Aus der Klinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. B. H. Pannen

# Einfluss einer lokalen Kohlenstoffdioxidapplikation auf die gastrale und orale Mikrozirkulation im hämorrhagischen Schock

# **Dissertation**

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

> vorgelegt von Stefan Hof 2021

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker Erstgutachter: Prof. Dr. med. Olaf Picker, MBA Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Christian Jung

# Zusammenfassung

**Einleitung:** Eine akute Hämorrhagie kommt sowohl perioperativ als auch im traumatologischen Kontext vor und geht mit einer hohen Letalität einher. Dabei ist die Aufrechterhaltung der gastrointestinalen Mikrozirkulation notwendig, um eine intakte Barrierefunktion gegenüber pathogenen Darmbakterien zu gewährleisten und die Etablierung letaler Sekundärerkrankungen zu verhindern. Unter diesen Kreislaufbedingungen ist eine systemische Hyperkapnie in der Lage, die mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung ( $\mu$ HbO<sub>2</sub>) zu verbessern. Dies resultiert allerdings in einem erhöhten Gehalt an CO<sub>2</sub> im Blut was wiederum zu systemischen Nebenwirkungen führt. Mit dem Ziel dies zu vermindern, untersuchten wir den Einfluss einer lokalen Hyperkapnie auf die orale und gastrale Mikrozirkulation, Oxygenierung und Barrierefunktion in einem hämorrhagischen Schockmodell.

Methoden: Nach Genehmigung durch die zuständige Behörde, durchliefen sechs weibliche Foxhounds in randomisierter Reihenfolge vier Versuchsprotokolle. Nach Narkoseeinleitung erfolgte die lokale Applikation von CO2 oder N2 an der oralen und gastralen Schleimhaut. Außerdem wurde ein hämorrhagischer Schock durch Entzug von 20% des geschätzten Blutvolumens induziert und das entnommene Blut nach einstündigem Schock retransfundiert. In Kontrollversuchen wurden die Narkose sowie die Gasapplikation für gleiche Zeitintervalle ohne Hämorrhagie fortgeführt. Die orale und gastrale Mikrozirkulation wurde mittels Reflexspektrophotoskopie und Laser-Doppler evaluiert und die mikrovaskuläre Flusscharakteristik intermittierend durch kapilläre Videomikroskopie (incident dark field imaging) visualisiert. Parallel erfolgte die Aufzeichnung systemischer Kreislaufparameter. Die statistische Auswertung erfolgte mittels 2-Wege ANOVA und eines Bonferroni post-hoc Tests. Die Ergebnisse werden als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler aufgeführt mit p<0,05.

**Ergebnisse:** Während die gastrale  $\mu$ HbO<sub>2</sub> im hämorrhagischen Schock von 76 ± 3% auf 38 ± 4% verringert wurde, zeigte sich unter lokaler Hyperkapnie ein signifikant verringerter Abfall von 78 ± 4% auf 51 ± 8%. An der oralen Schleimhaut fiel die  $\mu$ HbO<sub>2</sub> im Schock von 81 ± 1% auf 36 ± 4%. Der Abfall wurde durch CO<sub>2</sub> von 84 ± 25% auf 54 ± 4% abgemildert. Es zeigte sich hierunter keine signifikante Veränderung des mikrovaskulären Blutflusses ( $\mu$ flow) oder des mikrovaskulären Sauerstoffangebots. Videomikroskopisch zeigte sich jedoch unter lokaler Hyperkapnie eine signifikant verbesserte Flussqualität der oralen Mukosa im Schock. Systemische Kreislaufparameter und arterielle Blutgasparameter wurden nicht durch die Kohlenstoffdioxidapplikation beeinflusst. Unter physiologischen Bedingungen hatte CO<sub>2</sub> keinen Einfluss auf die untersuchten Parameter.

**Diskussion und Schlussfolgerung:** Nicht nur eine systemische, sondern auch die lokale Hyperkapnie führt zu einem verminderten Abfall der  $\mu$ HbO<sub>2</sub> im hämorrhagischen Schock. Da  $\mu$ HbO<sub>2</sub> einen indirekten Parameter der zellulären Sauerstoffreserve darstellt, ist von einer verbesserten Zellfunktion durch Kohlenstoffdioxid im hämorrhagischen Schock auszugehen. Diese ist weder auf eine Veränderung systemischer Kreislaufparameter noch auf eine Veränderung des  $\mu$ flow oder des mikrovaskulären Sauerstoffangebots zurückzuführen. Ursächlich ist stattdessen eine Verbesserung der mikrovaskulären Flusscharakteristik durch lokale Kohlenstoffdioxidapplikation. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass eine lokale Hyperkapnie nicht zu Veränderungen systemischer Kreislaufparameter führt und somit sicher anzuwenden ist.

# Abstract

**Background:** Acute hemorrhage exists in a perioperative and traumatological context and is related to a high mortality. The maintenance of intestinal microcirculation is necessary to preserve an intact barrier function against intestinal bacteria to avoid secondary, life threatening diseases. Systemic hypercapnia improves the microvascular oxygen saturation ( $\mu$ HbO<sub>2</sub>) under physiological and hemorrhagic conditions. In parallel, an increase in systemic carbon dioxid (CO<sub>2</sub>) levels causes systemic side effects, too. Therefore we analysed the impact of microcirculatory alterations on microvascular oxygenation and the intestinal barrier function caused by the local application of CO<sub>2</sub>.

**Methods:** In accordance to the german guidelines for animal care six female foxhounds were anaesthetized, randomized into four different groups and tested repetitively. The dogs received either a local  $CO_2$ - or  $N_2$ -administration to their oral and gastral mucosa. Hemorrhagic shock was induced through a total blood withdrawal of 20% of estimated blood volume followed by retransfusion after one hour of ongoing shock. In controls no shock was induced. Oral and gastral microcirculation was measured by reflectance spectrophotometry and laser doppler flowmetry. Besides, oral microcirculation was visualized through incident dark field imaging. Systemic hemodynamic parameters were recorded continuously. Statistics were performed using a two-way-ANOVA. Post-hoc analysis was conducted by Bonferroni testing.

**Results:** The gastral  $\mu$ HbO<sub>2</sub> decreased from 76 ± 3% to 38 ± 4% in hemorrhagic shock. A local hypercapnia ameliorated the decrease of  $\mu$ HbO<sub>2</sub> from 78 ± 4% to 51 ± 8%. Similarly the oral  $\mu$ HbO<sub>2</sub> decreased from 81 ± 1% to 36 ± 4% and was preserved by local hypercapnia. Microvascular flow ( $\mu$ flow) and microvascular oxygen delivery were not alterated by local CO<sub>2</sub>-application. In parallel, the oral microvascular flow quality, represented by microvascular flow index, was significantly improved by local hypercapnia. CO<sub>2</sub> had no effect on systemic hemodynamic parameters in our hemorrhagic shock model.

**Discussion:** Besides protective effects of systemic  $CO_2$  on intestinal oxygenation, a local hypercapnia enhances microvascular oxygen saturation in a hemorrhagic shock model in dogs.  $\mu$ HbO<sub>2</sub> represents the cellular oxygen reserve, so we assume an improved intestinal cell function through CO<sub>2</sub>-application. Those beneficial effects are neither caused by an amelioration of systemic hemodynamics nor by an increase in microvascular oxygen delivery or microvascular flow. Therefore we hypothesize microcirculatory alterations to be responsible for the enhancement of  $\mu$ HbO<sub>2</sub> in hemorrhagic shock.

We could show that local CO<sub>2</sub> application had no effect on macrocirculatory parameters. Thus, the therapeutic application of CO<sub>2</sub> is safe without systemic side effects as mentioned before. Of note, the protective effect of CO<sub>2</sub> depends on the surrounding circulatory conditions especially the predominant blood flow profile. CO<sub>2</sub> was not able to improve  $\mu$ HbO<sub>2</sub> under physiological conditions.

# Abkürzungsverzeichnis

# Einheiten

| aU   | arbitrary units         | mm              | Millimeter                  |
|------|-------------------------|-----------------|-----------------------------|
| g    | Gramm                   | mm <sup>2</sup> | Quadratmillimeter           |
| ĥ    | Stunde                  | mmHg            | Millimeter Quecksilbersäule |
| I.E. | international Einheiten | mmol            | Millimol                    |
| K    | Kelvin                  | ms              | Millisekunden               |
| kg   | Kilogramm               | μl              | Mikroliter                  |
| kgKG | Kilogramm Körpergewicht | μΜ              | Mikromolar                  |
| l    | Liter                   | Pa              | Pascal                      |
| mA   | Milliampere             | sec             | Sekunden                    |
| mg   | Milligramm              | Vol%            | Volumenprozent              |
| min  | Minuten                 | °C              | Celsius                     |
| ml   | Milliliter              |                 |                             |
|      |                         |                 |                             |

# Sonstige Abkürzungen

| AMV               | Atemminutenvolumen                     | IDF                            | incident dark field                               |
|-------------------|--|--------------------------------|---|
| ARDS              | acute respiratory distress<br>syndrome | K                              | Temperaturkonstante                               |
| ATLS              | Advanced Trauma Life<br>Support        | MAP                            | Mittlerer arterieller Blutdruck                   |
| BE                | Basenexzess                            | MFI                            | microvascular flow index                          |
| CaO <sub>2</sub>  | Blutsauerstoffgehalt gesamt            | µflow                          | mikrovaskulärer Fluss                             |
| CO <sub>2</sub>   | Kohlenstoffdioxid                      | $\mu DO_2$                     | mikrovaskuläres                                   |
|                   |  |                                | Sauerstoffangebot                                 |
| DIC               | Disseminierte intravasale              | μHbO²                          | mikrovaskuläre                                    |
|                   | Koagulopathie                          |                                | Sauerstoffsättigung                               |
| $DO_2$            | systemisches                           | μvelocity                      | mikrovaskulärer                                   |
|                   | Sauerstoffangebot                      |                                | Flussgeschwindigkeit                              |
| dPmax             | Blutdruckanstiegs-                     | μVO <sub>2</sub>               | mikrovaskulärer                                   |
|                   | geschwindigkeit der                    |                                | Sauerstoffverbrauch                               |
| FUG               | Pulskonturanalyse                      | N117                           | NT 1 .  |
| EKG               | Elektrokardiographie                   | NK                             | Normokapnie                                       |
| etCO <sub>2</sub> | endtidal gemessenes                    | NV                             | Normovolämie                                      |
| <b>G G M G</b>    | Kohlenstoffdioxid                      | <b>N</b> .T                    |   |
| GC-MS             | Gaschromatographie mit                 | $N_2$                          | molekularer Stickstoff                            |
| TIL.              | Massenspectrometry Analyse             | 0                              | malalaran Stielasta ff                            |
| HD<br>HCO -       | Hamoglobin                             | $O_2$                          | molekularer Suckstoll                             |
| HCO <sub>3</sub>  | Bikarbonat                             | p <sub>a</sub> CO <sub>2</sub> | arterieller<br>Kahlangta ffdi avida artial davala |
| ПСІ               | Uatara conitätain dav                  | DAMD.                          | Kontenstollatoxidpartialdruck                     |
| HGI               | Heterogenitatsindex                    | PAMPS                          | pathogen associated molecular                     |
|                   | Hyporkonnio                            | D                              | Atomwoodruck                                      |
|                   | Hyperkapine                            |                                | Ateniwegsuluck                                    |
| HK                |  | PCD                            | perfused capillary density                        |
| HV                | Hypovolamie                            | pCO <sub>2</sub>               | Konienstoffdioxidpartialdruck                     |
| HZV               | Herzzeitvolumen                        | pO <sub>2</sub>                | Sauerstoffpartialdruck                            |
| H <sub>3</sub> O' | Hydroniumionen                         | PPV                            | proportion of perfused vessel                     |

