

Aus der Klinik für Chirurgie

der Universität zu Lübeck

Direktor: Professor Dr. med. H.-P. Bruch

in Zusammenarbeit mit der

Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Murnau

Direktor: Professor Dr. med. V. Bühren

**Effekte der hyperbaren Oxygenierung auf den mikrovaskulären Gefäßstatus
traumatologischer Patienten**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

- Aus der Medizinischen Fakultät –

vorgelegt von

Markus Andreas Wäckerle

Garmisch-Partenkirchen

Lübeck 2009

Aus der Klinik für Chirurgie

der Universität zu Lübeck

Direktor: Professor Dr. med. H.-P. Bruch

in Zusammenarbeit mit der

Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Murnau

Direktor: Professor Dr. med. V. Bühren

**Effekte der hyperbaren Oxygenierung auf den mikrovaskulären Gefäßstatus
traumatologischer Patienten**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

- Aus der Medizinischen Fakultät –

vorgelegt von

Markus Andreas Wäckerle

Garmisch-Partenkirchen

Lübeck 2009

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Alexander Woltmann

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Michael Wenzl

Tag der mündlichen Prüfung: 15.01.2010

zum Druck genehmigt. Lübeck, den 15.01.2010

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach

- Dekan der Medizinischen Fakultät -

Inhaltsverzeichnis		Seite
1.	Einleitung und Fragestellung	1
1.1.	Diagnoseparameter Mikrozirkulation	2
1.2.	Die hyperbare Oxygenierung	3
1.2.1.	Physikalische Prinzipien	3
1.2.2.	Physiologische Veränderungen	4
1.2.3.	Indikationen und Ablauf	5
1.2.4.	Unerwünschte Nebenwirkungen	6
1.2.5.	Historische Entwicklung	7
1.2.6.	Organisation der HBO-Zentren in Deutschland	7
1.3.	Methoden der Mikrozirkulationsmessung	8
1.3.1.	Invasive Methoden der Mikrozirkulationsmessung	8
1.3.1.1.	Intra-vital Mikroskopie (IVM)	8
1.3.1.2.	Konfokale Laser-Raster-Mikroskopie (CLSM)	9
1.3.2.	Nicht-invasive optische Methoden zur Mikrozirkulationsmessung	9
1.3.2.1.	Laser Doppler-Fluxmetrie (LDF)	9
1.3.2.2.	Nah-Infrarot Spektroskopie (NIRS)	10
1.3.2.3.	Orthogonales Polarisation Mikroskop - OPS [®] -Imaging	10
2.	Material und Methoden	12
2.1.	Aufklärung der Patienten	12
2.2.	Patientenkollektiv	12
2.3.	Therapieschemata	13

2.4.	Vitalparameter und Überwachung der Patienten während der Überdruckphase	15
2.5.	Mikrozirkulationsmessung	16
2.5.1.	Untersuchungszeitpunkte und praktische Durchführung	16
2.5.2.	Prinzip der orthogonalen Polarisationsmikroskopie (OPS [®] -Imaging)	17
2.5.3.	Äquivalenz des OPS [®] -Imaging zu anderen Methoden	18
2.5.4.	OPS [®] -Imaging, technische Details	19
2.5.5.	OPS [®] -Imaging, erfassbare Mikrozirkulationsparameter	21
2.5.6.	Offline Auswertung der Messdaten	22
2.5.6.1.	Hardware-Konfiguration	22
2.5.6.2.	Software-Konfiguration	23
2.6.	Statistische Auswertung	23
3.	Ergebnisse	24
3.1.	Klinische Daten der Patienten bei Aufnahme in die Studie	24
3.2.	Mikrozirkulatorische Parameter	25
3.2.1.	Funktionelle Kapillardichte (FCD)	25
3.2.2.	Restliche Mikrozirkulationsparameter	28
3.3.	Vitalfunktionen	29
3.3.1.	Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD)	30
3.3.2.	Herzfrequenz (HF)	30
4.	Diskussion	31
4.1.	Parameter der Mikrozirkulation	31
4.1.1.	Die funktionelle Kapillardichte (FCD)	31

4.1.2.	Die Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten in Kapillaren und Venolen (VEL-kap; VEL-ven)	33
4.1.3.	Der Gefäßdurchmesser (DIAM)	34
4.2.	Variabilität der Vitalparameter	35
4.2.1.	Herzfrequenz	35
4.2.2.	Blutdruck	37
4.3.	Zeitliche Nachweisgrenzen der HBO-Therapie Effekte	38
4.4.	Klinische Praktikabilität des OPS[®]-Imaging	38
4.4.1.	Artefakte durch Bewegung und Druck	38
4.4.2.	Vergleichbarkeit der Messwerte	40
4.4.3.	Anwendbarkeit bei Anämie	41
4.4.4.	Sicherheit der Messungen	41
4.4.5.	Vorteile gegenüber anderen Methoden	42
4.4.6.	Qualität der Bilder	42
4.4.7.	Praktikabilität der Auswertungssoftware Cap-Image [®] und CapiScope [®]	43
4.5.	Zukünftige Perspektiven von OPS[®]-Imaging	44
5.	Zusammenfassung	46
6.	Anhang	48
7.	Abkürzungsverzeichnis	49
8.	Literaturverzeichnis	51
9.	Danksagung	60
10.	Lebenslauf	62

1. Einleitung und Fragestellung

Um nachweisen zu können ob und wie weit die hyperbare Oxygenierung (HBO-Therapie) die Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten, die Anzahl der Gefäße pro Fläche als auch den Durchmesser der einzelnen Gefäße beeinflusst und welche Wirkung sie damit beispielsweise auf die Perfusion peripherer Gewebe bei Traumapatienten hat, kann man sich der orthogonal polarisierten Bildgebung (OPS[®]-Imaging) bedienen. Diese 1999 eingeführte Methode erfasst die aktuelle Perfusionssituation des peripheren Gewebes, indem die kleinsten Blutgefäße intra-vital, nicht-invasiv dargestellt werden. Ziel dieser Studie ist es die Effekte zu erfassen, die sich durch die HBO-Therapie in Blutgefäßen ergeben, um die damit verbundene Sauerstoffversorgung sowie den Gefäßstatus von Patienten objektiv bestimmen zu können. Durch Videoaufnahmen können die genannten Effekte ausgewertet und im Zeitverlauf miteinander verglichen werden. Mit Hilfe dieser Grundlagen ergeben sich folgende Fragestellungen:

1. Wie verändern sich die Parameter der Mikrozirkulation – Gefäßdurchmesser, funktionelle Kapillardichte und Erythrozyten-Fließgeschwindigkeit – im Verlauf eines Therapietages?
2. Wie verändern sich die Makrozirkulation beziehungsweise die Vitalparameter?
3. Welche zukünftige Perspektiven bietet das OPS[®]-Imaging?
4. Wie praktikabel erweist sich das OPS[®]-Imaging im Klinikalltag?

1.1. Diagnoseparameter Mikrozirkulation

Mikrozirkulation bezeichnet den Blutfluss durch die kleinsten Einheiten des Kreislaufsystems, beginnend mit den Arteriolen über die Kapillaren bis zu den Venolen; sie ist die Nahtstelle zwischen Blut und Gewebe, bildet die Versorgungsgrundlage des Gewebes und sichert somit das Überleben aller Zellen³⁴. Vor beziehungsweise nach den Kapillaren, dem Kernstück des Gasaustausches, liegen Arteriolen beziehungsweise Venolen, die jeweils eine Länge von circa 2 mm und einen Durchmesser von 0,02 – 0,03 mm aufweisen. Die Kapillaren selbst sind etwa 0,1 mm bis 1,0 mm lang und haben einen Durchmesser von 5-8 µm. Um die Perfusion durch diesen verengten mittleren Abschnitt der Kapillaren und den dadurch entstehenden hohen Gefäßwiderstand (etwa 27% des Gesamtwiderstandes im Gefäßsystem) aufrecht zu erhalten, ist etwa ein Viertel der potentiellen Energie des gesamten Blutdruckes von durchschnittlich 120 mmHg nötig^{25,34}.

Pathologische Veränderungen der Mikrozirkulation führen zu einem Missverhältnis von Sauerstoffangebot und -bedarf im Gewebe und bedingen ischämisch-toxische Schäden. Solche Veränderungen treten bei verschiedenen chronischen Erkrankungen (beispielsweise Diabetes mellitus, Ulcera, Hypertonie) auf, können aber auch durch ein (septisches) Schockgeschehen hervorgerufen werden: durch die Ausschüttung von verschiedenen vasoaktiven Mediatoren werden die Gefäße strukturell aber auch funktionell (Permeabilitätsstörungen der Endothelmembran) verändert^{30,34,50}.

Den heutigen Therapiekonzepten bei den genannten unphysiologischen Veränderungen liegen eher makrozirkulatorische Parameter – mittlerer arterieller Blutdruck, Herzindex, Sauerstoffverbrauch und Sauerstoffangebot – zugrunde. Da die Mikrozirkulation eine nicht unerhebliche Rolle einnimmt, könnte durch den Einblick in physiologische und pathologische Prozesse der Mikrozirkulation neue diagnostische und therapeutische Optionen ermöglicht werden³⁵. Unter Berücksichtigung dieser Rolle der Mikrozirkulation im Rahmen eines Schockgeschehens wäre – neben dem konventionellen Monitoring der Makrozirkulation – ein solches der Mikrozirkulation eventuell von Vorteil^{34,50}.

1.2. Die hyperbare Oxygenierung

1.2.1. Physikalische Prinzipien

Die Therapie mit hyperbarem Sauerstoff ist definiert als die Atmung beziehungsweise die Beatmung mit Sauerstoff in einer Überdruckkammer (Abbildung 1). Hierbei ist der Partialdruck höher als der Luftdruck auf Meereshöhe ²⁴. Da die Behandlung unter hyperbaren Bedingungen Gefahren und Nebenwirkungen birgt, wie zum Beispiel die Toxizität des Sauerstoffs ab einem bestimmten Partialdruck und die Entstehung von Barotraumen (Erkrankung, die durch eine Änderung des Umgebungsdrucks in Luft- oder Gasgefüllten Hohlräumen verursacht wird ⁵), muss bei der Anwendung auf bestimmte physikalische Gesetzmäßigkeiten geachtet werden, um eventuell auftretende Komplikationen zu minimieren: diese sind die Gesetze von Boyle-Mariotte (Druck * Volumen = const.; $p \cdot V = \text{const.}$; bei konstanter Temperatur), Dalton (Druck_x = Fraktion_x * Umgebungsdruck; $p_x = F_x \cdot P$) und von Henry (Partialdruck_x = Henry-Konstante * Konzentration_x; $p_x = k_x \cdot C_x$) ⁵².



Abbildung 1: Das Druckkammerzentrum der BG Unfallklinik Murnau mit den beiden Druckkammern; links im Bild die große Kammer HAUX QUADRO I.C.U. mit Platz für zwei Intensivbetten inklusive benötigter Ausstattung oder 10 sitzende Patienten, rechts im Bild die kleine Kammer HAUX QUADRO 2200 mit Platz für 6 sitzende Patienten

1.2.2. Physiologische Veränderungen

Physiologisch wird der größte Teil des Sauerstoffs im Blut chemisch an das Hämoglobin gebunden (20 ml Sauerstoff pro dl Blut), lediglich ein kleiner Anteil liegt physikalisch im Plasma gelöst (0,3 ml pro dl Blut) vor. Die hyperbare Oxygenierung zielt darauf ab, den physikalisch gelösten Anteil im Plasma stark zu erhöhen. So steigt unter hyperbaren Bedingungen die physikalisch gelöste Menge im Plasma - linear zum Anstieg des alveolären Sauerstoffpartialdruckes - um den Faktor 10-15 (circa 4-6 ml pro dl Blut), wohingegen sich der chemisch an das Hämoglobin gebundene Anteil nicht mehr wesentlich steigern lässt. *Boerema et al.* zeigten, dass dieses Überangebot an Sauerstoff soweit ausreicht, Versuchstiere, denen jegliches Hämoglobin entzogen wurde, weiterhin am Leben zu erhalten⁹. Wie sich aus der Fickschen Diffusionsgleichung (Diffusion von Teilchen von einem Ort höherer in Richtung niedrigerer Konzentration^{24,29,59}) ableiten lässt, erhöht sich unter HBO-Therapie die Diffusionsstrecke und Diffusionsmenge des Sauerstoffs linear zum Partialdruck und ermöglicht damit bei noch erhaltener Mikrozirkulation eine bessere Sauerstoffversorgung von schlecht vaskularisierten Gewebe⁵³.

Eine weitere physiologische Veränderung unter HBO-Therapie ist der Anstieg des physikalisch gelösten CO₂ im Blut, da das Hämoglobin zu einem kleineren Anteil chemisch reduziert wird und die dissoziierende Kohlensäure nicht mehr abpuffern kann. Der nun ansteigende Partialdruck des Kohlendioxids (pCO₂) im venösen Schenkel stimuliert über Barorezeptoren im Carotissinus direkt das Atemzentrum: die daraus folgende Hyperventilation senkt den pCO₂ im arteriellen Schenkel (Hypokapnie) und führt so zu einer Vasokonstriktion¹⁴. Diese Vasokonstriktion wäre auf den ersten Blick nicht förderlich, da man an die Minderversorgung von Gewebe denkt, die bei Vasokonstriktion und somit bei gleichbleibendem Blutdruck auftritt. Befürchtet wird eine Hypoxämie, welche aber durch das weitaus höhere Diffusionsvermögen des freien Sauerstoffs verhindert wird. Durch die Vasokonstriktion entsteht der sogenannte anti-ödematöse Effekt, wodurch eine gleichbleibende Sauerstoff-Versorgung unterstützt wird⁸¹. Der erhöhte Vagotonus führt neben diesem Effekt auch noch zu einer relativen Bradykardie und damit zu einer Verringerung des Herzminutenvolumens (HMV), wobei der Blutdruck hierdurch nicht kreislaufrelevant beeinflusst wird.

Eine weitere Veränderung unter HBO ergibt sich im pulmonalen System: da durch die höhere Dichte des Atemgases der Strömungswiderstand in den luftleitenden Wegen und der Lunge steigt, nehmen Atemwiderstand und reflektorisch auch die Atemarbeit zu,

sodass eine Lungenerkrankung eine relative Kontraindikation für die HBO-Therapie darstellt.

1.2.3. Indikationen und Ablauf

Wie unter 1.2.2. dargestellt bewirkt die HBO-Therapie eine Erhöhung des physikalisch gelösten O₂-Anteils und damit eine optimale pO₂-Einstellung im Gewebe⁸⁸. Dadurch wird die Funktion von O₂-abhängigem Gewebe aufrecht erhalten und die Unterstützung O₂-abhängiger Vorgänge wie beispielsweise der Zellatmung gefördert. Gleichzeitig lassen sich durch den erhöhten pO₂ ektope (außerhalb von Organen oder Gefäßen, an untypischer Stelle) Gasansammlungen eliminieren, Ödeme reduzieren, die Wundheilung sowie die Angiogenese werden gefördert, bakteriostatische Wirkungen und die Toxinhemmung treten ein und CO kann kompetitiv vom Hämoglobin verdrängt werden⁵⁴. Anerkannte HBO-Indikationen sind gemäß der Deutschen Gesellschaft für Tauch- und Überdruckmedizin (GTÜM) unter anderem Gas- und Luftembolien, CO- / Rauchgasvergiftungen, Dekompressionskrankheiten, nekrotisierende Weichteilinfektionen, Problemwunden und Verbrennungen⁷⁶.

Der Ablauf der HBO-Therapie an der BG Unfallklinik in Murnau ist folgender: bevor die Patienten die erste Therapie beginnen können, wird eine Eingangsuntersuchung gefordert: in dieser werden absolute Kontraindikationen, wie zum Beispiel bekannte Krampfleiden, akute fieberhafte Infektionen oder Schwangerschaften ausgeschlossen. Weitere absolute Kontraindikationen sind aktuelle Einnahmen von cis-Platin, Doxorubicin oder Disulfiram³⁹. Eine schwerpunktmäßige körperliche Untersuchung auf Druckwechselbelastungen (mehrmalige Druckunterschiede innerhalb weniger Minuten über die gesamte Behandlungsdauer gesehen) und Hohlräume/ -organe (Lunge, Magen, Sinus, Mittelohr) wird durchgeführt, und durch ein Ruhe-EKG sowie eine Lungenfunktion kardiopulmonale Erkrankungen ausgeschlossen. Eine Otoskopie wird veranlasst um Beeinträchtigungen des Trommelfells, die der Druckerhöhung nicht standhalten würden, auszuschließen. Nach erfolgreicher Eingangsuntersuchung führt der Patient die erste Druckkammersitzung zusammen mit speziell ausgebildetem Pflegepersonal durch; die weiteren Sitzungen werden nie allein, sondern mit anderen Patienten oder Pflegepersonal absolviert.

Der Überdruck beträgt je nach Krankheitsbild und Therapieschema 1,4 – 1,6 bar (siehe 2.3.). Bei mehr als 90% der Patienten wird das Problemwundenschema angewendet (Abbildung 3 unter 2.3.): zu Beginn der 140-minütigen Sitzung wird zuerst der gewünschte

Umgebungsdruck unter Atmung von Normalatmosphäre eingestellt. Diese Kompressionsphase dauert etwa 15 Minuten. Die darauf folgende Isopressionsphase besteht aus drei Zyklen von jeweils 30 Minuten Drucktherapie währenddessen 100%-iger O₂ über eine Atemmaske geatmet wird. Diese Maske wird in den 10-minütigen Pausen abgenommen und die Patienten atmen unter Normalatmosphäre der Druckkammer. Am Ende der Sitzung folgt eine Dekompressionsphase die circa 15 Minuten dauert und dazu dient den Kammerdruck wieder auf Normaldruck zu senken. Auch hierbei atmen die Patienten über die Masken 100% O₂, um die Abatmung von unerwünschten Gasen zu erleichtern. Während der Behandlung wird stetig eine EKG- und Blutdruck-Überwachung durchgeführt, um eine eventuelle Gefährdung der Patienten frühzeitig entdecken zu können. Die Anzahl der HBO-Sitzungen hängt von der Schwere der Erkrankung, vom Genesungsprozess und der Compliance der Patienten ab.

1.2.4. Unerwünschte Nebenwirkungen

Nebenwirkungen sind im allgemeinen Klaustrophobie, Barotraumen, Lungen- und Visusveränderungen. Diese können nach den verschiedenen Behandlungsphasen unterteilt werden:

Während der Kompressionsphase können Barotraumen auftreten, die meist luftgefüllte Hohlräume, beispielsweise die Nasennebenhöhlen, betreffen oder auch zu einer Retraktion des Trommelfells führen können. Eine spontane Retraktion des Trommelfelles kann schon ab Druckdifferenzen von 0,5 bar auftreten. Bei Patienten mit Einschränkungen des Bewusstseins oder Schwierigkeiten beim Druckausgleich wird zur Vermeidung von Rupturen eine beidseitige Parazentese durchgeführt.

In der Isopressionsphase kann sich eine toxische Wirkung des Sauerstoffs einstellen. Hierbei kann vor allem das zentrale Nervensystem, bereits bei einer Druckdifferenz von 2 bar und Behandlungszeiten über 2 Stunden mit reinem Sauerstoff, mit generalisierten tonisch-klonischen epileptischen Krämpfen auf den Sauerstoff reagieren. Durch die Unterbrechungen, in denen Normalatmosphäre geatmet wird, kann dieses Krampfrisiko minimiert werden. Auch auf das pulmonale System hat die Behandlung Folgen: es können Hustenreiz, Dyspnoe und retrosternale Beschwerden auftreten.

