

Aus der Klinik für Anästhesiologie
der Heinrich Heine Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. B. Pannen

**Einfluss von topischer Therapie mit Iloprost auf die
Mikrozirkulation der Magen- und Mundschleimhaut unter
physiologischen und hämorrhagischen Bedingungen**
- Eine Studie an anästhesierten Hunden -

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Jonas Zacharias Hinterberg
2018

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Olaf Picker, MBA

Zweitgutachterin: Prof. Dr. med. Maria Grandoch

Auflistung der Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Truse, R., et al., *Effect of Topical Iloprost and Nitroglycerin on Gastric Microcirculation and Barrier Function during Hemorrhagic Shock in Dogs*. J Vasc Res, 2017. **54**(2): p. 109-121.

Zusammenfassung

Hintergrund: Die Erhaltung und Stabilisierung der Mikrozirkulation ist ein wichtiger Schritt in der Therapie und Prävention kritischer Erkrankungen. Insbesondere im Gastrointestinaltrakt könnte so die Darmbarriere erhalten und eine Translokation von Bakterien und Toxinen verhindert werden. Die topische Applikation von Vasodilatoren am Gastrointestinaltrakt verspricht eine lokale Therapie ohne unerwünschte systemische Nebenwirkungen. Ziel dieser Studie war es, den Einfluss von topisch angewendetem Iloprost auf die μHbO_2 und den μflow der oralen und gastralen Mukosa sowie auf die Barrierefunktion und Kreislaufparameter unter physiologischen und milden hämorrhagischen Bedingungen zu untersuchen.

Material und Methoden: Fünf weibliche Foxhounds wurden nach Genehmigung durch die zuständige Behörde wiederholt anästhesiert und durchliefen 4 Versuchsgruppen in randomisierter Reihenfolge. Die Hunde erhielten Initial einen gastral Bolus Iloprost von $100 \text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$, gefolgt von einer kontinuierlichen Applikation von $2 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ an der gastralen und $0.66 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ an der oralen Mukosa. Als Kontrollsubstanz diente reine Kochsalzlösung. Die Versuche fanden sowohl unter physiologischen, als auch unter hämorrhagischen (Entnahme von 20 % des Blutvolumens) Bedingungen statt. Die Perfusion und Oxygenierung wurden mittels Gewebe-Fotospektrometrie (LW 222 oxygen to see, LEA Medizintechnik, Gießen) und systemische Kreislaufparameter mittels transpulmonaler Thermodilution (PiCCO 4.2 non US, PULSION Medical Systems, München) erfasst. Die Barrierefunktion wurde anhand der Translokation von primär gastral applizierter Sucrose in den Blutkreislauf im Blutplasma bestimmt (Gas Chromatograph Massenspektrometer). Die Daten sind angegeben als Mittelwert \pm Standardfehler; die statistische Analyse erfolgte mittels 2-Wege-Varianzanalyse für wiederholende Messungen gefolgt von Dunnett's Post-Hoc-Test.

Ergebnisse: Unter physiologischen Bedingungen führte Iloprost sowohl gastral als auch oral zu keiner Veränderung der Parameter der Mikrozirkulation und der des Kreislaufs. Unter Hämorrhagie fiel in der Kontrollgruppe die gastrale μHbO_2 von 77 ± 2 auf 37 ± 3 % ab. Im Gegensatz dazu fiel die gastrale μHbO_2 in der Iloprostgruppe lediglich von 82 ± 2 auf 54 ± 4 % ab. Dabei zeigte Iloprost keinen Einfluss auf den gastral μflow , der sich in beiden Gruppen gleichartig änderte (108 ± 12 auf 92 ± 13 aU (Iloprost), 104 ± 6 auf 84 ± 12 aU (NaCl)). Oral konnte der Effekt der verbesserten μHbO_2 nicht nachgewiesen werden (81 ± 1 auf 44 ± 2 mmHg (Iloprost), 82 ± 1 auf 41 ± 4 mmHg (NaCl)). Darüber hinaus wurden auch unter Hämorrhagie die systemischen Kreislaufparameter durch Iloprost nicht beeinflusst. Während des hämorrhagischen Schocks stieg die Sucrosekonzentration im Plasma von 7 ± 2 relative Einheiten auf 55 ± 7 relative Einheiten an. Die topische Applikation von Iloprost führte zu einem Anstieg von 22 ± 10 relative Einheiten auf 80 ± 39 relative Einheiten.

Schlussfolgerung: Iloprost reduziert den Einfluss des milden hämorrhagischen Schocks auf die gastrale μHbO_2 , ohne dabei systemische Kreislaufparameter zu beeinflussen, jedoch auch ohne die Barrierefunktion zu verbessern.

Summary

Background: An adequate microcirculation is important for the prevention and therapy of critical illness. Especially an improved gastrointestinal microcirculation leads to an enhanced barrier function and has been shown to prohibit translocation of bacteria and toxins. The topical application of vasodilatory drugs might be a promising therapy to improve microcirculation and barrier function without systemic side effects. The aim of this study was to analyze whether locally applied Iloprost influence gastric and oral μHbO_2 , μflow , systemic hemodynamic parameters and barrier function during physiological and hemorrhagic conditions.

Material and Methods: Five female dogs were anesthetized in repetitive randomized experiments. The animals received either an initial gastric bolus Iloprost ($100 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1}$), followed by a continuous application ($2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ gastral and $0.66 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ oral) or normal saline applied in similar fashion as control substance. The experiments took place under physiological and hemorrhagic (loss of 20 % of the blood volume) conditions. Systemic hemodynamic variables (transpulmonary thermodilution - PiCCO 4.2 non US, PULSION Medical Systems, München), μflow and μHbO_2 (laser doppler and reflectance spectrophotometry - LW 2222 oxygen to see, LEA Medizintechnik, Gießen) were recorded continuously. Gastric barrier function was assessed via translocation of sucrose (gas chromatography - mass spectrometry) into the blood. Data are presented as means \pm SEM; the statistical analysis was conducted by using the 2-way ANOVA for repeated measurements followed by Dunnett's Post-Hoc-Test.

Main Results: Under physiological conditions iloprost had no effect on gastric and oral microcirculation neither on systemic hemodynamic variables. Under hemorrhagic conditions, gastric μHbO_2 decreased from $77 \pm 2 \%$ to $37 \pm 3 \%$ in the control group. This effect was attenuated by iloprost (from 82 ± 2 to $54 \pm 4 \%$). Iloprost had no effect on gastric μflow which decreased during hemorrhage in both groups similarly without differences between the groups (108 ± 12 auf 92 ± 13 aU (Iloprost), 104 ± 6 auf 84 ± 12 aU (NaCl)). Iloprost had even no effect on oral μHbO_2 (81 ± 1 auf 44 ± 2 mmHg (Iloprost), 82 ± 1 auf 41 ± 4 mmHg (NaCl)) and on systemic hemodynamic variables. Sucrose plasma levels increased during hemorrhage from 7 ± 2 to 55 ± 7 relative amounts. The topical application of Iloprost led to an increase from 22 ± 10 to 80 ± 39 relative amounts.

Conclusion: Iloprost reduces the influence of the hemorrhagic shock on the regional gastric oxygenation without compromising systemic hemodynamic variables, but also without strengthening the barrier function.

Abkürzungen

Elektrokardiographie	EKG
Herzfrequenz	HF
mittlerer arterieller Druck	MAD
Herzzeitvolumen	HZV
systemischer Gefäßwiderstand	SVR
Train of Four	TOF
Bispectral Index	BIS
<i>rounds per minute</i>	rpm
internationale Einheiten	IE
Natriumchlorid	NaCl
Atemfrequenz	AF
systemisches Sauerstoffangebot	DO₂
Phosphorylierungsquotient	P/O Quotient

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
2.	Material und Methoden.....	5
2.1	Versuchsgenehmigung	5
2.2	Versuchstiere.....	5
2.3	Operationen.....	6
2.4	Messungen.....	6
2.4.1	Elektrokardiographie (EKG) / Herzfrequenz (HF).....	6
2.4.2	Mittlerer Arterieller Druck (MAD).....	6
2.4.3	Beatmung / Atemgase.....	7
2.4.4	Registrierung der Daten.....	7
2.4.5	Herzeitvolumen (HZV).....	7
2.4.6	Der systemische Gefäßwiderstand (SVR).....	8
2.4.7	Mikrozirkulatorische Oxygenierung (μHbO_2) und mikrozirkulatorischer Blutfluss (μflow).....	8
2.4.8	Relaxometrie.....	9
2.4.9	Bispectral Index (BIS).....	9
2.4.10	Blutgase.....	10
2.4.11	Sucrose.....	10
2.4.12	Sucrosebestimmung im Blutplasma.....	10
2.4.13	Topische Therapie.....	11
2.5	Interventionen	11
2.5.1	Hämorrhagischer Schock und Retransfusion.....	11
2.6	Versuchsprotokoll	12
2.6.1	Allgemeines	12
2.6.2	Iloprostgabe unter physiologischen Bedingungen (Iloprost).....	13
2.6.3	Kontrollversuch mit Gabe von NaCl unter physiologischen Bedingungen (NaCl) 14	14
2.6.4	Iloprostgabe unter hämorrhagischen Bedingungen (Iloprost-H).....	14
2.6.5	Kontrollversuch mit Gabe von NaCl unter hämorrhagischen Bedingungen (NaCl-H).....	14
2.7	Statistik.....	15
3.	Ergebnisse.....	17
3.1	Iloprostgabe unter physiologischen Kreislaufbedingungen.....	17
3.2	Iloprostgabe unter hämorrhagischen Bedingungen.....	21
4.	Diskussion.....	26
4.1	Zusammenfassung.....	26
4.2	Methodenkritik.....	26
4.3	Ergebnisdiskussion und klinische Deutung	28
4.4	Schlussfolgerung.....	32
5.	Literaturverzeichnis	33

1. Einleitung

Der Gastrointestinaltrakt hat primär eine Absorptions- und Sekretionsfunktion und ist maßgeblich für die Verdauung (Digestion) verantwortlich. Darüber hinaus dient die gastrointestinale Mukosa und das darmassoziierte Immunsystem zur Abwehr von physiologischerweise intraluminal vorkommenden Bakterien und deren Endotoxinen. Eine Translokation in den Blutkreislauf und das lymphatische System wird so effektiv verhindert. Die intakte Barriere setzt dabei eine ausreichende Oxygenierung und Perfusion der Mukosa voraus [1-3].

Entscheidend für die Oxygenierung und die Perfusion der Mukosa ist die Mikrozirkulation. Sie ist der Ort des Gas- und Nährstoffaustausches im Gewebe bestehend aus einem heterogenen Netzwerk an Gefäßen (Arteriolen, Venolen, prä- und postkapillären Sphinkteren und Kapillaren) [4, 5]. Die Mikrozirkulation muss dabei in den verschiedenen Abschnitten des Gastrointestinaltrakts differenziert betrachtet werden. So lässt die orale Mikrozirkulation keine Rückschlüsse auf die gastrale Mikrozirkulation und die Barrierefunktion zu. Die gastrale Mikrozirkulation muss somit ebenfalls lokal gemessen werden [6]. Darüber hinaus weist die Gefäßversorgung des Gastrointestinaltrakts strukturelle und funktionelle Besonderheiten auf. Während die Submukosa und die Muskularis parallel zueinander versorgt werden, ist die Versorgung der Mukosa der submukosalen Durchblutung nachgeschaltet. Das maximal verfügbare Sauerstoffangebot ist somit in der Mukosa geringer als in der Submukosa; erstere sollte jedoch als metabolisch aktivste Schicht stärker versorgt werden [4]. Eine weitere Besonderheit stellt die Versorgung der intestinalen Villi dar. Durch eine anatomische Nähe der zuführenden Arteriole und der abführenden Venole an der Villusbasis kann Sauerstoff direkt von der Arteriole in die Venole diffundieren. Diese arteriovenösen Shuntverbindungen können insbesondere unter hypoxischen Bedingungen die ohnehin schon schlechte Sauerstoffzufuhr verschlechtern und so zu einer Ischämie in den Villusspitzen (Mukosa) führen [5, 7].

Kritische Erkrankungen, wie beispielsweise ein hämorrhagischer Schock oder Verbrennungen, gehen oftmals mit einem erniedrigten systemischen Sauerstoffangebot und Perfusionsstörungen einher. Desweiteren wird das sympathische Nervensystem aktiviert, was zu einem überproportionalen Abfall der Perfusion des Gastrointestinaltrakts zugunsten lebenswichtiger Organe wie Herz und Gehirn führt [5,

8, 9]. Grund dafür ist unter anderem die erhöhte Empfindlichkeit der Arteriolen des Gastrointestinaltrakts für Angiotensin II, was vermehrt ausgeschüttet wird [5] und eine massive Vasokonstriktion im gastrointestinalen Gefäßbett auslöst. In Kombination mit der dargestellten, für eine mangelnde Oxygenierung prädisponierenden Anatomie der gastrointestinalen Mikrozirkulation, kommt es so frühzeitig zu einer Ischämie und Schädigung der Mukosa beginnend an den Villusspitzen [7]. Die Barrierefunktion der Mukosa kann unter diesen Bedingungen nicht aufrecht erhalten werden [10]. Als Folge können zunächst Nekrosen, ischämische Colitiden und Gastritiden auftreten [5].

Desweiteren ermöglicht der entstandene Epithelschaden den trans- oder auch parazellulären Übertritt von intraluminalen Bakterien und Endotoxinen in das lymphatische System und den systemischen Blutkreislauf [3, 10]. Die Folge ist eine lokale immunologische Antwort, welche zu einer massiven Freisetzung von Entzündungsmediatoren führt und die Permeabilität der Mukosa weiter steigert. Sie bildet den Anfang einer immunologischen Kaskade, die letztlich zu einer Sepsis und zu einem Multiorganversagen mit häufig letalem Ausgang führen kann [11-14]. So wurde der Darm bereits als Motor des Multiorganversagens beschrieben [15].

