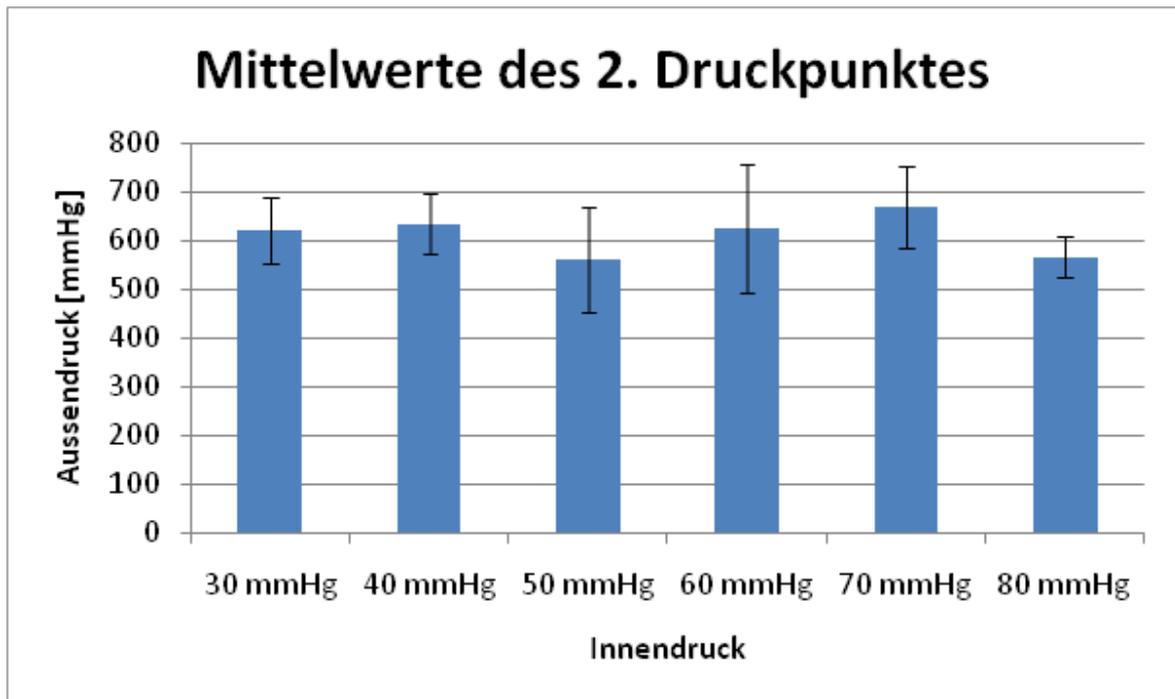


Abbildung 6: Mittelwerte des 2. Druckpunktes. Dargestellt sind die Mittelwerte des zweiten Druckpunktes bei Innendrücken von 30 mmHg bis 80 mmHg. Der Aussendruck beschreibt den Druck, der mit der Klemme von aussen auf die Aorta ausgeübt wird. Der Innendruck gibt den Druck in der Aorta an.

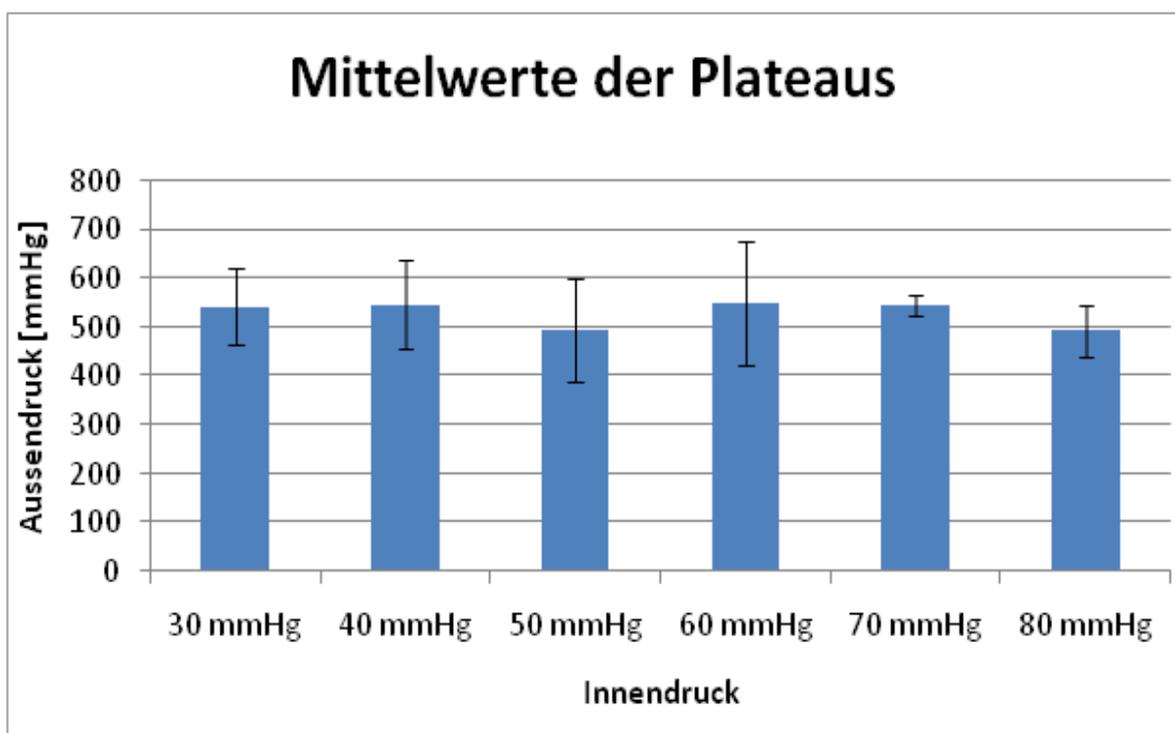


Abbildung 7: Mittelwerte des Plateaus.

4.2 Hämatoxylin/Eosin-Färbung und Masson-Goldner

Die mit Hämatoxylin/Eosin-Färbung (H.E.) und Masson-Goldner angefärbten Präparate zeigen den typischen Aufbau einer elastischen Aorta ascendens. In der H.E.-Färbung lässt sich ein guter Überblick über den Aufbau der Gefäßwand gewinnen. Alle drei Schichten, das Endothel, die Media und die Adventitia, sind gut zu erkennen. Das Endothel ist bei einer Minute Abklemmen noch teilweise vorhanden, dennoch sind Unterbrechungen und Loslösungen zu sehen, unabhängig bei welchem Innendruck abgeklemmt wurde. Eine quantitative Aussage ist anhand dieser Bilder aber nicht möglich, daher werden die Präparate zusätzlich noch in Form von Semidünnschnitten nach Richardson gefärbt und elektronenmikroskopisch untersucht. Die Media und die Adventitia sehen unbeschädigt aus. Die Masson-Goldner-Färbung ermöglicht eine bessere Darstellung der elastischen Fasern. Die abwechselnde Schichtung der elastischen Fasern mit den glatten Muskelzellen ist unauffällig und präsentiert das dafür typische Bild. Die Adventitia, bestehend aus lockerem Bindegewebe, zeigt keine Besonderheiten, sie enthält die Versorgungseinrichtungen wie Nerven und kleine Gefäße.

4.3 Qualitative Endothelanalyse

4.3.1 Referenzprobe

Als Referenz wurde eine Gewebeprobe aus jeder Aorta verwendet, die nicht durch die Klemme abgedrückt wurde. Diese Proben mussten während der Versuche nur den herrschenden Innendrücken standhalten und wurden nicht durch aussen zugefügten Druck zusätzlich manipuliert. Die Abbildung 8 zeigt einen Ausschnitt aus der Gefäßwand. Das Endothel ist vorhanden, dennoch auch hier nicht kontinuierlich.

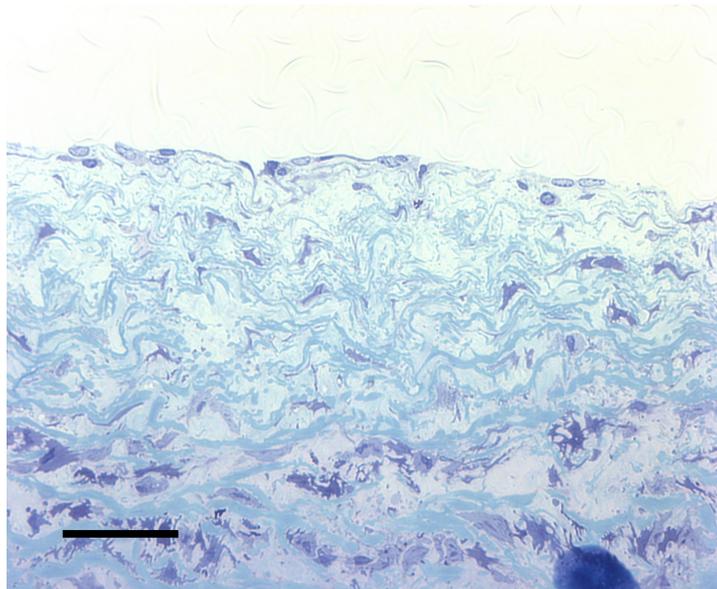


Abbildung 8: Ausschnitt aus einer Gewebeprobe einer ungeklemmten Aorta; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.

4.3.2 1 Minute Abklemmzeit

Die Abbildung 9 zeigt einen Querschnitt durch die Gefäßwand mit dem typischen dreischichtigen Aufbau, der sich aus dem Endothel, der Media und der Adventitia zusammensetzt. Die Abbildungen 10 und 11 sind vergrößerte Ausschnitte aus der Abbildung 9. Dieses Aortengewebe wurde bei einem Innendruck von 30 mmHg und einer Zeitdauer von einer Minute durch die Klemme abgedrückt. Endothel ist vorhanden, allerdings nicht durchgängig erhalten. Die Ausschnitte der Abbildungen 10 und 11 spiegeln den prozentualen Anteil des vorhandenen Endothels des Gesamtbildes in Abbildung 9 wieder. Nach einer Minute Abklemmen bei einem Innendruck von 30 mmHg ist bereits nur noch ca. 70 % des Endothels vorhanden. Die Abbildungen 12, 13 und 14 sind Ausschnitte aus einer Aortenprobe, die bei einem Innendruck von 80 mmHg und ebenfalls bei einer Zeitdauer von einer Minute abgeklemmt wurde. Auch bei diesen Proben ist das Endothel vorhanden, und die Kontinuität ist unterbrochen. Es sind teils Einrisse und Lösungen vom restlichen Gewebe zu erkennen. Der prozentuelle Anteil des Endothels beträgt hier weniger als 50%. Die Abbildungen 15 und 16 sind Ausschnitte aus der Media einer ascendierenden Aorta. Das Gewebe der Abbildung 15 wurde bei einem Innendruck von 30 mmHg und das Gewebe der Abbildung 16 bei 80 mmHg eine Minute lang abgedrückt. In beiden Abbildungen ist der typische Aufbau einer nicht traumatisierten Media zu sehen. Gut zu erkennen sind die elastischen Membranen und die glatten Muskelzellen, die in abwechselnder Lage geschichtet sind, und durch Kollagenfasern stabilisiert werden. Die Abbildungen 17 und 18 stellen Ausschnitte der dazugehörigen Adventitia dar. Die Adventitia beider Präparate besteht aus Bindegewebe, die die Versorgungseinrichtungen der Gefäßwand beherbergt. Einige Teile der Adventitia sind gelockert und gelöst von der angrenzenden Media.