Komplikationen in der Dekompressionsphase sind ebenfalls Barotraumata, die in dieser Phase auch in kapillären Hohlräumen, zum Beispiel unter Zahnfüllungen, auftreten können. Gerade bei Patienten mit obstruktiven Lungenerkrankungen muss auf die Vermeidung eines Pneumothorax beziehungsweise einer Lungenembolie geachtet

werden, da die Expiration der noch in der Lunge vorhandenen hyperbaren Atemluft, durch zum Beispiel einen erhöhten Atemwegswiderstand, eingeschränkt sein kann. Die dadurch in der Lunge verbleibende Luft kann den rechten Ventrikel komprimieren und über eine dadurch bedingte suboptimale Füllung des rechten Ventrikels kreislaufdepressiv wirken²⁴.

1.2.5. Historische Entwicklung

Die ersten Versuche mit HBO wurden in den Jahren ab 1930 von der britischen Royal Navy und der US Navy durchgeführt. Damals versuchte man, Kampftauchern mit Hilfe von hyperbarem Sauerstoff eine schnellere Dekompression zu ermöglichen: durch den erhöhten Partialdruck des Sauerstoffs sollten der im Körper vorhandene Stickstoff beziehungsweise die eingeschlossenen Gase schneller abgeatmet werden. Der Vorteil war die schnellere Einsatzbereitschaft der Taucher und eine geringere Gefahr von Gasembolien bei den Soldaten. Die hier gewonnen Erkenntnisse dienten als Grundlagenforschung für die klinische Anwendung der HBO: 1960 wurde in Großbritannien der erste Patient mit einer CO-Vergiftung erfolgreich durch den Einsatz einer HBO-Therapie behandelt. In Deutschland begann die Therapie ihren Einzug in die medizinische Versorgung circa 10 Jahre später. Im Jahr 2007 gab es knapp 40 Druckkammern in Deutschland, finanziert von Kliniken und privaten Trägern⁷⁶.

1.2.6. Organisation der HBO-Zentren in Deutschland

Heutzutage limitieren eher organisatorische beziehungsweise klinisch-technische Probleme die Betreuung der HBO-Zentren. Ein Hauptproblem ist der enorm hohe Personalaufwand, der je nach Druckkammertyp und Patientenzustand variiert, jedoch mit 2 - 5 Mitarbeiter pro Kammer angesetzt werden muss.

Ein anderes Problem stellen die physikalischen Gegebenheiten dar, die auf die medizinischen Geräte Einfluss ausüben; Dies betrifft in erster Linie druckempfindliche und feuergefährliche Geräte, wie: Beatmungsgeräte, Endotrachealtuben, Infusionssysteme und Drainagen. Diese Geräte benötigen für den Einsatz in der Druckkammer spezielle Zulassungen und ständige Kontrollen während der Überdruckphase. Eine erhöhte Brandgefahr ergibt sich aus dem eventuell erhöhten O₂-Anteil der Druckkammer, Zündquellen durch elektrostatische Entladung oder brennbare Materialien. Daher muss auch der O₂-Anteil in der Kammeratmosphäre nach DIN-Vorschrift ständig überwacht

werden und auch sonstige Risiken minimiert werden. Ebenfalls muss man hohe Anforderungen an das Personal stellen, das sowohl eine gewisse Übung im Umgang mit intensivpflichtigen Patienten ausweisen als auch äußerst belastbar sein sollte (Überdruck, Schichtbetrieb, jährliche Taucheignungsprüfung).

1.3. Methoden der Mikrozirkulationsmessung

1.3.1. Invasive Methoden der Mikrozirkulationsmessung

1.3.1.1. Intra-vital Mikroskopie (IVM)

Die konventionelle intra-vital Mikroskopie, zum Beispiel die Nagelfalzmikroskopie, bietet die Möglichkeit der direkten Beobachtung von Gefäßen und stellte lange den Standard in der Messung der Mikrozirkulation dar³⁶. Zur Kontrastverstärkung setzt diese Methode die systemische Gabe von fluoreszierenden Farbstoffen (FITC-Dextran oder Rhodamin 6G) voraus. Diese Substanzen selbst können aber schon toxisch wirken beziehungsweise foto-toxische Effekte hervorrufen und sind nicht für die Anwendung am Menschen zugelassen^{71,80}. Ein Großteil der wissenschaftlichen Daten, bei denen die Mikrozirkulation durch die IVM bestimmt wurde, stammt aus Studien am Tiermodell. Dies ist einerseits in der enormen Größe der Geräte und der damit verbundenen Unhandlichkeit begründet als auch in der Benutzung von Fluoreszenzfarbstoffen die am Menschen aus ethischen Gründen nicht anwendbar sind.

Die Anwendung der IVM am Menschen ist auf wenige Gebiete beschränkt, deren Gefäße sichtbar und oberflächennah sind, wie zum Beispiel der Nagelfalz-Videokapillarmikroskopie. Dabei wird eine Mikrozirkulationsmessung am Nagelfalz durchgeführt, welche der Behandlung und der Diagnose von peripheren Gefäßerkrankungen, Diabetes und hämatologischen Erkrankungen dient^{22,23}. Weitere der IVM zugängliche Gebiete sind: Auge, Haut, Lippen, Zahnfleisch und Zunge¹⁶. Eine breite klinische Anwendung hat die IVM aus oben genannten Gründen bisher nicht erfahren.

1.3.1.2. Konfokale Laser-Raster-Mikroskopie (CLSM)

Die Mikrozirkulation lässt sich auch durch die konfokale Laser-Raster-Mikroskopie darstellen. Dies ist eine relativ neue Methode, die sich im Gegensatz zur normalen Fluoreszenz-Mikroskopie durch eine höhere optische Auflösung auszeichnet. Beschrieben wurde diese Methode am Tiermodell von *Bussau et al.* und am Menschen von *Rajadhyaksha et al.* ^{10,69}. Nachteile dieser Methode sind wiederum die ebenfalls benötigten Fluoreszenzstoffe, die zur optimalen Darstellung der Bilder notwendig sind, als auch die Bildaufzeichnung, welche nicht mit der standardmäßigen Frequenz von 30 Bildern pro sec, sondern nur mit 16 Bildern pro sec geschieht. Dies führt zu Problemen bei der Auswertung von dynamischen Prozessen.

1.3.2. Nicht-invasive optische Methoden zur Mikrozirkulationsmessung

1.3.2.1. Laser Doppler-Fluxmetrie (LDF)

Die Laser-Doppler-Fluxmetrie ist eine Methode, welche die Mikrovaskularisation nicht-invasiv darstellen kann. Sie beruht auf dem Prinzip der Untersuchung von Gewebe mittels eines monochromatischen Laserlichtstrahles, welcher einen Durchmesser von 250 – 800 µm hat. Die Wechselwirkungen zwischen dem Laserlicht und den sich bewegenden Erythrozyten – durch sogenannte Dopplershifts neu entstehende Frequenzen - wurden von *Stern* erstmals 1975 untersucht ⁸¹. Untersuchungen zu vaskulären Reaktionen, Raucher mit Nichtrauchern vergleichend, wurden mit dieser Technik von *Noble et. al.* durchgeführt ⁶⁴.

Vorteile dieser Methode sind die Einfachheit und die kurze Untersuchungszeit, Nachteile die geringen Eindringtiefen des Laserlichtes von maximal 1 mm und die erhebliche Variabilität der Messwerte, sowie das Fehlen von Absolutwerten, womit ein interindividueller Vergleich erschwert wird. Mit der LDF lassen sich kaum Rückschlüsse auf die nutritive Versorgung der Haut ziehen, da das reemittierte Licht hauptsächlich aus dem arterio-venösen Anastomosen stammt, und nicht aus dem subpapillären Plexus. Aus oben genannten Gründen wird auch das LDF bisher nicht routinemäßig zu Mikrozirkulationsuntersuchungen herangezogen ¹³.

1.3.2.2. Nah-Infrarot Spektroskopie (NIRS)

Der Einsatz der NIRS basiert auf gepulstem, monochromatischem Licht der Wellenlängen im Bereich von circa 650 bis 950 nm und ermöglicht eine semiquantitative Berechnung des oxygenierten Hämoglobin- und Cytochrom-aa3-Gehaltes des untersuchten Gewebes. Durch den Cytochrom-aa3-Gehalt lässt sich auch eine Aussage zur zellulären Oxygenierung treffen¹³. Der Vorteil dieser Methode liegt in der hohen Eindringtiefe, womit sogar transcranielle Messwerte erhoben werden können⁷. Erstmals beschrieben wurde diese nicht-invasive Methode von Jöbsis 1977, Verwendung fand die NIRS ursprünglich in der Untersuchung von Neugeborenen und zum Monitoring während der Geburt³⁷. Aktuell wird die NIRS zur Messung der cerebralen Oxygenierung während Herzoperationen und bei Herzstillstand eingesetzt⁶³. Die NIRS eignet sich als Routineverfahren nur bedingt, da aufgrund einer fehlenden Kalibrierung nur relative Veränderungen angegeben werden können^{13,58}.

1.3.2.3. Orthogonales Polarisation Mikroskop - OPS®-Imaging

Die OPS®-Imaging Technologie ist eine nicht-invasive Messmethode, welche hochauflösende Bilder der Mikrovaskularisierung in bestimmten Geweben von Lebewesen während Operationen zu Forschungsfragen oder zu klinischer Diagnostik darstellen kann. Erstmals vorgestellt wurde diese Technologie von Groner *et al.* im Jahre 1999 in einem Artikel der Zeitschrift „Nature Medicine“²⁶. Im Gegensatz zur konventionellen Intra-vital Mikroskopie benötigt man zur Mikrozirkulationsmessung mittels OPS®-Imaging keine Fluoreszenzfarbstoffe. Orthogonal Polarization Spectral (OPS®-Imaging) beruht auf der Erzeugung einer virtuellen Lichtquelle im untersuchten Gewebe und der Filterung des Oberflächen-Streulichtes. Diese patentierte Technologie der virtuellen Hintergrundbeleuchtung ermöglicht es, ohne die Verwendung von Fluoreszenzstoffen oder Durchleuchtung, Echtzeit-Bilder der Mikrozirkulation zu erfassen. Die sogenannte Hintergrundbeleuchtung entsteht bei Versuchsaufbauten in circa 1 mm Tiefe, während in vivo-Untersuchungen in circa 0,2 mm Tiefe im Gewebe durchgeführt werden. Als Parameter stehen Gefäßdurchmesser (DIAM), Erythrozytenfluss-geschwindigkeit (VEL) in Venolen und Kapillaren sowie die funktionelle Kapillardichte (FCD) zur Verfügung. Die Aufnahmen werden kontinuierlich auf Video aufgezeichnet und können später offline mittels einer speziellen Software ausgewertet werden^{17,26,31,44,55,56}.



Abbildung 2: Aufbau des OPS[®]-Imaging Mikroskopes; das linke Bild zeigt das funktionsbereite Gerät mit Beispielsbild einer Messung der Mikrozirkulation; das rechte Bild zeigt die komplette Messeinheit mit IBM-kompatiblen PC im Untergehäuse (mit freundlicher Genehmigung von Lekam medical limited)

2. Material und Methoden

2.1. Aufklärung der Patienten

Die Patienten wurden auf einem einseitigen Informationsblatt (Anhang 1) über den Ablauf und die Zeitpunkte der Untersuchung informiert. Diese wurden durch einen Facharzt der Anästhesie (zuständig für die Abteilung HBO), einen Stationsarzt und den Studienbeauftragten ausführlich aufgeklärt; in diesem interdisziplinären Aufklärungsgespräch wurde den Studienteilnehmern zudem das OPS[®]-Imaging Mikroskop vorgeführt und eine beispielhafte Messung der Mikrozirkulation an einem der Ärzte durchgeführt. Voraussetzung zur Studienteilnahme war unter anderem die mündliche Einwilligung der Patienten zur nicht-invasiven Untersuchung im Rahmen dieser Studie unter Anwesenheit von zwei Zeugen.

2.2. Patientenkollektiv

Die Studiengruppe umfasste 12 Patienten der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Murnau, die sich im Zeitraum vom 01.09.2004 – 30.10.2004 auf verschiedenen chirurgischen Stationen befanden sowie zusätzlich 2 Pflegekräfte der HBO-Abteilung. Einige Patienten wurden mehrmals untersucht; jede dieser Untersuchungen wurde als neuer unabhängiger Patient gewertet, so dass die Anzahl der Untersuchungen (n) 27 beträgt. Alle Untersuchungen gingen in die Studie ein und wurden in der Statistik berücksichtigt.

Die untersuchten Patienten wurden zufällig aus dem gesamten Behandlungsspektrum der Druckkammer in Murnau ausgewählt; die Verletzungsmuster reichen von einem polytraumatisiertem Patienten, welcher intubiert und beatmet war, bis zu peripheren Monoverletzungen beziehungsweise Patienten mit Wundheilungsstörungen. Zudem wurden zwei Intensivpfleger in die Studie aufgenommen; diese unterzogen sich jeweils einer Behandlung und dienten somit sowohl einer größeren Bandbreite des Patientenkollektivs als auch der Einschließung einer gesunden Kontrollgruppe. Um in die Studie aufgenommen zu werden, mussten die Probanden jeweils ein Druckkammerschema vollständig absolvieren. Desweiteren wurden keine Patienten in die Studie eingeschlossen, deren klinischer Zustand die anschließende circa 5-minütige

Messung der Mikrozirkulation nicht zuließ, sondern eine umgehende weitere therapeutische oder pflegerische Versorgung erforderte.

Die Patientendaten wurden verschlüsselt, indem aus den Initialen, dem Geburtsdatum (ddmmyy) und der Station des Patienten eine 10-stellige Ziffernabfolge generiert wurde. Diese Verschlüsselung ermöglichte eine anonymisierte Offline-Auswertung und eine eindeutige Zuordnung der Daten.

Die klinischen Daten wurden auf einem Erfassungsbogen gesammelt: Hierzu zählten das vorrangegangene Trauma, Haupt- und Nebendiagnosen, eventuell aufgetretene Komplikationen des bisherigen Krankheitsverlaufes, eventuell aufgetretene Komplikationen während der bisherigen HBO-Therapien, die Anzahl der bisherigen HBO-Therapien, die Untersuchungszeitpunkte, die aktuelle Medikation, der Nikotinkonsum und das Geschlecht des Probanden. Ebenso wurden als sogenannte Laborparameter die Leukozyten im Blut, der Hb-Gehalt im Blut, der systolische und diastolische Blutdruck und die Herzfrequenz aufgenommen und dokumentiert. Die Herzfrequenz (HF) und der Blutdruck (RR) wurden möglichst zu äquivalenten Zeitpunkten erfasst, zu denen Mikrozirkulationsparameter erhoben wurden. Diese Zeitpunkte T1, T2 und T3 für die jeweiligen Parameter werden im folgenden noch ausführlicher erklärt. Für diese sogenannten Laborparameter wurden die jeweils aktuellsten Laborwerte der Patienten während des stationären Aufenthaltes herangezogen. Zusätzlich wurde auch der *Injury Severity Score* (ISS) dokumentiert. Der ISS ist eine Skala, welche der Schwere einer Verletzung Zahlen zuordnet und von 0 - 75 reicht. Dieser Score findet bei Patienten mit mehrfachen Verletzungen Anwendung und korreliert sehr eng mit Sterblichkeit und Aufenthaltsdauer in der Klinik ³.

2.3. Therapieschemata

An der BG Unfallklinik Murnau gibt es verschiedene Behandlungsmöglichkeiten für Patienten in der Druckkammer. Die drei häufigsten Schemata sind das Problemwundenschema (TS240/90), das Boerema Schema (TS300/90) und das US Navy Treatment Table 6 Schema (TS280/60). Die Angaben in den Klammern beziehen sich jeweils auf das Therapieschema und den dabei verwendeten maximalen Druck in der Kammer in hPa und die Sauerstoffatemzeit bei diesem Druck in Minuten.

Für das US Navy Treatment Table 6 Schema wird der Kammerdruck auf maximal 280 hPa gesteigert. Während dieser hyperbaren Phase wird für insgesamt 60 Minuten 100% Sauerstoff über Masken geatmet. Dieses Schema wird vor allem bei Patienten angewendet, die einen Tauchunfall erlitten haben. Unter dem Boerema Schema wird der Druck in der Kammer auf maximal 300 hPa gesteigert und über einen Zeitraum von insgesamt 90 Minuten 100% Sauerstoff geatmet. Mit diesem Schema werden insbesondere Patienten behandelt, die eine Kohlenmonoxidintoxikation beziehungsweise eine Rauchgasintoxikation haben oder an einem Gasbrand leiden. In diese Studie wurden nur Patienten aufgenommen, die mit dem Problemwundenschema (Abbildung 3) behandelt wurden. Maximaler Druck in der Kammer ist in diesem Schema 240 hPa und es wird über insgesamt 90 Minuten 100% Sauerstoff geatmet. Wie bereits unter 1.2.3. erwähnt, wechseln sich während der hyperbaren Therapie 30 Minuten-Phasen, in denen 100% reiner Sauerstoff geatmet wird, mit 10 Minuten-Phasen ab, in denen die Patienten zur Vermeidung von toxischen Nebenwirkungen des Sauerstoffes Normalluft atmen. Kompression und Dekompression dauern je 15 Minuten, wobei während der Kompression Normalluft geatmet, während der Dekompression reiner Sauerstoff geatmet wird. Indikationen für dieses Schema sind nekrotisierende Weichteilinfekte, sogenannte Problemwunden, die theraphierefraktäre Osteitis und eine akute posttraumatische Schwellung.

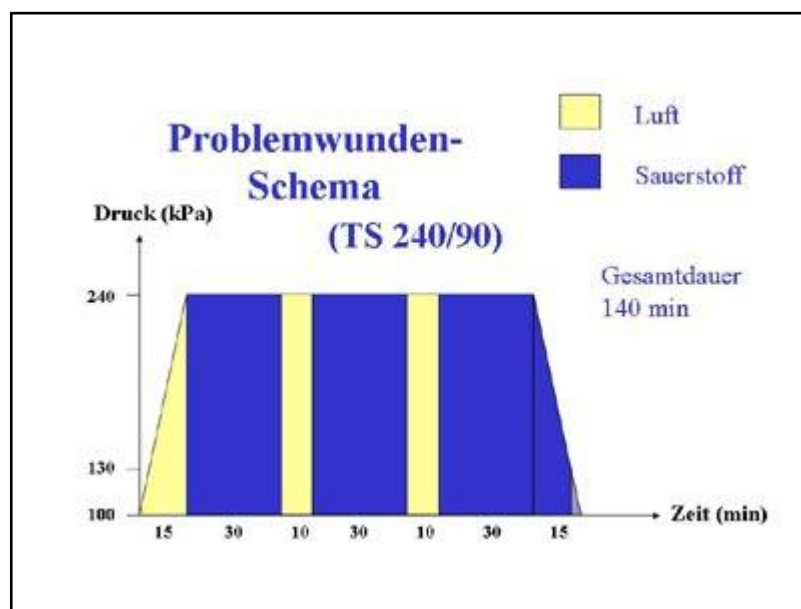


Abbildung 3: Problemwundenschema TS240/90 der BG Unfallklinik Murnau; Gesamtdauer der Therapieeinheit 140 Minuten; drei Phasen von je 30 Minuten in denen 100% Sauerstoff geatmet wird, zusätzlich 15 Minuten in der Dekompressionsphase, sowie zwei Unterbrechungen der Atmung von reinem Sauerstoff zu je 10 Minuten⁷⁸

2.4. Vitalparameter und Überwachung der Patienten während der Überdruckphase

Während der gesamten Zeit, welche sich die Patienten in der Druckkammer befinden, wurden die Herzfrequenz und der Blutdruck als Vitalparameter erhoben und computergestützt gespeichert. Die Herzfrequenz wurde mittels 3-Kanal EKG ermittelt und aufgezeichnet. Der Blutdruck wurde innerhalb der Kammer automatisch mit einer für Druckkammern geeigneten Blutdruckmanschette nach Riva-Rocci bestimmt. Aus diesen Werten wurde der mittlere arterielle Blutdruck (MAD) errechnet. Der MAD lässt sich anhand folgender Formel errechnen und annähern:

$$\text{MAD} = \text{RR}_{\text{dias}} + \frac{1}{3}(\text{RR}_{\text{sys}} - \text{RR}_{\text{dias}}) \quad 20$$

Der MAD wurde benutzt, da er als der entscheidende Wert für die periphere Durchblutung gilt und als einzelner und kompakter Wert gleichzeitig für Systole und Diastole steht ⁷⁹.