Daher scheint die Erhaltung und Stabilisierung der Mukosaoxygenierung und Perfusion ein wichtiger Schritt in der Therapie und Prävention kritischer Erkrankungen zu sein, auch wenn dies noch nicht in der klinischen Praxis etabliert ist [2, 16-18]. Ziel aktueller therapeutischer Maßnahmen ist die Stabilisierung der Makrozirkulation (Blutdruck, Herzfrequenz, zentral venöser Druck) durch Volumentherapie und den Einsatz von Vasopressoren. Im gesunden Organismus ist ein adäquater Blutdruck mit einer guten Mikrozirkulation assoziiert, während Blutdruckabfälle im Schock die Mikrozirkulation kompromittieren. Eine therapeutische Wiederherstellung des Blutdrucks sollte demzufolge auch die Mikrozirkulation verbessern. Studien zur Therapie des hämorrhagischen Schocks und der Sepsis beim Menschen zeigen jedoch, dass im Falle einer eingeschränkten Mikrozirkulation die therapeutische Wiederherstellung der Makrozirkulation keine verbesserte Mikrozirkulation zur Folge hat [2, 9, 19, 20]. Die regionale Mikrozirkulation kann demzufolge trotz verbesserter globaler Zirkulationsparameter eingeschränkt sein [20]. Darüber hinaus unterstützen viele der eingesetzten Medikamente zur Blutdrucksteigerung die periphere Vasokonstriktion und verstärken diese. So führt Noradrenalin durch periphere Vasokonstriktion über α_1 -adrenerge Rezeptoren zu einer weiteren Minderperfusion des Gastrointestinaltrakts und

kann damit die Mikrozirkulation – bei einem verbesserten systemischen Blutdruck – zusätzlich reduzieren. Für Dobutamin konnten ähnliche Ergebnisse gefunden werden. Durch die Gabe von Dobutamin bei septischen Patienten ließen sich zwar die allgemeinen Vitalparameter verbessern, eine Verbesserung der Mikrozirkulation konnte jedoch auch hier nicht erzielt werden [21]. Gelingt allerdings eine isolierte Verbesserung der gastrointestinalen Mikrozirkulation im Schock, so kann diese auch unabhängig von systemischen Kreislaufparametern die Mukosabariere verstärken [6]. Zusammenfassend lässt sich somit sagen, dass insbesondere der Aufrechterhaltung oder Wiederherstellung der Mikrozirkulation – auch unabhängig von systemischen Kreislaufparametern – eine erhebliche therapeutische Bedeutung zukommt. Insbesondere im Gastrointestinaltrakt könnte hierdurch die Darmbarriere erhalten und eine Translokation von Bakterien und Toxinen verhindert werden. Mit Hilfe von systemischen Interventionen wie einer systemischen Hypothermie [22] oder Hyperkapnie [8] konnte in Versuchen bereits nachweislich die Mikrozirkulation des Gastrointestinaltrakts verbessert werden. Allerdings führen systemische Interventionen häufig zu systemischen Nebenwirkungen, was sich mitunter negativ auf den restlichen Organismus auswirken kann. Ihre Anwendbarkeit ist daher insbesondere im klinischen Setting eingeschränkt. In verschiedenen Organsystemen ist aus diesem Grund bereits eine topische Medikamentenapplikation etabliert. So wird beispielsweise inhalatives Iloprost als potenter Vasodilatator zur Therapie des pulmonalen Hypertonus eingesetzt. Die topische Therapie erlaubt, das Zielorgan mit hohen lokalen Wirkspiegeln bei verminderten bzw. fehlenden systemischen Nebenwirkungen, zu therapieren [23]. Bislang gibt es keine Studie, die die topische Applikation von Substanzen im Gastrointestinaltrakt zur Verbesserung der Mikrozirkulation bzw. der Barrierefunktion untersucht hat. Denkbar wäre jedoch der Einsatz von Vasodilatoren wie dem Prostaglandinanalogen Iloprost. Prostaglandine werden physiologisch im Gastrointestinaltrakt gebildet und schützen die Schleimhaut, indem sie unter anderem als Regulator des mukosalen Blutflusses und des epithelialen Zusammenhalts fungieren [24]. In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass auch systemisch applizierte Prostaglandine vor Ulcera im Gastrointestinaltrakt schützen [25]. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die intraperitoneale Injektion von Iloprost die Anastomosenbildung durch Verstärkung der Neoangiogenese und Kollagenneubildung bei Ratten verbessert [26-29]. Es wäre daher denkbar, dass topisch angewendetes

Iloprost schlecht durchblutete Bereiche eröffnet, den Blutfluss regional verbessert und so möglicherweise die Barrierefunktion aufrecht erhalten könnte [30], ohne systemische Nebenwirkungen wie einen Blutdruckabfall zu induzieren. Aktuell liegen jedoch noch keine Studien vor, die den Effekt der topischen Therapie mit Vasodilatoren im Gastrointestinaltrakt auf die Mikrozirkulation, die Barrierefunktion und auf systemische Kreislaufparameter untersuchen. Die topische Applikation an der gastrointestinalen Mukosa während physiologischer und pathologischer Bedingungen könnte jedoch eine vielversprechende Therapie für die gastrointestinale Mukosa darstellen.

In dieser Studie soll daher der Einfluss von topisch angewendetem Iloprost auf die Mikrozirkulation der oralen und gastralen Mukosa, auf die Barrierefunktion und systemische Kreislaufparameter unter physiologischen und hämorrhagischen Bedingungen untersucht werden.

Hiermit sollen folgende Fragen beantwortet werden:

1. Welchen Einfluss hat die topische Applikation von Iloprost auf die Mikrozirkulation von Magen und Mundschleimhaut unter physiologischen und hämorrhagischen Bedingungen?
2. Welchen Einfluss hat die topische Applikation von Iloprost auf die Barrierefunktion?
3. Beeinflusst die topische Therapie im Gastrointestinaltrakt systemische hämodynamische Parameter?

2. Material und Methoden

Teile der Methoden sind bereits zuvor beschrieben worden [31].

2.1 Versuchsgenehmigung

Die Versuche (n = 20) wurden mit Genehmigung durch das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW (AZ 84-02.04.2012.A152) an fünf weiblichen Hunden (Foxhounds, 28-36 kg) durchgeführt. Alle an den Versuchen beteiligten Personen sind im Besitz eines Fachkundenachweises gemäß §9 und soweit erforderlich einer Sondergenehmigung nach § 9 Abs. 1 Satz 4 des Tierschutzgesetzes zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung.

2.2 Versuchstiere

Bereits vor den Versuchen wurden die Tiere an das Labor und die Versuchsvorbereitungen gewöhnt sowie mit den Experimentatoren vertraut gemacht. So konnten stressbedingte Auswirkungen auf den Kreislauf reduziert werden. Die Hunde lebten in der universitätseigenen Tierversuchsanlage und wurden mit Standardnahrung (Dog High Energy, Extrudate V 3286-000, ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest) gefüttert. Die Tiere waren während der Versuche gesund und ohne Verhaltensauffälligkeiten. Das Gewicht der Tiere wurde während der Versuche konstant gehalten. Eine 12 stündige Nahrungskarenz vor den Versuchen schloss fehlerhafte Messungen durch Nahrungsreste im Magen aus. Die Versuche fanden bei einer für die Hunde thermoneutralen Raumtemperatur von 24°C statt [32], da die körpereigene Thermoregulation über die Atmung während der Narkose eingeschränkt ist. Temperaturbedingte Einflüsse auf den Kreislauf wurden so vermieden. Um Auswirkungen des zirkadianen Rhythmus der Tiere auf die Versuche auszuschließen, wurden die Versuche immer zur gleichen Tageszeit durchgeführt. Ein Abstand von mindestens drei Wochen zwischen Versuchen am selben Tier wurde eingehalten, um Einflüsse der Narkose, der Blutentnahme und der Retransfusion sowie eine Interaktion der verabreichten Substanz auf den folgenden Versuch auszuschließen.

Alle Tiere durchliefen alle Versuchsgruppen in randomisierter Reihenfolge, so dass interindividuelle Unterschiede und weitere unbekannte Einflüsse möglichst weitgehend ausgeschlossen werden konnten

2.3 Operationen

Vor den Versuchen wurde an jedem Hund eine vorbereitende Operation in Allgemeinanästhesie (Propofol, Isofluran, Piritramid) unter aseptischen Bedingungen durchgeführt. Dabei wurden die Aa. carotides freipräpariert und nach außen in Hautschlingen verlagert[33]. Die leicht zugängliche Lage der Arterien ermöglicht eine vereinfachte Punktion zur kontinuierlichen arteriellen Blutdruckmessung und Abnahme arterieller Blutproben während der Experimente. Desweiteren ist ein unkomplizierter Verschluss der Punktionsstelle mittels Druckverband möglich.

2.4 Messungen

2.4.1 Elektrokardiographie (EKG) / Herzfrequenz (HF)

Ein 3-Kanal-EKG (MS 6 010, Lucius&Baer, Geretsried) wurde mit Nadelelektroden abgeleitet. Die HF wurde R-Zacken getriggert ermittelt (Chart 4.2).

2.4.2 Mittlerer Arterieller Druck (MAD)

Mittels Seldingertechnik wurde ein flüssigkeitsgefüllter, druckfester Katheter (PiCCO Catheter, Pulsion Medical Systems, München) in eine Arteria carotis des Hundes eingeführt und bis in die Aorta ascendens vorgeschoben. Der Katheter wurde über einen druckfesten Schlauch (Lectro-cath, Vygon, Ecouen, Frankreich) an einem Druckwandler (P23 ID Statham, Gould, Elk Grove, IL) angeschlossen. Der Druckwandler wurde auf Herzhöhe, orientierend am Processus Spinosus des 7. Halswirbels des liegenden Hundes, positioniert und vor jedem Versuch geeicht (Druckeichgerät nach Gauer, Hugo Sachs Elektronik, March). Die Lagekontrolle des Katheters erfolgte durch die korrekte Darstellung der arteriellen Blutdruckkurve. Der Katheter wurde mit heparinierter Kochsalzlösung (2 I.E. Heparin/ml) kontinuierlich und luftblasenfreigespült. Anhand der Messwerte wurde der MAD bestimmt (Chart 4.2).

2.4.3 Beatmung / Atemgase

Die Tiere wurden volumenkontrolliert über ein halbgeschlossenes Beatmungssystem (Aestivia/5, Datex-Ohmeda, Madison, WI) beatmet. Das Tidalvolumen wurde an das Gewicht des jeweiligen Hundes, ausgehend von 12,5 ml/kgKG, angepasst und lag damit in einem für Hunde physiologischen Bereich [34]. Die inspiratorische Sauerstoffsättigung lag konstant bei 30 Vol. %. Das Verhältnis von Inspiration zu Expiration lag bei 1:1,5. Über die Kontrolle der Atemfrequenz (AF) wurde die expiratorische Kohlenstoffdioxidkonzentration konstant bei 35 mmHg gehalten. So konnten Einflüsse durch die Veränderung des Kohlenstoffdioxidpartialdrucks auf die Oxygenierung der Magenschleimhaut verhindert werden [35]. Die Narkose wurde mittels Sevofluran (Sevorane 100%, Abbott, Wiesbaden) bei einer expiratorischen Konzentration von 3,0 Vol% aufrechterhalten. Diese Konzentration entspricht einer minimalen alveolären Konzentration von 1,5 beim Hund [36]. Die Atem- und Narkosegaskonzentrationen wurden kontinuierlich gemessen (Capnomac Ultima, Datex, Helsinki, Finnland).

2.4.4 Registrierung der Daten

Die beschriebenen Daten (vgl. Kapitel 2.4.1,2,3) wurden kontinuierlich von einem Acht-Kanal-Schreiber (RS 3800, Gould, Cleveland, OH) erfasst und nach Analog/Digital-Wandlung der Signale (Powerlab/800, AD Instruments, Castle Hill, Australien) auf einem PC gespeichert (Chart 4.2, ADInstruments).

2.4.5 Herzzeitvolumen (HZV)

Das HZV wurde mittels transpulmonaler Thermodilutionstechnik alle 30 Minuten ermittelt (PiCCO 4.2 non US, PULSION Medical Systems, München, Deutschland). Zur transpulmonalen Thermodilution wurden 10 ml gekühlte Kochsalzlösung 0,9% über eine Venenverweilkanüle (VasofixSafety 16 G, B. Braun, Melsungen) am Vorderlauf des Hundes injiziert. Die Temperatur der Lösung am Injektionsort wurde durch einen Sensor (PiCCO Monitoring Kit, Pulsion Medical Systems, München) gemessen. Über den arteriellen Katheter (PiCCO Catheter, Pulsion Medical Systems, München) (vgl. Kap 2.4.2) wurde die Temperaturänderung nach Passage des kardiopulmonalen Systems in der Aorta ascendens erfasst. Mit dem Volumen des Injektats (V_i), der

Injektattemperatur (T_i) und der Bluttemperatur vor Injektion (T_b) konnte das HZV nach der Stewart-Hamilton-Methode berechnet werden:

$$HZV = \frac{(T_b - T_i) * V_i * K}{(\int \Delta T_b * dt) * T}$$

T_b Bluttemperatur vor Injektion

T_i Temperatur des Injektats

V_i Injektatvolumen

$\int \Delta T_b \cdot dt$: Fläche unter der Thermodilutionskurve

K : Korrekturfaktor, aus spezifischen Gewicht und spezifischer Wärmekapazität von Blut und Injektat

Die Daten wurden mit einer geeigneten Software (PiCCO-VoLEF Data Acquisition for Win32 4.0, Pulsion Medical Systems, München) erfasst und auf einem Computer gespeichert.

2.4.6 Der systemische Gefäßwiderstand (SVR)

Der SVR lässt sich berechnen als Quotient aus:

$$SVR = \frac{MAD - ZVD}{HZV}$$

Der SVR wurde annähernd als Quotient aus MAD und HZV bestimmt.

2.4.7 Mikrozirkulatorische Oxygenierung (μHbO_2) und mikrozirkulatorischer Blutfluss (μflow)

Die μHbO_2 und der μflow wurden mittels Gewebe-Fotospektrometrie (LW 2222 oxygen to see, LEA Medizintechnik, Gießen) an der Magen- und Mundschleimhaut ermittelt. Das Verfahren der Gewebe - Fotospektrometrie umfasst die Weißlichtspektrometrie zur Bestimmung der μHbO_2 und einen Laser-Doppler zur Bestimmung des μflow . Glasfasersonden (Mikrosonde LM-10, LEA Medizintechnik GmbH und Flachsonde LF-2, LEA Medizintechnik GmbH) strahlen während der Messung einerseits Weißlicht andererseits Laserlicht in das Gewebe ab. Das zur Weißlichtspektrometrie emittierte Weißlicht hat ein Spektrum von 500 bis 850 nm. Es wird im Gewebe vor allem an den Mitochondrien gestreut und reflektiert. Abhängig von

der Farbe der in den Blutkapillaren befindlichen Erythrozyten verändert sich die Wellenlänge und die Intensität des reflektierten Lichts. Die Farbe der Erythrozyten ist abhängig von der Oxygenierung des enthaltenen Hämoglobins. Die Veränderung wird durch die Sonde an der Oberfläche erfasst und mit Referenzwerten verglichen. So kann aus dem reflektierten Licht die μHbO_2 der Schleimhäute bestimmt werden [37, 38]. Der von der Sonde emittierte Laser hat eine Leistung von 30 mW und eine Wellenlänge von 820nm. Das reflektierte Licht wird abhängig von der Geschwindigkeit der Erythrozyten in seiner Frequenz verändert, was man als Doppler-Shift bezeichnet[39]. Zusätzlich verändert sich die Intensität des reflektierten Lichts abhängig von der Anzahl der sich bewegenden Erythrozyten. Die Veränderungen werden von der Sonde an der Schleimhautoberfläche detektiert und darüber der μflow berechnet [38].