| PVD               | perfused vessel density                | TPR                      | Total peripherer Wiederstand   |
|-------------------|--|--------------------------|--|
| R                 | Wiederstand                            | TVD                      | total vessel density   |
| rHb               | relativer Hämoglobingehalt             | <b>V</b> <sub>NaCl</sub> | Injektatvolumen  |
| $S_aO_2$          | arterielle Sauerstoffsättigung         | z.B.                     | zum Beispiel   |
| SOFA              | Sequential Organ Failure<br>Assessment | ZETT                     | Zentrale Einrichtung für<br>Tierforschung und<br>wissenschaftliche<br>Tierschutzaufgaben |
| Suc               | Sucrose                                | ZVD                      | zentralvenöser Druck   |
| SV                | Schlagvolumen                          |                          |  |
| SVR               | Systemisch vaskulärer<br>Wiederstand   |                          |  |
| $S_vO_2$          | zentralvenöse<br>Sauerstoffsättigung   |                          |  |
| Т                 | Temperatur                             |                          |  |
| T <sub>B</sub>    | aortal gemessene Temperatur            |                          |  |
| T <sub>NaCl</sub> | Injektattemperatur                     |                          |  |
| TOF               | train of four, Relaxometrie            |                          |  |

# Inhaltsverzeichnis

| 1<br>2<br>3<br>5<br>7<br>7<br>7<br>7  |
|---------------------------------------|
| 2<br>                                 |
| 3<br>                                 |
| 5<br>7<br>7<br>7                      |
| 7<br>7<br>7                           |
| 7<br>7                                |
| 7                                     |
|                                       |
| 8                                     |
|                                       |
|                                       |
| 8                                     |
|                                       |
| 9                                     |
| 10                                    |
| 10                                    |
| 11                                    |
| 13                                    |
| 15                                    |
| 16                                    |
| 16                                    |
| 19                                    |
| 19                                    |
| 19                                    |
| 19                                    |
| 19                                    |
| 20                                    |
| 20                                    |
| 20                                    |
| 20                                    |
| 20                                    |
| 22                                    |
| 22                                    |
| 22                                    |
| · · · · · · · · · · · · · · · · · · · |

|   | 3.1.2    | Mikrovaskulärer Fluss (µflow)  |    |
|---|----------|--|----|
|   | 3.1.3    | Relativer Hämoglobingehalt (rHb)   |    |
|   | 3.1.4    | Quantitative Perfusionsmessung   |    |
|   | 3.1.5    | Qualitative Perfusionsmessung  |    |
|   | 3.2 Eir  | fluss einer lokalen Hyperkapnie auf systemische Messparameter            |    |
|   | 3.2.1    | Hämodynamik  |    |
|   | 3.2.2    | Arterielle Blutgase  |    |
|   | 3.2.3    | Systemisches Sauerstoffangebot   |    |
|   | 3.3 Ind  | lirekte Parameter des Zellmetabolismus                                   |    |
|   | 3.3.1    | Mikrozirkulatorisches Sauerstoffangebot                                  |    |
|   | 3.3.2    | Mikrozirkulatorischer Sauerstoffverbrauch                                |    |
|   | 3.4 Su   | crosekonzentration im Serum als Marker für Barrierestörungen             |    |
| 4 | Diskuss  | sion   |    |
|   | 4.1 Me   | thodenkritik   | 39 |
|   | 4.1.1    | Messung der Mikrozirkulation   | 40 |
|   | 4.1.2    | Cytocam-IDF  | 40 |
|   | 4.1.3    | Sucrosemessung   |    |
|   | 4.1.4    | Interventionen   |    |
|   | 4.2 Erg  | gebnisdiskussion   |    |
|   | 4.2.1    | Balance aus arteriellem Zu- und venösem Abfluss                          |    |
|   | 4.2.2    | Sauerstoffliberalisation im Zielgebewebe und Diffusionsstrecke zur Zelle | 45 |
|   | 4.2.3    | Veränderung des Zellmetabolismus   | 45 |
|   | 4.2.4    | Orale und Gastrale µHbO <sub>2</sub> im Vergleich                        | 49 |
|   | 4.2.5    | Systemisches CO <sub>2</sub>   | 50 |
|   | 4.3 Scl  | nlussfolgerung   | 51 |
|   | 4.4 Au   | sblick   | 52 |
| 5 | Literatu | ırverzeichnis  | 53 |

# Abbildungsverzeichnis

| Abb. 1: O2C Sonden   | 11 |
|--|----|
| Abb. 2: Exemplarische Darstellung der oralen Mikrozirkulation mittels IDF            | 14 |
| Abb. 3: Versuchsgruppen im zeitlichen Verlauf  |    |
| Abb. 4: Gastrale mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung (µHbO2)                          | 22 |
| Abb. 5: Orale mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung (µHbO <sub>2</sub> )                | 23 |
| Abb. 6: Microvascular flow index (MFI) der oralen Schleimhaut                        | 26 |
| Abb. 7: Heterogenitätsindex (HGI) der oralen Schleimhaut                             | 27 |
| Abb. 8: Herzzeitvolumen (HZV)  | 29 |
| Abb. 9: Mittlerer arterieller Druck (MAP)  |    |
| Abb. 10: Herzzeitvolumen bezogen auf Ausgangswert (ΔHZV)                             | 31 |
| Abb. 11: Arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck (p <sub>a</sub> CO <sub>2</sub> ) |    |
| Abb. 12: Systemisches Sauerstoffangebot (DO <sub>2</sub> )                           |    |
| Abb. 13:Systemisches Sauerstoffangebot bezogen auf Ausgangswert (ΔDO <sub>2</sub> )  |    |
|  |    |

# Tabellenverzeichnis

| Tabelle 1: Weißlichtspektroskopie und Laserdoppler der gastralen und oralen |    |
|---|----|
| Schleimhaut   | 24 |
| Tabelle 2: Quantitative und Qualitative Flussmessung                        |    |
| Tabelle 3: Systemische Kreislaufparameter der Pulskonturanalyse             | 32 |
| Tabelle 4: Arterielle Blutgasanalyse  | 34 |
| Tabelle 5: Mikrovaskuläres Sauerstoffangebot (µDO2) und mikrovaskulärer     |    |
| Sauerstoffverbrauch (µVO <sub>2</sub> )                                     |    |
| Tabelle 6: Plasmatische Sucrosekonzentration                                |    |

# **1** Einleitung

# 1.1 Definition und Pathophysiologie des Schocks

In einem Schock kommt es zur akuten, kritischen Minderperfusion vitaler Organe. Das Missverhältnis aus Sauerstoffangebot und –bedarf führt zu einer Gewebehypoxie mit anaerober Zellstoffwechselaktivität und der Akkumulation toxischer Zellmetabolite. Ursächlich für die Persistenz der defizitären Stoffwechsellage sind schwere Störungen der Mikrozirkulation.

Als Mikrozirkulation bezeichnet man die funktionelle Einheit aus präkapillären Arteriolen, Kapillaren und postkapillären Venolen mit einem Gefäßdurchmesser von unter 100 µm. Sie stellt das histologisch-strukturelle Korrelat des Stoffaustauschs und die kleinste mikrovaskuläre Versorgungseinheit<sup>1</sup> dar. Eine intakte Organfunktion ist grundlegend von der Integrität der Mikrozirkulation abhängig<sup>2</sup>. Diese jedoch wird im Rahmen der physiologischen Kompensationsmechanismen im anhaltenden Schock zunehmend kompromittiert. Ein Schock, ungeachtet der zu Grunde liegenden Ätiologie, führt zu einer neuroendokrinen Aktivierung des adrenergen Systems. Hierdurch werden endogene Katecholamine aus dem Nebennierenmark in die systemische Zirkulation freigesetzt. Außerdem wird die sympathikotone Organinnervation gesteigert<sup>3</sup>. Es resultiert eine Steigerung des Herzzeitvolumens (HZV) sowie des Atemminutenvolumens (AMV) zur Optimierung der systemischen Sauerstoffversorgung.

Gleichzeitig kommt es in den Gefäßen des Gastrointestinaltraktes und der Skelettmuskulatur zu einer  $\alpha_1$ -rezeptorvermittelten, peripheren Vasokonstriktion und somit zu einer Steigerung des Totalen Peripheren Widerstandes (SVR)<sup>4</sup>. Davon ausgenommen sind zerebrale und kardiale Gefäße, welche einer  $\beta_2$ -Adrenozeptor vermittelten Vasodilatation unterliegen. Hierdurch kommt es zu einer Steigerung des resultierenden Perfusionsdrucks und zu einer Umverteilung des effektiv zirkulierenden Blutvolumens auf die essentiellen Kreislauforgane und das zentrale Nervensystem. Dieser Kompensationsmechanismus im Rahmen kritischer Perfusionsverhältnisse wird auch als Zentralisierung bezeichnet<sup>5,6</sup>. Auch wenn diese Reaktion kurzfristig systemische Kreislaufparameter und die Perfusion von Herz und Zentralem Nervensystem aufrechterhalten kann, geht sie mit Veränderungen der Mikrozirkulation einher und resultiert in einer funktionellen Einschränkung der übrigen Organsysteme.

Veränderungen der Mikrozirkulation lassen sich bereits vor einer Einschränkung der Makrozirkulation nachweisen<sup>6,7,8</sup> und persistieren auch nach adäquater Volumentherapie länger als hämodynamische Parameter vermuten lassen<sup>9</sup>. Gerade anhaltende Veränderungen der Mikrozirkulation sind jedoch mit einem schlechten *outcome* kritisch kranker Patienten assoziiert<sup>10</sup>. So konnte den Uil et al. zeigen, dass eine Reduktion der sublingualen, perfundierten Kapillardichte (PCD) septischer Patienten einen Prädiktor für die Verschlechterung des

*sequential organ failure score* (SOFA-Score) innerhalb der folgenden 24 Stunden darstellt. Ein erhöhter SOFA-Score korreliert dabei mit einer erhöhten Morbidität<sup>11</sup>. Patienten mit einer PCD größer als der beobachtete Median hingegen erholten sich innerhalb 24 Stunden öfters vom Organversagen als Patienten mit einer geringeren PCD (52% vs. 29%). Außerdem wurde eine Reduktion der 30-Tage-Mortalität in Patienten mit höherer PCD beobachtet<sup>12</sup>. Auch Trzeciak et al. berichtet über eine Verbesserung des SOFA-Scores nach 24 Stunden, wenn initial in zwei aufeinander folgenden Messungen ein Anstieg des *microvascular flow index* (MFI) zu verzeichnen war<sup>13</sup>. In einer prospektiven Observationsstudie konnte insbesondere eine frühe Erholung mikrozirkulatorischer Messgrößen mit einer reduzierten Mortalität in Verbindung gebracht werden<sup>14</sup>. De Baker et al. beschrieben die *proportion of perfused vessels* (PPV) mitunter als stärksten unabhängigen Prädiktor der mikrozirkulatorischen Perfusionsmessung für das *outcome* septischer Patienten<sup>15</sup>.

