

Aus der Klinik I für Allgemein-, Gefäß- und Thoraxchirurgie
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Rattencolons.
Komparative Evaluation dreier Messmethoden:

- Intravitalmikroskopie
- Mikrolichtleiter-Spektroskopie
- Polarographische Sauerstoffsonde

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von
Raphaela Düchs
aus München

Gutachter:

1. Professor Dr. med. Thomas Foitzik
2. Professor Dr. med. Thomas Scheeren
3. Professor Dr. med. Axel R. Pries

Datum der Promotion: 18. September 2009

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	vii
Einleitung	1
I Methoden und Studiendesign	5
1 Methoden	7
1.1 Intravitalmikroskopie (IVM)	7
1.2 Mikrolichtleiter-Photospektrometrie (EMPHO)	10
1.3 Polarographische Sauerstoffsonde (LICOX)	13
1.4 Übersicht über die drei Methoden	15
2 Studiendesign	17
2.1 Versuchstiere	17
2.2 Chirurgische Präparation	17
2.3 Messvorgang	18
2.3.1 Gruppe A: Kontrolle	20
2.3.2 Gruppe B: Hypovolämie	20
2.3.3 Gruppe C: Gefäßclamping	20
2.3.4 Gruppe D: Hypoxie	21
2.3.5 Gruppe E: Colitis	22
2.4 Ausschlusskriterien	22
2.5 Statistik	23
II Ergebnisse	25
3 Ergebnisse der Vorversuche	27
3.1 LICOX unter Kontrollbedingungen	27
3.2 LICOX unter Hypovolämie	29
3.3 LICOX unter Hypoxie	31

4	Ergebnisse der Hauptgruppen	33
4.1	Gruppe A: Kontrolle	34
4.2	Gruppe B: Hypovolämie	37
4.3	Gruppe C: Gefäßclamping	41
4.4	Gruppe D: Hypoxie	45
4.5	Gruppe E: Colitis	51
5	Gruppenübergreifender Vergleich	57
5.1	Vergleich zwischen IVM und EMPHO	58
5.2	Vergleich zwischen LICOX und IVM	60
5.3	Vergleich zwischen LICOX und EMPHO	61
6	Zusammenfassung der Ergebnisse	63
III Diskussion		65
7	Diskussion der Methoden	67
7.1	Mikrolichtleiter-Photospektrometrie EMPHO	67
7.1.1	Physikalische Grundlagen der Remissions- Photospektrometrie: Streuung und Absorption	67
7.1.2	Physiologische Variable	69
7.1.3	Technische Variable	70
7.1.4	Erfassungsvolumen	70
7.1.5	Messgrößen	75
7.1.6	Nachteile der Methode	80
7.1.7	Vorteile der Methode	80
7.1.8	Zusammenfassung	81
7.2	Intravitalmikroskopie (IVM)	83
7.2.1	Besonderheiten bei der Präparation des Colons	83
7.2.2	Eigenschaften der FITC-markierten Erythrozyten	85
7.2.3	Einfluss phototoxischer Effekte	87
7.2.4	Messgrößen	88
7.2.5	Nachteile der Methode	93
7.2.6	Vorteile der Methode	94
7.2.7	Zusammenfassung	95
7.3	Polarographische Sauerstoffsonde (LICOX)	96
7.3.1	Historischer Abriss	96
7.3.2	Die verschiedenen Typen der Clark-Typ-Elektrode	96
7.3.3	Die „Revoxode“ LICOX	98
7.3.4	Nachteile der Methode	102
7.3.5	Vorteile der Methode	102
7.3.6	Zusammenfassung	103

7.4	Übersicht über die Vor- und Nachteile der drei Methoden	104
8	Diskussion der Ergebnisse	105
8.1	Ergebnisse der Vorversuche	105
8.1.1	LICOX unter Kontrollbedingungen	105
8.1.2	LICOX unter Hypovolämie	105
8.1.3	LICOX unter Hypoxie	106
8.2	Ergebnisse der Hauptgruppen	106
8.2.1	Bemerkungen zu den Ergebnissen der IVM	106
8.2.2	Bemerkungen zu den Ergebnissen des EMPHO	112
8.2.3	Bemerkungen zu den Ergebnissen des LICOX	116
8.2.4	Bemerkungen zu Korrelationen zwischen den drei Methoden	117
	Zusammenfassung	119
	Abbildungsverzeichnis	123
	Literaturverzeichnis	125
	Anhang	137
	Danksagung	165
	Lebenslauf	166
	Veröffentlichungen	167
	Selbstständigkeitserklärung	168

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

BGA	arterielle Blutgasanalyse
EMPHO	Akronym für „Erlanger Mikrolightleiter-Photospektrometer“
FITC	Fluoreszein-Isothiocyanat
IVM	Intravitalmikroskopie
LICOX	Gerätename der polarographischen Sauerstoffsonde
TNBS	Trinitrobenzol-Sulphonsäure

Abkürzung	Definition	Einheit
n_{FITC}	Konzentration der markierten Erythrozyten (<i>markierte Erythrozyten/Blutvolumen</i>)	1/nl
f_{FITC}	Frequenz der in einer Kapillare passierenden markierten Erythrozyten (<i>markierte Erythrozyten/Minute</i>)	1/min
Hkt	Hämatokrit (<i>Erythrozytenvolumen/Blutvolumen</i>)	%
Hkt_{sys}	systemischer Hämatokrit	%
Hkt_{micro}	kapillarer Hämatokrit	%
N_{FITC}	Anteil der markierten Erythrozyten am Gesamtvolumen aller Erythrozyten (<i>markierte Erythrozyten/Erythrozytenvolumen</i>)	1/nl
Q	kapillarer Zellfluss (<i>Erythrozytenvolumen/Minute</i>)	nl/min
CBF	kapillarer Blutfluss (<i>Blutvolumen/Minute</i>)	nl/min
$Hb_{Sat}O_2$	mit dem EMPHO gemessene Sauerstoffsättigung des Hämoglobins	%
$rel.[Hb]$	mit dem EMPHO gemessene relative Hämoglobinkonzentration	

Abkürzung	Definition	Einheit
pO_2	Sauerstoffpartialdruck	<i>mmHg</i>
$p_{muc}O_2$	mit dem LICOX gemessener Sauerstoffpartialdruck im Gewebe	<i>mmHg</i>
$p_{art}O_2$	in der arteriellen Blutgasanalyse gemessener Sauerstoffpartialdruck	<i>mmHg</i>
$p_{art}CO_2$	in der arteriellen Blutgasanalyse gemessener Kohlendioxidpartialdruck	<i>mmHg</i>
<i>EID</i>	endinspiratorischer Druck	<i>cmH₂O</i>

Einleitung

Eine Zelle im lebenden Gewebe kann ihre Funktion nur dann uneingeschränkt ausüben, wenn ihre Blutversorgung - und damit die Sauerstoffversorgung und der Austausch der Stoffwechselprodukte - gewährleistet ist. Insbesondere bei schweren Erkrankungen und lebensbedrohlichen Zuständen ist die Qualität der Blutversorgung in der Endstrombahn und die Menge an Sauerstoff, die der Zelle zur Verfügung steht, von vitaler Bedeutung. Detaillierte Kenntnisse der Mikrozirkulation und der Sauerstoffversorgung des Gewebes könnten uns weitere Aufschlüsse über die Pathogenese und den Verlauf vieler Erkrankungen (z.B. des Multiorganversagens) geben und somit weitere Fortschritte in der Diagnostik und Therapie ermöglichen. Während die physiologischen Vorgänge der Makrozirkulation der Beobachtung relativ leicht zugänglich sind - die quantitative Bestimmung der Blutgase im arteriellen und venösen System wird beispielsweise routinemäßig klinisch durchgeführt -, sind Untersuchungen im Bereich der Mikrozirkulation und des Gasaustausches auf kapillarer Ebene auch heute noch weitgehend im experimentellen Stadium. Das liegt daran, dass die verwendeten Methoden entweder für den Einsatz in der klinischen Routine technisch zu aufwendig oder überhaupt nicht geeignet sind oder die Aussagekraft der von ihnen bestimmten Parameter noch nicht klar ist.

Den Goldstandard für Untersuchungen der Mikrozirkulation stellt derzeit die Intravitalmikroskopie dar. Diese Methode kann jedoch außer an der Haut [1], in der Mundhöhle [2] und an der Zunge [3] am Patienten nicht eingesetzt werden. Messungen an Organen, die bei vital bedrohlichen Erkrankungen (z.B. Multiorganversagen) eine maßgebliche Rolle spielen, sind nur tierexperimentell möglich. In unserer Arbeitsgruppe ist die Intravitalmikroskopie an Pankreas, Darm, Leber und Lunge tierexperimentell etabliert [4, 5, 6, 7, 8, 9]. Doch auch im Tierexperiment kann die Intravitalmikroskopie zwar als einzige Methode die Mikrozirkulation direkt visualisieren, über den letztlich entscheidenden Parameter, die Sauerstoffversorgung des Gewebes, gibt sie aber nur indirekt Auskunft.

Daher ist man seit langem auf der Suche nach alternativen, klinisch einfacher handzuhabenden Techniken. Als vielversprechende Methode hat sich die spektrometrische Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins herausgestellt. Geräte, die sich dieser Technik bedienen, können in der Regel auch intraope-

rativ und endoskopisch angewendet werden, so dass eine Untersuchung innerer Organe am Patienten möglich ist [10, 11, 12]. Ein solches Instrument ist das **Erlanger Mikrolichtleiter-Photospektrometer (EMPHO)**, das mittels eines flexiblen Mikrolichtleiters ein so kleines Erfassungsvolumen erreicht, dass damit die kapillare Sauerstoffsättigung des Hämoglobins bestimmt werden kann. Mit dem EMPHO kann mit einer ausreichend hohen örtlichen und zeitlichen Auflösung gemessen werden, um die Regulationsmechanismen auf mikrozirkulatorischer Ebene zu studieren [13, 14]. Das EMPHO wurde bereits mehrfach klinisch eingesetzt, z.B. zum postoperativen Monitoring von Hautlappenplastiken und intraoperativ in der Neurochirurgie [15, 16, 17, 18]. Allerdings sind die Erfahrungen mit dem EMPHO bislang auf wenige Organe beschränkt. Außerdem ist weder klar, wie aussagekräftig die Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins und der relativen Hämoglobinkonzentration mittels des EMPHO ist, noch, wie die Messparameter des EMPHO auf bestimmte pathologische Veränderungen wie z.B. Hypovolämie reagieren. Der Darm ist für die Untersuchung solcher Veränderungen ein besonders interessantes Organ: Mikrozirkulationsstörungen bzw. eine unerschwellige Minderversorgung des Darmes mit Sauerstoff werden als wesentlichen Co-Faktoren beim sog. gut barrier failure im Rahmen eines Multiorganversagens [19, 9] und auch bei verschiedenen Formen der Colitis diskutiert [20, 21, 22, 23]. Zudem ist das Colon relativ leicht endoskopisch zugänglich, so dass nach einer sorgfältigen tierexperimentellen Evaluation des EMPHO leicht klinische Studien durchgeführt werden könnten. Mit dem Einsatz des EMPHO am Darm befasst sich aber bisher lediglich eine tierexperimentelle Arbeit über Anastomoseinsuffizienzen [24] und eine klinische Studie an der Rektumschleimhaut [25].

Vor diesem Hintergrund soll die vorliegende Arbeit das EMPHO auf seine Eignung zur Erforschung der Mikrozirkulation und der Sauerstoffversorgung des Gewebes untersuchen. Dazu wird das EMPHO mit dem „Goldstandard“ Intravitalmikroskopie (IVM) unter fünf verschiedenen Bedingungen (Kontrolle, Hypovolämie, Gefäßclamping, Hypoxie und Colitis) am Colon descendens von Ratten verglichen. Konkret sollen folgende Fragen geklärt werden:

1. Welche unterschiedlichen Teilaspekte der Mikrozirkulation und der Sauerstoffversorgung des Gewebes können mit der IVM und mit dem EMPHO untersucht werden?
2. Welches sind die Vor- und Nachteile der Photospektrometrie und welches die der Intravitalmikroskopie?
3. Korrelieren die Messergebnisse des EMPHO mit denen der Intravitalmikroskopie?
4. Lassen sich die mit der Intravitalmikroskopie beobachteten Veränderungen bei Colitis auch photospektrometrisch mit dem EMPHO nachvollziehen?

Da beide Methoden - IVM und EMPHO - einer kritischen Betrachtung unterworfen werden, wird als dritte Methode eine polarographische Mikrokathetersonde (LICOX) im Sinne einer Referenzmethode eingesetzt. Die polarographische Messung des Sauerstoffpartialdruckes im Gewebe scheint zu diesem Zweck geeignet, da sie eine bewährte und weit verbreitete Methode zur Beurteilung der Sauerstoffversorgung des Gewebes ist und unmittelbar Aufschluss "über den der Zelle zur Verfügung stehenden Sauerstoff gibt. Das LICOX dient zum einen zur Überprüfung und Etablierung der Versuchsanordnung und -bedingungen, zum anderen zur Verifizierung der Aussagekraft und Zuverlässigkeit der von IVM und EMPHO erhobenen Messparameter. Die Nachteile des LICOX, nämlich dass die Methode invasiv arbeitet und nicht für den endoskopischen Einsatz geeignet ist, sind in dieser Studie nicht relevant. An entsprechender Stelle werden sie aber im Rahmen dieser Arbeit kurz zur Diskussion gestellt.

Teil I

Methoden und Studiendesign

Kapitel 1

Methoden

1.1 Intravitalmikroskopie (IVM)

Die Methode der Intravitalmikroskopie (IVM) ist in unserer Arbeitsgruppe für verschiedene Organe etabliert, unter anderem auch zur Bestimmung des kapillaren Blutflusses (CBF) am Colon von Ratten [26, 20]. Die Markierung der Erythrozyten und die Quantifizierung des kapillaren Blutflusses wird wie von Butcher [27] und Sarelius [28] beschrieben und von Mithöfer et al. [29] modifiziert durchgeführt:

Nach intravenöser Injektion von $0,5 \text{ ml/kg Körpergewicht}$ homologen Erythrozyten (Hämatokrit 50%), die mit Fluoreszein-Isothiocyanat (FITC)¹ markiert sind, wird das vor die Bauchhöhle exponierte Colon unter ein Aufsicht-Fluoreszenzmikroskop² (s. Abb. 1.1) platziert. Die Lichtquelle ist eine Xenon-Hochdrucklampe³, welche mit einem Wärmeschutz- und Anregungsfilter (450 – 490 nm) ausgestattet ist. Mit einem Leica 20/0,32 Objektiv werden an verschiedenen, zufällig ausgewählten Feldern mit 480-facher Vergrößerung Felder von $400 \times 325 \mu\text{m}$ ($= 0,13 \text{ mm}^2$) betrachtet. Das mikroskopische Bild wird mittels einer Videokamera⁴ auf einen Monitor übertragen und nach dem Fokussieren auf einem Videoband für die anschließende Off-line-Auswertung aufgenommen (s. Abb. 1.2).

Auf diese Weise werden mit der IVM zwei Größen experimentell bestimmt: die Frequenz der passierenden, markierten Erythrozyten (f_{FITC} [1/min]) und die Konzentration der markierten Erythrozyten (n_{FITC} [1/nl]). Aus diesen beiden Größen und dem systemischen Hämatokrit (Hkt_{sys}) kann dann der CBF wie im Folgenden in Formel 1.1 - 1.6 hergeleitet berechnet werden.

Um n_{FITC} zu bestimmen, wird nach Abschluss des gesamten Messvorganges eine arterielle Blutprobe entnommen; aus dieser werden in einer Neubauerkammer in 50 verschiedenen Zählfeldern die markierten Erythrozyten gezählt.

¹0,2 ml/kg FITC Isomer I, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

²Leitz; Wetzlar, Deutschland

³XBO 100 W/2; Osram, Berlin, Deutschland

⁴Cohu CCD-4810; San Diego, Calif., USA

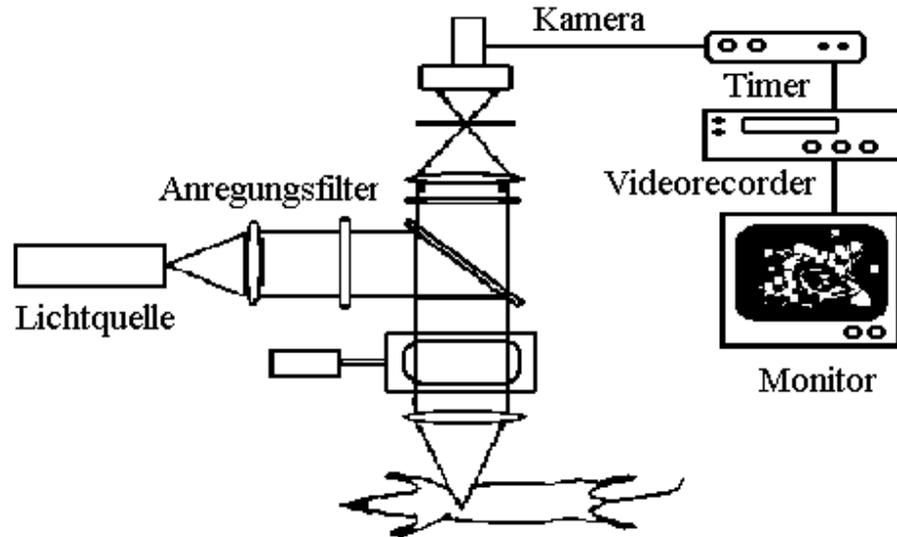


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung des Aufbaus der Intravitalmikroskopie nach [30]

Um f_{FITC} zu bestimmen, werden pro auf Videoband aufgezeichnetem Messfeld ca. 20 Kapillaren off-line ausgewertet. Ein Gefäß wird als Kapillare klassifiziert, wenn es sich nicht weiter verzweigt und die Erythrozyten in einer Reihe, einer hinter dem anderen, fließen. In einem festgesetzten Zeitfenster zählt ein Beobachter die durch eine Kapillare fließenden markierten Erythrozyten; f_{FITC} ist der Mittelwert aus diesen 20 ausgewerteten Kapillaren pro Feld.

Aus n_{FITC} und dem Hkt_{sys} zum Zeitpunkt der Bestimmung von n_{FITC} (t_n) wird der Anteil der markierten Erythrozyten am gesamten Volumen an Erythrozyten (N_{FITC} [1/nl]) errechnet:

$$N_{FITC} = n_{FITC}/Hkt_{sys}(t_n) \quad (1.1)$$

Es konnte gezeigt werden, dass das Verhältnis von markierten zu unbehandelten Erythrozyten im kapillaren Blut gleich dem im arteriellen ist [28]. So kann aus f_{FITC} und N_{FITC} der kapillare Zellfluss (Q [nl/min]) berechnet werden [31]:

$$Q = f_{FITC}/N_{FITC} \quad (1.2)$$

Teilt man Q durch den kapillaren Hämatokrit (Hkt_{mikro}) zum Zeitpunkt der Bestimmung von f_{FITC} (t_f), erhält man den kapillaren Blutfluss (CBF [nl/min]):

$$CBF = Q/Hkt_{mikro}(t_f) \quad (1.3)$$

Der Hkt_{mikro} ist in Gefäßen, in denen der Fahraeus-Effekt wirksam wird (3,3 – 11 μm Durchmesser), also auch in den Kapillaren des Rattencolons (5 – 8 μm



Abbildung 1.2: Beispiel eines auf Videoband aufgenommenen Mikroskopbildes

Durchmesser [32]), niedriger als der Hkt_{sys} . Albrecht et al. konnten zeigen, dass Hkt_{mikro} und Hkt_{sys} in solchen Kapillaren, über einen nahezu konstanten Faktor, der bei Nagetieren experimentell auf 0,76 bestimmt wurde, zusammenhängen [33]:

$$Hkt_{mikro} = Hkt_{sys} \times 0,76 \quad (1.4)$$

Unter Berücksichtigung dieses Faktors wird aus den im Experiment gemessenen Werten für f_{FITC} und n_{FITC} mit den Gleichungen 1.1 bis 1.4 der kapillare Blutfluss wie folgt berechnet [33]:

$$CBF = \frac{f_{FITC}}{n_{FITC}/Hkt_{sys}(t_n) \times Hkt_{sys}(t_f) \times 0,76} \quad (1.5)$$

Unter der Annahme, dass Hkt_{sys} konstant bleibt und zum Zeitpunkt der Bestimmung von f_{FITC} und n_{FITC} gleich ist, kürzt sich $Hkt_{sys}(t_n)$ und $Hkt_{sys}(t_f)$ aus der Gleichung:

$$CBF = \frac{f_{FITC}}{n_{FITC} \times 0,76} \quad (1.6)$$

Zusätzlich zur Bestimmung des *CBF* können Aussagen über Flusscharakteristika gemacht werden. So kann z.B. das Vorhandensein von intermittierendem Fluss oder der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren (= perfundierte Kapillaren / alle im Feld sichtbaren Kapillaren) beurteilt werden.

1.2 Mikrolichtleiter-Photospektrometrie (EMPHO)

Die spektrophotometrischen Messungen wurden mit dem Erlanger Mikrolichtleiter-**Photospektrometer** (EMPHO II)⁵ durchgeführt. Dieses Gerät ermöglicht es, nicht invasiv, d.h. an der intakten Darmwand, mit einem sehr kleinen Erfassungsvolumen intrakapillare Hämoglobinremissionsspektren zu messen. Das EMPHO besteht aus vier Einheiten: einer Lichtquelle, einem Lichtleiterkabel, einer Dekodiereinheit und einem Computersystem. (s. Abb. 1.3)

Das polychromatische, weiße Licht einer Xenon-Hochdrucklampe wird mit einem Linsensystem in den Sendelichtleiter eingekoppelt und über diesen in das Gewebe eingestrahlt. Ein Teil des Lichtes wird vom Gewebe rückwärts gestreut und über sechs Empfangslichtleiter, die zirkulär um den Sendelichtleiter angeordnet sind und mit diesem in einem Gummischlauch zu einem Kabel zusammengefasst sind (s. Abb. 1.4), zur Dekodiereinheit zurückgeleitet. Dort trifft das Licht auf eine rotierende Interferenzverlaufsfilterscheibe, die an eine Dekodierscheibe gekoppelt ist. In Abhängigkeit ihres Drehwinkels ist die Interferenzverlaufsfilterscheibe nur für das Licht einer bestimmten Wellenlänge im Bereich von 502 bis 628 *nm* durchlässig. So wird das Licht in Schritten von 2 *nm* in seine spektralen Anteile zerlegt. Über einen Flüssiglichtleiter wird das Licht zu einem Photomultiplier übertragen und dort in ein analoges Stromsignal umgesetzt, anschließend verstärkt, in ein Spannungssignal umgewandelt und von einem Analog-Digitalwandler digitalisiert. Die Spannungswerte sind direkt proportional zur gemessenen Lichtintensität der jeweiligen Wellenlänge. Pro Sekunde können 100 Spektren aufgezeichnet werden, welche aus 64 wellenlängenäquidistanten Messpunkten bestehen. Diese werden auf einem Bildschirm visualisiert und gleichzeitig zur weiteren Offline-Auswertung gespeichert. Eine detaillierte Gerätebeschreibung findet sich bei Frank et al. [35].

Indem das Gerät das gemessene Spektrum iterativ mit den gespeicherten Spektren von vollständig oxygeniertem und desoxygeniertem Hämoglobin (s. Abb. 1.5) vergleicht, kann nach einer von Dümmler [36] entwickelten Methode, die auf theoretischen Überlegungen von Kubelka und Munk [37] basiert, der Anteil des oxygenierten Hämoglobins (Hb_{SatO_2} [%]) quantitativ bestimmt werden.

⁵Bodenseewerk Gerätetechnik GmbH, Überlingen, Deutschland

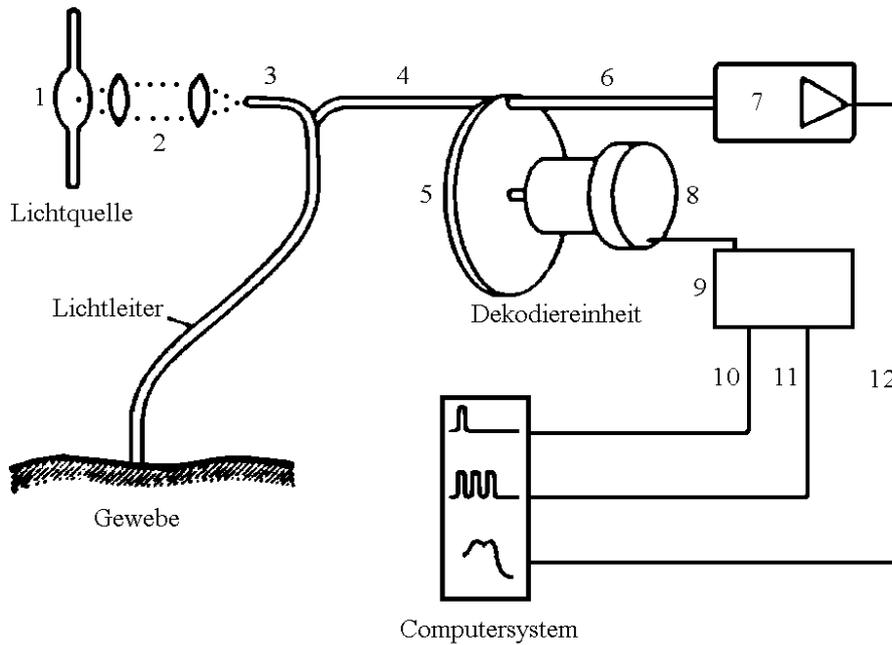


Abbildung 1.3: Schematischer Aufbau des EMPHO II nach [34]: 1 = Xenon-Hochdrucklampe; 2 = Linsensystem; 3 = Sendelichtleiter; 4 = Empfangslichtleiter; 5 = Interferenzverlaufsfilterscheibe; 6 = Flüssiglichtleiter; 7 = Photomultiplier; 8 = Dekodierscheibe; 9 = Steuerelektronik; 10 = Resetleitung; 11 = Triggerleitung; 12 = Signalleitung

Zum anderen kann relativ zu einem ersten, vom Untersucher definierten Messwert die Hämoglobin-Konzentration (rel. $[Hb]$) berechnet werden. Dies ist an den fünf isobestischen Punkten möglich, da die zurückgestreute Lichtintensität hier vom Oxygenierungszustand des Hämoglobins unabhängig ist und bei sonst konstanten Parametern nur von der Konzentration desselben abhängt.

Die Erfassungsfläche des EMPHO hängt vom Durchmesser der verwendeten Lichtleiter und ihrer numerischen Apertur ab, sowie vom Abstand der Lichtleiter zum Gewebe. Für einen Sendelichtleiter mit einem Durchmesser von $250 \mu m$ mit einer numerischen Apertur von 0,5 und Empfangslichtleiter mit einem Durchmesser von $70 \mu m$ mit einer numerischen Apertur von 0,56, wie sie in dieser Studie verwendet wurden, liegt die Erfassungsfläche zwischen $0,08$ und $0,24 mm^2$, wenn der Abstand zum Gewebe wie in dieser Studie 100 bis $300 \mu m$ beträgt.

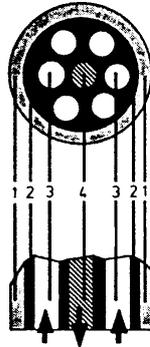


Abbildung 1.4: Schematische Darstellung des Lichtleiterkabels nach [34]: 1 = Halterung; 2 = Gummischlauch; 3 = Empfangslichtleiter; 4 = Sendelichtleiter

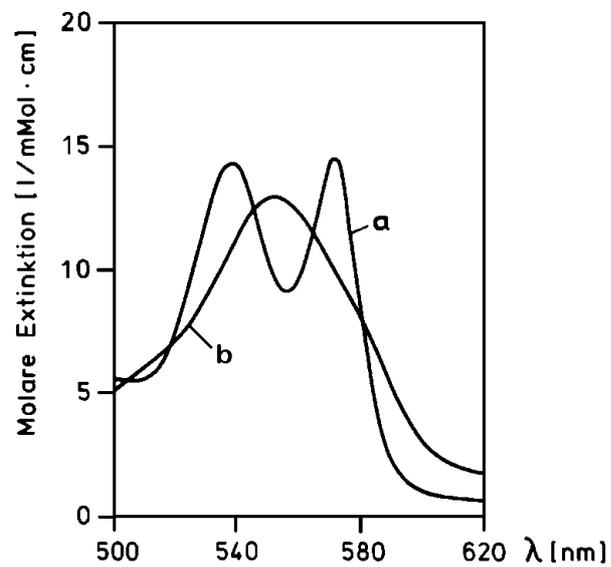


Abbildung 1.5: Küvettenpektrum von vollständig oxygeniertem (a) und desoxygeniertem (b) Hämoglobin nach [35]

1.3 Polarographische Sauerstoffsonde (LICOX)

Die polarographische Messung des Sauerstoffpartialdruckes ist eine der verbreitetsten Methoden zur Bestimmung der Sauerstoffversorgung des Gewebes, sowohl in der klinischen Anwendung als auch in der Forschung. Für diese Studie wurde eine flexible polarographische Mikrokathetersonde vom Clark-Typ [38] (LICOX)⁶ verwendet. Im Prinzip besteht die nach ihrem Entwickler benannte Clark-Typ-Elektrode (s. Abb. 1.6) aus einer Edelmetall- und einer geeigneten Referenzelektrode, die in eine Elektrolytlösung eingetaucht und von einer dünnen Polyethylenmembran, die nur für Sauerstoff durchlässig ist, umgeben sind.

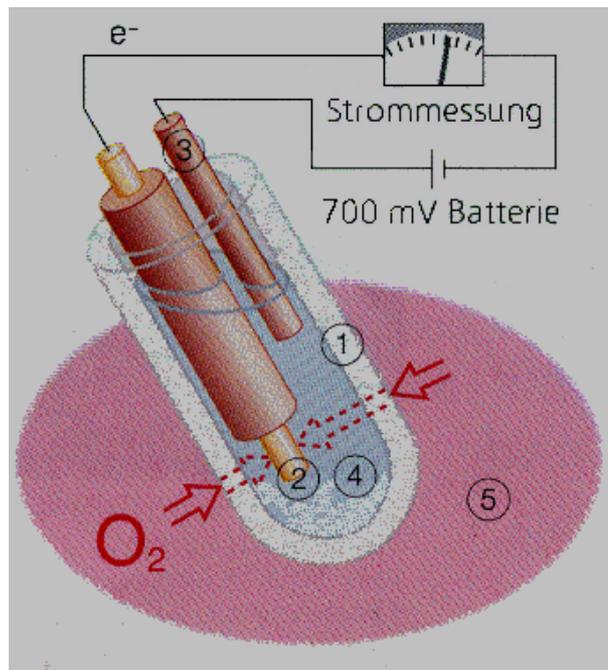


Abbildung 1.6: Schematischer Aufbau der vom LICOX verwendeten polarographischen Sonde nach [39]: 1 = Polyethylenschlauch, Diffusionsmembran; 2 = polarographische Gold-Kathode; 3 = polarographische Anode; 4 = Innenraum mit Elektrolytfüllung; 5 = Gewebe

Der Sauerstoff diffundiert aus dem umgebenden Gewebe durch diese Membran und wird an der Kathode, die mit 795 mV polarisiert wird, reduziert, indem er von ihr Elektronen aufnimmt:



⁶GMS, Mielkendorf, Deutschland

Der so entstehende Redoxstrom lässt sich nach dem Faraday'schen Gesetz [40] für Clark-Typ-Elektroden die mit einer Membran umgeben sind, wie auch die Sauerstoffsonde des LICOX, wie folgt berechnen:

$$I = n \times F \times A \times (K_m/d_m) \times pO_2 \quad (1.8)$$

n : Anzahl der zur Reduktion von einem Molekül O_2 verbrauchten Elektronen

F : Faraday-Konstante

A : Oberfläche der Kathode

K_m : Diffusionsleitfähigkeit der Membran

d_m : Dicke der Membran

Der gemessene Strom ist also direkt proportional zur Sauerstoffkonzentration im umgebenden Medium [41] und wird mittels eines Analog-Digital-Wandlers digitalisiert. Da diese Reaktion temperaturabhängig ist, ist das Gerät zusätzlich zur Sauerstoffmikrokathetersonde (s. Abb. 1.7) mit einem Temperaturfühler verbunden, der in die Nähe des Messgebietes platziert werden kann.

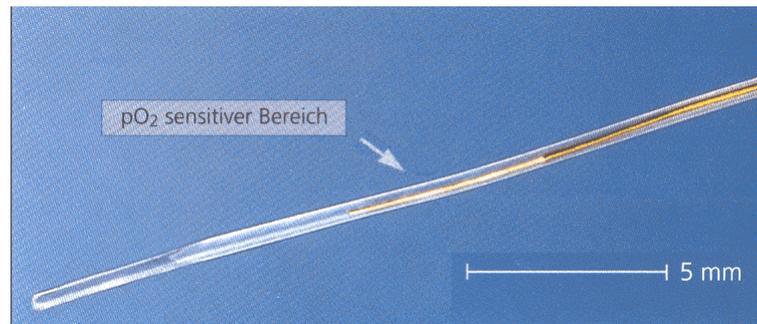


Abbildung 1.7: Mikrokathetersonde des LICOX nach [39]. (Die hier gezeigte Sonde hat eine pO_2 -sensitiven Bereich von 4,5 mm Länge; die in der Studie verwendete hochauflösende Sonde hat allerdings einen pO_2 -sensitiven Bereich von nur 1 mm. Die sonstigen Abmessungen sind dieselben.)

Alle vier Sekunden wird der mittlere Sauerstoffpartialdruck als absoluter Wert in $mmHg$ berechnet und mit der gemessenen Temperatur abgeglichen. Die Daten können mit einem Computer gespeichert und in Echtzeit graphisch dargestellt werden. Die verwendete hochauflösende Sauerstoffmikrokathetersonde hat an ihrer Spitze einen Durchmesser von $450 \mu m$, der pO_2 -sensitive Bereich ist etwa 1 mm lang. Der Temperaturmessfühler hat ebenfalls einen Durchmesser von $450 \mu m$.

Der Einzugsbereich des LICOX wird vom Hersteller für die Sonde mit einem pO_2 -sensitiven Bereich von 4,5 mm Länge als eine Fläche von $20 mm^2$ angegeben.

Umgerechnet für die hochauflösende Sonde ergibt dies eine Erfassungsfläche von etwa $4,4 \text{ mm}^2$.

1.4 Übersicht über die drei Methoden

METHODE	MESSPARAMETER	ERFASSUNGSFLÄCHE
IVM	CBF [nl/min] Flusscharakteristika	$(400 \times 325) \mu\text{m}^2$ $= 0,13\text{mm}^2$
EMPHO	$Hb_{Sat}O_2$ [%] rel. [Hb]	$\sim 0,08 - 0,24 \text{ mm}^2$
LICOX	$p_{muc}O_2$ [$mmHg$] Temperatur [$^{\circ}C$]	$\sim 4,4 \text{ mm}^2$

Kapitel 2

Studiendesign

2.1 Versuchstiere

Die Tierversuche werden im Einklang mit dem TierSchG durchgeführt und von der Senatsverwaltung für Gesundheit und Soziales in Berlin unter dem Aktenzeichen G 311/95 am 25.01.96 genehmigt.

Als Versuchstiere dienen männliche Sprague-Dawley-Ratten (Körpergewicht: 360 ± 30 g). Diese werden durch Losverfahren randomisiert in 5 verschiedene Gruppen eingeteilt:

- Gruppe A: Kontrolle
- Gruppe B: Hypovolämie
- Gruppe C: Gefäßclamping
- Gruppe D: Hypoxie
- Gruppe E: Colitis

Jede Gruppe umfasst 8 bzw. 9 Tiere, insgesamt werden 41 Tiere in die Studie aufgenommen. Pro Tier werden 3 Messfelder erfasst.

2.2 Chirurgische Präparation

Die Tiere werden mit einer intramuskulären Injektion Ketamin (40 mg/kg Körpergewicht) und einer intraperitonealen Injektion Pentobarbital (20 mg/kg Körpergewicht) anästhesiert. Um die Körpertemperatur auf $37 \pm 1^\circ\text{C}$ konstant zu halten, findet die Präparation auf einer Heizplatte statt.

Als venöser Zugang wird ein Katheter (ID $0,5$ mm) in die Vena jugularis eingebracht, als arterieller Zugang für cardiorespiratorisches Monitoring und Blutproben ein Katheter in die Arteria carotis.

Das Abdomen wird über eine mediane Unterbauchlaparatomie eröffnet und das Colon descendens aufgesucht. Das Mesocolon descendens wird an einer gefäßlosen Stelle ca. 5 cm ab ano inzidiert. Durch diese Inzision wird ein Plexiglasstab

geführt, über den das Colon ausgelagert wird. Anschließend wird das Colon anti-mesenterial, in Längsrichtung mit einer Mikroschere eröffnet. Die Schnittträger werden ohne Spannung mit vier dünnen Haltefäden (8-0 Mikrofäden) fixiert, um die Mukosa für die Messung zugänglich zu machen. (s. Abb. 2.1)

Über einen 14 G Venenverweilkatheter wird die Sauerstoffmikrokathetersonde retrograd von cranial rechts des Mesenteriums in die Mukosa eingebracht (s. Abb. 2.2). Um eine Übertragung der Atembewegungen und ein Verrutschen des Messfühlers zu vermeiden, wird dieser auf einer Brücke, die über die Ratte gelegt ist, fixiert. Der Temperaturfühler wird ebenfalls rechts des Mesenteriums direkt unter den Darm platziert.

Die gesamte Präparation des Darmes wird mit äußerster Vorsicht durchgeführt, um mechanische Schäden zu vermeiden. Minimale Blutungen aus der Inzisionsstelle bei der Eröffnung des Colons kamen bis zum Abschluß der Präparation von selbst zum Stillstand; war dies nicht der Fall, wurden die Tiere aus der Studie ausgeschlossen. Blutungen an der Implantationstelle für die Sauerstoffmikrokathetersonde traten nicht auf.

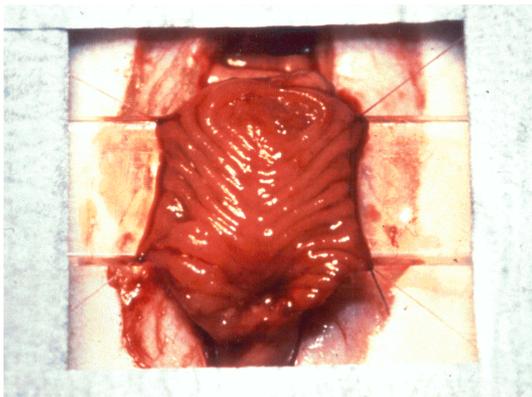


Abbildung 2.1: *Photo eines präparierten Darmabschnittes*

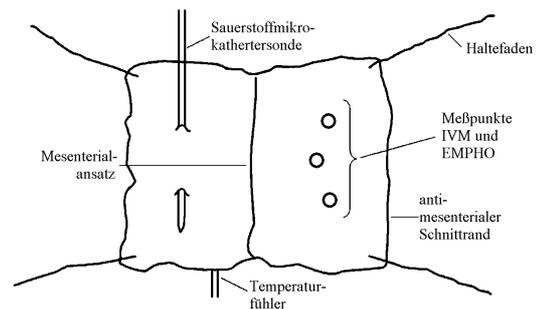


Abbildung 2.2: *Schematische Darstellung des präparierten Darmabschnittes mit den Messfeldern*

2.3 Messvorgang

Nach der Präparation werden die Tiere unter das Mikroskop platziert (Abb. 2.3 zeigt ein Photo der gesamten Versuchsanordnung). Nun werden $0,5 \text{ ml/kg}$ Körpergewicht FITC-markierte, homologe Erythrozyten (Hämatokrit 50%) intravenös injiziert. Über den Katheter in der Arteria carotis erfolgt ein kontinuierliches Monitoring des mittleren arteriellen Blutdruckes.

Die Sauerstoffmikrokathetersonde und der Temperaturfühler werden mit dem LICOX-Gerät konnektiert, und die Messung des Sauerstoffpartialdruckes im Ge-

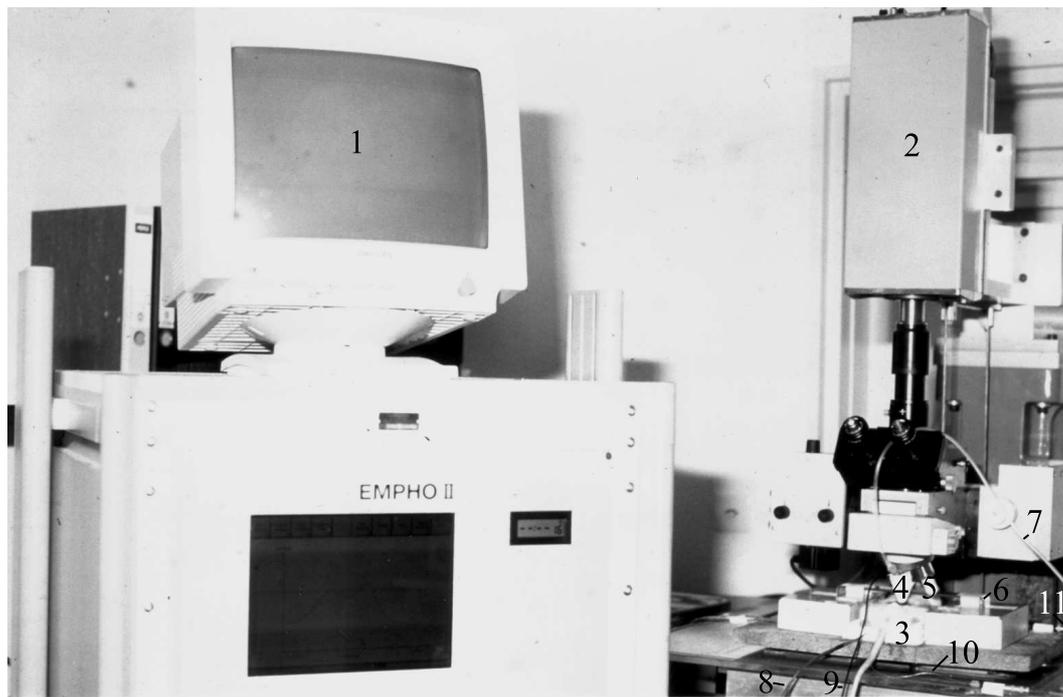


Abbildung 2.3: Versuchsaufbau: 1 = Photospektrometer (EMPHO); 2 = Intravitalmikroskop (IVM); 3 = Versuchstier; 4 = Halterung für das Lichtleiterkabel; 5 = Objektiv; 6 = Plexiglasbrücke zur Fixierung der Sauerstoffmikrokathetersonde; 7 = Leitung für die Spühlösung; 8 = Temperaturfühler für die Körpertemperatur; 9 = Lichtleiterkabel; 10 = Temperaturfühler für das exponierte Colon; 11 = Sauerstoffmikrokathetersonde des LICOX

webe ($p_{muc}O_2$) und der Temperatur am ausgelagerten Colonabschnitt wird gestartet. Die Speicherung dieser Werte erfolgt kontinuierlich während des gesamten Messvorganges.

Nach einer Stabilisierungsphase von 20 min nach Injektion der markierten Erythrozyten wird der exponierte Colonabschnitt gründlich mit auf Körpertemperatur vorgewärmter Ringer-Laktat-Lösung gespült, um die Mukosa von Schleim und Blutspuren zu reinigen. Anschließend wird die Mukosa mit einer Kunststoffolie bedeckt um ein Austrocknen und Aufsättigen des Gewebes durch den Sauerstoff in der Raumluft zu verhindern.

Die Messfelder für die Intravitalmikroskopie und für die Photospektrometrie liegen links des Mesenterialansatzes, da die rechts liegenden Messfühler für die polarographische Messung des $p_{muc}O_2$ die Mukosa wölben und sie so nicht ausreichend plan ist, um mit dem Intravitalmikroskop fokussieren zu können (s. Abb. 2.2). In Immersion mit auf Körpertemperatur gewärmtem Ultraschallgel wird mit dem Mikroskop das erste Feld fokussiert, und die Mikrozirkulation während 1 min

auf einem Videoband aufgezeichnet.

Die Kunststofffolie, die nun mit Ultraschallgel bedeckt ist, wird gewechselt, und direkt im Anschluss erfolgt die erste Messung mit dem Photospektrometer. Eine anstelle eines Objektivs in den Objektivrevolver eingeschraubte Halterung (s. Abb. 2.4) für das Lichtleiterkabel erlaubt es, dasselbe Messfeld wie für die vorhergehende mikroskopische Messung aufzusuchen. Ein direkter Kontakt der Lichtleiter mit dem Gewebe ist nicht nötig. Der Abstand der Lichtleiter zum Darm beträgt etwa $100 - 300 \mu m$. Die optische Koppelung wird mit einer Spülung mit auf Körpertemperatur gewärmter Ringer-Laktat-Lösung erreicht. Es werden 200 Spektren, die jeweils aus 30 Spektren gemittelt sind, aufgezeichnet; dies dauert 60 sec .

Der Vorgang wird an zwei weiteren Messfeldern wiederholt, wobei auch zwischen der Messung an den verschiedenen Feldern der Darm gereinigt und mit einer neuen Kunststofffolie bedeckt wird. Die Messung mit dem Intravitalmikroskop und dem Photospektrometer findet zeitlich mit etwa einer Minute Abstand hintereinander, aber örtlich an identischer Stelle statt, und das an drei verschiedenen Messfeldern des exponierten Colons. Die Messung mit der polarographischen Sonde läuft kontinuierlich und an einer andere Stelle.

Vor und nach dem gesamten Messvorgang werden die Blutgase und der systemische Hämatokrit bestimmt. Dies geschieht - ebenso wie das kontinuierliche Monitoring des Blutdruckes -, um Veränderungen dieser Parameter, die Einfluss auf die am Darm gemessenen Werte haben, erkennen zu können.

2.3.1 Gruppe A: Kontrolle

Die Präparation der Tiere erfolgt auf die gleiche Weise wie in allen anderen Gruppen. Das exponierte Colon wird ohne weitere Manipulation untersucht.