Der Blutdruck wurde im Verlauf der Behandlung beobachtet und miteinander verglichen. Es wurden die Werte kurz vor Beginn der Behandlung (T1RR) mit denen direkt am Anschluss an die dritte Überdruckphase mit 30 Minuten Sauerstoffexposition (T2RR), 125 Minuten nach Beginn der Überdruck-Therapie, miteinander verglichen. Der Blutdruck (T1RR) wurde nochmals mit dem Blutdruck (T3RR) zum Zeitpunkt der dritten Mikrozirkulationsmessung (T3) verglichen. Die Patienten wurden angehalten, in der Zeit zwischen den Messungen von T2 und T3, sozusagen der Zeitraum nach Beendigung der HBO-Therapie und vor der letzten Messung des jeweiligen Tages, auf ihre jeweilige Station zurückzukehren und keinerlei anstrengende Tätigkeiten zu absolvieren. Die Patienten wurden des Weiteren gebeten bis nach der T3 Messung im Bett zu verweilen um so standardisierte Verhältnisse zu schaffen. Bei der Herzfrequenz wurden die Messpunkte nach dem gleichen Schema wie bei den Blutdrücken festgelegt, T1HF kurz vor Beginn der Therapie, T2HF nach Beendigung der dritten Überdruckphase mit Sauerstoff, zum Zeitpunkt 125 Minuten nach Therapiebeginn. Der Zeitpunkt T1RR / T1HF wurde kurz vor den Beginn des Überdruckaufbaus gelegt, da hier die Patienten bereits einige Minuten in der Kammer sitzen und somit eine gewisse Zeitspanne keinerlei Anstrengung ausgesetzt sind, was den Blutdruck und auch die Herzfrequenz zu den Zeitpunkten T1RR / T1HF und T2RR / T2HF besser vergleichbar macht, da die Grundvoraussetzungen vergleichbar sind.

2.5. Mikrozirkulationsmessung

2.5.1. Untersuchungszeitpunkte und praktische Durchführung

Die Zeitpunkte an denen die Mikrozirkulation gemessen wurde, waren jeweils direkt vor, direkt nach der Beendigung der Druckkammerfahrt und zwei Stunden nach der Therapie. Diese Messzeitpunkte wurden als T1 (vor der Therapie), T2 (direkt am Anschluss an die Therapie) und T3 (2h nach der Therapie) bezeichnet. Auch hierfür wurden die Patienten gebeten, sich in der Zeit zwischen T2 und T3 ebenso zu verhalten wie für die HF und RR Messung. Es wurde maximal ein Patient pro Therapieeinheit untersucht, da es ansonsten zu Schwankungen in der Messung T2 kommen könnte: Der Abstand zwischen der HBO-Therapie und der Mikrozirkulationsmessung könnte sich enorm verlängern und es könnte ein unverhältnismäßig langes Pausenintervall entstehen. Gemessen wurde die Mikrozirkulation intra-vital mittels OPS[®]-Imaging an mindestens fünf verschiedenen Stellen der Mundschleimhaut unter der Zunge. Diese Stelle unter der Zunge wurde ausgewählt, da hier keine Verhornung der Haut zu finden ist und somit weniger Störfaktoren für ein gutes Abbild der Blutgefäße vorliegen. An den Seiten der Zunge waren die Ergebnisse deutlich besser und leichter zu erfassen als unter der Spitze der Zunge. Die Messdauer variierte zwischen 5 und 10 Minuten, abhängig von der Qualität der Bilder und der Fähigkeit der Patienten wenige Bewegungsartefakte zu produzieren. Die Messdauer entspricht der Aufnahmedauer, die ausgewerteten Sequenzen wurden später offline herausgesucht und analysiert. Die Auswertung der Bilder erfolgte anonymisiert.

Die Messsonde, etwa der Größe eines Bleistifts ähnlich, wurde während der Messung mit möglichst wenig Druck auf die Schleimhaut aufgesetzt, da zu viel Druck zur Verlangsamung der Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten führen kann und eventuell eine Blutstase auslösen könnte⁵⁰. Im Laufe der Vorbereitung auf diese Studie konnte in intensiven Übungen an freiwilligen Probanden der Umgang mit der Sonde einstudiert werden, um den Untersuchungsdruck zu minimieren und so Artefakte zu vermeiden. Andere Studien beschreiben eine Verbesserung der Aufnahmen durch den Einsatz von 0,9%-iger NaCl-Lösung¹²; diese Anfeuchtung zwischen der Optik des Messgerätes und der Hautoberfläche war in dieser Studie nicht erforderlich, da die Mundschleimhaut schon physiologisch eine sehr hohe Feuchtigkeit aufweist.

Um ein sauberes Arbeiten zu gewährleisten und eine Übertragung von Erregern von einem auf andere Patienten zu vermeiden, wurde vor jeder neuen Messung eine sterile

Plastikhülle „Cytolens™“ auf die Sonde aufgeschraubt, die zudem die Sonde vor Verunreinigung und Beschädigung geschützt hat. Diese Hülle beeinträchtigt oder verfälscht das Ergebnis der Messung nicht ⁵⁰. Die Geräteoberfläche sowie alle zum Patienten führenden Leitungen wurden nach jeder Messung mit Desinfektionsmitteln (Octenisept) gereinigt. Der Untersucher trug während der gesamten Messdauer Handschuhe.



Abbildung 4: Cytoscan™ der Firma Cytometrics Inc.; das linke Bild zeigt die Messsonde mit der sterilen Einmalhülle Cytolens™; das rechte Bild zeigt exemplarisch eine sublinguale Untersuchung von Patienten (mit freundlicher Genehmigung von Lekam medical limited)

2.5.2. Prinzip der orthogonalen Polarisationsmikroskopie (OPS®-Imaging)

Mit der orthogonalen Polarisationsmikroskopie OPS®-Imaging steht der Medizin nun seit einigen Jahren eine neue Methode der Intra-vital Mikroskopie zur Verfügung, welche die Mikrozirkulation in vivo messen kann. Die Abkürzung OPS®-Imaging steht hierbei für das Prinzip der Messung: „O“, da die Lichtquelle *orthogonal* zur Abbildungsebene steht, „P“ für das linear *polarisierte* Licht und „S“ für das durch den *Spektralfilter* entstandene Licht einer bestimmten Wellenlänge ³⁴. OPS®-Imaging ist ein patentiertes Verfahren zur Ausleuchtung von Schleimhäuten und Oberflächen fester Organe mit polarisiertem Licht und gleichzeitiger Erfassung des depolarisierten, reflektierten Lichtes. Die Bilderfassung beruht auf dem Effekt der Erzeugung einer „virtuellen“ Lichtquelle im untersuchten Gewebe und der Subtraktion des polarisierten Oberflächen-Streulichtes. Das durch eine Hochstromlampe erzeugte weiße Licht wird unter nur sehr geringer Wärmeentwicklung produziert und birgt somit keine Gefahr für Verletzungen der Probanden. Der Lichtstrahl wird durch einen Polarisator geführt der orthogonal zur Lichtquelle steht. Ein

nachgeschalteter Spektralfilter isoliert Licht der Wellenlänge 548 nm und emittiert dieses monochromatische Licht in Richtung Zielgebiet. Dabei wird mit der Wahl der Wellenlänge ein Kompromiss eingegangen, um einerseits eine ausreichende Eindringtiefe (Optimum hierfür wäre 810 nm), andererseits einen ausreichenden Kontrast der Hämoglobinbildung (Optimum hierfür wäre eine Wellenlänge von 420 nm) zu gewährleisten. Dieser Lichtstrahl wird linear polarisiert und orthogonal über einen halbdurchlässigen Spiegel in Richtung des zu untersuchenden Gewebes gelenkt. Im Gewebe wird ein großer Teil des erzeugten Lichts reflektiert; dieses immer noch polarisierte Licht stellt einen Störfaktor der Messung dar, kann jedoch durch einen der CCD-Kamera (Costar CV-M 536 CCIR, JAI, Tokio, Japan) vorgeschalteten Analysator eliminiert werden. Der Rest des erzeugten Lichts dringt zuvor tiefer in das Gewebe ein, bis zu 1 mm tief unter Laborbedingungen und 0,2 mm in vivo, wird stark gestreut und teils depolarisiert. Dieses nun depolarisierte Licht dient der CCD-Kamera als virtuelle Lichtquelle; da Hämoglobin das depolarisierte Licht absorbiert, wird es vor dem hellen Hintergrund als Negativbild abgebildet. Dies ermöglicht die Abgrenzung der mit Hämoglobin gefüllten Gefäße. Je mehr Erythrozyten sich in den Gefäßen befinden, desto besser wird der Kontrast des Gewebe-Gefäßes; dagegen stellen sich kollabierte beziehungsweise nicht durchblutete Gefäße nicht dar. Ein Monitoring am Menschen ist an unterschiedlichen Bereichen, wie zum Beispiel an der Haut von Neugeborenen, an der Konjunktiva, an den Lippen, an der Mundschleimhaut und in Wunden möglich ^{11,12,41,48,55,62}.

2.5.3. Äquivalenz des OPS[®]-Imaging zu anderen Methoden

Die Validierung zu anderen ähnlichen Verfahren wurde in mehreren Studien belegt. *Harris et al.* haben das OPS[®]-Imaging mit der konventionellen Intra-vital Mikroskopie verglichen. Dabei wurde am Modell des syrischen Goldhamsters die Äquivalenz der beiden Methoden gezeigt ³⁰. Auf diese Studie folgten weitere am Hamstermodell ^{31,33}, an Mäusen ⁶ und an Ratten ⁴⁶, welche ebenfalls die Vergleichbarkeit der Methoden zeigen. Weitere Studien in vivo, welche die Mikrozirkulation intra-operativ am Gehirn ⁸⁷, am Herz ⁸, am Kolon ^{6,55} und an der Leber benutzten ⁴⁷ folgten mit ähnlichen Folgerungen. Das OPS[®]-Imaging wurde auch mit der Nagelfalzmikroskopie verglichen. Beide Messungen konnten vergleichbare Daten liefern ⁵⁷.

2.5.4. OPS[®]-Imaging, technische Details

Um die gewünschten Daten erfassen zu können, wurde das OPS[®]-Imaging Video Mikroskop der Firma Cytometrics[™], Inc., 615 Chestnut Street 17th Floor, Philadelphia, PA 19106, USA benutzt. Dieses Mikroskop basiert auf dem Prinzip der orthogonalen Polarisationsmikroskopie (OPS[®]-Imaging) und ist ausschließlich für Darstellungs- und Kennzeichnungszwecke am Mikrozirkulationssystem der Oberfläche fester Organe und sonstiger Objekte wie zum Beispiel Schleimhautgewebe vorgesehen. Zum Zeitpunkt dieser Aufnahmen wurden keine diagnostischen oder therapeutischen Ansprüche an dieses Gerät gestellt³⁰.

Das folgende Bild (Abbildung 6) entspricht bei einer 5fach-Sonde (effektive Vergrößerung circa 167fach) etwa einem Gewebebereich von 1 mm, bei einer 10fach-Sonde (effektive Vergrößerung circa 334fach) etwa dem Bereich von 0,5 mm. In dieser Studie wurde bei jeder der Untersuchungen die 5fach-Sonde benutzt. Die Auflösung des hierbei erzeugten Bildmaterials beträgt 640 x 480 Pixel x 1024 Graustufen Videoauflösung. Der Fokus der Sonde wurde manuell über die Tasten am Hauptgerät gesteuert, da eine Steuerung des Fokus über die Tasten an der Sonde größere Bewegungsartefakte verursachte. Von diesen Bildern können bis zu 30 pro Sekunde erfasst werden.

Die Untersuchung wird in Echtzeit auf einem angeschlossenen Monitor dargestellt; die Bilder werden für die spätere Auswertung zusätzlich gespeichert und können mittels spezieller Software (Cap-Image[®], Ingenieurbüro Zeintl, Heidelberg) offline analysiert werden (siehe 2.5.6.2.;⁹⁰). Gespeichert wurden diese Videosequenzen mithilfe eines S-VHS Video Rekorders der Firma SONY, Modell SVO-9600 und S-VHS Cassetten der Firma BASF/Emtec, mit einer Laufzeit von 240 Minuten.

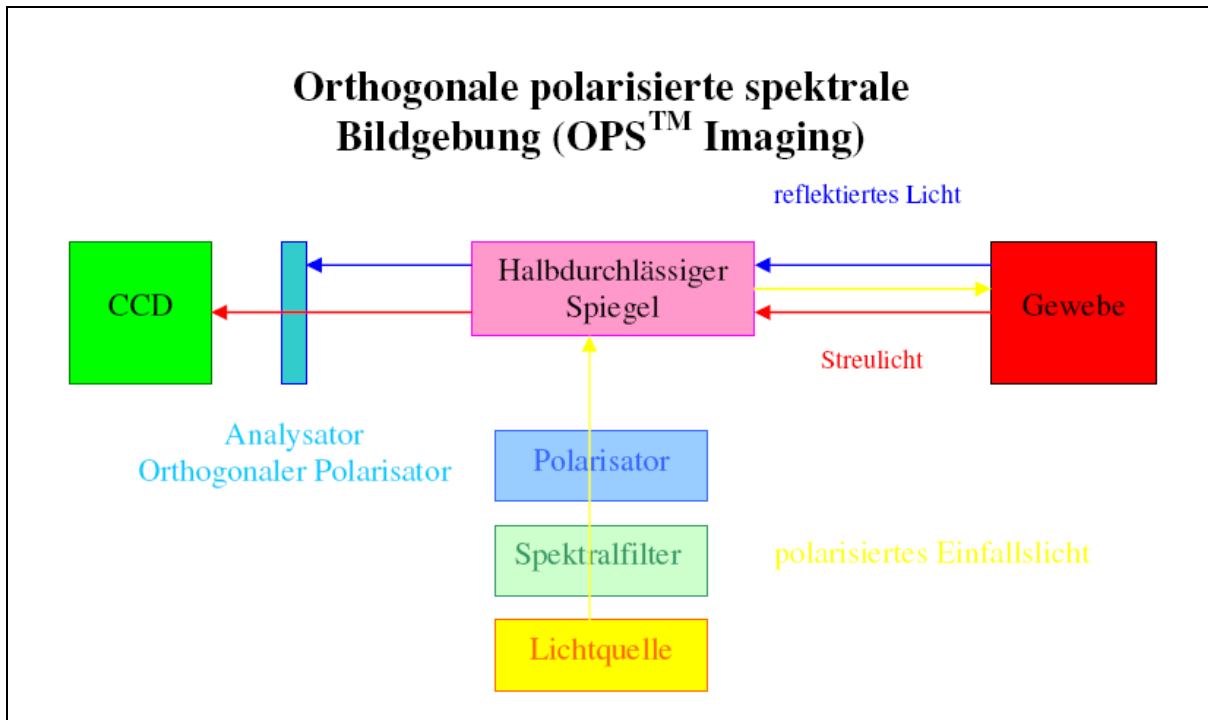


Abbildung 5: Funktionsprinzip des OPS®-Imaging ²⁶

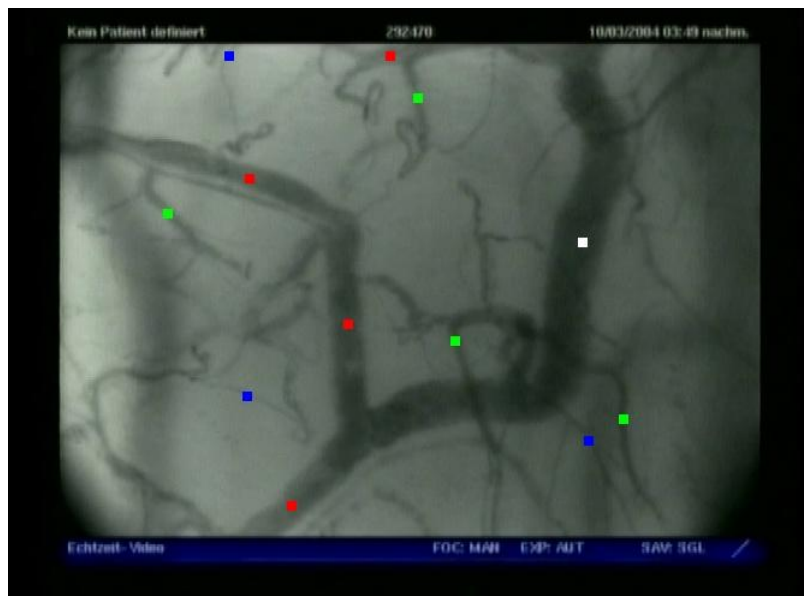


Abbildung 6: beispielhafte Übersicht in einem typischen OPS-Bild an der Mundschleimhaut unter der Zunge; es kann eine große Venole (weißes Quadrat), mehrere mittlere Venolen (rote Quadrate), mehrere postkapilläre Venolen (grüne Quadrate) und auch einige Kapillaren (blaue Quadrate) sehen.

2.5.5. OPS®-Imaging, erfassbare Mikrozirkulationsparameter

In dieser Studie wurden an den fünf verschiedene Untersuchungsstellen (2.5.1.) die vier verschiedenen Parameter anhand eines Standbildes beziehungsweise einer Videosequenz gemessen, um den aktuellen Zustand und die Veränderungen der Mikrozirkulation im zeitlichen Verlauf zu dokumentieren: die Erythrozytenfließgeschwindigkeit in Venolen (VEL-ven), die Erythrozytenfließgeschwindigkeit in Kapillaren (VEL-kap), die funktionelle Kapillardichte (FCD) und der Gefäßdurchmesser (DIAM).

Die **Erythrozytenfließgeschwindigkeit (VEL)** ist definiert als die Geschwindigkeit der Erythrozyten innerhalb eines Gefäßes und trägt die Einheit mm/s; für diese Studie wurde die VEL in den Venolen (VEL-ven) beziehungsweise den Kapillaren (VEL-kap) bestimmt. Hierzu wurden Gefäße mit 15 – 20 µm Durchmesser für die Venolen und Gefäße mit 5 – 10 µm Durchmesser für die Kapillaren herangezogen. Da sich die Fließgeschwindigkeiten innerhalb eines Gefäßes unterscheiden können (paraboloide Verteilung der Fließgeschwindigkeit) wurde die spätere Messung nur an zentralen Punkten innerhalb der Gefäße vorgenommen⁸³. Bei der Berechnung der VEL dient eine zentral und längs auf das Gefäß projizierte Linie mit 1 Pixel Durchmesser als Hilfe. An diese Linie werden alle Pixel des Gefäßes parallel angelegt und der Grauwertverlauf mit einer Frequenz von 50 Aufzeichnungen pro Sekunde festgehalten. Anhand von Korrelationskoeffizienten werden diese Grauwertverschiebungen verglichen. Mit der bekannten Zeitdauer zwischen zwei Aufzeichnungen und der Verschiebung unter der höchsten Korrelation, welche der Entfernung entspricht, kann die VEL berechnet werden. Der ermittelte Messwert ist der Mittelwert aus mindestens drei verschiedenen Messpunkten innerhalb des gleichen Gefäßes.