2.4.8 Relaxometrie

Die Relaxometrie wurde mittels Train of Four (TOF) durchgeführt. Vor Injektion des Muskelrelaxans wurden zwei Elektroden (TOF-Watch, Organon, Dublin, Irland) am Hinterlauf des Hundes platziert. Durch Stromimpulse von 15 mA wurden Muskelkontraktionen am Hinterlauf ausgelöst und die Ausschläge an der Pfote gemessen. Die Elektroden wurden so platziert, dass eine TOF-Ratio von 1,0 erreicht wurde. Nach erfolgreicher Relaxierung lag eine TOF-Ratio von 0 vor.

Die Narkose wurde nach Versuchsende aufrechterhalten bis erneut eine TOF-Ratio von 1,0 erreicht wurde. Die Kombination der Relaxometrie mit klinischen Zeichen wie der wiedereinsetzenden Spontanatmung ermöglichte eine Extubation ohne Relaxantienüberhang.

2.4.9 Bispectral Index (BIS)

Zur Überwachung der Narkosetiefe wurde während der Versuche der BIS ermittelt. Zur Ableitung wurden Elektroden im Stirnbereich der Hunde platziert. Mit Hilfe eines Monitors (A-2000 BIS Monitoring System, Aspect Medical Systems, Newtown, MA) wurden die Signale kontinuierlich erfasst, berechnet und der BIS als eine Zahl zwischen 0 und 100 dargestellt. Die Daten wurden mit einer entsprechenden Software (Hyper Terminal 5.1, Microsoft, Redmond, WA) auf einem handelsüblichen Computer gespeichert.

2.4.10 Blutgase

Die Probe zur Blutgasanalyse wurde über den arteriellen Katheter entnommen und analysiert (Rapidlab 865, Siemens, Eschborn). Erfasst wurden Kohlendioxid- und Sauerstoffpartialdruck, Sauerstoffsättigung, Hämoglobin, Laktat, Standardbikarbonat, baseexcess, pH sowie die Konzentrationen von Kalium, Natrium und Kalzium. Zur Hämatokritbestimmung wurden Kapillaren (Mikro-Hämatokrit-Kapillaren, Brand, Wertheim) mit Blut gefüllt und bei 13000 *rounds per minute* (*rpm*) für vier Minuten zentrifugiert (Tischzentrifuge, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen). Mit Hilfe der Auswertscheibe wurden die Werte abgelesen. Während des gesamten Versuchs wurden arterielle Blutgasanalysen halbstündlich durchgeführt (vgl. Abb. 1).

2.4.11 Sucrose

Sucrose ist ein Disaccharid, welches unter physiologischen Bedingungen im Magen nicht enzymatisch abgebaut und nur geringfügig durch die intakte Mukosa in den Blutkreislauf aufgenommen werden kann[40]. Nach der Magenpassage wird Sucrose im Dünndarm durch die Sucrose-Isomaltase sehr schnell in Monosaccharide gespalten, so dass hier kein Übertritt mehr stattfinden kann. Unter pathologischen Bedingungen, wie zum Beispiel während eines hämorrhagischen Schocks, ist die Barrierefunktion der Magenmukosa eingeschränkt. Unter diesen Umständen kann die Sucrose schon im Magen in den Blutkreislauf übertreten. Da es im Blut zu keiner weiteren enzymatische Umwandlung kommt, lässt die Plasmakonzentration an intakter Sucrose einen Rückschluss auf die Barrierefunktion der Magenmukosa zu [40, 41].

Die Tiere erhielten ein an das Körpergewicht der Tiere angepasstes Gemisch aus Wasser und Sucrose, ausgehend von 25 ml Wasser und 50 g Sucrose je 30 kgKG. Die Menge an applizierter Sucrose lag somit bei 1,66 g/kgKG. Das Gemisch wurde als Bolus mit Beginn der Substanzgabe über eine Magensonde appliziert.

2.4.12 Sucrosebestimmung im Blutplasma

Vor Versuchsbeginn wurde ein Extraktionsmedium aus 9 µg Ribitol (Adonitol $\geq 98\%$ für die Biochemie, Carl Roth, Karlsruhe), 4 ml Aceton (Aceton, Carl Roth, Karlsruhe) und 2 ml Isoprolol (2-Propanol, Carl Roth, Karlsruhe) hergestellt. Anschließend wurde

es für 2 Minuten durch einen Stickstofffluss (Stickstoff verdichtet, Linde AG, Pullach) von 0,5 l/min deoxygeniert und bei 4 °C gelagert.

Während des Versuchsablaufs wurde intermittierend (vgl. Abb. 1) die Konzentration von Sucrose im Blutplasma bestimmt. Hierzu wurden 4 ml Blut in einen EDTA-Probenbehälter abgenommen. Der Probenbehälter wurde bei 0 °C und 3000 G für 15 Minuten zentrifugiert (Rotina 420R, Hettich Zentrifugen, Mülheim a.d. Ruhr). 30 µl des erhaltenen Blutplasmas wurden abpipetiert und bei 4 °C gelagert.

Anschließend wurde den Proben jeweils 400µl des Extraktionsmediums zugegeben und jede Probe für 20 Sekunden durchmischt (Vortex-Genie Touch Mixer, Scientific Industries, Bohemia, NY). Daraufhin wurden die Proben für 5 Minuten bei 4 °C geschüttelt (Vibrax-VXR, IKA Werke, Staufen) und über 2 Minuten bei 0 °C mit einer relativen Zentrifugalbeschleunigung von 20800 rpm zentrifugiert (Centrifuge 5417 R, Eppendorf AG, Hamburg). Der flüssige Überstand wurde abpipetiert und durch einen leichten Stickstofffluss deoxygeniert. Bis zur weiteren Analyse wurden die Proben bei -80 °C gelagert. Der Überstand wurde zur Messung der Sucrosekonzentration mittels eines Vakuum Konzentrators getrocknet und mit Hilfe eine Gas Chromatograph Massenspektrometer ermittelt. Die Ergebnisse sind auf den internen Standard Ribitol normiert und werden als relative Einheiten (rA) pro µl Blutplasma angegeben

2.4.13 Topische Therapie

Zur topischen Therapie wurde Iloprost (5-cis Iloprost von Cayman, CAY-10008585-5) verwendet. Als Kontrollsubstanz diente das reine Lösungsmittel (Isotone Kochsalzlösung 500 ml, Fresenius Kabi, Bad Homburg). Mit Beginn der Substanzgabe erhielten die Tiere einen Bolus über eine Magensonde, gefolgt von einer kontinuierlichen zweieinhalbständigen Applikation.

2.5 Interventionen.

2.5.1 Hämorrhagischer Schock und Retransfusion

Den Hunden wurde zur Induktion eines milden hämorrhagischen Schocks 16 ml Blut/kgKG entsprechend 20 % des geschätzten Blutvolumens entnommen. Das Blut wurde zügig über den arteriellen Katheter und einen venösen Zugang im Vorderlauf des Hundes entnommen. Zur Abnahme des Blutes wurden Perfusorspritzen (Original

Perfusor Spritzen 50 ml, B. Braun, Melsung) verwendet, die zuvor mit 0,1 ml (Heparin 25.000 I.E./5 ml, Rotexmedica, Trittau) heparinisiert wurden. Das Blut wurde während des 60 minütigen Schocks aseptisch bei 38 °C aufbewahrt. Nach Ende des Schocks wurde das heparinisierte Blut über ein Transfusionssystem (Transfusionsgerät TNSB-2, Aldrotec, Höchst) retransfundiert. Die Heparinwirkung wurde durch intravenös verabreichtes Protamin (Protamin ME 1000 I.E./ml, MEDA Pharma, Bad Homburg) antagonisiert. Hierzu wurden dem Hund 30 Minuten nach Retransfusion 0,5 I.E. Protamin je zugeführter I.E. Heparin verabreicht

2.6 Versuchsprotokoll

2.6.1 Allgemeines

Das Versuchsprotokoll umfasste folgende Versuchsgruppen (jeweils n = 5): Iloprostgabe unter Normovolämie (Iloprost), Iloprostgabe unter Hypovolämie (Iloprost-H), Gabe von NaCl unter Normovolämie (NaCl), Gabe von NaCl unter Hypovolämie (NaCl-H). Die Substanzgabe erfolgte verblindet. Die Hunde nahmen in randomisierter Reihenfolge an jeder Versuchsgruppe teil. Jedes Versuchstier diente so als eigene Kontrolle, wodurch Fehler durch interindividuelle Unterschiede in der Physiologie der Tiere ausgeschlossen werden konnten.

Um 8 Uhr morgens begannen die Versuche in einem leicht abgedunkelten Raum bei 24 °C Raumtemperatur. Diese Temperatur ist für Hunde temperaturneutral [32]. Die Hunde wurden auf einem gepolsterten Versuchstisch in Rechtsseitenlage gelagert. In eine Vene am Hinterlauf des Hundes wurde eine periphere Venenverweilkanüle (VasofixSafety 18G, B. Braun, Melsungen) gelegt und eine venöse Blutprobe zur Blutgasanalyse entnommen. Zur Narkoseeinleitung erhielten die Hunde eine intravenöse Injektion von 6-8 mg Propofol/kgKG (Propofol 1 % MCT, Fresenius Kabi, Bad Homburg), gefolgt von einer endotrachealen Intubation (Lo-Contur Murphy 9,0 CH, Mallinckrodt, Athlone, Irland) unter Laryngoskopie. Die Hunde wurden volumenkontrolliert über ein halbgeschlossenes Beatmungssystem (Aestivia/5, Datex-Ohmeda, Madison, WI) beatmet. Die Narkose wurde mittels Sevofluran (Sevorane 100%, Abbott, Wiesbaden) bei einer endexpiratorischen Konzentration von 3,0 Vol% aufrechterhalten. Die *Arteria carotis* wurde punktiert (Seldinger - Technik) und ein Thermodilutions-Katheter (PiCCO Catheter, Pulsion Medical Systems, München) bis in die *Aorta ascendens*

vorgeschoben. Eine arterielle Blutprobe zur Blutgasanalyse wurde entnommen. Der Katheter wurde über einen druckfesten Schlauch mit dem Druckwandler (vgl. Kap. 2.4.2) und über ein Monitoring-Set (PiCCO Monitoring Kit, Pulsion Medical Systems, München) mit dem PiCCO verbunden (vgl. Kapitel. 2.4.5). Die Augen des Hundes wurden mit Augensalbe (Bepanthen Augen und Nasensalbe, Bayer Vital, Leverkusen) benetzt, um Hornhautschäden durch Austrocknung zu vermeiden. Die TOF-Relaxometrie, das Oberflächen -EKG und der BIS wurden abgeleitet (vgl. Kapitel 2.4.8, 1, 9). Eine zweite periphere Venenverweilkanüle (VasofixSafety 16G, B.Braun, Melsung) wurde am Vorderlauf gelegt und mit dem Thermistor zur transpulmonalen Thermodilution verbunden

Zur muskulären Relaxierung wurde 0,6 mg Rocuronium/kgKG (Rocuronium Inresa, Inresa Arzneimittel, Freiburg) über die Venenverweilkanüle im Hinterlauf appliziert. Durch die kontinuierliche Applikation von 1 mg/kg/h über einen Perfusor (PILOT Anästhesie, Fresenius Vial, Brezins, Frankreich) wurde die Relaxierung während des Versuchs aufrechterhalten.

Anschließend wurde die Mikrosonde des O₂C über eine Magensonde in den Magen vorgeschoben. Eine zweite Magensonde wurde zur späteren Verabreichung der Sucrose-Lösung (vgl. Kap. 2.5.1) ebenfalls in den Magen vorgeschoben. Die Flachsonde des O₂C wurde an der oralen Mukosa platziert. Nachdem sich die Kreislaufparameter stabilisiert hatten, wurden zwei transpulmonale Thermodilutionen sowie eine arterielle Blutgasanalyse durchgeführt. Die Aufzeichnung der ersten 30 Minuten des Versuchsprotokolls dienen zur Etablierung stabiler Messwerte (*“Baseline“* in Abb. 1). Der weitere Versuchsablauf gestaltete sich abhängig von der jeweiligen Versuchsgruppe.

2.6.2 Iloprostgabe unter physiologischen Bedingungen (Iloprost)

Nach Ende der Baseline erhielten die Tiere einen initialen Bolus von 0,1µg/kgKG (0,4µg/ml) gefolgt von einer kontinuierlichen Applikation von 2µg/kgKG/h (1µg/ml) für die gastrale und 0,66µg/kgKG/h (1µg/ml) für die orale Mukosa.

2.6.3 Kontrollversuch mit Gabe von NaCl unter physiologischen Bedingungen (NaCl)

Nach Ende der Baseline erhielten die Tiere einen initialen Bolus von 0,25 ml/kgKG gefolgt von einer kontinuierlichen Applikation von 2ml/kgKG/h für die gastrale und 0,66 ml/kgKG/h für die orale Mukosa.

2.6.4 Iloprostgabe unter hämorrhagischen Bedingungen (Iloprost-H)

Die Versuchsgruppe Iloprost-H startete mit der Iloprostgabe wie die Gruppe Iloprost. Eine halbe Stunde nach Beginn der Iloprostgabe wurde die Hypovolämie induziert (vgl. Kap. 2.5.2). Der hypovoläme Zustand endete nach einer Stunde mit der Retransfusion des entnommenen Blutvolumens. Nach der Retransfusion folgte eine weitere Stunde der Datenerfassung.

2.6.5 Kontrollversuch mit Gabe von NaCl unter hämorrhagischen Bedingungen (NaCl-H)

Die Kontrollgruppe NaCl-H startete mit der Gabe der Kontrolllösung wie in der Gruppe NaCl. Eine halbe Stunde nach Beginn der Substanzgabe wurde die Hypovolämie induziert (vgl. Kap. 2.5.2). Der hypovoläme Zustand endete nach einer Stunde mit der Retransfusion des entnommenen Blutvolumens. Nach der Retransfusion folgte eine weitere Stunde der Datenerfassung.