2.3.2 Gruppe B: Hypovolämie

Nach der Präparation und nach der Injektion der gefärbten Erythrozyten wird den Tieren über den Katheter in der Arteria carotis in Schritten von 1 ml/min Blut abgenommen, bis der systolische Blutdruck die Hälfte des Ausgangswertes erreicht ($49 \pm 8 \text{ mmHg}$). Bei einem Anstieg des Blutdruckes während der Messung um mehr als 10 mmHg wurde der Druck durch erneute Abnahme von $0,5 - 1 \text{ ml}$ Blut nach unten korrigiert. Der totale Blutverlust liegt bei etwa 2% des Körpergewichtes. Die Herzfrequenz steigt dabei von $230 \pm 24 \text{ min}^{-1}$ auf $388 \pm 25 \text{ min}^{-1}$.

2.3.3 Gruppe C: Gefäßclamping

Vor dem Eröffnen des Colon descendens wird die Arteria mesenterica superior bei ihrem Abgang aus der Aorta mit einer Mikrogefäßklemme abgeklemmt. Die



Abbildung 2.4: In den Objektivrevolver einschraubbare Halterung für das Lichtleiterkabel

Blutzufuhr aus der Arteria mesenterica inferior wird durch eine Klemme an einem Ast direkt caudal des zu eröffnenden Colonabschnitts gedrosselt. Anschließend erfolgt die Exposition des Darmes wie in der Kontrollgruppe. Die Messung wird ca. 25 *min* nach dem Abklemmen beider Arterien gestartet.

2.3.4 Gruppe D: Hypoxie

Nach dem Einführen der Katheter in die Arteria carotis und Vena jugularis werden die Tiere tracheotomiert und ein auf 2 *cm* gekürzter 20 *G* Venenverweilkatheter als Tubus eingebracht. Nachdem die restliche Präparation beendet ist, wird den Tieren 0,02 *mg/g* Körpergewicht Pancuroniumbromid injiziert; sie werden mit einem Kleintierrespirator¹ druckgesteuert mit Raumluft beatmet (endinspiratorischer Druck: 11 *cmH₂O*, endexpiratorischer Druck: 3 *cmH₂O*, Atemfrequenz: 70/*min*). Nach einer Stabilisierungsphase von 15 *min* mit cardiorespiratorischem Monitoring wird der endinspiratorische Druck auf 4 *cmH₂O* reduziert, wodurch

¹KTR4, Hugo Sachs, March-Hugstetten, Deutschland

die Tiere in Hypoxie mit Hypercapnie geraten; 4 *min* später wird die erste Messung gestartet. Nach jeder Messung folgt eine 10 – 15 minütige Erholungsphase mit normalen Beatmungsparametern. Sind die Blutgaswerte wieder in den normalen Bereich zurückgekehrt, wird die Hypoventilation für das nächste Messfeld gestartet. Mit einer Blutgasanalyse direkt nach jeder Messung wird das Ausmaß der Hypoxie und Hypercapnie kontrolliert. In Abbildung 2.5 wird der zeitliche Verlauf des Messvorgangs in dieser Gruppe veranschaulicht.

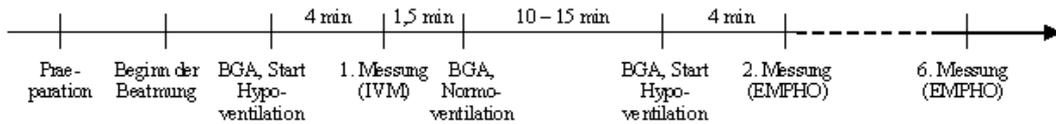


Abbildung 2.5: Schematische Darstellung des zeitlichen Ablaufes der Messung in der Gruppe Hypoxie. BGA = Blutgasanalyse; IVM = Intravitalmikroskopie; EMPHO = Photospektrometrie

2.3.5 Gruppe E: Colitis

Verwendet wird das von Morris et al. [42] beschriebene, Hapten-induzierte Colitis-Modell. Unter leichter Ethernarkose wird mit einem Katheter 5 *cm* ab ano 0,25 *ml* Trinitrobenzol-Sulphonsäure (TNBS) in 50%-igem Ethanol gelöst im Colon descendens installiert. Die Tiere verbleiben 15 *min* in Trendelenburglagerung und der Katheter wird eben solange belassen, um ein Zurückfließen der Flüssigkeit zu verhindern. 24 Stunden nach Induktion der Colitis erfolgt die Präparation wie üblich.

2.4 Ausschlusskriterien

Zum cardiorespiratorischen Monitoring wird während der gesamten Messung der mittlere arterielle Blutdruck überwacht, und zu Messbeginn und -ende werden Hämatokrit und arterielle Blutgase bestimmt.

Die Tiere werden von der Studie ausgeschlossen, wenn

- der mittlere arterielle Blutdruck zu irgendeinem Zeitpunkt während der Messung unter 80 *mmHg* fällt.
(in Gruppe B: Hypovolämie: Ausschluss, wenn der Ausgangsblutdruck unter 80 *mmHg* liegt oder der Blutdruck während der Hypovolämie unter 40 *mmHg* fällt.)
- der arterielle pO_2 vor oder nach der Messung kleiner 80 *mmHg* ist.
(in Gruppe D: Hypoxie: Ausschluss, wenn der Ausgangs- $p_{art}O_2$ kleiner

80 *mmHg* ist oder der $p_{art}O_2$ während der Erholungsphasen nicht wieder mindestens 80 *mmHg* erreicht.)

- der arterielle pCO_2 vor oder nach der Messung größer 50 *mmHg* ist.
(in Gruppe D: Hypoxie: Ausschluss, wenn der Ausgangs- pCO_2 größer 50 *mmHg* ist oder der pCO_2 während der Erholungsphasen nicht wieder mindestens unter 50 *mmHg* fällt.)
- der pH vor oder nach der Messung kleiner 7,25 oder größer 7,50 ist.
(in Gruppe D: Hypoxie: Ausschluss, wenn der Ausgangs- pH kleiner 7,25 oder größer 7,50 ist oder der pH während der Erholungsphasen nicht wieder in diesem Intervall liegt.)
- Jede operative Komplikation wie z.B. Blutungen an den Inzisionsstellen des Darmes, die am Ende der Präparation nicht von selbst sistieren, oder jegliche mechanische Läsion führen ebenfalls zum Ausschluss.

2.5 Statistik

Alle Ergebnisse werden als Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben. Stetige Variablen wurden mittels eines ungepaarten Student-t-Test auf Unterschiede in den Gruppen miteinander verglichen. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angenommen. Zum Vergleich der drei Methoden wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt und der Korrelationskoeffizient (r) berechnet.

Teil II

Ergebnisse

Kapitel 3

Ergebnisse der Vorversuche

3.1 LICOX unter Kontrollbedingungen

Zunächst werden mit dem LICOX als Referenzmethode Kontrollversuche durchgeführt, um den Einfluss exogener Faktoren auf die Messungen abschätzen zu können. Denn bei der regulären Versuchsdurchführung wird zwischen den Messungen mit dem IVM und dem EMPHO der Darm von Schleim und Blutspuren gereinigt und die Plastikfolie gewechselt. Dabei kommt es zu Temperaturschwankungen, da der Darm während dieses Wechsels nicht mit auf Körpertemperatur erwärmter Spüllösung bedeckt ist.

Als erster Vorversuch wird eine Referenzmessung mit dem LICOX ohne jegliche Manipulation am Darm durchgeführt. Während 45 *min* wird dazu der $p_{muc}O_2$ mit dem LICOX unter kontinuierlicher Spülung mit auf Körpertemperatur erwärmter Ringer-Lactat-Lösung aufgezeichnet. Die Temperatur kann bei einem Wert von $32,72 \pm 0,18^\circ C$ nahezu konstant gehalten werden. Der $p_{muc}O_2$ schwankt periodisch um einem Wert von $41,12 \pm 2,16 \text{ mmHg}$ mit einer Periode von ca. $1/15 \text{ min}$. Die Temperaturmaxima stimmen mit leichter zeitlicher Verzögerung mit den Maxima des Sauerstoffpartialdruckes überein. (siehe Abb. 3.1)

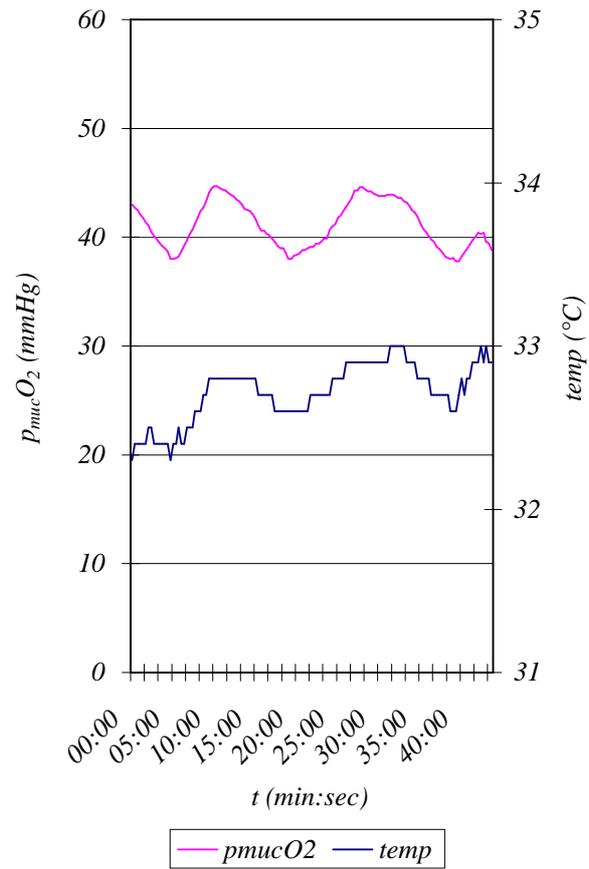


Abbildung 3.1: Der Verlauf von $p_{muc}O_2$ und T° während 45 min mit der polarographischen Sonde (LICOX) gemessen; am Darm wurde keine Manipulation vorgenommen.

3.2 LICOX unter Hypovolämie

Ein analoger Vorversuch wird für die Gruppe B: Hypovolämie durchgeführt. Erstens um auch hier den Einfluss mechanischer Störungen auf die Messungen mit der polarographischen Sonde abschätzen zu können, und zweitens um zu prüfen, ob die die Hypovolämie und ihre Auswirkung auf das Colon ausreichend lang konstant gehalten werden können, um alle Messungen mit IVM und EMPHO unter vergleichbaren Messbedingungen durchzuführen.

Nach einer Stabilisierungsphase von 10 *min* werden schrittweise insgesamt 5 *ml* Blut aus der Arteria carotis entnommen, so dass der Blutdruck von einem Ausgangswert von 130 *mmHg* auf 60 *mmHg* fällt. Nach ca. 10 *min* ist das Minimum des Sauerstoffpartialdruckes erreicht, und der $p_{muc}O_2$ steigt zusammen mit dem Blutdruck wieder an. Nachdem der Blutdruck bis auf 75 *mmHg* gestiegen ist, werden erneut 0,5 *ml* Blut entnommen, um den Blutdruck nach unten zu korrigieren. Mit dieser Maßnahme kann der Sauerstoffpartialdruck über fast eine Stunde relativ konstant um einen Wert von $27,9 \pm 2,5$ *mmHg* gehalten werden. (Abb. 3.2)

Die Herzfrequenz steigt von 326/*min* vor der Entblutung auf 402/*min* direkt danach.



Abbildung 3.2: Vorversuch LICOX unter Hypovolämie: der Messverlauf mit der polarographischen Sonde (LICOX) während 1 h 20 min. * kennzeichnet die Blutentnahmen

3.3 LICOX unter Hypoxie

In der Gruppe D werden die Tiere in einen hypoxischen Zustand gebracht, indem bei der Beatmung der endinspiratorische Druck vermindert wird.

Um zu bestimmen, wie eine ausreichend tiefe Hypoxie zu erreichen ist, die sich sowohl in der Blutgasanalyse als auch deutlich am Darm bemerkbar macht, werden in einem dritten Vorversuch verschiedene endinspiratorische Drücke geprüft. Der Effekt auf den Darm wird mit der polarographischen Sonde als der trügsten Methode beurteilt.

Während der ersten Hypoxiephase mit einem endinspiratorischen Druck von $6 \text{ cmH}_2\text{O}$ während 7 min wird weder in den Blutgasen noch am Darm eine relevante Veränderung beobachtet.

Erst bei einem endinspiratorischen Druck von $4 \text{ cmH}_2\text{O}$ wird innerhalb kurzer Zeit eine schwere Hypoxie erreicht. Am Darm spiegelt sich das in der Messung mit dem LICOX durch eine Halbierung der $p_{\text{muc}}\text{O}_2$ -Werte (von $> 50 \text{ mmHg}$ bis auf $24,3 \text{ mmHg}$) wider.

Nach jeweils 5 min wird der endinspiratorische Druck wieder auf den Ausgangswert von $11 \text{ cmH}_2\text{O}$ zurückgestellt, was in allen Fällen dazu führt, daß sich das Tier schnell erholt. Sowohl die Blutgaswerte als auch der am Darm gemessene Sauerstoffpartialdruck kehren innerhalb von $5 - 15 \text{ min}$ auf Normalwerte zurück. Insgesamt kann mit diesen Erholungsphasen das Tier über einen Zeitraum von über $1 \text{ h } 30 \text{ min}$ stabil gehalten werden. Abb. 3.3 zeigt den Messverlauf mit der polarographischen Sonde, Tab. 3.1 die Ergebnisse der Blutgasanalyse.

	pH	$p_{\text{art}}\text{O}_2(\text{mmHg})$	$p_{\text{art}}\text{CO}_2(\text{mmHg})$
Messbeginn	7,433	121	30,3
Hypoxie 1 ($EID = 6\text{cmH}_2\text{O}$)	7,322	84	39,0
nach Erholung	7,443	122	26,7
Hypoxie 2 ($EID = 4\text{cmH}_2\text{O}$)	7,213	43	41,8
nach Erholung	7,408	109	29,6
Hypoxie 3 ($EID = 4\text{cmH}_2\text{O}$)	7,244	36	38,2
nach Erholung	7,481	114	26,8
Hypoxie 4 ($EID = 4\text{cmH}_2\text{O}$)	7,266	54	46,8
nach Erholung	7,449	114	29,4

Tabelle 3.1: Ergebnisse der Blutgasanalyse während des Vorversuches zur Hypoxie

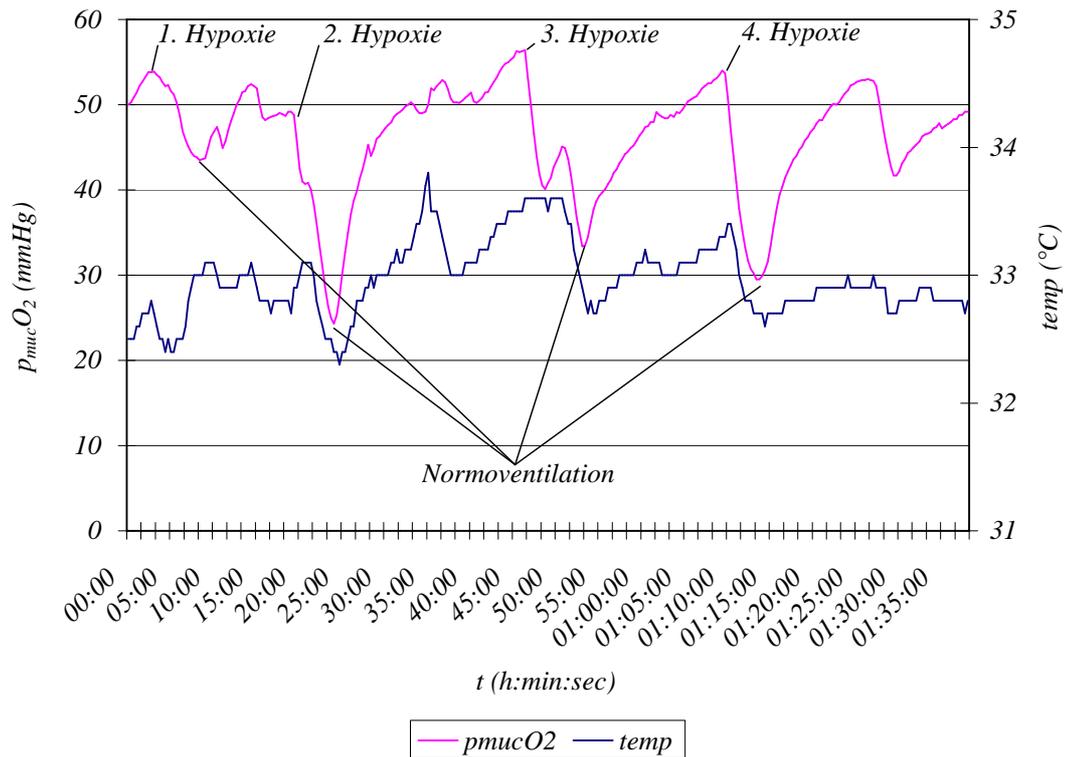


Abbildung 3.3: Vorversuch LICOX unter Hypoxie: Messverlauf mit der polarographischen Sonde (LICOX); während der ersten Hypoxiephase wurde der endinspiratorische Druck auf $6 \text{ cmH}_2\text{O}$ reduziert, in den folgenden auf $4 \text{ cmH}_2\text{O}$. Markiert ist jeweils der Zeitpunkt, an dem mit der Hypoventilation bzw. der Normoventilation begonnen wurde.

Kapitel 4

Ergebnisse der Hauptgruppen

Für jede Gruppe werden der Mittelwert mit Standardabweichung für alle Messfelder der gesamten Gruppe graphisch und die Mittelwerte für die drei Messfelder der einzelnen Tiere tabellarisch dargestellt. Zudem werden für ausgewählte Messfelder für die jeweilige Gruppe typische Messergebnisse ausführlich dokumentiert. Im Anhang finden sich für alle Tiere alle Messparameter ($Hb_{Sat}O_2$, rel. $[Hb]$, CBF, $p_{muc}O_2$, RR, BGA, Hkt) aus allen Messfeldern in tabellarischer Form aufgeschlüsselt.

Es ist anzumerken, dass die Werte an den einzelnen Messfeldern ebenfalls schon gemittelt sind: Das EMPHO analysiert 100 Spektren pro Sekunde. Für diese Studie wird eine Mittelrate von 30 gewählt, d.h. das Gerät speichert den Mittelwert von jeweils 30 gemessenen Spektren. Die Aufzeichnung von 200 dieser gemittelten Spektren wird deshalb gewählt, weil die Messzeit dann mit 60 Sekunden der der Intravitalmikroskopie entspricht. Die gezeigten Ergebnisse an einem Messfeld sind somit das Mittel über 6000 Spektren während einer Messzeit von 1 Minute.

Der für die IVM angegebene CBF wird über 1 Minute aus ca. 20 ausgewerteten Kapillaren pro Messfeld gemittelt.

Die Messung mit dem LICOX wird vor der Aufzeichnung des ersten Messfeldes mit dem IVM gestartet und läuft bis die Messung am dritten Messfeld mit dem EMPHO beendet ist. Ausgewertet und gemittelt werden aber nur die Werte, die während der Messung mit dem IVM bzw. dem EMPHO akquiriert werden, also insgesamt während einer Messzeit von 6 min. (3 x 1 min. mit dem IVM und 3 x 1 min. mit dem EMPHO).

Außer der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins ($Hb_{Sat}O_2$) wird mit dem EMPHO auch die relative Hämoglobinkonzentration (rel. $[Hb]$) bestimmt. Da dies aber ein relativer Wert ist, der sich auf den ersten gemessenen Wert bezieht, können damit nur Aussagen im Verlauf einer Messung an einem Messfeld gemacht werden. Die relative Hämoglobinkonzentration wird hier deshalb nur bei einigen ausgewählten Messfeldern erwähnt. Alle restlichen Werte sind dem Anhang zu entnehmen.

4.1 Gruppe A: Kontrolle

Von 9 präparierten Tieren wird eines gemäß der in 2.4 genannten Kriterien ausgeschlossen. 8 Tiere werden ausgewertet. Die makrozirkulatorischen Parameter zeigt Tabelle 4.1. Die Messwerte am Colon für die einzelnen Tiere mittels EMPHO, IVM und LICOX sind Tabelle 4.2 zu entnehmen. Alle Werte sind als Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben.

mittlerer art. Blutdruck ($mmHg$)	110	± 24
pH	7,33	$\pm 0,03$
$p_{art}O_2$ ($mmHg$)	100	± 14
$p_{art}CO_2$ ($mmHg$)	40	± 6
base excess ($mmol$)	-3,2	$\pm 2,3$
Hämatokrit(%)	47	± 1

Tabelle 4.1: *gemittelte makrozirkulatorische Parameter der Kontrollgruppe*

	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: $p_{muc}O_2$ ($mmHg$)
Tier A 1	$55,1 \pm 5,5$	$2,4 \pm 0,2$	$38,4 \pm 2,6$
Tier A 2	$59,6 \pm 9,1$	$2,3 \pm 0,4$	$34,9 \pm 5,7$
Tier A 3	$65,5 \pm 9,8$	$2,4 \pm 0,2$	$36,6 \pm 2,6$
Tier A 4	$64,1 \pm 5,0$	$2,7 \pm 0,1$	$42,8 \pm 2,8$
Tier A 5	$63,0 \pm 6,5$	$2,3 \pm 0,1$	$39,1 \pm 2,4$
Tier A 6	$72,2 \pm 8,5$	$2,7 \pm 0,2$	$42,8 \pm 3,3$
Tier A 7	$75,1 \pm 2,2$	$2,8 \pm 0,1$	$51,5 \pm 1,1$
Tier A 8	$65,6 \pm 3,5$	$2,8 \pm 0,1$	$53,2 \pm 6,2$
Mittelwerte	$65,1 \pm 9,0$	$2,6 \pm 0,3$	$41,0 \pm 3,9$

Tabelle 4.2: *Die Ergebnisse der drei Methoden als Mittelwerte mit Standardabweichung für die einzelnen Tiere in der Gruppe A: Kontrolle*

LICOX: Der mittlere Sauerstoffpartialdruck im Gewebe $p_{muc}O_2$ beträgt $41,0 \pm 3,9 mmHg$.

IVM: Der kapillare Blutfluss liegt im Mittel bei $2,6 \pm 0,3 nl/min$. Der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren beträgt ca. 98%. Bei zwei Tieren ist in jeweils einem Feld ein intermittierender Fluß zu beobachten.

EMPHO: Die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins liegt bei $65,1 \pm 9,0\%$. Sowohl die $Hb_{Sat}O_2$ als auch die rel. $[Hb]$ bleiben während einer Messung konstant. Abbildung 4.1 zeigt den typischen 1-minütigen Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ und rel. $[Hb]$ -Werte an einem Messfeld.

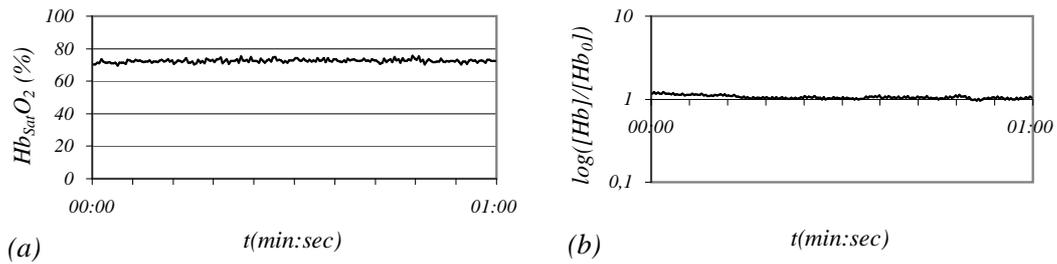


Abbildung 4.1: *Typischer Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ (a) und der rel. $[Hb]$ (b) während 1 min an einem Messfeld (Tier A6, Feld 3)*

Korrelation von IVM und EMPHO: In der Kontrollgruppe korreliert der kapillare Blutfluss und die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,75$, wie in Abbildung 4.2 graphisch dargestellt.

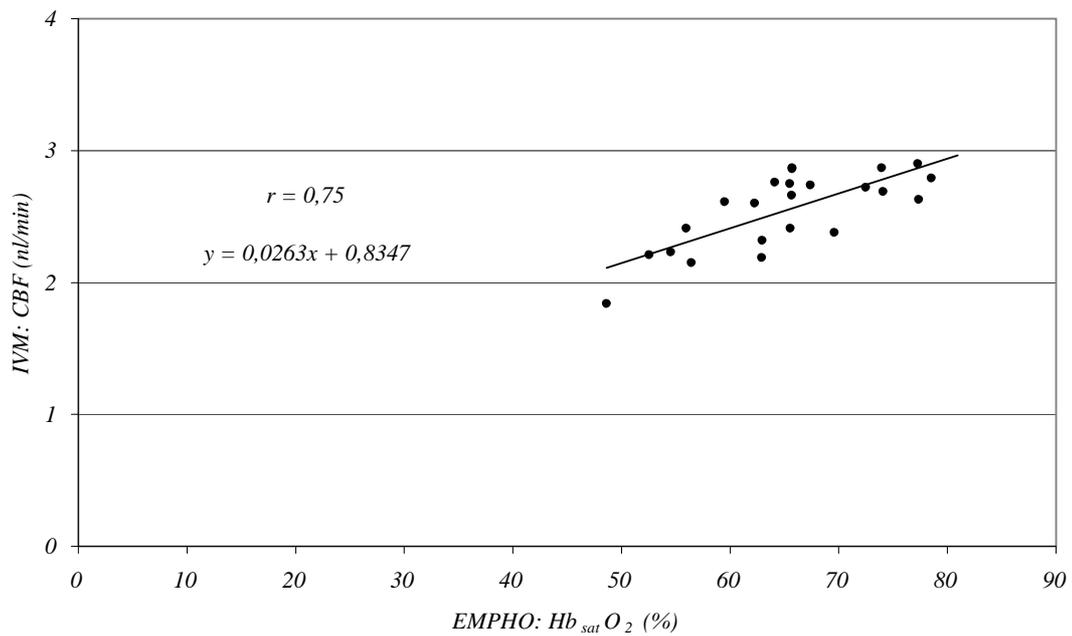


Abbildung 4.2: Korrelation zwischen IVM (Ordinate) und EMPHO (Abszisse) in der Kontrollgruppe. Gegeneinander aufgetragen sind die Messwerte an den einzelnen Feldern. Ein Feld konnte nicht ausgewertet werden, zwei Punkte überschneiden sich in der gezeigten Abbildung.

4.2 Gruppe B: Hypovolämie

Von 10 präparierten Tieren wird eines gemäß der in 2.4 genannten Kriterien ausgeschlossen. Bei einem Tier ist die am Ende der Messung bestimmte Konzentration der markierten Erythrozyten zu niedrig, um den kapillaren Blutfluss zu berechnen. 8 Tiere werden ausgewertet. Der mittlere arterielle Blutdruck ist im Mittel auf $49 \pm 8 \text{ mmHg}$ gesenkt, die makrozirkulatorischen Parameter unter Hypovolämie zeigt Tabelle 4.3.

Alle drei Methoden reagieren auf die Hypovolämie mit einer statistisch signifikanten Erniedrigung ihrer gemessenen Größen gegenüber der Kontrollgruppe; für die einzelnen Tiere sind diese Tabelle 4.4 zu entnehmen. Alle Werte sind als Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben.

mittlerer art. Blutdruck (<i>mmHg</i>)	49	± 8
<i>pH</i>	7,35	$\pm 0,03$
<i>p_{art}O₂</i> (<i>mmHg</i>)	116	± 25
<i>p_{art}CO₂</i> (<i>mmHg</i>)	40	± 7
base excess (<i>mmol</i>)	-3,8	$\pm 2,6$
Hämatokrit(%)	42	± 5

Tabelle 4.3: *gemittelte makrozirkulatorische Parameter der Gruppe B: Hypovolämie*

	EMPHO: <i>Hb_{sat}O₂</i> (%)	IVM: <i>CBF</i> (<i>nl/min</i>)	LICOX: <i>p_{muc}O₂</i> (<i>mmHg</i>)
Tier B 1	$47,2 \pm 9,7$	$0,7 \pm 0,4$	$24,4 \pm 3,3$
Tier B 2	$50,2 \pm 10,4$	$1,7 \pm 0,3$	$20,9 \pm 2,8$
Tier B 3	$55,7 \pm 9,7$	$1,9 \pm 0,3$	$31,4 \pm 2,7$
Tier B 4	$54,8 \pm 8,7$	$2,1 \pm 0,9$	$29,1 \pm 2,8$
Tier B 5	$46,5 \pm 14,2$	$1,4 \pm 0,4$	$23,5 \pm 4,0$
Tier B 6	$47,4 \pm 5,4$	$1,5 \pm 0,6$	$27,4 \pm 2,6$
Tier B 7	$29,2 \pm 19,6$	$0,5 \pm 0,2$	$15,5 \pm 4,1$
Tier B 8	$22,8 \pm 8,3$	$0,3 \pm 0,3$	$11,1 \pm 2,6$
Mittelwerte	$44,7 \pm 15,0$	$1,3 \pm 0,8$	$22,6 \pm 7,6$

Tabelle 4.4: *Die Ergebnisse der drei Methoden als Mittelwerte mit Standardabweichung für die einzelnen Tiere in der Gruppe B: Hypovolämie.*

In Abbildung 4.3 werden die Mittelwerte der gesamten Gruppe von EMPHO, IVM und LICOX veranschaulicht und mit den Ergebnissen der Kontrollgruppe verglichen.

Unter Hypovolämie fällt die $Hb_{sat}O_2$ auf 69%, der CBF auf 50% und der $p_{muc}O_2$ auf 55% der jeweiligen Werte in der Kontrollgruppe. Der Unterschied der Messwerte zwischen der Kontrollgruppe und Gruppe B ist für alle drei Methoden statistisch signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,001$.

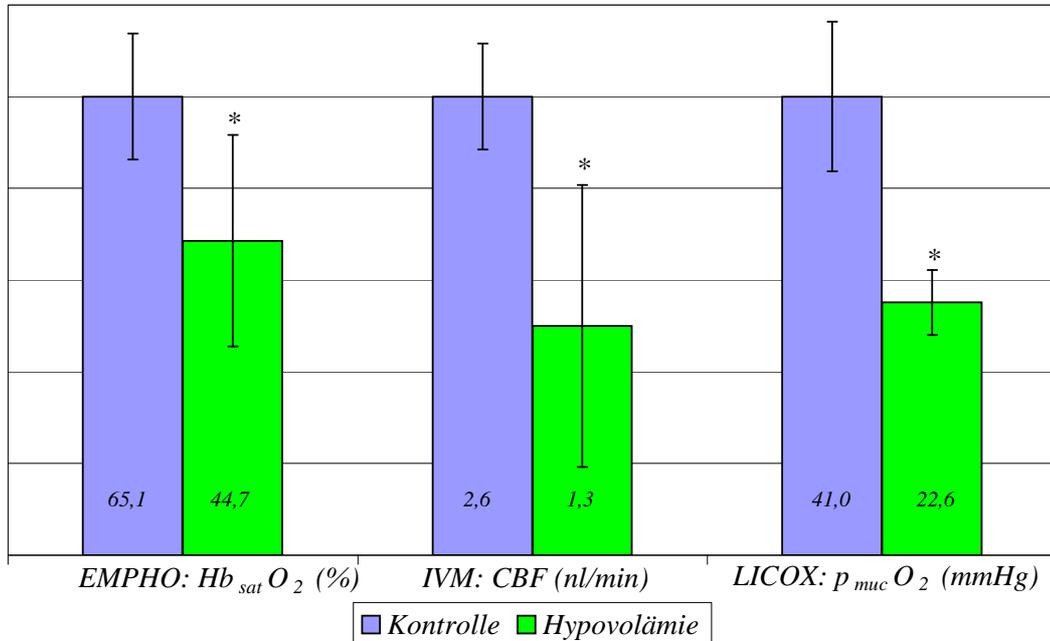


Abbildung 4.3: Vergleich der Ergebnisse in der Gruppe B: Hypovolämie (grün) mit der Gruppe A: Kontrolle (blau). Alle Methoden zeigen einen ähnlichen Abfall der Messwerte im Vergleich zur Kontrollgruppe. * $p < 0,001$

LICOX: Der mittlere Sauerstoffpartialdruck im Gewebe $p_{muc}O_2$ beträgt $22,6 \pm 7,6$ mmHg (Kontrollgruppe $41,0 \pm 3,9$ mmHg).

IVM: Der kapillare Blutfluss ist mit $1,3 \pm 0,7$ nl/min unter Hypovolämie deutlich niedriger als in der Kontrollgruppe ($2,6 \pm 0,3$ nl/min). Der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren beträgt wie in der Kontrollgruppe etwa 98%. Bei 4 Tieren und davon in insgesamt 6 Messfeldern ist ein intermittierender Fluß zu beobachten.

EMPHO: Die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins liegt bei $44,7 \pm 15,0\%$ (Kontrollgruppe $65,1 \pm 9,0\%$). Während der 1-minütigen Messung schwankt die $Hb_{sat}O_2$ mehr als in der Kontrollgruppe, wie man auch an den größeren Standardabweichungen erkennen kann (Tab. 4.4). An allen Messfeldern, an denen intravitalmikroskopisch ein intermittierender Fluß zu erkennen war, zeigt die $Hb_{sat}O_2$ einen periodischen Verlauf. An 5 von diesen 6 Feldern schwankt auch die rel. [Hb] periodisch. (Abb. 4.4)

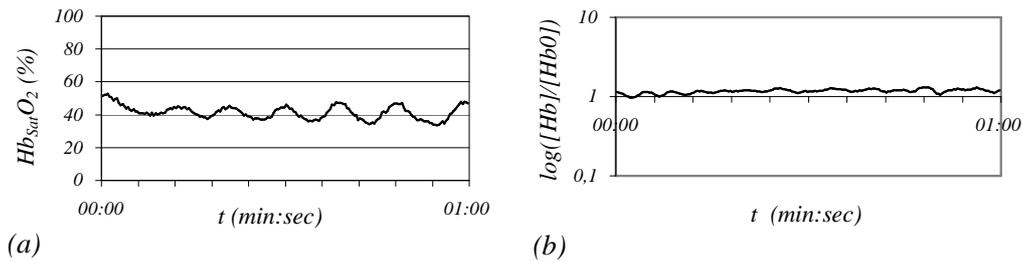


Abbildung 4.4: *Beispiel für einen periodisch schwankenden Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ (a) und der rel. $[Hb]$ (b) während 1 min. an einem Messfeld eines Tieres aus Gruppe B: Hypovolämie. Die $Hb_{Sat}O_2$ schwankt mit einer Amplitude von etwa 10% um einen Wert von ca. 40% und einer Periode von ca. 6/min. Die rel. $[Hb]$ zeigt eine Periode von etwa 14/min (Tier B1, Feld 1).*

Korrelation von IVM und EMPHO: Auch in dieser Gruppe korrelieren die Messparameter der IVM und des EMPHO mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,68$, wie in Abbildung 4.5 graphisch dargestellt.

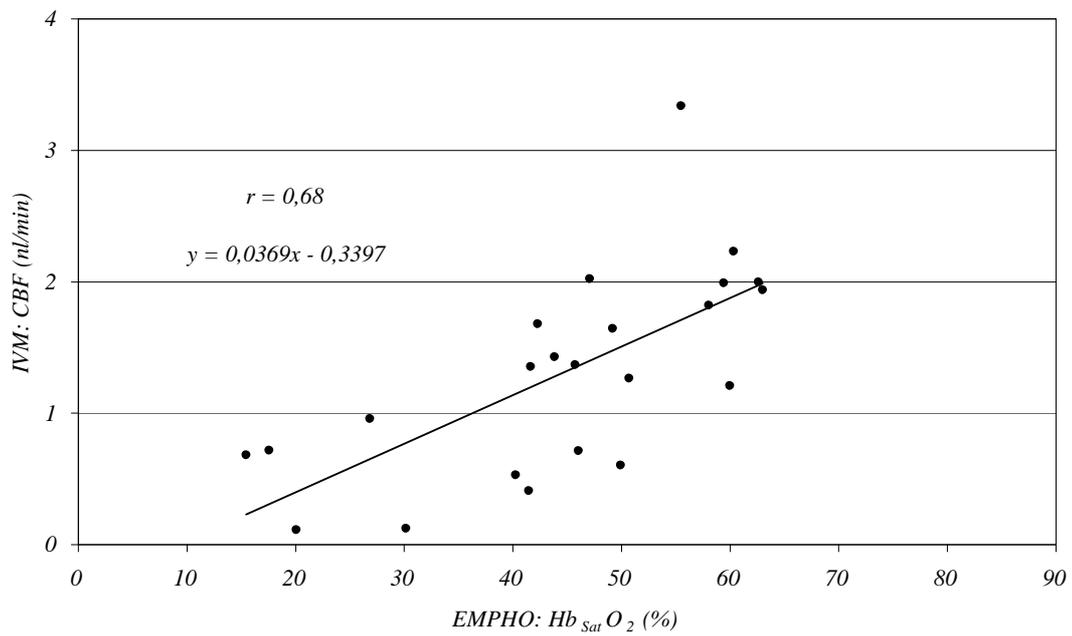


Abbildung 4.5: Korrelation zwischen IVM (Ordinate) und EMPHO (Abszisse) für Gruppe B: Hypovolämie. Gegeneinander aufgetragen sind die Messwerte an den einzelnen Feldern; ein Feld konnte nicht ausgewertet werden.

4.3 Gruppe C: Gefäßclamping

Von 15 präparierten Tieren werden 4 gemäß der in 2.4 genannten Kriterien ausgeschlossen; 2 Tiere sterben während der Präparation. 9 Tiere werden ausgewertet. Die makrozirkulatorischen Parameter unter Gefäßclamping zeigt Tabelle 4.5. Alle drei Methoden reagieren auf das Abklemmen der Gefäße mit einer statistisch signifikanten Erniedrigung ihrer gemessenen Größen; für die einzelnen Tiere sind diese Tabelle 4.6 zu entnehmen. Alle Werte sind als Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben.

mittlerer art. Blutdruck (<i>mmHg</i>)	142	± 12
<i>pH</i>	7,33	± 0,04
$p_{art}O_2$ (<i>mmHg</i>)	105	± 7
$p_{art}CO_2$ (<i>mmHg</i>)	45	± 3
base excess (<i>mmol</i>)	-1,7	± 3,9
Hämatokrit(%)	50	± 2

Tabelle 4.5: makrozirkulatorische Parameter der Gruppe C: Gefäßclamping

	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	IVM: CBF (<i>nl/min</i>)	LICOX: $p_{muc}O_2$ (mmHg)
Tier C 1	32,7 ± 4,5	0,9 ± 0,4	24,0 ± 3,9
Tier C 2	18,8 ± 7,1	0,2 ± 0,04	5,6 ± 1,0
Tier C 3	17,8 ± 6,4	0,2 ± 0,1	12,4 ± 2,0
Tier C 4	9,0 ± 5,8	0,2 ± 0,01	8,9 ± 4,1
Tier C 5	13,2 ± 2,7	0,1 ± 0,1	7,2 ± 1,2
Tier C 6	50,0 ± 15,4	1,2 ± 0,5	18,4 ± 4,1
Tier C 7	35,4 ± 19,2	0,7 ± 0,4	20,9 ± 4,7
Tier C 8	20,1 ± 6,5	0,4 ± 0,2	8,2 ± 2,9
Tier C 9	24,6 ± 7,2	0,4 ± 0,1	12,0 ± 1,9
Mittelwerte	24,6 ± 15,5	0,5 ± 0,4	13,1 ± 6,2

Tabelle 4.6: Die Ergebnisse der drei Methoden als Mittelwerte mit Standardabweichung für die einzelnen Tiere der Gruppe C: Clamping

In Abbildung 4.6 werden die Mittelwerte über die gesamte Gruppe von EMPHO, IVM und LICOX veranschaulicht und mit den Ergebnissen der Kontrollgruppe verglichen.

Während EMPHO und LICOX unter Gefäßclamping einen ähnlichen Abfall ihrer Messwerte zeigen - die $Hb_{Sat}O_2$ sinkt auf 37% und der $p_{muc}O_2$ auf 32%

des Wertes in der Kontrollgruppe - fällt der durch IVM ermittelte CBF auf 18% des Wertes in der Kontrollgruppe. Der Unterschied der Messwerte zwischen der Kontrollgruppe und Gruppe C ist für alle drei Methoden statistisch signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,001$.

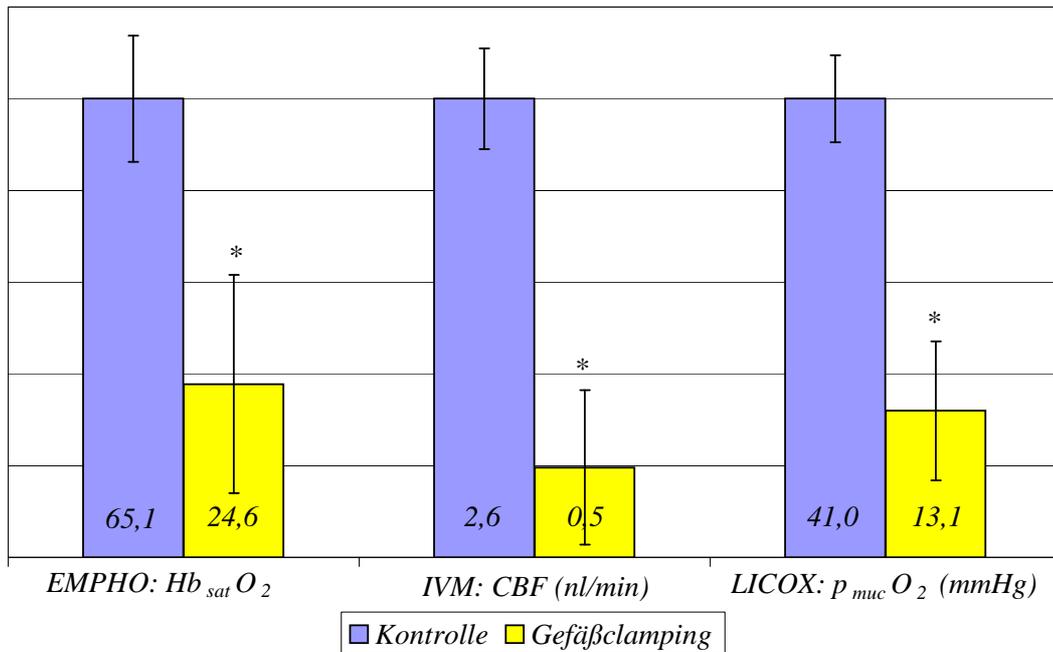


Abbildung 4.6: Vergleich der Ergebnisse in der Gruppe C: Gefäßclamping (gelb) mit der Gruppe A: Kontrolle (blau). * $p < 0,001$

LICOX: Der mittlere Sauerstoffpartialdruck im Gewebe $p_{muc}O_2$ unter Gefäßclamping beträgt $13,1 \pm 6,2$ mmHg ($41,0 \pm 3,9$ mmHg in der Kontrollgruppe).

IVM: Der kapillare Blutfluss ist mit $0,5 \pm 0,4$ nl/min unter Abklemmen der Gefäße deutlich niedriger als in der Kontrollgruppe ($2,6 \pm 0,3$ nl/min). Der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren sinkt auf 71%. Bei 2 Tieren an je einem Messfeld ist ein intermittierender Fluß zu beobachten, wobei das Abwechseln von langsamem und schnellem Fluß unregelmäßiger ist als unter Hypovolämie.

EMPHO: Die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins liegt bei $24,6 \pm 15,5\%$ (Kontrollgruppe $65,1 \pm 9,0\%$). Während der 1-minütigen Messung bleibt die $Hb_{sat}O_2$ in den meisten Fällen konstant, allerdings auf einem sehr viel niedrigeren Niveau als in der Kontrollgruppe (Abb. 4.7). An den zwei Messfeldern, an denen intravitalmikroskopisch ein intermittierender Fluß zu erkennen war, zeigt aber auch die $Hb_{sat}O_2$ einen annähernd periodischen Verlauf (Abb. 4.8).

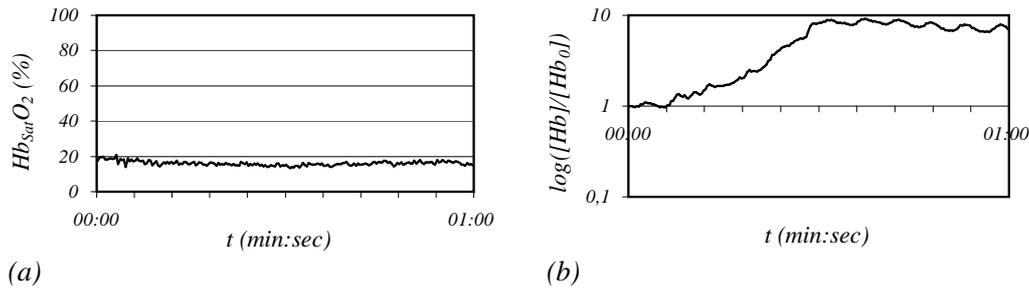


Abbildung 4.7: *Beispiel eines Verlaufes der $Hb_{Sat}O_2$ (a) und der dazugehörige Verlauf der rel. $[Hb]$ (b) während 1 min an einem Messfeld eines Tieres aus Gruppe C: Gefäßclamping: Die $Hb_{Sat}O_2$ bleibt relativ konstant bei einem Wert von ca. 15%, während die rel. $[Hb]$ etwa nach 30 sec. stark ansteigt und dann mit einer Periode von ca. 10/min oszilliert. (Tier C3, Feld 1)*

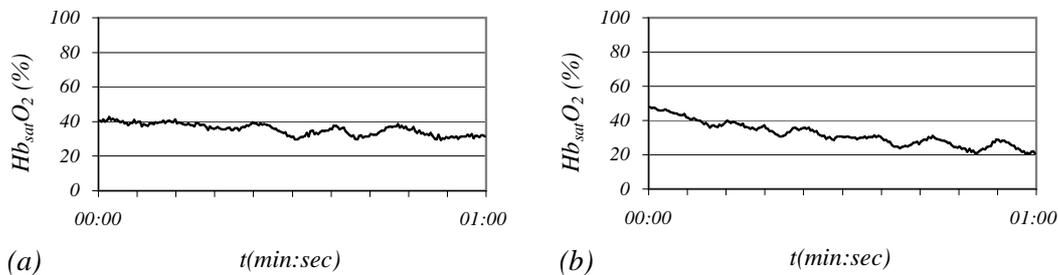


Abbildung 4.8: *Der Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ an den beiden Messfeldern (a und b), an denen in der IVM ein intermittierender Fluss zu sehen ist. (Tier C1, Feld 1 (a) und Tier C10, Feld 1 (b))*

Die relative Hämoglobinkonzentration zeigt sehr unterschiedliche Verläufe. An manchen Messfeldern steigt sie nach einem kurzen Zeitraum, in der die rel. $[Hb]$ nahe 1 ist, plötzlich stark an und schwankt dann periodisch, während die $Hb_{Sat}O_2$ auffallend gleich bleibt (Abb. 4.7). Es sind auch Verläufe mit entgegengesetztem Verhalten zu beobachten, in denen die rel. $[Hb]$ während einer Minute Messzeit sprunghaft abnimmt. An manchen Messfeldern bleibt die rel. $[Hb]$ annähernd konstant. Allen Messfeldern gemein sind aber periodische Schwankungen zwischen 10 und 14/min. Abbildung 4.9 zeigt noch einmal zwei Beispiele.