Die **funktionelle Kapillardichte (FCD)** ist definiert als die Gesamtlänge der perfundierten Kapillaren in einem Standbild und wird in cm/cm² angegeben. Die Angabe „funktionell“ bezieht sich auf die an der Gewebeversorgung beteiligten Gefäße, die nicht an der Perfusion teilnehmenden Gefäße können nicht dargestellt werden. Die FCD wurde in jedem der fünf Messfenster mitbestimmt und daraus wurde der Mittelwert errechnet. Um die Messung noch weiter standardisieren zu können, wurde bei jeder Messung eine vordefinierte Messfläche ausgewählt; somit war das Beobachtungsareal immer gleich groß⁹⁰. In diesem Areal wurden die Gefäße mit einem Mauscursor nachgefahren und so die Strecke pro Fläche berechnet. Die FCD bezieht sich in diesen Fenstern auf alle sichtbaren Gefäße, da eine Unterscheidung zwischen Kapillaren und Venolen nicht 100%-ig gewährleistet ist^{65,86}.

Der **Gefäßdurchmesser (DIAM)** ist als der Abstand von Endothelwand zu Endothelwand desselben Gefäßes definiert und wird in μm angegeben. Da mittels OPS[®]-Imaging die Endothelwand nicht sichtbar ist, wurden die Ränder einer Erythrozytensäule als gleichwertig zur Endothelwand definiert. Die Werte wurden pro Fenster einmal und innerhalb des Fensters sechsmal an der gleichen Stelle berechnet. Aus diesen Werten wurde der Mittelwert gebildet. Der Gefäßdurchmesser wurde jeweils an den Gefäßen bestimmt, an denen schon ein VEL-ven bestimmt wurde^{26,30}.

2.5.6. Offline Auswertung der Messdaten

Die erfassten und auf S-VHS Cassetten gespeicherten Bilder wurden in Zürich mit Hilfe der Cap-Image[®] Software ausgewertet. In der Auswertung wurden die vier Parameter jeweils für sich einzeln ausgewertet. Bei der VEL wurde die sogenannte „Line-Shift-Diagram“ Methode verwendet, wobei das Video automatisch startet und 10 Sekunden lang läuft. Die eigentliche Messung erfolgt dann anhand von Grauwerten entlang der Messlinien. Hatte sich ein großer Ausreißer als Ergebnis ergeben, der mindestens 200% größer als die Erfahrungswerte war, wurde dieser aus der Statistik genommen und an einer anderen Stelle wiederholt. Da die Richtung der Fließgeschwindigkeit bei der Auswertung nicht berücksichtigt wird, wurde der Betrag der Messwerte angegeben.

Die Erfassung des DIAM wurde manuell vorgenommen. Dabei wurden die jeweils kleinsten Gefäße erfasst und als Standard definiert, um eine gleichmäßige Erfassung dieses Wertes zu ermöglichen. Hierbei wurden je zwei Gefäße pro Untersuchungszeitpunkt vermessen, diese für sich je sechsmal vermessen und wieder ein Mittelwert berechnet.

Die FCD wurde auf einem von der Fläche immer gleichen Fenster bewertet. Hier wurden auf dieser festgelegten Fläche alle sichtbaren Kapillaren in die Messung eingeschlossen. Das Messfenster wurde pro Untersuchungszeitpunkt einmal ausgewertet.

2.5.6.1. Hardware-Konfiguration

Um die Videobilder in Echtzeit anzuzeigen, benötigt man einen IBM-kompatiblen PC, einen Videorekorder als sekundäre Quelle der Bilder und einen Farbmonitor, der die auszuwertenden Bilder anzeigt. Mit Tastatur und Maus werden die digitalisierten Bilder bearbeitet.

2.5.6.2. Software-Konfiguration

Die Validierung der quantitativen Bestimmung von Mikrozirkulationsdaten fand gegenüber der intra-vitalen Fluoreszenzmikroskopie im Hamstermodell, an der Rattenleber und sublingual am Menschen statt^{26,30,46}. In diesen Studien wurde auch jeweils das von Zeintl et al.⁹⁰ entwickelte, computerunterstützte Videobildanalysesystem Cap-Image® verwendet⁴².

2.6. Statistische Auswertung

Die klinischen Daten und die Messwerte wurden in Bezug auf die Therapie zu drei verschiedenen Messzeitpunkten erhoben. Für die Untersuchung ob sich die jeweiligen Werte in Abhängigkeit von der Therapie verändert haben, benötigt man eine statistische Auswertung. Diese Auswertung erfolgte mit Hilfe der SPSS®-Software für Windows (SPSS GmbH Software, Theresienhöhe 13, 80339 München, Deutschland). Für alle Daten wurden Mittelwert und Standardabweichung berechnet und auf Normalverteilung überprüft.

Um unter diesen Daten signifikante Unterschiede erkennen zu können, benötigt man noch einen geeigneten statistischen Test mit dem diese untereinander verglichen werden können. Bei diesen Daten handelt es sich um wiederholte Messungen, welche die gleichen Parameter am selben Patienten zu verschiedenen Zeitpunkten erfasst. Es werden verbundene Stichproben erfasst, die zu je zwei Zeitpunkten betrachtet werden, daher wurde der t-Test bei gepaarten Stichproben verwendet⁶⁰. Dieser Test bietet unter anderem die Möglichkeit Änderungen der Mittelwerte von T1 zu T2 beziehungsweise von T1 zu T3 statistisch zu erfassen und statistische Signifikanzen zu erkennen. Zusätzlich kann aus dem Output des t-Test noch der Korrelationskoeffizient r und dessen Irrtumswahrscheinlichkeit angegeben werden. Dies hat eine Aussagekraft für den linearen Zusammenhang zwischen den beiden Variablen. Signifikante Unterschiede wurden bei $p < 0,05$, hochsignifikante Unterschiede wurden bei $p < 0,01$ angenommen und in den Abbildungen und Tabellen mit einem * gekennzeichnet.

3. Ergebnisse

3.1. Klinische Daten der Patienten bei Aufnahme in die Studie

		Einheit	Unter- suchungen n=27	Mittelwert [± SA]	Minimum	Maximum
Geschlecht	männlich weiblich	n	9 18			
Leukozyten		/nl		12,36 [± 5,47]	6,3	28,4
Hämoglobin		g/dl		11,56 [± 2,05]	7,1	14,8
ISS		Punkte		14	0	57
Alter		a		44,2	39	57
Indikationen für HBO- Therapie:		n				
Extremitätenfraktur			20			
Wundheilungsstörung			25			
Ulcera			12			
akuter Knocheninfekt			4			
posttraumatisches Ödem			7			
Hautdefekt			12			
Weichteilinfekt			7			
Polytrauma			2			

Tabelle 1: Klinische Daten der 27 Patienten; Angabe des Mittelwertes beim Alter; Median und je die untere und die obere Quartile bei Leukozyten und Hämoglobin; behandelte Verletzungsmuster der Studienteilnehmer

Die klinische Studie umfasst insgesamt 27 Untersuchungen, wovon 18 Untersuchungen bei Frauen und 9 Untersuchungen bei Männern stattfanden. Darunter waren 2 männliche Intensivpfleger als gesunde Kontrollgruppe. Das Alter der Patienten betrug im Mittel 44,2

Jahre und es befanden sich nur Nichtraucher in der Studie. Die verschiedenen Verletzungsmuster sind in Tabelle 1 angegeben.

3.2. Mikrozirkulatorische Parameter

Um Schwankungen in den mikrozirkulatorischen Parametern zu vermeiden, welche man als intra- und interindividuelle Variabilität bezeichnen kann, wurde nicht nur ein Messwert pro Patient verwendet. Es wurden mindestens fünf Messfelder pro Patient untersucht und in diesen Messfeldern wurden die einzelnen Parameter als Mittelwert aus verschiedenen Sequenzen ermittelt, um eine zufällig entstehende Signifikanz unter den Ergebnissen weitgehend ausschließen zu können. In folgender Tabelle 2 sind sämtliche Parameter der Mikrozirkulation und deren Änderungen im Verlauf der HBO-Therapie angegeben.

	T1	T2	T3
VEL-ven (mm/s)	1,21 [± 0,17]	1,28 [± 0,13]	1,24 [± 0,14]
VEL-cap (mm/s)	1,23 [± 0,12]	1,26 [± 0,18]	1,14 [± 0,15]
FCD (cm/cm ²)	24,5 * [± 4,0]	24,7 * [± 3,9]	23,7 [± 2,3]
DIAM (µm)	12,0 [± 2,1]	10,8 [± 0,6]	11,5 [± 1,2]

Tabelle 2: Parameter der Mikrozirkulationsmessungen; angegeben als Mittelwerte mit Standardabweichung (bei Normalverteilung)

3.2.1. Funktionelle Kapillardichte (FCD)

Die Untersuchung der FCD ist von besonderem Interesse, da diese Studie primär das Ziel verfolgt, den Einfluss der HBO-Therapie auf Gewebepfusion zu untersuchen. Hierbei ist die Beurteilung der funktionellen Kapillardichte in Betracht auf die Gewebepfusion der repräsentativste Parameter. Die FCD veränderte sich von 24,5 cm/cm² vor der Therapie (T1) auf 24,7 cm/cm² direkt nach Therapie (T2) an. Zwei Stunden nach Therapie (T3) lag

der Wert der FCD unter dem Ausgangsniveau bei 23,7 cm/cm². Die Durchführung des t-Test bei gepaarten Stichproben zeigt eine signifikante Änderung (Signifikanz < 0,01) der Werte vor der Therapie (FCD-T1) zu den Werten direkt nach der Therapie (FCD-T2). Der Abfall der Werte von vor der Therapie (FCD-T1) zu den Werten zwei Stunden nach der Therapie (FCD-T3) um fast 5% ist nicht signifikant (Signifikanz = 0,123). In der Abbildung 7 werden die Veränderungen der Messwerte der FCD graphisch dargestellt.

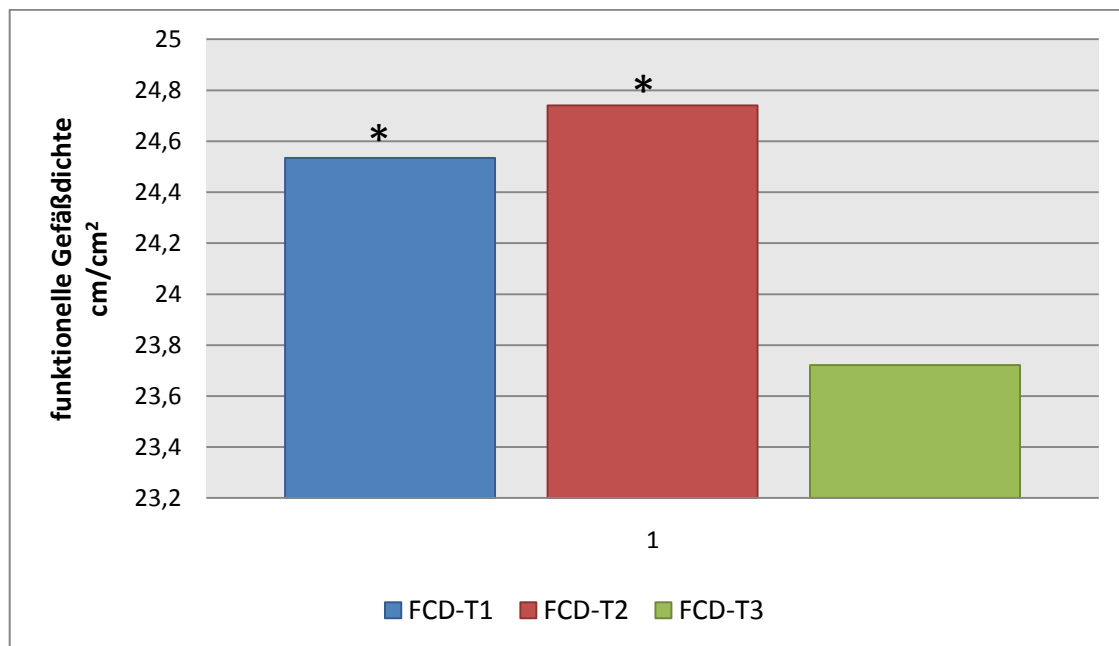


Abbildung 7: Änderung der funktionellen Gefäßdichte; als Mittelwert in cm/cm² angegeben

Um diese Ergebnisse in Bildern vergleichend darzustellen, zeigt die folgenden Abbildungen zwei von demselben Patienten aufgenommene Bildsequenzen. Abbildung 8 zeigt die FCD zum Zeitpunkt T1, Abbildung 9 die FCD zum Zeitpunkt T2. Beim Betrachten lässt sich die Zunahme der Gesamtlänge der gemessenen Strecke von Abbildung 8 zu Abbildung 9 erkennen. Dies entspricht dem statistisch ermittelten Anstieg der FCD.

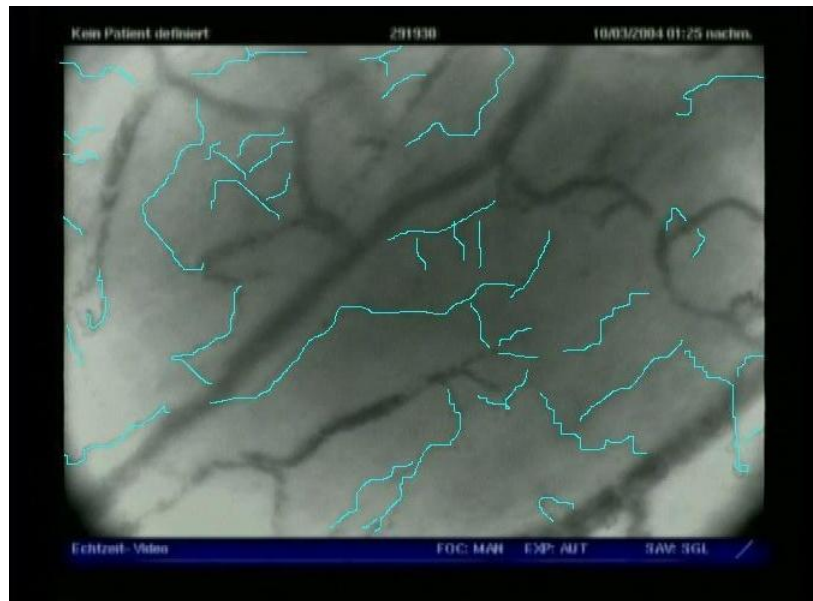


Abbildung 8: beispielhafte Messung der FCD mit CAP-Image. Die sichtbaren Kapillaren werden mit Linien nachgezogen und die Strecke addiert. Die Gesamtlänge, dividiert durch die Fläche des Fensters ergibt die FCD in cm/cm^2 ; in dieser Abbildung beträgt die FCD $19,5 \text{ cm}/\text{cm}^2$

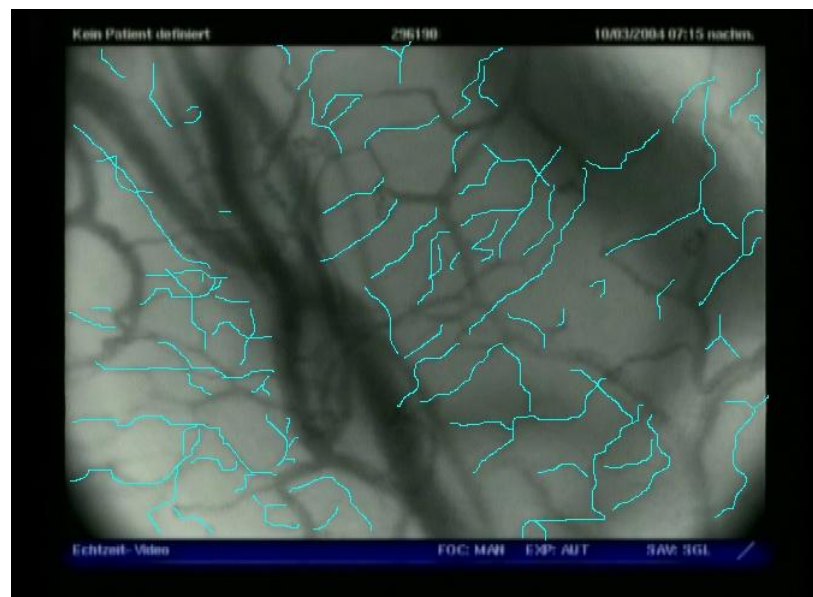


Abbildung 9: beispielhafte Messung der funktionellen Kapillardichte (FCD) mit CAP-Image. Die sichtbaren Kapillaren werden mit Linien nachgezogen und die Strecke addiert. Die Gesamtlänge, dividiert durch die Fläche des Fensters ergibt die FCD in cm/cm^2 ; in dieser Abbildung beträgt die FCD $33,6 \text{ cm}/\text{cm}^2$

3.2.2. Restliche Mikrozirkulationsparameter

Die anderen Mikrozirkulationswerte wie Gefäßdurchmesser (DIAM), Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten in Venolen (VEL-ven) und Kapillaren (VEL-kap) zeigten keine signifikanten Änderungen. Der Gefäßdurchmesser DIAM sank sowohl von T1, 12,0 μm , zu T2, 10,8 μm , als auch von T1, 12,0 μm , zu T3, 11,5 μm . Die Unterschiede waren aber nicht signifikant; T1 zu T2 (0,074) und von T1 zu T3 (0,038). Die VEL-Ven stieg in beiden Vergleichen an, von T1, 1,21 mm/s, zu T2, 1,28 mm/s, und von T1, 1,21 mm/s, zu T3, 1,24 mm/s. Auch hier ergaben sich keine signifikanten Unterschiede; T1 zu T2 (0,449) und T1 zu T3 (0,127). Die Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten in den Kapillaren stieg von T1, 1,23 mm/s, zu T2, 1,26 mm/s, an und fiel von T1, 1,23 mm/s, auf T3, 1,14 mm/s, ab. Die hier vorliegenden Signifikanz Berechnungen ergaben von T1 zu T2 0,085 und von T1 zu T3 0,915, d.h. auch diese Veränderungen waren nicht signifikant.

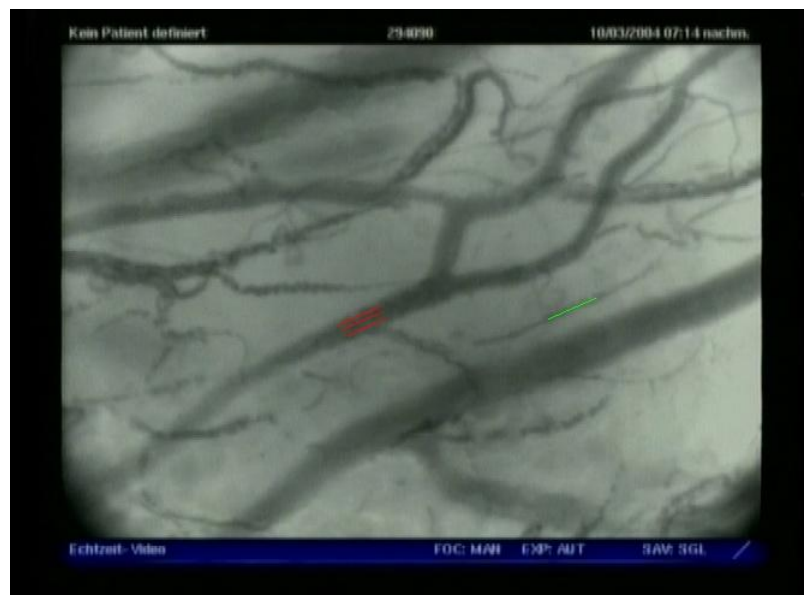


Abbildung 10: beispielhafte Messung der Erythrozytenfließgeschwindigkeit in Venolen (VEL-ven) und Kapillaren (VEL-cap) mit CAP-Image. Es können mehrere Messlinien in das Gefäßlumen gelegt werden und die Fließgeschwindigkeit kann in einem Line-Shift-Diagramm mittels der Steigung der Grauwert-Linien berechnet werden; hier beträgt die VEL-cap 1,23 mm/s (grüne Markierung) und die VEL-ven 1,34 mm/s (rote Markierungen)



Abbildung 11: beispielhafte Messung des Gefäßdurchmessers (DIAM) mit CAP-Image. Durch manuelles setzen zweier gegenüberliegender Punkte an der Gefäßbegrenzung (Endothel), wird eine Linie gebildet. Dies wird dreimal wiederholt und daraus der mittlere Gefäßdurchmesser berechnet; hier beträgt der DIAM 13,2 μm

3.3. Vitalfunktionen

Der Blutdruck und die Herzfrequenz wurden stets zu den gleichen Zeitpunkten aufgezeichnet und anonymisiert ausgewertet. In folgender Tabelle 3 erscheinen alle Veränderungen der gemessenen Vitalfunktionen im Vergleich.