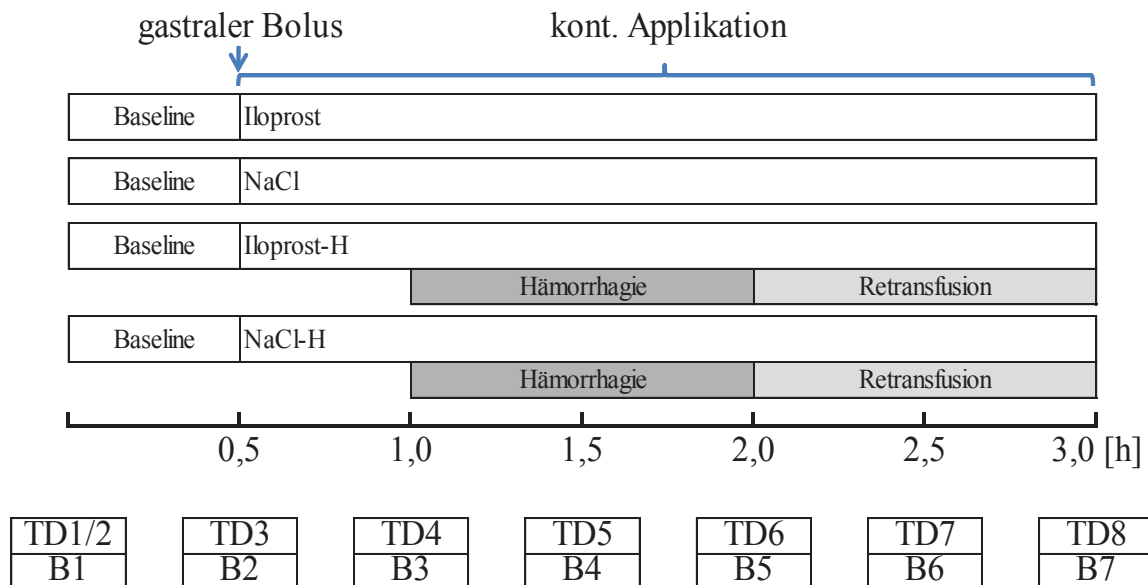


Abb. 1: Versuchsprotokoll: Übersicht über die 4 Versuchsgruppen (jeweils n=5) über einen Zeitraum von 3 Stunden: Iloprostgabe unter physiologischen Bedingungen (Iloprost), Kontrollversuch mit Gabe von NaCl unter physiologischen Bedingungen (NaCl), Iloprostgabe unter hämorrhagischen Bedingungen (Iloprost-H), Kontrollversuch mit Gabe von NaCl unter hämorrhagischen Bedingungen (NaCl-H). Durchgeführte Messungen: Thermodilution (TD), Blutgasanalyse (B).

2.7 Statistik

Die Daten sind als absolute Werte angegeben, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler. Mit Hilfe von Q-Q-plots wurde die Normalverteilung der Daten überprüft (IBM SPSS Statistics, International Business Machine Corp., USA). Unterschiede innerhalb und zwischen den Gruppen wurden mit einer 2-Wege-Varianzanalyse für wiederholende Messungen und dem Dunnett Post-Hoc-Test getestet (GraphPad Prism version 6.05 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA).

Aufgrund von präanalytischen Problemen konnten die Sucrose Plasmaspiegel eines einzelnen Hundes in der NaCl-Gruppe nicht analysiert werden, was wiederum eine vollständige Auswertung und Analyse der Daten annähernd unmöglich machen würde. Aus diesem Grund wurden mit Hilfe der Mittelwertergänzungsmethode die fehlenden Werte des einzelnen Versuches durch Mittelwerte ergänzt, welche mit Hilfe der vorhandenen Werte der gesamten Gruppe bestimmt wurden. Die Methode ist als sichereres Verfahren beschrieben worden, wenn die fehlenden Werte beliebig sind [42].

Sie führt jedoch zu kleineren Standardfehlern auf grund einer größeren Anzahl an Werten, welche sich nahe dem Mittelwert befinden. Aus diesem Grund ersetzen wir die fehlenden Werte zusätzlich mit dem jeweils minimalen, maximalen und medianen Wert für die spezifische Gruppe und Zeit. Diese weiteren Analysen erbrachten hier übereinstimmende Resultate und zeigten, dass die Mittelwertergänzungsmethode ein geeignetes Verfahren für diesen Fall darstellt. Da insbesondere die Sucrose Plasma Level der Hämorrhagie Gruppen (NaCl-H und Iloprost-H) von großem Interesse sind, wurde eine zweite eigenständige Analyse dieser Gruppen vorgenommen. Etwaige Unterschiede zwischen der Analyse aller Gruppen und der Analyse der Hämorrhagie Gruppen, in denen es keine fehlenden Werte gab, sollten so aufgedeckt werden. Beide Analysen führten zu gleichen Ergebnissen während des hämorrhagischen Schocks (1.5h), was darauf hinweist, dass die Gruppe NaCl keinen Einfluss auf den p-Wert der anderen Gruppen hat.

3. Ergebnisse

3.1 Iloprostgabe unter physiologischen Kreislaufbedingungen

Unter Ausgangsbedingungen (Baseline in Abb. 2) zeigten sich zwischen der Gruppe Iloprost und der Kontrollgruppe NaCl keine signifikanten Unterschiede in den Kreislaufparametern (Tab.1). Die Gabe von Iloprost führte sowohl an der gastralen als auch an der oralen Mukosa zu keiner signifikanten Veränderung der μHbO_2 (von 83 ± 2 auf 80 ± 1 % (gastral) und von 83 ± 0 auf 79 ± 1 % (oral)) (Abb.3), des μflow (von 111 ± 21 auf 140 ± 22 aU (gastral) und von 162 ± 35 auf 148 ± 34 aU (oral)) und der mikrovaskulären Velocity (μvelo) (von 17 ± 2 auf 19 ± 2 aU (gastral) und von 28 ± 5 auf 29 ± 6 aU (oral)) (Tab.1). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe (μHbO_2 von 81 ± 1 auf 78 ± 1 % (gastral) und von 84 ± 3 auf 80 ± 4 % (oral), μflow von 111 ± 21 auf 134 ± 20 aU (gastral) und von 160 ± 37 auf 143 ± 31 aU (oral), μvelo von 16 ± 2 auf 18 ± 2 aU (gastral) und von 28 ± 5 auf 29 ± 5 aU (oral)) (Tab.1).

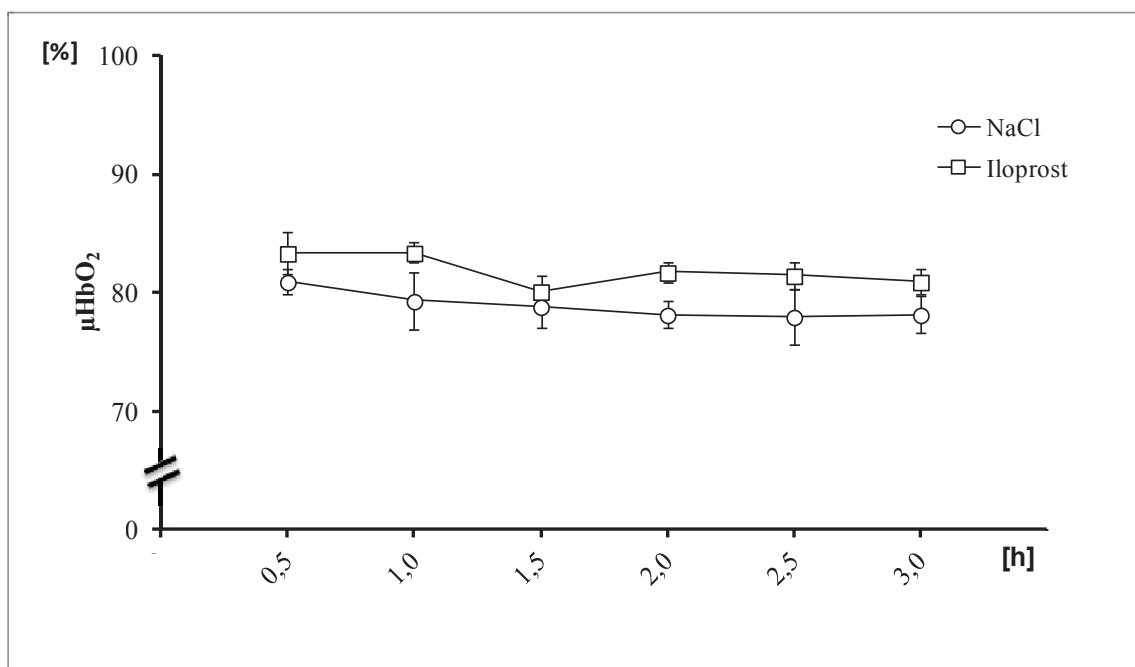


Abb. 2: Gastrale μHbO_2 . Gastrale μHbO_2 unter physiologischen Bedingungen (NaCl) und zusätzlich unter Applikation von Iloprost (Iloprost). Die Daten sind angegeben als Mittelwert \pm Standardfehler, $n = 5$, * = $p < 0.05$ vs. baseline, # = $p < 0.05$ vs. Kontrollgruppe (NaCl), 2-way ANOVA + Dunnett für multiple Vergleiche ($p < 0.05$).

Das systemische Sauerstoffangebot (DO_2) (13 ± 1 auf 12 ± 1 ml/kg/min) (Tab.1) und das HZV (84 ± 4 auf 78 ± 3 ml/kg/min) (Tab.1) zeigten keine signifikanten Veränderungen durch die Iloprostgabe als auch im Vergleich mit der Kontrollgruppe (DO_2 von 13 ± 1 auf 12 ± 1 ml/kg/min, HZV von 84 ± 5 auf 76 ± 2 ml/kg/min) (Tab.1). Lediglich der MAD stieg unter Iloprost von 56 ± 1 auf 69 ± 4 mmHg an (Tab.1). Gleichzeitig stieg der SVR von 22 ± 2 auf 27 ± 2 mmHg \cdot l $^{-1}$ \cdot min an (Tab.1). Beide Parameter waren signifikant zum Baselinelevel erhöht, zeigten jedoch keine Unterschiede zur Kontrollgruppe (MAD von 58 ± 3 auf 62 ± 4 mmHg, SVR von 23 ± 3 auf 26 ± 3 mmHg \cdot l $^{-1}$ \cdot min) (Tab.1). Weitere Ergebnisse sind in Tabelle 1 und Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 1: Parameter der Hämodynamik, Mikrozirkulation und Barrierefunktion

VARIABLE	GRUPPE	0,5 h	1,0 h	1,5 h	2,0 h	2,5 h	3,0 h
gastrale μHbO_2 [%]	NaCl	81 \pm 1	79 \pm 2	79 \pm 2	78 \pm 1	78 \pm 2	78 \pm 2
	Iloprost	83 \pm 2	83 \pm 1	80 \pm 1	82 \pm 1	81 \pm 1	81 \pm 1
	NaCl-H	77 \pm 2	79 \pm 2	37 \pm 3 *	46 \pm 4 *	78 \pm 3	81 \pm 2
	Iloprost-H	82 \pm 2	83 \pm 1	54 \pm 4 ##	59 \pm 4 ##	80 \pm 3	88 \pm 2
gastraler μflow [aU]	NaCl	111 \pm 21	115 \pm 18	122 \pm 20	124 \pm 21	124 \pm 21	134 \pm 20
	Iloprost	111 \pm 21	136 \pm 23	140 \pm 22	130 \pm 18	132 \pm 15	131 \pm 13
	NaCl-H	104 \pm 6	116 \pm 10	84 \pm 12	87 \pm 10	137 \pm 23	115 \pm 13
	Iloprost-H	108 \pm 12	135 \pm 15	92 \pm 13	102 \pm 10	143 \pm 17	164 \pm 8 *
gastrale μvelo [aU]	NaCl	16 \pm 2	16 \pm 1	17 \pm 1	17 \pm 2	17 \pm 1	18 \pm 2
	Iloprost	17 \pm 2	19 \pm 2	19 \pm 2	17 \pm 1	17 \pm 1	17 \pm 1
	NaCl-H	17 \pm 0	16 \pm 1	14 \pm 1	14 \pm 1	18 \pm 1	16 \pm 1
	Iloprost-H	17 \pm 1	18 \pm 1	15 \pm 1	15 \pm 1	18 \pm 1	20 \pm 0 *
orale μHbO_2 [%]	NaCl	84 \pm 3	80 \pm 4	81 \pm 2	82 \pm 1	84 \pm 1	84 \pm 1
	Iloprost	83 \pm 0	80 \pm 1	80 \pm 2	79 \pm 1	80 \pm 1	81 \pm 1
	NaCl-H	82 \pm 1	75 \pm 4 *	41 \pm 4 *	48 \pm 4 *	80 \pm 3	90 \pm 2 *
	Iloprost-H	81 \pm 1	75 \pm 3	44 \pm 2 *	52 \pm 3 *	80 \pm 4	92 \pm 2 *
oraler μflow [aU]	NaCl	160 \pm 37	147 \pm 36	143 \pm 31	149 \pm 28	158 \pm 30	154 \pm 32
	Iloprost	162 \pm 35	149 \pm 35	150 \pm 34	148 \pm 34	152 \pm 34	159 \pm 38
	NaCl-H	143 \pm 21	120 \pm 27	35 \pm 13 *	44 \pm 13 *	145 \pm 29	228 \pm 32 *
	Iloprost-H	140 \pm 17	128 \pm 21	56 \pm 11 *	69 \pm 16 *	165 \pm 36	257 \pm 21 *
orale μvelo [aU]	NaCl	28 \pm 5	28 \pm 5	28 \pm 5	28 \pm 4	29 \pm 5	28 \pm 5
	Iloprost	28 \pm 5	28 \pm 6	28 \pm 6	28 \pm 6	29 \pm 5	29 \pm 6
	NaCl-H	24 \pm 2	21 \pm 3	13 \pm 1 *	14 \pm 1 *	24 \pm 3	32 \pm 3 *
	Iloprost-H	25 \pm 2	25 \pm 2	22 \pm 4	23 \pm 4	30 \pm 4	38 \pm 2 *
DO ₂ [ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹]	NaCl	13 \pm 1	13 \pm 1	12 \pm 1	12 \pm 1 *	12 \pm 1	12 \pm 1
	Iloprost	13 \pm 1	13 \pm 1	13 \pm 1	12 \pm 1	13 \pm 1	13 \pm 1
	NaCl-H	13 \pm 1	12 \pm 1	7 \pm 0 *	9 \pm 1 *	14 \pm 1	14 \pm 1
	Iloprost-H	12 \pm 1	12 \pm 1	6 \pm 1 *	7 \pm 1 *	12 \pm 1	13 \pm 1
SVR [mmHg·l ⁻¹ ·min]	NaCl	23 \pm 3	25 \pm 4	25 \pm 3	26 \pm 3	26 \pm 2	26 \pm 3
	Iloprost	22 \pm 2	24 \pm 2	25 \pm 2	27 \pm 2 *	27 \pm 2 *	27 \pm 2 *
	NaCl-H	25 \pm 3	26 \pm 3	32 \pm 1 *	32 \pm 2 *	29 \pm 2	25 \pm 2
	Iloprost-H	26 \pm 2	27 \pm 3	35 \pm 3 *	38 \pm 3 ##	30 \pm 2 *	27 \pm 2
HZV [ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹]	NaCl	84 \pm 5	80 \pm 5	79 \pm 4	76 \pm 2 *	78 \pm 3	78 \pm 3
	Iloprost	84 \pm 4	81 \pm 4	80 \pm 3	78 \pm 3	81 \pm 3	82 \pm 4
	NaCl-H	81 \pm 3	79 \pm 3	47 \pm 3 *	58 \pm 4 *	88 \pm 4	89 \pm 3 *
	Iloprost-H	75 \pm 2	76 \pm 4	41 \pm 3 *	46 \pm 3 *	80 \pm 3	83 \pm 3 *
SV [ml]	NaCl	23 \pm 2	22 \pm 2	22 \pm 2	22 \pm 1	22 \pm 1	23 \pm 1
	Iloprost	23 \pm 2	22 \pm 2	22 \pm 2	22 \pm 1	22 \pm 1	23 \pm 1
	NaCl-H	22 \pm 1	22 \pm 1	13 \pm 0 *	16 \pm 1 *	26 \pm 1 *	26 \pm 1 *
	Iloprost-H	20 \pm 1	21 \pm 2	12 \pm 1 *	13 \pm 1 *	24 \pm 2 *	25 \pm 1 *
MAD [mmHg]	NaCl	58 \pm 3	60 \pm 4	61 \pm 3	60 \pm 4	62 \pm 3	62 \pm 4
	Iloprost	56 \pm 1	59 \pm 2	62 \pm 3 *	64 \pm 3 *	67 \pm 3 *	69 \pm 4 *
	NaCl-H	63 \pm 5	63 \pm 4	46 \pm 2 *	56 \pm 3 *	78 \pm 4 *	69 \pm 4 *
	Iloprost-H	59 \pm 3 #	62 \pm 3	43 \pm 2 *	53 \pm 3 *	73 \pm 3 ##	68 \pm 3 *
HF [min ⁻¹]	NaCl	114 \pm 4	113 \pm 4	112 \pm 4	110 \pm 5	109 \pm 5	108 \pm 4 *
	Iloprost	113 \pm 3	113 \pm 3	112 \pm 3	112 \pm 3	113 \pm 2	114 \pm 2
	NaCl-H	117 \pm 5	115 \pm 3	109 \pm 5 *	113 \pm 6	107 \pm 5 *	107 \pm 5 *
	Iloprost-H	115 \pm 4	114 \pm 3	108 \pm 4 *	112 \pm 5	104 \pm 4 *	106 \pm 4 *
Sucrose [rel. Menge / μl Plasma]	NaCl						
	Iloprost		9 \pm 3	31 \pm 11	36 \pm 10 §		
	NaCl-H		7 \pm 2	55 \pm 7 *§	60 \pm 4 *§		
	Iloprost-H		22 \pm 19	80 \pm 39 *§	71 \pm 26 *§		