Korrelation von IVM und EMPHO: Die Korrelation des CBF und der $Hb_{Sat}O_2$ ist mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,90$ für Gruppe C: Gefäßclamping ausgezeichnet. Abbildung 4.10 zeigt dies graphisch.

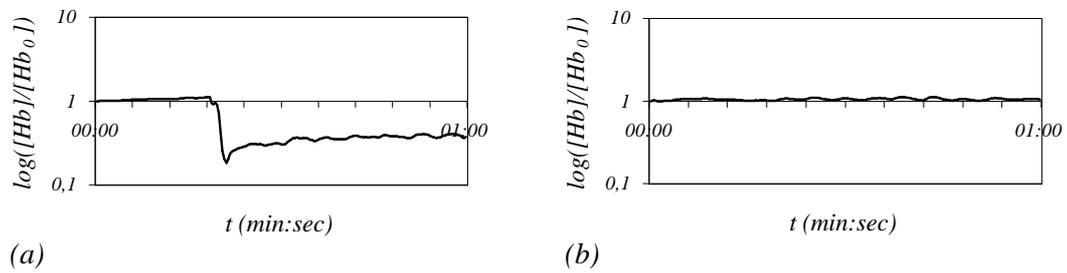


Abbildung 4.9: Zwei Beispiele eines 1-minütigen Verlaufes der $[Hb]$ aus Gruppe C: Gefäßclamping. (a) sprunghaft abfallend, dann angedeutet periodisch (Tier C4, Feld 3); (b) annähernd konstant, leicht periodisch (Tier C5, Feld 2)

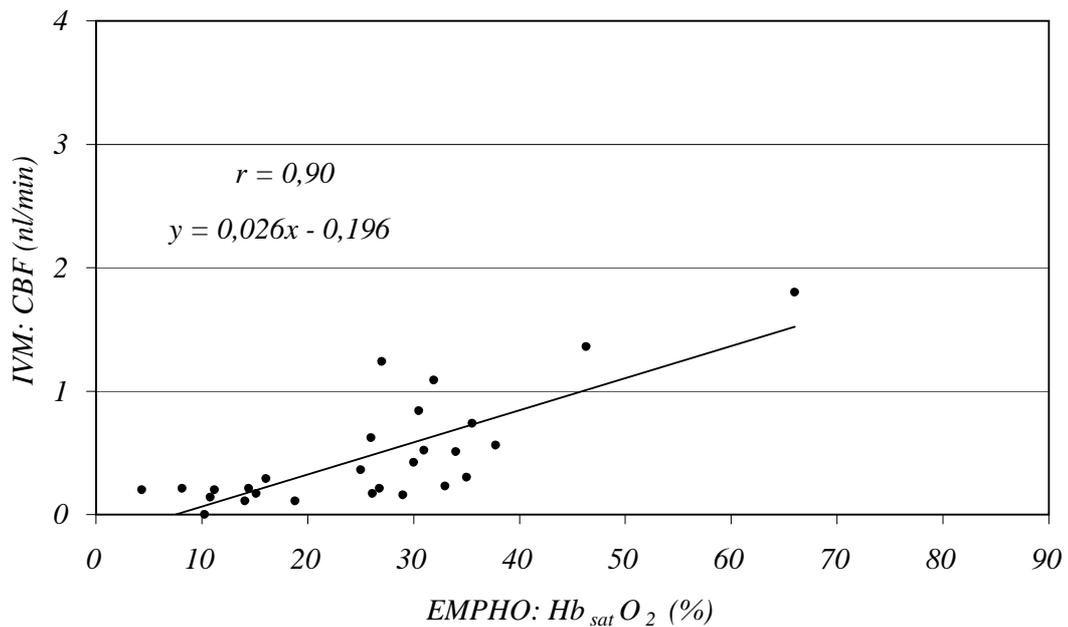


Abbildung 4.10: Korrelation zwischen IVM (Ordinate) und EMPHO (Abszisse) für Gruppe C: Gefäßclamping. Gegeneinander aufgetragen sind die Messwerte an den einzelnen Feldern.

4.4 Gruppe D: Hypoxie

8 Tiere werden präpariert und ausgewertet, wobei bei einem die Konzentration der markierten Erythrozyten nicht bestimmt werden und somit der CBF nicht berechnet werden kann. Die makrozirkulatorischen Parameter unter Hypoxie zeigt Tabelle 4.7. EMPHO und LICOX reagieren auf die Hypoxie mit einer statistisch signifikanten Erniedrigung ihrer gemessenen Größen, die IVM dagegen nicht. Für die einzelnen Tiere sind diese Tabelle 4.8 zu entnehmen. Alle Werte sind als Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben.

	vor der Hypoxiephase für die Messung		nach der Hypoxiephase für die Messung	
	mit IVM	mit EMPHO	mit IVM	mit EMPHO
<i>mittl.art.RR (mmHg)</i>	132 ± 10			
<i>pH</i>	7,40±0,05	7,39±0,05	7,22±0,06	7,21±0,05
<i>p_{art}O₂ (mmHg)</i>	98±13	99±16	40±10	38±6
<i>p_{art}CO₂ (mmHg)</i>	35±4	36±4	56±8	56±7
<i>base excess (mmol)</i>	-2,9±2,3	-3,2±2,7	-4,9±2,6	-5,7±2,6
<i>Hämatokrit (%)</i>	48 ± 5			

Tabelle 4.7: *gemittelte makrozirkulatorische Parameter der Gruppe D: Hypoxie*

	EMPHO: <i>Hb_{Sat}O₂ (%)</i>	IVM: <i>CBF (nl/min)</i>	LICOX: <i>pO₂ (mmHg)</i>
Tier D 1	36,4 ± 3,4	–	26,7 ± 1,8
Tier D 2	47,6 ± 2,5	2,3 ± 0,1	28,8 ± 2,4
Tier D 3	25,0 ± 3,8	2,0 ± 0,9	26,7 ± 4,7
Tier D 4	41,3 ± 1,8	2,7 ± 0,1	36,7 ± 1,4
Tier D 5	21,4 ± 2,8	2,4 ± 0,1	25,8 ± 2,9
Tier D 6	37,8 ± 5,9	2,7 ± 0,5	25,1 ± 2,9
Tier D 7	32,3 ± 4,5	2,9 ± 0,1	24,0 ± 2,6
Tier D 8	30,5 ± 1,7	2,5 ± 0,1	28,1 ± 3,2
Mittelwerte	34,0 ± 8,7	2,5 ± 0,5	27,6 ± 3,3

Tabelle 4.8: *Die Ergebnisse der drei Methoden als Mittelwerte mit Standardabweichung für die einzelnen Tiere der Gruppe D: Hypoxie*

In Abbildung 4.11 werden die Mittelwerte über die gesamte Gruppe von EMPHO, IVM und LICOX veranschaulicht und mit den Ergebnissen der Kontrollgruppe verglichen. Unter Hypoxie sinkt die $Hb_{Sat}O_2$ auf 52% und der $p_{muc}O_2$

auf 67% des Wertes in der Kontrollgruppe. Der Unterschied der Messwerte zwischen der Kontrollgruppe und Gruppe D ist für EMPHO und LICOX statistisch signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,001$. Dagegen läßt sich mit der IVM kein signifikanter Unterschied nachweisen; der CBF entspricht 96% des Wertes in der Kontrollgruppe.

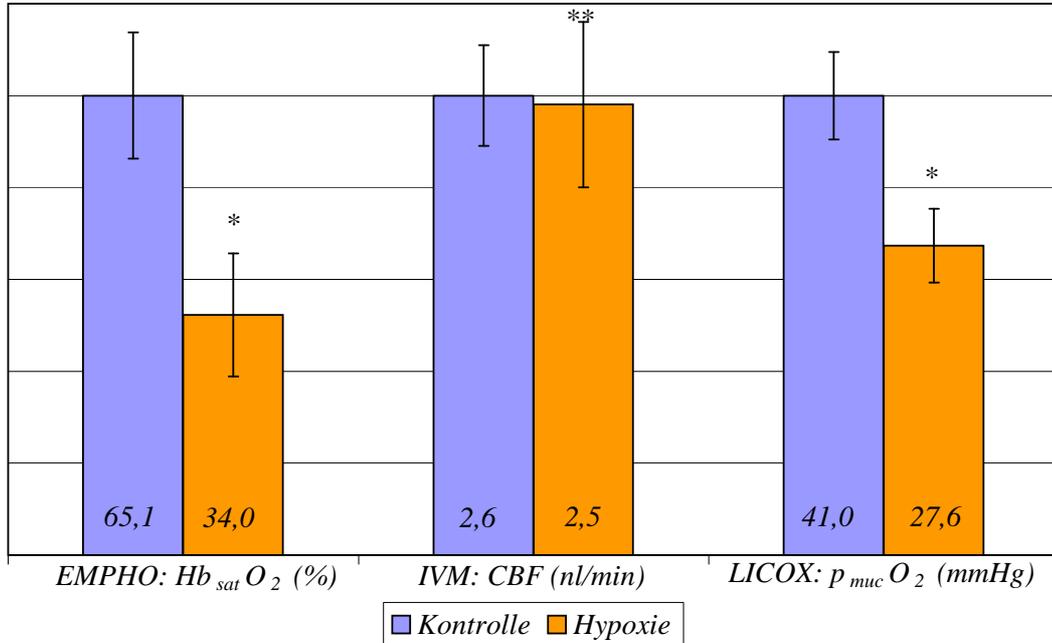


Abbildung 4.11: Vergleich der Ergebnisse in der in Gruppe D: Hypoxie (orange) mit der Gruppe A: Kontrolle (blau). EMPHO und LICOX zeigen deutlich niedrigere Messwerte in Gruppe D als in der Kontrollgruppe, während die IVM keinen signifikanten Unterschied nachweist. * $p < 0,001$; ** *n.s.*

LICOX: Der mittlere Sauerstoffpartialdruck im Gewebe $p_{muc} O_2$ unter Hypoxie beträgt $27,6 \pm 3,3$ mmHg ($41,0 \pm 3,9$ mmHg in der Kontrollgruppe).

IVM: Der kapillare Blutfluss ist mit $2,5 \pm 0,5$ nl/min unter Hypoxie nahezu identisch mit dem Wert der Kontrollgruppe ($2,6 \pm 0,3$ nl/min). Der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren beträgt ebenfalls etwa 98%. Ein intermittierender Fluß ist an keinem Messfeld zu beobachten. In dieser Gruppe wird eine BGA vor und nach jeder Messung durchgeführt; der CBF kann somit mit dem $p_{art} O_2$ in Beziehung gesetzt werden: Es besteht *keine* Korrelation ($r = 0,21$) (Abb. 4.12).

EMPHO: Die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins liegt unter Hypoxie bei $34,0 \pm 8,7\%$ (Kontrollgruppe $65,1 \pm 9,0\%$). Die $Hb_{Sat} O_2$ korreliert mit einem Korrelationskoeffizienten $r = 0,78$ mit dem $p_{art} O_2$ der arteriellen Blutgasanalyse (Abb. 4.13).

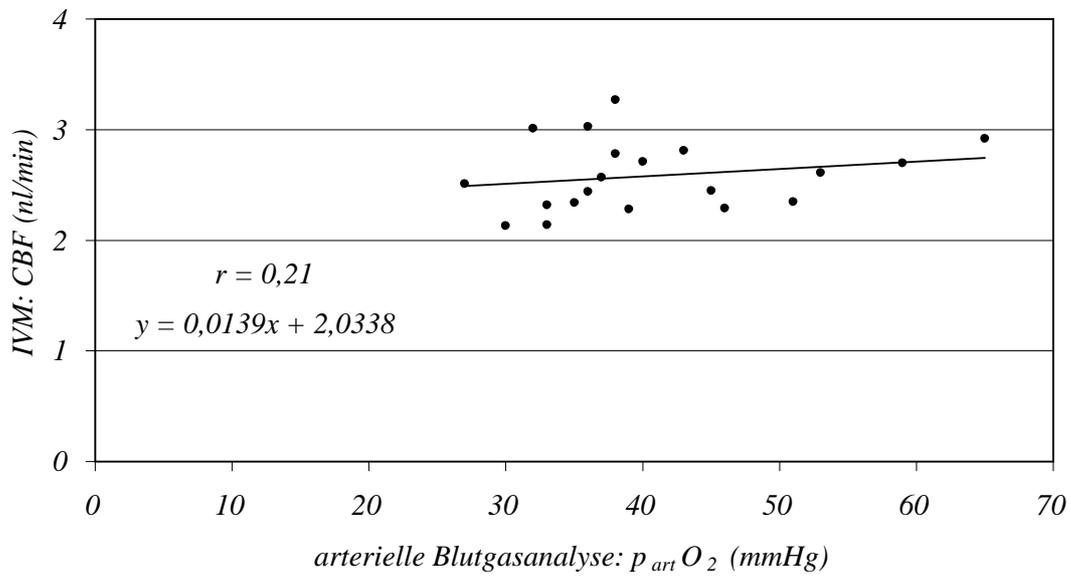


Abbildung 4.12: Korrelation zwischen dem pO_2 aus der arteriellen Blutgasanalyse (Abszisse) und IVM (Ordinate) in der Gruppe D: Hypoxie. Gegeneinander aufgetragen sind die Messwerte an den einzelnen Feldern. Bei einem Tier konnte der CBF nicht berechnet werden; an einem Feld ist aufgrund eines Probenfehlers der $p_{art}O_2$ nicht bekannt.

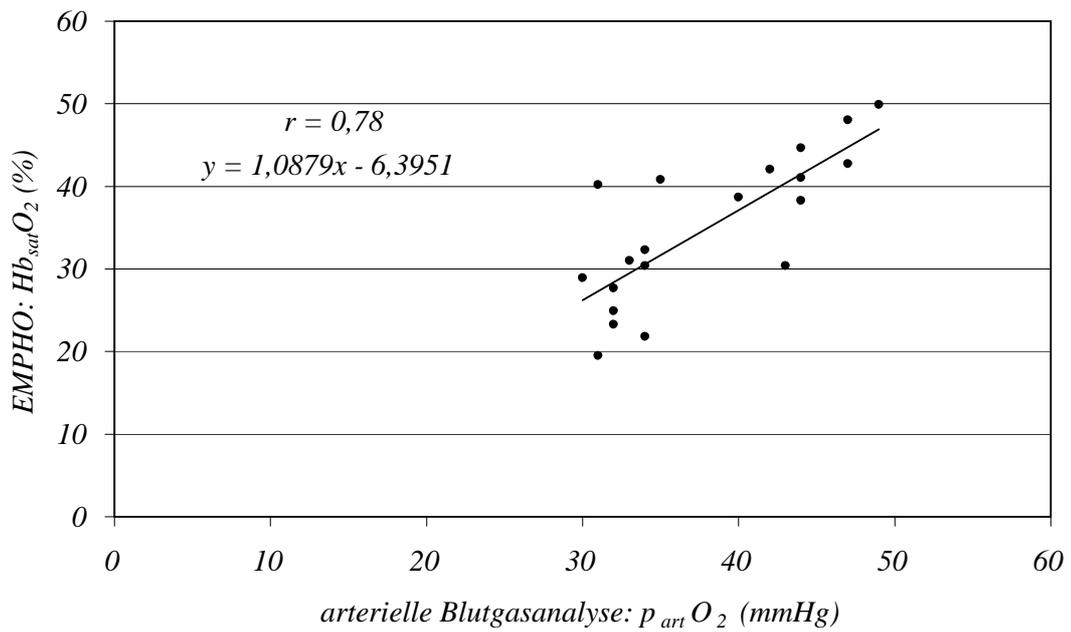


Abbildung 4.13: Korrelation zwischen dem pO_2 aus der arteriellen Blutgasanalyse (Abszisse) und EMPHO (Ordinate) in der Gruppe D: Hypoxie. Gegeneinander aufgetragen sind die Werte an den einzelnen Messfeldern; an 4 Feldern ist aufgrund eines Probenfehlers der $p_{art} O_2$ nicht bekannt.

Während der 1-minütigen Messung bleibt die $Hb_{Sat}O_2$ in allen Fällen auf niedrigem Niveau annähernd konstant. Die rel. $[Hb]$ macht nicht solche Sprünge wie in Gruppe C. In Gruppe D schwankt sie immer mit kleiner Amplitude periodisch mit einer Frequenz von ca. 11 – 15/min um einen konstanten Wert. (Abb. 4.14)

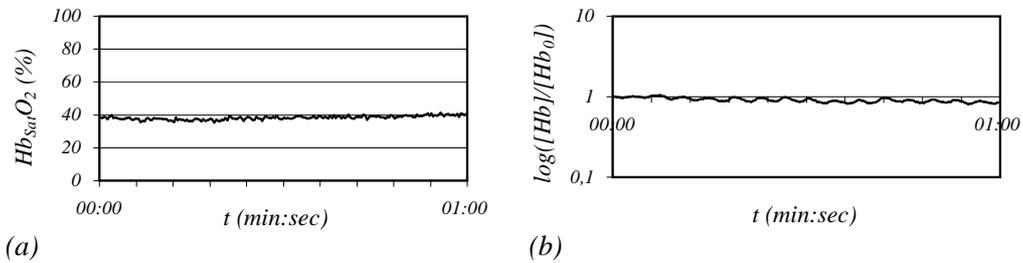


Abbildung 4.14: Beispiel eines Verlaufes der $Hb_{Sat}O_2$ (a) und der dazugehörige Verlauf der rel. $[Hb]$ (b) während 1 min an einem Messfeld eines Tieres aus Gruppe D: Hypoxie. Die $Hb_{Sat}O_2$ bleibt konstant bei einem Wert von ca. 27%; die rel. $[Hb]$ schwankt mit einer Periode von ca. 15/min mit kleiner Amplitude. (Tier D7, Feld 3).

Korrelation von IVM und EMPHO: CBF und $Hb_{Sat}O_2$ korrelieren in dieser Gruppe nicht; der Korrelationskoeffizient ist $r = 0,12$ (Abb. 4.15).

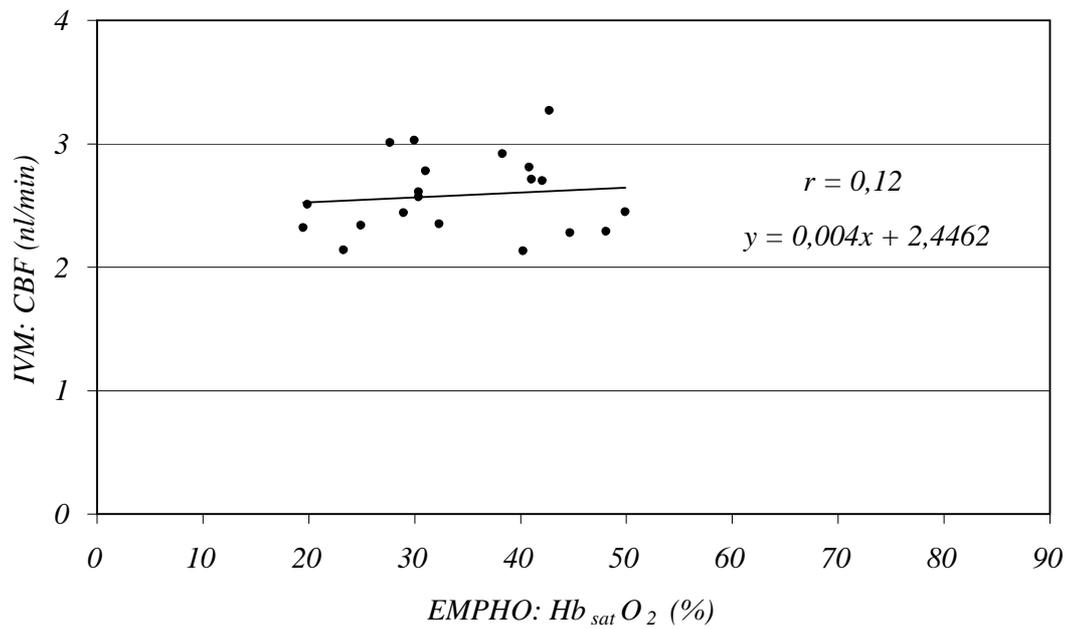


Abbildung 4.15: Korrelation zwischen IVM (Ordinate) und EMPHO (Abszisse) für Gruppe D: Hypoxie. Gegeneinander aufgetragen sind die Messwerte an den einzelnen Feldern. Bei einem Tier konnte der CBF nicht berechnet werden, zweimal überschneiden sich zwei Punkte in der gezeigten Abbildung.

4.5 Gruppe E: Colitis

Von 8 präparierten Tieren werden 8 ausgewertet. Die Messungen werden an den Arealen des Darmes durchgeführt, die keine Ulcera oder Nekrosen aufweisen. Diese Gruppe ist sehr inhomogen, die Ausprägung der Colitis ist schon makroskopisch äußerst unterschiedlich. Bei manchen Tieren (Tier E 1 und E 7) zeigt der Darm nur eine ödematöse Schwellung, bei anderen (Tier E 3, E 4 und E 6) großflächige Nekrosen. Die makrozirkulatorischen Parameter unter Colitis zeigt Tabelle 4.9. Alle drei Methoden reagieren auf die Colitis mit einer statistisch signifikanten Erniedrigung ihrer gemessenen Größen; für die einzelnen Tiere sind diese Tabelle 4.10 zu entnehmen. Alle Werte sind als Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben.

mittlerer art. Blutdruck (<i>mmHg</i>)	104	± 14
<i>pH</i>	7,36	± 0,04
<i>p_{art}O₂</i> (<i>mmHg</i>)	98	± 10
<i>p_{art}CO₂</i> (<i>mmHg</i>)	41	± 4
base excess (<i>mmol</i>)	-3,1	± 3,0
Hämatokrit(%)	53	± 3

Tabelle 4.9: *gemittelte makrozirkulatorische Parameter der Gruppe E: Colitis*

	EMPHO: <i>Hb_{Sat}O₂</i> (%)	IVM: <i>CBF</i> (<i>nl/min</i>)	LICOX: <i>pO₂</i> (<i>mmHg</i>)
Tier E 1	61,4 ± 10,5	1,5 ± 0,2	40,8 ± 2,9
Tier E 2	48,5 ± 8,1	1,4 ± 0,3	34,5 ± 7,9
Tier E 3	53,6 ± 5,5	1,5 ± 0,9	9,3 ± 1,7
Tier E 4	25,0 ± 10,7	0,1 ± 0,1	3,0 ± 2,8
Tier E 5	56,5 ± 7,9	1,9 ± 0,4	34,1 ± 1,0
Tier E 6	50,9 ± 4,5	1,9 ± 0,3	35,7 ± 2,2
Tier E 7	51,8 ± 6,5	2,0 ± 0,03	44,1 ± 3,6
Tier E 8	55,5 ± 6,7	2,5 ± 0,4	30,6 ± 6,9
Mittelwerte	50,4 ± 12,9	1,6 ± 0,8	29,0 ± 13,9

Tabelle 4.10: *Die Ergebnisse der drei Methoden als Mittelwerte mit Standardabweichung für die einzelnen Tiere der Gruppe E: Colitis*

In Abbildung 4.16 werden die Mittelwerte über die gesamte Gruppe von EMPHO, IVM und LICOX veranschaulicht und mit den Ergebnissen der Kontrollgruppe verglichen. Die *Hb_{Sat}O₂* sinkt auf 77%, der *CBF* auf 61% und der

$p_{muc}O_2$ auf 71% des Wertes in der Kontrollgruppe. Der Unterschied der Messwerte zwischen der Kontrollgruppe und Gruppe E ist für alle drei Methoden statistisch signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,001$.

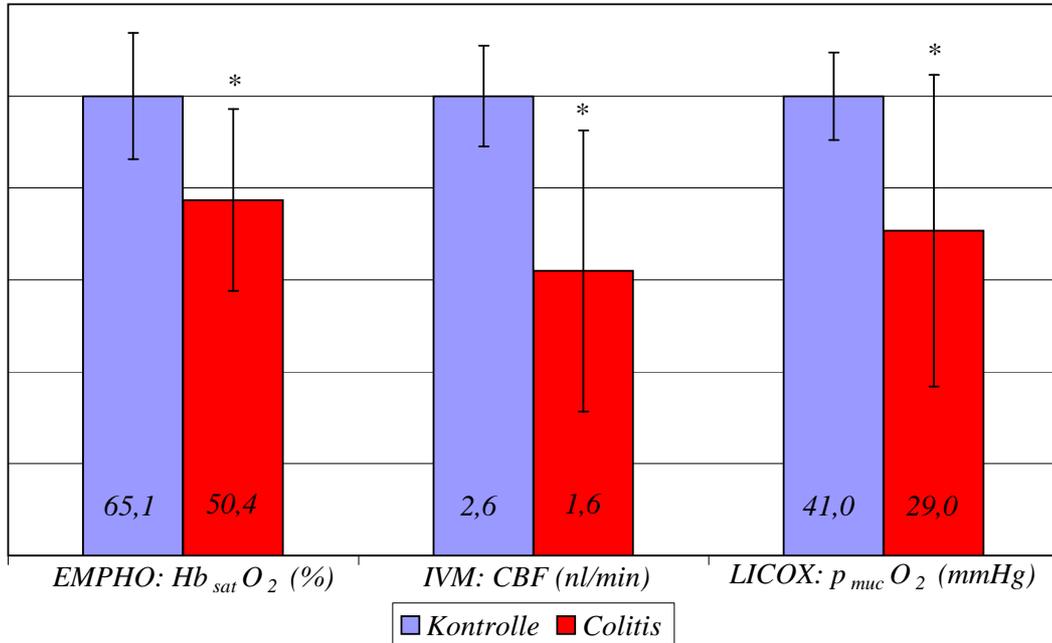


Abbildung 4.16: Vergleich der Ergebnisse in der Gruppe E: Colitis (rot) mit der Gruppe A: Kontrolle (blau). * $p < 0,05$

LICOX: Der mittlere Sauerstoffpartialdruck im Gewebe $p_{muc}O_2$ unter Colitis beträgt $29,0 \pm 13,9$ mmHg ($41,0 \pm 3,9$ mmHg in der Kontrollgruppe).

IVM: Der kapillare Blutfluss ist mit $1,6 \pm 0,8$ nl/min unter Colitis deutlich niedriger als in der Kontrollgruppe ($2,6 \pm 0,3$ nl/min).

Der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren entspricht dem makroskopischen Schweregrad der Colitis. Bei Tieren mit milder, ödematöser Colitis ist er hoch (Tier E 1: 96%, Tier E 7: 74%) und bei Tieren mit schwerer Colitis ist er niedrig (Tier E 3: 26%; Tier E 4: 3% und Tier E 6: 22%). Es gibt sogar Messfelder, an denen der Blutfluß völlig sistiert. Der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren liegt also an den einzelnen Feldern zwischen 0 und 96%.

Bei den 2 Tieren, deren Darm eine milde, ödematöse Colitis zeigt, ist an je einem Messfeld ein periodisch intermittierender Fluss zu beobachten.

Ein weiteres Phänomen ist bemerkenswert: Nahezu alle Kapillaren, in denen während des Beobachtungszeitraumes von 1 Minute kein Fluss zu verzeichnen ist, sind dennoch mit FITC-markierten Erythrozyten gefüllt. Auch in den Feldern, in denen der kapillare Blutfluss in allen Kapillaren völlig sistiert scheint, sind in den meisten Kapillaren viele markierte Erythrozyten zu sehen, die sich aber nicht bewegen.

EMPHO: Die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins unter Colitis liegt im Mittel bei $50,4 \pm 12,9\%$ (Kontrollgruppe $65,1 \pm 9,0\%$). Der Verlauf während der 1-minütigen Messung der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$ ist sehr unterschiedlich. Bei den beiden Tieren, die makroskopisch eine milde, ödematöse Colitis aufweisen, und in denen mittels IVM ein intermittierendes Fluß zu sehen ist, schwankt die $Hb_{Sat}O_2$ auffallend regelmäßig und periodisch mit einer Frequenz von ca. $5/min$ und ausgeprägter Amplitude; dabei zeigt die rel. $[Hb]$ andeutungsweise Schwankungen um einen konstanten Wert (Abb. 4.17).

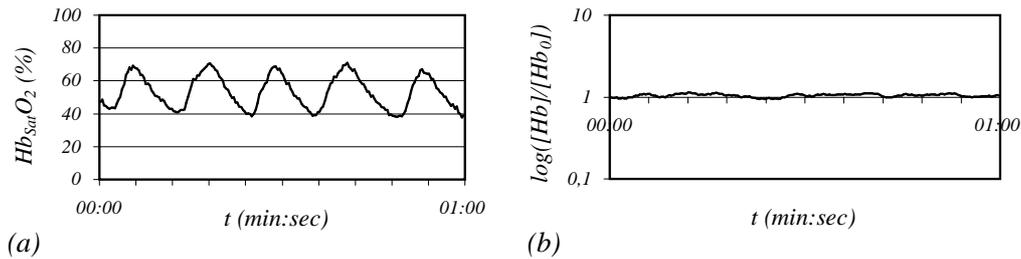


Abbildung 4.17: Beispiel eines Verlaufes der $Hb_{Sat}O_2$ (a) und der dazugehörigen rel. $[Hb]$ (b) an einem Messfeld eines Tieres mit milder Colitis. Die $Hb_{Sat}O_2$ schwankt mit einer Periode von ca. $5/min$ um einem Wert von ca. 53% , während die rel. $[Hb]$ konstant bleibt. (Tier E 1, Feld 1).

Bei den Tieren mit ausgeprägterer Colitis aber noch vorhandenem Blutfluss in einem guten Teil der Kapillaren ($33\% < \text{Prozentsatz der perfundierten Kapillaren} < 67\%$) zeigt die $Hb_{Sat}O_2$ keinen periodischen Verlauf; die rel. $[Hb]$ ist meist konstant (Abb. 4.18).

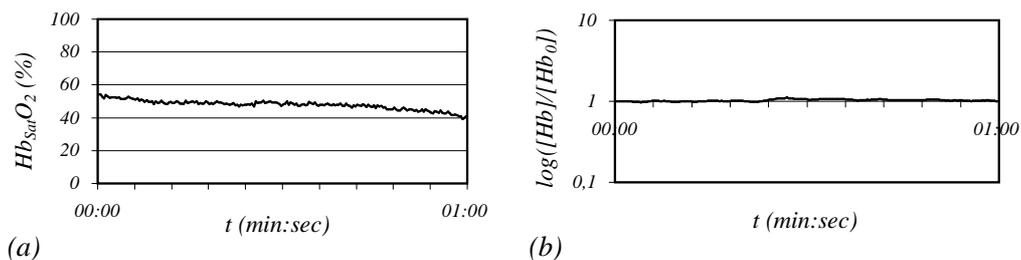


Abbildung 4.18: Beispiel eines Verlaufes der $Hb_{Sat}O_2$ (a) und der dazugehörigen rel. $[Hb]$ (b) an einem Messfeld eines Tieres mit ausgeprägterer Colitis. Die $Hb_{Sat}O_2$ und die rel. $[Hb]$ bleiben relativ konstant. (Tier E 5, Feld 1).

Bei Tieren mit schwerster Colitis, deren Darmabschnitt großflächig Ulcera und Nekrosen aufweist und deren Prozentsatz perfundierter Kapillaren kleiner als 33% ist, läßt sich eine abfallende $Hb_{Sat}O_2$ erkennen, wobei die rel. $[Hb]$ teils konstant

bleibt, teils ebenfalls abfällt. Abbildung 4.19 zeigt ein Messfeld in dem mit der IVM kein Blutfluß verzeichnet werden kann, die Kapillaren aber mit markierten Erythrozyten gefüllt sind, und in dem der Abfall der $Hb_{Sat}O_2$ während des 1-minütigen Messvorganges besonders deutlich ist.

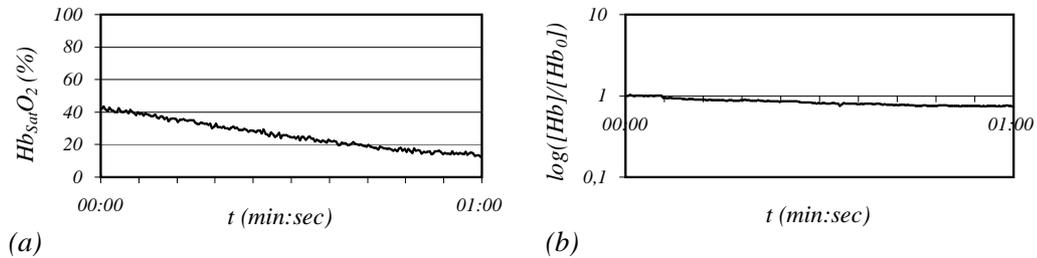


Abbildung 4.19: Beispiel eines Verlaufes der $Hb_{Sat}O_2$ (a) und der dazugehörenden rel. [Hb] (b) an einem Messfeld eines Tieres mit großflächigen Nekrosen und in der IVM sistiertem Blutfluss. $Hb_{Sat}O_2$ und rel. [Hb] fallen beide stetig ab. (Tier E 4, Feld 1).

Korrelation von IVM und EMPHO: CBF und $Hb_{Sat}O_2$ korrelieren mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,72$ in der Gruppe E: Colitis. Abbildung 4.20 zeigt dies graphisch.

Die $Hb_{Sat}O_2$ korreliert nicht nur mit dem kapillaren Blutfluss am Colon, sondern auch mit dem Prozentsatz der perfundierten Kapillaren. Je höher dieser ist, desto höher ist auch die mittlere $Hb_{Sat}O_2$. In Tabelle 4.11 sind alle Messfelder der Gruppe E nach dem Prozentsatz der perfundierten Kapillaren in vier Gruppen eingeteilt und mit der mittleren $Hb_{Sat}O_2$ verglichen:

Prozentsatz der perfundierten Kapillaren	$Hb_{Sat}O_2$ (%)
0%	$19,8 \pm 9,2$
< 33%	$49,1 \pm 7,3$
33 – 67%	$52,9 \pm 7,2$
> 67%	$57,6 \pm 10,2$

Tabelle 4.11: Vergleich zwischen dem Prozentsatz der perfundierten Kapillaren (IVM) und der $Hb_{Sat}O_2$ (EMPHO).

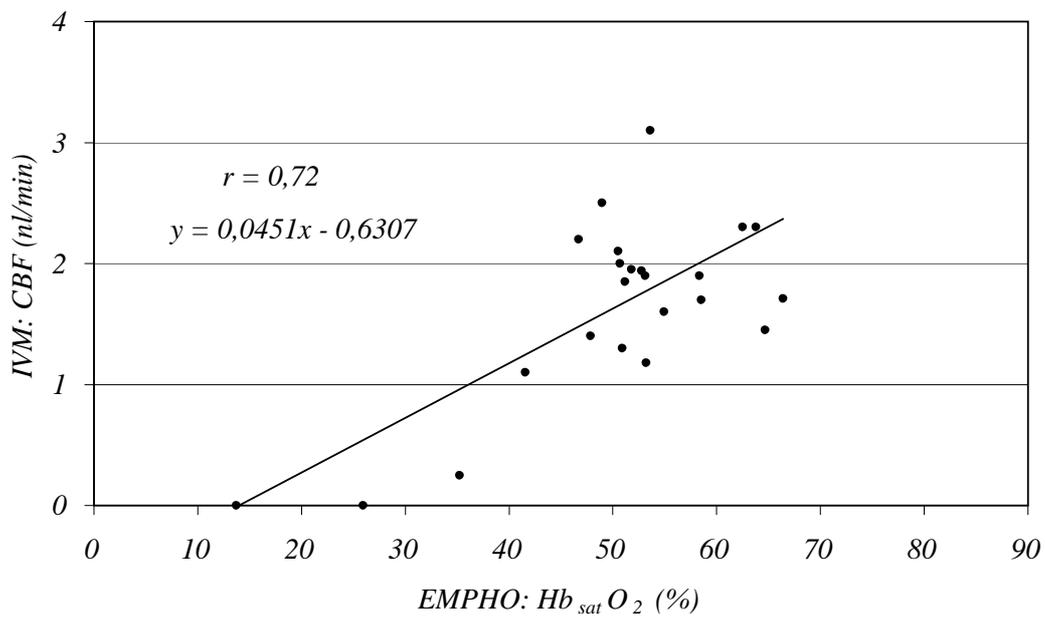


Abbildung 4.20: Korrelation zwischen IVM (Ordinate) und EMPHO (Abszisse) für die Gruppe E: Colitis. Gegeneinander aufgetragen sind die Messwerte an den einzelnen Feldern, ein Feld konnte nicht ausgewertet werden.

Kapitel 5

Gruppenübergreifender Vergleich der Messmethoden

In Abbildung 5.1 sind die über jede Gruppe gemittelten Messwerte für alle drei Methoden zusammengefasst und graphisch dargestellt. Man erkennt, dass EMPHO und LICOX in allen Gruppen tendenziell die gleiche Veränderung gegenüber der Kontrollgruppe nachweisen. Auch die IVM misst tendenziell die gleiche Veränderung gegenüber der Kontrollgruppe wie EMPHO und LICOX mit einer Ausnahme in der Gruppe D: Hypoxie.

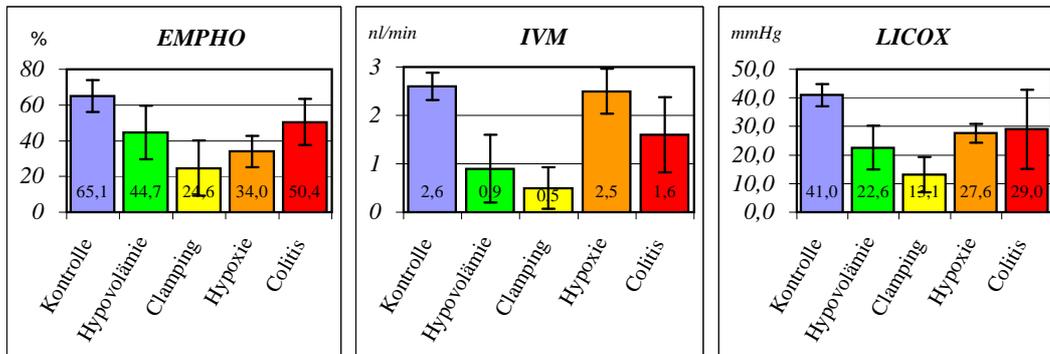


Abbildung 5.1: Gruppenmittelwerte der drei Methoden

5.1 Vergleich zwischen IVM und EMPHO

Da mit dem EMPHO und dem IVM an je identischen Messfeldern gemessen wird, können die Werte an den einzelnen 3 Messfeldern pro Tier verglichen werden. In der Gruppe D: Hypoxie korrelieren EMPHO und IVM nicht (s. Abb. 4.15, S. 50), in den allen anderen Gruppen dagegen gut (s. Tab. 5.1).

	Korrelation zwischen IVM und EMPHO
Gruppe A: Kontrolle	$r = 0,75$
Gruppe B: Hypovolämie	$r = 0,68$
Gruppe C: Clamping	$r = 0,90$
Gruppe D: Hypoxie	$r = 0,12$
Gruppe E: Colitis	$r = 0,72$

Tabelle 5.1: *Die Korrelationskoeffizienten der verschiedenen Gruppen.*

Schließt man Gruppe D aus und stellt die verbleibenden 97 Messfelder gegenüber, korrelieren IVM und EMPHO mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,89$, wie in Abbildung 5.2 dargestellt ist.

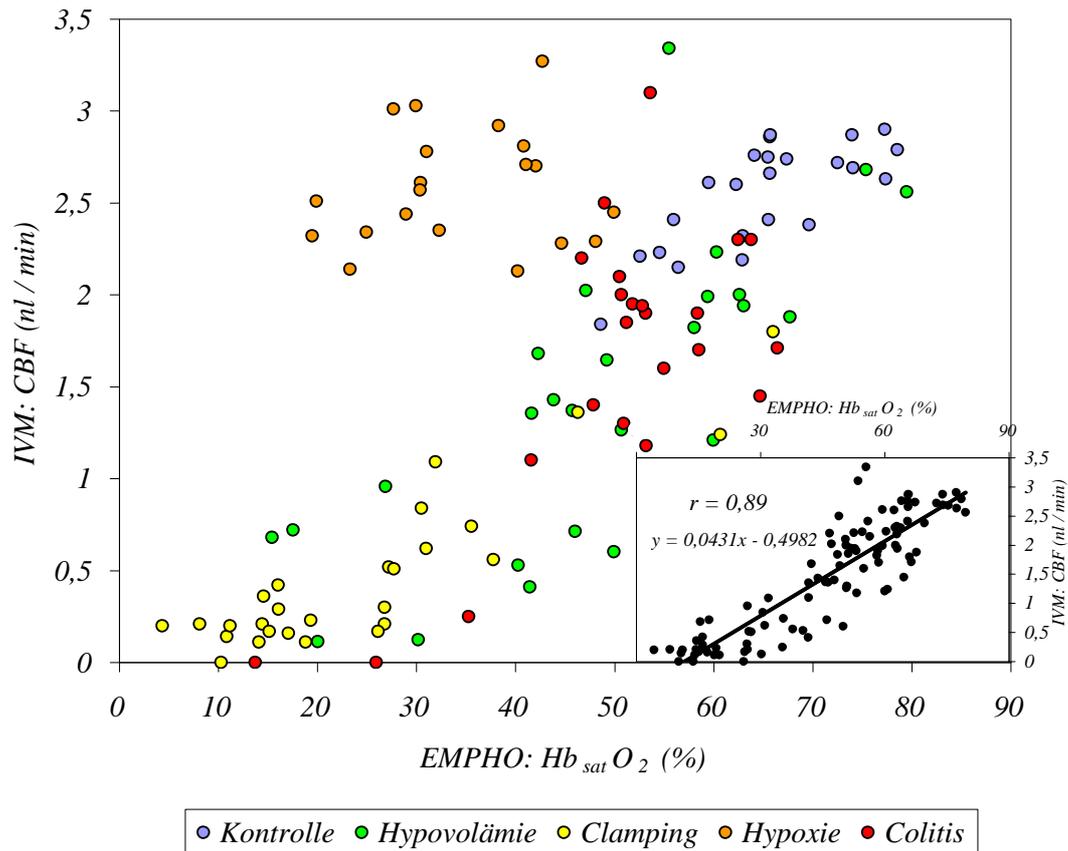


Abbildung 5.2: Korrelation zwischen EMPHO (Abszisse) und IVM (Ordinate) für alle 118 Messfelder. Die einzelnen Gruppen sind farblich unterschieden. Das Inset zeigt die Korrelation ohne Gruppe D: Hypoxie.