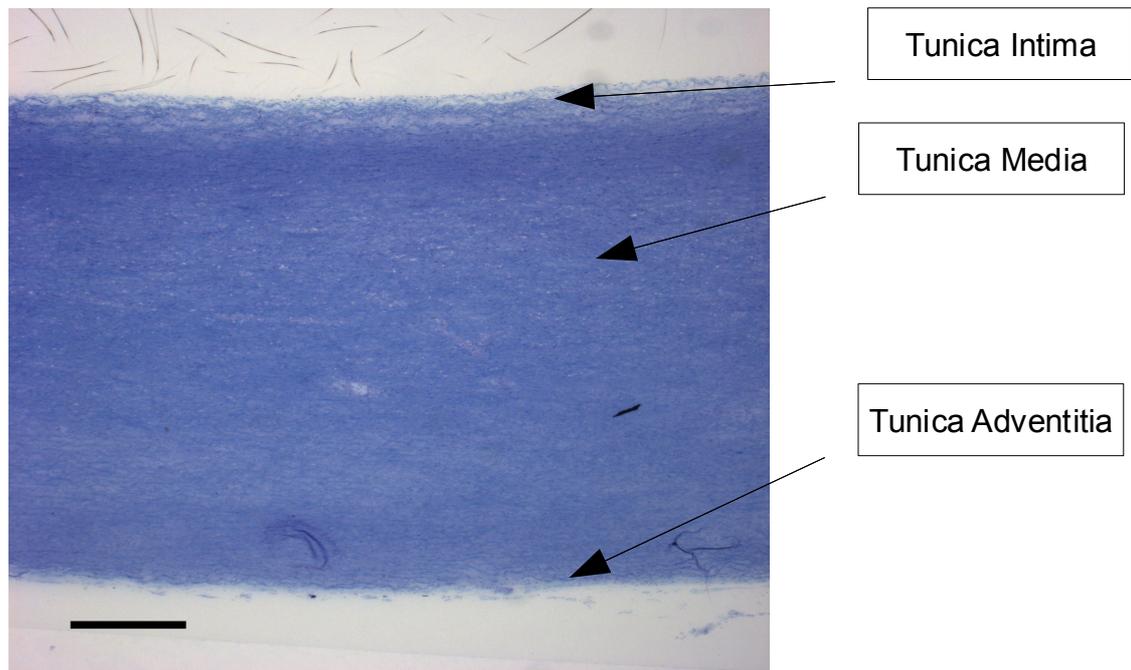


Abbildung 9: Querschnitt der Gefäßwand der ascendierenden Aorta. Dargestellt sind das Endothel, die Media und die Adventitia einer Aorta, die bei einem Innendruck von 30 mmHg und einer Zeitdauer von einer Minute abgeklemmt wurde; Balken: 150 μm . Färbung nach Richardson.

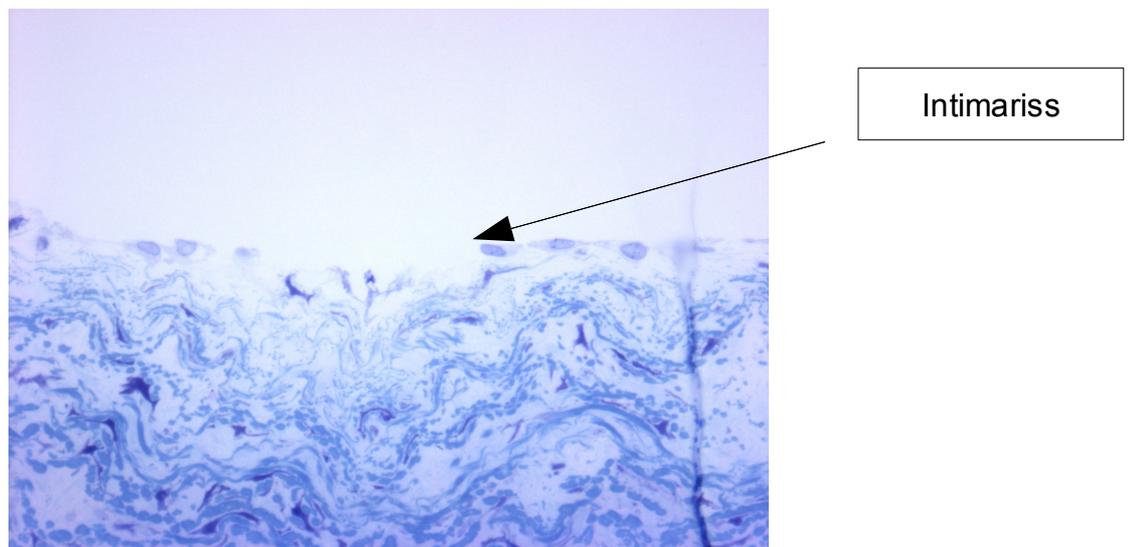


Abbildung 10: Ausschnitt aus Abb. 9. Dargestellt ist das Endothel einer Aorta, die bei einem Innendruck von 30 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde; Balken: 50 μm . Färbung nach Richardson.

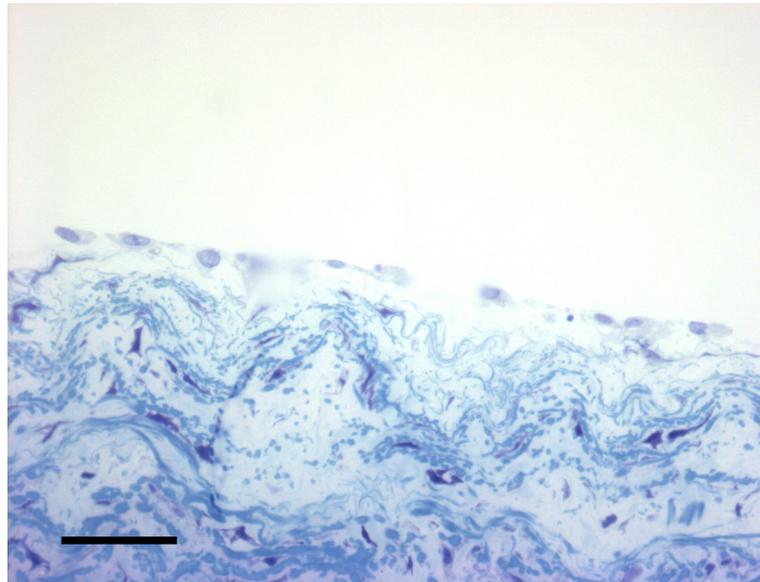
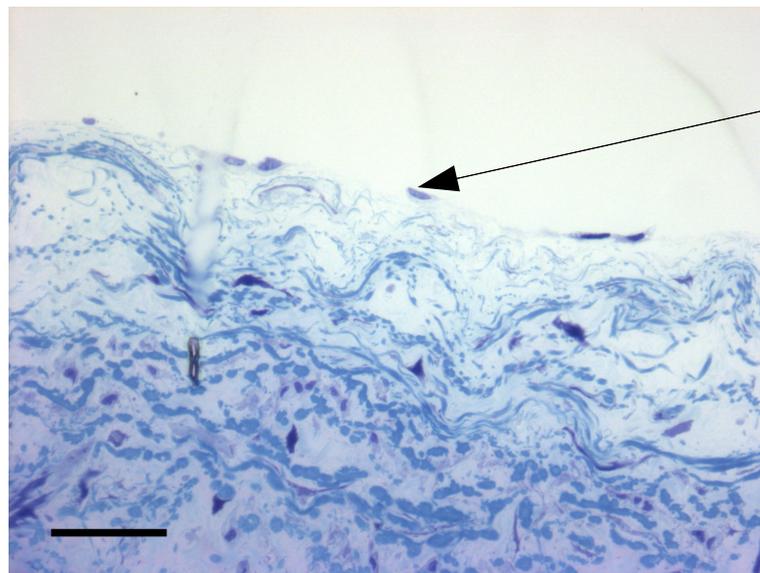
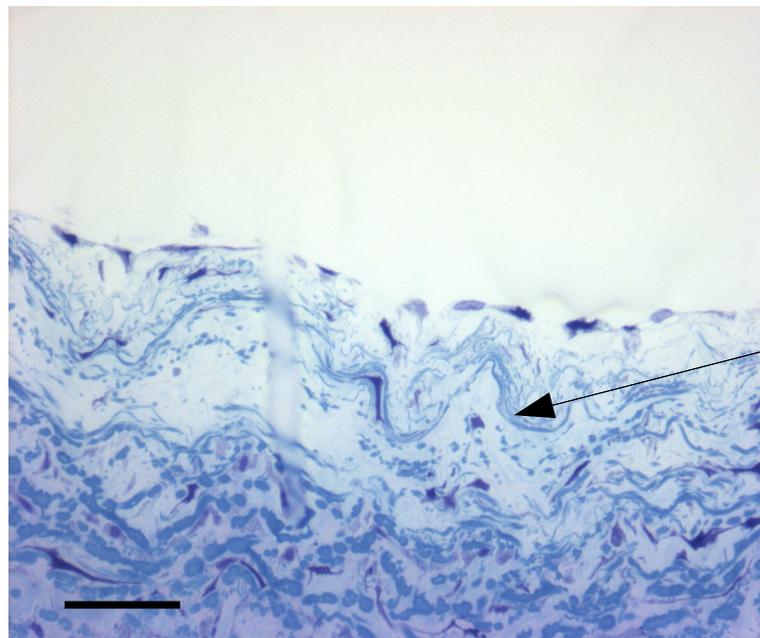


Abbildung 11: Endothelausschnitt einer Aorta, die bei einem Innendruck von 30 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.



Unterbrochenes
Endothel

Abbildung 12: Ausschnitt des Endothels einer Aorta, die bei einem Innendruck von 80 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.



Lockere
Tunica Intima

Abbildung 13: Ausschnitt des Endothels einer Aorta, die bei einem Innendruck von 80 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.

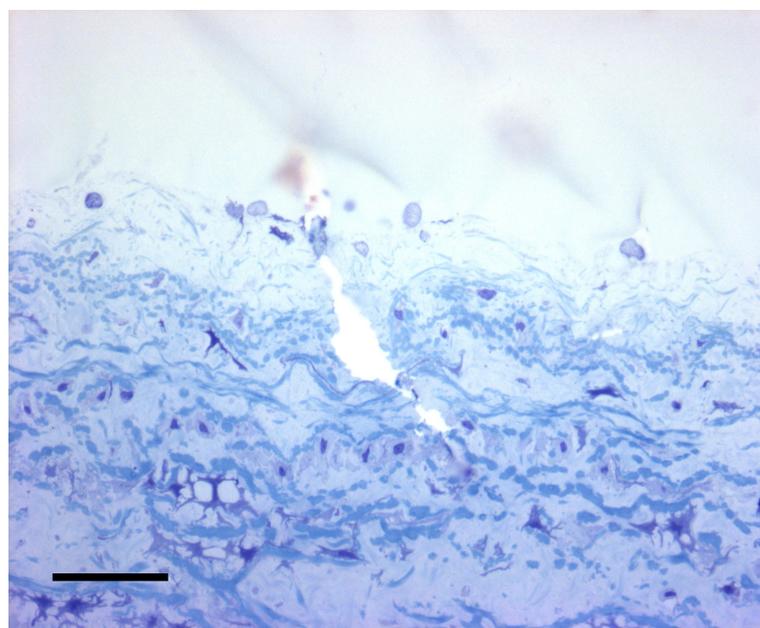
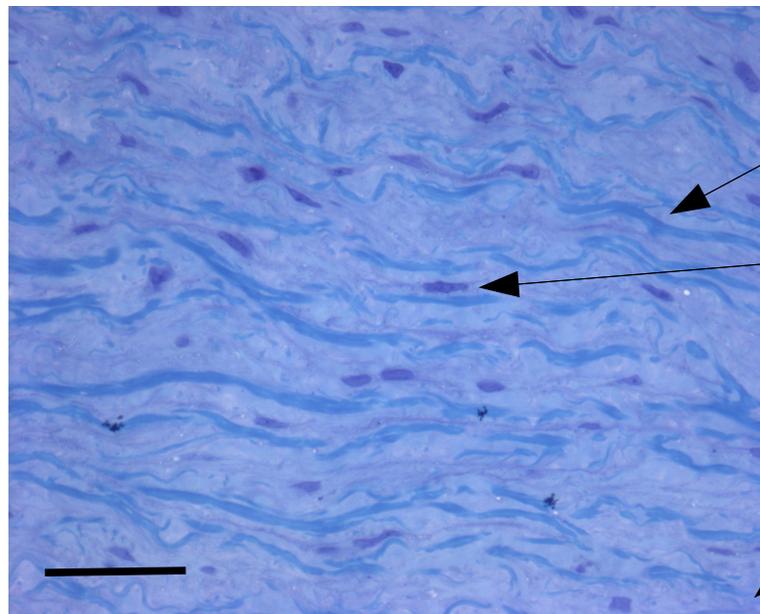


Abbildung 14: Ausschnitt eines geschädigten Endothels aus einer Aorta, die bei einem Innendruck von 80 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.



Elastische Membranen

Kern einer glatten Muskelzelle

Kollagenfasern

Abbildung 15: Ausschnitt aus der Media einer Aorta, die bei einem Innendruck von 30 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.