	T1	T2	T3
MAD (mmHg)	95,9 * [\pm 7,3]	89,7 * [\pm 6,6]	94,8 [\pm 6,4]
HF (Schläge/min)	64,2 * [\pm 4,0]	57,6 * [\pm 3,2]	66,3 [\pm 3,9]

Tabelle 3: Parameter der Vitalfunktionen; angegeben als Mittelwerte mit Standardabweichung (bei Normalverteilung)

3.3.1. Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD)

Bei der Auswertung des mittleren arteriellen Blutdrucks ergab sich ein signifikanter Abfall des Blutdrucks von T1 zu T2 (Signifikanz $< 0,01$). Der MAD fiel während der Therapie um circa 6,4% von 95,9 mmHg auf einen Wert von 89,7 mmHg. Nach der hyperbaren Phase stieg der MAD wieder auf ähnliche Werte wie vor der Therapie an. Im Vergleich von T1 zu T3 fiel der MAD von 95,9 mmHg auf 94,8 mmHg ab, zeigte jedoch keine signifikante Änderung (Signifikanz = 0,7134).

3.3.2. Herzfrequenz (HF)

Die Herzfrequenz sank von 64,2 Schlägen pro Minute zum Zeitpunkt T1 um 10,3% auf 57,6 Schläge pro Minute zum Zeitpunkt T2. Diese Absenkung war statistisch signifikant (Signifikanz $< 0,01$). Im Verlauf der Beobachtung stieg der Wert der Herzfrequenz wieder an und lag mit 66,3 Schlägen pro Minute knapp über dem Ausgangswert von 64,2 Schlägen. Diese Steigerung der Herzfrequenz war nicht signifikant (Signifikanz = 0,563).

Es konnte insbesondere keine Korrelation für den MAD und die HF zur FCD festgestellt werden. Ebenso korrelierten die Vitalfunktionen nicht mit den restlichen mikrozirkulatorischen Parametern. Die nach Pearson berechneten Korrelationskoeffizienten liegen alle nahe Null.

4. Diskussion

4.1. Parameter der Mikrozirkulation

Die Mikrozirkulation von HBO-Patienten lässt sich mittels OPS[®]-Imaging transdermal beziehungsweise sublingual und nicht-invasiv darstellen. Dabei lassen sich die funktionelle Kapillardichte (FCD), die Fließgeschwindigkeit in Venolen (VEL-ven) und in Kapillaren (VEL-kap) sowie der Gefäßdurchmesser (DIAM) darstellen und vermessen. Mit Hilfe dieser Parameter lassen sich Rückschlüsse auf die Perfusion der Haut ziehen. Diese Folgerungen können anhand von Absolutwerten dargestellt werden.

Die Mikrozirkulation ist eine nicht unerhebliche Variable bei der Behandlung von Patienten mit Weichteilschaden, Wundheilungsstörungen oder Patienten die in einer Abteilung für plastische- beziehungsweise für Wiederherstellungschirurgie behandelt werden. *Erdmann et al.* zeigen in Ihrer Studie mit OPS[®]-Imaging auf, dass die Mikrozirkulation bei gestieltem und mikrochirurgisch freiem Gewebetransfer eine bedeutende Rolle spielt ²¹.

4.1.1. Die funktionelle Kapillardichte (FCD)

Mit der FCD lässt sich sowohl eine Aussage über die Hautdurchblutung treffen als auch gleichzeitig ein indirekter Wert für die Sauerstoffversorgung angeben, da nur perfundierte Gefäße mit OPS[®]-Imaging erfasst werden. Der Ausdruck „Perfusion“ ist dabei dem Nährstoffaustausch zwischen Blut und Gewebe ebenbürtig, da der Austausch von zwei Variablen abhängig ist. Die Erste ist die Anzahl und die Fließgeschwindigkeit der involvierten Erythrozyten und die Zweite ist die FCD mit den involvierten Arteriolen. Zwar ist die Qualität des Nährstoffaustausches nicht messbar, aber die FCD lässt eine repräsentative Beurteilung zu. Bei Untersuchungen von *De Backer et al.* die sowohl gesunde Patienten als auch Patienten mit septischen und mit kardiogenem Schock untersucht haben, wurde die FCD und VEL-ven sublingual gemessen. Die FCD war bei den Patienten mit Schockgeschehen signifikant erniedrigt ¹⁷. Eine andere Studie von *Schaudig et al.* berichtet über das gleichzeitige Absinken von FCD und von VEL-vel, sublingual gemessen, während Operationen mit kardiopulmonalem Bypass ⁷³. Heutzutage wird die FCD, nach vielen Untersuchungen und Studien, allgemein anerkannt und wird als mit der beste quantitative Indikator für die Gewebepfusion, sowohl im physiologischen als auch im pathophysiologischen Bereich, angesehen ⁶⁵. In einer Studie an Ratten wurde

eine signifikant erhöhte Durchblutung von operativ durchtrennten und wieder ligierten Nerven gezeigt, die mit HBO therapiert wurden. Diejenigen Ratten, welche täglich eine HBO-Therapie erhielten, hatten am fünften Tag ähnliche Durchblutungswerte des Nervengewebes, wie vor der Durchtrennung. Versuchstiere die keiner HBO-Therapie zugeführt wurden, hatten eine signifikant erniedrigte Durchblutung im Vergleich zu dem Zeitpunkt vor der Durchtrennung⁶¹. Diese Studie bezieht sich nur indirekt auf die FCD, zeigt dennoch dass die FCD durch die HBO-Therapie nicht abfällt und dadurch keine Ischämien zu befürchten sind. Ähnliche Effekte konnte eine Studiengruppe aufzeigen, die sich mit dem Einwachsen und Überleben von Transplantaten beschäftigte, wie sie bei Rekonstruktionen von Nasen benutzt werden. Dabei handelte es sich um Hasen, denen in die Ohren ein kreisrunder Defekt produziert wurde, welcher sogleich chirurgisch versorgt worden ist. Die Defekte waren vom Durchmesser verschieden und die Hälfte der Hasen erhielt nach der chirurgischen Wundversorgung eine HBO-Therapie. Je größer die Defekte waren, desto besser war die HBO-Therapie für deren Heilung⁴⁹.

In der hier vorliegenden Studie wurde gezeigt, dass die funktionelle Kapillardichte nach Therapie mit hyperbarem Sauerstoff nicht abfällt, sondern auf einem vergleichbaren Level verbleibt. Die FCD veränderte sich zwar von 24,5 cm/cm² direkt vor der Therapie (T1) auf 24,7 cm/cm² direkt nach der Therapie (T2) um knapp 1%, was aber biologisch als nicht relevant angesehen und als vergleichbarer Wert interpretiert wird. Diese Veränderung beziehungsweise Aufrechterhaltung der Mikrozirkulation wird direkt dem Effekt des hyperbaren Sauerstoffes zugeschrieben. Ein Abfall der FCD im Verlauf von 2 Stunden nach Beendigung der Therapie konnte dagegen nicht als signifikant nachgewiesen werden. Dieser vergleichbare Wert der FCD-T2 kann sowohl als therapiebedingte Aufrechterhaltung, aber auch als eine postischämische (nach Vasokonstriktion in der Kammer während der Therapie) Ausgleichsreaktion gewertet werden. Der nicht signifikante Abfall der FCD zwei Stunden nach Ende der HBO-Therapie kann nicht exakt gedeutet werden, jedoch liegt die Vermutung nahe, dass sich durch die erhöhte Sauerstoffversorgung des Gewebes Reservekapillaren schließen und somit die FCD absinkt. Vergleicht man die Blutdrücke und die Herzfrequenzen mit der FCD zu gleichen Zeitpunkten sieht man einen signifikanten Anstieg der Werte RR und HF von T1 zu T2 und jeweils nicht signifikante Änderungen beider Werte von T1 zu T3. Der Anstieg von T1 zu T2 kann aus zwei Gründen erfolgen. Zum einen sind die Patienten nach der Therapie in Bewegung - auch wenn die Patienten wie gewohnt 5 Minuten in sitzender Position verweilen können, während die Mikrozirkulationsmessung stattfindet - was den Anstieg begründen dürfte. Zum anderen bedeutet jede Therapie in der Druckkammer einen gewissen psychischen Stress. Hier sind beispielsweise die enge, laute Umgebung und

der nahe Kontakt zu anderen Patienten zu erwähnen. Dies zählt sicher auch zu den Gründen die Blutdruck und Herzfrequenz steigen lassen. Der nicht signifikante Abfall von MAD zwei Stunden nach der Therapie, würde sich durch die erhöhte Sauerstoffversorgung und damit verbundene physiologische Verringerung der FCD erklären lassen.

4.1.2. Die Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten in Kapillaren und Venolen (VEL-kap; VEL-ven)

Beide Parameter, die jeweilige Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten in den Kapillaren und in den Venolen, sind von T1 zu T2 angestiegen. Die Fließgeschwindigkeit in den Kapillaren ist von T1 zu T3 gefallen, die Fließgeschwindigkeit in den Venolen ist von T1 zu T3 gestiegen, im Vergleich zu T2 aber leicht gefallen. Jedoch war keinem dieser Werte eine Signifikanz nachzuweisen. Diese Ergebnisse sind mit anderen Studien gut vergleichbar. Es wird davon ausgegangen, dass unter hyperbarer Oxygenierung die Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten abnimmt. Hierzu gab es bisher nur Untersuchungen, die in Gefäßen im Gehirn gemessen wurden. Es konnte in einer Studie am Menschen gezeigt werden, wobei die VEL mittels transcraniellem Doppler gemessen wurde, dass sich unter hyperbarer Oxygenierung die VEL verringert. Die VEL bleibt unter hyperbaren Bedingungen mit Normalatmosphäre aber unverändert. Die Abnahme der VEL wird unter diesen Bedingungen hauptsächlich mit der Erhöhung des Sauerstoffpartialdruckes in Verbindung gebracht, diskutiert wird aber auch die Möglichkeit einer durch Hypokapnie, hyperventilatorisch induziert, ausgelösten Reaktion ⁶⁶. Vergleichbare Ergebnisse ergaben sich aus Untersuchungen mit verschiedenen Messmethoden, *Lambertsen et al.* ⁴⁵ konnte mit einer sogenannten Lachgasmethode eine Verringerung der VEL um bis zu 25% an cerebralen Gefäßen feststellen und *Kanai et al.* ³⁸ konnte mit der transcutanen Rheographie an den Carotiden ähnliches zeigen. Diese Ergebnisse werden durch die Forschung an Gehirnen von Ratten gestützt ⁵⁷. Man konnte durch den Einfluss von hyperbarem Sauerstoff eine vasokonstriktive Reaktion nachweisen und gleichzeitig einen Rückgang sowohl des cerebralen Blutflusses als auch des Blutvolumens zeigen. Die meisten Studien zu diesem Bereich zeigen eine Abnahme der Fließgeschwindigkeit beziehungsweise des Blutflusses, dennoch sollte darauf hingewiesen werden, dass die Lage der Studien dies nicht eindeutig belegen kann. Es scheint so, dass die Wahl der Meßmethode die Ergebnisse stark beeinflussen kann. Untersuchungen, welche die „hydrogen clearance“ Methode ^{18,19,92} verwenden, können eine signifikante Verringerung nachweisen. Bei Verwendung der Laser Doppler Methode

^{72,84,91} ergeben sich entweder keine beziehungsweise nicht relevante Änderungen oder signifikante Steigerungen ⁴³ in der VEL. In der Messung der VEL mittels „Thermoflow-Sonde“ konnte ebenfalls ein signifikanter Anstieg der VEL nachgewiesen werden ⁴.

4.1.3. Der Gefäßdurchmesser (DIAM)

Der Gefäßdurchmesser hat sich von T1 zu T2 verringert, zeigt aber keine Signifikanz. Dieser Rückgang wurde erwartet, da die Literatur einen Rückgang der Gefäßdurchmesser von bis zu 20% des Ausgangsdurchmessers beschreibt ^{15,68}. Die Gefäßdurchmesser wurden während einer HBO-Therapie auch an der Retina untersucht. Die Messungen der Gefäßdurchmesser an der Retina wurden mittels eines dafür entwickelten Ophthalmoskopes durchgeführt und mit einer Digitalkamera fotografiert. Es wurde ein Rückgang der arteriellen Gefäßdurchmesser um bis zu 9%, der venösen Gefäßdurchmesser um bis zu 20% beschrieben, die maximale Gefäßkonstriktion konnte nach höchster Sauerstoffexposition (hyperbar) beobachtet werden ⁸⁸. Dieser Rückgang kann in dieser Studie nachvollzogen werden, aber nicht verallgemeinert werden da der dort gezeigte Abfall des Gefäßdurchmessers keine Signifikanz zeigt. Eventuelle Gründe für die Entwicklung dieser Ergebnisse werden weiter unten in diesem Punkt besprochen. Der Gefäßdurchmesser von T1 hat zu T3 hat leicht abgenommen, auch diese Werte wären nachvollziehbar und sind erwartet worden. Abermals zeigt die Statistik allerdings keine Signifikanz auf. In der Studie von *Vucetic et al.* wurde aufgezeigt, dass bereits zehn Minuten nach Beendigung der HBO-Therapie die Durchmesser der Gefäße schon fast vollständig auf die Ausgangswerte vor der Therapie zurückgekehrt waren ⁸⁸.

Ein anderer Faktor ist die zeitliche Diskrepanz zwischen der letzten hyperbaren Phase und der Messung T2, speziell bei den Mikrozirkulationsparametern, da es nicht möglich gewesen ist diese Werte innerhalb der Kammer direkt am Patienten zu messen. Wäre es möglich eine OPS[®]-Imaging Messung in der Kammer durchzuführen, sollte bedacht werden, weitere Messpunkte innerhalb des Therapie-Schemas anzudenken. Hier würden sich die drei Zeitpunkte eignen, an denen die Patienten jeweils die Sauerstoffmasken abnehmen. Dies sind die ersten beiden Sauerstoffpausen und der Zeitpunkt, wenn der Kammerdruck wieder Normalatmosphäre erreicht.

Alle diese Ergebnisse spiegeln aber nicht genau das wieder, was die Therapie bei den Patienten bewirkt. Hier spielen mehrere Faktoren mit eine Rolle. Es war zum einem nicht möglich, direkt in den Sauerstoffpausen der Patienten die Veränderungen zu messen, da es keine Zulassung des Cytoscan[™] für Umgebungsdrücke gibt, die höher sind als

Normalatmosphäre. Mit dieser Zulassung für Überdruckkammern wäre es möglich gewesen, jeweils in den beiden Sauerstoffpausen zeitnah Veränderungen der Mikrozirkulation zu messen. Aus diesem Grund musste die Messung auf den Zeitpunkt verlegt werden, zu dem wieder Normalatmosphäre herrscht, also beim Verlassen der Kammer. Zu diesem Zeitpunkt atmen die Patienten, wie aus Abbildung 3 (Punkt 2.3.) ersichtlich wird, schon mindestens 15 Minuten Sauerstoff unterhalb des Therapiedruckes und zusätzlich atmen die Patienten bis zum Zeitpunkt der ersten möglichen Messung circa 3 – 5 Minuten Normalatmosphäre. Dies hängt damit zusammen, dass kurz vor Erreichen des Normaldruckes in der Kammer die Sauerstoffmaske abgenommen wird. Zum anderen nimmt es einige Zeit in Anspruch, die Kammer zu öffnen und bis zu zehn Patienten, die teils im Rollstuhl sitzen, aus der Kammer auszuschleusen. Ob sich nun in diesem Zeitraum der Effekt des Sauerstoffes auf die Mikrozirkulation schon wieder verflüchtigt hat oder zu einem großen Teil nicht mehr nachweisbar ist, kann nur vermutet werden. Hätte man mehrere Patienten aus einer Kammer untersucht, wäre es zu einer weiteren Verschiebung der Effekte gekommen. Daher wurde aus jeder Kammerfahrt nur maximal ein Patient untersucht. Möchte man diese Effekte noch genauer untersuchen, müsste die Möglichkeit bestehen, das Cytoscan™-Mikroskop in die Kammer einzuschleusen und dort Messungen vorzunehmen.

4.2. Variabilität der Vitalparameter

4.2.1. Herzfrequenz

Wie bereits in mehreren Studien gezeigt, hat sich auch in dieser Untersuchung nachweisen lassen, dass während einer HBO-Therapie die Herzfrequenz und der Blutdruck beeinflusst werden. Die Herzfrequenz betrachtend kann man sagen, dass sich die Frequenz im Laufe der Therapie langsam senkt und dann auf einem etwa 10% – 15% niedrigeren Plateau als der Anfangsfrequenz einpendelt. In dieser Studie hat sich die HF innerhalb der hyperbaren Phase im Mittel um 10,3% abgesenkt. Ein ähnliches Ergebnis zeigt die Untersuchung von gesunden Probanden in Druckkammern. Es zeigte sich eine Abnahme der HF im Mittel um 15% während der HBO-Therapie, wobei auch die HF von Probanden ohne HBO-Therapie im Mittel um 7% gesunken ist. Der Unterschied zwischen HBO und Kontrollgruppe war statistisch nicht signifikant aber messbar, dies wird auch so in der Literatur beschrieben ⁵¹. In einer anderen Untersuchung, an Patienten die nach

Radiatio und darauf folgender Weichteilnekrose beziehungsweise Knochennekrose mit einer HBO-Therapie behandelt wurden, zeigte sich eine Abnahme der HF um maximal 16% nach 90 Minuten HBO-Therapie. Im Mittel fiel die HF um 10% - 12% statistisch signifikant ab. Die HF begann sofort nach Therapieende wieder anzusteigen und befand sich 10 beziehungsweise 30 Minuten nach der hyperbaren Phase bei 88% beziehungsweise 96% der Ausgangswerte⁸⁸. Ebenfalls einen Abfall der HF zeigte sich bei der Untersuchung von Patienten mit Diabetes und/oder Hypertonus. Bei diesem Kollektiv fiel die HF signifikant um 18% ab². Der Abfall der HF kann durch verschiedene Faktoren bedingt sein, wie zum einen durch die Entspannung der Patienten während der hyperbaren Phase, soweit die Patienten den Lärm, verschiedene neue Geräusche und die Enge der Kammer nicht als negativen Stress betrachten. Zur Entspannung der Patienten trägt sicher auch die intensive Versorgung bei, die in einer Druckkammer zusätzlich zur stationären Versorgung möglich ist. Dies beinhaltet die persönliche Begrüßung durch das Team der Abteilung, die durchaus längeren und engeren Kontakte des HBO-Teams zu Patienten, die in der Druckkammer öfter dieselbe Therapie durchlaufen, die Versorgung mit Konsumgütern in der Kammer und der vorgeplante Tagesablauf durch die HBO, womit leere Zeit während des Stationsalltages minimiert wird. Diese Gründe spielen sehr wahrscheinlich auch eine nicht zu verachtende Rolle im Genesungsprozess. Gäbe es keine wissenschaftlich fundierten Ergebnisse bezüglich der Wirksamkeit einer HBO-Therapie, so würden sicher allein die oben genannten Versorgungsmaßnahmen innerhalb der HBO-Abteilung für die Patienten eine niedrigere Hospitalisierungstendenz bedeuten.