Unterschreitet die Nährstoff- und Sauerstoffversorgung peripherer Gewebe im Rahmen der mikrozirkulatorischen Veränderungen eine kritische Grenze, etabliert sich eine vermehrt anaerobe Stoffwechsellage der Zellen. Der Anfall toxischer Metabolite wie Laktat, Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>), Hydroniumionen (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) und Adenosin führt zu einer metabolischen Azidose<sup>16</sup> und induziert eine präkapilläre Vasodilatation. Die konstringierten Venen werden unterdessen nur wenig von der lokalen Autoregulation beeinflusst, sodass der hydrostatische Druck innerhalb der Mikrozirkulation steigt und einen transendothelialen Flüssigkeitsverlust mit intestitiellem Ödem begünstigt<sup>3</sup>. Hypoxie und proinflammatorische Entzündungsmediatoren führen darüber hinaus zu einer endothelialen Dysfunktion und verstärken den transepthelialen Volumenverlust<sup>5</sup>. Mit Zunahme der intravasalen Hypovolämie kommt es nun auch zu einer Dekompensation systemische Kreislaufparameter. Es erfolgt der Eintritt in einen Circulus vitiosus aus sich einander bedingender mikro- und makrozirkulatorischer Fehlfunktion, die so genannte "Schockspirale"<sup>17</sup>. Darüber hinaus kommt es durch den partiell stagnierenden Fluss inmitten der Mikrozirkulation zu einer ungerichteten, ubiquitären Gerinnungsaktivierung, welche auch als disseminierte intravasale Gerinnung oder Verbrauchskoagulopathie (DIC) bezeichnet wird<sup>5</sup>. Disseminierte Thromben können die mikrovaskuläre Sauerstoffversorgung zusätzlich einschränken und durch den Verbrauch von Gerinnungsfaktoren zu einer generalisiert erhöhten Blutungsneigung führen.

# 1.2 Der Gastrointestinaltrakt als "Motor der Sepsis"

Das Risiko polytraumatisierter Patienten, bereits prähospital oder innerhalb der ersten 24 Stunden im hämorrhagischen Schock zu versterben, begründet sich auf fulminanten Blutungen und Koagulopathien<sup>18</sup>. Diese werden meist durch die Hämorrhagie selbst, eine exzessive Volumentherapie und konsekutive Hämodilution, eine Hypothermie oder eine Azidose

verursacht<sup>19,20,21</sup>. Lange Zeit war jedoch unklar, weshalb ein Großteil der Patienten nach Überleben des initialen Traumas durch die Folgen eines Multiorganversagens oder einer Sepsis verstarben, obwohl eine adäquate Therapie durchgeführt wurde und eine Rückführung systemischer Kreislaufparameter auf physiologische Werte geglückt war<sup>22</sup>. Selbst im Rahmen pathologischer Untersuchungen konnte bei Patienten ohne klinischen Infektionsfokus nicht immer eine Ursache gefunden werden<sup>23</sup>. Zugrunde liegt vermutlich eine Translokation von Bakterien aus dem Darmlumen in die systemische Zirkulation, wodurch eine Sepsis entstehen kann. Diese bakterielle Translokation vitaler Darmbakterien wurde bereits 1979 durch die Autoren Berg und Garlington beschrieben<sup>24</sup>. Die Steigerung der Translokationsrate über einen physiologischen Wert von ca. 5-10% hinaus ist bereits bei vielen Krankheitsentitäten beschrieben worden<sup>25</sup>. Eine Beteiligung der transepithelialen Passage von Darmpathogenen, derer Produkte und avitaler Protein- und Zuckerverbindungen - sogenannter pathogenassociated molecular patterns (PAMPs) - scheint somit wesentlich an der Aufrechterhaltung und Verschlechterung kritischer Krankheitszustände beteiligt zu sein. Die gastrointestinale Mukosa stellt eine Grenzfläche mit relevanter Größe zwischen der systemischen Zirkulation und der commensalen Bakterienflora dar und zählt somit zu den wichtigsten Invasionspforten des Organismus für bakterielle Erreger. Begünstigt wird die bakterielle Translokation durch eine Kompromittierung der enteralen, mikrovaskulären Sauerstoffsättigung (µHbO<sub>2</sub>) im frühen Schockverlauf<sup>7,6</sup>. Es kommt zu einer Einschränkung der physiologischen Zellfunktion, sodass Enterozyten neben der Resorption von Nahrungsbestandteilen nicht mehr in der Lage sind, ihre Barrierefunktion auszuüben<sup>26</sup>. Zusätzlich geht die Entwicklung eines septischen Krankheitsverlaufs wiederum mit charakteristischen Alterationen der Mikrozirkulation einher<sup>27</sup>, welche mit einem verschlechterten outcome der Patienten assoziiert sind<sup>15,10</sup>. Darüber hinaus kann das mitunter mit der Sepsis einhergehende Auftreten eines acute respiratory disstress syndrom (ARDS) die pulmonale Oxygenierung und das intestinale Sauerstoffangebot zusätzlich einschränken<sup>25</sup>. Eine Dekompensation der mechanischen<sup>28,29</sup> und immunologischen Barrierefunktion<sup>30,31</sup> des Magens verstärkt sich somit selbst. Daher wird der Gastrointestninaltrakt auch als "Motor der Sepsis" bezeichnet<sup>32,33,34,35</sup>.

## **1.3** Kohlenstoffdioxid als therapeutischer Ansatz

Auf den dargelegten Zusammenhängen begründet sich das Bestreben, neue Therapieoptionen zu entwickeln, welche die enterale Mikrozirkulation verbessern und den *Circulus vitiosus* aus Hämorrhagie, Barrierefunktionsstörung und Sepsis durchbrechen. Kohlenstoffdioxid stellt hierbei ein vielversprechendes Molekül dar, welches an der physiologischen Regulation der Mikrozirkulation des Gehirns<sup>36</sup> aber auch des Verdauungstraktes<sup>26</sup> beteiligt ist. Kommt es im Gewebe zu einer Akkumulation von CO<sub>2</sub>, weist dies auf ein Missverhältnis von Perfusion und

metabolischer Zellleistung hin<sup>37</sup>. Wie in den frühen Stadien der Hämorrhagie (s.o.) resultiert eine präkapilläre Vasodilatation. Dieser Effekt könnte auch therapeutisch genutzt werden. Neben Kohlenstoffdioxid sind allerdings auch weitere Metabolite des anaeroben Stoffwechsels, perivaskuläre Nerven<sup>38</sup> und die direkte Zellinteraktion<sup>39</sup> der Endothelzellen an der mikrovaskulären Autoregulation beteiligt. Neben der Vermutung, dass Kohlenstoffdioxid die lokale Mikrozirkulation durch eine Modulation der Autoregulation beeinflusst, gibt es auch Hinweise, dass CO<sub>2</sub> die unmittelbare zelluläre Stoffwechselbilanz verbessert<sup>40</sup>. Am Herzen führt eine milde Hyperkapnie durch die Zunahme von Vorlast, Herzfrequenz und kardialer Kontraktilität sowie einer Senkung der Nachlast<sup>41</sup> zu einer Steigerung des Herzzeitvolumens<sup>42</sup>. In experimentellen Studien konnte hierdurch eine Gewebeoxygenierung nachgewiesen werden, welche der Oxygenierung unter inotroper Therapie mit Dobutamin überlegen war<sup>43</sup>. In der Lunge führt Kohlenstoffdioxid durch eine Vasokonstriktion der pulmonalen Arteriolen<sup>44</sup> und eine Bronchodilatation<sup>45</sup> zu einer Verschiebung des Ventilations-Perfusionsverhältnisses<sup>46</sup> mit einem verbesserten Gasaustausch. Außerdem steigt die *compliance* des Lungengewebes<sup>47</sup>.

In Vorgängerstudien konnten wir bereits zeigen, dass eine systemische Hyperkapnie durch moderate Hypoventilation die gastrale Oxygenierung verbessert<sup>48</sup>. Dieser Zusammenhang war konzentrationsabhängig und trat sowohl bei einer kontinuierlichen Steigerung des endtidalen Kohlenstoffdioxidgehalts (etCO<sub>2</sub>) als auch bei akuter Hyperkapnie mit 120-minütigem Plateau auf. Außerdem wurde der Effekt einer systemischen Hyperkapnie auf die gastrale Sauerstoffsättigung im hämorrhagischen Schock untersucht<sup>49</sup>. Sowohl die prophylaktische als auch eine interventionelle Hyperkapnie verbesserte die gastrale Sauerstoffsättigung. Auch an der Schleimhaut des Kolons konnte in einem septischen Rattenmodell die Verbesserung der mikrovaskulären Oxygenierung durch Hyperkapnie gezeigt werden<sup>50</sup>. An Hasen konnte außerdem eine CO<sub>2</sub>-vermittelte Reduktion der endotoxinvermittelten Barrieredysfunktion nachgewiesen werden, welche unabhängig von der zellulären Immunantwort war<sup>51</sup>.

Je nach Komorbidität kann eine Erhöhung des systemischen Kohlenstoffdioxidpartialdrucks jedoch mit teils beträchtlichen Nebenwirkungen assoziiert sein. So führt CO<sub>2</sub> an zerebralen Gefäßen zu einer Vasodilatation<sup>52</sup> und über eine Steigerung des intrakraniellen Blutflusses zu einer Erhöhung des Hirndrucks<sup>53,36</sup>. Insbesondere bei Patienten mit Schädelhirntrauma kann dies zu einer Hernierung von Hirngewebe und zu einer Insuffizienz des Atem- und Kreislaufzentrums der *medulla oblongata* führen<sup>54</sup>. Außerdem kann es durch die Imbalance des Säure- und Basehaushaltes zu einer Reduktion der kardialen Kontraktilität<sup>46</sup> und einer veränderten Tertiärstruktur von Enzymen und Strukturproteinen kommen. Dies führt zu einer Veränderten, ggf. sogar zu einer fehlerhaften Funktion von Proteinen<sup>16</sup>. Vor dem klinischen Kontext sind insbesondere Proteine der Gerinnungskaskade von besonderer Bedeutung. Eine

Azidose zählt zusammen mit der Hypothermie zu den Hauptursachen für eine insuffiziente Blutgerinnung trotz adäquater Volumen- und Blutproduktsubstitution<sup>19</sup>. Dies könnte den klinischen Einsatz von CO<sub>2</sub> im hämorrhagischen Schock limitieren. Darüber hinaus supprimiert Kohlenstoffdioxid durch ein verändertes Migrations- und Phagozytosemuster sowohl die angeborene als auch die erworbene Immunantwort<sup>55,56,57</sup>. Zellkulturversuche lassen sogar ein moderat gesteigertes Wachstum bestimmter Bakterienspezies - insbesondere E. Coli - durch eine moderate Hyperkapnie und die vergesellschaftete Azidose vermuten<sup>58,59</sup>. Da eine Hyperkapnie somit den Übergang in einen septischen Krankheitsverlauf begünstigen könnte, wäre die Steigerung des systemischen CO<sub>2</sub>-Aufkommens unter entsprechenden Umständen fatal.