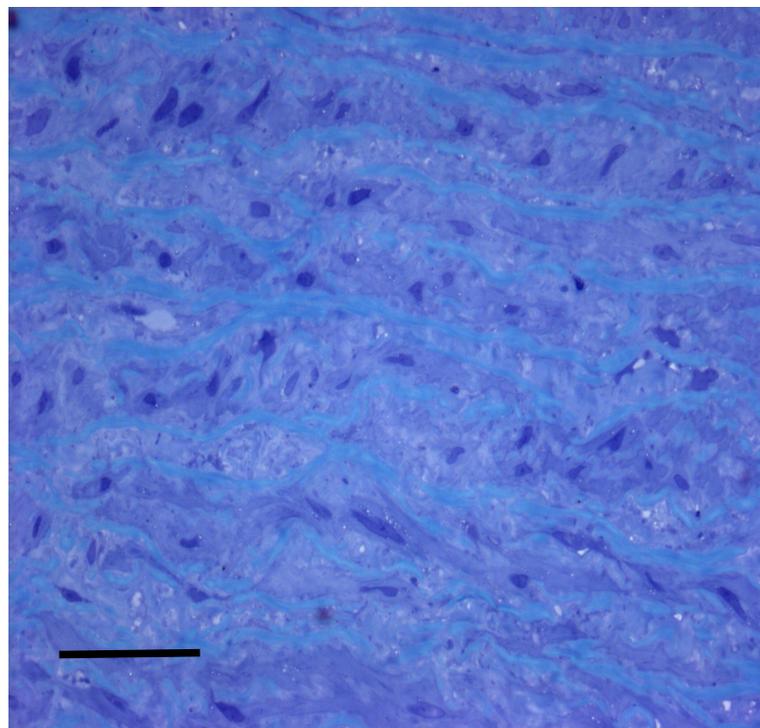
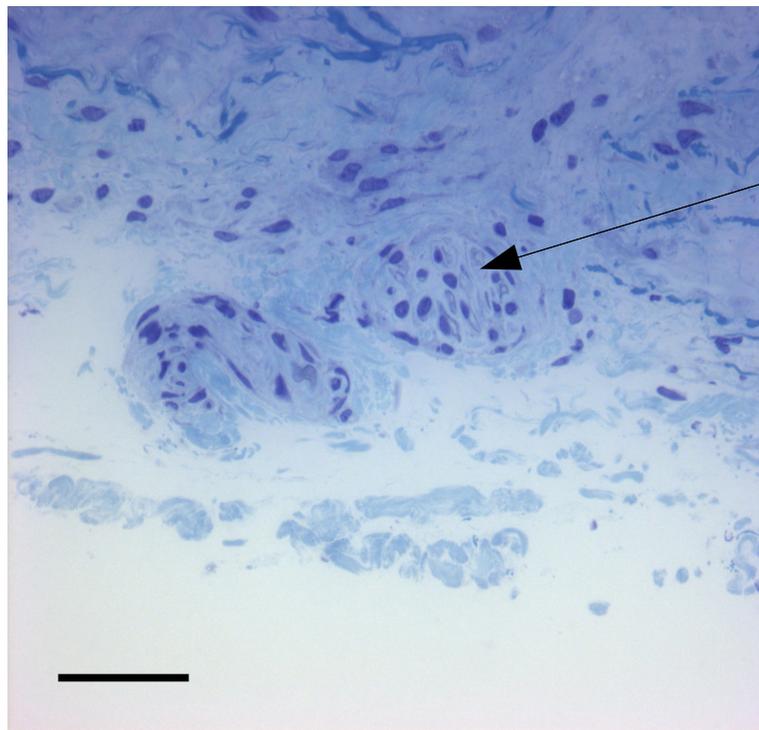
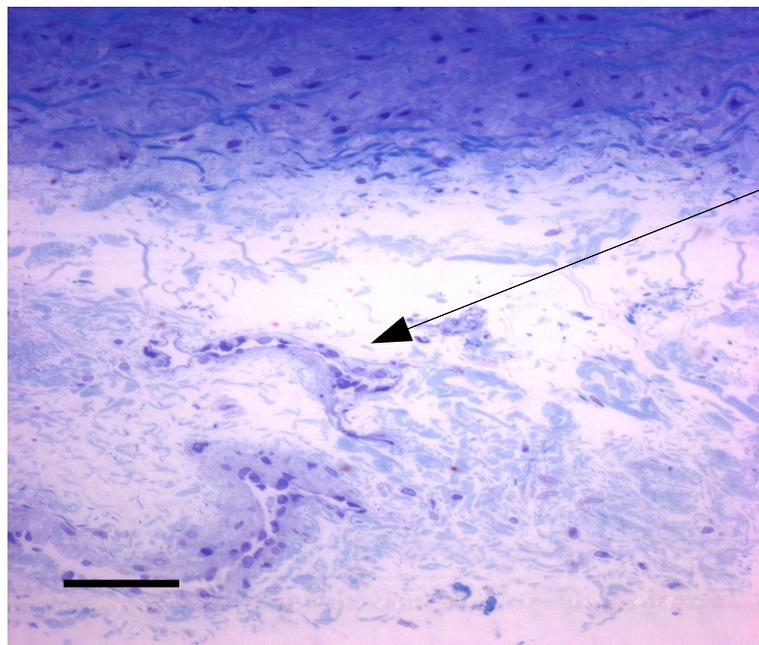


Abbildung 16: Ausschnitt einer Media aus einer Aorta, die bei einem Innendruck von 80 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.



Nerv

Abbildung 17: Ausschnitt einer Adventitia inklusive Nerven aus einer Aorta, die bei einem Innendruck von 30 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.

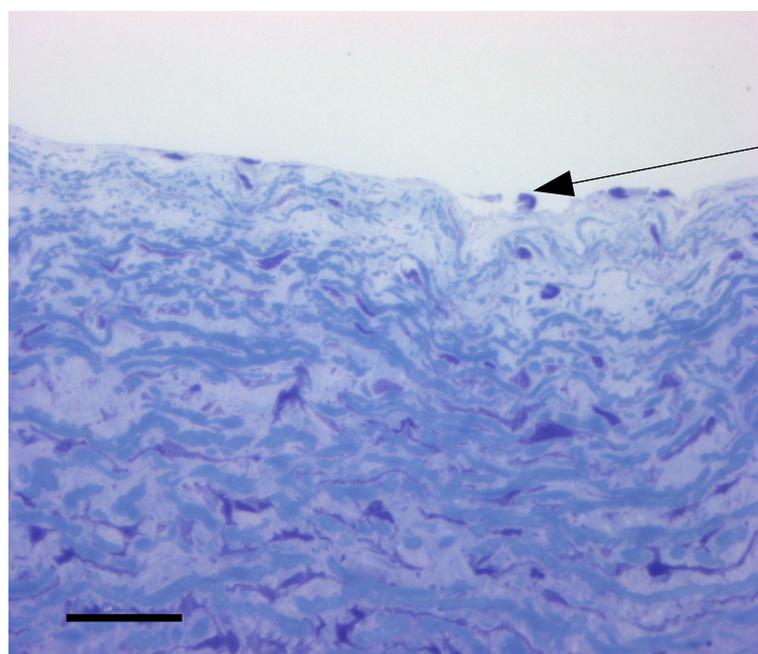


Gefäß

Abbildung 18: Ausschnitt einer Adventitia inklusive Gefäßen aus einer Aorta, die bei einem Innendruck von 80 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde; Balken: 75 μ m. Färbung nach Richardson.

4.3.3 30 Minuten Abklemmzeit

Die Abbildungen 19, 20 und 21 zeigen Ausschnitte aus Gewebeproben, die über 30 Minuten abgeklemmt wurden. In all diesen Präparaten, die jeweils bei einem Innendruck von 40 mmHg, von 60 mmHg bzw. von einem Innendruck von 80 mmHg abgeklemmt wurden, ist kein Endothel mehr vorhanden. Das Endothel ist komplett losgelöst und von der Media getrennt. Die Abbildungen 22, 23 und 24 zeigen die dazugehörigen Auschnitte der entsprechenden Media. Im Gegensatz zum Endothel wirkt die Media aller drei Gewebeproben visuell ungeschädigt. Der typische Aufbau ist noch erkennbar. Die elastischen Membranen sind in abwechselnden Lagen mit den glatten Muskelzellen geschichtet und bekommen Halt von den Kollagenfasern. Die Adventitia weist ebenfalls keine Besonderheiten auf. Sie enthält Nerven, Lymphgefäße und Blutgefäße, die auf den Abbildungen 25, 26 und 27 zu sehen sind.



Fehlendes
Endothel

Abbildung 19: Ausschnitt aus einer Aorta mit nicht mehr vorhandenem Endothel. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 40 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.

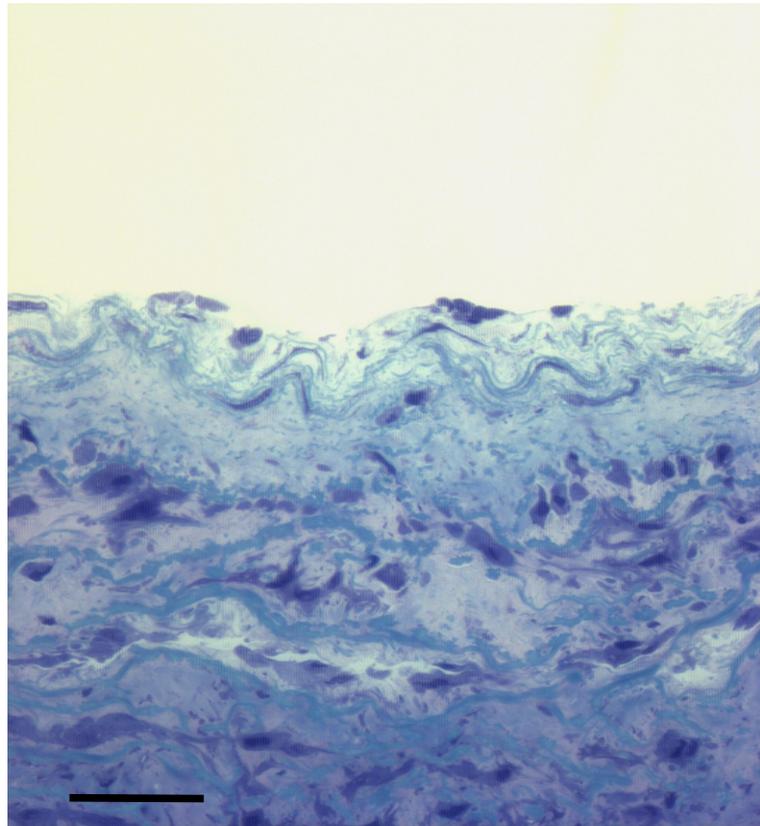


Abbildung 20: Ausschnitt aus einer Aorta mit gelöstem Endothel. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 60 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.

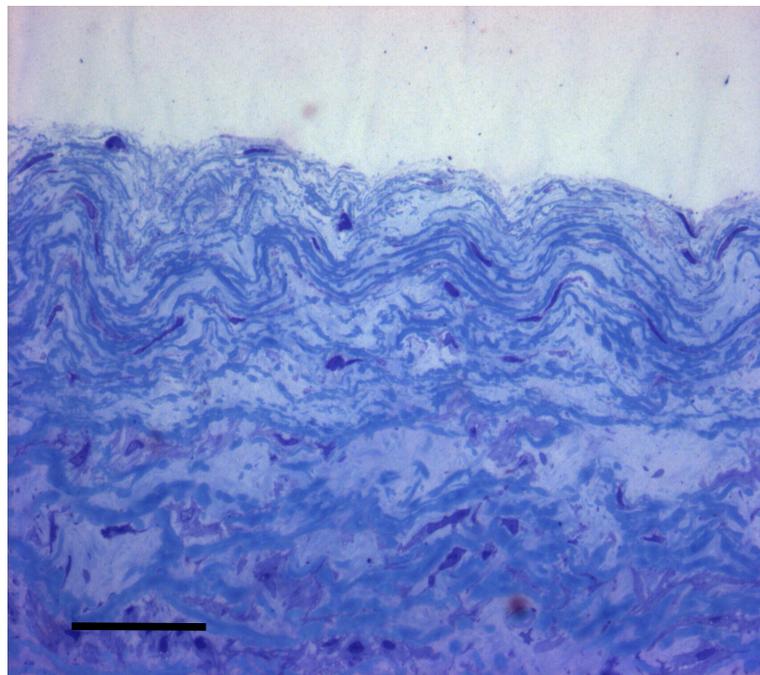
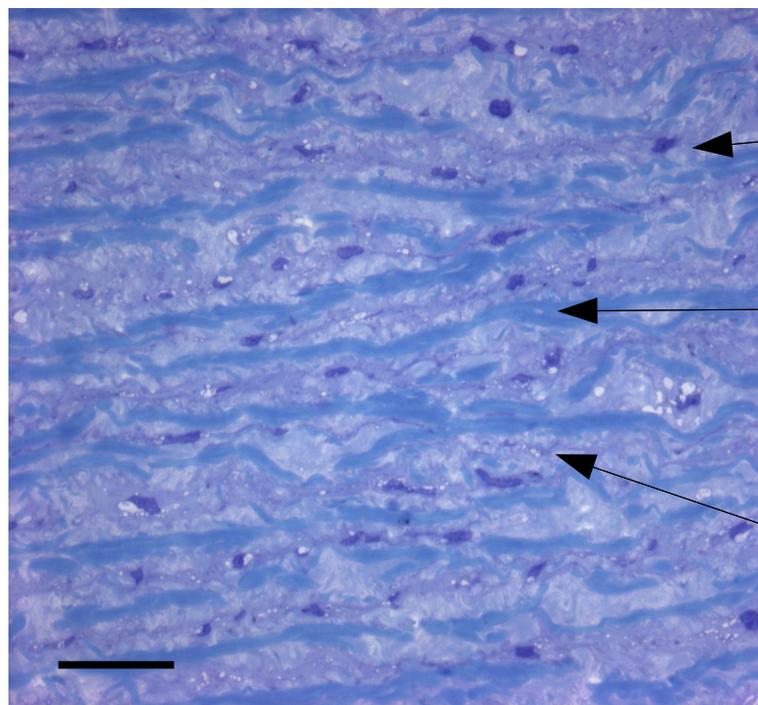


Abbildung 21: Ausschnitt aus einer Aorta mit bereits gelöstem Endothel. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 80 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.