Tabelle 1: Parameter der Hämodynamik, Mikrozirkulation und der Barrierefunktion: Gastrale und orale mikrozirkulatorische Hämoglobinoxygenation (μHbO_2), mikrozirkulatorischer Flow (μflow) und Velocity (μvelo), Herzzeitvolumen (HZV), systemisches Sauerstoffangebot (DO_2), mittlerer arterieller Druck (MAD), systemischer Gefäßwiderstand (SVR), Schlagvolumen (SV), Herzfrequenz (HR) und Sucrose Plasmalevel (keine Angabe bei $n = 4$ in Gruppe NaCl). Die Daten sind angegeben als Mittelwert \pm Standardfehler, $n = 5$, * = $p < 0.05$ vs. baseline, # = $p < 0.05$ vs. Kontrollgruppe während physiologischer (NaCl vs. Iloprost) und hämorrhagischer Bedingungen (NaCl-H vs. Iloprost-H), § = $p < 0.05$ vs. baseline, 2-Wege-Varianzanalyse für wiederholende Messungen und Dunnett's Post-Hoc-Test.

Tabelle 2: Metabolische und respiratorische Parameter

VARIABLE	GRUPPE	0,5 h	1,0 h	1,5 h	2,0 h	2,5 h	3,0 h
SAT [%]	NaCl	100 \pm 0,33	100 \pm 0,31	100 \pm 0,32	100 \pm 0,31	100 \pm 0,32	100 \pm 0,28
	Iloprost	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00
	NaCl-H	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00
	Iloprost-H	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00
pCO ₂ [mmHg]	NaCl	38 \pm 1	38 \pm 1	39 \pm 1	39 \pm 1	39 \pm 1	39 \pm 2
	Iloprost	39 \pm 1	39 \pm 1	37 \pm 1 #	37 \pm 1	38 \pm 1 #	38 \pm 1
	NaCl-H	38 \pm 1	38 \pm 1	43 \pm 1 *	41 \pm 1 *	39 \pm 1	38 \pm 1
	Iloprost-H	39 \pm 1	39 \pm 1	43 \pm 1 *	40 \pm 2	37 \pm 2	37 \pm 1 *
pO ₂ [mmHg]	NaCl	153 \pm 6	153 \pm 5	155 \pm 5	157 \pm 5	157 \pm 5	158 \pm 5 *
	Iloprost	148 \pm 5	149 \pm 5	152 \pm 4	152 \pm 4	155 \pm 2 *	153 \pm 3 *
	NaCl-H	150 \pm 4	152 \pm 3	141 \pm 4 *	150 \pm 4	161 \pm 3 *	157 \pm 4 *
	Iloprost-H	151 \pm 4	155 \pm 3	142 \pm 4 *	149 \pm 3	163 \pm 5 *	161 \pm 3 *
pH	NaCl	7,40 \pm 0,01	7,39 \pm 0,01	7,37 \pm 0,01 *	7,37 \pm 0,01 *	7,35 \pm 0,01 *	7,38 \pm 0,01
	Iloprost	7,40 \pm 0,01	7,39 \pm 0,01	7,39 \pm 0,01	7,39 \pm 0,01	7,39 \pm 0,01	7,39 \pm 0,01
	NaCl-H	7,40 \pm 0,01	7,39 \pm 0,01	7,31 \pm 0,01 *	7,32 \pm 0,01 *	7,37 \pm 0,01 *	7,36 \pm 0,01 *
	Iloprost-H	7,40 \pm 0,01	7,38 \pm 0,01 *	7,29 \pm 0,01 *	7,30 \pm 0,01 *	7,35 \pm 0,01 *	7,36 \pm 0,01 *
HCO ₃ ⁻ [mmol·l ⁻¹]	NaCl	23 \pm 0	23 \pm 0	22 \pm 0	22 \pm 1	21 \pm 1	23 \pm 1
	Iloprost	23 \pm 0	23 \pm 0	22 \pm 0	22 \pm 0	22 \pm 0	22 \pm 0
	NaCl-H	23 \pm 1	22 \pm 0	21 \pm 0 *	20 \pm 0 *	22 \pm 1	21 \pm 0 *
	Iloprost-H	24 \pm 0	22 \pm 1	20 \pm 1 *	19 \pm 1 *	20 \pm 1 *	20 \pm 1 *
Hb [g·100ml ⁻¹]	NaCl	12 \pm 1	12 \pm 1	11 \pm 1	11 \pm 1	11 \pm 1	11 \pm 1
	Iloprost	11 \pm 1	11 \pm 0	11 \pm 0 *	11 \pm 0	11 \pm 1	11 \pm 1 *
	NaCl-H	11 \pm 1	11 \pm 1	11 \pm 1	11 \pm 1	11 \pm 1	11 \pm 1 *
	Iloprost-H	12 \pm 1	11 \pm 1	12 \pm 1	12 \pm 1	11 \pm 1 *	11 \pm 1 *
Laktat [mmol·l ⁻¹]	NaCl	0,8 \pm 0,1	1,0 \pm 0,2	1,5 \pm 0,3	1,6 \pm 0,4	1,6 \pm 0,4	1,4 \pm 0,3
	Iloprost	0,8 \pm 0,0	1,1 \pm 0,1	1,5 \pm 0,2	1,5 \pm 0,2	1,6 \pm 0,2	1,6 \pm 0,1
	NaCl-H	0,8 \pm 0,2	1,4 \pm 0,1	2,4 \pm 0,3	2,5 \pm 0,3	2,1 \pm 0,2	1,8 \pm 0,2
	Iloprost-H	0,8 \pm 0,2	1,5 \pm 0,3	2,5 \pm 0,4	2,5 \pm 0,4	2,6 \pm 0,4	2,1 \pm 0,4

Tabelle 2: Metabolische und respiratorische Parameter: Sauerstoff-Sättigungsindex (SAT), arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck ($p_a\text{CO}_2$), arterieller Sauerstoffpartialdruck ($p_a\text{O}_2$), pH, Bicarbonat (HCO_3^-), Hämoglobin (Hb) und Laktat Plasmalevel. Die Daten sind angegeben als Mittelwert \pm Standardfehler, $n = 5$, * = $p < 0.05$ vs. baseline, # = $p < 0.05$ vs. Kontrollgruppe während physiologischer (NaCl vs. Iloprost) und hämorrhagischer Bedingungen (NaCl-H vs. Iloprost-H), 2-Wege-Varianzanalyse für wiederholende Messungen und Dunnett's Post-Hoc-Test.

3.2 Iloprostgabe unter hämorrhagischen Bedingungen

Unter Ausgangsbedingungen (Baseline in Abb. 2) zeigten sich zwischen der Gruppe Iloprost-H und der Kontrollgruppe NaCl-H im Wesentlichen keine Unterschiede in den Kreislaufparametern. Lediglich der MAD ist unter Ausgangsbedingungen in der Gruppe Iloprost-H signifikant niedriger als in der Gruppe NaCl-H (Iloprost-H 59 ± 3 mmHg, NaCl-H 63 ± 5 mmHg) (Tab.1).

Unter Hämorrhagie fiel in der Gruppe NaCl-H die gastrale μHbO_2 von 77 ± 2 auf 37 ± 3 % ab (Tab.1). Im Gegensatz dazu fiel die gastrale μHbO_2 in der Gruppe Iloprost-H lediglich von 82 ± 2 auf 54 ± 4 % ab (Abb.6) und war somit signifikant höher als in der Gruppe NaCl-H (Tab.1). Unabhängig davon änderte sich der gastrale μflow in beiden Gruppen gleichartig von 108 ± 12 auf 92 ± 13 aU (Iloprost-H) und von 104 ± 6 auf 84 ± 12 aU (NaCl-H) (Tab.1). Auch die gastrale μVelo änderte sich in beiden Gruppen gleichartig von 17 ± 1 auf 15 ± 1 aU (Iloprost-H) und von 17 ± 0 auf 14 ± 1 aU (NaCl-H) (Tab.1).

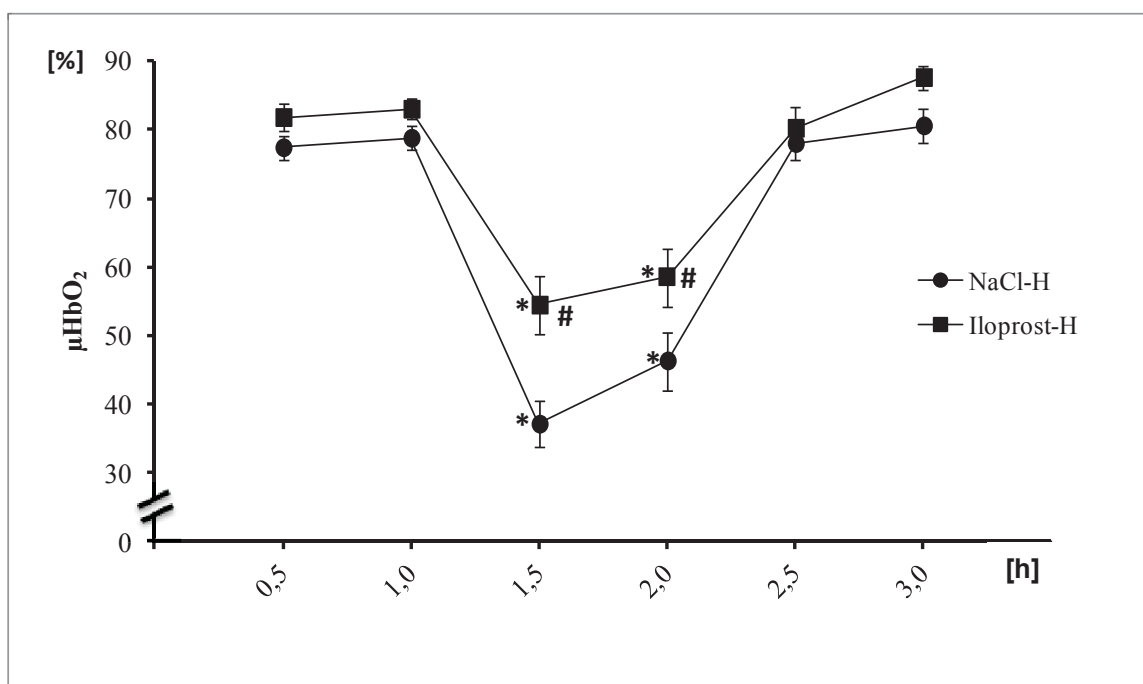


Abb. 3: Gastrale μHbO_2 : Gastrale μHbO_2 unter hämorrhagischen Bedingungen (NaCl-H) und zusätzlich unter Applikation von Iloprost (Iloprost-H). Die Daten sind angegeben als Mittelwert \pm Standardfehler, $n = 5$, * = $p < 0.05$ vs. baseline, # = $p < 0.05$ vs. Kontrollgruppe (NaCl-H), 2-way ANOVA + Dunnett für multiple Vergleiche.