Zur Vermeidung systemischer Nebenwirkungen ist in vielen Organen die Anwendung regionaler Therapiekonzepte etabliert. So ist zum Beispiel die inhalative Medikamentenapplikation fester Bestandteil der Therapie des allergischen Asthmas<sup>60</sup> oder der pulmonal arteriellen Hypertonie<sup>61</sup>. Derzeit ist jedoch ungeklärt, ob eine regionale Hyperkapnie positive Effekte auf die Mikrozirkulation ohne systemische Nebenwirkungen ausübt und ob dieser Effekt vergleichbar mit einer systemischen Hyperkapnie ist. In unseren Vorgängerstudien wurde vermutet, dass die Verbesserung der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung im Rahmen einer systemischen Hyperkapnie auf ein erhöhtes Herzzeitvolumen mit Verbesserung des systemischen Sauerstoffangebots (DO2) zurückzuführen sei<sup>48,49</sup>. In diesem Fall würde sich kein protektiver Effekt der lokalen Kohlenstoffdioxidapplikation einstellen.

#### **1.4 Ziele der Arbeit**

Zusammenfassend spiegeln systemische Kreislaufparameter nur unzureichend eine intakte Mikrozirkulation wider. Diese ist jedoch für die Organfunktion und das *outcome* kritisch kranker Patienten entscheidend, sodass eine Therapie stets die Rekonstitution der Mikrozirkulation beabsichtigen sollte. Es konnte gezeigt werden, dass hierdurch auch das Risiko für ein Multiorganversagen signifikant reduziert wird.

Eine systemische Hyperkapnie ist in der Lage, die mikrovaskuläre Oxygenierung des Gastrointestinaltraktes sowohl unter physiologischen als auch unter pathologischen Kreislaufbedingungen zu verbessern, geht jedoch mit möglicherweise unerwünschten Nebenwirkungen einher. Unklar ist jedoch, ob auch durch die lokale Kohlenstoffdioxidapplikation eine Modulation der Mikrozirkulation erreicht werden kann und ob diese systemische Nebenwirkungen aufweist.

Es ergeben sich somit folgende Fragen, die in dieser Studie beantwortet werden sollen:

- Welchen Einfluss hat eine lokale Hyperkapnie unter physiologischen Kreislaufbedingungen auf die Oxygenierung und Perfusion des Gastrointetinaltraktes?
- Welchen Effekt hat eine lokale CO<sub>2</sub>-Applikation auf die Mikrozirkulation von Mund und Magen im h\u00e4morrhagischen Schock?
- (iii) Kommt es durch eine lokale Hyperkapnie zu einer Beeinflussung der systemischen Hämodynamik oder der systemischen Blutgase?

# 2 Material und Methoden

Für die gesamte Versuchsreihe lag eine Genehmigung durch das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz (AZ 84-02.04.2012.A152) sowie eine Bescheinigung über den Fachkundenachweis gemäß §9 des geltenden Tierschutzgesetzes aller beteiligter Experimentatoren vor.

### 2.1 Versuchstiere

Die Versuche wurden an sechs weiblichen Foxhounds mit einem Körpergewicht zwischen 28 und 36 kg durchgeführt, welche in der Zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben (ZETT) der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf untergebracht waren. Nach einer Ruhephase von mindestens drei Wochen zur Vermeidung einer Interferenz einzelner Versuche<sup>62</sup>, wurden die Hunde nach mindestens 12-stündiger Nahrungskarenz bei erhaltenem Wasserzugang morgens in die Laborräumlichkeiten bis die freiwillige und komplikationslose Nahrungsaufnahme (Rinti 800g, Finner GmbH &. Co. KG, Verden) unter physiologischen Vitalfunktionen beobachtet werden konnte. Nach Kontrolle der Punktionsstellen erfolgte eine Übergabe der Versuchstiere an das Personal des ZETT.

#### 2.1.1 Voroperation der zuführenden Hirngefäße

Eine einmalige operative Einbettung der Carotiden in subcutane Hautschlingen<sup>63</sup> vor Aufnahme eines Hundes in die Versuchsreihe erleichterte die arterielle Punktion für die Installation des PiCCO<sup>R</sup>-Katheters. So konnte der Blutdruck kontinuierlich bestimmt und die HZV-Bestimmung mittels transpulmonaler Thermodilution durchgeführt werden. Außerdem erfolgten wiederholte Abnahmen arterieller Blutgasanalysen und Serumproben über den arteriellen Katheter. Eine Externalisierung der A. Carotis ermöglichte darüber hinaus eine effektive Kompression der Punktionsstelle im Anschluss an den Versuch und gewährleistete so eine adäquate Hämostase und Abheilung der Wunde. Der Eingriff wurde unter sterilen Bedingungen und in Allgemeinanästhesie durchgeführt. Postinterventionell erfolgte eine adäquate Schmerztherapie. In einer mindestens sechswöchigen Rekonvaleszenzzeit zur Abheilung der Operationswunden wurden die Hunde an die Experimentatoren und die Laborräumlichkeiten gewöhnt. Für die aktuelle Versuchsreihe waren bereits ausreichend Hunde aus vorherigen Versuchsreihen vorhanden (n=6), sodass lediglich eine Übernahme des aktuellen Bestandes, nach Zustimmung durch den Tieschutzbeauftragten, in die Versuchsreihe erfolgte.

# 2.2 Messung

#### 2.2.1 Datenregistrierung

Während des Versuchs wurden die Parameter der Beatmung ( $P_{aw}$ , etCO<sub>2</sub>, FiO<sub>2</sub> und etSevo) sowie des Kreislaufs (EKG und Blutdruck) kontinuierlich auf einem externen Computer (Windows<sup>R</sup> XP, Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) aufgezeichnet und in Echtzeit visualisiert. Die Signale des Atemwegdrucks ( $P_{aw}$ ), des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) und des Elektrokardiogramms (EKG) wurden hierzu über einen Universalverstärker (11-G4145-01, Gould Inc., Cleveland, OH, USA) angehoben und mit einer Abtastrate von 400Hz von analog zu digital umgewandelt (PowerLab/800<sup>R</sup>, ADInstruments, Pty Ltd., Castle Hill, Australia). Außerdem erfolgte eine kontinuierliche Kapnometrie (Capnomac Ultima, Datex Division of Instrumentarium Corp., Helsinki, Finnland). Die Auswertung erfolgte nach Beendigung des Versuchs über eine entsprechende Software (Chart Version 5.5.6., Analysemodus).

#### 2.2.2 Herzfrequenz (HR)

Die Herzfrequenz wurde über ein Standard-Oberflächen-EKG mit drei Nadelelektroden R-Zacken-getriggert bestimmt (Chart Version 5.5.6., Analysemodus). Für die Dauer des Versuchs erfolgte die simultane Visualisierung über einen externen Monitor zur Rhythmuskontrolle.

### 2.2.3 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)

Der mittlere arterielle Druck wurde durch Integration der aufgezeichneten Blutdruckkurve über die Zeit bestimmt. Der hierfür verwendete Druckaufnehmer (P23 ID Gould Statham<sup>R</sup>, Elk Grove, IL, USA) wurde vor jedem Versuchstag mittels Quecksilbermanometer (HSE Druckeichgerät Typ 367, Hugo Sachs Elektronik, March) über zwei Kalibrierungspunkte geeicht, an den Thermodilutionskatheter angeschlossen und auf Herzhöhe des Hundes ausgerichtet. Als anatomische Orientierung für die Ausrichtung des Druckaufnehmers diente der proc. spinosus des siebten Halswirbels.

#### 2.2.4 Herzzeitvolumen (HZV)

Das Herzzeitvolumen wurde intermittierend über die transpulmonale Thermodilution<sup>64,65</sup> (Pulsion Medical Systems SE, Feldkirchen: 5F Thermodilutionskatheter, 20cm und Druckaufnehmer Set + Injektattemp. Sensorgehäuse PV4046) und anschließender Berechnung mittels Stewart-Hamilton-Methode<sup>66</sup> bestimmt. Die Darstellung und Datensicherung erfolgte mithilfe des Programms PiCCO VoLEF Data Acquisition for Win32, Version 4.0 (Pulsion Medical Systems AG). Die Messung erfolgte nach initial zwei aufeinanderfolgenden

Thermodilutionen zur Überprüfung der Reliabilität in einem halbstündigen Rhythmus konkordant zu den Mess- und Interventionspunkten des Versuchs.

Für die Messung wurden 10ml einer ca. 8°C kalten NaCl-Lösung als Bolus in eine peripher liegende Venenverweilkanüle (17G, Vasofix<sup>R</sup> Safety, B.Braun Melsungen AG, Melsungen bei Normovolämieversuchen, 16G, Vasofix<sup>R</sup> Safety, B.Braun Melsungen AG, Melsungen bei Hypovolämieversuchen) am Vorderlauf des Hundes injiziert und sowohl die Temperatur am Injektionsort als auch die Temperatur am aortal platzierten Thermodilutionskatheter registriert. Die Steilheit des Temperaturabfalls in der Aorta gegen die Zeit aufgetragen ist von der Flussgeschwindigkeit und dem durchflossenen Blutvolumen abhängig<sup>67</sup>. Aus der Temperaturdifferenz zwischen Injektat (T<sub>NaCl</sub>) und Aorta (T<sub>B</sub>), dem injizierten Volumen (V<sub>NaCl</sub>), der Injektatkonstante (K) und der Fläche unter der Thermodilutionskurve ( $\int \Delta T_B \cdot dt$ ) kann durch die nachfolgende Formel auf das Herzzeitvolumen geschlossen werden.

$$HZV = \frac{\left[ (T_B - T_{NaCl}) \cdot V_{NaCl} \cdot K \right]}{\int \Delta T_B \cdot dt}$$

## 2.3 Systemischer Gefäßwiderstand (SVR)

Der Systemische Vaskuläre Widerstand (SVR) entspricht dem Totalen Peripheren Widerstand (TPR). Der Widerstand (R) lässt sich den Grundsätzen der Strömungslehre entsprechend aus dem Druckabfall ( $\Delta P$ ) über einem definierten Gefäßabschnitt und dem durchströmenden Blutvolumen ( $\dot{V}$ ) berechnen<sup>68</sup>. Auf den SVR bezogen, entspricht  $\Delta P$  der Differenz aus dem mittleren arteriellen Blutdruck und dem zentralvenösen Druck (ZVD). Der Blutstrom  $\dot{V}$  entspricht dem Herzzeitvolumen. Der SVR lässt sich somit wie folgt berechnen:

$$R = \frac{\Delta P}{\dot{V}} \quad und \ somit \quad SVR = \frac{MAP - ZVD}{HZV}$$

Da die Messung des Zentralen Venendrucks mit einer weiteren, invasiven Instrumentierung verbunden wäre und der zentrale Venendruck im Verhältnis zum mittleren, arteriellen Blutdruck vernachlässigbar klein ist<sup>68</sup>, haben wir einen entsprechenden Berechnungsfehler in der Versuchsreihe zugunsten einer für das Versuchstier atraumatischen Instrumentierung akzeptiert. Unter Vernachlässigung des Zentralen Venendrucks (ZVD) und der Variabilität des arteriellen Mitteldrucks kann die Berechnung entsprechend vereinfacht werden:

$$SVR \approx \frac{MAP}{HZV}$$

#### 2.3.1 Temperatur

Da eine milde Hypothermie die orale, mikrozirkuläre Sauerstoffsättigung beeinflusst<sup>69,70</sup>, wurde die Raumtemperatur entsprechend der thermoneutralen Indifferenztemperatur für Hunde<sup>71</sup> über die Dauer des Versuchs auf konstant  $24 \pm 1$ °C eingestellt und sowohl kontinuierlich über den Thermosensor des Thermodilutionskatheters als auch intermittierend über arterielle Blutgasanalysen kontrolliert. Im Falle einer Abkühlung wurde die Körperkerntemperatur des Hundes mit Decken aufrecht gehalten.