Kern einer glatten Muskelzelle

Elastische Membranen

Kollagenfasern

Abbildung 22: Ausschnitt aus Media. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 40 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.

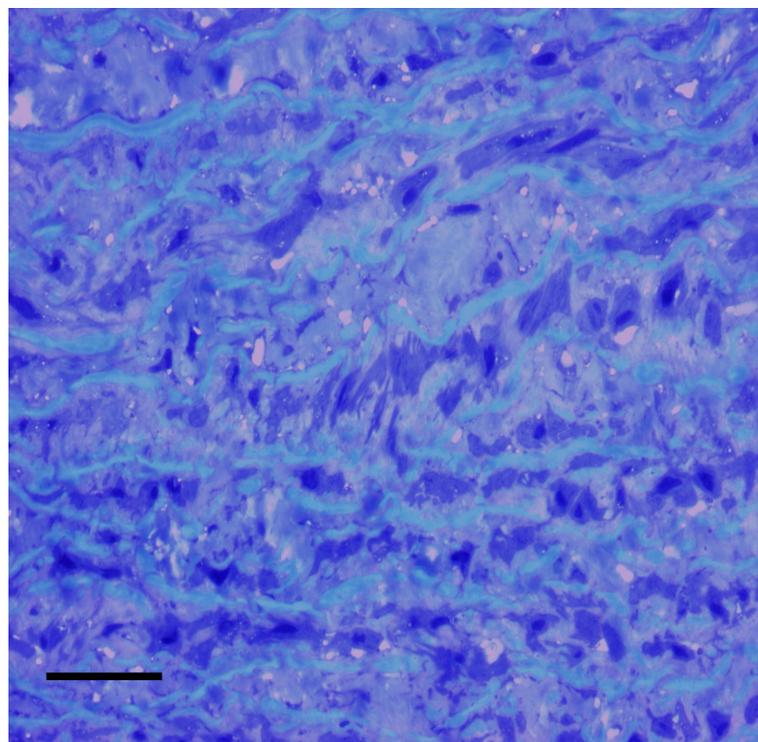


Abbildung 23: Ausschnitt aus Media. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 60 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.

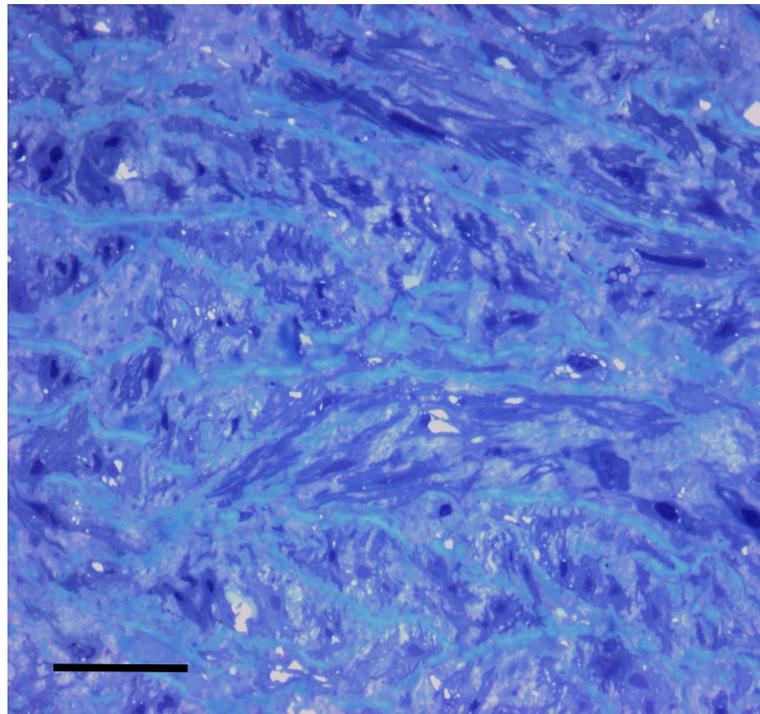
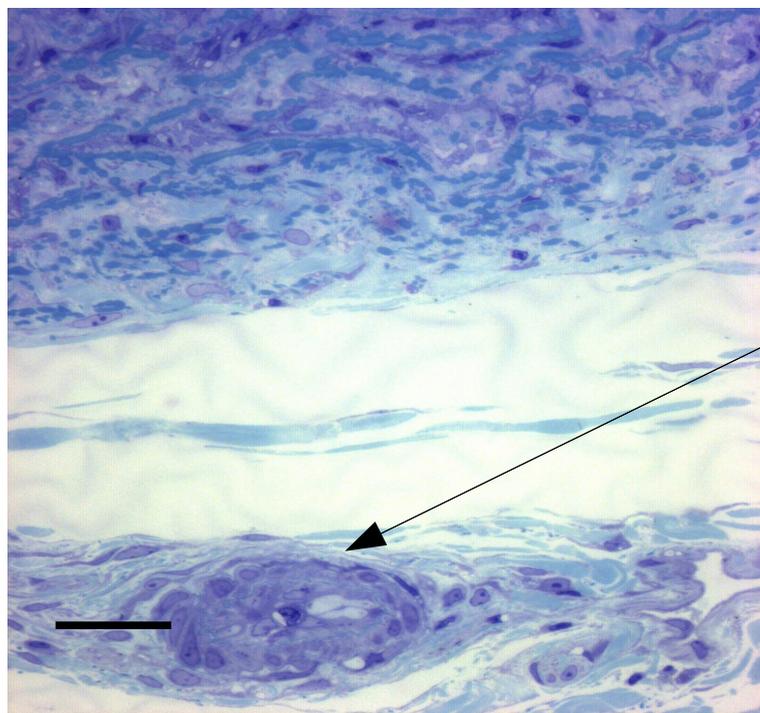
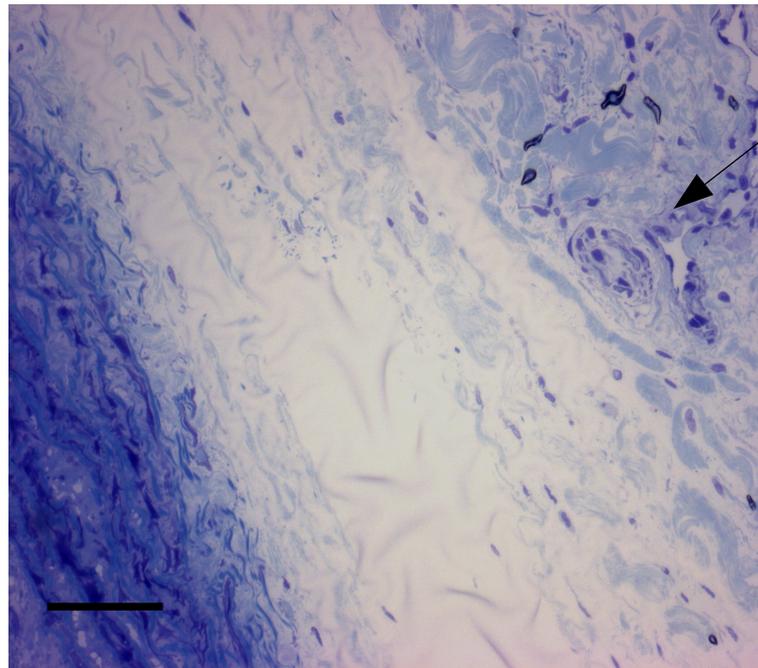


Abbildung 24: Ausschnitt aus Media. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 80 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.



Nerv

Abbildung 25: Ausschnitt aus Adventitia inklusive Nerv. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 40 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.



Blutgefäß & Nerv

Abbildung 26: Ausschnitt aus Adventitia inklusive Nerv und Gefäß. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 60 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt; Balken: 75 μ m. Färbung nach Richardson.

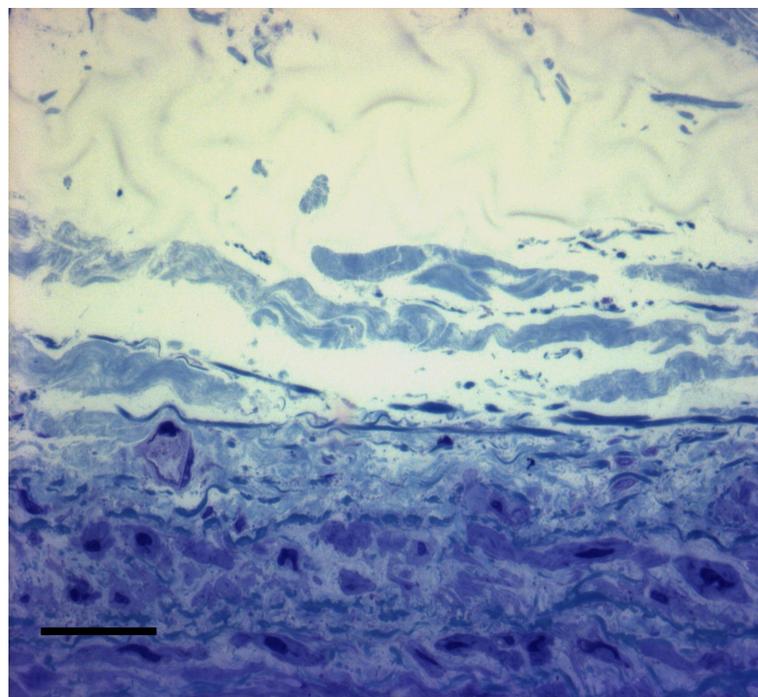


Abbildung 27: Ausschnitt aus Adventitia. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 80 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt; Balken: 50 μ m. Färbung nach Richardson.

4.4 Quantitative Endothelanalyse

4.4.1 Referenzprobe

Als Referenz wurde die Anzahl der Endothelzellen bei einer 10fachen Vergrößerung der Probe auf einer Länge von 500 μm einer ungeklebten Aorta untersucht, siehe Abbildung 28. Für die weiteren Untersuchungen wurde die Anzahl der Endothelzellen bei den abgeklebten Aortenproben ins Verhältnis dazu gesetzt.