Die Steigerung der HF zwei Stunden nach Beendigung der hyperbaren Behandlung zeigte sich statistisch nicht signifikant, überstieg die Ausgangsfrequenz im Mittel aber um 3%. Diese Steigerung der HF konnte nicht nachvollzogen werden und wäre mit einer größeren Anzahl an untersuchten Personen eventuell besser beurteilbar. Dieses Ergebnis kann aber auch dadurch beeinflusst werden, dass sich die Patienten darauf einstellen konnten wann die Messung T3 stattfindet. Damit waren die Patienten unabhängig von der Studie, frei in der Klinik beweglich und teils nicht denselben Bedingungen ausgesetzt wie vor der Behandlung auch wenn die Patienten zu einem bestimmten Verhalten zwischen den Messpunkten gebeten wurden. Die Beanspruchung der Patienten seitens der Station und vom Klinikalltag ist im Anschluss an eine HBO-Therapie meist anspruchsvoller, da der Alltag nicht so geordnet und geplant verläuft, wie am gleichen Tag vor der Therapie.

4.2.2. Blutdruck

Der Blutdruck ist ein Vitalparameter der ebenso ständig vom Leitstand der Druckkammer aus überwacht wird wie die Herzfrequenz. Hieran lässt sich meist erkennen, ob die Patienten mit dem Umfeld der Druckkammer während der hyperbaren Phase zurecht kommen oder ob man einzelne Patienten ausschleusen beziehungsweise die HBO-Therapie unterbrechen oder gar abbrechen muss. Man konnte in den Messungen dieser Studie einen statistisch signifikanten Abfall des mittleren arteriellen Druckes (MAD) nachweisen. Der MAD fiel von 95,9 mmHg zum Zeitpunkt T1 um etwa 6% auf 89,7 mmHg ab. Hätte man die MAD der drei einzelnen Druckphasen während der Therapie-Schemata verglichen, so wäre der niedrigste MAD jeweils zum Ende der dritten Druckphase messbar gewesen. In dieser Studie wurde dies aber nicht miteinbezogen. Nach der Therapie stieg der MAD auf die Werte an, die denen vor der Therapie ähnlich waren. In dieser Studie wird demnach davon ausgegangen, dass die Therapie bei den Patienten für eine vorübergehende Depression des MAD führt, welche sich nach der Therapie schnell wieder rückbildet. In einer Studie in Dänemark konnte eben dieser Effekt nicht nachgewiesen werden, es wurden keinerlei signifikante Ergebnisse des RR im Augenhintergrund ausfindig gemacht ⁸⁸. Im Gegenteil zu der genannten und der hier vorliegenden Studie gibt es eine Untersuchung der Auswirkungen der HBO-Therapie bei internistisch erkrankten Patienten mit Diabetes mellitus und einer gleichzeitig hypertensiven Vorerkrankung sowie gesunden Kontrollpatienten. Hier stieg sowohl der systolische als auch der diastolische Blutdruck während der Therapie an, im Mittel um 10%, was auf den MAD bezogen ebenfalls einen Anstieg bedeutet. Dabei stiegen die Blutdrücke bei den erkrankten Patienten stärker an als bei den Gesunden ². Eine Studie, welche die Effekte der HBO auf die ventrikuläre Funktion, auf das pulmonale Füllungsvolumen und den Gefäßwiderstand bei Hunden hin untersuchte, hat den arteriellen Blutdruck als Parameter mit untersucht. Hier veränderte sich der arterielle Blutdruck während der Behandlung nicht ¹.

4.3. Zeitliche Nachweisgrenzen der HBO-Therapie Effekte

Um die Nachweisgrenzen für die jeweiligen Parameter genau herausfinden zu können, wäre es sinnvoll, die Parameter in kleineren Abständen schon vor Ende der hyperbaren Phase zu beginnen. So würde man im zeitlichen Verlauf erkennen können, wie sich die einzelnen Werte verändern. Es zeigte sich schon in dieser Studie, dass es sich relativ schwierig gestaltet die Veränderungen nachvollziehen zu können. Es wurden keine Zeitpunkte nach T3 gewählt, da man davon ausgehen musste, dass sich nach dieser Zeitspanne von mindestens 2 Stunden keine Effekte mehr nachweisen lassen. Dies wurde in dieser Studie und anhand der Annäherungen der Messwerte an die Werte vor der Therapie aufgezeigt.

4.4. Klinische Praktikabilität des OPS[®]-Imaging

In dieser Studie stand unter anderem die klinische Anwendbarkeit von OPS[®]-Imaging während einer HBO-Therapie, die Aussagekraft der aufgenommenen Bilder und ein mögliches diagnostisches Potential, sowie die Sicherheit, Funktionalität und Praktikabilität von OPS[®]-Imaging im Zentrum der Anliegen. Die Messungen erfolgten translingual, da dies bei Erwachsenen ein leicht zu erreichendes und unverhorntes Areal ist.

4.4.1. Artefakte durch Bewegung und Druck

OPS[®]-Imaging ist ein einfach und unkompliziert durchzuführendes Monitoring der Mikrozirkulation. Für einen Messvorgang benötigt man bei einem Erwachsenen circa 5 Minuten, in anderen Studien werden bei Neu- und Frühgeborenen für einen Messvorgang bis zu 30 Minuten angegeben ¹². Diese zeitlichen Differenzen werden durch die hohen Ansprüche bedingt, welche die beiden momentan verfügbaren Software-Produkte zur Auswertung, CapImage[®] und CapiScope[®], an die Video Aufzeichnung richten. Jeweils Voraussetzung für eine halbautomatische Auswertung durch die Programme sind stabile Video Aufzeichnungen für eine Dauer von mindestens 10 Sekunden. Bewegungen durch den Untersucher oder den Patienten beeinträchtigen diese Auswertung sehr. Insbesondere Patienten verursachen mit Bewegungen ihrer Zunge oder dem Versuch zu

schlucken diese Stabilität dieser Aufzeichnungen. Bei Verwackeln der Bilder muss die Sonde erneut unter der Zunge platziert werden und es muss erneut eine geeignete Stelle für neue Bilder gesucht werden. Um diese Aufnahmen so gut wie nur möglich reproduzieren zu können, benötigt auf der einen Seite der Untersucher Geduld und hohes Feingefühl, auf der anderen Seite sollte die Umgebung so gewählt sein, dass die Untersuchungen so ruhig wie möglich für den Patienten gestaltet werden können. Dies ist auf einer sehr gut organisierten Station, wie einer Druckkammer dieser Größe, nur schwer möglich. Aus diesem Grund wurde zu den Zeitpunkten T1 und T2 das Arztzimmer der HBO-Abteilung benutzt. Der Messzeitpunkt T3 wurde im Patientenzimmer durchgeführt, womit gleichbleibende Umgebungen geschaffen werden konnten. Es wurde versucht, die Artefakte, die durch den Untersucher ausgelöst werden, mit Hilfe einer Auflage für den Ellenbogen des Untersuchers zu minimieren, da diese Artefakte eine nicht zu verachtende Rolle für stabile Aufnahmen darstellen. Somit wurden Bewegungsartefakte reduziert und gleichbleibende Ergebnisse erzielt. Die Option, Artefakte nachträglich zu eliminieren oder auszugleichen, bietet nur die neuere Version der beiden Software Produkte, CapiScope®. Hier ist es entweder manuell möglich, eine markierte Linie per Maus in dem zu messenden Gefäß zu halten oder die Software korrigiert automatisch die Bewegungsartefakte (Automatic Movement Correction). Mit dieser Funktion sollen sehr gute Ergebnisse erzielt werden, dennoch ergeben sich die besten und die zuverlässigsten Ergebnisse auf Grund stabiler Ausgangssequenzen ⁴⁰.

Ein weiteres Problem der Mikrozirkulationsmessung mittels OPS®-Imaging ist der Druck, mit der die Sonde auf dem zu untersuchendem Untergrund platziert wird. Dieser Druck ist nicht objektiv kontrollierbar und somit ein limitierender Faktor für stabile und gleichbleibende Aufnahmen. Durch einen zu großen Druck können alle gemessenen Mikrozirkulationsparameter beeinflusst werden. Ein hoher Anpressdruck der Sonde kann Gefäße komprimieren ⁵⁶; als Folge kann der Durchmesser kleiner erscheinen und die Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten als auch die funktionelle Gefäßdichte reduziert sein, da scheinbar weniger Gefäße durchblutet werden. Daher muss seitens des Untersuchers versucht werden, diese Anpressdrücke auf ein Minimum zu reduzieren, sozusagen die Sonde nur auf die Schleimhautoberfläche aufzulegen und es zu einer leichten Berührung kommen lassen. Wie auch in anderen Studien war es möglich, Druckartefakte offline zu erkennen, zum Beispiel durch eine plötzliche Verlangsamung der Erythrozytengeschwindigkeit oder sogar einer Stase des Blutflusses, und somit durch ein nachträgliches Eliminieren der Werte diese nicht in die Bewertung mit eingehen zu lassen ⁶⁵. Es gibt mehrere Ansätze diese Druckartefakte zu vermeiden, zum Beispiel durch eine kontrollierte und objektive Druckkontrolle. Eine andere Möglichkeit diese Druckartefakte

auszuschalten, ist den Kontakt zwischen Sonde und Gewebe nicht zustande kommen zu lassen. Diese Methode wurde erstmals von *Uhl et al.* eingeführt, die mit dieser Technik intra-operativ bei cerebralen Aneurysma-Operationen und Tumor-Excissionen Mikrozirkulationsmessungen vorgenommen haben⁸⁷. Hierbei wurde eine OPS®-Imaging-Sonde in ein Stereotaxie-Gerät eingebaut und somit ein konstanter Abstand von 2 mm zwischen der Sonde und dem Gewebe eingehalten. Um dabei keine Verluste bei der Bildqualität hinnehmen zu müssen, wurde der Spalt zwischen der Sonde und dem Gewebe dauernd mit 0,9%-iger NaCl-Lösung gespült und dadurch der direkte Kontakt beider Oberflächen aufrecht erhalten. Einen sehr ähnlichen Aufbau haben auch *Thomale et al.* in einer Studie am Tiermodell verwendet und die Mikrozirkulation in normalen und traumatisierten Pia-Mater-Gewebe gemessen⁸⁵. Eine etwas davon abgewandelte Methode um Artefakte zu vermeiden verwendet *Lindert et al.*, der sowohl Druck- als auch Bewegungsartefakte auf ein Minimum reduziert⁵⁰. Die Studiengruppe um Lindert hat eine Vorrichtung entwickelt, die an der sterilen Cytolens® angebracht werden kann, aus Stahl besteht und wiederverwendbar ist. Diese Vorrichtung kann an eine Vakuum-Einheit angeschlossen werden und an das Gewebe angesaugt werden. Als Saugnäpfe dienen dabei die 24 Öffnungen entlang eines Ringes an der Stahlkonstruktion, die mit Unterdrücken von 30-100 mmHg betrieben werden. So wird eine optimale Fixierung des zu untersuchenden Bereiches in der Mitte des Ringes und ein konstanter Abstand von 0,5 mm erreicht. Diese Techniken sind für die Untersuchung in dieser Studie nicht anwendbar gewesen, da der Zeitaufwand bei der Anbringung der Hilfsmittel an den Patienten zu hoch gewesen wäre. Insbesondere beim Messpunkt T2 wäre eine weitere Zeitverzögerung kontraproduktiv gewesen. Auch durch den räumlichen Platz den die Vorrichtungen benötigten, wäre es in den engen Räumlichkeiten der Druckkammer-Abteilung zum Problem gekommen.

4.4.2. Vergleichbarkeit der Messwerte

Eine wichtige Voraussetzung für die Anerkennung der erhobenen Daten ist auch die Vergleichbarkeit mit anderen Methoden zur Mikrozirkulationsmessung. Dies wurde in mehreren Studien am Tiermodell gezeigt, welche die OPS®-Imaging Methode zum Beispiel mit der konventionellen Intra-vital Mikroskopie verglichen haben. Dabei wurden die beiden verschiedenen Methoden zu den gleichen Messzeitpunkten identischer Gefäße herangezogen. Anschließend quantitative Analysen haben ergeben, dass eine Korrelation zwischen den Werten besteht, die von OPS®-Imaging und der IVM gemessen wurden^{6,26,31,33,44,46,47,48,55}.

Die Vergleichbarkeit der Messwerte der OPS[®]-Imaging Technik ist aber durch ein Problem vermindert. Im Gegensatz zur Versuchsanordnung ³⁰ lässt sich im klinischen Alltag nur sehr schwer dasselbe Gefäßnetz der Mikrozirkulation messen. Eine Beobachtung im zeitlichen Verlauf von identischen Gefäßen ist derzeit nicht möglich, da sich das Gefäßbett zu komplex gestaltet, das Beobachtungsfeld kleiner als ein Millimeter ist und Gefäße ohne Markierung nicht wiedererkannt werden können. Daher müssen in der klinischen Anwendung bis zu diesem Zeitpunkt mehrere Gefäße vermessen und ausgewertet werden, um statistisch verwertbare Ergebnisse produzieren zu können ⁷⁵.

4.4.3. Anwendbarkeit bei Anämie

Das OPS[®]-Imaging liefert sowohl bei normalen Hb-Werten als auch unter anämischen Bedingungen ausagekräftige Ergebnisse. *Harris et al.* hat dies in einer Studie an der Rückenhautkammer am lebenden syrischen Goldhamster nachgewiesen ³⁰. Unter einer isovolämischen Hämodilution mit Senkung des Hämatokrits auf bis zu 25% des Ausgangswertes konnte man nachweisen, dass die OPS[®]-Imaging Technik dazu geeignet ist, exakte und reproduzierbare quantitative Messungen von Parametern wie FDC und DIAM zu generieren, selbst bei grossen Schwankungen des Hämatokrits. Unter einer Senkung des Hämatokrits nimmt die funktionelle Kapillardichte signifikant ab. Auch hier konnte gezeigt werden, dass sich sowohl mit OPS[®]-Imaging als auch mit IVM vergleichbare Ergebnisse erzielen lassen.

4.4.4. Sicherheit der Messungen

Die Anwendung von OPS[®]-Imaging erfordert keine Blutentnahmen und stellt daher kein invasives Monitoring dar. Zudem müssen keine fremden Stoffe, wie Farbstoffe, in die Blutbahn eingebracht werden. Daher ist mit keinerlei Nebenwirkungen zu rechnen. Das Licht des OPS[®]-Imaging stammt aus einer Kaltlicht-Quelle, die zu keiner Erwärmung des untersuchten Areales führt; somit ist hier auch mit keinen ungewollten Wirkungen zu rechnen. Die Technik des OPS[®]-Imaging beruht auf der Absorption von Licht einer bestimmten Wellenlänge und stellt somit auch hier weder für Patient noch für den Untersucher ein Risiko dar ^{26,31}. In dieser und weiteren Studien klagte kein Patient während oder nach der Untersuchung über ein Mißempfinden, Rötung oder Irritationen ⁵⁶. OPS[®]-Imaging wurde ohne jegliche Probleme auch an Neugeborenen angewendet ²⁵.

4.4.5. Vorteile gegenüber anderen Methoden

Ein Unterschied den die IVM und das OPS[®]-Imaging zu anderen Methoden wie der Laser-Doppler-Fluxmetrie oder der Infrarot-Plethysmographie aufweisen, ist die Wellenlänge des Lichtes. Bei OPS[®]-Imaging wird ein kurzwelliges Licht verwendet, im Gegensatz zu dem langwelligen Licht der anderen Methoden. Kurzwelliges Licht dringt nicht so tief in das Gewebe ein und erfasst somit eher die oberflächliche Gefäßsituation. Die damit getroffenen Aussagen repräsentieren eher die aktuelle Perfusionssituation. Langwelliges Licht dringt tiefer in das Gewebe ein und misst daher Parameter die für den globalen Blutfluss sprechen ²⁷.

Ein weiterer Unterschied des OPS[®]-Imaging ist sicherlich auch die nicht-invasive Diagnostik. Während bei anderen Methoden Blutentnahmen oder invasive Techniken erforderlich sind, sind diese Methoden beim OPS[®]-Imaging nicht abzuwägen. Durch diesen Vorteil kann man eine Risikoärmere Untersuchungsmethode anbieten. Die Risiken der invasiven Techniken sind zum Beispiel Verletzungen von Gefäßen, Nerven und anderen subkutanen Strukturen oder gar generalisierte Komplikationen, zum Beispiel auf Kontrastmittel.

4.4.6. Qualität der Bilder

Wie bereits unter Punkt 4.4.3. angesprochen, kann die Qualität der OPS[®]-Imaging Bilder auch bei niedrigen Hämatokrit-Werten stabil gehalten werden. Dies gelingt bis der Hämatokrit etwa einen Wert von 25% des Ausgangswertes unterschreitet (entspricht einem Hkt. von $12,0 \pm 0,8\%$ oder einem Hb. von $3,8 \pm 0,2$ g/dl) und die Aufnahmequalität durch Ödeme und Schwellungen des Gewebes limitiert wird ³³. Nur durch einen gravierenden Abfall des Hämoglobin-Wertes kann die OPS[®]-Imaging Methode eingeschränkt sein, da sich die Gefäße in den Aufnahmen nur aufgrund der zirkulierenden Erythrozyten vom umgebenden Gewebe abheben. Durch den Hb-Abfall wird der Kontrast vermindert und die Auswertungsqualität wird stark vermindert. Diese Vorkommnisse werden von *Schaudig et al.* bei herzchirurgischen Eingriffen unter extrakorporaler Zirkulation beschrieben ^{12,73}.

Ein Vergleich der OPS[®]-Imaging Technik mit der Intra-vital Mikroskopie zeigt, dass die OPS[®]-Imaging-Bilder einen deutlich besseren Kontrast als die der IVM aufweisen. Durch den erhöhten Kontrast der Aufnahmen gewinnen die Videosequenzen gleichzeitig an Qualität und dadurch auch die computergestützte Auswertung. Durch den höheren

Kontrast werden indirekt auch Fehler die durch das Korrigieren von Bewegungsartefakten in den Sequenzen entstehen reduziert ⁵⁶.

Die Verwendung von 0,9%-iger NaCl-Lösung als Übertragungsmedium kann die Qualität der Bilder steigern, da der Kontakt zwischen Sondenspitze und Gewebe kontinuierlich gehalten wird. Dabei sollte aber darauf geachtet werden, dass keine Luftblasen im Flüssigkeitsfilm auftreten, welche die Qualität wiederum reduzieren können, da es zu späteren Auswertungsschwierigkeiten kommt ¹².