#### 2.3.2 Blutgasanalyse (BGA)

Nach einer initial venösen Blutgasanalyse über die Hinterlaufbranüle wurde zu jedem Messpunkt eine Blutprobe aus dem Thermodilutionskatheter in eine heparinisierte 2ml-Spritze (PICO 50 Arterial Blood Sampler, Radiometer Medical APS, Denmark) abgenommen und eine arterielle Blutgasanalyse durchgeführt (ABL 715, Radiometer Medial ApS, Bronshoj, DK). Bestimmt wurden neben den Blutgasen (pO<sub>2</sub> und pCO<sub>2</sub>) Paramenter des Säure-Base-Status (pH,  $HCO_3^-$ , BE), Elektrolyte (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>) sowie Laktat, Glucose und der Hämoglobingehalt (Hb). In die Berechnung zur Bestimmung des arteriellen Sauerstoffgehalts (CaO<sub>2</sub>) flossen für den hämoglobingebundenen Sauerstoffanteil der Hämoglobingehalt, die Hüfnerzahl als maximales Sauerstoffvolumen, welches unter Normalbedingung (273,15 K und 101,325 Pa) von 1g Hämoglobin gebunden werden kann<sup>68</sup> und die arterielle Sauerstoffsättigung (SatO<sub>2</sub>) ein. Außerdem wurden der arterielle Sauerstoffpartialdruck (pO<sub>2</sub>) und der Bunsen-Löslichkeitskoeffizient für die physikalisch gelöste Sauerstoffraktion in die Rechnung mit einbezogen.

$$CaO_2 = \frac{Hb \cdot 1,34 \cdot SatO_2}{100 + pO_2 \cdot 0,0031}$$

Die arterielle Sauerstoffsättigung (SatO<sub>2</sub>) kann entsprechend der Hill-Formel in Abhängigkeit vom Sauerstoffpartialdruck (pO<sub>2</sub>), dem pH-Wert sowie der Temperatur (T) berechnet werden und wurde für Hunde modifiziert<sup>72</sup>.

$$SatO_{2}\left[\%\right] = 100 \cdot \frac{10^{(2,5198 \log pO_{2}+1,1804 \cdot (pH-7)-0,047234 \cdot T-2,3621)}}{1+10^{(2,5198 \log pO_{2}+1,1804 \cdot (pH-7)-0,047234 \cdot T-2,3621)}}$$

Aus Herzzeitvolumen und Sauerstoffgehalt des Blutes kann nun das systemische Sauerstoffangebot (DO<sub>2</sub>) bestimmt werden.

$$DO_2 = \frac{CaO_2}{100 \cdot HZV}$$

#### 2.3.3 Regionale Mikrozirkulationsmessung

Die Evaluation der Mikrozirkulation erfolgte mittels Laser-Doppler-Spektroskopie und Weißlichtspektrometrie (O2C oxygen to see, Typ LW 2222, Version 2, LEA Medizintechnik GmbH, Gießen). Eine Zweikanalmessung ermöglicht den direkten Vergleich von oraler und gastraler Mikrozirkulation. Hierfür wurde eine Flachsonde (LF-2, LEA Medizintechnik GmbH, Gießen) an der Innenseite der Leftze des Hundes platziert und eine Mikrosonde (LM-10, LEA Medizintechnik GmbH, Gießen) transösophageal in den Magenfundus vorgeschoben (s. Abb. 1). Die Platzierung erfolgte jeweils atraumatisch und ohne nennenswerten Anpressdruck um ein interstitielles Ödem und Kompressionsartefakte zu vermeiden. Im Magen kam die Messsonde nahe der großen Kurvatur zum Liegen<sup>73</sup>. Die kontinuierliche Darstellung des Messsignals auf einem integrierten Monitor sowie der Vergleich der oralen und gastralen Messkurve diente der Qualitätssicherung und der Verifizierung des Messsignals. Um eine räumliche Nähe von Messort und Gasapplikation zu gewährleisten, wurde das Gas über den benachbarten Schenkel der Magensonde sowie über eine eigens für die Versuchsreihe erstellte Haltevorrichtung zu der Mukosa geleitet.



Abb. 1: O2C-Sonden: Haltevorrichtungen für orale (rechts) und gastrale (links) Mikrozirkulationsmessung

Eine Tiefenselektion der Messung wird durch die sogenannte Separation erzielt, welche den horizontalen Abstand zwischen Beleuchtungs- und Detektionsstelle an der Gewebeoberfläche darstellt. Vergrößert sich diese Distanz, kommt es zu komplexeren Brechungs- und Reflexionsphänomenen mit einer tieferen Messtiefe<sup>74</sup>. Der mikrovaskuläre Blutfluss (µflow) und die Blutflussgeschwindigkeit (µvelocity) wurden nach dem Prinzip der Laser-Doppler-Spektroskopie registriert<sup>75</sup>. Hierfür wird ein Laserstrahl mit einer Wellenlänge von 820nm über

eine Gasfasersonde in das Gewebe geleitet. Licht der selben Wellenlänge trifft immer wieder auf zelluläre Grenzflächen und wird entweder gestreut, reflektiert oder passiert die Grenzfläche<sup>76</sup>. Während bei einer Reflektion an ortsständigen Zellen die Wellenlänge und somit die an der Oberfläche registrierte Frequenz des Lasers gleich bleibt, kommt es bei einer Streuung an sich bewegenden Zellen wie Erythrozyten über den Dopplereffekt zu einer Frequenzverschiebung, dem *Dopplershift*<sup>77</sup>. Dieser ist zum einen vom Beschallungswinkel und der Flussrichtung vor allem jedoch von der Geschwindigkeit (µvelocity) der Teilchen abhängig, sodass auch ein dreidimensionales Gefäßbett wie die terminale Endstrombahn mit dieser Methode erfasst werden kann<sup>75</sup>. Der mikrovaskuläre Fluss (µflow) wird unterdessen durch die Änderung der eingestrahlten Laserintensität berechnet<sup>78</sup>.

Die Weißlichtspektrometrie erlaubt die Bestimmung der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung ( $\mu$ HbO<sub>2</sub>) und des relativen Hämoglobins (rHb). Befinden sich in dem beleuchteten Gefäßabschnitt viele Hämoglobinmoleküle, wird Licht von deren Farbstoff absorbiert, sodass weniger Licht reflektiert und vom Sensor der Sonde detektiert werden kann. Der Hämoglobingehalt ist dementsprechend antiproportional zur detektierten Lichtintensität<sup>78</sup>. Hinzu kommt, dass Hämoglobin abhängig von der Sauerstoffsättigung unterschiedliche Anteile des weißen Lichts absorbiert<sup>79</sup>. Durch eine Analyse des reflektierten Weißlichts und den Vergleich mit bekannten Farbspektren, kann somit eine Aussage über den Sättigungsgrad der Hämoglobinmoleküle getroffen werden. Da es technisch schwierig ist, ideales Weißlicht mit je gleichen Anteilen aller Wellenlängen herzustellen, erfolgte vor Beginn der Untersuchung ein Weißlichtabgleich, um die prozentuale Verteilung der verschiedenen Wellenlängen vor Eintritt in das Gewebe zu bestimmen.

Trifft also die reflektierte Lichtintensität eine Aussage über die Anzahl der Hämoglobinmoleküle, kann über das veränderte Farbspektrum auf die prozentuale Sauerstoffsättigung des Hämoglobins geschlossen werden. Da Gefäße größer 100µm das gesamte Licht absorbieren<sup>80</sup>, werden nur nutritive Gefäße der Mikrozirkulation durch die O2C-Messung abgebildet. Außerdem befinden sich geschätzt 75% des Blutes in den postkapillären Venen, während in den Kapillaren und Arteriolen nur ca. je 12 % des Blutes zirkulieren<sup>81</sup>. Das O2C registriert somit vor allem venöse Messwerte. Dem Prinzip der letzten Wiese nach, zeigt der µHbO<sub>2</sub> eine Sauerstoffreserve an und eignet sich dadurch insbesondere für eine Hypoxiediagnostik<sup>82</sup>. Von einer kritischen Hypoxie mit irreversibler Gewebeschädigung und Zelltod ist erst ab einem µHbO<sub>2</sub>-Wert von unter 10% auszugehen<sup>83</sup>. Verminderte µHbO<sub>2</sub>-Werte korrelieren mit dem Grad der morphologischen Gewebeschädigung<sup>84</sup>. Das O2C stellt somit eine Arterielle Blutgasanalysen beschreiben lediglich die Fähigkeit der Lunge, das Blut mit Sauerstoff anzureichern. Nur die gemeinsame Betrachtung von  $p_aO_2$  und  $\mu$ HbO<sub>2</sub> ermöglicht ein tieferes Verständnis der zellulären Sauerstoffbilanz und die Bestimmung der gewebespezifischen Sauerstoffausschöpfung ( $\mu$ VO<sub>2</sub>). Ebenso kann über den  $\mu$ flow und den arteriellen Sauerstoffgehalt das mikrovaskuläre Sauerstoffangebot ( $\mu$ DO<sub>2</sub>) bestimmt werden.