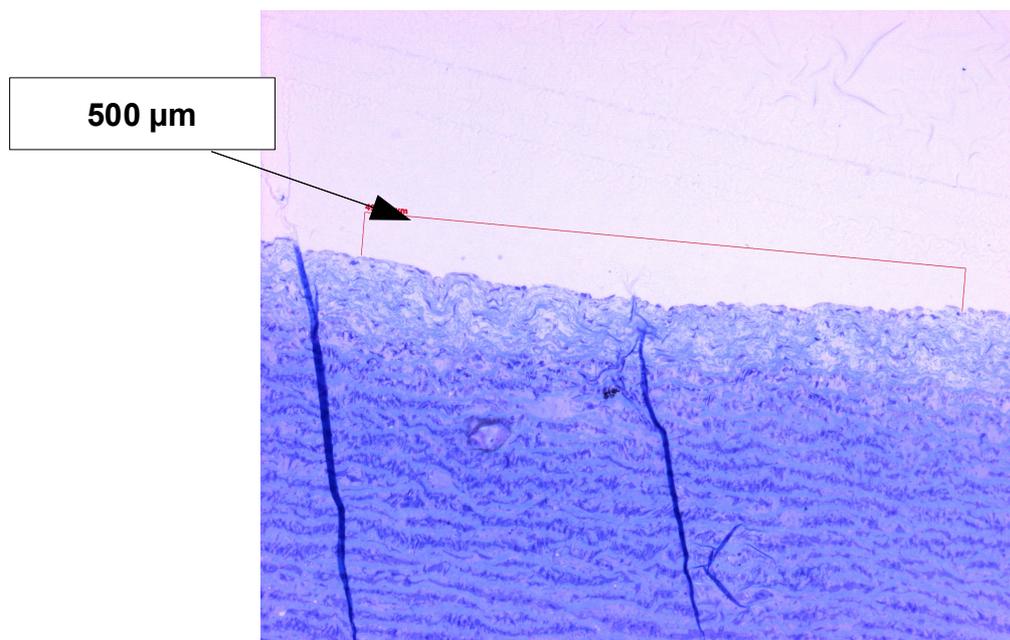


Abbildung 28: Ungeklebte Referenzprobe mit markierter Länge.
10-Vergrößerung. Färbung nach Richardson.

4.4.2 1 Minute Abklemmzeit

Wie in Abbildung 29 wurde die festgelegte Länge von 500 μm auf jede Gewebeprobe in einer 10fachen Vergrößerung übertragen. Es wurden 24 Proben, das heisst 4 pro jeweiligem Innendruck, einbezogen. Die Abbildung 30 zeigt, dass bei einer Minute Abklemmzeit Endothelzellen vorhanden sind, wenn sie auch mit zunehmendem Innendruck abnehmen. Während bei einem Innendruck von 30 und 40 mmHg noch über 70 % bzw. 60 % der Endothelzellen vorhanden waren, lagen ab 50 mmHg die Endothelzellen bei ca. 45 % des Ausgangswertes. Ab einem Innendruck von 50 mmHg und mehr sinkt die Anzahl der Endothelzellen unter 50 %. Die errechneten Standardabweichungen der 24 verwendeten Proben sind in die Abbildung 30 mit eingezeichnet. Es ergibt sich nur eine geringe Streuung. Das heisst, dass der interne Gegendruck einen signifikanten Einfluss auf die Anzahl der Endothelzellen hat ($p=0,002$). Die Ergebnisse des linearen und des exponentiellen Modells waren vergleichbar, die p-Werte waren identisch.

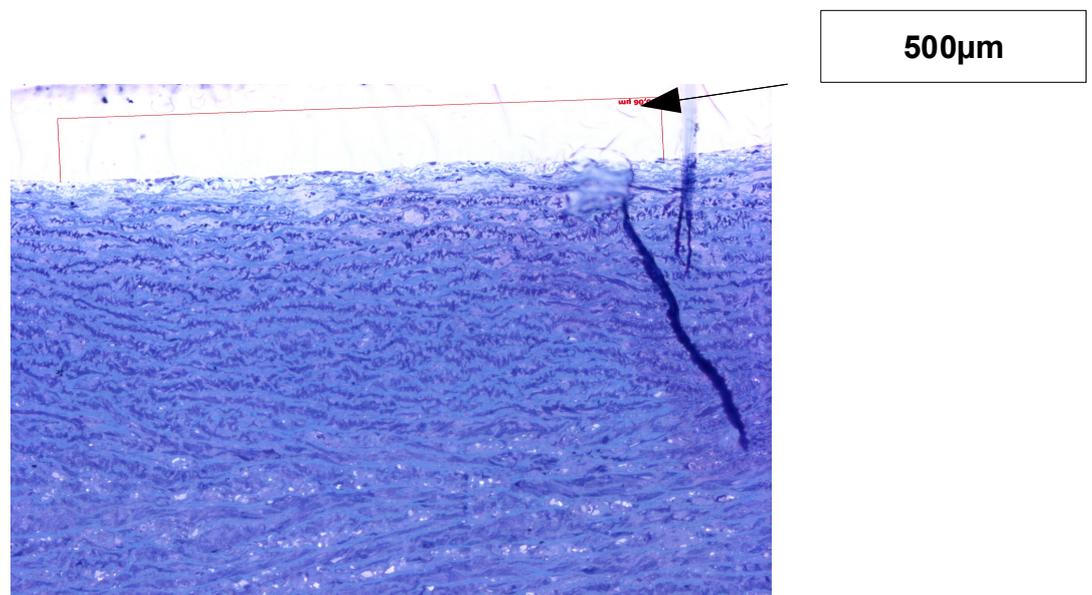


Abbildung 29: Gewebeausschnitt mit markierter Länge von 500 μm . 10fache Vergrößerung. Färbung nach Richardson.

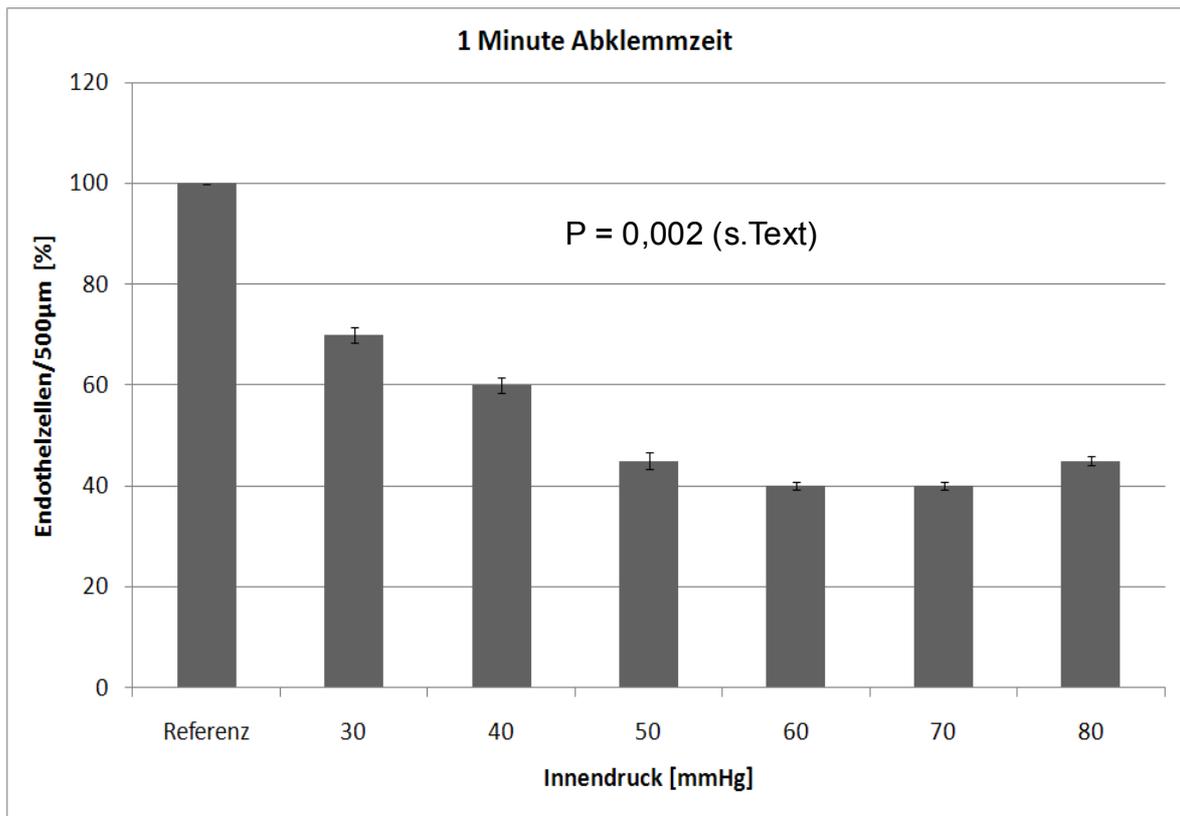


Abbildung 30: Darstellung der Anzahl der Endothelzellen/500 µm bei den Innendrücken von 30-80 mmHg zusätzlich der Standardabweichungen.

4.4.3 30 Minuten Abklemmzeit

In Abbildung 31 wird verdeutlicht, dass bei einer Abklemmzeit von 30 Minuten, unabhängig welcher Innendruck in der Aorta während des Abklemmens herrscht, bei jeder der 24 verwendeten Probe kein Endothel mehr vorhanden ist. Bei 30 Minuten Abklemmdauer hat der interne Gegendruck somit keinen nachweisbaren Einfluss auf die Anzahl der Endothelzellen, denn die Dauer des Abdrückens allein reicht aus, das Endothel vollständig zu zerstören.

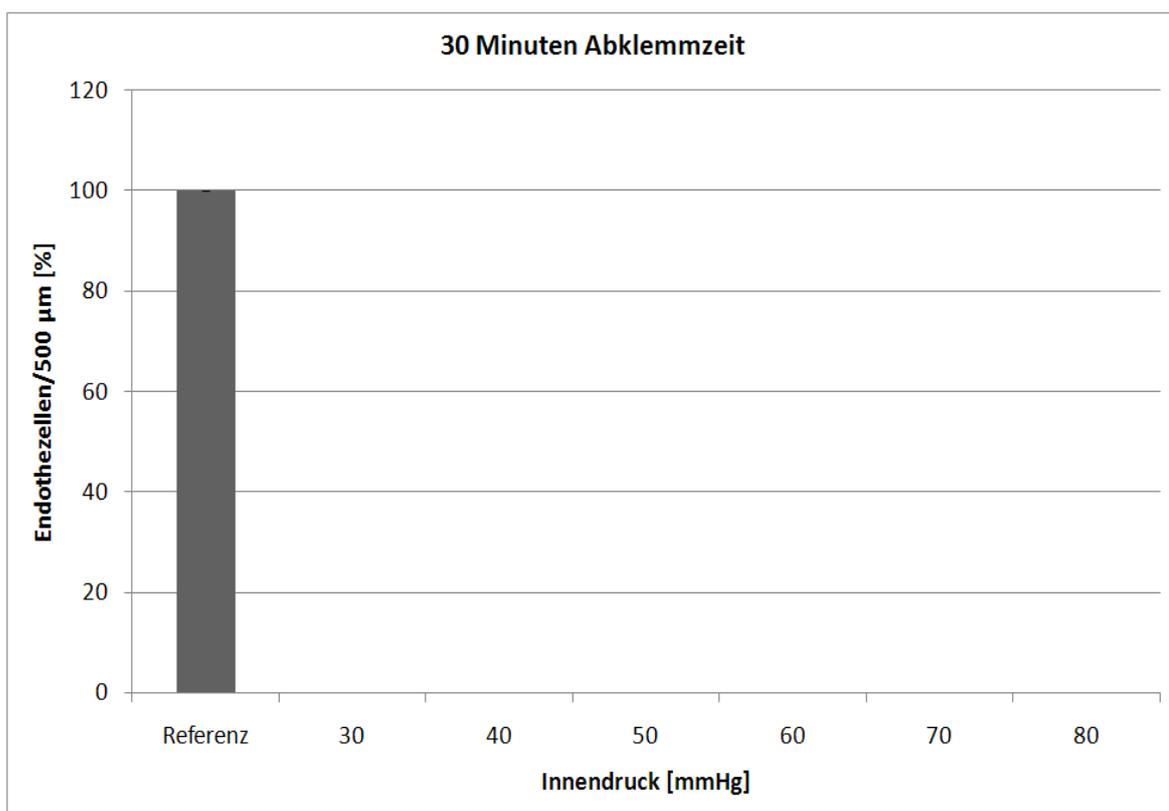


Abbildung 31: Darstellung der Anzahl der Endothelzellen/500 µm bei den Innendrücken von 30-80 mmHg zusätzlich der Standardabweichungen.

5 DISKUSSION

5.1 Wertung der Ergebnisse

Bei einer Vielzahl herzchirurgischer Eingriffe ist eine Manipulation an der Aorta unvermeidbar. So wird die Aorta kanüliert, um die Herz-Lungen-Maschine anzuschließen, die Kardioplegie über die Aorta appliziert, und die Aorta ab- bzw. ausgeklemmt. Verschiedene Studien zeigen jedoch, dass es gerade im Bereich der Aortenklammer zu einem Schaden kommt [30][31]. Es entstehen Intima-Risse und -Wölbungen, Thrombosen, Aneurysmen und Wandzerstörungen [6][8][30]. Unregelmäßig orientierte glatte Muskelzellen bilden nun die luminale Oberfläche der Läsion. Weder eine Anreicherung an Lipoproteinen und Cholesterin in der Wand noch eine Anhäufung an Kollagen kann verhindert werden. Die Voraussetzungen dafür, dass sich ein Wandthrombus entwickeln kann, sind geschaffen, da sich an der thrombogenen Oberfläche ohne Probleme Thrombozyten, Leukozyten und Monozyten anheften können [6][14]. Gleichfalls besteht die Gefahr der Plättchenaktivierung. Das Loslösen der Klemme von der Aorta ascendens kann zusätzlich schon vorherbestehende Plaques der Aortenwand mobilisieren und somit evtl. schwerwiegende Folgen wie neurokognitive Schäden mit sich ziehen.