5.2 Vergleich zwischen LICOX und IVM

Die Messung mit der polarographischen Sonde (LICOX) lief kontinuierlich während der gesamten Messzeit, allerdings an einer anderen Stelle, als die Messung mit IVM und EMPHO. Eine Korrelation der einzelnen Messfelder wie zwischen IVM und EMPHO ist deshalb nicht möglich. Um die Ergebnisse des LICOX dennoch mit denen von EMPHO und IVM vergleichen zu können, werden der Mittelwert aus den Daten des LICOX, die während der Messung mit EMPHO bzw. IVM aufgenommen wurden, berechnet, und mit dem Mittelwert der drei Messfelder pro Tier für EMPHO bzw. IVM in Beziehung gesetzt. Es werden die beiden Methoden also nicht an einzelnen Messfeldern, sondern für insgesamt 40 Tiere miteinander verglichen. Abbildung 5.3 zeigt die Korrelation:

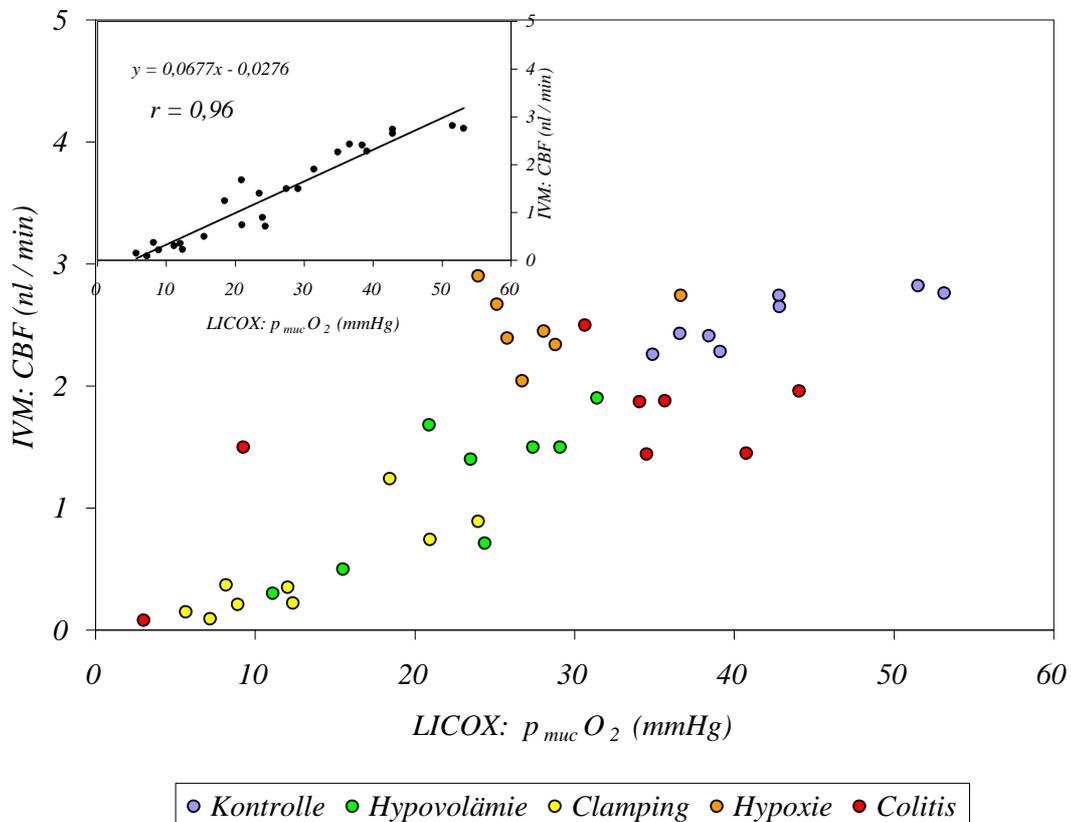


Abbildung 5.3: Korrelation zwischen LICOX (Abszisse) und IVM (Ordinate). Die einzelnen Gruppen sind farblich unterschieden. Das Inset zeigt die Korrelation ohne die Gruppen D: Hypoxie (orange) und E: Colitis (rot)

Die Punkte der Gruppe D: Hypoxie (orange) und der Gruppe E: Colitis (rot) liegen außerhalb einer sonst guten Korrelation von IVM und LICOX. Mögliche Gründe hierfür werden unter 8.2.4.1, Seite 117 besprochen. Betrachtet man die

Beziehung ohne die Gruppe D und E, korrelieren IVM und LICOX mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,96$ (s. Abb. 5.3, Inset).

5.3 Vergleich zwischen LICOX und EMPHO

Ebenso wie für den Vergleich mit der IVM werden hier die entsprechenden, über drei Messfelder eines Tieres gemittelten Werte von LICOX und EMPHO in Beziehung gesetzt. Insgesamt werden 41 Tiere miteinander verglichen. Abb. 5.4 zeigt die Korrelation:

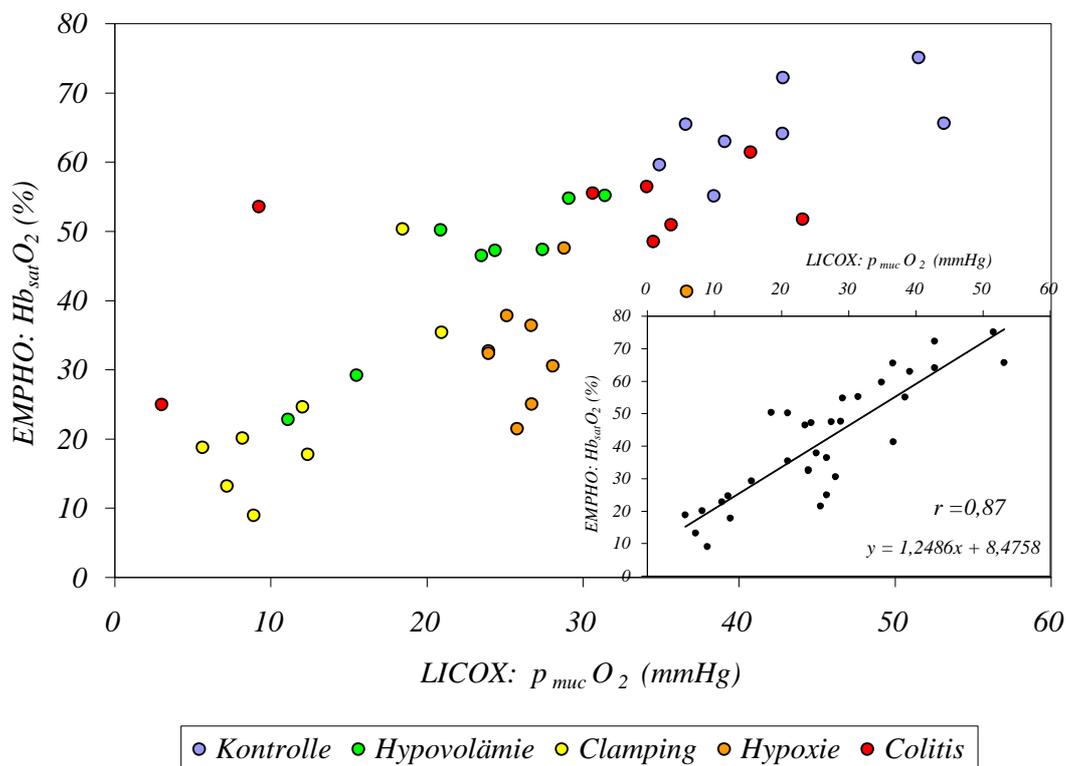


Abbildung 5.4: Korrelation zwischen LICOX (Abszisse) und EMPHO (Ordinate). Die einzelnen Gruppen sind farblich unterschieden. Das Inset zeigt die Korrelation ohne die Gruppe E: Colitis.

Hier liegen die Punkte der Gruppe E: Colitis (rot) außerhalb einer sonst guten Korrelation. Mögliche Gründe hierfür werden unter 8.2.4.1, Seite 117 besprochen. Betrachtet man die Beziehung ohne die Gruppe E, korrelieren die beiden Methoden mit einem Korrelationskoeffizienten $r = 0,87$ (s. Abb. 5.4 Inset).

Kapitel 6

Zusammenfassung der Ergebnisse

- Alle drei Methoden reagieren in den Gruppen B: Hypovolämie, C: Clamping und E: Colitis auf den pathologischen Zustand mit einer signifikanten Erniedrigung ihrer Messwerte im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Einen Sonderfall stellt Gruppe D: Hypovolämie dar: Mittels IVM kann kein Unterschied zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden. EMPHO und LICOX zeigen dagegen auch in dieser Gruppe signifikant niedrigere Messwerte als in der Kontrollgruppe.

- In den Gruppen B: Hypovolämie, C: Clamping und E: Colitis ist die Korrelation zwischen CBF und $Hb_{Sat}O_2$ gut; der Korrelationskoeffizient r liegt zwischen 0,68 und 0,90.

In der Gruppe D: Hypoxie korrelieren der mittels IVM gemessene CBF und die durch das EMPHO ermittelte $Hb_{Sat}O_2$ nicht ($r = 0,12$). Auch gibt es keine Korrelation zwischen CBF und dem $p_{art}O_2$ aus der BGA. Dagegen korrelieren $Hb_{Sat}O_2$ und $p_{art}O_2$ aus der BGA in dieser Gruppe sehr gut.

In der Gruppe E: Colitis besteht neben der Korrelation zwischen CBF und $Hb_{Sat}O_2$ zusätzlich eine gute Korrelation zwischen $Hb_{Sat}O_2$ und der in der IVM beobachteten Perfusionsdichte.

- Betrachtet man alle Gruppen zusammen ohne die Gruppe D: Hypoxie korrelieren EMPHO und IVM im gesamten Messbereich gut ($r = 0,89$).
- Setzt man LICOX und IVM in Beziehung, liegen die Gruppe E: Colitis und Gruppe D: Hypoxie außerhalb einer sonst guten Korrelation. Ohne diese beiden Gruppen korrelieren $p_{muc}O_2$ und CBF mit einem Korrelationskoeffizient $r = 0,96$.
- Aus der sonst guten Korrelation zwischen LICOX und EMPHO fällt Gruppe E: Colitis heraus. Ohne diese Gruppe korreliert $p_{muc}O_2$ und $Hb_{Sat}O_2$ mit einem Korrelationskoeffizient $r = 0,87$.

- Bei der Messung mit dem EMPHO fallen neben den Veränderungen des absoluten Wertes für die $Hb_{Sat}O_2$ in den einzelnen Gruppen charakteristische Unterschiede im 1-minütigen Messverlauf auf.
- An manchen Messfeldern kann mit der IVM ein intermittierender Blutfluss nachgewiesen werden.
- An den Messfeldern, bei denen in der IVM ein intermittierender Blutfluss beobachtet werden kann, zeigt die $Hb_{Sat}O_2$ einen periodisch schwankenden Verlauf.

Teil III
Diskussion

Kapitel 7

Diskussion der Methoden

7.1 Mikrolichtleiter-Photospektrometrie EMPHO

7.1.1 Physikalische Grundlagen der Remissions-Photospektrometrie: Streuung und Absorption

Die Remissions-Photospektrometrie nutzt die optischen Effekte von Streuung und Absorption zu quantitativen Messungen. Remissionsspektrometrie ist möglich, da in ein streuendes Medium eingestrahktes Licht nicht nur vorwärts, sondern in alle Richtungen, auch rückwärts, gestreut wird; deshalb können Empfangsfasern, die neben und nicht gegenüber einer beleuchtenden Lichtfaser liegen, durch das Gewebe beeinflusstes Licht detektieren. Man sollte deshalb besser von „Rückstreu“-Photospektrometrie sprechen.

Streuung macht die Remissions-Photospektrometrie möglich; so kann dann die wellenlängenabhängige Absorption an Farbstoffen oder Pigmenten, die für jeden Farbstoff ein sehr charakteristisches Muster hat - das zweigipflige Absorptionsspektrum des Hämoglobins beispielsweise -, für Aussagen über das Vorhandensein und die Konzentration dieser Farbstoffe genutzt werden. Da zusätzlich viele Pigmente im Körper ihre Absorptionseigenschaften mit ihrem Oxidations- bzw. Oxygenierungszustand verändern, werden auch Schlussfolgerungen hierüber möglich.

Mit den Phänomenen der Streuung und Absorption lässt sich das Prinzip der Remissions-Photospektrometrie einfach beschreiben. Dennoch ist es unmöglich - aber in der Praxis auch nicht nötig - den Weg des Lichtes im lebendigen Gewebe im Einzelnen zu beschreiben, da dort viele heterogene Streuer und Absorber miteinander kombiniert sind. In der physikalischen Grundlagenforschung ist Lichtstreuung nach wie vor Thema aktueller Experimente [43, 44].

7.1.1.1 Streuung im Gewebe

Die Streupartikel im Gewebe sind von unterschiedlicher Art und Größe und kommen in mannigfacher Dichte und Anordnung vor - sowohl innerhalb einer Zelle (z.B. Zellwand und Zytoplasma) als auch innerhalb der verschiedenen Gewebsschichten. Je nach Eigenschaft der streuenden Teilchen kann die Streuung mit verschiedenen physikalischen Modellen beschrieben werden. Der einfachste Fall liegt vor, wenn die Streuer sehr viel kleiner sind als die Wellenlänge des einfallenden Lichts (Rayleigh-Streuung, vgl. [45]). Der allgemeine Fall von Streuung an Teilchen beliebiger Größe wird als Mie-Streuung bezeichnet, da G. Mie im Jahre 1906 als erster ein mathematisches Modell dafür angegeben hat (vgl. [46]).

Bisher gibt es aber keine Theorie, die alle Faktoren und Phänomene, die sich bei der Streuung des Lichts in lebendem Gewebe ergeben, berücksichtigt, und es erscheint auch sehr unwahrscheinlich, dass dieses komplexe Problem in erster Linie mittels eines mathematischen Modells gelöst werden kann [47]. Es gibt einige experimentelle Daten aus Messungen in einer Streukammer vor allem mit Mitochondriensuspensionen, die - theoretisch analysiert mit den Streugesetzen nach Rayleigh und Mie - Ansätze zur Beschreibung der Streuung des Lichts im lebenden Gewebe liefern.

Einige „Faustregeln“ der Streuung, die man bei der Interpretation der Messparameter des EMPHO im Kopf behalten sollte, sind im folgenden genannt:

- (a) Abhängigkeit von der Größe der Streupartikel: Je größer das Teilchen, desto größer die Streuung sowohl vorwärts als auch rückwärts.
- (b) Abhängigkeit von der Wellenlänge des einfallenden Lichtes: Je größer die Wellenlänge, desto weniger Licht wird sowohl vorwärts als auch rückwärts gestreut.
- (c) Abhängigkeit von der Konzentration der Streupartikel: Je größer die Konzentration der Streupartikel, desto größer die Extinktion des einfallenden Lichtes durch die Streuung. Der Anteil des rückwärts gestreuten Lichtes nimmt aber zu.
- (d) Veränderung der isosbestischen Punkte durch Streuphänomene.

7.1.1.2 Absorption im Gewebe

Folgende Pigmente im Gewebe absorbieren das eingestrahlte Licht [47]:

- (a) Hämoglobin
- (b) Myoglobin
- (c) Cytochrom aa₃, b, c

- (d) Flavoproteine
- (e) Pyridinnukleotide
- (f) Melanin

In dem zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins verwendeten Wellenlängenfenster von 502 - 628 nm ist der Effekt des Hämoglobin bei weitem der wichtigste [48, 49].

7.1.2 Physiologische Variable

Die Streu- und Absorptionsphänomene im Gewebe werden nicht nur aufgrund der Vielfalt der Streuer und Absorber und ihrer inhomogenen Anordnung äußerst komplex, sie verändern sich zusätzlich auch noch in Abhängigkeit von verschiedenen physiologischen Variablen:

Organspezifische optische Eigenschaften:

Grundsätzlich sind die optischen Eigenschaften jedes Organs verschieden. So spielen in der Lunge beispielsweise Brechungsphänomene an den zahlreichen Grenzflächen zwischen Luft und Gewebe in den Alveolen eine Rolle [50]. Weiterhin gibt es Unterschiede im optischen Verhalten von parenchymatösen Organen, die relativ homogen aufgebaut sind wie etwa der Leber, und geschichteten Organen wie dem Darm. Diese organspezifischen optischen Eigenschaften sind wiederum je nach dem Zustand, in dem sich das Gewebe befindet, veränderlich:

- *Ödem*

Ein Ödem beeinflusst die optischen Eigenschaften des Gewebes. Die Konzentration sowohl an Streuern als auch an Absorbern nimmt ab, und gleichzeitig verändert sich das Verhältnis von Streuern zu Absorbern. Außerdem ändern sich die Brechungsindizes. Der Einfluss dieser zum Teil gegensätzlich wirkenden Veränderungen auf die Rückwärtsstreuung ist komplex und schwer zu quantifizieren. (vgl. 7.1.1.1(c))

- *Hämoglobinkonzentration*

Abhängig von der Hämoglobinkonzentration, die nicht konstant ist, verschiebt sich das Verhältnis von Streuung und Absorption. Bei steigender Konzentration des Hämoglobins nimmt die Absorption zu, und die Anzahl der Streueignisse sinkt. Dadurch wird das Erfassungsvolumen kleiner und die Intensität des detektierbaren, rückwärts gestreuten Lichts sinkt [51].

- *Oxygenierungszustand*

Einige Beobachtungen lassen vermuten, dass die Streuer im Gewebe zum Teil ihre Größe abhängig vom Oxygenierungszustand ändern. So nimmt man an, dass die Mie-Teilchen unter Hypoxie schrumpfen [35]. Dies führt in der Regel zu einer Abnahme der Rückwärtsstreuung. (vgl. 7.1.1.1(a))

7.1.3 Technische Variable

7.1.3.1 Abstand des Lichtleiters vom Gewebe

In dieser Studie bestand kein direkter Kontakt des Lichtleiters mit dem Gewebe. Dies ist zur regelrechten Akquisition der Spektren nicht nötig [51], und bringt den Vorteil, dass Störungen der Messergebnisse durch Druckischaemien ausgeschlossen sind. Dadurch wird es jedoch unmöglich, am lebenden, sich bewegenden Gewebe einen genau definierten Abstand einzuhalten. Der Abstand vom Lichtleiter zum Darm schwankt in dieser Studie zwischen ca. 100 und 300 μm .

Vom Abstand sind abhängig: die Erfassungstiefe (vgl. 7.1.4.1), die Erfassungsfläche (vgl. 7.1.4.2) und die gemessene Lichtintensität. Mit wachsendem Abstand nimmt die Erfassungsfläche auf Kosten der Erfassungstiefe zu. Die messbare Lichtintensität nimmt mit dem Quadrat des Abstandes ab. Der Abstand beeinflusst damit jede absolute quantitative Messung, wie sie z.B. für Bestimmung der relativen Hämoglobinkonzentration nötig ist (vgl. 7.1.5.2).

7.1.3.2 Passage des Lichtes außerhalb des Gewebes

Auf seinem Weg vom Lichtleiter zum Gewebe passiert das Licht - und das zurückgestreute Licht ebenfalls - die Spülflüssigkeit, die Plastikfolie, die ein Aufsättigen des Hämoglobins durch den Luftsauerstoff verhindern soll, und die Schleimschicht, die physiologischerweise auf dem Darm liegt. Alle genannten Stationen besitzen aber in etwa den gleichen Brechungsindex, so dass Brechungsphänomene an den jeweiligen optischen Übergängen in guter Näherung vernachlässigt werden können.

7.1.4 Erfassungsvolumen

7.1.4.1 Erfassungstiefe

Von größtem Interesse für die Interpretation der Messung mit dem EMPHO ist die Kenntnis der Erfassungstiefe, welche hier als diejenige Distanz definiert sein soll, aus der das Gerät noch Licht ausreichender Intensität zurück gestreut bekommt, um es zur Berechnung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins und der relativen Hämoglobinkonzentration zu verwerten. So macht es einen großen Unterschied, ob vom EMPHO nur die Zirkulation in den Kapillaren der Mukosa oder zusätzlich auch die der submukösen Arteriolen und Venolen erfasst wird.

Theoretisch ist der Weg, den das Licht im Gewebe zurücklegt, als Funktion von Streuung und Absorption zu beschreiben; unter Punkt 7.1.1 wurde aber bereits ausgeführt, weshalb die genaue Berechnung kaum möglich ist. Zudem ist die Erfassungstiefe keine konstante Größe, da sie von allen genannten physiologischen (vgl. 7.1.2) und technischen (vgl. 7.1.3) Variablen abhängig ist.

Literaturüberblick: In der Literatur finden sich verschiedenste Angaben (von 15 bis 750 μm !) zur Erfassungstiefe, die zum Teil auf experimentell gewonnenen Daten beruhen:

- Sato et al., die als Erste mit einem spektrometrischen Verfahren die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins an der Mukosa des Magens bestimmten, injizierten schwarze Tinte in verschiedenen Schichten der Intestinalwand von Ratten und kamen zu dem Ergebnis, dass das Erfassungsvolumen auf die Mukosa und zu einem kleinen Teil auf Gefäße in der Submukosa beschränkt sei [52]. Das von ihnen verwendete Spektrometer unterscheidet sich aber vom EMPHO unter anderem durch größere Lichtleiter.
- Hasibeder et al. beobachteten größere Unterschiede im Verhalten der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins an Serosa und Mukosa des Jejunums von Schweinen, woraus sie auf eine ausreichende örtliche Auflösung schlossen [13].
- Harrison et al. nehmen am Skelettmuskel eine Erfassungstiefe von 200 μm an [53].
- Frank et al. geben an, dass nach 15 μm die Intensität des eingestrahnten Lichtes auf $1/e$ abgenommen habe [54].
- Tauschek et al. gehen davon aus, dass die gemessenen Signale aus einer Tiefe von bis zu 250 μm stammen [17]. Sie berufen sich auf ein experimentell bestimmtes Verhältnis von eingestrahlttem Licht zu zurückgestreutem von 1 : 1000 und auf Frank [55], nach dem das nach vorwärts propagierende Licht in einer Mitochondriensuspension in einer Tiefe von 250 μm 50 % seiner Ausgangsintensität erreicht habe.
- Siedler bestimmt in seiner Dissertation in Darmhomogenaten ohne Hämoglobin eine Erfassungstiefe von 700 - 735 μm und im hämoglobinhaltigen Homogenat von 335 - 350 μm [24].

Es ist zu beachten, dass bis auf das Experiment von Sato et al. und die Beobachtung von Hasibeder et al. alle Versuche, das Erfassungsvolumen zu bestimmen an Homogenaten unternommen wurden, die nicht die Effekte der Schichtung im Gewebe berücksichtigen. Außerdem arbeiten Frank et al. heraus, dass die zurück

gestreute Lichtintensität stark von der Größe der Mitochondrien in der Suspension abhängt [55]; somit dürfte auch ein erheblicher Unterschied zwischen Mitochondriensuspensionen und dem Gewebe mit Streuern unterschiedlichster Größe bestehen.

Eindringtiefe in der vorliegenden Studie: Es ist plausibel anzunehmen, dass die von Siedler bestimmten Werte in Darmhomogenaten der Erfassungstiefe des EMPHO in der vorliegenden Studie am nächsten kommen. Für die weiteren Überlegungen wird deshalb der in hämoglobinhaltigen Darmhomogenaten gemessene Wert für die Erfassungstiefe von 335 - 350 μm als Grundlage genommen. Tatsächlich wird die Erfassungstiefe etwas niedriger sein, da kein direkter Kontakt des Lichtleiters mit dem Gewebe bestand (vgl. 7.1.3).

Gefäßarchitektur und effektive Eindringtiefe: Um zu wissen, welchen Abschnitt der Gefäßversorgung das EMPHO erfasst, muss man die Dicke der einzelnen Schichten des Darmes betrachten. Abbildung 7.1 zeigt den schematischen Aufbau der Gefäße in Mukosa und Submukosa [56], Abbildung 7.2 eine Rasterelektronenmikroskopaufnahme eines normalen Colons von Sprague-Dawley-Ratten im Längsschnitt [57].

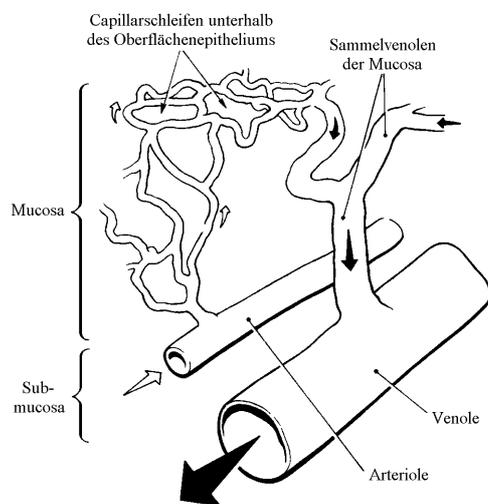


Abbildung 7.1: Schematische Darstellung der Gefäßarchitektur der Mukosa des Colons von Ratten nach [56].

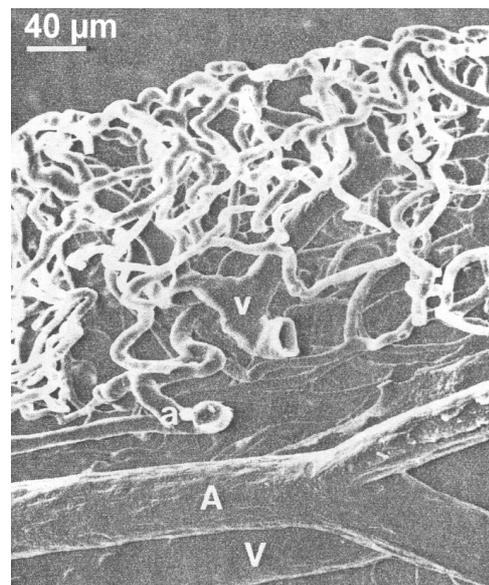


Abbildung 7.2: Normales Rattencolon im Längsschnitt. Aufnahme mit einem Rasterelektronenmikroskop eines Gefäßpräparates nach [57].

Das kapillare Netz der Mukosa hat dort eine Dicke von ca. 200 μm , Mukosa

und Submukosa zusammen etwa $360 \mu\text{m}$. Browning et al. geben in ihrer Studie eine Dicke des Kapillarnetzes in der Mukosa von $175 \mu\text{m}$ für die meisten Abschnitte des Colon von Porton-Ratten an [56].

Wenn die Mukosa des Rattendarmes also $175 - 200 \mu\text{m}$ dick ist und das EMPHO Strukturen aus einer Tiefe von bis zu etwa $300 \mu\text{m}$ erfasst, ist es nicht ausgeschlossen, dass die Messungen dieser Studie neben der Mikrozirkulation im Kapillarnetz der Mukosa auch einen Teil der Zirkulation in der Submukosa widerspiegeln.

Das Colon des Menschen ist sehr ähnlich wie das der Ratten aufgebaut, allerdings sind die einzelnen Schichten wesentlich dicker. Das kapillare Netzwerk des menschlichen Colons ist mit ca. $400 \mu\text{m}$ doppelt so dick wie das der Ratten (Abb. 7.3).

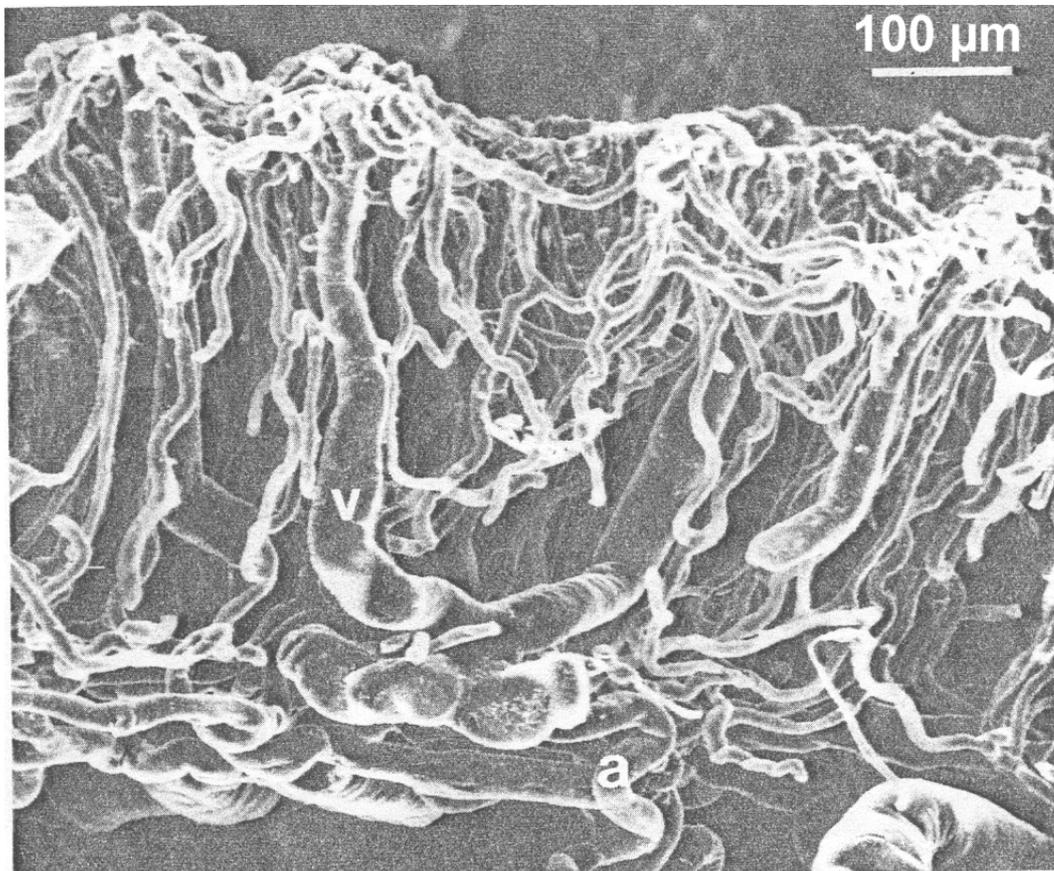


Abbildung 7.3: *Normales menschliches Colon im Längsschnitt. Aufnahme mit einem Rasterelektronenmikroskop eines Gefäßpräparates nach [57].*

Bei Messungen mit dem EMPHO am menschlichen Colon wird folglich ausschließlich die Zirkulation in der Mukosa erfasst.

In den oben gezeigten Abbildungen erkennt man aber auch, dass nur die Arteriolen sich in der Submukosa verzweigen, in die Venolen fließen die Kapillaren schon auf der luminalen Seite der Mukosa zusammen. Es kann also vorkommen, dass mit dem EMPHO das Messfeld direkt über einer solchen dränierenden Venole gewählt wird und so der Messwert nach venös verschoben wird. Es empfiehlt sich deshalb, statt an einem Punkt zu messen, systematisch eine bestimmte Fläche zu untersuchen; so könnten eventuell die Messfelder über den Venolen identifiziert werden, zumindest würde sich ihr Einfluss auf Werte der Sauerstoffsättigung des Hämoglobin relativieren. In der vorliegenden Studie war das Messfeld für das EMPHO allerdings durch die vorausgehende Messung mit der Intravitalmikroskopie vorgegeben, da zum Vergleich der beiden Methoden an identischer Stelle gemessen werden sollte. Zum Teil werden die gezeigten Messwerte also neben der Zirkulation der Arteriolen in der Submukosa auch die im Bereich um eine Venole widerspiegeln.

7.1.4.2 Erfassungsfläche

Das Erfassungsvolumen setzt sich aus Erfassungstiefe und -fläche zusammen. Letztere ist eine Funktion der numerischen Apertur der Lichtleiter und des Abstandes des Lichtleiters vom Gewebe. Der Effekt der Brechungsindizes von Lichtleiter, Gewebe und der Spülflüssigkeit, der streng genommen berücksichtigt werden müsste, kann vernachlässigt werden, da die genannten Medien „index-gemacht“ sind (vgl. 7.1.3). Die numerische Apertur der verwendeten Lichtleiter beträgt 0,5 für den Sendeleitler mit einem Durchmesser von $250 \mu\text{m}$ und 0,56 für die Empfangslichtleiter mit einem Durchmesser von $70 \mu\text{m}$. Bedingt durch die Anordnung der Empfangsfasern zirkulär um die Sendefaser, wird nur ein Teil (Abb. 7.4) des beleuchteten Kreises erfasst.

In Tabelle 7.1 ist die tatsächlich erfasste (in der Abbildung dunkel hinterlegte) Fläche für verschiedene Abstände der Lichtleiter vom Gewebe berechnet:

Abstand vom Gewebe (μm)	Fläche beleuchtetes Areal (mm^2)	Fläche tatsächlich erfasstes Areal (mm^2)	Verhältnis beleuchtetes zu erfasstem Areal
100	0,096	0,078	0,809
200	0,159	0,158	0,996
300	0,238	0,238	1
400	0,332	0,332	1

Tabelle 7.1: *Fläche des beleuchteten und des tatsächlich erfassten Areals in mm^2 und ihr Verhältnis zueinander in Abhängigkeit vom Abstand zum Gewebe. (ohne Berücksichtigung der Brechung)*

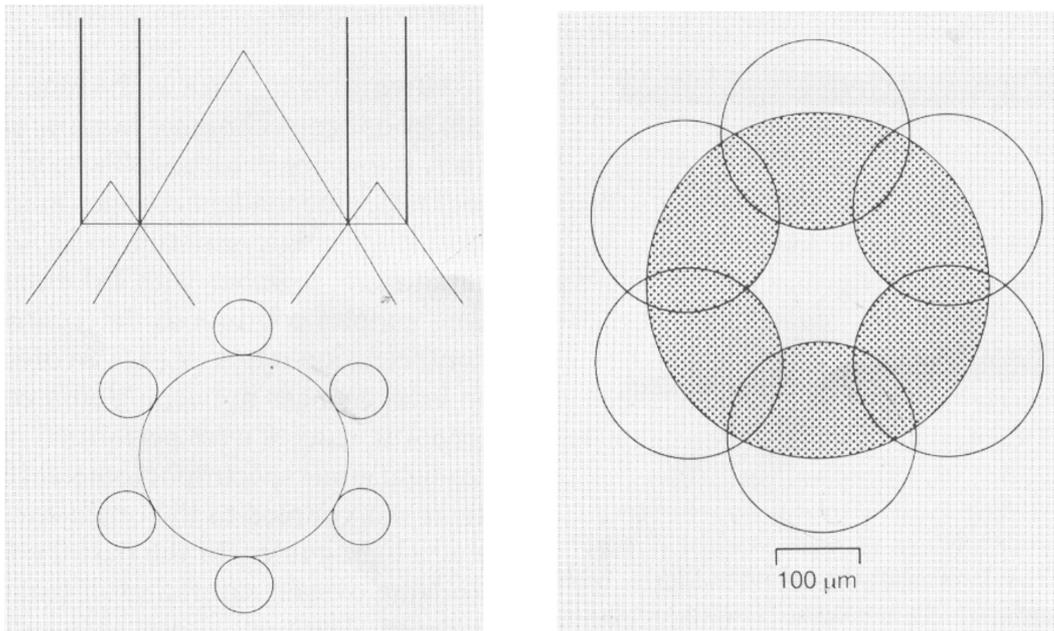


Abbildung 7.4: Schematische Darstellung der Anordnung der Lichtleiterfasern links (oben: Längsschnitt mit ihrer numerischen Apertur; unten: Querschnitt) und der von ihnen erfassten Fläche für einen Abstand der Lichtleiter vom Gewebe von $100\ \mu\text{m}$ rechts; der große innere Kreis stellt das beleuchtete Areal dar, die kleinen äußeren das von den Empfangsfasern erfasste. Die tatsächlich erfasste Fläche ist dunkel hinterlegt.

Nicht nur die Fläche, die tatsächlich erfasst wird, ändert sich mit dem Abstand vom Gewebe, sondern auch das Verhältnis von beleuchteter zu erfasster Fläche. Bei einem Abstand größer $200\ \mu\text{m}$ erfassen die Erfassungsfasern den gesamten beleuchteten Kreis. Die absolut erfasste Fläche bestimmt die örtliche Auflösung des EMPHO. Bei einem Abstand um $200\ \mu\text{m}$ stimmt sie sehr gut mit der mit der IVM untersuchten Fläche ($0,13\ \text{mm}^2$) überein. Das variable Verhältnis von beleuchtetem zu erfassstem Areal beeinflusst die gemessene Lichtintensität und somit die Berechnung der relativen Hämoglobinkonzentration (vgl. 7.1.5.2).

7.1.5 Messgrößen

7.1.5.1 Sauerstoffsättigung des Hämoglobins ($Hb_{\text{Sat}O_2}$)

Die Berechnung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins beruht auf dessen vom Oxigenierungszustand abhängigen Absorptionseigenschaften. Das Gerät analysiert die wellenlängenspezifische Lichtintensität.

Akkuratheit der akquirierten Spektren: Die Lichtleiter des EMPHO haben für die unterschiedlichen Wellenlängen unterschiedliche Übertragungseigenschaften. Um diesen Effekt zu korrigieren, wird vor jeder Messung ein Dunkelspektrum und ein Weißstandard über einer $BaSO_4$ -Oberfläche aufgezeichnet; das gemessene Gewebespektrum wird dann nach folgender Formel korrigiert [35]:

$$KS = \frac{DS - RS}{DS - BaSt} \quad (7.1)$$

mit *KS*: korrigiertes Spektrum

DS: Dunkelspektrum

RS: Rohspektrum des Gewebes

BaSt: Spektrum des $BaSO_4$ -Standards

Abbildung 7.5 zeigt die beiden Kalibrierungsspektren, das Rohspektrum und das korrigierte Spektrum:

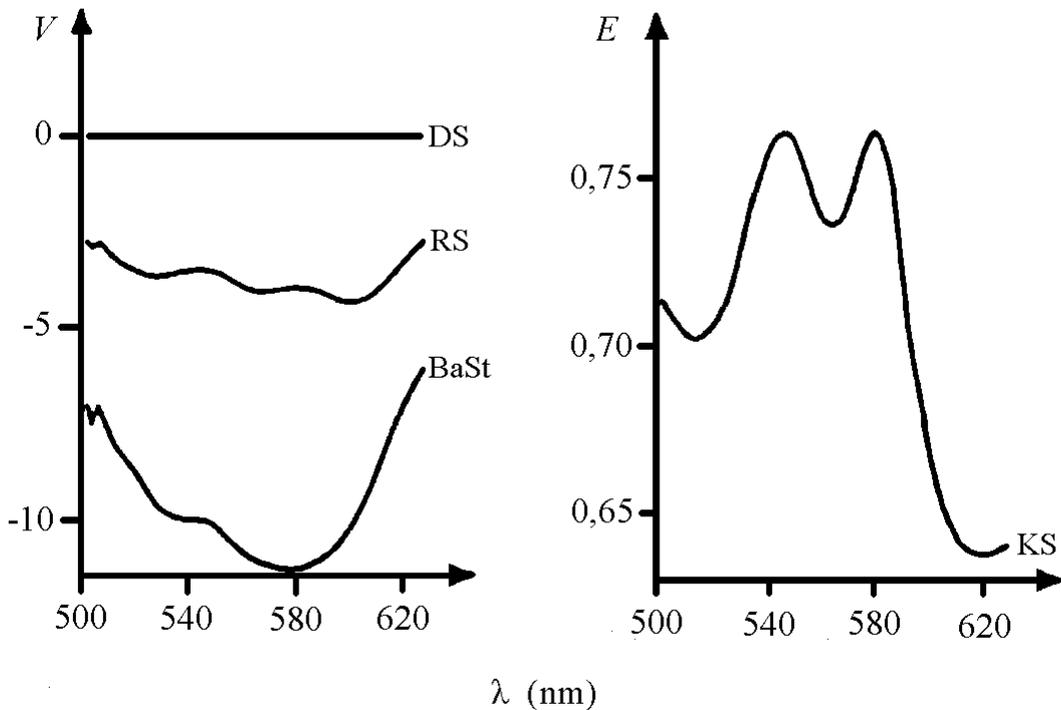


Abbildung 7.5: Illustration des Kalibrierungsvorganges nach [35]: Links ist das an menschlicher Haut gemessene Rohspektrum (*RS*), das vor der Messung bestimmte Dunkelspektrum (*DS*) und das über dem $BaSO_4$ -Standard gemessene Spektrum (*BaSt*), die Transmissionsfunktion des EMPHO, zu sehen. Rechts ist das nach Formel 7.1 korrigiert Spektrum (*KS*) gezeigt.

Die in vitro anhand von wässrigen Hämoglobinlösungen gemessenen und auf

oben genannte Weise korrigierten Absorptionsspektren von vollständig oxigeniertem und vollständig deoxigeniertem Hämoglobin stimmen äußerst gut mit den aus der Literatur [58] bekannten Werten überein [36]. In Tabelle 7.2 sind vergleichend einige Werte zusammengefasst, die in vitro ohne Streuer bestimmt sind.

	EMPHO (Dümmeler 1988)	Referenzwert (Assendelft 1970)
Isosbestische Wellenlängen (nm)	507 ± 1	506,5
	522 ± 1	522,0
	549 ± 1	548,0
	570 ± 1	569,0
	586 ± 1	586,0
Maxima des Spektrums von vollst. oxigeniertem Hämoglobin (nm)	542 ± 1	542,0
	577 ± 1	577,0
Maximum des Spektrums von deoxigeniertem Hämoglobin (nm)	556 ± 1	555,0

Tabelle 7.2: Die mit dem EMPHO gemessenen isosbestischen Wellenlängen und Maxima von vollständig oxigeniertem und deoxigeniertem Hämoglobin im Vergleich mit den von Assendelft angegebenen Referenzwerten nach [36].

Einfluss der Streuphänomene auf die Messgröße: Im Gewebe werden die Lichtintensitäten nicht nur von den Absorptionseigenschaften des Hämoglobins sondern auch durch die wellenlängenabhängigen Streuphänomene (vgl. 7.1.1.1(b)) beeinflusst. Das EMPHO berücksichtigt dies durch einen von Dümmeler [36] entwickelten Korrekturalgorithmus, der nach der Theorie von Kubelka und Munk [37] das Verhältnis von wellenlängenabhängiger Absorption und wellenlängenabhängiger Streuung beschreibt.

Harrison et al. prüften in einer Arbeit mit einem vergleichbaren Gerät die Akkuratheit dieser Methode in vitro an einem einfachen Streuungsmodell (Blut mit $BaSO_4$ -Teilchen als Streuer) und in vivo an der Haut des volaren Unterarmes von Probanden [59]. Sie fanden leicht verschobene Werte für die isosbestischen Wellenlängen (vgl. 7.1.1.1(d)) und eine hohe Zuverlässigkeit der Werte für die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins über die gesamte Breite von deoxigeniertem Hämoglobin ($Hb_{Sat}O_2 = 0\%$) bis zu vollständig oxigeniertem ($Hb_{Sat}O_2 = 100\%$), unabhängig von der Konzentration der Streuer. Obwohl zwar absolute quantitative spektrometrische Messungen im Gewebe kaum zuverlässig möglich sind, kann die Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins so genau erfolgen, denn hierfür müssen die zurückgestreuten *Lichtintensitäten nicht absolut quantifiziert* werden. Die Methode kann *nicht* die *absolute Konzentration* an oxigeniertem und

deoxigeniertem Hämoglobin angeben, sie bestimmt aber das *Verhältnis* von oxigeniertem zu deoxigeniertem Hämoglobin sehr exakt. Selbst für die Erstellung eines einzelnen Absorptionsspektrums ist die Kenntnis der Lichtintensitäten der einzelnen Wellenlängen relativ zueinander ausreichend.

Interpretation der Messgröße: Die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins ist abhängig vom „Angebot“, der Menge an antransportiertem Sauerstoff, und der „Nachfrage“, dem Verbrauch der Zellen. Aber sie beziffert nicht die absolute, dem Gewebe zur Verfügung stehende Menge an Sauerstoff. Es wäre der extreme Fall denkbar, dass kein Sauerstoff von den Zellen verbraucht würde, sich eine vernachlässigbar kleine Menge an Hämoglobin in den Kapillaren befände, welches aber zu 100% mit Sauerstoff gesättigt sein soll. Die absolute Sauerstoffmenge wäre dann vernachlässigbar klein, die gemessene Sauerstoffsättigung korrekterweise trotzdem 100%.

Zusammenfassende Beurteilung: Mit dem EMPHO ist die Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins unabhängig von allen genannten physiologischen und technischen Variablen (vgl. 7.1.2 und 7.1.3) exakt möglich. Das gilt, solange sich die Gefäßarchitektur des erfassten Volumens während des Messvorgangs nicht ändert (vgl. 7.1.4). Die $Hb_{Sat}O_2$ ist somit ein „harter“ - d.h. ein durch störende Faktoren kaum beeinflussbarer - Parameter und leicht und zuverlässig zu akquirieren.

7.1.5.2 Relative Hämoglobinkonzentration (rel. [Hb])

Berechnung der Messgröße: Zur Berechnung der relativen Hämoglobinkonzentration werden die isobestischen Punkte herangezogen; an diesen ist die zurückgestreute Lichtintensität unabhängig vom Oxigenierungszustand des Hämoglobins. Das ist für fünf Wellenlängen der Fall (siehe Tabelle 7.2, S. 77). Graphisch dargestellt sind das die Schnittpunkte der beiden Kurven für das Spektrum von oxigeniertem bzw. deoxigeniertem Hämoglobin (Abb. 1.5, S. 12). An diesen Punkten ist für eine reine Hämoglobinlösung ohne Streuer die transmittierte Lichtintensität gemäß dem Lambert-Beerschen Gesetzes von Schichtdicke und Konzentration des Absorbens abhängig (vgl. [60]):

$$E = d \times \epsilon \times C \quad (7.2)$$

mit E : Extinktion d : Schichtdicke ϵ : Extinktionskoeffizient C : Konzentration

Hierüber kann die Konzentration des Farbstoffes ermittelt werden.

Bei der spektrometrischen Messung im lebenden Gewebe ist die Schichtdicke allerdings nicht exakt definiert. Deshalb kann aus dem vom EMPHO gemessenen

absoluten Wert der Lichtintensität nicht quantitativ die Hämoglobinkonzentration errechnet werden. Nimmt man aber an, die Schichtdicke bleibt im zeitlichen Verlauf einer Messung konstant, können Veränderungen der Hämoglobinkonzentration nachgewiesen werden. Hierzu wird ein vom Benutzer definierter Wert vom EMPHO gleich 1 gesetzt; im Folgenden wird eine relative Hämoglobinkonzentration im Verhältnis zu diesem ersten Wert angegeben.

Einfluss der Streuphänomene auf die Messgröße: Auch wenn das Gerät die Hämoglobinkonzentration als relativen Wert angibt, muss hierfür die absolute Extinktion gemessen werden, d.h. die absolute Lichtintensität an den isosbestischen Punkten fließt in die Berechnung ein. Damit wird diese Größe in vielfältiger Weise von den im Gewebe variablen Streuphänomenen beeinflusst. Zum einen werden die isosbestischen Punkte der Absorptionsspektren durch Streuung leicht verschoben (vgl. 7.1.1.1(d)), zum anderen hängt die zurückgestreute Lichtintensität stark vom Erfassungsvolumen ab, welches von physiologischen und technischen Variablen (vgl. 7.1.2, 7.1.3 und 7.1.4.2, Tab. 7.1) beeinflusst wird.

Außerdem wird von einer linearen Beziehung zwischen gemessener Lichtintensität und Hämoglobinkonzentration ausgegangen. Dies gilt bei Messungen im Gewebe allerdings nicht exakt, da die Hämoglobinkonzentration die Streuung und damit die zurückgestreute Lichtintensität beeinflusst (vgl. 7.1.2). Harrison et al. finden auch experimentell eine lineare Beziehung nur für ein begrenztes Intervall der Hämoglobinkonzentration, welches von der Konzentration der Streuer abhängig ist [59]. Unter physiologischen Bedingung liegt die Hämoglobinkonzentration allerdings in diesem Bereich.

Interpretation der Messgröße: Die spektrometrisch bestimmte relative Hämoglobinkonzentration ist von mehreren physikalischen und physiologischen Faktoren abhängig; sie ist nicht wie die aus einer Blutprobe ermittelte Hämoglobinkonzentration zu interpretieren. Eine spektrometrisch höhere Hämoglobinkonzentration im Gewebe kann unter anderem auf ein dichteres Kapillarnetz, einen größeren Gefäßdurchmesser, einen höheren Blutfluss oder eine größere intravasale Hämoglobinkonzentration zurückzuführen sein [17].