4.4.7. Praktikabilität der Auswertungssoftware Cap-Image[®] und CapiScope[®]

Zur Offline-Auswertung der mikrozirkulatorischen Bilder wurde das Videobild-Analysesystem Cap-Image[®] benutzt ⁴². Diese Methode gilt neben der neueren Software CapiScope[®] als Standard in der Auswertung von Mikrozirkulations-Bildern, beide Software-Versionen zeigen vergleichbare Ergebnisse in der Auswertung und Validierung der Parameter FCD, VEL und DIAM ⁷⁴. Die jüngere Software CapiScope[®] soll demnach auch etwas zeitsparender und leichter zu bedienen sein. Dennoch bleiben beide Versionen aufwendig und zeitintensiv in der Verarbeitung der Mikrozirkulationsbilder. Im Moment ist die Auswertung mit beiden Versionen nur offline möglich, d.h. nach einer Untersuchung eines Patienten. Dazu müssen die aufgenommenen Bilder auf einen PC übertragen werden und die Gefäße mit Cap-Image manuell ausgesucht und mit Hilfe der Software vermessen werden. Bei der CapiScope Software erfolgt die Auswahl und die Berechnung der VEL und DIAM automatisch, für die Berechnung der FCD müssen bei beiden Versionen die an der Mikrozirkulation teilnehmenden Gefäße manuell nachgefahren werden und anhand der „nachgefahrenen“ Strecke vom Programm berechnet werden. Um hier keine Gefäße zu übersehen werden die Video-Sequenzen mehrmals abgespielt, damit keine perfundierten Gefäße übersehen werden und eventuell eine zu niedrige FCD zu berechnen ⁴⁰. In diesem Zusammenhang scheint insbesondere die Auswertung der FCD subjektiv zu sein, da nur die Person die auswertet und markiert darüber entscheidet welche Gefäße an der Mikrozirkulation teilnehmen. Diese Problematik aufgreifend, wird darauf hingewiesen, dass in dieser Studie alle Video-Sequenzen von einer einzigen Person ausgewertet wurden. Dies soll gewährleisten, dass die berechneten Ergebnisse konstant und vergleichbar bleiben. Zusätzlich erfolgte die Auswertung sozusagen „blind“, da der Auswerter zu keinem Zeitpunkt der Berechnungen Kenntnis davon hatte, zu welchem Patienten oder zu welchem Aufnahmezeitpunkt die jeweiligen Sequenzen zuzuordnen sind.

OPS®-Imaging erlaubt aus oben genannten Gründen während einer Untersuchung keine direkte Beurteilung der Mikrozirkulation. Da die Auswertung offline erfolgt und zu keinem Zeitpunkt voll-automatisch erfolgt, lassen sich keine direkten Aussagen während der Untersuchung treffen und die Software eignet sich nicht für eine schnelle beziehungsweise routinemäßige Anwendung im klinischen Alltag. Eine Weiter- oder Neuentwicklung der Software, die gleichzeitig mit Aufnahme auch die Auswertung und Berechnung der Parameter vornimmt, wäre ein großer Fortschritt für die gesamte OPS®-Imaging-Technologie. So könnten direkt im Anschluss an den Messvorgang die ermittelten Daten beurteilt und somit Rückschlüsse auf die Situation der Mikrozirkulation gezogen werden.

4.5. Zukünftige Perspektiven von OPS®-Imaging

Das Einsatzspektrum des OPS®-Imaging ist groß, es kann sowohl bei wachen Patienten als auch bei intubiert und beatmeten Patienten, bei Säuglingen und Kleinkindern und während chirurgischen Eingriffen angewendet werden. OPS®-Imaging ist ein schnell durchzuführendes Monitoring der Mikrozirkulation, mit dem Nachteil der im Moment noch teils manuell und länger dauernden Auswertung. Der Aufbau des Gerätes mit der gesamten Aufzeichnungshardware nimmt wenig Platz in Anspruch, es ist mobil und kann mit Akku bis zu einer Stunde betrieben werden. Hiermit sind, bei Verbesserung der Software, viele Voraussetzungen gegeben um das OPS®-Imaging zu benutzen. Hier kann an Forschungszwecke gedacht werden, zum Beispiel zur Untersuchung von pathologischen Prozessen bei verschiedenen Krankheiten oder zum Einsatz im Klinikalltag, zum Beispiel zur Diagnostik von Krankheiten die mit bestimmten Veränderungen der Mikrozirkulation vergesellschaftet sind.

Ebenfalls könnte man weitere Parameter, zusätzlich zu dem Gefäßdurchmesser, der funktionellen Gefäßdicke und der Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten, mit Hilfe der Mikrozirkulation messen. Anhand der Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten lassen sich Veränderungen des Herzschlages nachvollziehen, indem man die höchste und niedrigste VEL zueinander oder Veränderungen während des Herzzyklus zueinander ins Verhältnis setzt. Eine andere Möglichkeit besteht theoretisch darin, ähnlich wie in der Pulswellenanalyse basierend auf der Photoplethysmographie, bereits angewandt, die Auswurfleistung des Herzens messen zu können ⁷⁰.

Eine weitere Möglichkeit ergibt sich bei Organtransplantationen, da hier mit dem OPS[®]-Imaging die Qualität der Perfusion des transplantierten Organes noch intra-operativ überprüft werden könnte. *Harris et al.* haben dies im Rahmen einer Studie beschrieben und die These beschrieben dass Chirurgen so noch während der Operationen die Chance hätten, Probleme der Organversorgung zu erkennen. So könnte eine Anastomoseninsuffizienz erkannt und noch sofort revidiert werden, um ein mögliches postoperatives Organversagen zu verhindern ³².

Ebenso könnte man im klinischen Einsatz die mikrovaskuläre Perfusion von Darmabschnitten messen und würde so eine eventuell vorhandene Nekrose genauer einschätzen und zuordnen können. Bei einem notwendigem Eingriff beziehungsweise einer Resektion des Darmes ließe sich der Eingriff und ein notwendiger Sicherheitsabstand minimal gestalten.

Tumorgewebe haben ein typisches Merkmal das man sich mit der OPS[®]-Imaging zu Nutze machen könnte. Die Heterogenität der Gefäßstruktur von Tumorgewebe könnte intra-operativ als Resektionsgrenze herangezogen werden. Dabei könnten eventuell derzeit gültige Sicherheitsabstände verringert werden und die Anzahl der in toto reseziierten Tumorgewebe könnte erhöht werden.

Mit einer Weiterentwicklung der OPS[®]-Imaging Technologie und der Möglichkeit immer wieder genau dasselbe Areal zu vermessen, könnte man sich auch vorstellen, die Behandlung von chronischen Wunden, wie in dieser Studie geschehen, im klinischen Alltag zu überprüfen und den Fortschritt der Behandlung einzuordnen. Die Wirkung der Behandlung könnte man durch die Einsprossung neuer Gefäße in den Wundbereich verfolgen und anhand dieser Parameter die Therapie entsprechend anpassen.

5. Zusammenfassung

Eine moderne Therapie von verschiedenen Krankheitsbildern, wie beispielsweise nekrotisierenden Weichteilinfektionen, Dekompressionserkrankungen, Luft- und Gasembolien, Kohlenmonoxidintoxikationen oder Verbrennungen beinhaltet die hyperbare Oxygenierung als festen Bestandteil. Diese doch eher neuere Behandlung hat verschiedene Auswirkungen auf den lebenden Organismus, unter anderem auf den Immunstatus, den Sauerstoff-Transport oder die Hämodynamik.

In dieser Studie wurden die Auswirkungen der hyperbaren Oxygenierung auf die Makro- und Mikrozirkulation untersucht. Der Schwerpunkt wurde hierbei auf die funktionelle Kapillardichte (FCD), den Durchmesser der Gefäße (DIAM) und die Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten (VEL) gelegt. Um diese Parameter erheben zu können, wurde 1999 ein Methode eingeführt, welche nicht-invasiv ist und keiner Fluoreszenzfarbstoffe bedarf; das Orthogonal Polarization Spectral Imaging (OPS[®]-Imaging). Gleichzeitig wurde die Praktikabilität und die Sicherheit des OPS[®]-Imaging in die Betrachtung einbezogen und bewertet. Das untersuchte Patientenkollektiv wurde aus den Patienten des HBO-Zentrums der BG Unfallklinik Murnau und deren Mitarbeitern, die als gesunde Repräsentationspopulation gesehen wurden, zufällig und mit deren Einverständnis ausgewählt. Jeder Proband wurde zu drei Zeitpunkten T1-T3 untersucht, zusätzlich wurden die Vitalparameter während der Therapie aufgezeichnet.

Als Ergebnis dieser Studie zeigte sich ein Anstieg der FCD direkt nach der Therapie (T2) im Vergleich zu vor der Therapie (T1). Zwei Stunden nach Therapieende (T3) zeigte sich eine Verringerung der FCD im Bezug zu beiden Messwerten. Diese Veränderung der FCD wurde im Rahmen der hyperbaren Therapie als Aufrechterhaltung der Perfusion ohne Ischämie gewertet, da die FCD als Messwert zur Beurteilung der mikrovaskulären Perfusion anerkannt ist, wohingegen die restlichen Mikrozirkulationswerte keine signifikanten Veränderungen aufweisen. Die makrozirkulatorischen Parameter, mittlerer arterieller Blutdruck (MAD) und Herzfrequenz (HF), sind beide im Verlauf der Therapie (T1 zu T2) signifikant gesunken. Beide Werte waren zum Zeitpunkt T3 wieder nahe ihrer Ausgangswerte. Die klinische Anwendbarkeit des OPS[®]-Imaging ist unbedenklich und mit keinen Sicherheitsrisiken für die Patienten verbunden. Dennoch sollten Weiterentwicklungen des OPS[®]-Imaging und der dazu benötigten Software erfolgen, um die im Moment noch auftretenden Schwierigkeiten, wie die zeitliche Verzögerung zwischen Messung und Auswertung, zu verringern und somit die Aussagekraft der

Untersuchungen zu erhöhen. Besonders dieser Faktor schränkt die klinische Praktikabilität momentan noch ein. Als Vorzüge der Methode können die schnelle Einsatzfähigkeit und leichte Handhabung gewertet werden. Im Vergleich mit anderen Methoden erweist sich das OPS[®]-Imaging als leicht überlegen. Dem OPS[®]-Imaging kann ein großes Potential für eine zukünftige Rolle in der Diagnostik, der intra-operativen Entscheidungsfindung und der Forschung zugeschrieben werden.

6. Anhang

Die an der Studie teilnehmenden Patienten wurden mit dem folgenden Text über den Ablauf und den Grund der Studie aufgeklärt:

„Die hyperbare Oxygenierung (HBO) hat einen etablierten Stellenwert in der Unfallchirurgie. Weit über die Behandlung der Dekompressionskrankheit hinaus ist die HBO integrativer Bestandteil der Therapie von Problemwunden und Infekten, Brandverletzungen, Kompartmentsyndromen bzw. Folgezuständen nach Gewebsminderdurchblutung und massiven Schwellungszuständen bei frischen Verletzungen (z.B. Felsenbeinbrüche). Während die klinische Erfahrung die Wirksamkeit der HBO bei o.g. Verletzungsentitäten bestätigt, weisen Analysen der vorhandenen Literatur auf unzureichende Kenntnisse der grundlegenden Wirkmechanismen der HBO unter Stressbedingungen hin. Das Wirkprinzip basiert grundsätzlich auf einer verbesserten Sauerstoffversorgung stressbedingt minderdurchbluteten Gewebes durch die intermittierende Inhalation von 100% Sauerstoff bei einem Umgebungsdruck entsprechend dem 2-3-Fachen des normalen Luftdruckes. Die Gewebe-schützende Wirkung wird dabei im Wesentlichen auf das erhöhte systemische Sauerstoffangebot zurückgeführt. Darüberhinaus wird auch eine Verbesserung der Durchblutung kleinster Blutgefäße diskutiert. Untersuchungen zur Wirkung der hyperbaren Oxygenierung auf den Blutfluss in den kleinsten Gefäßen liegen beim Menschen mangels einer geeigneten Untersuchungstechnik kaum vor. Die orthogonale Polarisationspektrometrie ist eine kürzlich entwickelte, nicht-invasive Technik, welche über eine Darstellung des Hämoglobins (roter Blutfarbstoff) mittels polarisierten Lichts die direkte Visualisierung und quantitative Analyse der Gewebedurchblutung ermöglicht. Entgegen herkömmlicher, tierexperimentell angewandter Techniken, zeichnet sich die Methode dadurch aus, dass man ohne Gabe von sonst toxischen Kontrastmitteln wiederholte und zeitlich unbegrenzte Messungen durchführen kann. Mit der off-line Analyse der bettseitigen Videoaufzeichnung lassen sich als Maß für die Gewebedurchblutung z.B. die funktionelle Kapillardichte sowie Durchmesser und Blutflussgeschwindigkeit in Venolen, Arteriolen und Kapillaren bestimmen. Wie bereits in mehreren Veröffentlichungen gezeigt, eignet sich der Zungengrund hervorragend, um sowohl krankheitsbedingte Verschlechterungen der Mikrozirkulation als auch therapeutische Verbesserungen zu erfassen.

Zentrales Ziel dieser Untersuchung ist, die Veränderungen der mikrovaskulären Perfusion durch hyperbare Oxygenierung unter Kontroll- und Stressbedingungen mittels orthogonaler Polarisationspektrometrie zu untersuchen.“

7. Abkürzungsverzeichnis

µm	Mikrometer
beats/min	Angabe der Herzfrequenz in Schlägen pro Minute
CBF	cerebral blood flow
CCD	Charged Couple Device (engl.), Halbleiterdetektor mit der Fähigkeit Licht in eine Punktmatrix umzuwandeln und die Helligkeitswerte jedes einzelnen Punktes als digitales Signal wiederzugeben
cm	Zentimeter
DIAM	Durchmesser der gemessenen Gefäße (µm)
engl.	Englisch
FCD	funktionelle Kapillardichte (cm / cm ²)
FITC	Fluorescein Isothiocyanat
GTÜM	Deutsche Gesellschaft für Tauch- und Überdruckmedizin
Hb	Hämoglobin
HBO	hyperbare Oxygenierung
HF	Herzfrequenz
Hkt.	Hämatokrit
IVM	Intravitalmikroskopie
LDF	Laser-Doppler-Fluxmetrie
MAD	mittlerer arterieller Blutdruck
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
NIRS	Nah-Infrarot Spektroskopie
nl	Nanoliter
nm	Nanometer
O ₂	Sauerstoff

OPS®-Imaging	orthogonal polarization spectral Imaging
RR	Blutdruck nach Riva-Rocci, angegeben in mmHg
SA	Standardabweichung
Tx	Messzeitpunkt zum Zeitpunkt x
VEL	Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten (mm / s)

8. Literaturverzeichnis

- (1) Abel FL, McNamee JE, Cone DL, Clarke D, Tao J: Effects of hyperbaric oxygen on ventricular performance, pulmonary blood volume, and systemic and pulmonary vascular resistance. *Undersea Hyperb Med* 27(2), 67-73 (2000)
- (2) Al-Waili NS, Butler GJ, Beale J, Abdullah MS, Finkelstein M, Merrow M, Rivera R, Petrillo R, Carrey Z, Lee B, Allen M: Influences of hyperbaric oxygen on blood pressure, heart rate and blood glucose levels in patients with diabetes mellitus and hypertension. *Arch Med Res* 37(8), 991-997 (2006)
- (3) Baker SP, O'Neill B, Haddon W Jr, Long WB: The Injury Severity Score: a method for describing patients with multiple injuries and evaluating emergency care. *J Trauma* 14(3), 187-196 (1974)
- (4) Bean JW, Lignell J, Coulson J: Regional cerebral blood flow, O₂, and EEG in exposures to O₂ at high pressure. *J Appl Physiol* 31(2), 235-242 (1971)
- (5) Becker GD, Parell GJ: Barotrauma of the ears and sinuses after suba diving. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 258(4), 159-163 (2001)
- (6) Biberthaler P, Langer S, Luchting B, Khandoga A, Messmer K: In vivo Assessment of Colon Microcirculation: Comparison of the new OPS-Imaging Technique with intravital Microscopy. *Eur J Med Res* 6(12), 525-534 (2001)
- (7) Boas DA, Gaudette T, Strangman G, Cheng X, Marota JJA, Mandeville JB: The Accuracy of Near Infrared Spectroscopy and Imaging during Focal Changes in Cerebral Hemodynamics. *NeuroImage* 13(1), 76-90 (2001)
- (8) Boehm DH, Christ F, Harris AG, Reichenspurner H, Reichart B, Messmer K: First application of intravital microscopy on the beating heart using OPS Imaging. *J Vasc Res* 37(Suppl.1), 23 (2000)
- (9) Boerema I, Meyne NG, Brummelkamp WK, Bouma S, Mensch MH, Kamermans F, Stern Hanf M, van Aalderen: Life without blood. *Ned Tijdschr Geneesk* 104, 949-954 (1960)
- (10) Bussau LJ, Vo LT, Delaney PM, Papworth GD, Barkla DH, King RG: Fibre optic confocal Imaging (FOCI) of keratinocytes, blood vessels and nerves in hairless mouse skin in vivo. *J.Anat.* 192, 187-194 (1998)

- (11) Christ F, Schaudig S, Schiessler C, Harris AG, Reichenspurner H, Seifert S, Thiel M, Messmer K: First visualisation of microvessels and rolling leukocytes during cardiac surgery in man using OPS Imaging. *Anesthesiology* 92, 632 (2000a)
- (12) Christ F, Genzel-Boroviczény O, Schaudig S, Niklas M, Schiessler C, Strötgen J, Eifert S, Reichenspurner H, Harris AG, Messmer K: Monitoring of the Microcirculation in Cardiac Surgery and Neonates Using Orthogonal Polarization Spectral Imaging. *Prog Appl Microcirc Basel Karger* 24, 82-93 (2000b)
- (13) Christ F, Bauer A, Brügger D: Different Optical Methods for Clinical Monitoring of the Microcirculation.. *Eur Surg Res* 34(1-2), 145-151 (2002)
- (14) Christaras A: Fachinformation über HBO 2006. www.uniklinik-duesseldorf.de/deutsch/unternehmen/institute/hyperbaresauerstofftherapiehbo/hbo-infofachleute/page.html (Tag des Zugriffs: 12.08.2007)
- (15) Critz D: Indications for hyperbaric therapy. *hyperbaric nursing*, 191 (2002) In Larson-Lohr, V. & Norvell H.C. (Eds.) Flagstaff AZ, best publishing
- (16) Davis,E, Landau J: *Clinical Capillary Microscopy*. Springfield, Thomas (1966)
- (17) De Backer D, Creteur J, Vincent JL: Use of Orthogonal Polarization Spectral Imaging in Intensive Care. *Prog Appl Microcirc Basel Karger* 24, 104-109 (2000)
- (18) Demchenko IT, Boso AE, O'Neill TJ, Bennett PB, Piantadosi CA: Nitric oxide and cerebral blood flow responses to hyperbaric oxygen. *J Appl Physiol* 88(4), 1381-1389 (2000)
- (19) Demchenko IT, Luchakov YI, Moskvina AN, Gutsaeva DR, Allen BW, Thalmann ED, Piantadosi CA: Cerebral blood flow and brain oxygenation in rats breathing oxygen under pressure. *J Cereb Blood Flow Metab* 25(10), 1288-1300 (2005)
- (20) Eberhardt M, Schäfer R: *Klinikleitfaden Anästhesie*. Urban & Fischer München, 3. Auflage 1998, 141-142
- (21) Erdmann D, Sweis R, Wong MS, Eyler CE, Olbrich KC, Levin LS, Germann G, Klitzman B: Current perspectives of orthogonal polarization spectral Imaging in plastic surgery. *Chirurg* 73(8), 827-832 (2002)
- (22) Fagrell B, Intaglietta M: Microcirculation: its significance in clinical and molecular medicine. *J Intern Med* 241(5), 349-362 (1997)