Der traumatische Effekt der Gefäßklemme ist weiterhin ein klinisches Problem [9][14]. Zur Minimierung des Endothelschadens werden verschiedene Möglichkeiten diskutiert wie die Vermeidung von dem Einsatz der Herz-Lungen-Maschine oder die Vermeidung des partiellen Ausklemmens der Aorta [35]. Ein Umsetzen der Aortenklammer nach 30 Minuten, eine Reduktion des Klemmdruckes bzw. eine Reduktion des herrschenden Innendruckes bei der Abklemmung und kurze Abklemmzeiten werden ausserdem als Ansätze debattiert. Eine systematische experimentelle Untersuchung zu diesen Faktoren ist bisher jedoch noch nicht publiziert worden. Daher wurde in dieser Arbeit genau dieser Zusammenhang von Aussendruck, Innendruck und Abklemmzeit geprüft sowie histologische Untersuchungen an der Aorta selbst durchgeführt.

Dabei wurden der Innendruck und die Abklemmzeit systematisch variiert. Der Aussendruck war festgelegt durch Fixierung im zweiten Zahn der Aortenklemme aus oben genannten Gründen und wurde somit nicht verändert. Aus bisherigen experimentellen Untersuchungen an natürlichen Arterien ist bekannt, dass die Läsionen mit der Zunahme der Abklemmzeit deutlich zunehmen, bis ab einer bestimmten Zeit der Schweregrad der Läsion des Gefäßes konstant bleibt. Der Endothelschaden ist nach 15 Minuten Abklemmen geringer als nach 30 Minuten oder längerer Abklemmzeit. Ab 30 Minuten konnten keine signifikanten Unterschiede mehr festgestellt werden. Das Endothel war ab dieser Zeitdauer komplett losgelöst und zerstört [18]. Unter diesen Voraussetzungen ergaben sich die Abklemmzeiten dieser Arbeit. Ferner wurde der zweite wichtige Faktor, der herrschende Innendruck, und dessen Einfluss auf den Gewebeschaden bisher noch nicht untersucht. In der Vielzahl der Studien lag der Innendruck in dem Gefäß in der Regel um die 60 mmHg [1][18][27]. In dieser Arbeit wurde, ebenso wie die Abklemmzeit zwischen einer Minute und 30 Minuten, der Innendruck systematisch von 30 mmHg bis 80 mmHg variiert.

Die Abklemmzeit stellt den einflussreichsten und wichtigsten Faktor bezogen auf den Gewebeschaden dar. Der Innendruck dagegen hat keinen signifikanten Einfluss auf den Gewebeschaden im Vergleich zur Abklemmzeit. Bei einer Abklemmzeit von einer Minute nimmt der Gewebeschaden mit steigendem Innendruck zwar zu, so dass beim Auszählen der Endothelzellen pro 500 µm die Anzahl ab einem Innendruck von 50 mmHg unter 50% des Referenzwertes fällt, während sie bei 30 und 40 mmHg noch bei 70 % bzw. bei 60 % liegt. Andere Studien berichten gleichfalls über endotheliale Klemmschäden. Die Schäden reichen von der Unterbrechung des Endothels durch einzelne fehlende Zellen über Intimarrisse und -wölbungen zu Auflockerungen bis in die subendotheliale Schicht hinein. Diese Schäden konnten in den H.E.- bzw. den Masson-Goldner-Präparaten lokalisiert werden und mit den Semidünnschnitten nach Richardson qualitativ und quantitativ ausgewertet werden. Nach den Ergebnissen unserer Arbeit bei einer Minute wäre es somit sinnvoll, einen Innendruck von unter 50 mmHg zu wählen. Eine Klemmzeit von einer Minute ist jedoch in der Herzchirurgie nicht zu erwarten.

Betrachtet man den Endothelschaden bei einer Klemmzeit von 30 Minuten, erfolgt unabhängig vom herrschenden Innendruck ein kompletter Endothelschaden. Nach 30 Minuten ist das Endothel losgelöst und fehlt komplett. Die Oberfläche besteht aus unregelmäßig orientierten glatten Muskelzellen, wie in anderen Studien beschrieben. Die damit verbundene Gefahr der Plättchenaktivierung könnte somit zu einem erhöhten Risiko an neurokognitiven Schäden führen. Das zeigt, dass der entscheidende Faktor die Abklemmzeit bzw. -dauer ist. Bei einer Minute Abklemmen ist das Endothel zu ca. 50% noch vorhanden, nach einer halben Stunde ist kein Endothel mehr darstellbar. Innerhalb von einer halben Stunde nimmt der Einfluss der Abklemmzeit somit bedeutend zu. Das hat zur Folge, dass ein Ortswechsel der Klemme nach 30 Minuten während einer Herzoperation nutzlos wäre, da erstens der Schaden an der abgeklemmten Gewebestelle bereits zu diesem Zeitpunkt vorhanden ist und zweitens jedes weitere Umsetzen der Aortenklamme neue Läsionen hervorrufen würde. Auch eine schnelle Operation würde den Schaden nicht beeinflussen können, da die Schädigung in einem sehr kurzen Zeitraum abläuft. Das klinische Problem der Aortenklamme bleibt vorhanden.

Ein weiterer Faktor der den Gewebeschaden mit beeinflussen könnte, ist der Druck, der von aussen auf die Aorta durch die Klemme ausgeübt wird. Da dieser Faktor bei den Experimenten festgelegt wurde, indem immer im zweiten Zahn der Gefäßklamme fixiert wurde, lässt sich der Einfluss des Aussendruckes nur vermuten. Der zweite Zahn wurde in dieser Arbeit ausgewählt, da er die Aorta definiert verschließt und gleichzeitig den Druck auf das Gewebe so gering wie möglich hält. Dennoch ist bereits diese Klemmstellung mit einem beachtlich hohen Druck behaftet. Die Mittelwerte der Aussendrucke lagen in unseren Experimenten im Bereich von 566,9 mmHg bis 668,3 mmHg. Weitere Zähne würden zu noch weit größeren Werten führen mit der wahrscheinlichen Folge der vollständigen Zerstörung des Aortengewebes. Während bei den von uns ausgewählten Aussendrucke ausschließlich das Endothel verletzt bzw. zerstört wurde, die Media und die Adventitia aber unbeschädigt wirkten, würden bei noch höheren Aussendrucke zusätzlich zum Endothel auch die Media und die Adventitia vollständig zerstört werden.

In Studien mit muskulären Arterien wird für den Aussendruck eine Art Grenzwert für die histologische Läsion als Folge des Abklemmens beschrieben [9][10]. Abhängig von der Abklemmzeit und dem Zustand des Gefäßes wurden bei leichtem von aussen zugefügtem Druck signifikante Unterschiede unter den Gefäßen beim Ausmaß der Gefäßschädigung gefunden. Wird das Gefäß mit starkem Druck abgedrückt, lassen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Faktoren mehr feststellen [10]. Daraus ergab sich der Lösungsvorschlag einer druckkontrollierten Gefäßklemme zur Verbesserung der Abklemmtechnik und zur Verhinderung der Gefäßläsion. Das Ergebnis war, dass Verletzungen an muskulären Arterien vermieden werden konnten, was zu weniger chirurgischen Komplikationen führte [9]. Es ist fraglich, ob der Lösungsvorschlag einer solche Gefäßklemme auf die Aorta übertragbar ist. In dieser Arbeit wurde eine handelsübliche Aortenklemme, eine Forgarty-Klemme, benutzt. Diese Klemme besitzt insgesamt 7 Zähne. Fixiert wurde die Klemme im zweiten Zahn aus den oben genannten Gründen. Das Einrasten der Klemme im zweiten Zahn entspricht daher einer „eher“ leichten Abklemmung. Um die Aorta zu verschließen ist somit ein so hoher Mindest-Druck erforderlich, dass auch bei einer druckkontrollierten Klemme soviel Kraft auf das Gewebe ausgeübt wird, dass Gewebeschäden wie beobachtet auftreten würden.

Bei der Bewertung der Ergebnisse ist zu bedenken, dass die Untersuchungen unter in-vitro-Verhältnissen durchgeführt wurden, die nicht alle Aspekte physiologischer Bedingungen zulassen. Als Testflüssigkeit zum Aufbau des Innendruckes in der Aorta und zur späteren Aufbewahrung bis zur histologischen Verarbeitung wurde physiologische Kochsalzlösung verwendet, die sich in ihren physikalischen Eigenschaften von denen des Blutes unterscheidet. Es herrschte kein Blutstrom wie im physiologischen Kreislauf und keine Oxygenierung. Die Test-Bedingungen aller Versuche waren jedoch konstant, und es wurde eine schnelle Durchführung der Experimente gewährleistet, um die Latenzzeit des Gewebes bis zur histologischen Untersuchung möglichst kurz zu halten. Die verwendeten Schweineherzen stammten von juvenilen Schweinen und entsprachen somit dem Herzen eines Kindes und nicht - wie in den meisten Fällen der herzchirurgischen Operation - dem eines Erwachsenen mit mehr oder minder vorgeschädigter bzw. erkrankter Aorta.

Bei einer Vorschädigung des Gefäßes, wie beispielsweise durch die Arteriosklerose, nimmt der Gewebeschaden vermutlich ein größeres Ausmaß an. Gefährdet sind vor allem multimorbide Patienten. Ferner beschreibt diese Arbeit den akuten Gewebeschaden, der durch eine Gefäßklemme hervorgerufen wurde, kann aber nichts über die Regeneration des akuten Schadens und der evtl. chronischen Folgen für den Patienten aussagen. Interessant in diesem Zusammenhang ist somit die Regenerationszeit des Endothels. Erste Endothelproliferationen lassen sich nach 2 Tagen nachweisen [25]. Die Endothelregeneration der Intima erfolgt nach 5-10 Tagen [21] [22][32][34], bzw. nach 7-14 Tagen [25][28], jeweils abhängig von der Ausdehnung und Schwere des Defekts. In einer anderen Studie wurde herausgefunden, dass beim Abklemmen von Karotiden oder Femoralarterien die hervorgerufenen histologischen Verletzungen der Gefäße mindestens für sechs Monate nach dem Abklemmen bestehen bleiben, diese Verletzungen aber nicht assoziiert sind mit chronisch Veränderungen [10]. Im Unterschied zu den Studien, in denen eine Endothelregenerationszeit von 5-10 bzw. 7-14 Tagen beschrieben wird, wird in dieser Studie [10] das Gefäß mit einem hohen Druck von aussen durch die Klemme für 30 Minuten abgeklemmt, so dass die Läsion wahrscheinlich daher für einen längeren Zeitraum von sechs Monaten bestehen bleibt. Mögliche Erklärungen für die unterschiedlichen Angaben der Regenerationszeiten sind, daß die Reparationsvorgänge nach Gefäßläsion von dem Verletzungsmodus, dem Ort der Verletzung und der Spezies abhängig sind, und dass in der Folge die Reendothelialisierungsgeschwindigkeit von vielen Autoren unterschiedlich beurteilt wird [23][24].

Momentan werden folgende Mechanismen der Endothelregeneration diskutiert:

1. Aus ortsständigen peripheren Endothelzellen [24][32]
2. Aus zirkulierenden Blutzellen [15]
3. Aus glatten Muskelzellen [26]
4. Aus anderen undifferenzierten Zellen [2]

Hierbei sind Kombinationen aus 1. bis 4. möglich. Woher die Endothelregeneration letztendlich kommt, konnte nicht definitiv geklärt werden.

Ein weiteres Konzept der Endothelregeneration nach Schädigung beschreibt, dass Endothelzellen vom Rand der Wunde einwandern und den Defekt langsam bedecken. Dabei werden sie von zirkulierenden endothelialen Progenitorzellen aus dem Knochenmark unterstützt. Diese sezernieren verschiedene Zytokine, mit denen sie den Genesungsprozess steuern. Sie können sich auch selbst zu reifen (differenzierten) Endothelzellen wandeln. Erythropoetin beschleunigt diesen Heilungsprozess [11]. Wichtig ist die Regenerationszeit für die Organprotektion, in diesem Fall der Aorta. Wenn das Endothel innerhalb kurzer Zeit fähig wäre, sich zu regenerieren, dann würde vermutlich das Risiko für Komplikationen, die aufgrund des Abklemmen entstehen könnten, sinken.