Zusammenfassende Beurteilung: Wenngleich die relative Hämoglobinkonzentration ein „weicher“ - d.h. ein durch störende Faktoren leicht beeinflussbarer Messparameter ist, ist es interessant, ihn zur Interpretation der Sauerstoffversorgung des Gewebes zusammen mit der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins heranzuziehen. Als Parameter, der vasale Faktoren widerspiegelt, macht er beispielsweise eine Unterscheidung zwischen Ischaemie mit und ohne Kongestion möglich. Allerdings sind Aussagen nur im zeitlichen Verlauf an einem Messfeld möglich, vorausgesetzt die physiologischen und technischen Variablen bleiben in diesem Zeitraum konstant. Interindividuelle Vergleiche oder intraindividuelle an

verschiedenen Messfeldern sind problematisch. Innerhalb eines Messfeldes sind nichtsdestoweniger sehr interessante Tendenzen zu beobachten.

7.1.6 Nachteile der Methode

- Das EMPHO kann nur indirekt Auskunft über den Blutfluss in den Kapillaren geben, dieser kann nicht direkt visualisiert und quantifiziert werden, wie mittels der Intravitalmikroskopie.
- Die relative Hämoglobinkonzentration, die als Ausdruck vasaler Faktoren für indirekte Aussagen bezüglich des Blutflusses sehr hilfreich ist, ist ein „weicher“ Messparameter. Er ist mit Vorsicht zu interpretieren und nur innerhalb einer Messung verwertbar.

7.1.7 Vorteile der Methode

Praktische Anwendung:

- Das Gerät ist einfach handzuhaben, ein hoher Automatisierungsgrad der Messung gewährleistet eine große Unabhängigkeit vom Untersucher. Die Messungen sind gut reproduzierbar (vgl. auch [61, 16, 10, 21]).
- Es ist kein direkter Kontakt mit dem Gewebe notwendig, dadurch sind Artefakte durch Druckischaemien ausgeschlossen, was insbesondere bei sehr empfindlichen Organen wie Gehirn oder Darm eine große Rolle spielt [17].
- Die Methode arbeitet non-invasiv, das Gewebe wird nicht geschädigt, somit kann ein Monitoring über einen längeren Zeitraum durchgeführt werden.
- Das flexible Lichtleiterkabel erlaubt Messungen auch an bewegten Organen, wie etwa am Herzen [62, 14].

Räumliche und zeitliche Auflösung:

- Gegenüber älteren Gewebsspektrometern zeichnet sich das EMPHO neben dem flexiblen Lichtleiter durch sein kleines Erfassungsvolumen aus. Durch eine kleine Erfassungstiefe wird in den meisten Fällen die gewünschte Beschränkung auf das kapillare Netz erreicht und die kleine Erfassungsfläche bietet zusätzlich eine hohe räumliche Auflösung.
- Die schnelle Aufzeichnung der einzelnen Spektren (100/sec) und die prompte Reaktion der Messparameter auf Veränderungen erlauben gleichzeitig eine hohe zeitliche Auflösung.

Somit ist es möglich, Unterschiede sowohl in kleinsten räumlichen als auch zeitlichen Abständen zu erfassen; ein räumliches und zeitliches Mapping mit höchster Auflösung ist durchführbar.

Informationsbreite und weitere Einsatzmöglichkeiten

Neben der einfachen Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins und der relativen Hämoglobinkonzentration können mit dem EMPHO noch auf andere Weise Informationen über den Blutfluss in den Kapillaren und den Sauerstoffaustausch im Gewebe gewonnen werden:

- Es kann abgeschätzt werden, wie schnell der Sauerstoff vom Hämoglobin an das Gewebe abgegeben wird. Dazu wird die Geschwindigkeit analysiert, mit der die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins abfällt, nachdem die Zirkulation und damit die Sauerstoffzufuhr gestoppt wurde [63].
- Im Gegensatz zu anderen Methoden, wie z.B. der polarographischen Sonde, ist mittels der relativen Hämoglobinkonzentration eine Differenzierung zwischen Ischaemie mit und ohne Kongestion möglich [59].

Das EMPHO kann auch andere Farbstoffe außer dem Hämoglobin im Gewebe detektieren:

- Es kann auf das Volumen rückgeschlossen werden, das pro Zeiteinheit durch das Kapillarbett fließt, indem die Geschwindigkeit bestimmt wird, mit der ein injizierter Farbstoff ausgewaschen wird [53, 63].
- Diverse Pigmente und ihre sauerstoffabhängigen Veränderungen können mit Filterscheiben, die andere Wellenlängenfenster besitzen, studiert werden (Zum Beispiel Cytochrom aa3 mit einem Absorptionsmaximum im reduzierten Zustand bei 605 nm [47])

Einsatzbarkeit am Patienten

Der Hauptvorteil des EMPHO gegenüber der Intravitalmikroskopie ist seine Einsatzbarkeit am Patienten sowohl endoskopisch [25], als auch intraoperativ [17, 64, 16]: Die Probleme der Übertragbarkeit der gewonnenen Ergebnisse aus dem Tiermodell entfallen. Es entstehen keine Artefakte durch aufwendige Präparation, wie sie für die Intravitalmikroskopie notwendig ist.

7.1.8 Zusammenfassung

Das EMPHO ist vielseitig und flexibel einsetzbar. Die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins ist genau und zuverlässig bestimmbar. Die relative Hämoglobinkonzentration sollte als „weicher“ Messparameter nur für Einzelbeobachtungen

verwendet werden. Das Erfassungsvolumen kann nicht genau angegeben werden und ist variabel. In den meisten Fällen beschränkt es sich aber, wie gewünscht, auf die Erfassung des Kapillarbettes.

7.2 Intravitalmikroskopie (IVM)

7.2.1 Besonderheiten bei der Präparation des Colons

In unserer Arbeitsgruppe ist die Intravitalmikroskopie an Pankreas, Colon, Leber und Lunge etabliert [4, 5, 6, 7, 8, 9], wobei die Präparation, die zur Visualisierung der Mikrozirkulation nötig ist, für jedes Organ unterschiedliche Anforderungen stellt. Die Ergebnisse der Intravitalmikroskopie haben deshalb nicht für jedes Organ die gleiche Genauigkeit. Insbesondere am Colon birgt die Präparation Fehlerquellen, von denen mehrere Autoren berichten [65, 66, 67, 22]:

Unter physiologischen Bedingungen *in situ* bewegt sich das Colon erstens wegen der Übertragung der Atemexkursionen und zweitens wegen der eigenen Peristaltik. Die einzelnen Tiere zeigen dabei eine sehr unterschiedliche Darmmotilität. Um ein auswertbares Videobild zu erhalten müssen diese Bewegungen auf ein Minimum reduziert werden. Dies geschieht, indem der zu untersuchende Darmabschnitt mit Hilfe von Haltefäden über einen Plastiksteg exponiert und fixiert wird. Die Atemexkursionen können so recht gut kontrolliert werden, doch die Peristaltik des Darmes kann erst durch deutlich stärkeres Anspannen der Haltefäden beeinflusst werden. Die Haltefäden dienen außerdem dazu, die Fältelung des Colons aufzuspannen und eine annähernd plane Fläche zu erhalten, auf die fokussiert werden kann. Diese Präparation des Darmes beeinflusst den Blutfluss nicht unerheblich. Wird das Colon zu weit nach außen gelagert, und bei zu starker Anspannung der Haltefäden werden zu niedrige Werte für den kapillaren Blutfluss gemessen. Die Position des Darmes und die Spannung der Haltefäden sind nicht vollkommen standardisierbar. Vergleichbare Versuchsbedingungen sind aber gewährleistet, sofern der Untersucher wie in dieser Studie nicht wechselt. Außerdem wurden als Haltefäden bei der Präparation für diese Arbeit 8-0 Mikrofäden verwendet, die bei zu starkem Anspannen reißen.

Soll an der Serosa des Colons gemessen werden, erschwert der unter pathologischen Zuständen häufig auftretende Ileus die Messung erheblich. Am prall mit Faeces gefüllten Colon kann keine ausreichend plane Fläche zum Fokussieren gefunden werden. Außerdem wird die derart gespannte Darmwand durchscheinend, so dass bei der Auflichtmikroskopie keine genaue Auswertung möglich ist [67].

Die Mukosa ist für die Intravitalmikroskopie nur zugänglich, wenn der Darm eröffnet wird. Wie sehr dieses chirurgische Trauma den Blutfluss beeinflusst, muss offen bleiben. Weiterhin erschwert an der Mukosa des Colons der physiologischerweise produzierte Schleim die Messung. Der Mukus ist nicht völlig durchsichtig und „verdeckt“ somit das Kapillarbett, so dass bei hoher Schleimproduktion die markierten Erythrozyten und vor allem auch die Kapillaren kaum noch erkennbar sind.

Jede mechanische Reizung der Schleimhaut, auch das Wegwischen von Schleim und Blut, erhöht den Blutfluss für etwa 30 *min* [65].

Die genannten Schwierigkeiten treten in den verschiedenen Versuchsgruppen



Abbildung 7.6: *Typisches Beispiel eines Videobildes in der Gruppe Gefäßclamping. Die einzelnen Kapillaren und Erythrozyten sind klar erkennbar, da kein Mukus das Kapillarbett verdeckt. Die bienenwabenartige Anordnung der Krypten ist gut zu sehen.*

dieser Studie in unterschiedlicher Ausprägung auf. In der Gruppe Colitis ist die Mukosa durch das entzündliche Gewebsödem so aufgetrieben, dass die physiologische Fältelung des Rattencolons, die sonst das Fokussieren erschwert, aufgehoben ist. Außerdem zeigt das entzündete Colon keine Peristaltik mehr, das Mikroskopbild ist also deutlich ruhiger, als in der Kontrollgruppe.

Die Menge an Mukus, der das Kapillarbett verdeckt, ist in den einzelnen Gruppen verschieden. Je gesünder der Darm ist, desto mehr Mukus produziert er. In der Kontrollgruppe ist es fast nicht möglich, während einer Minute ein Bild aufzuzeichnen, auf dem Kapillaren und markierte Erythrozyten bis zum Ende erkennbar sind, da die Mukosa trotz sorgfältiger Reinigung nach kurzer Zeit wieder von Schleim bedeckt ist. Auch in den Gruppen Hypovolämie und Hypoxie beeinträchtigt der Mukus erheblich die Qualität des Bildes. Dagegen produziert die Schleimhaut des Darmes unter Abklemmen der zuführenden Gefäße deutlich weniger und die unter starker Colitis quasi keinen Schleim mehr.

Die Abbildungen 7.6 - 7.8 zeigen die Unterschiede des aufgezeichneten Video-

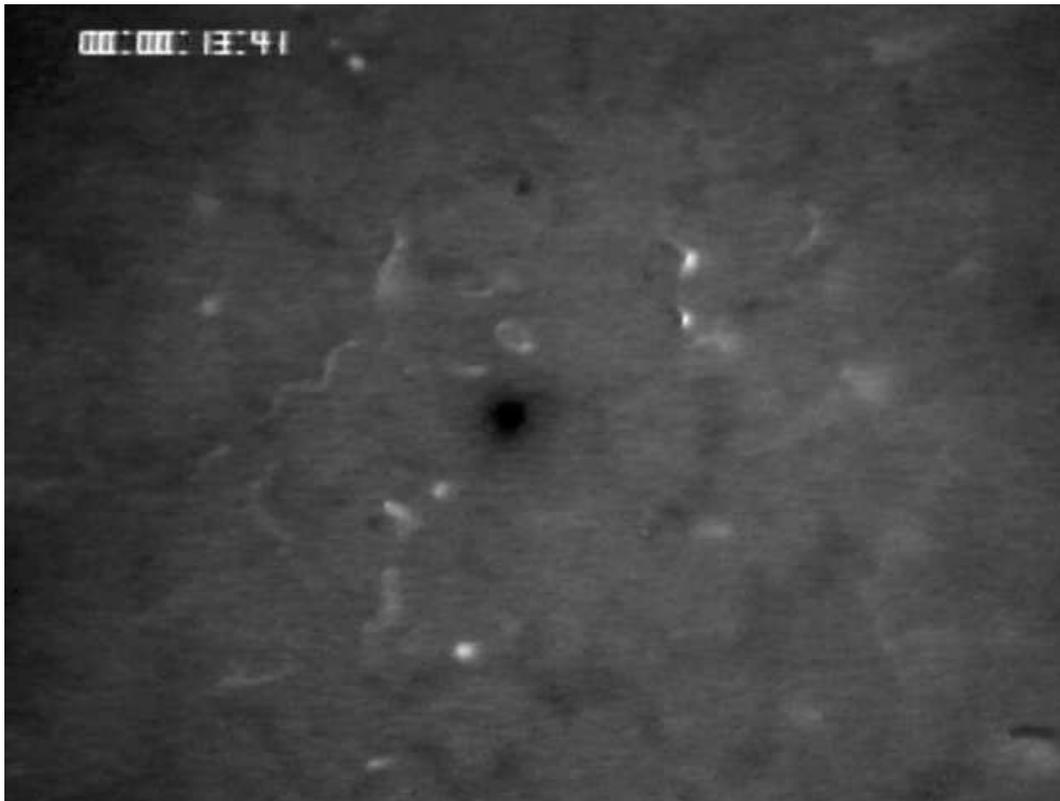


Abbildung 7.7: *Typisches Beispiel eines Videobildes in der Kontrollgruppe. Die einzelnen Kapillaren nur zu erahnen, da Mukus das Kapillarbett verdeckt. Viele Erythrozyten bewegen sich so schnell, dass sie auch im Standbild nur als Lichtblitze erscheinen.*

bildes in den Gruppen Gefäßclamping, Kontrolle und Colitis.

7.2.2 Eigenschaften der FITC-markierten Erythrozyten

Quantitative volumetrische Messungen des Blutflusses werden durch die intrazelluläre Markierung der Erythrozyten möglich. Dabei wird davon ausgegangen, dass die markierten Erythrozyten ansonsten die gleichen Eigenschaften wie normale Erythrozyten besitzen. Butcher et al. beschrieben die in dieser Studie angewandte Methode der Färbung mit FITC als erste; sie bestätigten eine unveränderte Lebensdauer der gefärbten Zellen und wiesen außerdem darauf hin, dass FITC-gefärbte Zellen keinen Farbstoff an ungefärbte Zellen abgeben [27].

Sarelius et al. setzten diese Färbemethode erstmals zur volumetrischen Bestimmung des Blutflusses ein und bestätigten normale rheologische Eigenschaften von FITC-markierten Erythrozyten. Sie haben eine normale bikonvexe Form, ein normales MCV und seien in allen Gefäßgrößen gleichmäßig verteilt. Nachdem in den ersten 15 min. nach der Injektion der Anteil der markierten Zellen rasch



Abbildung 7.8: *Typisches Beispiel eines Videobildes in der Gruppe Colitis. Die einzelnen Kapillaren und Erythrozyten sind klar erkennbar, da kein Mukus das Kapillarbett verdeckt. Die Krypten sind durch das Gewebsödem aufgetrieben und vergrößert.*

abgefallen sei, bleibe dieser Anteil anschließend während eines Beobachtungszeitraumes von 3 h äußerst stabil. [28]

Mithöfer et al. machten eine ähnliche Beobachtung, konnten aber zeigen, dass der Anteil an markierten Zellen sogar während 12 h nahezu gleich bleibe. Die anfangs rasche Verringerung wurde durch den Filtermechanismus der Milz erklärt, die die durch den Färbeprozess beschädigten Zellen zurückhalte [68, 28]. Allerdings seien die FITC-markierten Erythrozyten fragiler und lichtempfindlicher. Nach 24 h Aufbewahrung im Kühlen agglutinieren sie häufiger als normale Erythrozyten. [29]

In dieser Studie konnte beobachtet werden, dass einzelne fluoreszierende Erythrozyten im Kapillarnetz eine Weile hängen zu bleiben scheinen, bevor sie wieder normal weiter fließen. Ein Phänomen, das auch schon Tsang et al. [69] beschrieb. Insgesamt kann man davon ausgehen, dass die FITC-markierten Erythrozyten die normalen Flusseigenschaften so gut repräsentieren, dass anhand ihrer Beobachtung verlässliche Aussagen über den Blutfluss gemacht werden können und auch

quantitative Berechnungen möglich sind, sofern der Beobachtungszeitraum nicht zu lange wird und eine Stabilisierungsphase von mindestens 15 *min* abgewartet wird.

7.2.3 Einfluss phototoxischer Effekte

Die Frage, ob fluoreszierende Farbstoffe und/oder ihre Anregung durch Licht toxische Effekte auf die Mikrozirkulation haben, wird kontrovers diskutiert. Einige Autoren konnten keine Auswirkungen auf die Mikrozirkulation erkennen [70, 71, 72], andere fanden unterschiedliche unerwünschte Effekte: Aktivierung von Thrombozyten [73, 74], Thrombenbildung [75, 76, 77, 78, 74], Schädigung von Endothelzellen [79], Leukozytenaggregation und -bindung an Arteriolen und Venolen [80] und eine Erhöhung der Kapillarpermeabilität [81, 74]. Die genauen Schädigungsmechanismen wurden nicht identifiziert, möglicherweise spielt die Entstehung von Singulett-Sauerstoff [82] und Sauerstoffradikalen [83] eine Rolle.

In den genannten Studien wurde der Fluoreszenzfarbstoff direkt oder an Makromoleküle gebunden injiziert. In der vorliegenden Arbeit dagegen war das Fluoreszeinisothiozyanat an intrazelluläre Bestandteile der Erythrozyten gekoppelt. Erstens wird dadurch die Menge an Fluoreszenzfarbstoff deutlich geringer, da nur ein kleiner Anteil (1 – 2%) der Erythrozyten gefärbt sind, und zweitens treten eventuell toxische Metaboliten nicht direkt mit dem Endothel in Kontakt. Reaktive Sauerstoffmetaboliten werden möglicherweise sogar von den Antioxidationsmechanismen der Erythrozyten abgefangen [84].

Außerdem hängt das Ausmaß der toxischen Effekte von der Expositionsdauer und der Lichtintensität ab [81, 74]. In den im ersten Absatz genannten Studien treten die ersten Schäden nach 10 *min* auf. Die Expositionsdauer in der vorliegenden Arbeit ist mit 1 *min* deutlich geringer; die durch unser Intravitalmikroskop erzeugte Lichtintensität am beobachteten Darmabschnitt ist nicht bekannt.

Aus den oben genannten Gründen ist es plausibel, wenn Mithöfer et al. annehmen, dass bei ihrer Methodik der Intravitalmikroskopie - die der in dieser Studie verwendeten entspricht - keine phototoxischen Effekte auftreten [29].

Diese Annahme ist noch nicht experimentell bestätigt. In dieser Studie wurden in der Gruppe Colitis Beobachtungen gemacht, die vermuten lassen, dass diese Annahme in vorgeschädigtem Gewebe nicht uneingeschränkt gilt (vgl. 8.2.1.4, S. 109). Gerade entzündlich verändertes Gewebe, wie der Darm bei Colitis, reagiert möglicherweise wesentlich empfindlicher, ähneln doch die beschriebenen phototoxischen Effekte einer unspezifischen Entzündungsreaktion.

7.2.4 Messgrößen

7.2.4.1 Der kapillare Blutfluss am Colon, CBF (nl/min)

In Teil I dieser Arbeit wurde bereits die Formel zur Berechnung des kapillaren Blutflusses (CBF) besprochen (s. S. 7):

$$CBF = \frac{f_{FITC}}{n_{FITC}/Hkt_{sys}(t_n) \times Hkt_{sys}(t_f) \times 0,76} \quad (7.3)$$

CBF: kapillarer Blutfluss [nl/min]

f_{FITC}: Frequenz der passierenden markierten Erythrozyten [$Zellen/min$]

n_{FITC}: Konzentration der markierten Erythrozyten [$Zellen/nl$]

Hkt_{sys}: systemischer Hämatokrit

t_n: Zeitpunkt der Bestimmung von *n_{FITC}*

t_f: Zeitpunkt der Bestimmung von *f_{FITC}*

Die berechneten Werte für den CBF in nl/min hängen also von der Exaktheit der experimentell bestimmten Werte für *f_{FITC}* und *n_{FITC}* ab. Deshalb sollen im Folgenden *f_{FITC}* und *n_{FITC}* einzeln besprochen werden:

Frequenz der passierenden markierten Erythrozyten (*f_{FITC}*): Die Anzahl der pro Zeit passierenden markierten Erythrozyten [$Zellen/min$] wird an jedem Messfeld ermittelt, indem ein Beobachter zunächst ein geeignetes Messfeld mit dem Intravitalmikroskop auswählt, den Blutfluss während einer Minute auf Video aufzeichnet und anschließend ein Beobachter auf diesem Video in 20 zufällig ausgewählten Kapillaren die während einer Minute passierenden markierten Erythrozyten zählt.

Abhängigkeit vom Untersucher: An mindestens zwei Punkten der Messung besteht die Gefahr einer subjektiven Beeinflussung des Wertes von *f_{FITC}* durch den Untersucher:

1. *Auswahl des Messfeldes:* Die genaue Einstellung des Messfeldes geschieht, nachdem bereits fokussiert wurde. Der Beobachter betrachtet also bereits den kapillaren Blutfluss. Dies ist nötig, um eine Stelle am exponierten Darm zu finden, die ausreichend plan ist, um genügend Kapillaren gleichzeitig fokussieren zu können. Der Beobachter kann dazu tendieren, Messfelder zu favorisieren, die seine Hypothese zu stützen scheinen. Im Idealfall sollte er also die Gruppenzugehörigkeit des Versuchstieres nicht kennen. Auf jeden Fall liegt es aber im subjektiven Ermessen des Beobachters, welche Messfelder er für geeignet hält.
2. *Auswahl der ausgewerteten Kapillaren:* Auch bei der Auswahl der Kapillaren, in denen die passierenden Erythrozyten gezählt werden, kann der

Beobachter dazu tendieren, Kapillaren zu favorisieren, die die aufgestellte Hypothese zu stützen scheinen. Deshalb sollte vor allem hier der Untersucher die Videobilder in Unkenntnis der Gruppenzugehörigkeit auswerten. Doch auch dann beeinflusst der Beobachter den Messwert an dieser Stelle möglicherweise durch subjektive Vorlieben für Kapillaren mit hohem oder niedrigem Fluss.

Außerdem hängt die Genauigkeit des Messwertes davon ab, wie genau der Beobachter die markierten Erythrozyten zählen kann. Dies ist von Beobachter zu Beobachter unterschiedlich und hängt auch von dessen Konzentration ab. Deshalb erfolgt die Auswertung meist mit Hilfe eines Computerprogrammes (Cap-Image [85]). Am Colon kann dieses allerdings nicht eingesetzt werden, da die aufgezeichneten Bilder zu bewegt sind (vgl. 7.2.1).

Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit: Die Genauigkeit von f_{FITC} hängt selbstverständlich von der Qualität des aufgezeichneten Mikroskopbildes ab. Unter 7.2.1 wurde bereits näher darauf eingegangen, dass die Qualität des Bildes in den verschiedenen Versuchsgruppen sehr unterschiedlich ist. Am ungenauesten werden die Messwerte in der Kontrollgruppe, weil viel Mukus das Kapillarbett verdeckt und gleichzeitig das Bild durch die Peristaltik verwackelt ist. Da häufig die Kapillaren als solches gar nicht zu sehen sind, sondern nur die markierten Erythrozyten, die in einer Reihe hintereinander fließen, werden Kapillaren mit sehr niedrigem Blutfluss möglicherweise gar nicht erkannt.

Neben der Qualität des aufgezeichneten Videobildes ist die Exaktheit von f_{FITC} auch wesentlich von der Geschwindigkeit und von der Anzahl der passierenden markierten Erythrozyten abhängig: Je schneller die Zellen passieren, desto schwieriger wird es, einzelne Zellen von einander zu unterscheiden und tatsächlich jede vorbei fließende Zelle zu erfassen. Im Extremfall ist die Flussgeschwindigkeit so hoch, dass anstatt einzelner fluoreszierender Punkte der Eindruck eines fluoreszierenden Streifens entsteht (s. Abb. 7.7 S. 85). Dieses Problem wurde auch schon von anderen Autoren beschrieben [28, 69]. Je größer die Anzahl der passierenden markierten Erythrozyten - also f_{FITC} - wird, desto mehr Fehler werden beim Zählen gemacht. Das menschliche Reaktionsvermögen findet seine Grenzen bei etwa 200 *Zellen/min*. Fehler treten bei etwa 70 - 80 *Zellen/min* erstmals auf. Mithöfer et al. zeigten dies überzeugend in einer Tabelle, in der sie die Summe von f_{FITC} in zwei Gefäßästen gegen f_{FITC} im Stammgefäß dieser beiden Äste kontrollierten [29].

Am Colon ist der Blutfluss im Normalzustand wesentlich höher als beispielsweise am Pankreas [67]. In der Kontrollgruppe liegt f_{FITC} bei einem Großteil der Kapillaren bereits in dem gerade noch erfassbaren Bereich nahe 200 *Zellen/min*. Die Werte in der Kontrollgruppe sind also ungenauer als beispielsweise in der Gruppe Gefäßclamping, in der f_{FITC} im Mittel bei 27 *Zellen/min* liegt. Effekte, die den kapillaren Blutfluss eventuell im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhen, sind schwer erfassbar.

Zusammenfassung: Mehrere Faktoren lassen f_{FITC} ungenau werden. Das gilt insbesondere für hohe Werte von f_{FITC} . Denn bei diesen summieren sich die Fehlerquellen durch die Abhängigkeit vom Untersucher mit denen, die durch die Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit auftreten.

Konzentration der FITC-markierten Erythrozyten (n_{FITC}): In dieser Studie wurde die Konzentration der FITC-markierten Erythrozyten (n_{FITC} [Zellen/nl]) einmalig in einer arteriellen Blutprobe bestimmt. Diese wurde am Ende des gesamten Messvorganges, d.h. nach Abschluß der drei Messungen mit dem Intravitalmikroskop und der drei Messungen mit dem EMPHO, entnommen, und n_{FITC} wurde in 50 Feldern einer Neubauer-Zählkammer ausgezählt.

Abhängigkeit vom Untersucher: Im Prinzip gilt auch hier, dass im Idealfall der Beobachter, der n_{FITC} bestimmt, die Gruppenzugehörigkeit der Probe nicht kennt. Da aber die Qualität des mikroskopischen Bildes hier kein Problem darstellt und gleichbleibend gut ist, es sich außerdem um ein statisches Bild handelt, ist der Spielraum für unbewusste Beeinflussung des Ergebnisses durch den Beobachter deutlich geringer als bei der Bestimmung von f_{FITC} .

Prozentualer Fehler der Größe: Sowohl f_{FITC} als auch n_{FITC} sind Stichproben, aus denen eine Aussage über die Grundgesamtheit gemacht werden soll. f_{FITC} ist allerdings eine große Stichprobe, und der letztlich angegebene Wert ist der Mittelwert über 1 *min* und über 20 Kapillaren, so dass zufällige Fehler weniger ins Gewicht fallen. n_{FITC} dagegen ist eine vergleichsweise kleine Stichprobe und kein Mittel über die Zeit, sondern eine Momentaufnahme. Das Risiko, einen zufälligen Fehler zu machen, der gerade bei kleinen n_{FITC} prozentual ins Gewicht fallen und so das Ergebnis erheblich verfälschen kann, ist somit nicht unerheblich. Je kleiner also der Anteil der markierten Erythrozyten wird, desto ungenauer wird n_{FITC} .

Abhängigkeit von f_{FITC} und n_{FITC} vom systemischen Hämatokrit:

f_{FITC} hängt vom kapillaren Hämatokrit ($Hkt_{mikro}(t_f)$) ab, der über den konstanten Faktor 0,76 aus dem systemischen Hämatokrit errechnet werden kann. n_{FITC} hängt direkt vom systemischen Hämatokrit $Hkt_{sys}(t_n)$ ab. Berechnet man den kapillaren Blutfluss wie allgemein üblich nach Formel 1.5:

$$CBF = \frac{f_{FITC}}{n_{FITC} \times 0,76} \quad (7.4)$$

nimmt man an, dass der systemische Hämatokrit während des gesamten Messzeitraumes konstant bleibt, und zu jedem Messzeitpunkt gleich dem Hämatokrit bei der Bestimmung von n_{FITC} ist ($Hkt_{sys}(t_n) = Hkt_{sys}(t_f)$), denn nur dann

kürzt sich Hkt_{sys} aus der Gleichung. Und nur dann kann der CBF ohne Berücksichtigung des Hkt_{sys} berechnet werden.

In der vorliegenden Studie wurde der Hkt_{sys} jeweils am Anfang sowie am Ende des gesamten Messzeitraumes bestimmt. Vergleicht man die beiden Werte, zeigt sich, dass die Annahme, dass Hkt_{sys} bei der Bestimmung von f_{FITC} und n_{FITC} gleich ist, in den Gruppen Kontrolle, Clamping und Colitis berechtigt ist; dort ist der Hkt_{sys} am Ende des Messzeitraumes im Mittel um 1 Prozentpunkt (Kontrolle), 1,1 Prozentpunkte (Clamping) bzw. 2,6 Prozentpunkte (Colitis) niedriger als zu Beginn. In der Gruppe Hypoxie, in der zum Monitoring der Blutgase häufige Blutproben mit konsekutiver Volumensubstitution nötig sind, und in der Gruppe Hypovolämie, in der zur kardio-zirkulatorischen Kompensation offensichtlich eine größere Volumenverschiebung nach intravasal stattfindet, ist der Unterschied jedoch signifikant: Am Ende der Messung ist der Hkt_{sys} im Vergleich zum Anfang um 7,9 Prozentpunkte niedriger in der Gruppe Hypoxie und um 8,5 Prozentpunkte niedriger in der Gruppe Hypovolämie. (siehe Abb. 7.9). Der Hkt_{sys} am Anfang des Messzeitraumes wurde kurz vor der Aufzeichnung des ersten Messfeldes bestimmt, so dass er in guter Näherung $Hkt_{sys}(t_f)$ am ersten Messfeld entspricht; Der Hkt_{sys} am Ende des Messzeitraumes wurde aus derselben Blutprobe wie n_{FITC} bestimmt, so dass man ihn gleich $Hkt_{sys}(t_n)$ setzen kann.

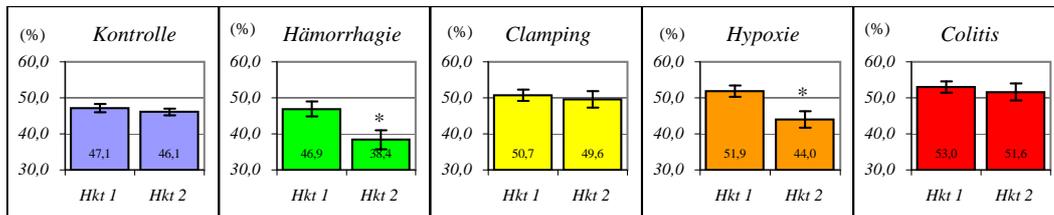


Abbildung 7.9: Vergleich des systemischen Hämatokrits (Hkt_{sys}) zum Beginn der Messung ($Hkt 1$ entspricht $Hkt_{sys}(t_f)$ am ersten Messfeld) und zum Messende ($Hkt 2$ entspricht $Hkt_{sys}(t_n)$) in den einzelnen Gruppen. * $p < 0,001$

Bei einer geringen Konzentration von gefärbten Erythrozyten, d. h. bei kleinen f_{FITC} und n_{FITC} , spielt dieser Unterschied im systemischen Hämatokrit zum Zeitpunkt der ersten Messung und zum Zeitpunkt der Bestimmung von n_{FITC} am Ende des Messzeitraumes eine beträchtliche Rolle. Bei Tier *B4* beispielsweise ergibt sich - berücksichtigt man den Unterschied nicht - der sehr hohe Wert für den kapillaren Blutfluss von $3,3 \text{ nl}/\text{min}$. Korrigiert man den Wert, indem man den um 10 Prozentpunkte unterschiedlichen Hämatokrit in die Rechnung einfließen lässt:

$$CBF = \frac{f_{FITC}}{n_{FITC}/Hkt_{sys}(t_n) \times Hkt_{sys}(t_f) \times 0,76} \quad (7.5)$$

erhält man den realistischeren Wert von $2,6 \text{ nl}/\text{min}$. Der Unterschied zwischen den beiden Werten beträgt $0,7 \text{ nl}/\text{min}$, also gut 20%! Die Korrelation zwischen IVM und EMPHO wird mit den auf diese Weise korrigierten Werten am ersten Messfeld in der Gruppe Hypovolämie deutlich besser (s. Abb. 7.10).

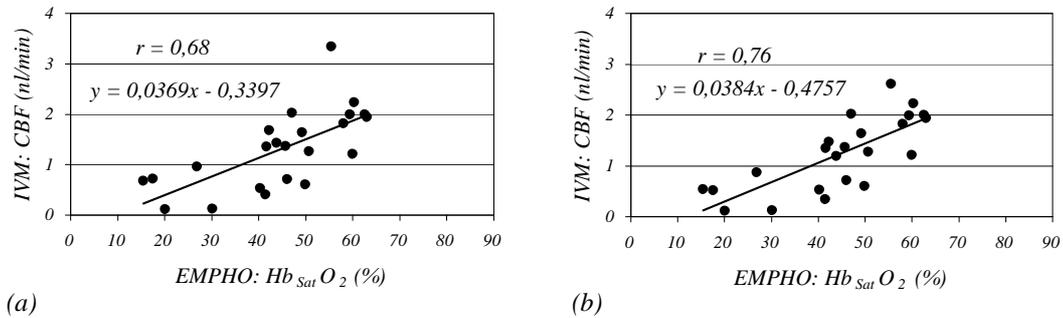


Abbildung 7.10: Korrelation zwischen IVM und EMPHO in der Gruppe Hypovolämie. (a) ohne und (b) mit Berücksichtigung des Hkt_{sys} am ersten Messfeld.

In der Gruppe Hypoxie werden die Werte an den ersten Messfeldern auch genauer, berücksichtigt man den unterschiedlichen Hkt_{sys} . Aber auch mit dieser Korrektur korrelieren IVM und EMPHO nicht.

Um genauere Werte für den kapillaren Blutfluss zu erhalten, müsste man also zumindest in den Gruppen, in denen der Hkt_{sys} während des Messverlaufes nicht konstant bleibt, entweder n_{FITC} oder den Hkt_{sys} an jedem Messfeld bestimmen. In der vorliegenden Studie wurde der Hkt_{sys} nur zu Beginn und am Ende des Messverlaufes bestimmt und n_{FITC} lediglich am Ende. Um eine einheitliche Darstellung der Werte zu wahren, werden deshalb im Ergebnisteil alle Werte unkorrigiert angegeben.

Statistische Probleme: Der kapillare Blutfluss ist, wie im vorangegangenen ausführlich dargelegt, also keine direkt erhobene Messgröße, sondern wird indirekt aus der Bestimmung separat gemessener Größen abgeleitet. Dabei ist die Messgenauigkeit für jede dieser Größen unterschiedlich. Zudem sind die Messgrößen voneinander abhängig. Dies führt zusätzlich zu den methodischen und physiologischen Einschränkungen der Genauigkeit, mit der der kapillare Blutfluss bestimmt werden kann, zu statistischen Problemen, die die Exaktheit verringern [86, 87]. Sarelius und McKinlay haben die statistischen Besonderheiten für die Berechnung des Mikrohämatokrits aus der intravitalmikroskopischen Messung mit markierten Erythrozyten genauer analysiert [86]. Dies steht für die Berechnung des kapillaren Blutflusses noch aus.

7.2.4.2 Flusscharakteristika

Die volumetrische Messung des kapillaren Blutflusses ist nur ein Teil der Beobachtung der Mikrozirkulation. Mittels der Intravitalmikroskopie können außerdem Angaben über Art und Weise der Durchblutung des Kapillarnetzes gemacht werden. Ein Charakteristikum ist der Prozentsatz an perfundierten Kapillaren, ein anderes das Vorhandensein eines intermittierenden Flusses. Über letzteren wird im Kapitel 8.2.1.2, S. 107 noch ausführlich gesprochen. Der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren ist ein wichtiger Parameter zur Beurteilung der Mikrozirkulation, da angenommen wird, dass hier ein Autoregulationsmechanismus auf mikrovaskulärer Ebene besteht [88, 89]. Die Mikrozirkulation scheint sich einem unterschiedlichen Sauerstoffbedarf weniger durch Regulation des Blutflusses anzupassen, als vielmehr durch ein unterschiedliches Maß an Sauerstoffextraktion und eine unterschiedliche Anzahl für den Sauerstoffaustausch rekrutierter Kapillaren [88]. Auch in der vorliegenden Studie in der Gruppe Colitis wird deutlich, dass der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren essentiell zur differenzierten Beurteilung der Mikrozirkulation ist. Normalerweise ist dieser Prozentsatz der perfundierten Kapillaren leicht und zuverlässig zu bestimmen, indem man die Anzahl der perfundierten Kapillaren ins Verhältnis zur Anzahl aller in einem Mikroskopbild beobachteten Kapillaren setzt. Am Colon ist das aufgezeichnete Bild durch den Mukus allerdings meist so kontrastarm, dass nur die markierten Erythrozyten gesehen werden können, und somit ausschließlich die perfundierten Kapillaren (vgl. 7.2.1, S. 83). Zuverlässige Angaben über den Prozentsatz der perfundierten Kapillaren können in dieser Studie deshalb nur in den Gruppen Colitis und Gefäßclamping gemacht werden.

7.2.5 Nachteile der Methode

Aufwendige Datenakquisition und Auswertung

- Die Intravitalmikroskopie ist eine äußerst aufwendige Methode. Für Präparation, Stabilisierungsphase und Messung werden ca. 2 - 3 Stunden pro Tier benötigt. Die anschließende Auswertung erfordert nochmals etwa 1 1/2 Stunden. Dazu kommt noch die Zeit, die man zur Färbung der Erythrozyten benötigt.
- Mit der Intravitalmikroskopie werden verschiedene Parameter der Mikrozirkulation einzeln quantifiziert bzw. beobachtet - der Blutfluss, die Flussgeschwindigkeit, der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren und das Vorhandensein von intermittierendem Fluss. Keiner der genannten Parameter kann isoliert Auskunft über die Mikrozirkulation geben. Nur durch die gleichzeitige Akquisition und Auswertung aller Komponenten können fundierte Rückschlüsse auf die Art der Veränderung der Mikrozirkulation unter

pathologischen Zuständen gezogen werden. Die Interpretation der mittels Intravitalmikroskopie gewonnenen Information ist somit komplex.

Anwendbarkeit nur im Tiermodell

- Die Intravitalmikroskopie ist bis auf wenige Ausnahmen nur am Tiermodell einsetzbar. Im Tierexperiment gewonnenen Ergebnisse können nicht uneingeschränkt auf den Menschen übertragen werden. Klinische Fragestellungen können mit der IVM nicht bearbeitet werden.
- Die Untersuchungen können immer nur an kleinen Versuchsgruppen durchgeführt werden, da man auf Tiermodelle angewiesen ist und der Zeitaufwand erheblich ist. Dies schränkt die statistische Aussagekraft ein.

Invasivität

- Die Mukosa des Colons, die prinzipiell endoskopisch erreichbar wäre, kann mit der Intravitalmikroskopie nur nach chirurgischer Präparation untersucht werden. Wie sehr die Mikrozirkulation unter diesen Umständen vom physiologischen Zustand abweicht, muss offen bleiben.

Eingeschränkte Messgenauigkeit

- Die Messparameter der Intravitalmikroskopie sind für verschiedenen Organe und auch am selben Organ unter verschiedenen Untersuchungsbedingungen unterschiedlich genau. Ein Vergleich der Messwerte ist deshalb nur bedingt möglich.
- Die Präparation des zu untersuchenden Gewebes ist zumindest am Colon nicht vollständig standardisierbar. Unterschiede in der Präparation beeinflussen die Messergebnisse.
- Die Messwerte sind untersucherabhängig und insofern nur eingeschränkt reproduzierbar.
- Die Mikrozirkulation kann nur an einigen ausgewählten Messfeldern beobachtet werden, da aufgrund phototoxischer Effekte die Expositionsdauer des untersuchten Gewebes eingeschränkt werden muss. Ein zeitliches Monitoring oder ein räumliches Mapping ist nicht möglich.

7.2.6 Vorteile der Methode

- Die Intravitalmikroskopie ist die *einzig*e Methode, mit der die Mikrozirkulation *direkt* visualisiert werden kann.
- Mittels gefärbter Erythrozyten können verschiedene Parameter der Mikrozirkulation sogar quantifiziert werden.

- Neben der Beurteilung der Mikrozirkulation liefert die Intravitalmikroskopie Informationen über die Morphologie des Kapillarnetzes. So kann am entzündeten Darm beispielsweise die Aufhebung der sonst typischen Bienenwabenform des Kapillarnetzes beobachtet werden.

7.2.7 Zusammenfassung

Da die Intravitalmikroskopie die einzige Methode zur direkten Visualisierung der Mikrozirkulation ist, bleibt sie ein unersetzliches Werkzeug. Ihr Hauptnachteil ist allerdings, dass sie routinemäßig nicht am Patienten eingesetzt werden kann. Außerdem ist sie mit einigen technischen Schwierigkeiten behaftet, insbesondere am Colon. Dies muss bei der Interpretation der Messwerte und bei vergleichenden Studien beachtet werden.

7.3 Polarographische Sauerstoffsonde (LICOX)

Im Mittelpunkt dieser Arbeit steht der Vergleich der Aussagekraft von EMPHO und IVM bezüglich der Sauerstoffversorgung des Gewebes. Während hierfür das Messfeld und seine Ausdehnung für beide Methoden explizit vergleichbar gewählt wurden, ist dies aus technischen Gründen für die polarographische Sauerstoffsonde (LICOX) unmöglich. Als sehr gut untersuchte, etablierte und anerkannte Methode zur Bestimmung der Sauerstoffversorgung des Gewebes, wurde die polarographische Sauerstoffmessung hier als Kontrollmethode eingesetzt und war zur Etablierung der einzelnen Versuchsanordnungen (vor allem in der Gruppe Hypoxie) richtungsweisend. Um den Rahmen dieser Arbeit nicht zu sprengen, kann auf diese Methode hier nur kurz eingegangen werden, und es muss auf frühere Arbeiten verwiesen werden.

7.3.1 Historischer Abriss

Das Prinzip der polarographischen Bestimmung des Sauerstoffpartialdruckes ist sehr alt. 1897 wurde von Danneel erstmals die Messung eines Stromes, hervorgerufen durch diffundierenden Sauerstoff, beschrieben [90]. 1942 wurde dieser Effekt erstmals zur Messung der Oxygenierung lebenden Gewebes genutzt [91]. 1956 entwickelte Clark die nach ihm benannte und bis heute in nahezu unveränderter Form verwendete Clark-Typ-Elektrode [92] [38], die auch der Sauerstoffmikrokatthetersonde des LICOX zugrunde liegt. Seitdem finden polarographische Sonden vielfältige wissenschaftliche und klinische Einsatzmöglichkeiten.

7.3.2 Die verschiedenen Typen der Clark-Typ-Elektrode

Es gibt keine „ideale“ polarographische Sonde, der Vorteil der Clark-Typ-Elektrode besteht vielmehr darin, dass ihr Messprinzip nahezu beliebig in seiner technischen Implementierung variiert werden kann und somit der jeweiligen Fragestellung optimal angepasst werden kann. So konstruierten beispielsweise Whalen et al. 1967 [93] eine Mikroelektrode, um den intrazellulären Sauerstoffpartialdruck zu messen, und halten damit bis heute den Weltrekord in der Miniaturisierung der Clark-Typ-Elektrode. Im Wesentlichen gibt es zwei verschiedene Typen von polarographischen Sonden: Oberflächensonden, die nicht-invasiv arbeiten und in Kontakt mit der Oberfläche des Gewebes gebracht messen, und Nadelelektroden, die invasiv in das Gewebe implantiert werden müssen.

7.3.2.1 Oberflächensonden

Ausmaß der Gewebeirritation durch die Messung: Der Vorteil der Oberflächensonden scheint auf den ersten Blick zu sein, dass die Messung ohne Verletzung des Gewebes durchgeführt werden kann. Die Sonde muss allerdings in

Kontakt mit dem Gewebe gebracht werden, so dass Veränderungen der Mikrozirkulation durch Kompression nicht ausgeschlossen werden können. Liegt das Organ, das untersucht werden soll, nicht direkt zugänglich, sondern muss frei präpariert werden, so ist das Gewebetrauma möglicherweise größer, als durch das Einbringen einer kleinen Nadelelektrode.

Fleckenstein et al. verglichen eine Oberflächensonde und eine Nadelelektrode am Musculus gracilis des Hundes und kamen zu dem Schluss, dass die Messergebnisse der Nadelelektrode eher dem physiologischen Sauerstoffpartialdruck entsprechen. Sie wiesen histologisch an der Muskeloberfläche, an der die Messung mit der Oberflächensonde stattfand, ein interstitielles Ödem, dilatierte Kapillaren, abgestorbene Muskelfasern und die ersten Anzeichen einer Entzündungsreaktion nach. [94]

„Multiwire surface probe“: Um die Heterogenität der Sauerstoffverteilung im Gewebe und das Sauerstoffgefälle entlang einer Kapillare erfassen zu können muss gleichzeitig an mehreren Stellen gemessen werden, d.h. ein Topogramm muss erstellt werden. Hierzu wurden Oberflächenelektroden entwickelt, die über mehrere drahtförmige pO_2 -Kathoden verfügen, die von einer ringförmigen Referenz-Anode umgeben sind. Mochizuki und Bartels entwickelten erstmals eine solche „Multiwire surface probe“ [95]; Hauss et al. [96] oder Müller et al. [97] unter anderen erprobten den klinischen Einsatz. Eine detaillierte Beschreibung ist beispielsweise bei Kessler et al. [98] oder Lübbers et al. [99] zu finden.