An der oralen Mukosa führte die Hämorrhagie sowohl in der Gruppe NaCl-H als auch in der Gruppe Iloprost-H zu einem gleichartigen signifikanten Abfall der μHbO_2 (Iloprost-H von 81 ± 1 auf 44 ± 2 mmHg, NaCl-H von 82 ± 1 auf 41 ± 4 mmHg) ohne Unterschied zwischen den Gruppen (Tab.1). Der orale μflow fiel gleichartig in der Gruppe Iloprost-H von 140 ± 17 auf 56 ± 11 aU und in der Gruppe NaCl-H von 143 ± 21 auf 35 ± 13 aU ab (Tab.1). Die orale μVelo fiel in der Gruppe NaCl-H von 24 ± 2 auf 13 ± 1 aU ab, während sie unter Iloprostgabe unverändert blieb (25 ± 2 vs. 22 ± 4 aU) (Tab.1). Es zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

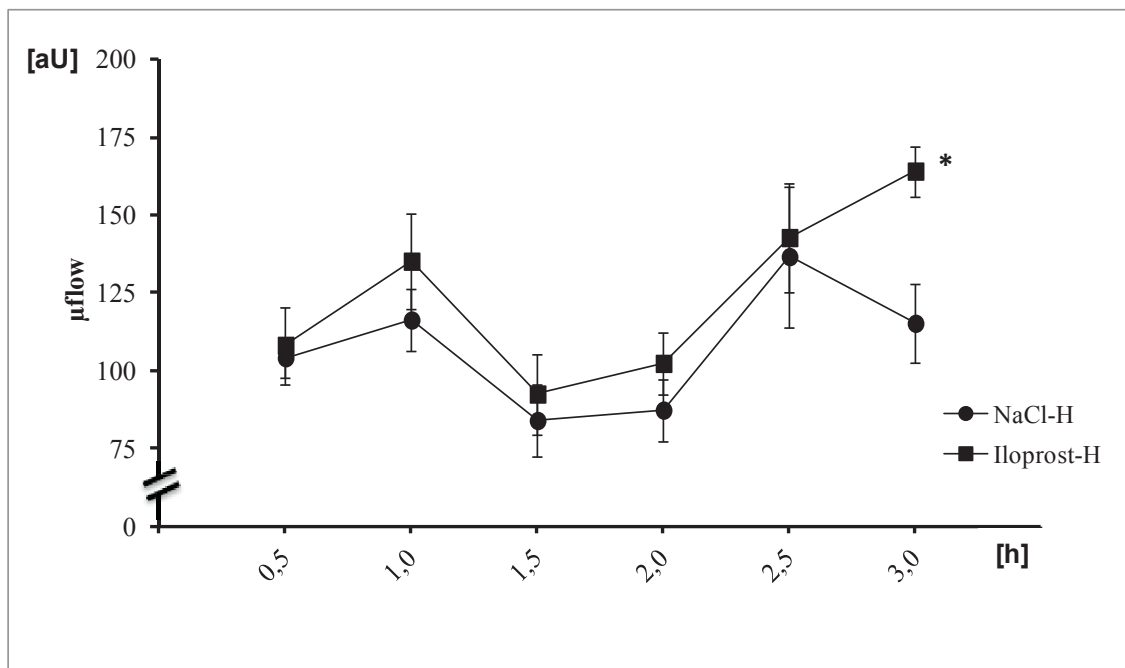


Abb. 4: Gastraler μflow : Gastraler μflow unter hämorrhagischen Bedingungen (NaCl-H) und zusätzlich unter Applikation von Iloprost (Iloprost-H). Die Daten sind angegeben als Mittelwert \pm Standardfehler, $n = 5$, * = $p < 0.05$ vs. baseline, # = $p < 0.05$ vs. Kontrollgruppe (NaCl-H), 2-way ANOVA + Dunnett für multiple Vergleiche ($p < 0.05$).

Das DO_2 fiel gleichartig in der Gruppe Iloprost-H von 12 ± 1 auf 6 ± 1 $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ und in der Gruppe NaCl-H von 12 ± 1 auf 7 ± 1 $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ab (Tab.1). Der Abfall der DO_2 ist bedingt durch einen Abfall des HZV, welches von 75 ± 2 auf 41 ± 3 $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ in der Gruppe Iloprost-H und von 81 ± 3 auf 47 ± 3 $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ in der Gruppe NaCl-H abfiel (Tab.1). Auch das HZV zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Der SVR hingegen stieg in der Gruppe NaCl-H von $25 \pm$

3 auf $32 \pm 2 \text{ mmHg} \cdot 1^{-1} \cdot \text{min}$ an (Tab.1). Im Gegensatz dazu stieg der SVR in der Gruppe Iloprost-H von 26 ± 2 auf $38 \pm 3 \text{ mmHg} \cdot 1^{-1} \cdot \text{min}$ an und war somit signifikant höher als in der Gruppe NaCl-H (Tab.1).

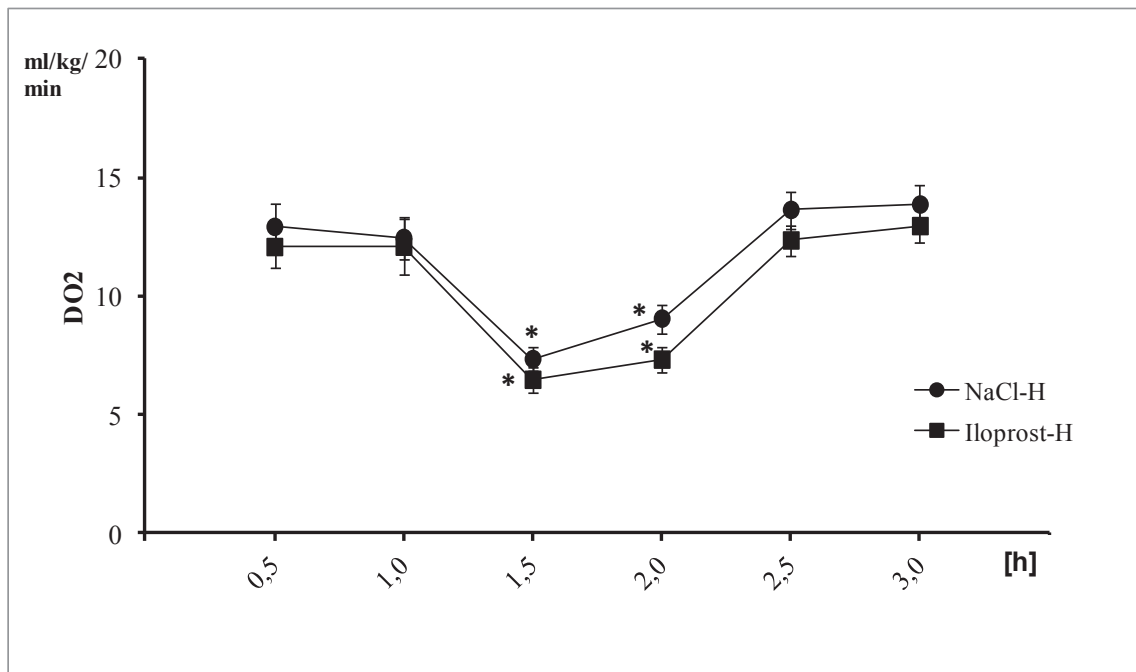


Abb. 5: DO₂: DO₂unter hämorrhagischen Bedingungen (NaCl-H) und zusätzlich unter Applikation von Iloprost (Iloprost-H). Die Daten sind angegeben als Mittelwert \pm Standardfehler, n = 5, * = p < 0.05 vs. baseline, # = p < 0.05 vs. Kontrollgruppe (NaCl-H), 2-way ANOVA + Dunnett für multiple Vergleiche (p < 0.05).

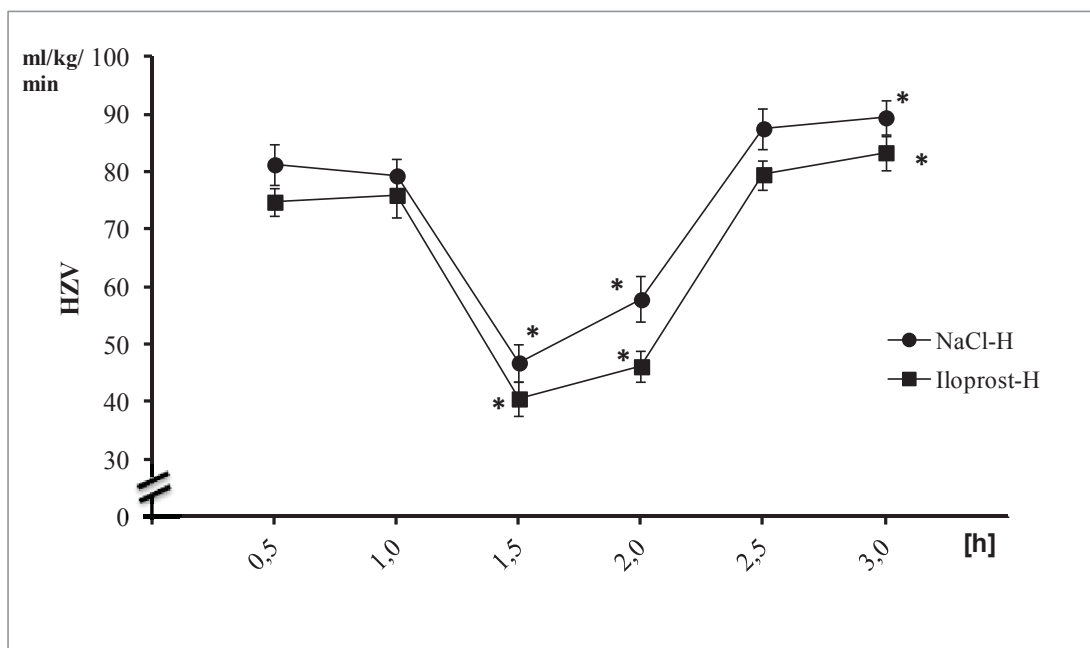


Abb. 6: HZV: HZV unter hämorrhagischen Bedingungen (NaCl-H) und zusätzlich unter Applikation von Iloprost (Iloprost-H). Die Daten sind angegeben als Mittelwert \pm Standardfehler, $n = 5$, * = $p < 0.05$ vs. baseline, # = $p < 0.05$ vs. Kontrollgruppe (NaCl-H), 2-way ANOVA + Dunnett für multiple Vergleiche ($p < 0.05$).

Durch die Retransfusion des entnommenen Blutes wurden sowohl die Parameter der Mikrozirkulation als auch die Kreislaufparameter in beiden Gruppen wiederhergestellt. So erreichte die gastrale μHbO_2 in der Gruppe Iloprost-H $88 \pm 2\%$ und in der Gruppe NaCl-H $81 \pm 2\%$ (Tab.1). Der gastrale μflow erreichte in der Gruppe NaCl-H 115 ± 13 aU und stieg in der Gruppe Iloprost-H auf 164 ± 8 aU an. Gleichartig erreichte die gastrale μvelo in der Gruppe NaCl-H 16 ± 1 aU und stieg in der Gruppe Iloprost-H auf 20 ± 0 aU an. Sowohl der gastrale μflow als auch die gastrale μvelo waren somit in der Gruppe Iloprost-H signifikant zur Baseline erhöht, ohne jedoch einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen aufzuzeigen. An der oralen Mukosa stieg durch die Retransfusion des entnommenen Blutes die μHbO_2 signifikant zur Baseline auf $92 \pm 2\%$ (Iloprost-H) und auf $90 \pm 2\%$ (NaCl-H) an, zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Gleichartig verhielt sich der orale μflow und die orale μvelo . So stieg der μflow in der Gruppe Iloprost-H auf 257 ± 21 aU und in der Gruppe NaCl-H auf 228 ± 32 aU an. Gleichzeitig stieg die orale μvelo in der Gruppe Iloprost-H auf 38 ± 2 aU und in der Gruppe NaCl-H auf 32 ± 3 aU an.

Intestinale Barriere Funktion:

Während des hämorrhagischen Schocks stiegen die Sucrose Werte im Plasma von 7 ± 2 relative Einheiten auf 55 ± 7 relative Einheiten an. Die topische Applikation von Iloprost führte zu einem Anstieg von 22 ± 10 relative Einheiten auf 80 ± 39 relative Einheiten und somit zu keiner signifikanten Veränderung im Vergleich mit der Kontrollgruppe.

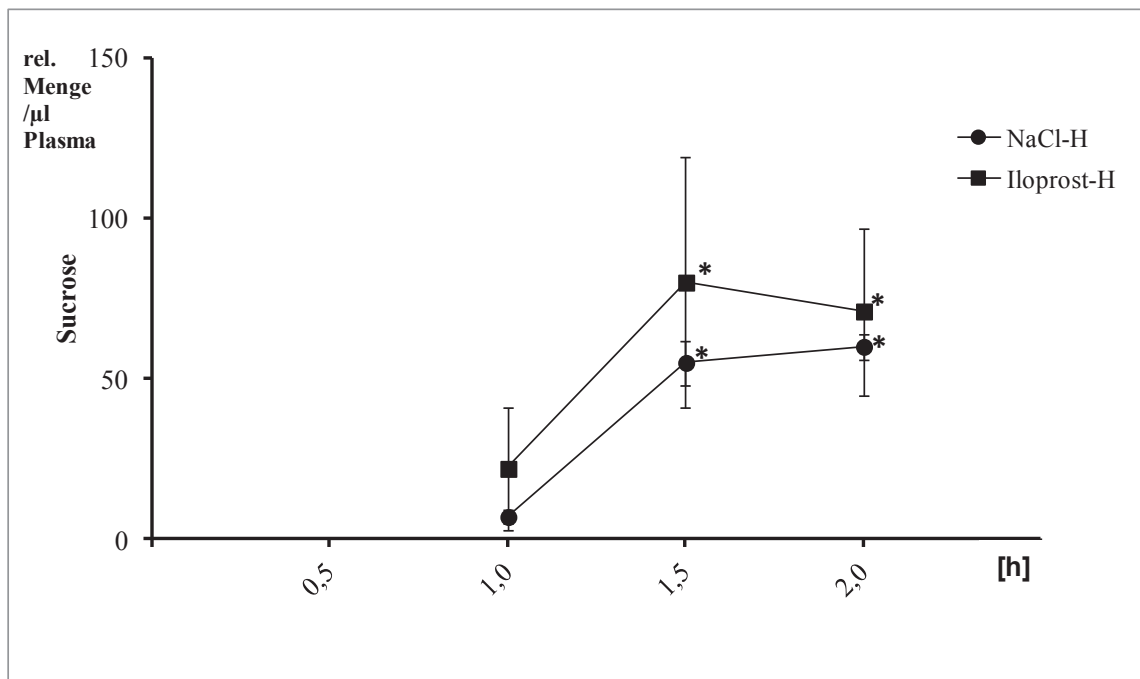


Abb. 7: Sucrose Plasmaspiegel: Sucrose Plasmaspiegel im Zeitverlauf unter Ausgangsbedingungen (1.0 h) und unter hämorrhagischen Bedingungen (1,5+2 h) nach Applikation der Kontrollsubstanz (NaCl-H) oder Applikation von Iloprost (Iloprost-H). Die Daten sind angegeben als Mittelwert \pm Standardfehler, $n = 5$, * = $p < 0.05$ vs. Ausgangswert (1,0h), 2-way ANOVA für wiederholte Messungen + Dunnett für multiple Vergleiche ($p < 0.05$).