Diese experimentelle Studie soll dazu beitragen, das Verhalten des externen Druckes auf die ascendierende Aorta in Abhängigkeit zu verschiedenen herrschenden Innendrücken und Abklemmzeiten zu testen und den hervorgerufenen Endothel- bzw. Gewebeschaden auf den Einfluss der beiden Drücke und der Zeit hin zu prüfen. Es zeigt sich, dass bei Verwendung einer herkömmlichen Klemme der Faktor Zeit eine wesentlich größere und bedeutendere Rolle bezüglich des Ausmaßes der Läsion spielt als der Faktor Druck. Das Ergebnis dieser Arbeit ist, dass ein Schaden des Gewebes, der durch die verwendete Aortenklammer hervorgerufen wird, nicht vermeidbar ist, da die Schädigung in einem sehr kurzen Zeitraum abläuft. Nur sehr wenige Herzoperationen können innerhalb von weniger als 20 Minuten abgeschlossen werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG

In der Herzchirurgie wird für die Mehrzahl der Herzoperationen ein ruhendes, blutleeres Herz benötigt, welches mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine (HLM) erreicht werden kann. Teil dieser Technik ist das Abklemmen der ascendierenden Aorta oberhalb der Koronararterien und unterhalb des Aortenbogens mit Hilfe einer Klemme. Einige vorhergehende Studien belegen, dass die Klemme Läsionen am Aortengewebe im Bereich des Abklemmens hervorruft. Die vorliegende experimentelle Studie untersucht den Einfluss der Abklemmzeit, des Innendrucks und des Aussendruckes auf das Ausmaß der Gewebsschädigungen, mit dem Ziel eine Optimierung der Abklemmtechnik zu erlangen, so dass der Gewebeschaden minimiert werden kann.

Hierzu wurden 20 Aorten vom Schwein in einem Wasser-Druck-System bei verschiedenen Innendrücken getestet. Neben der Messung des aufzubringenden Aussendruckes durch die Klemme, der benötigt wird, um die Aorta zu verschließen bzw. verschlossen zu halten, wurde bei variierenden Innendrücken Messungen über eine Abklemmzeit von einer Minute und 30 Minuten durchgeführt. Die erhaltenen Druckkurven und ihre Mittelwerte wurden zu den Innendrücken und der Abklemmzeit in Relation gesetzt und dem histologischen Bild gegenübergestellt.

Die Abklemmzeit erwies sich als ausschlaggebender Faktor, der das Ausmaß der histologischen Gewebsschädigung bestimmt. Der Aussendruck wurde nicht verändert. Auch der Innendruck hatte im Verhältnis zur Zeit für das Ausmass der Läsion keine wesentliche Bedeutung. Zwar hat der Endothelschaden bei einer Minute Abklemmzeit bei steigendem Innendruck zugenommen, so dass bei einem Innendruck von 30 oder 40 mmHg noch 70 % bzw. 60 % der Zellen des Endothels vorhanden waren, bei einem Innendruck von mehr als 50 mmHg die Endothelzellzahl allerdings auf unter 50% fiel. Nach 30 Minuten Abklemmen war ausnahmslos ein kompletter Endothelschaden vorhanden. Diese Ergebnisse zeigen, dass eine Schädigung des Gewebes beim Abklemmen der Aorta während einer Herzoperation mit der verwendeten herkömmlichen Gefäßklemme nicht vermieden werden kann. Die Abklemmzeit stellt den limitierenden Faktor dar.

Ein Umsetzen der Klemme während der OP wäre nicht sinnvoll, da weitere Gewebsläsionen entstehen würden.

7 DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Freunden, Kollegen und Mitarbeitern bedanken, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Herrn Prof. Dr. med. H.-H. Sievers, Direktor der Klinik für Herzchirurgie des Campus Lübeck, für die uneingeschränkte Unterstützung und für die Möglichkeit, meine Arbeit in seiner Abteilung zu erstellen.

Herrn PD Dr. med. J. Babin-Ebell, meinen ersten Doktorvater, für die Idee, das Angebot und die liebevolle Betreuung dieser Arbeit vor Ort sowie für die zuverlässige Unterstützung aus der Ferne aufgrund seines Arbeitsplatzwechsels. Ich habe mich zu jedem Zeitpunkt wohl gefühlt.

Herrn PD Dr. med. M. Bechtel, meinen zweiten Doktorvater, für die uneingeschränkte und absolut freundliche Übernahme der Betreuung meiner Doktorarbeit und für die Unterstützung und Hilfe, die Arbeit zum Ende zu bringen. Ich habe mich sehr gut aufgenommen gefühlt.

Herrn Dr. rer. hum. biol. M. Scharfschwerdt, meinen Laborbetreuer, für die treue und uneingeschränkte Unterstützung bei den Experimenten im Labor, die zuverlässige Materialbereitstellung z. B. der frischen Schweineherzen und die aufgebrachte Geduld bei der Betreuung mit der Technik, ohne die meine Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Ich werde diese wöchentlichen Laboraufenthalte bei Ihnen vermissen.

Herrn Böhmer für die nette Unterstützung im Labor beim Durchführen der Versuche.

Frau E. Theissing für die tolle Zusammenarbeit und zuverlässige Hilfe bei der Bearbeitung der Gewebeproben, die einen wichtigen Anteil meiner Arbeit eingenommen haben.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. M. Klinger für das unglaubliche persönliche und zeitliche Engagement, die absolut uneingeschränkte Unterstützung und grandiose Hilfe sowohl bei der Bearbeitung der Gewebeproben als auch bei deren visuellen Darstellung, ebenso für die Bereitstellung der Materialien und der Arbeitsinstrumente. Es ist schön, dass es solche Menschen gibt. Vielen Dank.

Frau P. Lingens, Chefsekretärin, für die zuverlässige Weiterleitung die vielzahligen ausgedruckten Variationen meiner Arbeit an meinen Doktorvater.

Meiner ganzen Familie, insbesondere meinen Eltern, Großeltern, meinen zwei Schwestern und meinem Bruder bin ich unendlich dankbar für das, was ihr seid und was ihr mir gebt.

Zu guter Letzt danke ich ganz besonders meinem Freund Timo, ohne ihn hätte ich meine Arbeit nicht zu dem machen können, zu dem sie geworden ist. Während meiner gesamten Arbeit hat er mich uneingeschränkt unterstützt, hat sich liebevoll und geduldig um mich gekümmert und hat mich durch jede Phase hin durchbegleitet. Ich bin sehr glücklich, dass es dich gibt!

8 LITERATURVERZEICHNIS

- 1: Antunes P.E., Ferrao de Oliveira J., Antunes M.J., Predictors of cerebrovascular events in patients subjected to isolated coronary surgery. The importance of aortic cross-clamping, *European Journal of Cardiothoracic Surgery* 2003; 23: 328-333
- 2: Auerbach R, Bielich H, Obeso J, Weber J, Quantitation of endothelial cell movement, In: RN Feinberg, GK Sherer, R Auerbach (eds): „The Development of the Vascular System.“, *Issues Biomed*, Vol 14, Karger, Basel, p 93-108
- 3: Bainbridge D., 3-D Imaging for Aortic Plaque Assessment, *Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, Vol 9, No 2 (June); 2005: 163-165
- 4: Boivie P., Hansson M., Engström G., Embolic material generated by multiple aortic crossclamping: A perfusion model with human cadaveric aorta, *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2003; 125: 1451-1460
- 5: Boivie P., Hansson M., Engström G., Intraluminal aortic manipulation by means of intra-aortic filter, cannulation, and external clamp maneuvers evaluated versus dislodged embolic material, *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2006; 131: 283-289
- 6: Calafiore A. M., Di Mauro M., Teodori G., Di Giammarco G., Cimeni S., Contini M., Iaco A. L., Pano M., Impact of aortic manipulation on incidence of cerebrovascular accidents after surgical myocardial revascularization, *The Annals of Thoracic Surgery* 2002; 73: 1387-1393
- 7: Caputo M., Pradeep N., Angelini G.D., Conventional surgery with aortic cross-clamping, *Multimedia Manual of Cardiothoracic Surgery* 2006, March 15
- 8: Coelho J.C., Sigel B., Flanigan D.G., Schuler J.J., Justin J., Machi J., Arteriographic and ultrasonic evaluation of vascular clamp injuries using an in vitro human experimental model, *Surgery, Gynecology and Obstetrics* 1982, October ; Vol 155
- 9: Darcin O.T., Cengiz M., Özardalt I., Andac M.H., Pressure-controlled vascular clamp: A novel device for atraumatic vessel occlusion, *Annals of Vascular Surgery* 2004; 18: 254-256
- 10: Dobrin P.B., McGurrin J.F., McNulty J.A., Chronic histologic changes after vascular clamping are not associated with altered vascular mechanics, *Annals of*

Vascular Surgery 1992; 6 (2): 153-159

11: Fliser D., EPO - Organprotektion und Stammzellaktivierung, , Abteilung für Nieren- und Hochdruckkrankheiten, Zentrum Innere Medizin, Hannover, 12-17

12: Goto T., Baba T., Matsuyama K., Honma K., Ura M., Koshiji T., Aortic atherosclerosis and postoperative neurological dysfunction in elderly coronary surgical patients, 2003, The Annals of Thoracic Surgery 2003; 75: 1912-1918

13: Hammon J.W., Stump D.A., Butter, Single crossclamp improves 6-month cognitive outcome in high-risk coronary bypass patients: The effect of reduced aortic manipulation, Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery 2006; 131: 114-121

14: Harvey J.G., Gough M.H., A comparison of the traumatic effects of vascular clamps, British Journal Surgery 1981; Vol. 68; 267-272

15: Haudenschild C, Studer A, Early interactions between blood cells and severely damaged rabbit aorta, American Society for Investigative Pathology 1973; October; V.72 (1): 7-26

16: Hogue Ch.W., Murphy S.F., Schechtman K.B., Davila-Roman V.G., Risk factors for early or delayed stroke after cardiac surgery, Journal of the American Heart Association, Circulation 1999; 100; 642-647

17: Kapetanakis E.I., Stamou S.C., Dullum M.K.C., Hill P.C., Haile E., Boyce S.W., Bafi A.S., Petro K.R., Corso P.J., The impact of aortic manipulation on neurologic outcomes after coronary artery bypass surgery: A risk-adjusted study, The Annals of Thoracic Surgery 2004; 78: 1564-1571

18: Margovsky A.I., Lord R.S., Chambers A.J., The effect of arterial clamp duration on endothelial injury: An experimental study, Annals of Thoracic Surgery 1997; 67: 448-451

19: Mathew J.P., Rinder H.M., Smith B.R., Newman M.F., Rinder Ch.S., Transcerebral platelet activation after aortic cross-clamp release is linked to neurocognitive decline, Annals of Thoracic Surgery 2006; 81: 1644-1649

20: Menkis A.H., Management of the ascending aorta in routine cardiac surgery, Seminar in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia; Vol 8, No 1 (March), 2004: 19-24

21: Meyermann R, Kletter G, Koos WT, Morphologic changes after vascular microanastomoses as a function of the technique used, 1977, In: Schmiedek P (ed)"Microsurgery for Stroke". Spr, p 123-127