#### 2.3.4 Incident dark field imaging (IDF)

Zusätzlich zur mikrovaskulären Flussbestimmung der O2C-Messung erfolgte eine Visualisierung der mikrovaskulären Gefäßarchitektur mittels incident dark field imaging (CytoCam<sup>R</sup>, Braedius Medical, Huizen, The Netherlands)<sup>85</sup> zur quantitativen und qualitativen Perfusionsanalyse. Sie basiert auf der erstmals von Sherman beschriebenen Methode der incident dark field illumination (IDF) microscopy<sup>86</sup>. Zwölf Hochleistungsdioden sind konzentrisch um ein Linsensystem angeordnet. Grünlicht mit einer Wellenlänge von 548nm wird mit einer Pulsrepetitionsfrequenz von 4ms in das Gewebe gesendet<sup>87</sup> und mehrfach an zellulären Grenzstrukturen gebrochen. An der Gewebeoberfläche erfolgt die Registrierung des reflektierten Lichts von einem in die Kamera integrierten Sensor. Da Grünlicht sowohl von oxygeniertem als auch von desoxygeniertem Hämoglobin absorbiert wird, werden Erythrozyten als Lichtaussparung in den Videos sichtbar und formen lineare Anordnungen entsprechend der Gefäßverläufe (s. Abb. 2). Eine direkte Visualisation der Gefäße erfolgt jedoch nicht, wodurch gänzlich komprimierte, blutleere Gefäße nicht durch die CytoCam dargestellt werden können<sup>88</sup>. Um eine höhere Auflösung der sich bewegenden Erythrozyten zu erzielen, werden die Lichtsignale gepulst ausgesendet<sup>85</sup>. Bei einer Pulsrepititionsfrequenz von 4ms und einer Emissionsdauer von 2ms wird das Licht im Verhältnis 1:1 von der Kamera ausgesendet und durch den Sensor registriert. Emission und Registrierung der Lichtsignale werden intern synchronisiert. Ein optisches Linsensystem vergrößert unterdessen die Bilder und ermöglicht eine Auflösung von mehr als 300lines/mm. Die CytoCam verfügt außerdem über die Möglichkeit einer Dünnschichtfokussierung, sodass unterschiedliche Tiefen des Gewebes abgebildet werden können. Entsprechend der Empfehlung einer Expertenrunde zur Evaluation der Mikrozirkulation<sup>89</sup> wurden pro Messzeitpunkt je fünf Videos der Leftze mit 101 *frames* und ca. 4 Sekunden Laufzeit aufgezeichnet. Außerdem erfolgte initial und nach dreißigminütigem Schock die Aquirierung fünf weiterer sublingualer Videos.



#### Abb. 2: Exemplarische Darstellung der oralen Mikrozirkulation mittels IDF-Messung

Im Anschluss an die Versuche wurden die Aufzeichnungen durch eine vom Hersteller vertriebene Gerätesoftware (Cytocam Tools 1.7.8., Braedius Medical, Huizen, NL) stabilisiert. Die Auswertung erfolgte in Anlehnung an die von De Backer beschriebene Vorgehensweise<sup>27</sup> durch Bildung der total vascular density (TVD), der perfused small vessel density (PVD) und der proportion of perfused small vessels (PPV) als quantitative Perfusionsmessung. Für die Bestimmung der genannten Parameter wird ein Gitter aus jeweils drei horizontalen und drei vertikalen Linien über das Bild projiziert. Die Anzahl der Gefäße ist proportional zu den Schnittpunkten der Gefäße mit den Gitterlinien. Darüber hinaus wurde der microvascular flow index (MFI) als Maß für die dominierende Flusscharakteristik bestimmt<sup>90,89</sup>. Das Bild wurde hierzu in vier gleiche Ouadranten unterteilt und der Fluss manuell durch einen verblindeten Untersucher als abwesend, intermittierend, stockend oder normal klassifiziert<sup>88</sup>. Dieses Verfahren hat trotz der subjektiven Einschätzung eine hohe intra- und interobserver Übereinstimmung<sup>91,13</sup>. Außerdem wurde die Differenz aus maximalem und minimalem Flusswert der einzelnen Ouadranten durch den durchschnittlich erreichten Flusswert dividiert und somit der Heterogenitätsindex (HGI) gebildet. Er ist ein Maß für die räumliche Flussheterogenität.

Für die Evaluation der Mikrozirkulation ist stets eine Zusammenschau aller genannten Parameter sinnvoll, da sie unterschiedliche Aspekte der Mikrozirkulation widerspiegeln. Die in der Mikrozirkulation stattfindenden und für die Sauerstoffversorgung essentiellen Vorgänge lassen sich für ein besseres Verständnis der Messparameter in zwei Schritte unterteilen. Zunächst muss an Hämoglobin gebundener Sauerstoff von den Erythrozyten freigesetzt werden. Hierzu benötigt es einen ausreichenden Blutfluss und genügend Zeit. Man bezeichnet dies auch als "Konvektion"<sup>85</sup>. Den zweiten Teil stellt die Diffusion zu den Parenchymzellen dar<sup>92</sup>. Dies ist

insbesondere von der mittleren Diffusionsdistanz und somit von der Gefäßdichte abhängig. Während der TVD und der PVD die Diffusionsstrecke widerspiegeln, ist der PPV ein Maß der Perfusion, der Informationen über die Möglichkeit der Sauerstoffliberalisation enthält. Der PPV unterscheidet jedoch lediglich zwischen perfundierten und nicht perfundierten Gefäßen und stellt somit Extreme einer Perfusionsheterogenität dar. Der MFI ergänzt diese extremen Perfusionszustände um eine Graduierung des Flussmusters<sup>89,85</sup>. Außerdem berücksichtigt der MFI durch die Betrachtung kurzfristiger Flussschwankungen auch eine zeitliche Komponente der inhomogenen Perfusion und dient somit der qualitativen Perfusionsanalyse. Während die Flussqualität jedoch keine Aussage über die Sauerstoffversorgung trifft, ermöglicht dies die zeitgleiche Messung der µHbO<sub>2</sub>.

#### 2.3.5 Permeabilitätsmessung

Um die epitheliale Permeabilität des Magens und somit die gastrale Barrierefunktion zu untersuchen, wurde gewichtsadaptiert (1,66g/kg) ein Zuckerbolus aus D-Sucrose über den dritten Schenkel der Magensonde appliziert. D-Sucrose ist ein Dissacharid, das die gastrale Mukosa nicht überwinden kann. Erst im Duodenum erfolgt durch das Enzym Sucrose-Isomaltase die Spaltung in Monosacharide und damit der Abbau<sup>93</sup> des Zuckers. Kommt es durch einen hämorrhagischen Schock zu einer Kompromittierung der gastralen Durchblutung, können die Zellen der Magenschleimhaut nicht mehr ihre physiologische Funktion ausführen. Die transepitheliale Permeabilität nimmt zu<sup>94</sup> und Sucrose tritt ins Plasma über. Dort kann Sucrose über einen enzymatischen assay nachgewiesen werden. Da Sucrose im Blut nicht enzymatisch gespalten, jedoch direkt nach Verlassen des Magens abgebaut wird, ist Sie ein selektiver Marker für die gastrale Barriere<sup>93</sup>. Für die Messung erfolgten in halbstündigen Intervallen arterielle Blutentnahmen von 6ml-EDTA-Blutproben (Vacutainer K2E EDTA 18.0 mg, Plymouth, United Kingdom). Die weitere Bearbeitung der Proben erfolgte nach einer von Fiehn und Kind beschriebenen Vorgehensweise<sup>95</sup>. Dazu wurden die Blutproben 15 Minuten lang bei 0°C und 3000 G=rcf zentrifugiert (Rotina 420R, Hettich Zentrifugen, Mühlheim a.d.R., Germany) und das Plasma separiert. Das Plasma wurde durchmischt und als 30ul-Portion für die Dauer des Versuchs in Flüssigstickstoff zwischengelagert. Nach dem Versuch wurden die Proben mit je 0,4ml eines Extraktionsmediums bestehend aus 4ml Aceton, 2ml Isopropanol und 3µl Ribitol-Stocklösung (10µM) versetzt (Carl Roth, Karlsruhe, Germany), für 20 Sekunden hochenergetisch durchmischt und in einem 4°C kühlen Raum geschüttelt. Anschließend wurden die Proben erneut bei 0°C und 20.800 G=rcf zentrifugiert. 350µl des flüssigen Überstandes wurden separiert, bis zur weiteren Verarbeitung mit Stickstoff desoxygeniert (Nitrogen, Linde AG, Pullach, Germany) und bei minus 80°C zwischengelagert. Nach Abschluss der Versuchsreihe wurden die gesammelten Proben in einem externen Labor mittels speed vacuum *concentrator* getrocknet und die Sucrosemenge der Proben anhand der *gas chromatographymass spectrometry* (GC-MS) Methode bestimmt. Die Auswertung erfolgte durch die *MassHunter software* (Agilent Technologies)<sup>96</sup>.

#### 2.3.6 Relaxometrie

Die Relaxierung der Hunde wurde über ein Relaxometer (TOF Guard<sup>R</sup> INMT, Organon Teknika BV, Boxtel, Niederland) kontrolliert, welches nach dem *train of four* (TOF) Stimulationsmuster arbeitet<sup>97</sup>. Dazu wurde der Hinterlauf über zwei Elektroden vier Mal hintereinander mit einer Stromstärke von je 15 mA stimuliert. Die resultierenden Kontraktionen wurden distal von einem Sensor aufgenommen und der Quotient aus der Reizantwort der letzten und der ersten Stimulation gebildet. Die Ausgabe erfolgte als Prozentwert. Vor der Relaxierung wurde ein Wert von 100% als Nachweis der korrekten Sondenplatzierung angestrebt. Erst nach dem Anstieg des TOFs auf erneut 100% in der Ausleitungsphase wurde die Narkose reduziert und die Aufwachphase für den Hund initiiert.

# 2.4 Versuchsprotokoll

Die Hunde waren so trainiert, dass sie sich freiwillig auf den Versuchstisch und mit Hilfe der Experimentatoren in eine Rechtsseitenlage begaben. Nach Punktion der Hinterlaufvene wurde eine Allgemeinanästhesie durch Injektion von 4 mg/kgKG Propofol (Propofol 1% MCT-Fresenius, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg) eingeleitet. Nach endotrachealer Intubation (Mallinckrodt<sup>TM</sup> 9.0mm I.D. Covidien Ireland limited, IDA Business & Technology Park, Tullamore) unter laryngoskopischer Sicht (McIntosh-Spatel Gr.5, Medicon eG, Tuttlingen) wurde die Narkose mit Sevofluran (Sevoflurane<sup>R</sup> 100% AbbVie Deutschland GmbH & Co.KG, Ludwingshafen) und einer endtidalen Sevoflurankonzentration von 3 Vol.% fortgeführt. Dies entspricht bei Hunden einer minimalen alveolären Sevoflurankonzentration von  $1,5^{98}$  MAC. Anschließend wurde eine maschinelle, volumenkontrollierte Beatmung mit einem Tidalvoumen von 12,5 ml/kg<sup>99</sup> über ein halbgeschlossenes Narkosesystem (Aestiva 5, Verdampfer Tec 7, Datex Ohmeda, St.Giles, England) gestartet um eine physiologische Lungenventilation zu gewährleisten. Die Atemfrequenz wurde angepasst, um ein etCO<sub>2</sub> von 35mmHg zu erreichen. Die Beatmung mit einem Gasgemisch aus 30% Sauerstoff (O<sub>2</sub>) und 70% Stickstoff (N<sub>2</sub>) wurde im Verlauf auf einen Minimalflow reduziert.