Weitere Ergebnisse können Tabelle 1 und Tabelle 2 entnommen werden.

4. Diskussion

4.1 Zusammenfassung

Die Studie zeigt, dass die lokale Applikation von Iloprost an der gastralen Mukosa die μHbO_2 unter hämorrhagischen Bedingungen verbessert. Die lokale Applikation von Iloprost hat dabei keinen Einfluss auf systemische Kreislaufparameter. Eine Verbesserung der Barrierefunktion konnte trotz gesteigerter μHbO_2 nicht beobachtet werden.

4.2 Methodenkritik

Sämtliche Ausgangswerte zeigen zwischen den Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede, lediglich der MAD wich in einer Gruppe um 4 mmHg von den anderen ab, so dass zusammenfassend von einer guten Vergleichbarkeit der Gruppen ausgegangen werden kann. Der Unterschied im MAD war zwar signifikant, scheint aber mit 4 mmHg klinisch nicht relevant, insbesondere da es keinen Unterschied im HZV, DO_2 oder SVR gab. Die stabilen Baselinewerte deuten darauf hin, dass ein Großteil der Störfaktoren durch die standardisierten Ausgangsbedingungen (vgl. Kap. 2.2) eliminiert werden konnten. Die Unterschiede in den Messwerten sind demzufolge auf die Interventionen zurückzuführen. Dabei stehen viele Verfahren zur Messung der regionalen Sauerstoffsättigung von Schleimhäuten zur Verfügung [43]. Um möglichst genaue Werte zu erhalten, sollte die Messung unter nahezu physiologischen Bedingungen stattfinden. Einige Verfahren benötigen jedoch eine Laparotomie oder die Mobilisierung von Organteilen, so dass eine Abbildung des physiologischen Zustandes nicht möglich ist [43-46]. Alleine der chirurgische Eingriff und die Manipulation am Darm führen zu stressbedingter Minderperfusion, welche durch die auftretenden Schmerzen verstärkt und selbst durch eine adäquate Analgesie nicht verhindert werden kann. In dieser Studie wurde daher das Verfahren der Gewebe - Fotospektrometrie in Kombination mit einer atraumatischen Instrumentierung mittels Magensonde gewählt. Es erlaubte eine Messung ohne Laparotomie oder invasive Manipulation des Gastrointestinaltrakts und ist bereits in vielen Studien am Gastrointestinaltrakt erfolgreich eingesetzt worden [8, 47, 48]. Durch die 12 stündige Nahrungskarenz vor den Versuchen konnten Störungen der Messung durch Nahrungsreste ausgeschlossen

werden. Die korrekte Lage der Sonde im Magen konnte durch die kontinuierliche Darstellung des Signals auf dem Monitor kontrolliert werden. Dabei erfasst das genutzte Verfahren ausschließlich Gefäße der Mikrozirkulation, da größere Gefäße mit einem Durchmesser von über 100 μm das eingestrahelte Licht vollständig absorbieren [49]. Darüber hinaus stellt es größtenteils den postkapillären Bereich der Mikrozirkulation dar, da sich ca. 85 % des Blutvolumens der Mikrozirkulation in den venösen Gefäßen der Mikrozirkulation befinden [43]. Da in dieser Studie nur punktuelle Messungen an der Magen- und Mundschleimhaut durchgeführt wurden, lassen sich zunächst keine Aussagen über räumliche Unterschiede machen. Das gewählte Verfahren ist jedoch geeignet, die Messung unter annähernd physiologischen Bedingungen durchzuführen und erlaubt es, Rückschlüsse über einen Einfluss von Iloprost auf die Mikrozirkulation zu ziehen. Als Versuchstier wurde der Hund für diese Studie gewählt. Im Unterschied zum Kleintier ist die Hämodynamik und die Verdauungssituation des Hundes eher mit der des Menschen vergleichbar. Die Physiologie, Histologie und die Durchblutung des Gastrointestinaltrakts des Hundes ähneln sehr der des Menschen [50, 51]. Darüber hinaus erlaubt ein Großtier eine einfachere Installation der Messtechnik. Beim Hund existiert zusätzlich eine vorteilhafte Technik, die eine vereinfachte Messung der Hämodynamik zulässt [33]. Auch werden regelmäßige Blutentnahmen über die lange Versuchsdauer nur von größeren Tieren toleriert. Gegenüber anderen Großtieren wie z.B. dem Schwein bietet der Hund den Vorteil, dass wiederholte Messungen besser toleriert werden. So lassen sich Hunde leicht an die Versuchsgegebenheiten gewöhnen, wodurch der Stress vor und nach einem Versuch für das Tier minimiert wird. Einflüsse auf den Organismus können so minimiert werden, was zu genaueren Ergebnissen führt. Eine Übertragung der Messergebnisse auf den Menschen ist trotzdem nur mit Einschränkungen möglich.

4.3 Ergebnisdiskussion und klinische Deutung

Hinsichtlich der eingangs gestellten Fragestellungen lassen sich folgende Hauptaussagen aus den Ergebnissen ableiten:

1. Die topische Applikation von Iloprost führte unter hämorrhagischen Bedingungen zu einer verbesserten Oxygenierung der Magenschleimhaut ohne Einfluss auf die Perfusion. Unter physiologischen Bedingungen konnte kein Einfluss auf die Mikrozirkulation beobachtet werden.
2. Unter hämorrhagischen Bedingungen hatte die topische Applikation von Iloprost keinen Einfluss auf die Barrierefunktion.
3. Die topische Therapie mit Iloprost zeigte keinen relevanten Einfluss auf systemische hämodynamische Parameter.

Ziel dieser Studie war es, den Einfluss von topisch angewendetem Iloprost auf die μHbO_2 und den μflow der oralen und gastralen Mukosa sowie auf die Barrierefunktion unter physiologischen und milden hämorrhagischen Bedingungen zu untersuchen. Unter physiologischen Bedingungen führte Iloprost sowohl gastral als auch oral zu keiner Veränderung der mikrozirkulatorischen Parameter. Unter hämorrhagischen Bedingungen führte Iloprost gastral zu einer signifikant gesteigerten μHbO_2 , ohne einen Einfluss auf den μflow auszuüben. Oral konnte dieser Effekt nicht nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurden die systemischen Kreislaufparameter durch Iloprost nicht beeinflusst. Die erhöhten Sucrospiegel der Gruppe NaCl-H und Iloprost-H deuten auf eine reduzierte Barrierefunktion der gastralen Mukosa während des hämorrhagischen Schocks hin. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Iloprost den Einfluss des milden hämorrhagischen Schocks auf die gastrale μHbO_2 reduziert, ohne dabei systemische Kreislaufparameter zu beeinflussen, jedoch auch ohne die Barrierefunktion zu verbessern. Der Grund für die gesteigerte gastrale μHbO_2 könnte ein gesteigertes Sauerstoffangebot oder ein verminderter Sauerstoffverbrauch sein. Ein verminderter Sauerstoffverbrauch wiederum könnte auf einen verminderten Sauerstoffbedarf bzw. auf eine fehlende Möglichkeit der Sauerstoffextraktion schließen. Eine verminderte Sauerstoffextraktion würde sich durch einen erhöhten Laktat Spiegel im peripheren Blut nachweisen lassen. Sowohl die Laktatwerte als auch das DO_2 zeigten

keine Unterschiede zwischen der Gruppe Iloprost-H und der Kontrollgruppe NaCl-H. Über den genauen Mechanismus kann demnach nur spekuliert werden. Denkbar wäre jedoch, dass der Sauerstoffbedarf im Gewebe durch Iloprost vermindert wird. Okabe et al. zeigten, dass Iloprost in ischämischen Leberzellen zu einer verbesserten oxidativen Phosphorylierung, resultierend in einem verbesserten Phosphorylierungsquotient (P/O Quotient) führte [52]. Der P/O Quotient gibt dabei an wie viel mol ATP pro verbrauchtem mol Sauerstoff gebildet werden können. Es konnte beobachtet werden, dass die ATP Produktion in den Zellen leicht erhöht war. Iloprost scheint demnach, die Effizienz der mitochondrialen Atmungskette zu verbessern, was zu einem reduzierten Sauerstoffbedarf pro phosphoryliertem ATP Molekül führt. Dies würde die erhöhte postkapilläre Oxygenierung erklären. Unklar bleibt jedoch warum nicht auch die Barrierefunktion verbessert wurde. Denkbar wäre eine direkte Schädigung der Tight Junctions und so auch der Barrierefunktion der gastralen Mukosa durch Iloprost. Dieser Effekt konnte beispielsweise schon für NO nachgewiesen werden [53], ist jedoch bisher nicht für Iloprost untersucht worden. Die protektiven Effekte auf die Barrierefunktion durch die gesteigerte μHbO_2 werden somit möglicherweise durch direkte negative Effekte wieder aufgehoben. Interessanterweise führte topisch appliziertes Iloprost als potenter Vasodilatator sowohl oral als auch gastral zu keiner Verbesserung der Perfusion während des milden Schocks. Lehmann, C., et al. konnten jedoch zeigen, dass systemisch angewendetes Iloprost zu einer Verbesserung des μflow im terminalen Ileum von Ratten führte [54]. Eine weitere Studie von Kiefer et al. zeigte, dass die systemische Applikation von Iloprost die Perfusion im Splanchnikusgebiet von Patienten im septischen Schock verbesserte [55]. Eine mögliche Erklärung ist, dass durch den milden Schock das sympathische Nervensystem aktiviert wird, was zu einer starken Vasokonstriktion der der Mikrozirkulation vorgeschalteten Arteriolen führt. Folglich wird der vasodilatative Effekt von topisch angewendetem Iloprost an den Kapillaren und den Venolen abgeschwächt, während systemisch appliziertes Iloprost seine Wirkung an den Arteriolen entfalten kann. Die von der Perfusion unabhängig verbesserte Oxygenierung zeigt, dass keine Rückschlüsse von der Qualität der Perfusion auf die Qualität der Oxygenierung gezogen werden dürfen. Anders als an der gastralen Mukosa führte die topische Applikation von Iloprost an der oralen Mukosa zu keiner Verbesserung der Mikrozirkulation. Die unterschiedlichen Abschnitte des Gastrointestinaltrakts müssen daher differenziert betrachtet werden und lassen nicht auf

die Mikrozirkulation des restlichen Gastrointestinaltrakts schließen. Auch Vollmer et al. konnten zeigen, dass die orale Mikrozirkulation keine Rückschlüsse auf die gastrale zulässt, folglich lokal gemessen werden muss und somit auch nicht die Darmbarriere reflektiert [6].

Zusammenfassend lassen sich so ebenfalls die Ergebnisse einer neu veröffentlichten internationalen Studie erklären [56]. Untersucht wurde der sublinguale mikrovaskuläre Flow-Index bei 501 kritisch erkrankten Patienten. Die Studie zeigte eine Prävalenz von 17% für einen abnormalen mikrovaskulären Flow-Index, ohne eine erhöhte Mortalität festzustellen. Im Gegensatz zur HF, dem MAD, dem Laktat Level und der Nutzung von Vasopressoren war ein abnormaler oraler Flow-Index kein unabhängiger Risikofaktor für die Mortalität im Krankenhaus. Auch wenn weitere größere Studien fehlen, so scheint die Messung der oralen Perfusion nicht auszureichen, um eine Aussage über die tatsächliche Oxygenierung bzw. den Metabolismus des restlichen Splanchnikusgebietes zu treffen [57]. In Zukunft sollte daher zur Beurteilung der Mikrozirkulation eines Gewebes sowohl die Perfusion als auch die Oxygenierung erfasst werden und zwar direkt am Zielorgan.

Wie bereits erwähnt hatte die topische Applikation von Iloprost keinen Einfluss auf systemische Kreislaufparameter. Das DO_2 und das HZV blieben im Vergleich mit der Kontrollgruppe unbeeinflusst. Die Effekte von Iloprost auf die Mikrozirkulation sind demnach lokal und nicht systemisch vermittelt. Die topische Anwendung eines potenten Vasodilatators könnte jedoch auch zu systemischen Nebenwirkungen wie beispielsweise einem eingeschränkten SVR und MAD führen. Die Anwendbarkeit insbesondere bei kritisch erkrankten Patienten würde dadurch deutlich eingeschränkt. Beide Parameter blieben jedoch von Iloprost unbeeinflusst, weshalb anzunehmen ist, dass Iloprost im klinischen Setting auch in höheren Dosen lokal angewendet werden kann. Überraschenderweise stieg der MAD in der Gruppe Iloprost über den Versuch an. Dieser Effekt ist möglicherweise, durch einen Einfluss von Prostazyklin auf die arteriellen Barorezeptoren zu erklären. Prostazyklin verändert die Sensitivität der Barorezeptoren und kann so zu einem Anstieg des MAP führen [58].