7.3.2.2 Nadelsonden

Ausmaß der Gewebeirritation durch die Messung: Nadelsonden müssen zum Messen in das Gewebe eingebracht werden, arbeiten also invasiv. Um ein größeres Gewebeareal beurteilen zu können, werden diese meist automatisiert mit einem Mikromanipulator in genau definierten Abständen durch das Gewebe - teils vorwärts, teils rückwärts - geschoben.

Das Hauptproblem dieser Sonden ist folglich das Gewebetrauma, dessen Ausmaß am Skelettmuskel von Schramm et al. mittels lichtmikroskopischer Beurteilung und Untersuchungen mit einem Raster-Elektronen-Mikroskop an Korrosionspräparaten genau untersucht wurde [100]. Die Sonde musste aufgrund ihrer Zerbrechlichkeit über eine anschließend entfernte Hohnadel in den Muskel eingebracht werden. Die Autoren stellten fest, dass in einem Umkreis von $70 \mu m$ um die Sonde nicht nur Muskelfasern verletzt, sondern vor allem auch die Blutgefäße kompromittiert wurden: Kapillaren, die nicht ausweichen können, reißen ab, und in allen Fällen wurden Erythrozyten im Stichkanal gefunden; zur Verletzung von größeren Gefäßen, die zu klinisch relevanten Einblutungen in den Stichkanal führen, kam es allerdings äußerst selten. Außerdem werden die Kapillaren erheblich komprimiert: der mittlere Gefäßdurchmesser, der im Umkreis von $70 \mu m$ um die Sonde gemessen wird, beträgt $3 \mu m$. Die Autoren vermuten, dies führe dazu, dass

kaum noch Erythrozyten die Kapillaren passieren können, so dass das Gewebe folglich nur noch von Plasma perfundiert werde. So führe ein Teil der Artefakte zu einer Überschätzung des pO_2 -Wertes (Extravasation von Erythrozyten, Verminderte O_2 -Aufnahme durch die geschädigten Muskelfasern, reaktive Hyperämie im Bereich $> 70 \mu m$ entfernt von der Sonde), die Kompression der Kapillaren andererseits zu einer Unterschätzung. Diese Artefakte heben sich zwar teilweise auf, führten allerdings zu einer Nivellierung der gemessenen Werte, so die Autoren. Der Durchmesser ihrer Nadelelektrode war mit $350 \mu m$ dem der in der vorliegenden Studie verwendeten Sauerstoffsonde des LICOX ($450 \mu m$) vergleichbar, so dass die beobachteten Effekte zum Teil auch in der vorliegenden Studie zu erwarten sind.

Das Problem der Gewebetraumatisierung versuchten verschiedene Arbeitsgruppen zu minimalisieren: Baumgärtl und Lübbers [101] reduzieren den Durchmesser der Nadelelektrode auf $0,6 \mu m$, Schramm et al. [100] empfehlen mit einer schnell reagierenden Sonde sofort nach der Implantation und nur bei Vorschieben der Sonde und nicht beim Zurückziehen zu messen. Eberhard et al. [102] entwickeln eine flexible, weiche Plastiksonde, die sich dem Gewebe anschmiegt.

Flexible Katheter-Mikrosonden: Eine spezielle Art von Nadelelektroden sind die so genannten Kathetersonden, die sich durch ihre weiche und flexible Beschaffenheit (ähnlich einem Venenverweilkatheter) auszeichnen. Die Sauerstoffsonden, mit denen das LICOX arbeitet, gehören zu diesem Typ Nadelsonden. Da sie nicht starr sind, müssen diese Kathetersonden über eine passende Hohlkanüle oder mittels vom Hersteller zur Verfügung gestellter Applikationssysteme in das Gewebe eingebracht werden.

7.3.3 Die „Revoxode“ LICOX

Die genauen Konstruktionsparameter der Katheter-Mikrosonden des LICOX sind ein wohl gehütetes Geheimnis des Herstellers. Methodische Arbeiten zum LICOX sind nicht veröffentlicht. Die hier gemachten Angaben sind - soweit nicht anders angegeben - der Produktinformation des Gerätes entnommen.

7.3.3.1 Reversible Elektrode

Die Redoxreaktion, die dem Funktionsprinzip der Clark-Typ-Elektroden zugrunde liegt, lautet:



Sie ist im Grunde irreversibel. Das bedeutet, dass die Elektroden in Abhängigkeit von ihrer Größe und den Membraneigenschaften nach einem bestimmten Zeitintervall eine größere Drift des Nullpunktes sowie der Empfindlichkeit aufweisen. In geeigneten Intervallen muss deshalb die Sonde aus dem Gewebe entfernt werden und in ihren Anfangszustand gebracht werden.

Die Besonderheit der so genannten „Revoxode“, der Sauerstoffsonde des LICOX, besteht nicht nur in der weichen, flexiblen Beschaffenheit, sondern vor allem in der Abwandlung der elektrochemischen Vorgänge, so dass sie reversibel werden. Diese beiden Eigenschaften ermöglichen ein kontinuierliches Monitoring des $p_{muc}O_2$ über mehr als eine Woche. Die Genauigkeit wird wie folgt angegeben: Betriebszeit 0,3 – 12 h: Empfindlichkeitsfehler < 5%, Nullpunktfehler < 0,5 mmHg

Betriebszeit 12 – 120 h: Empfindlichkeitsfehler < 10%, Nullpunktfehler < 1 mmHg

Wie die Redoxreaktion an der Kathode reversibel gehalten werden kann, ist nicht bekannt, die zuverlässige Messung des $p_{muc}O_2$ wird aber in vielen experimentellen und klinischen Studien bestätigt [103, 104, 105, 106]. Dabei variieren die Angaben zum maximalen Zeitraum, in dem die Sonde ohne zu große Drift arbeitet, zwischen 3 Tagen [105] und 21 Tagen [106].

7.3.3.2 Einstellzeit

Die Einstellzeit der „Revoxode“ wird mit $t_{90/35^\circ} \approx 60 \text{ sec}$ angegeben [39]. D.h. bei einer Temperatur von $35^\circ C$ hat die Revoxode eine pO_2 -Änderung nach etwa einer Minute zu 90% nachvollzogen.

Die Reaktionszeit ist also eher träge. Weiterhin fällt auf, dass nach Anschluss der „Revoxode“ der gemessene pO_2 zunächst während einiger Minuten abfällt, bis er sich stabilisiert. Auch Steckeler [106], Wechselberger [104] und Hjortdal [107] haben dieses Phänomen beschrieben. Hjortdal spekulierte, dass die mikro-zirkulatorischen Veränderungen, die durch die Implantation der Sonde verursacht werden, von einer reaktiven Hyperämie gefolgt würden. Deren graduelle Abnahme bis zu einem Normalwert würde sich dann in den zunächst abfallenden und dann stabilen Werten des pO_2 widerspiegeln [107]. Auch der Hersteller weist darauf hin, dass das lokale Mikrotrauma die Messwerte etwa 10 – 20 min beeinflusse; nach dieser Stabilisierungsphase seien die gemessenen Werte aber für das Gewebe repräsentativ. Die genauen Gründe für dieses Verhalten sind allerdings noch nicht untersucht.

7.3.3.3 Empfindlichkeit und Genauigkeit

Der Hersteller gibt die Empfindlichkeit der Sonde mit $2,2 \text{ nA/mmHg}$ bei einem Auflösungsvermögen des Verstärkers von $0,2 \text{ nA}$ an, d.h. mit der Revoxode können pO_2 -Unterschiede von ca. $0,1 \text{ mmHg}$ gemessen werden. Die polaro-

graphischen Eigenschaften jeder Revoxode sind individuell leicht verschieden. Um die Genauigkeit des Messsystems zu gewährleisten, wird deshalb zu jeder Elektrode eine Chipkarte geliefert, auf der die jeweiligen Kennwerte, wie pO_2 -Empfindlichkeit, Temperaturkoeffizient der Empfindlichkeit, Nullpunktstrom, Einlaufdrift und Ansprechzeit gespeichert sind; der pO_2 -Wert wird somit für jede Sauerstoffsonde individuell berechnet. Die Empfindlichkeit der Sonde kann vor und nach der Messung sowohl an Raumluft (der Hersteller gibt eine Tabelle mit den in Abhängigkeit von der Temperatur und der Höhe über dem Meeresspiegel zu erwartenden pO_2 -Werten für Raumluft an) sowie am Nullpunkt (in der mitgelieferten Nullpunktlösung ist der Erwartungswert 0 mmHg) überprüft werden.

Die sterile Katheter-Mikrosonde ist eigentlich für den einmaligen Gebrauch gedacht. Da sie für den tierexperimentellen Einsatz nicht steril sein musste, wurde eine Sonde für alle Versuche verwendet. Die Empfindlichkeit wurde wie oben beschrieben nach jedem Versuch geprüft und war immer einwandfrei.

7.3.3.4 Gewebetrauma

Wie groß das durch die Implantation der Kathetersonde verursachte Gewebetrauma und damit die Verfälschung der Messergebnisse ist, ist nicht genau geklärt. Zwar ist der Durchmesser der Revoxode ($450 \mu m$) vergleichbar mit der Nadelsonde, die Schramm et al. [100] für ihre Untersuchungen zu diesem Thema verwendeten ($350 \mu m$), jedoch lassen sich die Ergebnisse (vgl. 7.3.2.2, Abschnitt 1) nicht uneingeschränkt auf die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Sauerstoffsonde des LICOX übertragen: Zum einen ist der Gewebeschaden sicherlich in jedem Gewebe unterschiedlich bedeutsam. Man darf annehmen, dass die Kompression der Kapillaren, die Schramm et al. beschreiben, am Darm weniger ausgeprägt ist, da das Gewebe wesentlich mehr Ausweichmöglichkeit hat. Außerdem ist die Sauerstoffsonde des LICOX weich und flexibel, dürfte sich dem Gewebe also besser anpassen. Auch Schramm et al. berichten, dass mit solchen Sonden das Ausmaß des Gewebetraumas geringer ist [100]. Drittens untersuchten Schramm et al. das Gewebe $15 - 120 \text{ sec}$ nach Implantation der Sonde. Es kann aber durchaus sein, dass sich das Gewebe innerhalb von $10 - 20 \text{ min}$ zu einem gewissen Maß erholt.

Die Angabe, dass eine Verletzung von größeren Gefäßen, welche zu einer klinisch relevanten Blutung führt, äußerst selten vorkommt, wurde in der vorliegenden Arbeit bestätigt.

7.3.3.5 Einzugsbereich

Das Erfassungsvolumen einer polarographischen Sauerstoffsonde entspricht dem Diffusionsfeld, das durch den Eigenverbrauch der Elektrode entsteht. Es ist abhängig von den geometrischen Eigenschaften der Sonde und den Diffusionseigenschaften des zu messenden Mediums, der Membran und der in der Sonde befindlichen Elektrolytlösung. Hierzu hat Grunewald genaue Überlegungen angestellt

und theoretische Modelle entwickelt [108, 109, 110, 111].

Da die genauen Konstruktionsparameter der Revoxode nicht bekannt sind, muss man sich bezüglich des Erfassungsvolumens auf die Angaben des Herstellers verlassen. Erstaunlicherweise gibt der Hersteller kein Volumen, sondern eine Fläche für die Messung mit der Revoxode an. Demnach misst die Sonde die Gewebe-Oxygenierung auf der Mantelfläche eines Zylinders, welcher konzentrisch mit einem Radius von weniger als 1 mm um die Längsachse des Mikrokatheters liegt. Für die Elektrode mit einem pO_2 -sensitiven Bereich von $4,5\text{ mm}$ Länge wird ein Einzugsbereich von $10 - 30\text{ mm}^2$ angegeben. Die Sonde kann sich in Längsrichtung verschieben, was im zeitlichen Mittel zu einer Verlängerung des pO_2 -sensitiven Bereiches führt. So ist wohl die große Varianz der angegebenen Fläche für den Zylindermantel in Abhängigkeit der Bewegung der Sonde zu verstehen.

Es ist allerdings kontraintuitiv, dass der Einzugsbereich sich nur auf die Mantelfläche eines Zylinders in einem bestimmten Abstand zum pO_2 -sensitiven Bereich erstrecken soll. Einleuchtender wäre es, den Einzugsbereich als Volumen desselben Zylinders anzugeben plus das Volumen einer Halbkugel an beiden Enden des pO_2 -sensitiven Bereiches (veranschaulicht in Abb. 7.11).

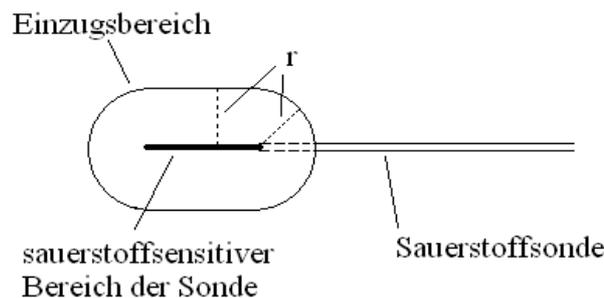


Abbildung 7.11: Schematische Darstellung des Einzugsbereiches der Sonde

Die Messungen in der vorliegenden Studie wurden nicht mit der Sauerstoffsonde, für die die oben genannten Werte angegeben sind, durchgeführt, sondern mit einer so genannten hochauflösenden Sonde, die einen pO_2 -sensitiven Bereich von nur 1 mm Länge hat. Rechnet man die für eine Sonde mit einem pO_2 -sensitiven Bereich von $4,5\text{ mm}$ Länge angegebene Fläche von etwa 20 mm^2 für die in dieser Studie verwendete hochauflösende Sonde um, ergibt das einen Einzugsbereich von etwa $4,4\text{ mm}^2$. Insgesamt kann aber über den genauen Einzugsbereich nur spekuliert werden. Zwei Aussagen können aber gesichert gemacht werden:

1. Der Einzugsbereich auf der Mukosaoberfläche ist allein durch die Länge des pO_2 -sensitiven Bereiches von 1 mm bedingt sicher deutlich größer als bei der Intravitalmikroskopie und bei der Messung mit dem EMPHO.

2. Allein durch die submuköse Lage der Katheter-Mikrosonde kann sich die Messung nicht auf das Kapillarnetz der Mukosa, also die Mikrozirkulation beschränken. Die Sonde erfasst mit Sicherheit auch den pO_2 mindestens eines Teils der Submukosa.

7.3.4 Nachteile der Methode

- Mit der polarographischen Sonde des LICOX können keine Aussagen über die Mikrozirkulation gemacht werden. Dies liegt im wesentlichen an der Größe der Sonde, die prinzipiell auch deutlich reduziert werden könnte (vgl. 7.3.2, S. 96). Doch auch mit geeignet kleinen Sonden wären ähnlich wie beim EMPHO nur indirekte Aussagen möglich; der kapillare Blutfluss kann nicht wie mit der Intravitalmikroskopie visualisiert und quantifiziert werden.
- Einmal implantiert ist der Messort der Sonde festgelegt. Die Aussagekraft der gemessenen Werte hängt davon ab, wie repräsentativ die Sauerstoffversorgung dieses Ortes für das gesamte Gewebe ist.
- Das LICOX arbeitet invasiv; weder ist bisher das morphologische Ausmaß der Gewebetraumatisierung, noch dessen funktionelle Bedeutung - vor allem im zeitlichen Verlauf - für die Mikrozirkulation bekannt. Wie sehr und in welche Richtung die gemessenen Werte von den physiologischen abweichen, kann heute noch nicht mit Sicherheit abgeschätzt werden.
- Oberflächensonden müssen in Kontakt mit dem Gewebe gebracht werden, so dass Störungen der Mikrozirkulation durch Kompression nicht ausgeschlossen werden können.
- Die Sauerstoffsonde des LICOX reagiert erst mit einer Verspätung von 1 Minute auf Änderung des Gewebe- pO_2 . Es existieren aber Elektroden mit wesentlich kürzeren Einstellzeiten [111].

7.3.5 Vorteile der Methode

- Die polarographische Messung des Gewebe- pO_2 wird seit langer Zeit praktiziert, die ihr zugrunde liegenden elektrochemischen Vorgänge sind deshalb gut untersucht und verstanden. Die einzelnen Komponenten der Clark-Typ-Elektrode sind über die Jahre verbessert und aufeinander abgestimmt worden. Der systematische technische Fehler moderner Elektroden liegt um mindestens eine Größenordnung unter dem Fehler, die physiologische Variablen hervorrufen können [112]. Im gesamten physiologisch vorkommenden pO_2 -Bereich wird linear gemessen [112, 113].

- Die Bedeutung des Gewebe- pO_2 für die Sauerstoffversorgung des Gewebes ist unumstritten und leicht interpretierbar. Er ist ein direktes Maß für den der Zelle zur Verfügung stehenden Sauerstoff.
- Die Handhabung des LICOX ist einfach, Anwendungsfehler sowie Beeinflussung der Messwerte durch den Untersucher sind unwahrscheinlich.
- Ein kontinuierliches Monitoring und somit Verlaufsbeobachtungen sind möglich.
- Das LICOX kann klinisch am Patienten eingesetzt werden. Es gibt vor allem in der Neurochirurgie [114, 115] und der plastischen Chirurgie [103, 105], aber auch an vielen anderen Organen, im Bereich des Gastrointestinaltraktes beispielsweise am Ösophagus [116], Erfahrungen mit dem klinischen Einsatz.

7.3.6 Zusammenfassung

Die Messung des Sauerstoffpartialdrucks im Gewebe mit der flexiblen polarographischen Katheter-Mikrosonde des LICOX ist leicht durchführbar und zeichnet sich durch eine hohe Reliabilität aus. Der Vergleich mit den Messergebnissen von Intravitalmikroskopie und EMPHO ist nur bedingt möglich, da das Messfeld differenziert und der Einzugsbereich des LICOX wesentlich größer ist. Hauptnachteil ist die Invasivität des Verfahrens und die Festlegung auf einen Messort.

7.4 Übersicht über die Vor- und Nachteile der drei Methoden

	EMPHO	IVM	LICOX
Visualisierung der Mikrozirkulation	–	+	–
Maß für den der Zelle zur Verfügung stehenden Sauerstoff	+	–	++
klinische Anwendbarkeit	+	(+)/–	+
einfache Handhabung	++	–	+
non-invasive Messung	+	--	–
geringe Untersucherabhängigkeit	+	–	+
gute Reproduzierbarkeit	+	–	+
Messung an bewegten Organen möglich	++	+/-	+
zeitliches Monitoring möglich	+	–	+
örtliches Mapping möglich	+	–	–
hohe zeitliche Auflösung	+	–	–
hohe örtliche Auflösung	+	+	–

Tabelle 7.3: Schematische Zusammenfassung der Vor- und Nachteile der drei Methoden. Dabei bedeutet + soviel wie „ja, die Methode bietet diesen Vorteil“, ++ „ja, sehr gut“, – „nein“, -- „nein, dies ist ein besonderer Nachteil der Methode“ und +/- bzw. (+)/– „diesen Vorteil bietet die Methode nur eingeschränkt bzw. sehr eingeschränkt“.

Kapitel 8

Diskussion der Ergebnisse

8.1 Ergebnisse der Vorversuche

8.1.1 LICOX unter Kontrollbedingungen

Unter Normalbedingungen - soweit man das bei dem exponierten und eröffneten Darm behaupten kann - schwanken der mit dem LICOX gemessene Sauerstoffpartialdruck im Gewebe und die Temperatur am Darm periodisch und phasengleich mit einer Frequenz von 1/15 pro Minute mit annähernd konstanter, kleiner (ca. 5 *mmHg*; bzw. 0,4°C) Amplitude.

Diese periodischen Veränderungen sind während der übrigen Messungen, bei denen mechanisch immer wieder manipuliert wird und die Temperatur exogen größeren Schwankungen unterliegt, nicht mehr zu beobachten. Während ohne äußere Beeinflussung die Temperaturschwankungen eher ein sekundärer Effekt zu sein scheinen - die Temperaturmaxima treten leicht verzögert zu den $p_{muc}O_2$ -Maxima auf -, zieht ein exogen induzierter Temperaturanstieg bei den Messungen immer einen Anstieg des $p_{muc}O_2$ nach sich.

Über die gesamte Messzeit des Vorversuches von 45 *min* gemittelt sind Werte ohne Manipulation und die der Gruppe A: Kontrolle nahezu identisch. Die Manipulationen während des Messvorganges scheinen also physiologische Modulationsmechanismen zwar zu stören, die Messwerte im Mittel aber nicht zu verändern.

8.1.2 LICOX unter Hypovolämie

Das LICOX reagiert auf die Hypovolämie mit einem deutlichen Abfall des $p_{muc}O_2$. Der $p_{muc}O_2$ bleibt dann mit gleicher Konstanz wie der arterielle Blutdruck erniedrigt. Korrigiert man gegebenenfalls den Blutdruck durch erneute Blutabnahme nach unten, können die Messbedingungen über einen ausreichend langen Zeitraum stabil gehalten werden, um die je drei Messungen mit dem Intravitalmikroskop und dem EMPHO durchzuführen.

Die signifikant gestiegene Herzfrequenz bestätigt, dass durch das abgenommene Blutvolumen ein haemorrhagischer Schock induziert wird.

8.1.3 LICOX unter Hypoxie

Um eine standardisierbare und gut steuerbare Hypoxie zu induzieren, ist es notwendig, die Tiere zu beatmen. Mit einer Reduktion des endinspiratorischen Druckes auf $4\text{ cmH}_2\text{O}$ macht sich die verminderte Ventilation signifikant sowohl in der arteriellen Blutgasanalyse als auch am Darm bemerkbar.

Über diesen Beatmungsparameter lassen sich die Blutgase gut steuern: Nach der Reduktion des endinspiratorischen Druckes sinkt der arterielle pO_2 schnell auf eindeutig hypoxische Werte; gleichzeitig stellt sich eine leichte Hypercapnie und eine respiratorische Azidose ein. Sowohl pO_2 , pCO_2 als auch pH in der Blutgasanalyse lassen sich durch Normoventilation innerhalb von $5 - 10\text{ min}$ auch nach der vierten Hypoxiephase wieder auf die normalen Ausgangswerte zurückbringen.

Mit Hilfe eines Respirators und alternierenden Phasen von Minder- und Normoventilation lassen sich vergleichbare Bedingungen für die einzelnen Messungen an einem Tier herstellen, ohne dass sich der Allgemeinzustand des Tieres verschlechtert.

8.2 Ergebnisse der Hauptgruppen

8.2.1 Bemerkungen zu den Ergebnissen der IVM

8.2.1.1 Vergleich des CBF und des Prozentsatzes der perfundierten Kapillaren mit den aus der Literatur bekannten Werten

Bislang gibt es außer von unserer Arbeitsgruppe keine Studien, die den kapillaren Blutfluss (CBF) an der Mukosa des Colons direkt quantifizieren. Bei uns wurden bisher Erfahrungen am Colon descendens unter Normalbedingungen, unter Colitis und unter Pankreatitis gesammelt [5, 67, 20, 26]. Der in der vorliegenden Studie in der Kontrollgruppe gemessene CBF von $2,6\text{ nl/min}$ stimmt gut mit den bisher beobachteten Werten überein. Unter Hypovolämie, Hypoxie und Gefäßclamping existieren keine vergleichbaren Angaben.

Unter TNBS-Colitis wurde in früheren Arbeiten am ersten Tag nach Induktion eine nicht signifikante Erhöhung des CBF auf $2,9\text{ nl/min}$ veröffentlicht, mit einer signifikanten Reduktion am dritten Tag nach Induktion auf $1,8\text{ nl/min}$ [5, 67, 20]. In der vorliegenden Studie wurde bereits nach 24 h ein signifikant erniedrigter CBF beobachtet ($1,6\text{ nl/min}$). Eine mögliche Erklärung hierfür ist der äußerst unterschiedliche Schweregrad der Colitis im TNBS-Modell, der sowohl in der vorliegenden Studie als auch von anderen Autoren beobachtet wurde [5, 67, 117]. Diese Unterschiede des Schweregrades sind zwar ein Nachteil, will man die Ergebnisse verschiedener Studien miteinander vergleichen, bieten aber

die Möglichkeit zu untersuchen, ob diese Unterschiede auch mit verschiedenen Methoden nachweisbar sind.

Zum Prozentsatz der perfundierten Kapillaren sind bisher noch keine Werte veröffentlicht. In der Kontrollgruppe, unter Hypovolämie und unter Hypoxie ist dieser Prozentsatz aus methodischen Gründen (siehe 7.2.1, S. 83 und 7.2.4.2, S. 93) nur ungenau zu bestimmen, so dass der Wert von etwa 98% in der vorliegenden Studie nur als semiquantitative Angabe aufgefaßt werden sollte. Im Gegensatz dazu haben die Werte von 71% in der Gruppe Gefäßclamping und in einem Bereich von 0 – 96% je nach Schweregrad der Colitis eine sehr hohe Genauigkeit.

8.2.1.2 Intermittierender Blutfluss

Seit die Intravitalmikroskopie eingesetzt wird, wird immer wieder ein intermittierender Charakter des Blutflusses auf mikrozirkulärer Ebene beobachtet [118]. Dieses Phänomen wurde an so unterschiedlichen Geweben wie Haut, Muskel, Bindegewebe, Omentum, Pankreas und Magen beobachtet [119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 65, 29, 69], dass man davon ausgehen darf, dass es sich um ein generelles Phänomen der Mikrozirkulation handelt. Man ist sich im wesentlichen einig, dass der intermittierende Fluss Ausdruck eines ungestörten Blutflusses ist; einige Autoren sehen darin ein Kriterium für die Qualität der Präparation [65, 29] und in einer Studie war ein fehlender intermittierender Fluss sogar ein Ausschlusskriterium [126].

Es erstaunt deshalb, dass in der vorliegenden Arbeit das Phänomen eines intermittierenden Flusses nur so selten beobachtet werden konnte: in 8,7% der untersuchten Felder in der Kontrollgruppe (29,2% unter Hypovolämie, 7,4% unter Gefäßclamping, 0% unter Hypoxie, 8,3% unter Colitis). Zusätzlich fällt auf, dass unter Hypovolämie noch am häufigsten (29,2%) ein intermittierender Fluss zu sehen ist, wogegen Mithöfer et al. am Pankreas unter Hypovolämie eine deutliche Verringerung der Inzidenz von intermittierendem Fluss feststellen [29].

Zunächst ist zu bemerken, dass die meisten der oben genannten Autoren den intermittierenden Fluss als sporadisches Phänomen und nicht immer reproduzierbar beschreiben. Funk et al., die sich in ihrer Arbeit ausführlich diesem Phänomen widmen, betonen, dass das Vorhandensein von intermittierendem Fluss extrem empfindlich von Änderungen der physiologischen Umgebung der Gefäße abhängt [125]. Hierin liegt vermutlich die Hauptursache, dass in der vorliegenden Studie ein intermittierender Fluss nur selten beobachtet werden konnte. Wie unter 7.2.1 (S. 83) ausführlich beschrieben, beeinflusst die für die IVM nötige Präparation des Colons, die physiologischen Bedingungen erheblich. Vor allem die mechanische Reizung der Mukosa durch das Wegwischen von Schleim und Blutspuren ist ein wesentlicher Störfaktor. Dass diese mechanische Reizung den Blutfluss für längere Zeit erhöht, wurde bereits erwähnt (siehe S. 83 unten), dass sie auch den intermittierenden Charakter des Blutflusses stört, liegt nahe.

In der Kontrollgruppe und unter Hypoxie ist die Schleimproduktion am höchsten, eine Messung ohne vorheriges Wegwischen von Mukus praktisch nicht möglich, was deshalb das seltene Auftreten von intermittierendem Fluss (8,7% Kontrolle, 0% Hypoxie) erklären würde. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie legen den Schluss nahe, dass eine Hypoxie die Inzidenz noch weiter reduziert, allerdings ist der Unterschied zur Kontrollgruppe nicht statistisch signifikant. In den Gruppen Gefäßclamping und Colitis ist weniger mechanische Reizung nötig, die niedrige Inzidenz von intermittierendem Fluss hängt daher eher mit den pathologischen Bedingungen in diesen Gruppen zusammen. Unter Gefäßclamping wird direkt die Zirkulation am Colon manipuliert, und in dieser Gruppe treten auch die niedrigsten Flusswerte der gesamten Studie auf. Unter Colitis ist die Gefäßarchitektur massiv verändert, der bienenwabenartige Aufbau des Kapillarnetzes ist aufgehoben und die Kapillaren erscheinen häufig als starre, dilatierte Rohre. In diesen beiden Gruppen entspricht die niedrige Inzidenz von intermittierendem Fluss also den Erwartungen. Bemerkenswert ist allerdings, dass unter Colitis gerade bei den beiden Tieren, bei denen die Colitis mild und nur ödematös ausgeprägt ist, auch ein intermittierender Fluss zu beobachten ist. Umgekehrt formuliert könnte ein vorhandener intermittierender Fluss als Zeichen für ein mildes Stadium der Colitis verstanden werden.

In der Gruppe unter Hypovolämie wurde ein intermittierender Fluss mit Abstand am häufigsten - in einem Drittel der untersuchten Felder - beobachtet. Auch in dieser Gruppe waren mechanische Reizungen aufgrund der im Vergleich zur Kontrollgruppe wesentlich niedrigeren Schleimproduktion seltener. Im Gegensatz zu den Gruppen Gefäßclamping und Colitis wurde der erwünschte pathologische Zustand aber nicht durch ein direktes Manipulieren am Colon induziert, sondern durch eine systemische Veränderung. Dies scheint die Autoregulationsmechanismen des Gewebes weniger zu stören.

Neben den mechanischen Reizungen, die den intermittierenden Charakter des Blutflusses stören können, ist aber auch von einigen Narkotika bekannt, dass sie Gefäßbewegungen zum Verschwinden bringen können [127]. So z.B. Pentobarbital und Ethyl-Ether, welche beide in dieser Studie eingesetzt wurden.

8.2.1.3 Besonderheiten in der Gruppe Hypoxie

Mittels IVM konnten keine Veränderungen der Mikrozirkulation im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Der CBF stieg nicht an, um das verringerte Sauerstoffangebot zu kompensieren, wie man am Colon aufgrund seiner Sonderstellung als eines der Schockorgane vermuten könnte. Möglicherweise reagiert der Darm auf ein verringertes Sauerstoffangebot, ähnlich wie auf einen erhöhten Sauerstoffverbrauch, eher mit der Rekrutierung von Kapillaren, als mit der Erhöhung des Blutflusses [128].

Die Frage, ob unter Hypoxie am Colon Kapillaren rekrutiert werden, der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren also erhöht wird, kann durch diese Studie

nicht beantwortet werden, da weder in der Kontrollgruppe noch unter Hypoxie die Qualität des aufgezeichneten Bildes so genaue Aussagen erlaubt. (vgl. 7.2.4.2, S. 93)

Ob unter Hypoxie ein intermittierender Fluss häufiger oder seltener als unter physiologischen Bedingungen vorkommt, bleibt ebenfalls unklar, da sowohl in der Kontrollgruppe als auch unter Hypoxie durch mechanische Reizung vor der Messung dieses Phänomen zu selten auftritt (vgl. 8.2.1.2). Um zu klären, ob unter Hypoxie keine mikrozirkulatorischen Veränderungen auftreten, oder ob solche Veränderungen mit der IVM, wie sie hier durchgeführt wurde, nur nicht nachgewiesen werden konnten, müssen weitere Studien mit modifizierter Präparation zeigen. Wahrscheinlich spielt hier auch die Dauer der Hypoxie eine Rolle, so dass Verlaufsbeobachtungen interessant wären.

8.2.1.4 Besonderheiten in der Gruppe Colitis

Der unterschiedliche Schweregrad der Colitis ist zwar ein Nachteil des TNBS-Colitis-Modells, erlaubt in dieser Studie aber die Eignung der verschiedenen Methoden zu prüfen, diese Unterschiede im Schweregrad nachzuweisen. Der CBF ist im Mittel dieser Gruppe zwar gegenüber der Kontrollgruppe statistisch signifikant erniedrigt, zum Schweregrad der Colitis steht er aber in keiner eindeutigen Beziehung. Der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren dagegen, der in dieser Gruppe extrem schwankt, korreliert mit dem makroskopischen Schweregrad der Colitis. Auch das Vorhandensein eines intermittierenden Flusses hängt mit dem Schweregrad zusammen: er wurde nur bei den beiden Tieren mit einer milden Colitis beobachtet. Dies zeigt, wie wichtig zur korrekten Beurteilung der mikrozirkulatorischen Veränderungen auch die Betrachtung der Flusscharakteristika ist, da der CBF nur ein Aspekt der Mikrozirkulation ist.

Ein Phänomen, das nur in der Gruppe Colitis auftrat, verdient besondere Aufmerksamkeit: Die meisten Kapillaren, in denen kein Fluss zu verzeichnen war, waren dennoch mit FITC-markierten Erythrozyten gefüllt. Am eindrucklichsten war dies in den zwei Feldern mit kompletter Stase in allen Kapillaren: Von den vielen markierten Erythrozyten, die sich in den Kapillaren befanden, bewegte sich kein einziger. (siehe Abb. 8.1) Vor der Messung muss aber in den betreffenden Kapillaren noch ein Fluss bestanden haben, sonst wären die markierten Erythrozyten nicht dorthin gelangt. Hätte die induzierte Colitis schon vor der Injektion der FITC-markierten Erythrozyten eine Stase in den Kapillaren der Colonmukosa hervorgerufen, so wären die Kapillaren schon mit nicht-markierten Erythrozyten „verstopft“ gewesen, und die markierten hätten nicht dorthin gelangen können oder allenfalls einige vereinzelte, die sich im verstopften Kapillarnetz noch verfangen haben. Offensichtlich (s. Abb. 8.1) ist dem aber nicht so, sondern vielmehr scheinen sich die FITC-markierten Erythrozyten in der entzündeten Colonmukosa sogar zu akkumulieren. Diese Beobachtung führt zwingend zu dem Schluss, dass der Blutfluss im Kapillarnetz der Colonmukosa erst *nach* der Injektion der



Abbildung 8.1: *Beispiel eines Videobildes eines Tieres in der Gruppe E: Colitis mit kompletter Stase. Die sichtbaren Erythrozyten bewegen sich nicht.*

FITC-markierten Erythrozyten zum Stillstand gekommen ist.

Auch der Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ in den Feldern mit Stase ist auffällig: Die $Hb_{Sat}O_2$ sank meist während des 1-minütigen Messverlaufes ab. In den beiden Feldern mit intravitalmikroskopisch kompletter Stase erreichte sie am Ende 10 – 15%, wie auch bei cardiovasculärem Arrest nach 50 – 60 Sekunden. Auch dies ist ein Indiz dafür, dass der Fluss erst kurz vor der Messung sistiert sein kann, da die $Hb_{Sat}O_2$ sonst schon vor dem Ende der Messung 10 – 15% erreicht hätte.

Man muss also annehmen, dass irgendein Faktor nach der Injektion der FITC-markierten Erythrozyten die Mikrozirkulation beeinträchtigt und den Blutfluss sistieren lässt. Denkbare Störfaktoren wären: die mechanische Reizung bei der Reinigung des Colons oder ein phototoxischer Effekt. Unter 7.2.3, S. 87 wurde zwar dargelegt, dass unter den in dieser Studie angewendeten Bedingungen für die IVM mit phototoxischen Effekten nicht zu rechnen ist, gänzlich ausgeschlossen werden kann dies aber nicht. Gerade unter Colitis wäre es möglich, dass die Puffersysteme des Gewebes, die unter normalen Bedingungen toxische Metaboliten unschädlich machen, schon ausgelastet oder zerstört sind. Auch bei der Messung mit dem EMPHO können phototoxische Effekt nicht völlig ausgeschlossen wer-

den, auch wenn davon noch nicht berichtet wurde.

Von dem intravitalmikroskopisch nachgewiesenen Stillstand der Mikrozirkulation darf man zwar nicht zwangsläufig auf einen Stillstand während der Messung mit dem EMPHO schließen - genau so plötzlich, wie der Fluss sistiert, könnte er auch wieder einsetzen. Der abfallende Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ spricht allerdings gegen eine solche Vermutung.

Die mit dem EMPHO gemessenen, relativ hohen $Hb_{Sat}O_2$ -Werte bei extrem niedrigen Flusswerten kann man somit eher mit der „Reaktionszeit“ des EMPHO auf die plötzliche Verschlechterung als mit einer besseren Mikrozirkulation während der Messung mit dem EMPHO erklären.

8.2.1.5 Die Reaktion auf pathologische Zustände im Vergleich mit den beiden anderen Methoden

Alle induzierten pathologischen Zustände in dieser Studie - mit Ausnahme der Hypoxie - rufen eine Abnahme der Messwerte bei allen drei Methoden hervor. Vergleicht man aber den prozentualen Abfall im Vergleich zur Kontrollgruppe, so fällt auf, dass immer der mittels IVM bestimmte CBF am stärksten abnimmt. Der Unterschied in der Abnahme der Messwerte zwischen IVM und den beiden anderen Methoden liegt zwischen 10 und 20 Prozentpunkten. In den Gruppen Hypovolämie und Gefäßclamping überrascht dies nicht, da in diesen Gruppen die Makrozirkulation verändert wird, was direkten Einfluss auf die Mikrozirkulation haben muss, die mit der IVM gemessen wird. Dagegen betrachten EMPHO und LICOX das Gleichgewicht zwischen Sauerstoffangebot und -nachfrage nachdem der Organismus die pathologischen Veränderungen durch Kompensationsmechanismen teilweise ausgeglichen hat: Sowohl unter Hypovolämie als auch unter Gefäßclamping steigt der arterielle pO_2 an. Zudem ist die Sauerstoffausschöpfung variabel (siehe hierzu auch 8.2.2.3, S. 115). Gleichzeitig ist anzunehmen, dass der Sauerstoffverbrauch bei reduziertem Angebot verringert wird. Ein sichtbares Indiz dafür ist die verringerte Schleimproduktion und Peristaltik des Darmes.

Unter Colitis wird zwar nicht direkt die Makrozirkulation verändert, doch die anderen Überlegungen gelten hier genauso. Bei der ausgeprägten Colitis, die in dieser Studie zu beobachten war, darf man davon ausgehen, dass viele Zellen als „Endverbraucher“ geschädigt sind, und somit der Sauerstoffverbrauch niedriger ist. Außerdem ist es nicht auszuschließen, dass unter Colitis die Mikrozirkulation durch die Messung mit der IVM negativ beeinflusst wird, und die gemessenen Werte für den CBF systematisch zu gering sind (vgl. 8.2.1.4).

8.2.2 Bemerkungen zu den Ergebnissen des EMPHO

8.2.2.1 Vergleich der Messergebnisse mit den in der Literatur angegebenen Werten

Da das EMPHO eine relativ neue Methode ist, gibt es wenige Arbeiten, mit deren Ergebnissen man die Messungen der vorliegenden Studie vergleichen könnte. Es gibt zwar einige Veröffentlichungen, in denen Spektrometer zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins am Darm eingesetzt wurden [129, 21, 10, 22, 130, 61]. Diese verwenden aber alle Spektrometer, die sich im Erfassungsvolumen und in der Berechnung der Werte für die Sauerstoffsättigung erheblich vom EMPHO unterscheiden.

Hasibeder et al. setzten das EMPHO am Jejunum von Schweinen ein und ermitteln eine mittlere $Hb_{Sat}O_2$ von $46,36 \pm 6,22\%$ [13]. An der Rektumschleimhaut von Patienten wurde von Otto et al. endoskopisch eine mittlere $Hb_{Sat}O_2$ von $62,5 \pm 12,3\%$ gemessen [25].

Am vergleichbarsten dürften die von Siedler bestimmten Werte sein [24]: Er setzt das EMPHO am terminalen Ileum von Kaninchen ein und misst am gesunden Darm im Mittel eine $Hb_{Sat}O_2$ von $64,4\%$. In der vorliegenden Arbeit liegt die mittlere $Hb_{Sat}O_2$ am gesunden Colon descendens bei $65,1 \pm 9,0\%$. Siedler mißt nach dem Abbinden von vier in der unmittelbaren Nähe der Messfelder gelegenen mesenterialen Gefäßen eine mittlere $Hb_{Sat}O_2$ von $22,6\%$. In der vorliegenden Studie liegt die $Hb_{Sat}O_2$ nach dem Abklemmen der Aa. mesentericae sup. et inf. im Mittel bei $24,6 \pm 15,5\%$.

Insgesamt stimmen Siedlers Ergebnisse also gut mit denen der vorliegenden Studie überein.

8.2.2.2 Bemerkungen zum Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. [Hb] während der 1-minütigen Messung

Neben den Veränderungen der Werte der $Hb_{Sat}O_2$ unter den verschiedenen pathologischen Bedingungen zeigen sich auch äußerst interessante Phänomene im Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ während der 1-minütigen Messung. Immer wieder werden sinusförmige Schwankungen mit einer Periode zwischen 4 – 6 pro Minute beobachtet. Interessanterweise traten diese Schwankungen bis auf zwei Ausnahmen in der Kontrollgruppe genau dann auf, wenn in der IVM ein intermittierender Fluss zu sehen war. Außerdem liegt die Frequenz des intermittierenden Flusses in der IVM in derselben Größenordnung. Diese zwei Beobachtungen legen den Schluss nahe, dass beide Phänomene zusammenhängen. Das hieße, dass man das Phänomen des intermittierenden Flusses indirekt auch mit dem EMPHO nachweisen kann!

Diese sinusförmigen Schwankungen der $Hb_{Sat}O_2$ treten in dieser Studie vergleichsweise selten auf; nimmt man aber an, dass der periodische Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ durch einen intermittierenden Fluss, wie er mittels IVM nachgewiesen

werden kann, hervorgerufen wird, gelten dieselben Überlegungen wie in Kapitel 8.2.1.2 (S. 107), die das seltene Auftreten erklären.

Diese von Herz - und Atemfrequenz unabhängigen Schwankungen wurden auch schon von anderen Autoren beschrieben: Hasibeder et al. finden mit dem EMPHO am Jejunum von Schweinen Oszillationen der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$ mit einer Frequenz von 4,6 – 5,0 pro Minute [13]. Yamaguchi et al. weisen mittels Laser-Doppler-Velocimetrie und Reflektionsspektrometrie Schwankungen der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$ mit einer Frequenz von 4 – 6 pro Minute nach [131]. Beides stimmt gut mit den Beobachtungen dieser Studie überein.

Hasibeder et al. beschreiben eine mit der $Hb_{Sat}O_2$ phasengleiche Oszillation der rel. $[Hb]$ [13]. Diese konnte in dieser Studie nur ein einziges Mal beobachtet werden: Bei einem Tier in der Gruppe Hypovolämie, bei dem der arterielle Katheter nach der Blutabnahme verstopft war, so dass keine Messung mit der IVM gemacht werden konnte, wurde eine kontinuierliche Messung über 14 Minuten mit dem Empho unternommen. Nach einer kurzen Einstellphase von ca. 20 Sekunden ist über den gesamten Messzeitraum eine mit der $Hb_{Sat}O_2$ phasengleiche Oszillation der rel. $[Hb]$ mit einer Frequenz von 3,5 – 5,5 pro Minute zu sehen (Abb. 8.2).

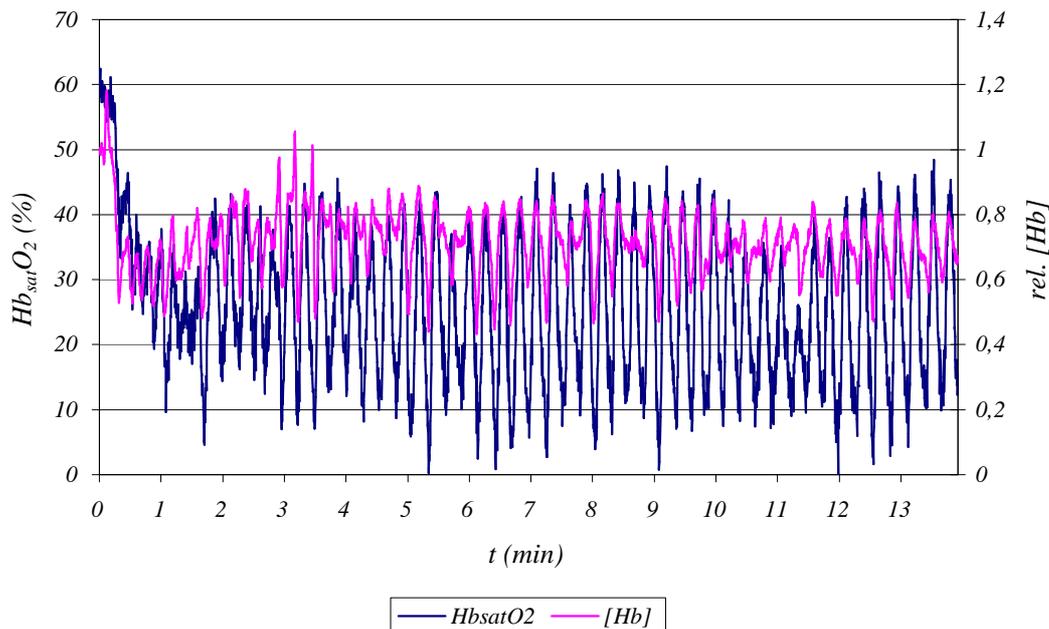


Abbildung 8.2: *phasengleiche Oszillation der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$ mit einer nahezu konstanten Frequenz über einen Zeitraum von mehr als 13 min*

Interessanterweise stimmen die beiden Kurven zu einem Teil sowohl in Frequenz, Phase und auch Form überein, wie in Abb. 8.3 zu sehen ist, die einen

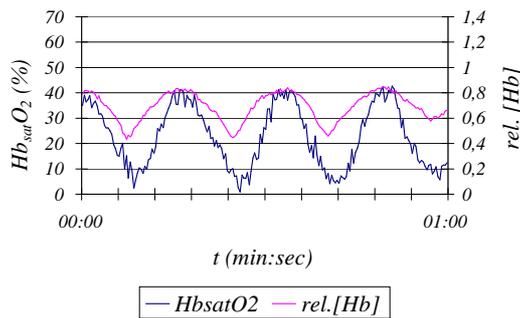


Abbildung 8.3: 1-minütiger Ausschnitt aus der in Abb. 8.2 gezeigten Messung, in dem $Hb_{sat}O_2$ und $rel. [Hb]$ phasengleich oszillieren.