- 22: Meyermann R, Wissmann H, Kletter G, Morphologic approach to fine structural changes in the intima of the common carotid artery of the rat following microsurgery, 1977, In: Schmiedek P (ed) "Mikrosurgery for Stroke". Sp, 128-134
- 24: Minderjahn A, Zur Endothelregeneration nach mikrochirurgischen Gefäßeingriffen. Rasterelektronenmikroskopische, morphometrische und autoradiographische Untersuchungen., 1983, Habilitationsschrift, Aachen,
- 23: Minderjahn A, Morphometrische und autoradiographische Untersuchungen zur Endothelregeneration, 1983, In: G Pfeifer & N Schwenzer (Hrsg): "Fortschritte der Kiefer- und Gesichtschirurgie", Thieme, Stuttgart, p 137-139
- 25: Minderjahn A, Dahm HH, Scanning electron microscope observations of microvascular anastomosis in the rat carotid artery, 1979, J Maxillo-Fac Surg 7, p 225-233
- 26: Mitchell GM, McCann JJ, Rogers IW, Hickey MJ, Morrison WA, O'Brien B McC, A morphological study of the long-term repair process in experimentally stretched but unruptured arteries and veins, 2006, Br J Plast Surg 49, p 34-40
- 27: Peel G.K., Stamou S.C., Dullum M.K.C., Hill P.C., Jablonski K.A., Bafi A.S., Boyce S.W., Chronologic distribution of stroke after minimally invasive versus conventional coronary artery bypass, Journal of The American College of Cardiology 2004; 43: 752-756
- 28: Riediger D, Schlote W, Pathomorphologische Veränderungen in der Gefäßwand nach mikrochirurgischer Naht im Tierexperiment, 1981, Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 4, p 233-237
- 29: Safi H.J., Taylor P.R., Open surgery for thoracic aortic disease, Heart 2003; 89:825-826
- 30: Slayback J.B., Bowen W.W., Hinshaw D.B., Intimal injury from arterial clamps, The American Journal of Surgery 1976; Vol.132: 183-188
- 31: Stamou S.C., Stroke and encephalopathy after cardiac surgery, Stroke 2006; 37: 284
- 32: Thurston JB, Buncke HJ, Chater NL, Weinstein PR, A scanning electron microscopic study of microarterial damage and repair., 1976, Plast Reconstr Surg 57, 197
- 33: Ura M., Sakata R., Nakayama Y., Goto T., Ultrasonographic demonstration of

manipulation-related aortic injuries after cardiac surgery, Journal of the American College of Cardiology 2000; 35: 1303-1310

34: Van Gelder PA, Klopper RJ, Healing of microvascular arterial anastomoses, as seen on corrosion casts by scanningelectron microscopy., 1979, Plast Reconstr Surg 64, 59-64

35: Zamvar V., Willimas D., Hall J., Payne N., Cann C., Young K., Karthikeyan S., Dunne J., Assessment of neurocognitive impairment after off-pump and on-pump techniques for coronary artery bypass graft surgery: prospective randomized controlled trial, BMJ 2002; 325: 1268

9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: Handelsübliche Fogarty-Klemme mit Dehnungsmessstreifen.....	12
Abb. 2: Wheatonsche Brückenschaltung.....	13
Abb. 3: Biegestab.....	13
Abb. 4: Aorta eingebaut in Wasser-Druck-System.....	15
Abb. 5: Beispiel einer Druckkurve (A19N3030).....	20
Abb. 6: Mittelwerte des 2. Druckpunktes.....	21
Abb. 7: Mittelwerte des Plateaus.....	21
Abb. 8: Ausschnitt aus einer Gewebeprobe einer ungeklemmten Aorta.....	23
Abb. 9: Querschnitt der Gefäßwand der ascendierenden Aorta.....	25
Abb. 10: Ausschnitt aus Abb. 9.....	25
Abb. 11: Endothelausschnitt einer Aorta, die bei einem Innendruck von 30 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde.....	26
Abb. 12: Ausschnitt des Endothels einer Aorta, die bei einem Innendruck von 80 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde.....	26
Abb. 13: Ausschnitt des Endothels einer Aorta, die bei einem Innendruck von 80 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde.....	27
Abb. 14: Ausschnitt eines geschädigten Endothels aus einer Aorta, die bei einem Innendruck von 80 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde.....	27
Abb. 15: Ausschnitt aus der Media einer Aorta, die bei einem Innendruck von 30 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde.....	28
Abb. 16: Ausschnitt einer Media aus einer Aorta, die bei einem Innendruck von 80 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde.....	28
Abb. 17: Ausschnitt einer Adventitia inklusive Nerven aus einer Aorta, die bei einem Innendruck von 30 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde.....	29
Abb. 18: Ausschnitt einer Adventitia inklusive Gefäßen aus einer Aorta, die bei einem Innendruck von 80 mmHg eine Minute lang abgedrückt wurde.....	29
Abb. 19: Ausschnitt aus einer Aorta mit nicht mehr vorhandenem Endothel. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 40 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.....	30

Abb. 20: Ausschnitt aus einer Aorta mit gelöstem Endothel. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 60 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.....	31
Abb. 21: Ausschnitt aus einer Aorta mit bereits gelöstem Endothel. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 80 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.....	31
Abb. 22: Ausschnitt aus Media. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 40 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.....	32
Abb. 23: Ausschnitt aus Media. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 60 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.....	32
Abb. 24: Ausschnitt aus Media. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 80 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.....	33
Abb. 25: Ausschnitt aus Adventitia inklusive Nerv. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 40 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.....	33
Abb. 26: Ausschnitt aus Adventitia inklusive Nerv und Gefäß. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 60 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.....	34
Abb. 27: Ausschnitt aus Adventitia. Die Aorta wurde bei einem Innendruck von 80 mmHg 30 Minuten lang abgedrückt.....	34
Abb. 28: Ungeklemmte Referenzprobe mit markierter Länge.....	35
Abb. 29: Gewebeausschnitt mit markierter Länge von 500 µm.....	36
Abb. 30: Darstellung der Anzahl der Endothelzellen/500 µm bei den Innendrücken von 30-80 mmHg zusätzlich der Standardabweichungen.....	37
Abb. 31: Darstellung der Anzahl der Endothelzellen/500 µm bei den Innendrücken von 30-80 mmHg zusätzlich der Standardabweichungen.....	38

10 ABKÜRZUNGEN

HLM	Herz-Lungen-Maschine
ACC	Aortic Cross-Clamp
mmHg	Milimeter-Quecksilbersäule
cm	zentimeter
mm	milimeter
µm	mikrometer
z.B.	zum Beispiel
ca.	zirka
Abb.	Abbildung
Bzw.	Beziehungsweise
Nr.	Nummer
H.E.	Hämatoxylin/Eosin
%	Prozent
Min.	Minute/n
Sec.	Sekunde/n
dest.	destiliert

11 ANHANG

11.1 Chemikalien

Pikrinsäure 1,2 %	Merck 4003.1000
Formalin 37 %	Merck 4003.1000
Eisessig	Merck 1.00063.2500
Xylol	J.T.Baker 8118, Deventer, Holland
Ethanol	J.T.Baker 8006, Deventer, Holland
Resorcin-Fuchsin	Chrema 2 E 030 1l
Eisenhämatoxylin A	Chrema 2 E 032 1l
Eisenhämatoxylin B	Chrema 2 E 052 1l
Säurefuchsin-Poncean	Merck 105231
Phosphormolybdän Orange G	Merck 115925
Lichtgrün	Merck 115941
Entellan	Merck 1.07961.0500
Hämalaun	Chroma 2E 038, Münster
Eosin	Merck 115934
Hämatoxylin nach Mayer	Merck 104302
Erythrosin B	Merck 1.15936
Glutaraldehyd	Merck 1.04239
Paraformaldehyd	Merck 4005
CaCl ₂	Merck 2382
Na-Cacodylatpuffer, pH 7,35	Merck 820670

11.2 Lösungen für die Gewebe-Fixierung und -Färbungen

Bouinsche Lösung:	300ml Pikrinsäure 1,2% 100ml Formalin 37% 100ml Stammlösung 5ml Eisessig
H.E.-Färbung:	4x5 min Xylol 2x3 min Ethanol 100% Je 3 min Ethanol 96%, 90%, 80% 2x3 min Ethanol 70% 2x5 min Aqua dest. 10 min Hämalaun Spülen mit Aqua dest. 10 min Leitungswasser fließend Spülen mit Aqua dest. 5 min Eosin 2x spülen mit Aqua dest. 2x spülen mit Ethanol 70% Spülen mit Ethanol 80%, 90%, 96% 2x spülen mit Ethanol 100% 5 min Ethanol 100% 4x5 min Xylol (über Nacht stehen lassen) Eindecken mit Entellan
Masson-Goldner-Färbung: Trichlrom-Elastica:	4x5 min Xylol 2x3 min Ethanol 100% 1x3 min Ethanol 96%, 90%, 80% 30 min Resorchin-Fuchsin Spülen mit Ethanol 80% Spülen Ethanol 80% 2x spülen Ethanol 70% 10 min Weigert A+B 2x spülen Ethanol 70% 10 min Leitungswasser fließend Spülen Aqua dest. 5 min Säurefuchsin-Ponceau 3x spülen Essigsäure 2% 5 sec Phosphormolybdän Orange G 6x spülen Essigsäure 2% 5 min Lichtgrün 3x spülen Essigsäure 2% 5 min Essigsäure 2% Spülen mit Ethanol 96%, 100% 2 min Ethanol 100%

4x5 min Xylol
Eindecken mit Entellan

Fixierlösung:
Nach Monti-Graziadei:

2 % Glutaraldehyd
1 % Paraformaldehyd
0,03 % CaCl₂
in 0,6 M Na-Cacodylatpuffer, pH 7,35

Färbung der Semidünnschnitte:
Nach Richardson:

1% Azur II
1 % Methylenblau
2 % Saccharose
in 1 %iger Borax-Lösung (Na-Tetraborat)

11.3 Einfluss des internen Gegendrucks auf die gemessenen Druckwerte an der Klemme

Innendruck	30mmHg	40mmHg	50mmHg	60mmHg	70mmHg	80mmHg
Mittelwerte des 2. Druckpunktes	619,63	634,00	561,24	625,69	668,31	566,87
Mittelwerte der Plateaudrücke	542,64	545,66	494,82	550,01	545,73	493,99
Standardabweichung der Mittelwerte des 2. Druckpunktes	67,95	62,33	109,2	131,96	83,32	42,81
Standardabweichung der Mittelwerte der Plateaudrücke	76,99	91,23	104,64	127,22	21,55	53,26

11.4 Einfluss des internen Gegendrucks auf die Anzahl der Endothelzellen

Innendruck	Anzahl ausgezählter Endothelzellen				Mittelwert	Prozent	Standardabweichung	Zeit
	Gewebeprobe 1	Gewebeprobe 2	Gewebeprobe 3	Gewebeprobe 4				
Referenz					20	100	0,0000	1
30	14	14	12	16	14	70	1,6330	1
40	12	11	14	11	12	60	1,4142	1
50	7	11	9	9	9	45	1,6330	1
60	7	9	8	8	8	40	0,8165	1
70	8	8	7	9	8	40	0,8165	1
80	9	8	9	10	9	45	0,8165	1
Referenz					20	100	0,0000	30
30	0	0	0	0	0	0	0,0000	30
40	0	0	0	0	0	0	0,0000	30
50	0	0	0	0	0	0	0,0000	30
60	0	0	0	0	0	0	0,0000	30
70	0	0	0	0	0	0	0,0000	30
80	0	0	0	0	0	0	0,0000	30

11.5 Lebenslauf

Wahmstrasse 41, 23552 Lübeck
0451 - 1403093
kristin.gimpelhenning@googlemail.com

Kristin Gimpel-Henning

geboren am 02.07.1984

Schulbildung

07/1990-06/2003 Städtisches Gymnasium Löhne
06/2003 Allgemeine Hochschulreife

Hochschulausbildung

10/2003 – bis voraussichtlich 2010 Universität zu Lübeck
Fachrichtung: Humanmedizin

Pflegepraktikum

07/2003-09/2003 Klinikum Herford, Kinder- und Jugendklinik

Famulaturen

01.03.2006-28.03.2006 Rudolfstiftung, Wien
Fachrichtung: Augenheilkunde
Univ. Prof. Dr. S. Binder

01.03.2007-28.03.2007 Kantonsspital St.Gallen
Fachrichtung: Neurochirurgie
Prof. Dr. med. G. Hildebrandt

30.07.2007-19.08.2007 St.Michaels Hospital, Toronto
Fachrichtung: Augenheilkunde
Dr. L. Giavedoni

01.09.2007-07.10.2007 Allgemeinarzt Praxis, Schnathorst
Dr. med. Th. Linzer

29.02.2008-16.03.2008 Universität zu Lübeck
Fachrichtung: Augenheilkunde
Prof. Dr. med. S. Grisanti

Promotionstitel

„Auswirkung des Abklemmens der Aorta auf den endothelialen Schaden der Aorta ascendens“

Kardiologisches Labor für Herzchirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck

Wahlfächer

10/2004-11/2005 Chirurgische und topographische Anatomie für Fortgeschrittene

04/2007-07/2007 Chirurgische und topographische Anatomie für Fortgeschrittene

04/2008-07/2008 Sonografie

Besondere Kenntnisse

Fremdsprachen Englisch, gute Kenntnisse
Französisch, Grundkenntnisse
Latein, großes Latinum

PC-Kenntnisse MS Word
MS Excel
MS PowerPoint

Hobbys und Interessen

Ballett
Joggen
Surfen
Fitness

Lübeck, den 23. Juli 2009

Kristin Gimpel-Henning