Die in dieser Studie dargestellten Ergebnisse sind von besonderem klinischem Interesse, da eine verbesserte Mikrozirkulation während einer kritischen Erkrankung mit einem verbesserten Überleben einhergeht. Wie einleitend beschrieben wird Iloprost klinisch bereits erfolgreich bei pulmonaler Hypertonie inhalativ eingesetzt. Es fehlen jedoch

weitere klinische und tierexperimentelle Daten wie sich Iloprost und andere Vasodilatoren auf die Mikrozirkulation des Gastrointestinaltrakts auswirken. Hersch, M., et al. untersuchten den Einfluss von topisch angewendetem Nitroprussid Natrium auf die Mukosa des Ileums bei Ratten [46]. Die Ergebnisse zeigten eine verbesserte Perfusion ohne Einflüsse auf den systemischen Kreislauf. Die Messungen wurden jedoch unter traumatischen Bedingungen (Freilegung des Ileums) durchgeführt und es wurde ausschließlich die Perfusion der Mikrozirkulation erfasst. Demzufolge lässt sich die klinische Relevanz und die Übertragbarkeit auf den Menschen nur schwer einschätzen. Auch wenn weitere, insbesondere klinische Daten fehlen, so ist es Grundsätzlich vorstellbar, das Konzept der topischen Therapie in den klinischen Alltag zu integrieren und folglich auf den Menschen zu übertragen. Denkbar wäre beispielsweise die Applikation des Vasodilators zusammen mit der enteralen Ernährung. Diese wird bereits als Standardtherapie auf Intensivstationen eingesetzt und senkt das Risiko einer Infektion sowie die Mortalität bei kritisch erkrankten Patienten [59]. Eine verbesserte Mikrozirkulation ohne das Risiko von systemischen Nebenwirkungen könnte die Mortalität der Patienten möglicherweise weiter senken und so zum Therapieerfolg beitragen [2]. Die topische Therapie mit Iloprost würde so an bestehende Therapieverfahren anknüpfen und diese ergänzen, ohne dabei neue Hilfsmittel zu erfordern. Studien zeigen, dass der Einsatz der topischen Therapie mit Iloprost am Gastrointestinaltrakt auch in weiteren klinischen Bereichen von Interesse sein könnte. So ist bereits bekannt, dass eine adäquate Perfusion und Oxygenierung den Heilungsprozess von Anastomosen im Darm beschleunigt [60-63]. Der Einsatz von vasoaktiven Substanzen zur Versorgung von Anastomosen konnte bereits im Tiermodell bestätigt werden. Desweiteren könnte Iloprost auch in der Nachbehandlung von resezierten kolorektalen Karzinomen in Kombination mit dem Chemotherapeutikum 5-Fluoruracil und Leucovorin verabreicht werden. Vasiliadis, K., et al. konnten zeigen, dass die zusätzliche Gabe von Iloprost den Heilungsprozess unterstützt, der normalerweise durch das potente Chemotherapeutikum 5-Fluoruracil eingeschränkt ist [64]. Trotz der vielen möglichen und vielversprechenden Einsatzmöglichkeiten, ist jedoch zu beachten, dass das genutzte Hundemodell in der Übertragbarkeit auf den multimorbiden, kritisch kranken Patienten eingeschränkt bleibt. So wurden die Versuche an gesunden Tieren durchgeführt und lediglich ein milder hämorrhagischer Schock induziert. Hier könnte die weitere Forschung an einem septischen Rattenmodell

weitere aufschlussreiche Erkenntnisse hervorbringen. Das Rattenmodell spiegelt zwar auf grund der invasiven Messmethoden nicht den physiologischen Zustand wieder, jedoch kann die kritische Situation besser simuliert werden. Desweiteren wurde in den Versuchen lediglich ein kleiner Teil der Mukosa mit Iloprost benetzt. Fraglich ist ob die systemischen Nebenwirkungen auch bei einer Benetzung der gesamten Mukosa des Gastrointestinaltrakts vermieden werden können. Diese Fragen müssen in weitergehenden Studien untersucht werden.

4.4 Schlussfolgerung

Die topische Therapie mit Iloprost am Gastrointestinaltrakt hat keinen Einfluss auf die Mikrozirkulation unter physiologischen Bedingungen. Im Gegensatz dazu kommt es unter hämorrhagischen Bedingungen zu einer gesteigerten Oxygenierung an der gastralen Mukosa ohne einen Einfluss auf die Perfusion. Der Effekt ist möglicherweise über eine Modifikation der Atmungskette vermittelt, führt jedoch zu keiner Verbesserung der Barrierefunktion. Systemische Nebenwirkungen konnten nicht beobachtet werden. Die topische Therapie erlaubt es somit, die Mikrozirkulation am Gastrointestinaltrakt zu beeinflussen, ohne dabei systemische Nebenwirkungen auszulösen.

5. Literaturverzeichnis

1. Magnotti, L.J. and E.A. Deitch, *Burns, bacterial translocation, gut barrier function, and failure*. J Burn Care Rehabil, 2005. **26**(5): p. 383-91.
2. Trzeciak, S., et al., *Early increases in microcirculatory perfusion during protocol-directed resuscitation are associated with reduced multi-organ failure at 24 h in patients with sepsis*. Intensive Care Med, 2008. **34**(12): p. 2210-7.
3. Russell, D.H., et al., *Hemorrhagic shock increases gut macromolecular permeability in the rat*. Shock, 1995. **4**(1): p. 50-5.
4. Folkow, B., *Regional adjustments of intestinal blood flow*. Gastroenterology, 1967. **52**(2): p. 423-32.
5. Ceppa, E.P., K.C. Fuh, and G.B. Bulkley, *Mesenteric hemodynamic response to circulatory shock*. Curr Opin Crit Care, 2003. **9**(2): p. 127-32.
6. Vollmer, C., European Journal of Anaesthesiology, June 2014(Volume 31 Supplement 52): p. 66–67.
7. Ince, C. and M. Sinaasappel, *Microcirculatory oxygenation and shunting in sepsis and shock*. Crit Care Med, 1999. **27**(7): p. 1369-77.
8. Schwartges, I., et al., *Hypercapnic acidosis preserves gastric mucosal microvascular oxygen saturation in a canine model of hemorrhage*. Shock, 2010. **34**(6): p. 636-42.
9. Tachon, G., et al., *Microcirculatory Alterations in Traumatic Hemorrhagic Shock*. Crit Care Med, 2014.
10. Deitch, E.A., et al., *The role of lymph factors in lung injury, bone marrow suppression, and endothelial cell dysfunction in a primate model of trauma-hemorrhagic shock*. Shock, 2004. **22**(3): p. 221-8.
11. Deitch, E.A., *The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure*. Arch Surg, 1990. **125**(3): p. 403-4.
12. Deitch, E.A., *Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man*. Arch Surg, 1989. **124**(6): p. 699-701.
13. Swank, G.M. and E.A. Deitch, *Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes*. World J Surg, 1996. **20**(4): p. 411-7.
14. Chieveley-Williams, S. and C. Hamilton-Davies, *The role of the gut in major surgical postoperative morbidity*. Int Anesthesiol Clin, 1999. **37**(2): p. 81-110.
15. Carrico, C.J., et al., *Multiple-organ-failure syndrome*. Arch Surg, 1986. **121**(2): p. 196-208.
16. Vellinga, N.A., C. Ince, and E.C. Boerma, *Microvascular dysfunction in the surgical patient*. Curr Opin Crit Care, 2010. **16**(4): p. 377-83.
17. Sakr, Y., et al., *Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock*. Crit Care Med, 2004. **32**(9): p. 1825-31.
18. Trzeciak, S., et al., *Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival*. Ann Emerg Med, 2007. **49**(1): p. 88-98, 98 e1-2.
19. Matheson, P.J., M.A. Wilson, and R.N. Garrison, *Regulation of intestinal blood flow*. J Surg Res, 2000. **93**(1): p. 182-96.

20. Edouard, A.R., et al., *Heterogeneous regional vascular responses to simulated transient hypovolemia in man*. Intensive Care Med, 1994. **20**(6): p. 414-20.
21. Hernandez, G., et al., *Effects of dobutamine on systemic, regional and microcirculatory perfusion parameters in septic shock: a randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study*. Intensive Care Med, 2013. **39**(8): p. 1435-43.
22. Vollmer, C., et al., *Hypothermia improves oral and gastric mucosal microvascular oxygenation during hemorrhagic shock in dogs*. Oxid Med Cell Longev, 2013. **2013**: p. 589606.
23. Ewert, R., et al., *Inhaled iloprost for therapy in pulmonary arterial hypertension*. Expert Rev Respir Med, 2011. **5**(2): p. 145-52.
24. Takeuchi, K., *Gastric cytoprotection by prostaglandin E(2) and prostacyclin: relationship to EP1 and IP receptors*. J Physiol Pharmacol, 2014. **65**(1): p. 3-14.
25. Brzozowski, T., et al., *Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation*. J Physiol Pharmacol, 2005. **56 Suppl 5**: p. 33-55.
26. Galanopoulos, G., et al., *The effects of iloprost on colonic anastomotic healing in rats*. Tech Coloproctol, 2011. **15 Suppl 1**: p. S117-20.
27. Galanopoulos, G., et al., *The effects of iloprost on colonic anastomotic healing in rats under obstructive ileus conditions*. J Surg Res, 2014. **189**(1): p. 22-31.
28. Vasiliadis, K., et al., *Influence of the stable prostacyclin analog iloprost on the healing of colonic anastomosis in rats*. Minerva Chir, 2007. **62**(4): p. 241-8.
29. Cihan, A.O., et al., *Effects of intraperitoneal nitroglycerin on the strength and healing attitude of anastomosis of rat intestines with ischemia-reperfusion injury*. Afr J Paediatr Surg, 2011. **8**(2): p. 206-10.
30. Buwalda, M. and C. Ince, *Opening the microcirculation: can vasodilators be useful in sepsis?* Intensive Care Med, 2002. **28**(9): p. 1208-17.
31. Naber, S.M., *Einfluss von Vasopressin auf die Hyperkapnie-vermittelte Steigerung der Magenschleimhautoxygenation - Eine Studie an anästhesierten Hunden*. 2014. p. 9 - 19, urn:nbn:de:hbz:061-20140603-111426-0, (26.09.2017)
32. Hammel, H.T., C.H. Wyndham, and J.D. Hardy, *Heat production and heat loss in the dog at 8-36 degrees C environmental temperature*. Am J Physiol, 1958. **194**(1): p. 99-108.
33. Leersum, V., *Eine Methode zur Erleichterung der Blutdruckmessung bei Tieren*. Pfluegers Arch, 1911. **142**: p. 377-395.
34. von Engelhardt, W. and G. Breves, *Physiologie der Haustiere*. Thieme: Stuttgart, 2009: p. 244-245.
35. Schwartges, I., et al., *Hypercapnia induces a concentration-dependent increase in gastric mucosal oxygenation in dogs*. Intensive Care Med, 2008. **34**(10): p. 1898-906.
36. Kazama, T. and K. Ikeda, *Comparison of MAC and the rate of rise of alveolar concentration of sevoflurane with halothane and isoflurane in the dog*. Anesthesiology, 1988. **68**(3): p. 435-7.
37. Frank, K.H., et al., *The Erlangen micro-lightguide spectrophotometer EMPHO I*. Phys Med Biol, 1989. **34**(12): p. 1883-900.
38. Krug, A., *Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes, Methode des so genannten O2C (oxygentosee)*. Phlebologie, 2007. **36**: p. 300-12.
39. Hoff, D.A., H. Gregersen, and J.G. Hatlebakk, *Mucosal blood flow measurements using laser Doppler perfusion monitoring*. World J Gastroenterol, 2009. **15**(2): p. 198-203.

40. Meddings, J.B., et al., *Sucrose: a novel permeability marker for gastroduodenal disease*. *Gastroenterology*, 1993. **104**(6): p. 1619-26.
41. Sutherland, L.R., et al., *A simple, non-invasive marker of gastric damage: sucrose permeability*. *Lancet*, 1994. **343**(8904): p. 998-1000.
42. de Goeij, M.C., et al., *Multiple imputation: dealing with missing data*. *Nephrol Dial Transplant*, 2013. **28**(10): p. 2415-20.
43. Siegemund, M., J. van Bommel, and C. Ince, *Assessment of regional tissue oxygenation*. *Intensive Care Med*, 1999. **25**(10): p. 1044-60.
44. Hasibeder, W., et al., *Vasomotion induces regular major oscillations in jejunal mucosal tissue oxygenation*. *Am J Physiol*, 1994. **266**(6 Pt 1): p. G978-86.
45. Sielenkamper, A.W., K. Eicker, and H. Van Aken, *Thoracic epidural anesthesia increases mucosal perfusion in ileum of rats*. *Anesthesiology*, 2000. **93**(3): p. 844-51.
46. Hersch, M., et al., *Selective gut microcirculatory control (SGMC) in septic rats: a novel approach with a locally applied vasoactive drug*. *Shock*, 1998. **10**(4): p. 292-7.
47. Scheeren, T.W., et al., *Dopexamine but not dopamine increases gastric mucosal oxygenation during mechanical ventilation in dogs*. *Crit Care Med*, 2002. **30**(4): p. 881-7.
48. Schwarte, L.A., et al., *The effects of levosimendan and glibenclamide on circulatory and metabolic variables in a canine model of acute hypoxia*. *Intensive Care Med*, 2011. **37**(4): p. 701-10.
49. Gandjbakhche, A.H., et al., *Visible-light photon migration through myocardium in vivo*. *Am J Physiol*, 1999. **277**(2 Pt 2): p. H698-704.
50. Haglund, U., et al., *Mucosal lesions in the human small intestine in shock*. *Gut*, 1975. **16**(12): p. 979-84.
51. Dressman, J.B., *Comparison of canine and human gastrointestinal physiology*. *Pharm Res*, 1986. **3**(3): p. 123-31.
52. Okabe, K., P.S. Malchesky, and Y. Nose, *Protective effect of prostaglandin I₂ on hepatic mitochondrial function of the preserved rat liver*. *Tohoku J Exp Med*, 1986. **150**(4): p. 373-9.
53. Salzman, A.L., et al., *Nitric oxide dilates tight junctions and depletes ATP in cultured Caco-2BBE intestinal epithelial monolayers*. *Am J Physiol*, 1995. **268**(2 Pt 1): p. G361-73.
54. Lehmann, C., et al., *Effects of iloprost, a stable prostacyclin analog, on intestinal leukocyte adherence and microvascular blood flow in rat experimental endotoxemia*. *Crit Care Med*, 2001. **29**(7): p. 1412-6.
55. Kiefer, P., et al., *Hepato-splanchnic metabolic effects of the stable prostacyclin analogue iloprost in patients with septic shock*. *Intensive Care Med*, 2001. **27**(7): p. 1179-86.
56. Vellinga, N.A., et al., *International study on microcirculatory shock occurrence in acutely ill patients*. *Crit Care Med*, 2015. **43**(1): p. 48-56.
57. Favory, R. and D. Mathieu, *Microcirculation in the ICU: a small step for monitoring, a giant leap for tissue viability*. *Crit Care Med*, 2015. **43**(1): p. 233-4.
58. Snitsarev, V., et al., *Neuronal prostacyclin is an autocrine regulator of arterial baroreceptor activity*. *Hypertension*, 2005. **46**(3): p. 540-6.
59. Gerlach, A.T. and C. Murphy, *An update on nutrition support in the critically ill*. *J Pharm Pract*, 2011. **24**(1): p. 70-7.

60. Sheridan, W.G., R.H. Lowndes, and H.L. Young, *Tissue oxygen tension as a predictor of colonic anastomotic healing*. Dis Colon Rectum, 1987. **30**(11): p. 867-71.
61. Attard, J.A., et al., *The effects of systemic hypoxia on colon anastomotic healing: an animal model*. Dis Colon Rectum, 2005. **48**(7): p. 1460-70.
62. Fujiwara, H., T. Kuga, and K. Esato, *High submucosal blood flow and low anastomotic tension prevent anastomotic leakage in rabbits*. Surg Today, 1997. **27**(10): p. 924-9.
63. Pham, T.H., et al., *Decreased conduit perfusion measured by spectroscopy is associated with anastomotic complications*. Ann Thorac Surg, 2011. **91**(2): p. 380-5.
64. Vasiliadis, K., et al., *Effect of iloprost on impaired anastomotic healing caused by 5-fluorouracil plus leucovorin*. Dis Colon Rectum, 2007. **50**(6): p. 899-907.