- (23) Forst,T, Pfützner A, Kunt T, Pohlmann T, Schenk U, Bauersachs R, Küstner E, Beyer J: Skin microcirculation in patients with type I diabetes with and without neuropathy after neurovascular stimulation , Clin Sci (Lond) 94(3), 255-261 (1998)
- (24) Frey G, Lampl L, Radermacher P, Bock KH: Hyperbaric oxygenation. An area for the anesthetist?. Anaesthesist 47(4), 269-289 (1998)
- (25) Genzel-Boroviczény O, Strötgen J, Harris AG, Messmer K, Christ F: Orthogonal Polarization Spectral Imaging (OPS): A Novel Method to Measure Microcirculation in Term and Preterm Infants Transcutaneously. Pediatr Res 51(3), 386-391 (2002)
- (26) Groner W, Winkelman JW, Harris AG, Ince C, Bouma GJ, Messmer K, Nadeau RG: Orthogonal polarization spectral Imaging: A new method for study of the microcirculation. Nat Med 5(10), 1209-1212 (1999)
- (27) Hales JR, Roberts RG, Westerman RA, Stephens FR, Fawcett AA: Evidence for skin microvascular compartmentalization by laser-Doppler and photoplethysmographic techniques. Int J Microcirc Clin Exp 12(1), 99-104 (1993)
- (28) Haltern C, Siekmann UP, Rump AF, Rossaint R: Hyperbaric oxygen therapy (HBO): current standing. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 35(8), 487-502 (2000)
- (29) Hammarlund C, Sundberg T: Hyperbaric Oxygen reduced size of chronic leg ulcers: a randomized double-blind study. Plast reconstr Surg 93(4), 829-833 (1994)
- (30) Harris AG, Sinitsina I, Messmer K: Quantitative Analysis of Orthogonal Polarization Spectral Images. Validation in the Hamster Dorsal Skinfold Chamber. Prog Appl Microcirc Basel Karger 24, 21-31 (2000a)
- (31) Harris AG, Sinitsina I, Messmer K: The Cytoscan Model E-II, a New Reflectance Microscope for Intravital Microscopy: Comparison with Standard Fluorescence Method. J Vasc Res 37(6), 469-476 (2000b)
- (32) Harris AG, Langer S, Messmer K: The Study of the Microcirculation using Orthogonal Polarization Spectral Imaging. Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine, 705-714 (2000c)

- (33) Harris AG, Sinitsina I, Messmer K: Validation of OPS Imaging for microvascular measurements during isovolumic hemodilution and low hematocrits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282(4), 1502-1509 (2002)
- (34) Hartung C: Biomechanik-Übersicht. http://www.ubicampus.mh-hannover.de/~bmt/bio/kapitel_10/10_4_9.php (Tag des Zugriffs: 25.06.2007)
- (35) Hoffmann JN, Fertmann JM, Schick K, Mauer M, Wirsching KC, Vollmar B, Menger MD, Jauch KW: Failure of microcirculation: diagnosis and therapeutic consequences. *Dtsch med Wochenschr* 131(44), 2489-2492 (2006)
- (36) Intaglietta M: Intravital Microscopy: State of Art. *Prog Appl Microcirc Basel Karger* 24, 1-8 (2000)
- (37) Jöbsis FF: Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science* 198(4323), 1264-1267 (1977)
- (38) Kanai K, Hayakawa T, Mogami H: Blood flow changes in carotid and vertebral arteries by hyperbaric oxygenation. *Neurology* 23(2), 159-163 (1973)
- (39) Kindwall EP, Gottlieb LJ, Larson DL: Hyperbaric Oxygen Therapy in plastic Surgery : A Review Article. *plastic and reconstructive Surgery* 88(5), 898-908 (1991)
- (40) KK Technology: Cam1 and CapiScope User Manual version 3.0 Edition. Published 03/07/2004 Copyright © 2004 by KK Technology
- (41) Klitzman B, Braun RD, Lockhart AC, Heller L, Dewhirst MW, Hurwitz HI: Wound-Induced Angiogenesis: A Clinical Model. *Prog Appl Microcirc Basel Karger* 24, 110-114 (2000)
- (42) Klyszcz T, Jünger M, Jung F, Zeintl H: Cap image--a new kind of computer-assisted video image analysis system for dynamic capillary microscopy. *Biomed Technik (Berl.)* 42(6), 168-175 (1997)
- (43) Kurasako T, Takeda Y, Hirakawa M: Increase in cerebral blood flow as a predictor of hyperbaric oxygen-induced convulsion in artificially ventilated rats. *Acta med Okayama* 54(1), 15-20 (2000)

- (44) Laemmel E, Tadayoni R, Sinitsina I, Boczkowski J, Vicaut E: Using Orthogonal Polarization Spectral Imaging for the Experimental Study of Microcirculation: Comparisons with Intravital Microscopy. *Prog Appl Microcirc Basel Karger* 24, 50-60 (2000)
- (45) Lambertsen CJ, Kough RH, Cooper DY, Emmel GL, Loeschcke HH, Schmidt CF: Oxygen toxicity: effects in man of oxygen inhalation at 1 and 3.5 atmospheres upon blood gas transport, cerebral circulation and cerebral metabolism. *J Appl Physiol* 5(9), 471-486 (1953)
- (46) Langer S, von Dobschütz E, Harris AG, Krombach F, Messmer K: Validation of the Orthogonal Polarization Spectral Imaging Technique on Solid Organs. *Prog Appl Microcirc Basel Karger* 24, 32-46 (2000)
- (47) Langer S, Harris AG, Biberthaler P, von Dobschütz E, Messmer K: Orthogonal polarization spectral Imaging as a tool for the assessment of hepatic microcirculation: a validation study. *Transplantation* 71(9), 1249-1256 (2001)
- (48) Langer S, Born F, Hatz R, Biberthaler P, Messmer K: Orthogonal Polarization Spectral Imaging versus Intravital Fluorescent Microscopy for Microvascular Studies in Wounds. *Ann Plast Surg* 48(6), 646-653 (2002)
- (49) Li EN, Menon NG, Rodriguez ED, Norkunas M, Rosenthal RE, Goldberg NH, Silverman RP: The Effect of Hyperbaric Oxygen Therapy on Composite Graft Survival. *Ann Plast Surg* 53(2), 141–145 (2004)
- (50) Lindert J, Werner J, Redlin M, Kuppe H, Habazettl H, Pries AR: OPS Imaging of Human Microcirculation: A Short Technical Report. *J Vasc Res* 39(4), 368-372 (2002)
- (51) Lund VE, Kentala E, Scheinin H, Klossner J, Helenius H, Sariola-Heinonen K, Jalonen J: Heart Rate Variability in healthy volunteers during normobaric and hyperbaric hyperoxia. *Acta Physiol Scand* 167(1), 29-35 (1999)
- (52) Mathieu D: Handbook on hyperbaric Medicine, page 15-24. Springer 2006, ISBN 978-1-4020-4376-5
- (53) Mathieu D: Handbook on hyperbaric Medicine, page 60-62. Springer 2006, ISBN 978-1-4020-4376-5

- (53) Mathieu D: Handbook on hyperbaric Medicine, page 103-146. Springer 2006, ISBN 978-1-4020-4376-5
- (55) Mathura KR, Ince C: First clinical Use of Orthogonal Polarization Spectral Imaging. *Prog Appl Microcirc Basel Karger* 24, 94-101 (2000)
- (56) Mathura KR, Vollebregt KC, Boer K, De Graaff JC, Ubbink DT, Ince C: Comparison of OPS Imaging and conventional capillary microscopy to study the human microcirculation. *J Appl Physiol* 91(1), 74-78 (2001)
- (57) Meirovithz E, Sonn J, Mayevsky A: Effect of hyperbaric oxygenation on brain hemodynamics, hemoglobin oxygenation and mitochondrial NADH. *Brain Res Rev* 54(2), 294-304 (2007)
- (58) Menke J, Voss U, Möller G, Jorch G: Reproducibility of cerebral near infrared spectroscopy in neonates. *Biol Neonate* 83(1), 6-11 (2003)
- (59) Moon RE, de Lisle Dear G, Stolp BW: Treatment of decompression illness and iatrogenic gas embolism. *Respir care Clin N Am* 5(1), 93-135 (1999)
- (60) Motulsky Harvey: *Intuitive Biostatistics*. Oxford University Press Inc, 255-262 (2006) ISBN-13: 978-0195086072
- (61) Mychaskiw G, Pan J, Shah S, Zubkov AY, Clower B, Badr AE, Zhang JH: Effects of Hyperbaric Oxygen on Skin Blood Flow and Tissue Morphology Following Sciatic Nerve Constriction. *pain physician* 8(2), 157-161 (2005)
- (62) Nadeau RG, Groner W: Orthogonal Polarization Spectral Imaging: State of Art. *Prog Appl Microcirc Basel Karger* 24, 9-20 (2000)
- (63) Nagdyman N, Fleck TPK, Ewert P, Abdul-Khaliq H, Redlin M, Lange PE: Cerebral oxygenation measured by near-infrared spectroscopy during circulatory arrest and cardiopulmonary resuscitation. *Br J Anaesth* 91(3), 438-442 (2003)
- (64) Noble M, Voegeli D, Clough GF: A comparison of cutaneous vascular responses to transient pressure loading in smokers and nonsmokers. *J Rehabil Res Dev* 40(3), 283-288 (2003)
- (65) Nolte D, Zeintl H, Steinbauer M, Pickelmann S, Messmer K: Functional capillary density: an indicator of tissue perfusion. *Int J Microcirc Clin Exp* 15(5), 244-249 (1995)

- (66) Omae T, Ibayashi S, Kusuda K, Nakamura H, Yagi H, Fujishima M: Effects of High Atmospheric Pressure and Oxygen on Middle Cerebral Blood Flow Velocity in Humans Measured by Transcranial Doppler. *Stroke* 29(1), 94-97 (1998)
- (67) Pangratis N: Diagnostic investigation using vital capillary microscopy and dynamic capillaroscopy. *Clin Hemorheol Microcirc* 17(5), 371-383 (1997)
- (68) Phillips JC: Understanding hyperbaric oxygen therapy and its use in the treatment of compromised skin grafts and flaps. *plast surg nurs* 25(2), 72-80 (2005)
- (69) Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, Webb RH, Anderson RR: In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol* 104(6), 946-952 (1995)
- (70) Reuter DA, Kirchner A, Felbinger TW, Weis FC, Kilger E, Lamm P, Goetz AE: Usefulness of left ventricular stroke volume variation to assess fluid responsiveness in patients with reduced cardiac function. *Crit Care Med* 31(5), 1399-1404 (2003)
- (71) Saetzler RK, Jallo J, Lehr HA, Philips CM, Vasthare U, Arfors KE, Tuma RF: Intravital fluorescence microscopy: impact of light-induced phototoxicity on adhesion of fluorescently labeled leucocytes. *J Histochem Cytochem* 45(4), 505-513 (1997)
- (72) Sato T, Takeda Y, Hagioka S, Zhang S, Hirakawa M: Changes in nitric oxide production and cerebral blood flow before development of hyperbaric oxygen-induced seizures in rats. *Brain Res* 918(1-2), 131-140 (2001)
- (73) Schaudig S, Schiessler C, Harris AG, Reichenspurner H, Messmer K, Christ F: Intravital microscopy in humans following circulatory arrest for surgery of the ascending aorta. *J Vasc Res* 38, 502 (2001a)
- (74) Schaudig S, Dadasch B, Kellam K, Christ F: Validation of an analysis software for OPS Imaging used in humans. *Proceedings of the 7th World Congress for Microcirculation, 19-22 August 2001, Sydney, Australia* (2001b)
- (75) Schießler C, Schaudig S, Harris AG, Christ F: Orthogonal polarization spectral Imaging--a new clinical method for monitoring of microcirculation. *Anaesthesist* 51(7), 576-579 (2002)
- (76) Schipke JD: Die Geschichte der Druckkammer und der hyperbaren Oxygenationstherapie, page 32-49. *BoD 2003, ISBN 978-3-8330-0782-8*

- (77) Schipke JD: Die Geschichte der Druckkammer und der hyperbaren Oxygenationstherapie, page 52-59. BoD 2003, ISBN 978-3-8330-0782-8
- (78) Schwarz A: HBO-Ein neues Arbeitsgebiet für A+I-Fachpflegekräfte. Die Schwester/ Der Pfleger 7/00, 609-612 (2000)
- (79) Silbernagl S, Despopoulos A: Taschenatlas der Physiologie. Georg Thieme Verlag Stuttgart, 5. Auflage 2001, 206-207
- (80) Steinbauer M, Harris AG, Abels C, Messmer K: Characterization and prevention of phototoxic effects in intravital fluorescence microscopy in the hamster dorsal skinfold model. Langenbecks Arch Surg 385(4), 290-298 (2000)
- (81) Stern MD: In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. Nature 254, 56-58 (1975)
- (82) Strauss MB, Hart GB: Cost-effective issues in HBO therapy: Complicated fractures (Editorial). J Hyperbaric Med 3, 199-205 (1988)
- (83) Thiel M, Zourelidis C, Peter K: The role of polymorphonuclear neutrophilic leukocytes in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome (ARDS). Anaesthetist 45(2), 113-130 (1996)
- (84) Thom SR, Bhopale V, Fisher D, Manevich Y, Huang PL, Buerk DG: Stimulation of nitric oxide synthase in cerebral cortex due to elevated partial pressures of oxygen: an oxidative stress response. J Neurobiol 51(2), 85-100 (2002)
- (85) Thomale UW, Schaser KD, Unterberg AW, Stover JF: Visualization of rat pial microcirculation using the novel orthogonal polarized spectral (OPS) Imaging after brain injury. J Neurosci Methods 108(1), 85-90 (2001)
- (86) Tsai AG, Friesenecker B, Intaglietta M: Capillary Flow Impairment and Functional Capillary Density. Int J Microcirc Clin Exp 15(5), 238-243 (1995)
- (87) Uhl E, Lehmborg J, Steiger HJ, Messmer K: Intraoperative Observation of Human Cerebral Microcirculation. Prog Appl Microcirc Basel Karger 24, 72-81(2000)
- (88) Vucetic M, Jensen PK, Jansen EC: Diameter variations of retinal blood vessels during and after treatment with hyperbaric oxygen. Br J Ophthalmol 88(6), 771-775 (2004)

- (89) Walied A: Interdisziplinäre Intensivmedizin, page 192-196. Elsevier, Urban&Fischer Verlag 2007, ISBN 978-3-4372-2711-0
- (90) Zeintl H: Computergestützte Kapillarerkennung und Kapillardichtemessung in der Intravitalmikroskopie. Dissertation, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, 1986
- (91) Zhang J, Sam AD, Klitzman B, Piantadosi CA: Inhibition of nitric oxide synthase on brain oxygenation in anesthetized rats exposed to hyperbaric oxygen. Undersea Hyperb Med 22(4), 377-382 (1995)
- (92) Zhilyaev SY, Moskvina AN, Platonova TF, Gutsaeva DR, Churilina IV, Demchenko IT: Hyperoxic vasoconstriction in the brain is mediated by inactivation of nitric oxide by superoxide anions. Neurosci Behav Physiol 33(8), 783-787 (2003)

9. Danksagung

Ohne die Kooperation mit der Arbeitsgruppe um PD Dr. med. Guido Wanner aus der Abteilung für chirurgische Forschung der Universitätsklinik Zürich, Schweiz, wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Sie waren so zuvorkommend, mir das Cytoscan™-Mikroskop für meine Messungen zur Verfügung zu stellen, mich in den ersten Versuchen mit dem Gerät einzuarbeiten und standen mir immer zur Verfügung wenn es technische oder organisatorische Probleme gab. Ein ebenso großer Dank gilt den wissenschaftlichen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe, Herr Dr. med. Claudio Contaldo und Dr. med. Ahmed Elsherbiny, der Doktorandin Claudine Fridez, dem restlichem Team aus Zürich, die mich tatkräftig bei der Auswertung der Daten und der Einarbeitung in die Software Cap-Image® unterstützt haben und Herrn Dr. med. Wilfried Beuster vom Unfallkrankenhaus Klagenfurt.

Ein großes Dankeschön möchte ich auch an alle Ärzte und Pflegekräfte der HBO-Abteilung der BG Unfallklinik Murnau richten, die mich bei der Durchführung der Messungen unterstützt haben und mir jeglichen Platz in den teils engen Räumlichkeiten der Abteilung sowie auch die Zeit für die Messungen schafften. Persönlich bedanken möchte ich mich bei den beiden Oberärzten der HBO-Abteilung, Dr. med. Armin Kemmerer und Dr. med. Holger Schöppenthau, die viel Ihrer Zeit investierten, um diese Studie zu ermöglichen beziehungsweise die Hilfe bei diversem Organisatorischem wie Daten und Fotos zu bekommen.

Eine sehr große Hilfe bei der Bearbeitung der Rohdaten und bei der Erstellung aussagekräftiger Statistiken konnte mir Herr Gunther Paschold immer wieder schnell leisten und so eine Lösung finden. Vielen Dank für diese Leistung.

Ein großes Dankeschön möchte ich an dieser Stelle auch an die Patienten richten, die für diese Studie Zeit geopfert und Umstände in Kauf genommen haben.

Ein ebenso großer Dank möchte ich meiner Familie, Herrn Marcus Weihrauch, Herrn Andreas Püschel und Frau Lena Steudemann widmen. Die Unterstützung während des gesamten Studiums und für diese Arbeit war eine unschätzbare Hilfe.

Mein größter Dank gilt meinem Doktorvater und Betreuer Prof. Dr. med. Alexander Woltmann, der mir diese Arbeit erst ermöglicht hat und mir jederzeit nicht nur in fachlichen Fragen, sondern auch in persönlichen Anliegen über den gesamten Zeitraum zur Verfügung stand. Diese und die im Rahmen einer Famulatur erfahrene Zusammenarbeit war für mich eine Ehre und hat mir viel Freude gemacht. Für das weitere Arbeits- und

Berufsleben konnte ich intensive Erfahrungen sammeln, die mich mein weiteres Leben positiv beeinflussen werden.

10. Lebenslauf

Markus Andreas, Wäckerle

geboren am 11. Juni 1977 in Garmisch-Partenkirchen

Schulbildung

1983 – 1987	Volksschule an der Burgstraße, Garmisch-Partenkirchen (Grundschule)
1987 – 1988	Volksschule am Gröben, Garmisch-Partenkirchen (Hauptschule)
1988 – 1996	Werdenfels-Gymnasium, Garmisch-Partenkirchen
1996 – 1998	Benediktinergymnasium Ettal
	Allgemeine Hochschulreife

Ersatzdienst

09/98 – 09/99	Zivildienst im Rettungsdienst des BRK in Garmisch-Partenkirchen
---------------	---

Berufspraxis

10/99 – 12/00	Rettungsanitäter im Kreisverband des BRK Garmisch-Partenkirchen
---------------	---

Hochschulstudium

2001 – 2008	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität, München
26.05.2008	Approbation an der LMU München

Famulaturen

08/04 – 09/04	Anästhesie, BG Unfallklinik Murnau (Leitung: Dr. med. Johannes Büttner)
---------------	---

09/04 – 10/04	Allgemeinmedizin, Praxis für Allgemeinmedizin Dr. med. Steudemann, München
04/06 – 05/06	Gynäkologie, Victoria Hospital, Mahe, Seychellen (Dr. med. Rizvi)
08/06 – 10/06	Chirurgie, BG Unfallklinik Murnau (Leitung: Prof. Dr. med. Volker Bühren)

Praktisches Jahr, 02/2007 – 01/2008

1. Tertial	Chirurgie	<u>orthopädische Chirurgie</u> , Flinders Medical Centre, School of Medicine, Flinders University, Adelaide, Australien (Leitung: Prof. Krishnan)
		<u>HNO</u> , Concord Repatriation General Hospital, Central Clinical School, University of Sydney, Australien (Leitung: Dr. Sacks)
		<u>plastische Chirurgie</u> , Concord Repatriation General Hospital, Central Clinical School, University of Sydney, Australien (Leitung: Prof. Haertsch)
2. Tertial	Gynäkologie	Klinikum Garmisch-Partenkirchen, Lehrkrankenhaus der LMU München (Leitung: Prof. Dr. med. Genz)
3. Tertial	Innere Med.	Klinikum Garmisch-Partenkirchen, Lehrkrankenhaus der LMU München
		<u>Gastroenterologie</u> : Prof. Dr. med. Allescher
		<u>Hämatologie/Onkologie</u> : Dr. med. Lambertz
		<u>Kardiologie</u> : Dr. med. Dotzer

Berufserfahrung:

seit 02/2009	Assistenzarzt in der Frauenklinik des Klinikums Landshut (Leitung: Dr. med. Bauerfeind)
--------------	---