Die Instrumentierung der Hunde erfolgte stets in einer standardisierten Reihenfolge. Nach Anlage der oberflächlichen EKG-Elektroden und Installation des Relaxometers erfolgte die palpatorische Punktion der Carotisschlinge und der Vorschub des arteriellen Thermodilutionskatheter EKG-kontrolliert und in Seldinger-Technik. Nach Platzierung im Aortenbogen wurde dieser mit dem PiCCOAdapter und über ein Verlängerungsstück mit einem Druckwandler verbunden. Das gesamte System wurde mit einer heparinisierten Kochsalzlösung (0,1ml Heparin-Natrium 25.000I.E./5ml, Rotexmedica GmbH, Trittau auf 500 ml NaCl Infusionslösung) gespült. Anschließend wurde ein großlumiger Zugang in die Vorderlaufvene gelegt. Die Messsonden der Weißlichtspektroskopie wurden atraumatisch unmittelbar an der gastralen und oralen Mukosa platziert. Die Relaxierung erfolgte über den venösen Zugang am Hinterlauf mit einer Initialdosis Rocuroniumbromid von 0,6mg/kgKG (10mg/ml Inresa Arzneimittel GmbH, Freiburg) und einer anschließenden Dauerinfusion von 1mg/kgKG/h Rocuroniumbromid (PILOT Anästesie, Fresenius Vial S.A., Brezins, FR).

Nachdem stabile Ausgangsbedingungen erreicht wurden, erfolgte nach einer dreißigminütigen Kontrollphase (*Baseline*) die erste Messung, die im weiteren Versuchsablauf alle 30 Minuten durchgeführt wurde (s. Abb. 3). Zu jedem Messzeitpunkt erfolgten eine HZV-Messung mittels Thermodilution, fünf buccale Videoaufzeichnungen mittels *dark field imaging*, eine arterielle Blutgasanalyse und eine Sucrosebestimmung. Zunächst wurde in allen Versuchsgruppen ein Zuckerbolus (Suc) zur gastralen Permeabilitätsmessung appliziert. Anschließend erfolgte die Randomisierung in eine der vier Versuchsgruppen. Nach der Versuchsbeendigung wurde die Narkose beendet und die Hunde bei ausreichender Spontanatmung und Schutzreflexen extubiert.



#### 2.5 Versuchsgruppen

Jedes Versuchstier durchlief vier unterschiedliche Versuchsprotokolle in randomisierter Reihenfolge, welche im weiteren Verlauf wie folgt gekennzeichnet werden.

NK NV = Normokapnie + Normovolämie NK HV = Normokapnie + Hypovolämie HK NV = Hyperkapnie + Normovolämie HK HV = Hyperkapnie + Hypovolämie

#### 2.5.1 Normokapnie Normovolämie (NK NV)

Nach der Gabe des Zuckerbolus zur gastrointestinalen Permeabilitätsmessung erfolgte eine kontinuierliche Stickstoffapplikation an der oralen und gastralen Schleimhaut. In dreißigminütigen Intervallen wurden Messungen entsprechend der vorhergegangenen Messzeitpunkte durchgeführt. Nach 150-minütiger Gasintervention wurde die Stickstoffapplikation gestoppt und damit der Versuch beendet.

#### 2.5.2 Normokapnie Hypovolämie (NK HV)

Um den Einfluss des hämorrhagischen Schocks auf die gastrointestinale Mikrozirkulation zu untersuchen wurde dreißig Minuten nach Beginn der Stickstoffapplikation ein hämorrhagischer Schock induziert. 30 bzw. 60 Minuten nach Schockbeginn wurden die Messungen HV30 und HV60 durchgeführt. Danach erfolgte die Retransfusion des entnommenen Blutes mit den Messpunkten RT30 und RT60 nach jeweils 30 Minuten. Hiernach wurde der Versuch beendet.

### 2.5.3 Hyperkapnie Normovolämie (HK NV)

Der Effekt einer lokalen Hyperkapnie auf die gastrointestinale Mikrozirkulation unter physiologischen Kreislaufbedingungen wurde durch eine Gasapplikation mit Kohlenstoffdioxid untersucht. CO<sub>2</sub> wurde hierfür in gleicher Menge wie Stickstoff in den bereits genannten Versuchsgruppen über die Haltevorrichtung sowie die Magensonde der Schleimhaut zugeführt. 30-minütige Messungen wurden entsprechend der normokapnischen Kontrollgruppe durchgeführt und der Versuch danach beendet.

### 2.5.4 Hyperkapnie Hypovolämie

Zusätzlich zur kontinuierlichen Kohlenstoffdioxidapplikation wurde nach 30 Minuten ein hämorrhagischer Schock induziert um den Einfluss einer lokalen Hyperkapnie auf die gastrointestinale Mikrozirkulation im hämorrhagischen Schock zu untersuchen. Nach 60minütigem Schock wurde das asservierte Blut den Tieren retransfundiert. Messungen der Mikrozirkulation sowie systemischer Parameter wurden entsprechend der normokapnischen Schockgruppe durchgeführt und der Versuch im Anschluss beendet.

# 2.6 Interventionen

#### 2.6.1 Lokale Gasapplikation

Um den Effekt einer lokalen Gastherapie auf die Oxygenierung der gastrointestinalen Mukosa zu untersuchen, wurde die Gasapplikation und die O2C-Messung in örtlicher Nähe zueinander durchgeführt. Dazu wurde das Gas über den benachbarten Schenkel der Magensonde sowie die speziell angefertigte Haltevorrichtung in die unmittelbare Umgebung der O2C-Sonde geleitet. Da Stickstoff mit ca. 78% den größten Anteil der Luft unserer Erdatmosphäre darstellt und Sauerstoff direkte Effekte auf die Oxygenierung der Magenschleimhaut haben könnte, erfolgte in Kontrollgruppen eine Applikation von Stickstoff. Die Begasung mit reinem CO<sub>2</sub> bzw. N<sub>2</sub> erfolgte mit einer Flussrate von 15ml/min.

#### 2.6.2 Hypovolämie

Um den Zustand eines milden hämorrhagischen Schocks herbeizuführen, wurden 20% des errechneten Blutvolumens über den arteriellen Katheter sowie den venösen Zugang der Vorderlaufvene in 50ml Perfusorspritzen abgenommen. Diese wurden zuvor mit 0,1ml Heparin (Heparin-Natrium 25.00I.E./5ml, Rotexmedica GmbH, Trittau) versetzt. Für die einstündige Schockdauer wurde das heparinisierte Blut in einem warmen Wasserbad zwischengelagert.

## 2.6.3 Retransfusion

Die Retransfusion des entnommenen Blutes erfolgte über den venösen Zugang des Vorderlaufs mit maximaler Flussrate über ein handelsübliches Transfusionsbesteck (Aldrotec GmbH, Höchst). Die Heparinisierung des Blutes wurde eine halbe Stunde vor Versuchsende mit Protamin im Verhältnis 1 I.E. Protamin pro 2 I.E. benötigten Heparins antagonisiert.

# 2.7 Statistik

Die Werte kontinuierlicher Messparameter werden als gemittelter Wert der letzten fünf Minuten des halbstündigen Interventionszeitraum beschrieben. Zu diesem Zeitpunkt war von stabilen Werten ohne größere Schwankungen auszugehen.

Um die Voraussetzung einer Normalverteilung der Messwerte für eine multifaktorielle Varianzanalyse zu prüfen, erfolgte eine Testung mittels Kolmogorov-Smirnov-Test sowie eine graphische Darstellung der Daten als *Q-Q-Plots* (IBM SPSS Statistics Version 23.0). Die Gruppen wurden mittels *ANOVA* verglichen. Anschließend wurde eine Bonferroni-Korrektur

durchgeführt (GraphPad Prism<sup>®</sup> Version 6.0c). Die nachfolgenden Ergebnisse werden als arithmetische Mittel +/- Standardfehler (SE) dargestellt.

Von einer Signifikanz wurde ausgegangen, wenn p<0,05 berechnet wurde.

# **3** Ergebnisse

#### 3.1 Einfluss einer lokalen Hyperkapnie auf die Mikrozirkulation

#### 3.1.1 Mikrovaskuläre Hämoglobinoxygenierung (µHbO<sub>2</sub>)

Unter physiologischen Kreislaufbedingungen blieb die gastrale  $\mu$ HbO<sub>2</sub> sowohl unter lokaler Hyperkapnie als auch unter lokaler Normokapnie unverändert. Im hämorrhagischen Schock kam es unter Normokapnie zu einem Abfall von 77 ± 2 % auf 38 ± 4 %. Unter Hyperkapnie wurde dieser Abfall deutlich von 83 ± 3 % auf 52 ± 8 % abgeschwächt, die  $\mu$ HbO<sub>2</sub> war somit signifikant höher (s. Abb. 4).



µHbO<sub>2</sub> Magen

Abb. 4: Gastrale mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung ( $\mu$ HbO<sub>2</sub>):  $\mu$ HbO<sub>2</sub> des Magens im Zeitverlauf. Gegenüberstellung normokapnischer (NK) und hyperkapnischer (HK) Versuchsgruppen unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Die  $\mu$ HbO<sub>2</sub>-Angaben erfolgen in Prozent (%) zu den Messpunkten unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Sucrosegabe (Sucrose), nach Beginn der Gasintervention (Gas), sowie nach 30- bzw. 60-minütigen Schock (HV30, HV60) und Retransfusion (RT30, RT60). Darstellung als MW +/- SEM für n = 6 Hunde, \* = p<0,05 zur jeweiligen normokapnischen Kontrollgruppe.

Vergleichbare Ergebnisse stellten sich auch für die mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung der oralen Schleimhaut dar (s. Abb. 5). Während sich die  $\mu$ HbO<sub>2</sub> der normovolämen Kontrollgruppen im zeitlichen Verlauf auch hier konstant zeigte, erfolgte durch den Schock eine Reduktion des  $\mu$ HbO<sub>2</sub> von 82 ± 2 % auf 36 ± 4 % unter Normokapnie, welche durch CO<sub>2</sub>-Applikation von 83 ± 2 % auf 54 ± 4 % abgemildert wurde. Anders jedoch als an der gastralen Mukosa zeigte sich der protektive Effekt einer CO<sub>2</sub>-Applikation nicht nur zum Messpunkt HV30, sondern persistierte im Schock auch nach 60 Minuten (HV60).



Abb. 5: Orale mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung ( $\mu$ HbO<sub>2</sub>):  $\mu$ HbO<sub>2</sub> der oralen Mundschleimhaut im Zeitverlauf. Gegenüberstellung normokapnischer (NK) und hyperkapnischer (HK) Versuchsgruppen unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Die  $\mu$ HbO<sub>2</sub>-Angaben erfolgen in Prozent (%) zu den Messpunkten unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Sucrosegabe (Sucrose), nach Beginn der Gasintervention (Gas), sowie nach 30- bzw. 60-minütigen Schock (HV30, HV60) und Retransfusion (RT30, RT60). Darstellung als MW +/- SEM für n = 6 Hunde, \* = p<0,05 zur jeweiligen normokapnischen Kontrollgruppe.