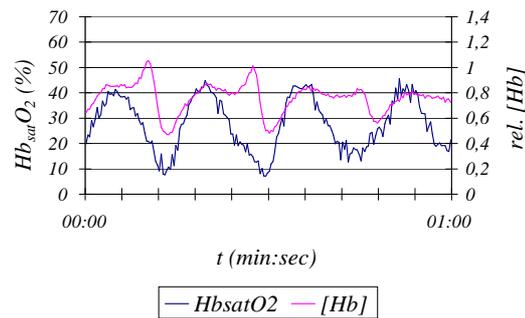


Abbildung 8.4: 1-minütiger Ausschnitt aus der in Abb. 8.2 gezeigten Messung, in dem die $rel. [Hb]$ zwar phasengleich mit der $Hb_{sat}O_2$ oszilliert, aber ein doppelgipfliges Verhalten zeigt.

vergrößerten 1-minütigen Ausschnitt aus Abb. 8.2 zeigt. Zu einem anderen Teil stimmen die beiden Kurven aber nur in Frequenz und Phase der Hauptschwingung überein, wobei die Form der Kurve der $rel. [Hb]$ sich ändert: Es taucht ein zweiter Peak auf, so dass das Kurvenmaximum doppelgipflig wird (Abb. 8.4), wobei die Frequenz dieser „Nebenschwingung“ bei etwa 11 pro Minute liegt. Oszillationen der $rel. [Hb]$ mit kleiner Amplitude und einer Frequenz von 10–15 pro Minute wurden in dieser Studie häufig beobachtet (siehe Abb. 4.4, S. 39; Abb. 4.7, S. 43; Abb. 4.9, S. 44 und Abb. 4.14, S. 49). Man kann also den in Abb. 8.4 gezeigten Verlauf der $rel. [Hb]$ als Überlagerung zweier Schwingungen auffassen, von denen die mit der größeren Amplitude eine Frequenz von etwas weniger als $4/min$ hat, und die mit der kleineren Amplitude eine Frequenz von ca. $11/min$ hat.

Da die $rel. [Hb]$ ein streng intravasaler Parameter ist, liegt die Vermutung nahe, dass Schwankungen der $rel. [Hb]$ eine Folge von Gefäßbewegungen ist. Diese These wird durch die Beobachtungen von Funk et al. gestützt, der die Gefäßbewegungen auf dem Niveau der Mikrozirkulation eingehend untersuchte [125]. Er bestimmte eine periodische Aktivität der Arteriolen mit einem Durchmesser von $25 - 39 \mu m$ von $3 - 7$ pro Minute und für terminale Arteriolen mit einem Durchmesser von $5 - 24 \mu m$ von $5 - 18$ pro Minute. Diese Frequenzen stimmen bestechend gut mit den in der vorliegenden Studie beobachteten Frequenzen überein. Nimmt man an, die Oszillationen der $rel. [Hb]$, die von uns mit einer Frequenz von $10 - 15/min$ beobachtet wurden, werden von den periodischen Gefäßbewegungen der terminalen Arteriolen hervorgerufen, so ist plausibel, weshalb diese Oszillationen eine kleine Amplitude haben, und weshalb diese Oszillationen niemals im Verlauf der $Hb_{sat}O_2$ zu sehen sind. Man darf annehmen, dass die Schwankungen der $rel. [Hb]$ hervorgerufen durch terminale Arteriolen zu gering sind, um auf die $Hb_{sat}O_2$ Auswirkungen zu haben. Die Gefäßbewegungen der

größeren Arteriolen mit einer Frequenz von $3 - 7/min$ haben dementsprechend größere Schwankungen der Hämoglobinkonzentration zufolge, was die die gemessene, große Amplitude der Oszillation der rel. $[Hb]$ erklärt und gleichzeitig die Auswirkung auf die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins, so dass eine phasengleiche Oszillation der $Hb_{Sat}O_2$ entsteht.

Offen bleibt die Frage, weshalb die Oszillationen der rel. $[Hb]$ mit großer Amplitude und einer Frequenz von $3 - 7/min$ nur ein Mal in dieser Studie beobachtet wurden, wogegen Oszillationen der $Hb_{Sat}O_2$ mit dieser Frequenz öfters zu sehen waren. Möglicherweise hängt das mit der wesentlich größeren Störanfälligkeit des Messparameters rel. $[Hb]$ des EMPHO im Gegensatz zur $Hb_{Sat}O_2$ zusammen (vgl. dazu 7.1.5.2, S. 78). Es wäre äußerst interessant, das Auftreten der verschiedenen in dieser Studie beobachteten Oszillationen in weiteren Versuchen mit dem EMPHO genauer zu untersuchen.

8.2.2.3 Die Reaktion auf pathologische Zustände im Vergleich mit den beiden anderen Methoden

Auf die Tatsache, dass der prozentuale Abfall der Messgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe in allen Gruppen - mit Ausnahme der Hypoxie - für das EMPHO geringer als für die IVM ausfällt, wurde bereits unter 8.2.1.5, S. 111 genauer eingegangen.

Im Vergleich zum LICOX ist der prozentuale Abfall der $Hb_{Sat}O_2$ in den Gruppen Gefäßclamping und Colitis ähnlich dem prozentualen Abfall des $p_{muc}O_2$ (Gefäßclamping: 37% EMPHO vs. 32% LICOX; Colitis: 77% vs. 71%). In der Gruppe Hypovolämie dagegen fällt der $p_{muc}O_2$ stärker als die $Hb_{Sat}O_2$ (69% vs. 55%), und in der Gruppe Hypoxie fällt die $Hb_{Sat}O_2$ stärker als der $p_{muc}O_2$ (52% vs. 67%).

$Hb_{Sat}O_2$ und $p_{muc}O_2$ sind die beiden Größen des Sauerstoffgleichgewichts, das sich zwischen intravasal ($Hb_{Sat}O_2$) und extravasal ($p_{muc}O_2$) einstellt. Beide Größen sind also nicht nur von der vorhandenen Menge an Sauerstoff abhängig, sondern auch davon, wie leicht der Sauerstoff vom Hämoglobin an das Gewebe abgegeben werden kann. Dabei haben Faktoren, die die Sauerstoffbindungskurve (Abb. 8.5) nach rechts oder links verschieben, einen gegensinnigen Einfluss auf $Hb_{Sat}O_2$ und $p_{muc}O_2$. In der Gruppe Hypovolämie ist im Vergleich zur Kontrollgruppe der Hämatokrit erniedrigt, der $p_{art}O_2$ erhöht und der $p_{art}CO_2$ erniedrigt. Das bedeutet, dass die Sauerstoffkapazität durch den kleineren Hämatokrit erniedrigt ist, wobei die arterielle Sauerstoffsättigung durch den erhöhten $p_{art}O_2$ erhöht ist. Zusätzlich ist der $p_{art}CO_2$ erniedrigt, was zu einer Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve führt. Alle drei Faktoren führen dazu, dass die intravasale Größe, die $Hb_{Sat}O_2$, relativ zur extravasalen Größe ansteigt.

In der Gruppe Hypoxie ist im Vergleich zur Kontrollgruppe der pH erniedrigt und der $p_{art}CO_2$ erhöht, beide Faktoren führen zu einer Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve, d.h. zu einer erleichterten Abgabe des Sauerstoffs an das

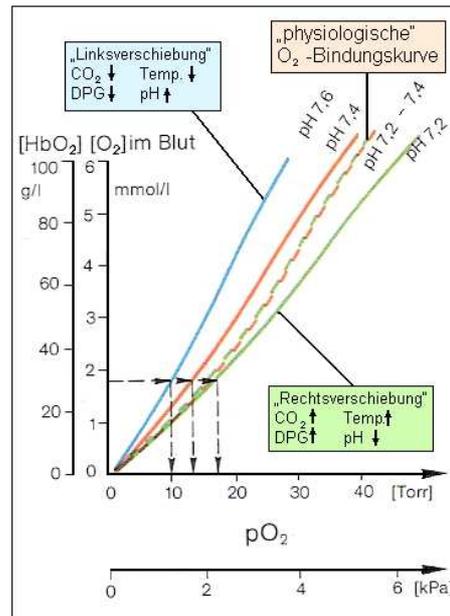


Abbildung 8.5: Ausschnitt aus der Sauerstoffbindungskurve nach [132]

Gewebe. Somit steigt die extravasale Größe, der $p_{muc}O_2$, relativ zur intravasalen Größe an.

8.2.2.4 Korrelation mit der arteriellen Blutgasanalyse

Da in der Gruppe Hypoxie an jedem Messfeld eine Blutgasanalyse durchgeführt wurde, ist es möglich, die mit dem EMPHO gemessene kapillare $Hb_{Sat}O_2$ mit dem $p_{art}O_2$ zu korrelieren (Abb. 4.13, S. 48). Dabei zeigt sich, dass die $Hb_{Sat}O_2$ direkt vom $p_{art}O_2$ abhängt. Dies ist eine weitere Bestätigung, dass die mit dem EMPHO gemessenen Werte korrekt sind.

8.2.3 Bemerkungen zu den Ergebnissen des LICOX

8.2.3.1 Vergleich der Messergebnisse mit den in der Literatur angegebenen Werten

In der Literatur gibt es keine vergleichbaren Werte für Messungen mit dem LICOX am Colon. Im Magen-Darm-Trakt sind einzig für den Magen des Menschen als Normwerte $55,1 \pm 10,4 \text{ mmHg}$ [116] bzw. $54,6 \pm 10,7 \text{ mmHg}$ [133] veröffentlicht. Mit einer Oberflächensonde gibt es Ergebnisse am Colon des Menschen, 34 mmHg wird als Normwert angegeben [97]. Am Jejunum von Schweinen wurde ebenfalls mit einer Oberflächensonde ein Normwert von $25,47 \pm 4,41 \text{ mmHg}$ gemessen [13]. Dabei ist aber zu beachten, dass die Ergebnisse von Oberflächen-

und Nadelsonden nicht unbedingt vergleichbar sind [94]. In der vorliegenden Studie wurde ein normaler $p_{muc}O_2$ an der Colonmukosa von Ratten von $40,4 \pm 7,4$ mmHg gemessen.

8.2.3.2 Bemerkungen zum Verlauf des $p_{muc}O_2$

Während der Messungen in dieser Studie wurden im Verlauf des $p_{muc}O_2$ nie Oszillationen beobachtet. Dagegen würde man erwarten, dass Schwankungen der $Hb_{Sat}O_2$ mit einer Amplitude von bis zu 45 Prozentpunkten auch einen Einfluss auf den $p_{muc}O_2$ habe. Hasibeder et al. konnten bei ihren Messungen an der Mukosa des Jejunums von Schweinen mit einer Oberflächensonde auch Oszillationen des $p_{muc}O_2$ beobachten, die in Form und Frequenz den Schwankungen der $Hb_{Sat}O_2$ glichen [13].

Es ist aber anzunehmen, dass durch das Gewebetrauma, das bei der Implantation der Sonde entsteht (vgl. 7.3.3.4, S. 100), die Gefäßbewegungen, die zu den Schwankungen der $Hb_{Sat}O_2$ führen, zum Verschwinden gebracht werden (vgl. 8.2.1.2, S. 107). Außerdem überschreitet der Einzugsbereich der Sonde die Mukosa und erfasst auch eine wesentlich größere Fläche, als die IVM und das EMPHO (vgl. 7.3.3.5, S. 100). Vermutlich ist also die räumliche Auflösung des LICOX zu gering, um derartige Oszillationen nachweisen zu können.

Im Vorversuch, in dem über 45 Minuten eine Messung mit dem LICOX ohne weitere Manipulation durchgeführt wurde, sind allerdings sinusförmige Schwankungen mit einer wesentlich niedrigeren Frequenz von 1/15 pro Minute zu beobachten (Abb. 3.1, S. 28). Diese langsamen Schwankungen können selbstverständlich während des kurzen Beobachtungszeitraums der weiteren Messungen in dieser Studie nicht nachgewiesen werden. Die Erforschung des Regelmechanismus, der dieser Oszillation zugrunde liegt, wäre ein interessantes Thema für weitere Studien.

8.2.4 Bemerkungen zu Korrelationen zwischen den drei Methoden

8.2.4.1 Gründe für den Ausschluss bestimmter Gruppen aus den gruppenübergreifenden Korrelationen

Aus der gruppenübergreifenden Korrelation zwischen IVM und EMPHO und der Korrelation zwischen IVM und LICOX wurde die Gruppe Hypoxie ausgeschlossen, da mittels IVM unter Hypoxie keine Veränderungen der Mikrozirkulation nachweisbar sind (vgl. 4.4, S. 45 und 8.2.1.3, S. 108). Der CBF korreliert also unter Hypoxie weder mit der $Hb_{Sat}O_2$ noch mit dem $p_{muc}O_2$ noch mit dem $p_{art}O_2$! Aus der gruppenübergreifenden Korrelation zwischen LICOX und IVM und der Korrelation zwischen LICOX und EMPHO wurde die Gruppe Colitis ausgeschlossen. Die Messwerte des LICOX sind nur bedingt mit denen von IVM und EMPHO vergleichbar, da die Sonde des LICOX erstens an einer anderen Stelle implantiert

war als die Messfelder für EMPHO und IVM und zweitens einen wesentlich größeren Erfassungsbereich hat. In der Kontrollgruppe und den Gruppen, in denen die pathologische Veränderung sich gleichermaßen auf den gesamten Darmabschnitt auswirken, sind die Unterschiede an den verschiedenen Messfeldern noch verhältnismäßig klein, so dass zwar ein Vergleich der Messparameter von LICOX mit den anderen beiden Methoden nicht an den einzelnen Messfeldern, aber doch gemittelt pro Tier gemacht werden kann. Bei der TNBS-Colitis treten aber ganz inhomogen verteilte Mukosaschäden auf. Dies ist makroskopisch erkennbar: nekrotische Abschnitte liegen neben nur ödematös veränderten Stellen. Und auch die Messergebnisse des EMPHO zeigen in dieser Gruppe die größten intraindividuellen Unterschiede zwischen den einzelnen Messfeldern. Daher scheint in der Gruppe Colitis ein Vergleich zwischen den Messparametern des LICOX mit den beiden anderen Methoden auch gemittelt über ein Tier nicht zulässig.

8.2.4.2 Bemerkungen zum Achsenabschnitt

Betrachtet man die Korrelationen zwischen EMPHO und IVM, so fällt auf, dass die Regressionsgerade die $Hb_{Sat}O_2$ -Achse fast immer bei etwa 10% schneidet. Dies ist damit zu erklären, dass die $Hb_{Sat}O_2$ niemals auf 0% fällt; auch bei Kardiovaskulärem Arrest pendelt sich die $Hb_{Sat}O_2$ auf ca. 10% ein. Unterschreitet das Sauerstoffangebot eine gewisse Schwelle, stellen die Zellen ihre Funktion ein, bis letzten Endes des Zelltod eintritt. Eine gewisse Restsättigung des Hämoglobins bleibt deshalb immer bestehen.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde das EMPHO auf seine Eignung zur Erforschung der Mikrozirkulation und der Sauerstoffversorgung des Gewebes untersucht. Dazu wurde das EMPHO mit dem derzeitigen „Goldstandard“ für Messungen der Mikrozirkulation, der Intravitalmikroskopie verglichen. Eine genaue Evaluation des EMPHO ist interessant, weil es im Gegensatz zur IVM klinisch einfach einsetzbar ist und nicht invasiv misst. Neben dem direkten Vergleich von IVM und EMPHO am selben Messpunkt wurden Referenzmessungen mit einer polarographischen Sauerstoffsonde (LICOX) durchgeführt, einer Methode zur Bestimmung der Sauerstoffversorgung des Gewebes, die klinisch gut etabliert ist. Damit sollten zum einen die Versuchsanordnung und -bedingungen überprüft werden und zum anderen die Aussagekraft und Zuverlässigkeit der beiden anderen Methoden verifiziert werden.

Mit dem EMPHO wurden die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins ($Hb_{Sat}O_2$ [%]) und die relative Hämoglobinkonzentration ($rel.[Hb]$), mit der IVM der kapillare Blutfluss (CBF [nl/min]) und Flusscharakteristika und mit dem LICOX der Sauerstoffpartialdruck im Gewebe ($p_{muc}O_2$ [$mmHg$]) am Colon descendens von Ratten bestimmt. Die genannten Messungen wurden in fünf verschiedenen Versuchsgruppen zu je 8 bzw. 9 Ratten durchgeführt:

Gruppe A: Kontrolle

Gruppe B: Hypovolämie

Gruppe C: Gefäßclamping

Gruppe D: Hypoxie

Gruppe E: Colitis

Ergebnisse und Folgerungen

Ausgehend von den eingangs gestellten Fragen führte die vorliegende Studie zu folgenden Ergebnissen und Schlussfolgerungen:

1. *Welche unterschiedlichen Teilaspekte der Mikrozirkulation und der Sauerstoffversorgung des Gewebes können mit der IVM und mit dem EMPHO untersucht werden?*

Das EMPHO misst die Sauerstoffversorgung des Gewebes auf intravasaler Seite und das LICOX auf extravasaler Seite. Mit der IVM wird dagegen die Mikrozirkulation beobachtet. Eine Störung der Sauerstoffversorgung ist nicht gleich-

bedeutend mit einer Störung der Mikrozirkulation und umgekehrt. Dies wurde besonders deutlich in der Gruppe unter Hypoxie (Gruppe D): Mittels EMPHO und LICOX wurde eine Verschlechterung der Sauerstoffversorgung nachgewiesen, während mittels IVM keine Veränderung der Mikrozirkulation festgestellt wurde. Daraus folgt dreierlei: i.) Das EMPHO kann die Mikrozirkulation nur indirekt abbilden und somit die IVM nicht in allen Fragestellungen ersetzen. ii.) Das EMPHO liefert klinisch wichtige Informationen, die mit der IVM nicht erfasst werden. iii.) Intrakapillare Phänomene korrelieren nicht notwendigerweise mit der Sauerstoffversorgung des Gewebes.

Dennoch sind Sauerstoffversorgung des Gewebes und Mikrozirkulation im lebenden Organismus selbstverständlich nicht unabhängig voneinander; deshalb können durch die Beobachtung eines Teilaspektes bei streng gleichbleibenden und kontrollierten Untersuchungsbedingungen Rückschlüsse auf die anderen gezogen werden. Dabei ist es leichter, mittels EMPHO indirekt Aussagen über die Mikrozirkulation zu machen, als umgekehrt mittels IVM über die Sauerstoffversorgung des Gewebes. Denn solange von einem normalen Sauerstoffverbrauch der Zellen ausgegangen werden kann, hängt die Sauerstoffversorgung des Gewebes außer von der Mikrozirkulation, die von der Makrozirkulation beeinflusst wird, von respiratorischen Parametern ab; diese und auch die Makrozirkulation können sowohl experimentell als auch klinisch ohne Schwierigkeiten monitorisiert werden. Die Regulationsmechanismen der Mikrozirkulation sind dagegen noch sehr schlecht verstanden, so dass die Auswirkung einzelner beobachteter Phänomene auf die Sauerstoffversorgung des Gewebes nur schwer abgeschätzt werden kann.

Ein überraschendes Ergebnis der vorliegenden Studie ist der Nachweis sinusförmiger Schwankungen der $Hb_{Sat}O_2$ an einigen Messfeldern. Diese bilden möglicherweise das Phänomen des intermittierenden Flusses in der Mikrozirkulation ab. Womöglich kann hier ein Parameter der Mikrozirkulation direkt mit dem EMPHO beobachtet werden!

2. Welches sind die Vor- und Nachteile der Photospektrometrie und welches die der Intravitalmikroskopie?

Sowohl die IVM als auch das EMPHO haben Vor- und Nachteile: Die IVM ist die einzige Methode, die die Mikrozirkulation direkt visualisieren und quantifizieren kann. Insbesondere am Colon ist die Messgenauigkeit allerdings deutlich eingeschränkt.

Neben dem wesentlichen Vorteil des EMPHO, dass es auch am Patienten einsetzbar ist, bietet es auch im Tierexperiment den Vorzug, dass es im Vergleich zur IVM nicht invasiv misst. In der vorliegenden Studie fanden sich mehrere Hinweise darauf, dass empfindliche Regulationsmechanismen der Mikrozirkulation durch die aufwendige, für die IVM nötige Präparation und möglicherweise auch durch phototoxische Effekte gestört werden. Mit dem EMPHO könnten diese Regulationsmechanismen mit weniger Störungen untersucht werden. Zudem lassen sich die Messungen mit dem EMPHO besser standardisieren und sind weniger

abhängig vom Untersucher. Tabelle 7.3 zeigt eine schematische Übersicht über die Vor- und Nachteile der beiden Methoden.

	EMPHO	IVM	LICOX
Visualisierung der Mikrozirkulation	–	+	–
Maß für den der Zelle zur Verfügung stehenden Sauerstoff	+	–	++
klinische Anwendbarkeit	+	(+)/–	+
einfache Handhabung	++	–	+
non-invasive Messung	+	--	–
geringe Untersucherabhängigkeit	+	–	+
gute Reproduzierbarkeit	+	–	+
Messung an bewegten Organen möglich	++	+/-	+
zeitliches Monitoring möglich	+	–	+
örtliches Mapping möglich	+	–	–
hohe zeitliche Auflösung	+	–	–
hohe örtliche Auflösung	+	+	–

Tabelle 7.3: Schematische Zusammenfassung der Vor- und Nachteile der drei Methoden. Dabei bedeutet + soviel wie „ja, die Methode bietet diesen Vorteil“, ++ „ja, sehr gut“, – „nein“, -- „nein, dies ist ein besonderer Nachteil der Methode“ und +/- bzw. (+)/– „diesen Vorteil bietet die Methode nur eingeschränkt bzw. sehr eingeschränkt“.

3. Korrelieren die Messergebnisse des EMPHO mit denen der Intravitalmikroskopie?

Die mit dem EMPHO gemessene $Hb_{Sat}O_2$ korreliert gut mit dem intravitalmikroskopisch bestimmten CBF . Diese gute Korrelation besteht für die gesamte Messbreite von extrem niedrigen Werten bis hin zu Normalwerten und für alle Versuchsgruppen mit Ausnahme der Gruppe D: Hypoxie. Dies bestätigt die Annahme, dass Veränderungen der Mikrozirkulation in der Regel indirekt mit dem EMPHO nachgewiesen werden können.

Außerdem korrelieren die Messwerte des LICOX in allen Gruppen gut mit denen des EMPHO und in der Gruppe D: Hypoxie korreliert die $Hb_{Sat}O_2$ zusätzlich noch mit dem $p_{art}O_2$. Dies bestätigt die Reliabilität der spektrometrischen Messung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins.

4. Lassen sich die mit der Intravitalmikroskopie beobachteten Veränderungen bei Colitis auch photospektrometrisch mit dem EMPHO nachvollziehen?

Die Veränderungen der Mikrozirkulation unter Colitis lassen sich teilweise auch photospektrometrisch mit dem EMPHO nachweisen. Mit der IVM konnte ein verminderter CBF und eine Reduktion des Prozentsatzes der perfundierten Kapillaren nachgewiesen werden. Die mit dem EMPHO gemessene $Hb_{Sat}O_2$ korreliert

mit diesen beiden Parametern der Mikrozirkulation. Allerdings kann mit dem EMPHO alleine nicht zwischen einer Verminderung des CBF und einer Reduktion des Prozentsatzes der perfundierten Kapillaren differenziert werden. Andererseits scheint vor allem der Prozentsatz der perfundierten Kapillaren mit dem Schweregrad der Colitis zu korrelieren. Welche Rückschlüsse die Veränderungen des CBF unter Colitis zulassen, ist derzeit unklar.

Ausblick

Neben den oben genannten Ergebnissen und Schlussfolgerungen ergaben sich aber auch neue Fragen, zu deren Klärung weiterführenden Arbeiten nötig sind. Es wäre beispielsweise interessant, ähnliche Versuche wie in dieser Studie mit dem EMPHO alleine durchzuführen, um durch die IVM und durch die dafür nötige Präparation hervorgerufene Artefakte und Störungen besser einschätzen zu können. Insbesondere die Oszillationen der $Hb_{Sat}O_2$ und des $rel.[Hb]$, die in dieser Arbeit beobachtet wurden und unter 8.2.2.2, S.112 beschrieben wurden, sind eine eingehende Untersuchung wert. Aber auch weitere Studien mit der Kombination der IVM mit dem EMPHO - an anderen Organen und auch am Darm mit eventuell verbesserter Präparation (z.B. im Wasserbad), um einige in dieser Studie genannte methodische Schwierigkeiten zu umgehen - versprechen aufschlussreiche Ergebnisse, da beide Methoden sich ergänzen. Der Erfassungsbereich von IVM und EMPHO ist nahezu gleich, und durch den in dieser Arbeit vorgestellten Versuchsaufbau ist es möglich, an identischen Messfeldern zu messen, so dass die beiden Methoden auch in künftigen Studien direkt in Beziehung gesetzt werden können.

Vor allem aber scheinen nun klinische Studien mit dem EMPHO gewinnbringend, nachdem sich das EMPHO im Tierexperiment als probate Methode gezeigt hat.

Fazit

Insgesamt erwies sich das EMPHO in dieser Arbeit als zuverlässige und einfach handzuhabende Methode, die äußerst aufschlussreiche Ergebnisse liefert. Zwar kann das EMPHO die IVM nicht ersetzen, doch wäre nach den Ergebnissen dieser Arbeit der Einsatz des EMPHO zur Untersuchung der Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes zu favorisieren, wenn man sich auf eine der beiden Methoden beschränken muss. Weitere Studien mit dem EMPHO wären wünschenswert, um die Informationen, die es liefert, besser zu verstehen und voll ausschöpfen zu können.

Abbildungsverzeichnis

1.1	Schema Intravitalmikroskopie nach [30]	8
1.2	Beispiel Mikroskopbild	9
1.3	Schema EMPHO II nach [34]	11
1.4	Schema Lichtleiterkabel nach [34]	12
1.5	Küvettenpektrum nach [35]	12
1.6	Schema polarographische Sauerstoffsonde nach [39]	13
1.7	Mikrokathetersonde des LICOX nach [39]	14
2.1	Präparierter Darmabschnitt	18
2.2	Schema Präparierter Darmabschnitt	18
2.3	Photo Versuchsaufbau	19
2.4	Halterung für das Lichtleiterkabel	21
2.5	Zeitlicher Ablauf der Messung in der Gruppe Hypoxie	22
3.1	Vorversuch LICOX ohne Manipulation	28
3.2	Vorversuch LICOX unter Hypovolämie	30
3.3	Vorversuch LICOX unter Hypoxie	32
4.1	Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$ in der Kontrollgruppe	35
4.2	Korrelation IVM/EMPHO in der Kontrollgruppe	36
4.3	Ergebnisse der drei Methoden unter Hypovolämie	38
4.4	Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$ unter Hypovolämie	39
4.5	Korrelation IVM/EMPHO unter Hypovolämie	40
4.6	Ergebnisse der drei Methoden unter Gefäßclamping	42
4.7	Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$ unter Gefäßclamping	43
4.8	Weitere Beispiele des Verlaufs der $Hb_{Sat}O_2$ unter Hypovolämie	43
4.9	Weitere Beispiele des Verlaufs der rel. $[Hb]$ unter Hypovolämie	44
4.10	Korrelation IVM/EMPHO unter Gefäßclamping	44
4.11	Ergebnisse der drei Methoden unter Hypoxie	46
4.12	Korrelation BGA/IVM unter Hypoxie	47
4.13	Korrelation BGA/EMPHO unter Hypoxie	48
4.14	Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$ unter Hypoxie	49
4.15	Korrelation IVM/EMPHO unter Hypoxie	50

4.16	Ergebnisse der drei Methoden unter Colitis	52
4.17	Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$ unter milder Colitis	53
4.18	Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$ unter ausgeprägter Colitis	53
4.19	Verlauf der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$ unter schwerster Colitis	54
4.20	Korrelation IVM/EMPHO unter Colitis	55
5.1	Gruppenmittelwerte der drei Methoden	57
5.2	Gruppenübergreifende Korrelation IVM/EMPHO	59
5.3	Gruppenübergreifende Korrelation IVM/LICOX	60
5.4	Gruppenübergreifende Korrelation EMPHO/LICOX	61
7.1	Schema Gefäßarchitektur nach [56]	72
7.2	Rasterelektronenmikroskopaufnahme Rattencolon nach [57]	72
7.3	Rasterelektronenmikroskopaufnahme menschliches Colon nach [57]	73
7.4	Schema der Anordnung der Lichtleiterfasern und der von ihnen erfassten Fläche nach [50]	75
7.5	Kalibrierungsvorgang nach [35]	76
7.6	Beispiel Mikroskopbild unter Gefäßclamping	84
7.7	Beispiel Mikroskopbild in der Kontrollgruppe	85
7.8	Beispiel Mikroskopbild unter Colitis	86
7.9	Vergleich des systemischen Hämatokrit	91
7.10	Korrelation IVM/EMPHO unter Hypovolämie mit Berücksichtigung des Hämatokrits	92
7.11	Schema Einzugsbereich der polarographischen Sonde	101
8.1	Beispiel Mikroskopbild unter Colitis mit Stase	110
8.2	Oszillation der $Hb_{Sat}O_2$ und der rel. $[Hb]$	113
8.3	Ausschnitt 1 aus 8.2	114
8.4	Ausschnitt 2 aus 8.2	114
8.5	Sauerstoffbindungskurve nach [132]	116

Literaturverzeichnis

- [1] B. Fagrell, A. Fronik, and M. Intaglietta. A microscope-television system for studying flow velocity in human skin capillaries. *Am J Physiol*, 233(2):H318 – H321, 1977.
- [2] G.A. Scardina and P. Messina. Study of the microcirculation of oral mucosa in healthy subjects. *Ital J Anat Embryol*, 108(1):39–48, 2003.
- [3] G.A. Scardina. The effect of cigar smoking on the lingual microcirculation. *Odontology*, 93(1):41–45, 2005.
- [4] M. Kruschewski, C. Busch, A. Doerner, and W. Lierse. Scanning electron microscopic and light microscopic examinations of the colonic angioarchitecture in Crohn’s disease and ulcerative colitis. *Langenbecks Arch Chir*, 380:253–259, 1995.
- [5] M. Kruschewski, J. Rohweder, T. Foitzik, H. Hotz, and H.J. Buhr. Nachweis signifikanter Störungen der Darmmikrozirkulation bei verschiedenen Colitis-Modellen. *Langenbecks Arch Chir [Suppl. 1]*, pages 435–437, 1997.
- [6] P. Schneider, T. Foitzik, S. Kahrau, A. Podufal, and H.J. Buhr. An experimental rat model for studying pulmonary microcirculation by in vivo videomicroscopy. *Microvasc Res*, 62:421–434, 2001.
- [7] T. Foitzik, M. Stufler, H.G. Hotz, et al. Glutamine stabilizes intestinal permeability and reduces pancreatic infection in acute experimental pancreatitis. *J Gastrointest Surg*, 1:40–47, 1997.
- [8] B. Forgacs, G. Eibl, E. Wudel, et al. RES function and liver microcirculation in the early stage of acute experimental pancreatitis. *Hepatogastroenterology*, 50(51):861–866, 2003.
- [9] T. Foitzik, G. Eibl, B. Hotz, et al. Persistent multiple organ microcirculatory disorders in severe acute pancreatitis: experimental findings and clinical implications. *Dig Dis Sci*, 47(1):130–138, 2002.

- [10] F.W. Leung, T. Morishita, E.H. Livingston, T. Reedy, and P. Guth. Reflectance spectrophotometry for the assessment of gastroduodenal mucosal perfusion. *Am J Physiol*, 252(Gastrointest Liver Physiol 15):G797 – G804, 1987.
- [11] T. Kamada, S. Kawano, N. Sato, M. Fukuda, H. Fusamoto, and H. Abe. Gastric mucosal blood distribution and its changes in the healing process of gastric ulcer. *Gastroenterol*, 84:1541 – 1546, 1983.
- [12] F.W. Leung, D.N. Wong, J. Lau, E.M. Bondoc, R. Hsu, and J.W. Leung. Endoscopic assessment of blood flow in duodenal ulcers. *Gastrointest Endosc*, 40(3):334 – 341, 1994.
- [13] W. Hasibeder, R. Germann, H. Sparr, et al. Vasomotion induces regular major oscillations in jejunal mucosal tissue oxygenation. *Am J Physiol*, 266:G978 – G986, 1994.
- [14] M. Kessler and J. Höper. Spatial distribution of oxygen supply units in heart and skeletal muscle and their regulatory significance. In W. Erdmann and D.F. Bruley, editors, *Oxygen Transport to Tissue*, volume XIV, pages 218–223. Plenum Press, New York, 1992.
- [15] S.M. Rajbhandari, N.D. Harris, S. Tesfaye, and J.D. Ward. Early identification of diabetic foot ulcers that may require intervention using the micro lightguide spectrophotometer. *Diabetes Care*, 22(8):1292 – 1295, 1999.
- [16] K.D. Wolff, C. Marks, B. Uekermann, M. Specht, and K.H. Frank. Monitoring of flaps by measurement of intracapillary haemoglobin oxygenation with EMPHO II: experimental and clinical study. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 34(6):524 – 529, 1996.
- [17] D. Tauscheck, J. Höper, M.R. Gaab, and M. Kessler. Monitoring of cortical intracapillary hemoglobin oxygenation in patients during brain surgery - first results. In W. Erdmann and D.F. Bruley, editors, *Oxygen Transport to Tissue*, volume XIV, pages 737–742. Plenum Press, New York, 1992.
- [18] M. Proescholdt, A. Heimann, and O. Kempfski. Neuroprotection of S(+) ketamine isomer in global forebrain ischemia. *Brain Res*, 904:245–251, 2001.
- [19] S.M. Pastores, D.P. Katz, and V. Kvetan. Splanchnic ischemia and gut mucosal injury in sepsis and the multiple organ dysfunction syndrome. *Am J Gastroenterol.*, 91(9):1697–710, 1996.
- [20] T. Foitzik, M. Kruschewski, A. Kroesen, and H. Buhr. Does microcirculation play a role in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases? Answers from intravital microscopic studies in animal models. *Int J Colorectal Dis*, 14:29–34, 1999.

- [21] K.C. Su, F.W. Leung, and P.H. Guth. Assessment of mucosal hemodynamics in normal human colon and patients with inflammatory bowel disease. *Gastrointest Endosc*, 35:22–27, 1989.
- [22] F.W. Leung and A. Koo. Mucosal vascular stasis precedes loss of viability of endothelial cells in rat acetic acid colitis. *Dig Dis Sci*, 36:727–732, 1991.
- [23] F.W. Leung, K.C. Su, Y. Yonai, E. Passaro, and P.H. Guth. Regional differences in mucosal hemodynamics in experimental colonic injury in rats. *Dig Dis Sci*, 38:1220–1223, 1993.
- [24] M. Siedler. *Mikrolichtleiter-Spektrophotometrie als intraoperatives Testverfahren fuer Darmanastomosen*. PhD thesis, Universität Erlangen-Nürnberg, 1992.
- [25] A. Otto, C. Pocha, G. Kehrer, H. Hoyer, H. Bosseckert, and K. Eitner. Spektrophotometrische Untersuchungen an der Rektumschleimhaut in vivo. <http://www.med.uni-jena.de/kim1/OTTO001.htm>, 2004.
- [26] H.G. Hotz, T. Foitzik, J. Rohweder, et al. Intestinal microcirculation and gut permeability in acute pancreatitis: early changes and therapeutic implications. *J Gastrointest Surg*, 2(6):518–525, 1998.
- [27] E.C. Butcher and I.L. Weissman. Direct fluorescent labeling of cells with fluorescein or rhodamine isothiocyanate. I: technical aspects. *J Immunol Methods*, 37:97–108, 1980.
- [28] I.H. Sarelius and B.R. Duling. Direct measurement of microvessel hematocrit, red cell flux, velocity, and transit time. *Am J Physiol*, 243:H1018–H1026, 1982.
- [29] K. Mithöfer, J. Schmidt, M.M. Gebhard, H.J. Buhr, Ch. Herfarth, and E. Klar. Measurement of blood flow in pancreatic exchange capillaries with FITC-labeled erythrocytes. *Microvasc Res*, 49:33–48, 1995.
- [30] N. Funakoshi, M. Onizuka, K. Yanagi, et al. A new model of lung metastasis for intravital studies. *Microvasc Res*, 59:361 – 367, 2000.
- [31] B. Zimmerhackl, R. Dussel, and M. Steinhausen. Erythrocyte flow and dynamic hematocrit in the renal papilla of the rat. *Am J Physiol*, 249:F898–F902, 1985.
- [32] S.A. Skinner and P.E. O’Brian. The microvascular structure of the normal colon in rats and humans. *J Surg Res*, 61:482–490, 1995.
- [33] K.H. Albrecht, P. Gaehtgens, A. Pries, and M. Heuser. The Fahraeus effect in narrow capillaries (i.d. 3.3 to 11.0 μm). *Microvasc Res*, 18:33–47, 1979.

- [34] M. Kasler, W. von Glaß, H.-P. Albrecht, and T. Lang. Nichtinvasive intraoperative Messung der intrakapillären Hämoglobinoxygenierung und relativen Hämoglobinkonzentration in Hautlappenplastiken. *HNO*, 38(10):375 – 378, 1990.
- [35] K.H. Frank, M. Kessler, K. Appelbaum, and W. Dümmler. The Erlangen micro-lightguide spectrophotometer EMPHO I. *Phys Med Biol*, 34(12):1883–1900, 1989.
- [36] W. Dümmler. *Bestimmung von Hämoglobin-Oxygenierung und relativer Hämoglobinkonzentration in biologischen Systemen durch Anwendung der Kubelka-Munk-Theorie*. PhD thesis, Nat. Fak. I Universität Erlangen-Nürnberg, 1988.
- [37] P. Kubelka and F. Munk. Ein Beitrag zur Optik der Farbanstriche. *Z f tech Phys*, 11a:76–77, 1931.
- [38] L.C. Clark. U.s. patent 2,913,386, 1957.
- [39] *LICOX CMP, Monitoring der Gewebe-Oxygenierung*. Kiel-Mielkendorf. (Produktinformation).
- [40] C.E. Mortimer. *Chemie. Das Basiswissen der Chemie.*, Lehrbuch Kapitel 20, pages 325–327. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1987.
- [41] M. Kessler, D.K. Harrison, and J. Höper. Tissue oxygen measurement techniques. In C.D. Baker and W.L. Nastuk, editors, *Microcirculatory technology*, chapter 24, pages 391–425. Academic Press, new York, 1986.
- [42] G.P. Morris, P.L Beck, M.S. Herridge, W.T. Depew, M.R. Szewczuk, and J.L Wallaca. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterol*, 96:795–803, 1989.
- [43] G.L.J.A. Rikken and B.A. van Tiggelen. Observation of magneto-transverse light diffusion. *Nature*, 381:54–55, 1996.
- [44] G. Düchs. *Scattering of photons and surface plasmon polaritons in magnetic fields*. PhD thesis, Universität Konstanz, 2003.
- [45] H.C. van de Hulst. *Light Scattering by Small Particles.*, textbook chapter 7, page 85 ff. Dover Publications, Inc., New York, 1981.
- [46] H.C. van de Hulst. *Light Scattering by Small Particles.*, textbook chapter 9, page 119 ff. Dover Publications, Inc., New York, 1981.
- [47] M. Kessler, K. Frank, J. Höper, D. Tauschek, and J. Zündorf. Reflection spectrometry. In W. Erdmann and D.F. Bruley, editors, *Oxygen Transport to Tissue*, volume XIV, pages 219–231. Plenum Press, New York, 1992.

- [48] M. Kessler and K. Frank. The Erlangen micro-lightguide spectrophotometer EMPHO I. In K. Frank and M. Kessler, editors, *Quantitative spectroscopy in tissue*, pages 61 – 74. pmi-Verlagsgruppe, Frankfurt am Main, 1992.
- [49] F.F. Jöbsis. Principles of multiwavelength near infrared spectroscopy for assessing oxidative metabolism. In K. Frank and M. Kessler, editors, *Quantitative spectroscopy in tissue*, pages 47 – 60. pmi-Verlagsgruppe, Frankfurt am Main, 1992.
- [50] J. Höper and L. Plasswilm. Micro-light guide spectrophotometric measurement of changes in local haemoglobin oxygenation and concentration in the rabbit lung induced by hypoxia and hyperoxia. *Int J Microcirc Clin Exp*, 14:282–288, 1994.
- [51] J. Höper and M.R. Gaab. Effect of arterial pCO_2 on local HbO_2 and relative Hb concentration in the human brain - a study with the Erlangen micro-lightguide spectrophotometer (EMPHO). *Physiol Meas*, 15:107 – 113, 1994.
- [52] N. Sato, T. Kamada, S. Motoaki, S. Kawano, H. Abe, and B. Hagihara. Measurements of hemoperfusion and oxygen sufficiency in gastric mucosa in vivo. *Gastroenterol*, 76:814 – 819, 1979.
- [53] D.K. Harrison, N. Hagen, S. Birkenhake, K. Frank, and M. Kessler. Sodium fluorescein clearance and hydrogen washout techniques for measurement of blood flow distribution in skeletal muscle. In K. Frank and M. Kessler, editors, *Quantitative Spectroscopy in Tissue*, pages 184 – 192. pmi-Verlagsgruppe, Frankfurt am Main, 1992.
- [54] K. Frank, R. Funk, M. Kessler, and J.W. Rohen. Spectrometric measurements in the anterior eye vasculature of the albino rabbit - a study with the EMPHO I. *Exp Eye Res*, 52:301 – 309, 1991.
- [55] K. Frank, M. Kessler, J. Wiesner, and A. Wokaun. Analysis of multiple multipole scattering by time-resolved spectroscopy and angular dependent spectrometry. In W. Erdmann and D.F. Bruley, editors, *Oxygen Transport to Tissue*, volume XIV, pages 261–266. Plenum Press, New York, 1992.
- [56] J. Browning and B. Gannon. Mucosal microvascular organisation of the rat colon. *Acta anat*, 126:73 – 77, 1986.
- [57] S.A. Skinner and P.E. O'Brien. Microvascular structure of the normal colon in rats and humans. *J Surg Res*, 61:482 – 490, 1996.
- [58] O.W. van Assendelft, W.G. Zijlstra, and E.J. van Kampen. Haemoglobinometry: challenges and pitfalls. *Proc K Ned Akad Wet C*, 73(1):104–112, 1970.

- [59] D.K. Harrison, S.D. Evans, N.C. Abbot, J. Swanson Beck, and P.T. McCollum. Spectrophotometric measurements of haemoglobin saturation and concentration in skin during the tuberculin reaction in normal human subjects. *Clin Phys Physiol Meas*, 13(4):349 – 363, 1992.
- [60] A. Zeek, S. Eick, B. Krone, and K. Schröder. *Chemie für Mediziner.*, Lehrbuch Kapitel 18, pages 313–315. Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1990.
- [61] M. Tsujii, S. Kawano, S. Tsuji, et al. Colonic mucosal hemodynamics and tissue oxygenation in patients with ulcerative colitis: Investigation by organ reflectance spectrophotometry. *J Gastroenterol*, 30:183 – 188, 1995.
- [62] J. Zündorf, D. Tauschek, K. Frank, et al. Monitoring of redox-state of respiratory enzymes and myoglobin oxygenation in the working rat heart in normoxia and oxygen deficiency. *Adv Exp Med Biol*, 317:583–592, 1992.
- [63] K. Frank, M. Kessler, K. Appelbaum, J. Zündorf, H.P. Albrecht, and G. Siebenhaar. In situ monitoring of organs. In J.L. Berk and J.E. Sampliner, editors, *Handbook of critical care, Third edition*, pages 145–158. Little, Brown and Company, 1990.
- [64] J. Höper and M.R. Gaab. Effect of arterial pCO_2 on local HbO_2 and relative Hb concentration in the human brain - a study with the Erlangen micro-lightguide spectrometer (EMPHO). *Physiol Meas*, 15:107–113, 1994.
- [65] L. Holm-Rutili and K.J. Öbrink. Rat gastric mucosal microcirculation in vivo. *Am J Physiol*, 248:G741–G746, 1985.
- [66] M. Knoblauch and C.H. Holliger. Mikrozirkulationsstudien am villus des Rattendünndarmes in vivo. *Schweiz Med Wochenschr*, 107:1391–1399, 1977.
- [67] M. Kruschewski, T. Foitzik, A. Perez-Canto, A. Hubotter, and H.J. Buhr. Changes of colonic mucosal micorcirculation and histology in two colitis models. An experimental study using intravital microscopy and a new histological scoring system. *Dig Dis Sci*, 46(11):2336–2343, 2001.
- [68] T. Matuhasi, M.T. Usui, and H. Nariuchi. Studies on the reactions between fluorescent blood cells and antifuorescein antibodies in vivo and in vitro. *Ann N Y Acad Sci*, 177:467–480, 1971.
- [69] H.C. Tsang, H.J. Granger, and G.M. Ihler. Visualisation of fluorescent erythrocytes in the microcirculation. *Exp Hematol*, 13(8):811–816, 1985.
- [70] F.N. Miller, I.G. Joshua, and G.L. Anderson. Quantitation of vasodilator induced macromolecular leakage by in vivo fluorescent microscopy. *Microvasc Res*, 24:56–67, 1982.

- [71] M.P. Boric, J.S. Roblero, and W.N. Duran. Quantitation of bradykinin-induced microvascular leakage of FITC-dextran in rat cremaster muscle. *Microvasc Res*, 33(3):397–412, 1987.
- [72] M.J. White, F.N. Miller, L.S. Heuser, and C.G. Pietsch. Human malignant ascitis and histamine-induced protein leakage from the normal microcirculation. *Microvasc Res*, 35:63–67, 1988.
- [73] K.S. Herrmann. Platelet aggregation induced in the hamster cheek pouch by a photochemical process with excited fluorescein isothiocyanate-dextran. *Microvasc Res*, 26:238–249, 1983.
- [74] F.N. Miller, D.E. Sims, D.A. Schuschke, and D.L. Abney. Differentiation of light-dye effects in the microcirculation. *Microvasc Res*, 44:166–184, 1992.
- [75] W.I. Rosenblum. Fluorescence induced in platelet aggregates as a guide to luminal contours in the presence of platelet aggregation. *Microvasc Res*, 15:103–106, 1978.
- [76] W.I. Rosenblum and F. El-Sabban. Use of AHR-5850 and AHR-6293 to distinguish the effect of anti-platelet aggregating drug properties from the effect of anti-inflammatory properties on an vivo model of platelet aggregation. *Microvasc Res*, 17:309–313, 1979.
- [77] W.I. Rosenblum, F. El-Sabban, and E.F. Ellis. Aspirin and indomethacin enhance platelet aggregation in mouse mesenteric arterioles. *Am J Physiol*, 239 (Heart Circ Physiol 8):H220–H226, 1980.
- [78] D.A. Schuschke, J.T. Saari, D.M. Ackermann, and F.N. Miller. Microvascular responses in copper deficient rats. *Am J Physiol*, 257(Heart Circ Physiol 26):H1607–H1612, 1989.
- [79] J.T. Povlishock, W.I. Rosenblum, M.M. Sholley, and E.P. Wei. An ultrastructural analysis of endothelial change paralleling platelet aggregation in a light/dye model of microvascular insult. *Am J Pathol*, 110:148–160, 1983.
- [80] D.M. Gawlowski, N.R. Harding, and H.J. Granger. Leucocyte phagocytosis and alterations in microvascular integrity elicited by FITC-dextran 150 and epi-illumination in the microcirculation of the hamster cheek pouch. *Microvasc Res*, 37:1–15, 1989.
- [81] M.W.R. Reed and F.N. Miller. Importance of light dose in fluorescent microscopy. *Microvasc Res*, 36:104–107, 1988.

- [82] C.S. Foote. Mechanisms of photooxygenation. In D.R. Doiron and C.J. Gones, editors, *Porphyrin localization and treatment of tumors.*, pages 3–18. A.R. Liss, New York, 1984.
- [83] M. Sato and N. Ohshima. Platelet thrombus induced in vivo by filtered light and fluorescent dye in mesenteric microvessels of the rat. *Thromb Res*, 35(3):319–334, 1984.
- [84] D.E. Paglia. Biochemistry of the red cell. In R. Hoffman, E.J. Benz, S.J. Shattil, B. Furie, and H.J. Cohen, editors, *Hematology, basic principles and practice.*, pages 269–273. Churchill Livingstone, New York, 1991.
- [85] T. Klyszcz, M. Jünger, F. Jung, and H. Zeintl. Cap Image - ein neuartiges computergestütztes Videobildanalyse-System für die dynamische Kapillarmikroskopie. *Biomed Tech*, 42:168–175, 1997.
- [86] I.H. Sarelius and S.M. McKinlay. Statistical constraints on microvascular measurements using fluorescent erythrocytes. *Am J Physiol*, 248(Heart Circ Physiol 17):H577–H586, 1985.
- [87] E. Vicaut. Statistical estimation of parameters in microcirculation. *Microvasc Res*, 32(2):244–247, 1986.
- [88] A.P. Shepherd. Role of capillary recruitment in the regulation of intestinal oxygenation. *Am J Physiol*, 242 (Gastrointest Liver Physiol 5):G435–G441, 1982.
- [89] A. Krogh. The supply of oxygen to the tissues and the regulation of capillary circulation. *J Physiol*, 52:457–474, 1919.
- [90] H. Danneel. Über den durch diffundierende Gase hervorgerufenen Reststrom. *Z f Elektrochem*, 9:227 – 232, 1897.
- [91] P.W. Davies and F. Brink. Microelectrodes for measuring local oxygen tensions in animal tissues. *Rev Sci Instrum*, 13:524, 1942.
- [92] L.C. Clark. Monitor and control of blood and tissue oxygen tensions. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, 2:41 – 45, 1956.
- [93] W.J. Whalen, J. Riley, and P. Nair. A microelectrode for measuring intracellular pO_2 . *J Appl Physiol*, 23(5):798–801, 1967.
- [94] W. Fleckenstein, A. Schäffler, R. Heinrich, C. Petersen, M. Günderoth-Palmowski, and G. Nollert. On the differences between muscle pO_2 measurements obtained with hypodermic needle probes and with multiwire surface probes. In A. M. Ehrly, W. Fleckenstein, J. Hauss, and R. Huch, editors, *Clinical Oxygen Pressure Measurement*, volume II, pages 256–278. Verlag Blackwell Ueberreuther Wissenschaft, Berlin, 1990.

- [95] M. Mochizuki and Bartels S.H. Ampèrometrische messung des O_2 -druckes im vollblut mit der blanken platinelektrode. *Pflugers Arch*, 261(2):152–161, 1955.
- [96] J. Hauss, K. Schönleben, and H.U. Spiegel. Therapiekontrolle durch Überwachung des Gewebe pO_2 . In *Aktuelle Probleme in der Angiologie*, volume 41. Verlag Huber, Bern, CH, 1982.
- [97] M. Müller, R. Schück, U. Erkens, J. Sticher, C. Haase, and G. Hempelmann. Auswirkungen der epiduralen Bupivacaingabe auf den Gewebe- pO_2 des Dickdarms beim Menschen. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 30(2):108–110, 1995.
- [98] M. Kessler and W. Grunewald. Possibilities of measuring oxygen pressure fields in tissue by multiwire platinum electrodes. *Progr Respir Res*, 3:147–152, 1969.
- [99] D.W. Lübbers, H. Baumgärtl, H. Fabel, et al. Principle of construction and application of various platinum electrodes. *Progr Respir Res*, 3:136–146, 1968.
- [100] U. Schramm, W. Fleckenstein, and C. Weber. Morphological assesment of skeletal muscular injury caused by pO_2 measurements with hypodermic needle probes. In A. M. Ehrly, W. Fleckenstein, J. Hauss, and R. Huch, editors, *Clinical Oxygen Pressure Measurement*, volume II, pages 38–50. Verlag Blackwell Ueberreuther Wissenschaft, Berlin, 1990.
- [101] H. Baumgärtl and D.W. Lübbers. Microaxial needle sensor for polarographic measurement of local O_2 pressure in the cellular range of living tissue. its construction and properties. In Gnaiger and Forster, editors, *Polarographic Oxygen Sensors*, chapter chapter I.4, pages 37–65. Springer, Berlin, 1983.
- [102] P. Eberhard, W. Fehlmann, and W. Mindt. An electrochemical sensor for continuous intravascular oxygen monitoring. *Biotelem Patient Monit*, 6:16–31, 1979.
- [103] M.B. Hirigoyen, K.E. Blackwell, W.Y. Zhang, L. Silver, H. Weinberg, and M.L. Urken. Continuous tissue oxygen tension measurement as a monitor of free-flap viability. *Plast Reconstr Surg*, 99(3):763–773, 1997.
- [104] G. Wechselberger, A. Rumer, Th. Schoeller, A. Schwabegger, M. Ninkovic, and H. Anderl. Free-flap monitoring with tissue oxygen measurement. *J Reconstr Microsurg*, 13(2):125–130, 1997.

- [105] M. Weiss, D. Hellner, and R. Schmelzle. Monitoring mikrovaskulärer Osteomyokutanlappen durch Messungen des Gewebesauerstoffdrucks. In K. Schuchardt and N. Schwenzer, editors, *Fortschritte der Kiefer- und Gesichtschirurgie*, volume 40, pages 162–164. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, N.Y., 1995.
- [106] S. Steckeler, B. Fleiner, and W. Fleckenstein. Die pO_2 -Messung im gefäßgestielten Knochenspan. In R. Schmelzle and R. Bschorer, editors, *Plastische und Wiederherstellungschirurgie*, pages 27–31. UNI-MED Verlag AG, Bremen, 1994.
- [107] V.E. Hjortdal, T.B. Henriksen, D. Kjolseth, E.S. Hansen, J.C. Djurhuus, and F. Gottrup. Tissue oxygen tension in myocutaneous flaps. correlation with blood flow and blood gases. *Eur J Surg*, 157(5):307–311, 1991.
- [108] W. Grunewald. *Zur Theorie der Ausgleichsvorgänge an Pt-Elektroden und ihre mathematischen Grundlagen*. PhD thesis, Universität Marburg, 1966.
- [109] W. Grunewald. Digitale Simulation eines räumlichen Diffusionsmodelles der O_2 -Versorgung biologischer Gewebe. *Pflugers Arch*, 309:266–284, 1969.
- [110] W. Grunewald. Diffusionsfehler und Eigenverbrauch der Pt-Elektrode bei pO_2 -Messungen im steady state. *Pflugers Arch*, 320:24–44, 1970.
- [111] W. Grunewald. Einstellzeit der Pt-Elektrode bei Messungen nicht stationärer O_2 -Partialdrucke. *Pflugers arch*, 322:109–130, 1971.
- [112] F. Jung, H. Toonem, H. Mrowietz, and H. Kiesewetter. Fehleranalyse der intramuskulären pO_2 -Messung, technische und biologische Validierung. *Med Tech*, 2(3):14–18, 1991.
- [113] T.C. Jansen, H.N. Lafeber, H.K.A. Visser, G. Kwant, B. Oeseburg, and W.G. Zijlstra. Construction and performance of a new catheter-tip oxygen electrode. *Med Biol Eng Comput*, 16:274–277, 1978.
- [114] K.L. Kiening, A.W. Unterberg, T.F. Bardt, G.-H. Schneider, and W.R. Lanksch. Monitoring of cerebral oxygenation in patients with severe head injuries : brain tissue pO_2 versus jugular vein oxygen saturation. *J Neurosurg*, 85:751–757, 1996.
- [115] H. van Santbrink, A.I.R. Maas, and C.J.J. Avezaat. Continuous monitoring of partial pressure of brain tissue oxygen in patients with severe head injury. *Neurosurgery*, 1996.
- [116] C.A. Jacobi, H.U. Zieren, J. Zieren, and J.M. Müller. Is tissue oxygen tension during esophagectomy a predictor of esophagogastric anastomotic healing? *J Surg Res*, 74:161–164, 1998.

- [117] Y. Shibata, M. Taruishi, and T. Ashida. Experimental ileitis in dogs and colitis in rats with trinitrobenzene sulfonic acid - colonoscopic and histopathologic studies. *Gastroenterol Jpn*, 28:518–527, 1993.
- [118] E.R. Clark and E.L. Clark. Observations on living preformed blood vessels as seen in a transparent chamber implanted in the rabbits ear. *Am J Anat*, 49:441–474, 1932.
- [119] B.W. Zweifach, R.E. Lee, C. Hyman, and R. Chambers. Omental circulation in morphinized dogs subjected to graded hemorrhage. *Ann Surg*, 120:232–250, 1944.
- [120] P.A. Nicoll and R.L. Webb. Vascular patterns and active vasomotion as determiners of flow through minute vessels. *Angiology*, 6:291–303, 1955.
- [121] K.E. Arfors, D. Bergqvist, M. Intaglietta, and B. Westergren. Measurements of blood flow velocity in the microcirculation. *Ups J Med Sci*, 80(1):27–33, 1975.
- [122] P.C. Johnson and H. Wayland. Regulation of blood flow in single capillaries. *Am J Physiol*, 212:1405–1415, 1967.
- [123] M.P. Wiedemann. Effect of venous flow on frequency of vasomotion in the bat wing. *Circ Res*, 5(6):641–644, 1957.
- [124] C.A. Wiederhielm and B.V. Weston. Microvascular lymphatic and tissue pressure in the unanesthetized mammal. *Am J Physiol*, 225:992–996, 1973.
- [125] W. Funk, B. Endrich, K. Messmer, and M. Intaglietta. Spontaneous arteriolar vasomotion as a determinant of peripheral vascula resistance. *Int J Microcirc Clin Exp*, 2(1):11–25, 1983.
- [126] E. Klar, B. Endrich, and K. Messmer. Microcirculation of the pancreas. A quantitative study of physiology and changes in pancreatitis. *Int J Microcirc Clin Exp*, 9(1):85–101, 1990.
- [127] A. Colantuoni, A. Bertuglia, M. Intaglietta, and J.F. Gross. Microangiodynamics in the artifact free microcirculation. *Int J Microcirc Clin Exp*, 1:265, 1982.
- [128] A.P. Shepherd and G.L. Riedel. Effect of pulsatile pressure and metabolic rate on intestinal autoregulation. *Am J Physiol*, 242(5):H769–H775, 1982.
- [129] T. Foitzik, D.G. Bassi, C. Fernández-del Castillo, A.L. Warshaw, and D.W. Rattner. Intravenous contrast medium impairs oxygenation of the pancreas in acute necrotizing pancreatitis in the rat. *Arch Surg*, 129:706–711, 1994.

- [130] F.W. Leung, T. Morishita, E.H. Livingston, T. Reedy, and P.H. Guth. Reflectance spectrophotometry for the assessment of gastroduodenal mucosal perfusion. *Am J Physiol*, 252:G797–G804, 1987.
- [131] T. Yamaguchi. Relationship between gastric mucosal hemodynamics and gastric motility. *Gastroenterol Jpn*, 25:299–305, 1990.
- [132] S. Silbernagl and A. Despopoulos. *Taschenatlas der Physiologie.*, page 101. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1983.
- [133] C.A. Jacobi, H.U. Zieren, J.M. Müller, F. Adili, and H. Pichlmaier. Anastomotic tissue oxygen tension during esophagectomy in patients with esophageal carcinoma. *Eur Surg Res*, 28:26–31, 1996.

Anhang

Im folgenden Anhang finden sich für alle Tiere alle Messparameter ($Hb_{Sat}O_2$, rel. $[Hb]$, CBF, $p_{muc}O_2$, RR, BGA, Hkt) aus allen Messfeldern in tabellarischer Form aufgeschlüsselt.

Die letzte Zeile jeder Tabelle gibt für $Hb_{Sat}O_2$, rel. $[Hb]$ und CBF den Mittelwert über die drei Felder wider. Für $p_{muc}O_2$ steht dort der wie zu Beginn von Kapitel 4, S. 33 beschrieben gemittelte Wert.

Die Werte der BGA, für den RR und den Hkt, die in der ersten Zeile jeder Tabelle stehen, wurden vor der Messung am ersten Feld bestimmt, und die, die in der letzten Zeile stehen, nach dem dritten Feld, also am Ende des gesamten Messvorganges.

Für die Gruppe D: Hypoxie werden die Werte der BGA in gesonderten Tabellen für jedes Tier dargestellt.

Gruppe A: Kontrolle

Tier A1	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$56,0 \pm 5,5$	$0,9 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$		160	7,34	34,5	102,7	-6,2	46
Feld 2	$59,5 \pm 3,7$	$1,0 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,1$		100					
Feld 3	$52,6 \pm 4,9$	$0,7 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,1$		100					
	$55,1 \pm 5,5$	$0,9 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,2$	$38,4 \pm 2,6$	100	Probenfehler				45

Tier A2	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$48,6 \pm 5,2$	$1,0 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,1$		105	7,26	47,3	77,9	-6,4	49
Feld 2	$67,4 \pm 4,2$	$0,8 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,1$		80					
Feld 3	$62,9 \pm 2,9$	$0,8 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,1$		80					
	$59,6 \pm 9,1$	$0,9 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,4$	$34,9 \pm 5,7$	80	Probenfehler				47

Tier A3	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$54,5 \pm 2,6$	$1,0 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,2$		80	7,30	38,8	98,1	-6,8	46
Feld 2	$64,5 \pm 3,7$	$2,9 \pm 0,2$			80					
Feld 3	$77,4 \pm 3,0$	$1,3 \pm 0,2$	$2,6 \pm 0,2$		90					
	$65,5 \pm 9,8$	$1,7 \pm 0,8$	$2,4 \pm 0,2$	$36,6 \pm 2,6$	90	Probenfehler				46

Gruppe A: Kontrolle

Tier A4	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$65,7 \pm 6,4$	$1,1 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,2$		85	7,34	37,1	117,3	-5,2	49
Feld 2	$62,3 \pm 2,8$	$0,6 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,1$		140					
Feld 3	$64,4 \pm 4,7$	$2,1 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,1$		80					
	$64,1 \pm 5,0$	$1,2 \pm 0,6$	$2,7 \pm 0,1$	$42,8 \pm 2,8$	80	7,36	34,4	103,2	-5,4	48

Tier A5	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$56,4 \pm 6,2$	$1,0 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,4$		135	7,32	49,4	122,4	-0,8	46
Feld 2	$63,0 \pm 1,0$	$1,4 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,5$		100					
Feld 3	$69,6 \pm 1,2$	$0,9 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,5$		130					
	$63,0 \pm 6,5$	$1,1 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,1$	$39,1 \pm 2,4$	120	7,37	41,3	123,1	-1,2	46

Tier A6	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$65,5 \pm 12,1$	$0,9 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,2$		120	7,32	51,8	85,1	-0,8	47
Feld 2	$78,5 \pm 1,4$	$1,1 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,1$		120					
Feld 3	$72,5 \pm 1,0$	$1,1 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,2$		135					
	$72,2 \pm 8,5$	$1,1 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,2$	$42,8 \pm 3,3$	120	7,29	45,7	90,2	-1,1	45

Gruppe A: Kontrolle

Tier A7	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$74,1 \pm 1,9$	$0,5 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,4$		140	7,34	47,7	98,6	-0,9	47
Feld 2	$77,3 \pm 1,8$	$0,6 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,2$		140					
Feld 3	$74,0 \pm 1,1$	$1,3 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,2$		140					
	$75,1 \pm 2,2$	$0,8 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,1$	$51,5 \pm 1,1$	100	7,35	41,1	100,4	-1,4	46

Tier A8	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$65,6 \pm 1,2$	$1,4 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,1$		135	7,33	43,8	87,0	-3,1	47
Feld 2	$65,5 \pm 1,0$	$1,8 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,2$		115					
Feld 3	$65,7 \pm 5,9$	$1,8 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,1$		120					
	$65,6 \pm 3,5$	$1,7 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,1$	$53,2 \pm 6,2$	120	7,33	44,4	100,0	-2,5	46

Gruppe B: Hypovolämie

Tier B1	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
					120	7,32	38,5	83,0	-6,0	47
Feld 1	41,5 ± 4,2	0,9 ± 0,0	0,4 ± 0,0		40					
Feld 2	40,3 ± 4,3	1,2 ± 0,1	0,5 ± 0,1		60					
Feld 3	60,0 ± 1,0	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,1		70					
	47,2 ± 9,7	1,3 ± 0,4	0,7 ± 0,4	24,4 ± 3,3	70	7,35	34,3	114,0	-7,0	39

Tier B2	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
					130	7,36	44,3	90,0	-0,6	49
Feld 1	42,3 ± 6,3	1,0 ± 0,1	1,7 ± 0,2		40					
Feld 2	45,7 ± 5,7	0,7 ± 0,1	1,4 ± 0,2		40					
Feld 3	62,6 ± 3,9	0,8 ± 0,1	2,0 ± 0,1		40					
	50,2 ± 10,4	0,9 ± 0,2	1,7 ± 0,3	20,9 ± 2,8	70	7,32	37,3	116,0	-6,9	43

Tier B3	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
					120	7,34	42,2	93,5	-2,7	48
Feld 1	43,8 ± 2,0	1,1 ± 0,0	1,4 ± 0,1		60					
Feld 2	63,0 ± 2,1	1,5 ± 0,1	1,9 ± 0,1		60					
Feld 3	60,3 ± 7,6	5,0 ± 0,3	2,2 ± 0,2		60					
	55,7 ± 9,7	2,5 ± 1,8	1,9 ± 0,3	31,4 ± 2,7	50	7,43	27,7	155,3	-5,4	40

Gruppe B: Hypovolämie

Tier B4	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
					120	7,31	50,2	79,2	-1,3	46
Feld 1	$55,5 \pm 9,4$	$0,9 \pm 0,1$	$3,3 \pm 1,4$		50					
Feld 2	$50,7 \pm 6,1$	$0,7 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,5$		50					
Feld 3	$58,0 \pm 8,7$	$0,3 \pm 0,0$	$1,8 \pm 0,6$		50					
	$54,8 \pm 8,7$	$0,6 \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,9$	$29,1 \pm 2,8$	60	7,40	34,9	135,9	-3,0	36

Tier B5	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
					135	7,38	38,0	120,7	-2,4	42
Feld 1	$26,9 \pm 6,9$	$0,4 \pm 0,0$	$1,0 \pm 0,4$		50					
Feld 2	$59,4 \pm 5,2$	$0,9 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,6$		45					
Feld 3	$41,6 \pm 3,4$	$1,1 \pm 0,0$	$1,4 \pm 0,6$		60					
	$46,5 \pm 14,2$	$0,8 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,4$	$23,5 \pm 4,0$	50	7,38	35,6	130,4	-3,4	38

Tier B6	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
					120	7,32	49,4	122,4	-0,8	49
Feld 1	$49,2 \pm 3,1$	$1,0 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,6$		55					
Feld 2	$47,1 \pm 6,9$	$0,7 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,7$		55					
Feld 3	$46,0 \pm 4,9$	$0,9 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,3$		45					
	$47,4 \pm 5,4$	$0,9 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,6$	$27,4 \pm 2,6$	45	7,37	34,4	155,0	-4,7	40

Gruppe B: Hypovolämie

Tier B7	EMPHO: <i>Hb_{Sat}O₂</i> (%)	EMPHO: <i>rel.[Hb]</i>	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: <i>pO₂</i> (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i> (mmHg)	<i>pO₂</i> (mmHg)	<i>Beecf</i>	<i>Hkt</i> (%)
					100	7,32	51,8	85,1	-0,8	47
Feld 1	17,6 ± 6,7	0,8 ± 0,2	0,7 ± 0,3		40					
Feld 2	20,1 ± 5,8	0,3 ± 0,0	0,1 ± 0,1		40					
Feld 3	49,9 ± 2,3	1,1 ± 0,6	0,6 ± 0,5		40					
	29,2 ± 19,6	0,7 ± 0,3	0,5 ± 0,2	15,5 ± 4,1	50	7,29	38,0	138,9	-7,5	34

Tier B8	EMPHO: <i>Hb_{Sat}O₂</i> (%)	EMPHO: <i>rel.[Hb]</i>	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: <i>pO₂</i> (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i> (mmHg)	<i>pO₂</i> (mmHg)	<i>Beecf</i>	<i>Hkt</i> (%)
					120	7,34	47,7	98,6	-0,9	47
Feld 1	15,4 ± 2,8	1,0 ± 0,0	0,7 ± 0,6		40					
Feld 2	30,2 ± 4,6	1,3 ± 0,0	0,1 ± 0,1		45					
Feld 3			0,2 ± 0,1		40					
	22,8 ± 8,3	1,1 ± 0,1	0,3 ± 0,3	11,1 ± 2,6	45	7,35	30,4	144,3	-8,0	37

Gruppe C: Clamping

Tier C1	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$35,6 \pm 3,3$	$1,1 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,1$		145	7,37	45,7	100	1,5	48
Feld 2	$31,9 \pm 5,7$	$3,4 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,2$		140					
Feld 3	$30,5 \pm 2,1$	$1,4 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,1$		125					
	$32,7 \pm 4,5$	$2,0 \pm 1,0$	$0,9 \pm 0,4$	$24,0 \pm 3,9$	130	7,37	46,6	102	1,8	47

Tier C2	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$10,8 \pm 2,7$	$1,5 \pm 0,5$	$0,1 \pm 0,0$		155	7,31	46,2	101	-3,1	49
Feld 2	$18,8 \pm 1,6$	$3,0 \pm 0,2$	$0,1 \pm 0,0$		160					
Feld 3	$26,8 \pm 3,6$	$1,2 \pm 0,2$	$0,2 \pm 0,0$		145					
	$18,8 \pm 7,1$	$1,9 \pm 0,9$	$0,2 \pm 0,04$	$5,6 \pm 1,0$	160	7,30	42,6	126	-5,6	46

Tier C3	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$16,1 \pm 1,3$	$5,2 \pm 3,0$	$0,3 \pm 0,1$		155	7,31	48,3	113	-2,0	53
Feld 2	$11,2 \pm 1,1$	$6,8 \pm 0,6$	$0,2 \pm 0,0$		155					
Feld 3	$26,1 \pm 1,4$	$9,3 \pm 1,1$	$0,2 \pm 0,0$		160					
	$17,8 \pm 6,4$	$7,1 \pm 2,5$	$0,2 \pm 0,1$	$12,4 \pm 2,0$	155	7,29	48,0	104	-3,2	53

Gruppe C: Clamping

Tier C4	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beef$	Hkt (%)
Feld 1	$4,3 \pm 2,5$	$0,9 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,0$		135	7,33	48,5	111	-0,5	50
Feld 2	$14,4 \pm 2,1$	$0,4 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,0$		125					
Feld 3	$8,1 \pm 6,0$	$1,2 \pm 0,7$	$0,2 \pm 0,0$		130					
	$9,0 \pm 5,8$	$0,9 \pm 0,5$	$0,2 \pm 0,01$	$8,9 \pm 4,1$	130	7,26	41,0	95	-8,9	47

Tier C5	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beef$	Hkt (%)
Feld 1	$10,3 \pm 0,9$	$1,8 \pm 0,4$	$0,0 \pm 0,0$		135	7,33	42,3	112	-3,3	50
Feld 2	$15,1 \pm 0,9$	$0,3 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$		140					
Feld 3	$14,1 \pm 2,6$	$0,3 \pm 0,1$	$0,1 \pm 0,1$		135					
	$13,2 \pm 2,7$	$0,8 \pm 0,7$	$0,1 \pm 0,1$	$7,2 \pm 1,2$	135	7,31	35,8	108	-8,3	49

Tier C6	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beef$	Hkt (%)
Feld 1	$37,8 \pm 9,3$	$1,1 \pm 0,3$	$0,6 \pm 0,1$		150	7,34	45,3	98	-1,3	51
Feld 2	$46,3 \pm 14,3$	$1,3 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,2$		150					
Feld 3	$66,0 \pm 2,0$	$3,6 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,1$		135					
	$50,0 \pm 15,4$	$2,0 \pm 1,2$	$1,2 \pm 0,5$	$18,4 \pm 4,1$	130	7,31	45,3	113	-3,2	50

Gruppe C: Clamping

Tier C7	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	14,6 ± 1,7	2,2 ± 0,6	0,4 ± 0,1		155	7,36	41,2	101	-2,0	53
Feld 2	31,0 ± 3,1	1,4 ± 0,2	0,6 ± 0,1		150					
Feld 3	60,7 ± 0,7	1,6 ± 0,2	1,2 ± 0,2		150					
	35,4 ± 19,2	1,7 ± 0,5	0,7 ± 0,4	20,9 ± 4,7	155	7,34	44,0	102	-2,0	52

Tier C8	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	17,1 ± 2,4	0,8 ± 0,1	0,2 ± 0,0		160	7,37	49,3	97	3,0	51
Feld 2	16,1 ± 3,7	4,2 ± 2,3	0,4 ± 0,1		130					
Feld 3	27,2 ± 5,7	1,4 ± 0,1	0,5 ± 0,2		145					
	20,1 ± 6,5	2,2 ± 2,0	0,4 ± 0,2	8,2 ± 2,9	120	7,32	42,6	103	-3,9	51

Tier C9	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	19,3 ± 6,0	0,8 ± 0,2	0,2 ± 0,0		130	7,41	49,0	106	6,5	51
Feld 2	27,7 ± 8,2	2,7 ± 0,2	0,5 ± 0,1		130					
Feld 3	26,8 ± 3,0	0,9 ± 0,4	0,3 ± 0,0		130					
	24,6 ± 7,2	1,4 ± 0,9	0,4 ± 0,1	12,0 ± 1,9	135	7,39	47,9	99	4,5	51

Gruppe D: Hypoxie

Tier D1	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: <i>rel.</i> [Hb]	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>Hkt</i> (%)
Feld 1	$38,7 \pm 1,8$	$0,9 \pm 0,1$			140	50
Feld 2	$32,6 \pm 3,0$	$1,2 \pm 0,1$			140	
Feld 3	$37,9 \pm 1,1$	$0,8 \pm 0,1$				
	$36,4 \pm 3,4$	$1,0 \pm 0,2$		$26,7 \pm 1,8$		

Tier D2	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: <i>rel.</i> [Hb]	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>Hkt</i> (%)
Feld 1	$44,7 \pm 0,7$	$0,5 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,1$		140	46
Feld 2	$49,9 \pm 0,8$	$0,4 \pm 0,0$	$2,5 \pm 0,1$		140	
Feld 3	$48,1 \pm 1,9$	$1,5 \pm 0,0$	$2,3 \pm 0,1$		130	
	$47,6 \pm 2,5$	$0,8 \pm 0,5$	$2,3 \pm 0,1$	$28,8 \pm 2,4$	135	40

Tier D3	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: <i>rel.</i> [Hb]	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>Hkt</i> (%)
Feld 1	$21,8 \pm 1,2$	$1,3 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$		145	51
Feld 2	$23,3 \pm 0,9$	$6,3 \pm 0,4$	$2,1 \pm 0,2$		145	
Feld 3	$30,0 \pm 2,0$	$1,2 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,1$		140	
	$25,0 \pm 3,8$	$2,9 \pm 2,4$	$2,0 \pm 0,9$	$26,7 \pm 4,7$	140	38

Gruppe D: Hypoxie

Tier D4	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: <i>rel.</i> [Hb]	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>Hkt</i> (%)
Feld 1	$40,8 \pm 2,5$	$0,9 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,1$		130	55
Feld 2	$42,1 \pm 1,3$	$0,5 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,1$		130	
Feld 3	$41,1 \pm 1,0$	$0,7 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,1$		125	
	$41,3 \pm 1,8$	$0,7 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,1$	$36,7 \pm 1,4$	150	45

Tier D5	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: <i>rel.</i> [Hb]	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>Hkt</i> (%)
Feld 1	$19,5 \pm 1,4$	$0,8 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,1$		130	51
Feld 2	$19,9 \pm 1,1$	$0,3 \pm 0,0$	$2,5 \pm 0,1$		130	
Feld 3	$24,9 \pm 1,2$	$0,3 \pm 0,0$	$2,3 \pm 0,1$		140	
	$21,4 \pm 2,8$	$0,5 \pm 0,2$	$2,4 \pm 0,1$	$25,8 \pm 2,9$	130	42

Tier D6	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: <i>rel.</i> [Hb]	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>Hkt</i> (%)
Feld 1	$30,4 \pm 1,8$	$1,0 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,1$		120	51
Feld 2	$40,2 \pm 3,7$	$1,7 \pm 1,0$	$2,1 \pm 0,1$		150	
Feld 3	$42,7 \pm 0,8$	$2,7 \pm 0,1$	$3,3 \pm 0,2$		125	
	$37,8 \pm 5,9$	$1,8 \pm 0,9$	$2,7 \pm 0,5$	$25,1 \pm 2,9$	130	42

Gruppe D: Hypoxie

Tier D7	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: <i>rel.</i> [Hb]	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>Hkt</i> (%)
Feld 1	$38,3 \pm 1,2$	$0,7 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,2$		115	51
Feld 2	$31,0 \pm 0,8$	$1,5 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,3$		110	
Feld 3	$27,7 \pm 0,8$	$1,3 \pm 0,1$	$3,0 \pm 0,1$		120	
	$32,3 \pm 4,5$	$1,2 \pm 0,3$	$2,9 \pm 0,1$	$24,0 \pm 2,6$	115	47

Tier D8	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: <i>rel.</i> [Hb]	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>Hkt</i> (%)
Feld 1	$32,3 \pm 0,8$	$1,1 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$		125	53
Feld 2	$30,4 \pm 1,4$	$2,0 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,1$		125	
Feld 3	$28,9 \pm 0,8$	$2,2 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$		130	
	$30,5 \pm 1,7$	$1,8 \pm 0,5$	$2,5 \pm 0,1$	$28,1 \pm 3,2$	120	48

Blutgasanalyse in der Gruppe D: Hypoxie

Tier D1	IVM									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,47	30,6	112	-1,5	98,7	7,28	45,8	29	-5,2	47,8
Feld 2	7,48	29,1	106	-1,6	98,6					
Feld 3										
	EMPHO									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,48	31	102	-0,2	98,4	7,30	49,9	40	-1,9	68,3
Feld 2										
Feld 3										
nach der Messung										

Blutgasanalyse in der Gruppe D: Hypoxie

Tier D2	IVM									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,45	37,7	98	2,2	97,9	7,25	45,8	39	-7,1	64,6
Feld 2	7,39	40,3	89	-0,3	96,7	7,22	67,6	45	0,3	70,4
Feld 3	7,39	41,1	86	-0,2	96,4	7,20	67,5	46	-2,0	70,3
	EMPHO									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,42	39,9	91	1,7	97,2	7,25	60,3	44	-0,7	71,1
Feld 2	7,38	39,4	77	-1,9	95,0	7,20	61,0	49	-4,2	73,6
Feld 3	7,39	41,4	98	0,5	97,6	7,20	56,2	47	-6,3	72,3
nach der Messung	7,37	33,6	101	-6,1	97,7					

Blutgasanalyse in der Gruppe D: Hypoxie

Tier D3	IVM									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,41	37,2	92	-1,0	97,2	7,13	56,3	34	-10,5	46,6
Feld 2	7,30	38,7	81	-7,5	94,6	7,12	71,2	33	-6,4	42,8
Feld 3	7,34	38,5	87	-4,7	96,2	7,10	73,1	36	-7,1	48,1
	EMPHO									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,37	38,8	98	-3,0	97,4	7,16	57,5	34	-8,1	49
Feld 2	7,32	42,9	83	-4,3	95,0	7,09	76,0	32	-6,9	40,3
Feld 3	7,37	43,0	82	-0,4	95,6	Probenfehler				
nach der Messung	7,27	38,3	141	-9,5	98,8					

Blutgasanalyse in der Gruppe D: Hypoxie

Tier D4	IVM									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,41	36,2	100	-1,6	97,9	7,25	56,4	43	-2,3	69,5
Feld 2	7,44	34,6	105	-0,9	98,3	7,26	54,7	59	-2,2	85,3
Feld 3	7,43	34,1	102	-1,8	98,1	7,20	56,7	40	-6,2	62,0
	EMPHO									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,42	37,4	108	0,0	98,3	7,25	53,6	35	-3,4	57,4
Feld 2	7,43	34,1	104	-1,8	98,2	7,22	55,3	42	-5,1	66,3
Feld 3	7,39	32,7	90	-5,4	97,0	7,19	59,4	44	-5,8	67,7
nach der Messung	7,39	35,2	90	-3,8	96,9					

Blutgasanalyse in der Gruppe D: Hypoxie

Tier D5	IVM									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,43	33,8	95	-1,6	97,7	7,29	50,4	33	-2,4	55,4
Feld 2	7,41	34,4	90	-2,5	97,1	7,24	51,3	27	-5,2	40,1
Feld 3	7,40	32,1	80	-5,2	95,8	7,25	47,9	35	-6,0	57,4
	EMPHO									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,43	33,2	87	-2,3	97,0	7,26	54,9	31	-2,2	48,9
Feld 2	7,49	28,4	135	-1,8	99,3	7,30	36,6	?	-8,6	98,6
Feld 3	7,40	31,8	104	-5,0	98,1	7,22	50,9	32	-6,6	49,8
nach der Messung	7,36	32,7	109	-6,8	98,1					

Blutgasanalyse in der Gruppe D: Hypoxie

Tier D6	IVM									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,46	28,4	122	-3,4	99,0	7,29	51,4	53	-2,1	82,7
Feld 2	7,37	33,5	91	-5,8	96,9	7,21	56,5	30	-5,3	45,1
Feld 3	7,33	39,6	95	-5,1	96,8	7,17	63,8	38	-5,4	56,2
	EMPHO									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,44	28,1	139	-4,9	99,3	7,26	48,5	43	-5,1	71,0
Feld 2	7,38	36,3	93	-3,9	97,1	7,18	58,6	31	-6,2	44,6
Feld 3	7,34	35,8	91	-6,5	96,5	7,14	63,4	47	-7,4	68,2
nach der Messung	7,37	32,9	94	-6,6	97,1					

Blutgasanalyse in der Gruppe D: Hypoxie

Tier D7	IVM									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,48	30,9	131	-0,3	99,2	7,31	50,0	65	-0,7	90,3
Feld 2	7,39	33,6	95	-4,8	97,3	7,20	60,1	38	-4,3	59,5
Feld 3	7,35	39,3	105	-3,7	97,8	7,16	64,7	32	-5,6	45,4
	EMPHO									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,45	33,3	134	-1,0	99,2	7,28	52,3	44	-2,5	73,3
Feld 2	7,38	37,3	97	-3,3	97,4	7,20	53,3	33	-7,0	50,6
Feld 3	7,32	39,1	96	-5,7	96,8	7,13	62,8	32	-8,0	43,1
nach der Messung	7,30	38,0	81	-7,6	90,0					

Blutgasanalyse in der Gruppe D: Hypoxie

Tier D8	IVM									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,44	26,6	115	-6,1	98,7	7,28	42,0	51	-6,9	80,9
Feld 2	7,34	38,2	91	-5,0	96,5	7,19	52,0	37	-8,3	56,7
Feld 3	7,34	40,0	87	-4,3	96,0	7,20	56,2	36	-6,2	55,1
	EMPHO									
	vor					nach				
	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i>	<i>pO₂</i>	<i>Beecf</i>	<i>%sO₂</i>
Feld 1	7,36	31,8	94	-7,3	97,1	7,22	51,9	34	-6,2	53,0
Feld 2	7,33	38,2	84	-6,1	95,4	7,21	55,6	34	-5,7	52,1
Feld 3	7,32	34,0	99	-8,4	97,2	7,15	47,8	30	-12,2	41,6
nach der Messung	7,30	28,3	80	-12,7	91,8					

Gruppe E: Colitis

Tier E1	EMPHO: <i>Hb_{Sat}O₂</i> (%)	EMPHO: <i>rel.[Hb]</i>	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: <i>pO₂</i> (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i> (mmHg)	<i>pO₂</i> (mmHg)	<i>Beecf</i>	<i>Hkt</i> (%)
Feld 1	53,2 ± 9,9	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1		120	7,40	39,5	99	-0,3	56
Feld 2	66,4 ± 7,3	0,9 ± 0,1	1,7 ± 0,1		135					
Feld 3	64,7 ± 8,7	0,9 ± 0,1	1,5 ± 0,1		130	7,39	40,5	106	-0,6	56
	61,4 ± 10,5	0,9 ± 0,1	1,5 ± 0,2	40,8 ± 2,9						

Tier E2	EMPHO: <i>Hb_{Sat}O₂</i> (%)	EMPHO: <i>rel.[Hb]</i>	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: <i>pO₂</i> (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i> (mmHg)	<i>pO₂</i> (mmHg)	<i>Beecf</i>	<i>Hkt</i> (%)
Feld 1	53,1 ± 10,4	1,1 ± 0,1	1,9 ± 0,2		120	7,34	36,2	99	-6,4	56
Feld 2	50,9 ± 3,3	0,6 ± 0,1	1,3 ± 0,3		120					
Feld 3	41,6 ± 2,4	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,2		100	7,34	47,1	106	-0,3	52
	48,5 ± 8,1	0,9 ± 0,2	1,4 ± 0,3	34,5 ± 7,9						

Tier E3	EMPHO: <i>Hb_{Sat}O₂</i> (%)	EMPHO: <i>rel.[Hb]</i>	IVM: <i>CBF</i> (nl/min)	LICOX: <i>pO₂</i> (mmHg)	<i>RR</i> (mmHg)	<i>pH</i>	<i>pCO₂</i> (mmHg)	<i>pO₂</i> (mmHg)	<i>Beecf</i>	<i>Hkt</i> (%)
Feld 1	53,2 ± 3,9	1,0 ± 0,0			100	7,37	41,0	93	-1,4	55
Feld 2	58,5 ± 3,7	1,0 ± 0,4	1,7 ± 0,2		80					
Feld 3	49,0 ± 3,9	0,6 ± 0,0	2,5 ± 0,4		85	7,37	39,2	102	-2,3	54
	53,6 ± 5,5	0,9 ± 0,3	1,5 ± 0,9	9,3 ± 1,7						

Gruppe E: Colitis

Tier E4	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$25,9 \pm 8,8$	$0,8 \pm 0,1$	0		100	7,37	41,3	91	-1,6	50
Feld 2	$13,7 \pm 4,0$	$4,1 \pm 0,2$	0		100					
Feld 3	$35,3 \pm 3,8$	$2,1 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$		100	7,42	32,5	125	-3,1	44
	$25,0 \pm 10,7$	$2,4 \pm 1,3$	$0,1 \pm 0,1$	$3,0 \pm 2,8$						

Tier E5	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$47,9 \pm 2,8$	$1,0 \pm 0,0$	$1,4 \pm 0,2$		100	7,33	37,1	93	-6,1	56
Feld 2	$58,4 \pm 3,1$	$2,7 \pm 1,4$	$1,9 \pm 0,2$		90					
Feld 3	$63,8 \pm 6,8$	$5,1 \pm 0,5$	$2,3 \pm 0,2$		90	7,41	39,5	100	0,5	55
	$56,5 \pm 7,9$	$2,9 \pm 1,9$	$1,9 \pm 0,4$	$34,1 \pm 1,0$						

Tier E6	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$55,0 \pm 4,2$	$0,8 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,5$		105	7,35	39,7	103	-3,7	55
Feld 2	$46,7 \pm 2,5$	$0,1 \pm 0,0$	$2,2 \pm 0,6$		95					
Feld 3	$51,2 \pm 1,6$	$0,2 \pm 0,0$	$1,9 \pm 0,9$		105	7,26	40,4	85	-9,1	51
	$50,9 \pm 4,5$	$0,4 \pm 0,3$	$1,9 \pm 0,3$	$35,7 \pm 2,2$						

Gruppe E: Colitis

Tier E7	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$50,7 \pm 5,2$	$0,9 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,2$		115	7,35	43,1	86	-2,1	54
Feld 2	$51,8 \pm 6,3$	$0,8 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,3$		115					
Feld 3	$52,8 \pm 4,5$	$0,8 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,4$		100	7,37	46,0	95	1,0	51
	$51,8 \pm 6,5$	$0,8 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,03$	$44,1 \pm 3,6$						

Tier E8	EMPHO: $Hb_{Sat}O_2$ (%)	EMPHO: $rel.[Hb]$	IVM: CBF (nl/min)	LICOX: pO_2 (mmHg)	RR (mmHg)	pH	pCO_2 (mmHg)	pO_2 (mmHg)	$Beecf$	Hkt (%)
Feld 1	$62,5 \pm 2,2$	$0,8 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,3$		105	7,33	38,5	86	-5,8	52
Feld 2	$50,5 \pm 5,2$	$0,5 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,4$		100					
Feld 3	$53,6 \pm 5,1$	$0,7 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,2$		90	7,33	48,2	?	-0,8	50
	$55,5 \pm 6,7$	$0,7 \pm 0,1$	$2,5 \pm 0,4$	$30,6 \pm 6,9$						

Danksagung

Am Ende dieser Arbeit möchte ich mich bei all jenen bedanken, ohne deren Unterstützung sie nicht möglich gewesen wäre:

- Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Professor Dr. Thomas Foitzik: Zunächst für das interessante Thema, für seine kompetente Betreuung, für seine Motivation und tatkräftige Unterstützung, Ergebnisse dieser Arbeit bei zwei Kongressen vorzustellen und nicht zuletzt für seine Geduld mit seiner ständig umziehenden Doktorandin.
- Herzlich danke ich Dr. Guido Eibl für die Geduld, mit der er mir bei so manchen Problemen, die bei der Intravitalmikroskopie auftraten, mit Rat und Tat zur Seite stand.
- Bei Dr. Martin Kruschewski möchte ich mich für die grundlegende Einführung in das EMPHO bedanken und für die Hilfestellung bei der TNBS-Colitis-Induktion.
- Dr. Bence Forgacs danke ich vielfach für seine moralische und praktische Unterstützung als Laborkollege.
- Professor Dr. Jens Höper und Professor Dr. Manfred Kessler von der Universität Erlangen danke ich sehr für die gründliche Einführung in die Methodik des EMPHO - sowohl praktisch als auch theoretisch.
- Ein herzliches Dankeschön geht auch an Birgit Hotz, die mir das Operieren von Ratten beigebracht hat, mich mit der Intravitalmikroskopie vertraut gemacht hat und mir das beste „Kochrezept“ für FITC-markierte Erythrozyten verraten hat.
- Frau Anette Panhorst war stets freundlich bereit, mir in praktischen und organisatorischen Fragen weiterzuhelfen. Vielen Dank!
- Und auch wenn ich seinen Namen nicht mehr weiß, so soll auch der freundliche Kollege aus der technischen Abteilung nicht ungenannt und ohne Dank bleiben, der meine vagen Ideen, wie eine Halterung für das Lichtleiterkabel aussehen sollte, kompetent in ein reales Utensil umwandelte, ohne welches diese Studie in dieser Form nicht durchführbar gewesen wäre.

Curriculum Vitae

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht

Veröffentlichungen

Originalarbeit:

R. Düchs and T. Foitzik. Possible pitfalls in the interpretation of microcirculatory measurements. A comparative study using intravital microscopy, spectroscopy and polarographic pO₂ measurements. *Eur Surg Res.*,40(1):47-54, 2008.

Kongressbeiträge:

R.L.Butz, H.-J.Buhr und T.Foitzik. Evaluation of intestinal microcirculatory disorders by spectroscopy in experimental colitis. *XXXIVth Congress of the European Society for Surgical Research*, Berne, 1999 (Kurzvortrag)

R.L.Butz, H.-J.Buhr und T.Foitzik. Evaluation of microcirculatory disorders in experimental colitis. Comparison of intravital microscopy and spectroscopy. *Digestive Disease Week. American Gastroenterological Association*, Orlando, FL, 1999 (Posterbeitrag)

Selbstständigkeitserklärung

Ich, Raphaela Düchs, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema „*Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Rattencolons. Komparative Evaluation dreier Messmethoden: Intravitalmikroskopie - Mikrolichtleiter-Spektroskopie - Polarographische Sauerstoffsonde*“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Königswinter, den

Raphaela Düchs