# 3.1.2 Mikrovaskulärer Fluss (µflow)

Sowohl an der gastralen als auch an der oralen Schleimhaut zeigte sich weder unter physiologischen noch unter hämorrhagischen Kreislaufbedingungen ein Effekt der CO<sub>2</sub>-Applikation auf den mikrovaskulären Fluss.

#### **3.1.3 Relativer Hämoglobingehalt (rHb)**

An der gastralen Mukosa zeigte sich unter Normovolämie kein Unterschied zwischen den Gruppen. der Schock führte zu einer Reduktion des relativen Hämoglobingehaltes von  $62 \pm 4$  aU auf  $50 \pm 8$  aU unter Normokapnie und von  $68 \pm 3$  aU auf  $46 \pm 1$  aU unter Hyperkapnie ohne Unterschied zwischen beiden Gruppen. Im Gegensatz dazu konnte der rHb-Abfall im Schock an der oralen Mukosa durch Hyperkapnie reduziert werden. Dieser fiel unter Normokapnie von 94  $\pm 3$  aU auf  $64 \pm 4$  aU und unter lokaler Hyperkapnie von  $97 \pm 3$  aU auf  $72 \pm 7$  aU und lag damit signifikant höher als unter Normokapnie.

| Variable             | Gruppe |     | Basel | ine |     | Sucr | ose   |     | -              | Gas  |     | HV3 | 0        |     | Ě  | 09 |       |     | RT3( | _             |               | RT6 | 0      |
|----------------------|--------|-----|-------|-----|-----|------|-------|-----|----------------|------|-----|-----|----------|-----|----|----|-------|-----|------|---------------|---------------|-----|--------|
|                      | NK NV  | 83  | +1    | 4   | 84  | +I   | 3     |     | <del>1</del> 9 | 3    | 76  | +   | 3        | 73  | +1 | 3  |       | 79  | +1   | 5             | 78            | +1  | 9      |
|                      | HK NV  | 77  | +I    | 2   | 77  | +I   | 1     |     | 80 ±           | 4    | 78  | +   | 4        | 76  | +1 | 3  |       | 77  | +1   | 3             | 79            | +1  | 2      |
|                      | NK HV  | 77  | +1    | 2   | 79  | +I   | 2     |     | <del>1</del> 9 | 3    | 38  | +1  | 4 #, +   | 52  | +1 | 9  | ++    | 75  | +1   | 9             | 80            | +1  | 3      |
|                      | НК НV  | 83  | +1    | 3   | 83  | +I   | 2     |     | 85 ±           | 2    | 52  | +1  | 8 *,#,+  | 57  | +1 | 8  | t,+   | 81  | +    | 4             | 82            | +   | 3      |
|                      | NK NV  | 64  | +I    | 5   | 65  | +1   | 5     |     | 60 ±           | 5    | 57  | +   | 4        | 55  | +1 | 4  |       | 61  | +1   | 5             | 61            | +1  | 5      |
| [1] and a state      | HK NV  | 65  | +1    | 9   | 68  | +1   | 5     |     | 66 ±           | 3    | 65  | +1  | 4        | 60  | +1 | 3  |       | 60  | +1   | 4             | 58            | +1  | 4      |
| rno gastrai jauj     | NK HV  | 62  | +1    | 4   | 59  | +I   | 8     |     | 57 ±           | 8    | 50  | +1  | 8 #      | 50  | +1 | 7  |       | 55  | +1   | 3             | 54            | +1  | 2      |
|                      | HK HV  | 68  | +1    | 3   | 64  | +I   | 5     |     | 60 ±           | 3    | 46  | +1  | 1 #, +   | 47  | +1 | 4  | t, +  | 47  | +    | 3 #, +        | 48            | +   | 3 #    |
|                      | NK NV  | 153 | +1    | 10  | 268 | +I   | 38 #  | 2   | 60 ±           | 26 # | 245 | +   | 31 #     | 266 | +1 | 42 | #     | 264 | +1   | 22 #          | 237           | +1  | 35     |
| [1] ] Jantana una Bu | HK NV  | 198 | +1    | 31  | 176 | +1   | 29    | 2   | 23 ±           | 32   | 233 | +1  | 33       | 204 | +1 | 25 |       | 239 | +1   | 18            | 250           | +1  | 38     |
| pillow gastrai [aU]  | NK HV  | 145 | +1    | 17  | 172 | +I   | 19 *, | + 1 | 77 ±           | 24   | 171 | +1  | 19       | 160 | +1 | 22 |       | 185 | +1   | 30            | 212           | +1  | 31     |
|                      | НК НV  | 177 | +1    | 22  | 180 | +I   | 27    | 2   | 52 ±           | 38   | 229 | +   | 40       | 262 | +1 | 74 |       | 239 | +1   | 46            | 216           | +1  | 35     |
|                      | NK NV  | 85  | +1    | 3   | 83  | +I   | 3     |     | 84 ±           | 2    | 81  | +1  | 1        | 83  | +1 | 2  |       | 83  | +1   | 2             | 83            | +1  | 2      |
| [%] Iero Odun        | HK NV  | 82  | +I    | 2   | 82  | +I   | 2     |     | 83 ±           | 2    | 84  | +   | 2        | 81  | +1 | 1  |       | 79  | +1   | 2             | 86            | +1  | 2      |
|                      | NK HV  | 82  | +1    | 2   | 79  | +I   | 2     |     | 82 ±           | 1    | 36  | +1  | 4 #, +   | 45  | +1 | 5  | ŧ, +  | 78  | +1   | 9             | 93            | +1  | 2 #, + |
|                      | HK HV  | 83  | +I    | 2   | 81  | +    | 3     |     | 86 ±           | 3    | 54  | +   | 4 *,#, + | 63  | +I | 5  | ,#, + | 79  | +1   | 4             | <del>00</del> | +I  | 2      |
|                      | NK NV  | 96  | +1    | 3   | 92  | +I   | 3     |     | <del>1</del>   | 3    | 92  | +1  | 3        | 87  | +1 | 3  |       | 89  | +1   | 2 #           | 06            | +1  | 1      |
| ווה] והים אווי       | HK NV  | 97  | +I    | 2   | 94  | +I   | 1     |     | 94 ±           | 2    | 94  | +I  | 3        | 90  | +1 | 5  |       | 91  | +1   | 3             | 94            | +1  | 5      |
|                      | NK HV  | 94  | +I    | 3   | 86  | +I   | 4 #   |     | 88 ±           | 2    | 64  | +   | 4 #, +   | 64  | +1 | 4  | ŧ, +  | 84  | +1   | 3 #           | 96            | +1  | 3      |
|                      | HK HV  | 97  | +1    | 3   | 96  | Ŧ    | 4 *   |     | 96 ±           | 3 *  | 72  | +1  | 7 *,#, + | 81  | +I | 9  | ,#, + | 85  | +1   | 5 <b>#,</b> + | 94            | +1  | 4      |
|                      | NK NV  | 143 | +1    | 24  | 163 | +I   | 35    | 1   | 17 ±           | 6    | 144 | +1  | 34       | 131 | +1 | 15 |       | 137 | +1   | 20            | 129           | +1  | 27     |
| [1] Land molitin     | HK NV  | 128 | +1    | 14  | 121 | +1   | 13    | -   | <del>1</del>   | 31   | 185 | +1  | 27       | 146 | +1 | 35 |       | 162 | +1   | 31            | 143           | +1  | 21     |
| אווטא טרמו (מט)      | NK HV  | 94  | +1    | 18  | 121 | +I   | 36    | -   | 10             | 26   | 50  | +1  | 17 +     | 38  | +1 | 6  |       | 109 | +1   | 18 #          | 191           | +1  | 29 #   |
|                      | HK HV  | 126 | +1    | 21  | 132 | +1   | 31    | 1   | 95 ±           | 38 * | 58  | +1  | 16 +     | 80  | +1 | 18 |       | 163 | +1   | 41            | 179           | +1  | 28     |

Signifikante Ergebnisse gegenüber der normokapnischen Kontrollgruppe (\*) und der normovolämen Kontrollgruppe (+) sowie der jeweiligen Baseline (#) werden zu einem Signifikanzniveau von p<0,05 in der multifaktoriellen Varianzanalyse angegeben, Der Stichprobenumfang beträgt n = 6. unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Angabe der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung (µHb02) in Prozent [%] und des relativen Hämoglobingehalts (rHb) sowie des mikrovaskulären Flusses (µflow) in arbitrary Units [aU]. Aufgeführt sind die Zeitpunkte Baseline, Sucrose- und Gasapplikation (Gas) sowie der 30-Tabelle 1: Weißlichtspektroskopie und Laserdoppler der gastralen und oralen Schleimhaut in Abhängigkeit von einer lokalen Stickstoff- (NK) und Kohlenstoffdioxidapplikation (HK) (HV30) und 60-minütige (HV60) Schock mit anschließender Retransfusion und erneuten Messungen nach 30 (RT30) und 60 (RT60) Minuten. Die Darstellung erfolgt als MW +/- SEM.

#### 3.1.4 Quantitative Perfusionsmessung

Im hämorrhagischen Schock verminderte sich unter Normokapnie der TVD an der bukkalen Mukosa von  $18 \pm 0 \text{ mm/mm}^2$  auf  $14 \pm 2 \text{ mm/mm}^2$  und der PVD von  $10 \pm 1 \text{ mm/mm}^2$  auf  $3 \pm 1 \text{ mm/mm}^2$ . Auch der PPV fiel unter Hämorrhagie von  $55 \pm 4$  % auf  $23 \pm 3$  %. Eine Normalisierung der Parameter auf das Ausgangsniveau stellte sich erst wieder nach Retransfusion ein. Die Gabe von lokalem CO<sub>2</sub> hatte jedoch keinen Einfluss auf den Abfall der Werte. Unter Hyperkapnie fiel der TVD von  $19 \pm 0 \text{ mm/mm}^2$  auf  $14 \pm 1 \text{ mm/mm}^2$ , der PVD von  $12 \pm 1 \text{ mm/mm}^2$  auf  $5 \pm 1 \text{ mm/mm}^2$  und der PPV von  $59 \pm 6$  % auf  $32 \pm 3$  %.

Entgegen der bukkalen Mukosa konnte in den sublingualen Messungen weder eine eindeutige Veränderung durch den Schock, noch ein Effekt von Kohlenstoffdioxid auf den TVD, den PVD und den PPV nachgewiesen werden.

#### 3.1.5 Qualitative Perfusionsmessung

Entsprechend den Empfehlungen zur Auswertung akquirierter IDF-Messungen<sup>89</sup> waren einzelne Aufnahmen eines Tieres nicht auswertbar, sodass dieses Tier verblindet von der Auswertung ausgeschlossen wurde. Die Auswertung wurde somit für n=5 Tiere durchgeführt. Unter Normovolämie hatte eine lokale Hyperkapnie keinen Einfluss auf den MFI. Unter Hämorrhagie fiel dieser unter Normokapnie von 2,8 ± 0,1 auf 0,8 ± 0,2. Durch die CO<sub>2</sub>-Applikation war der MFI signifikant besser (Abfall von 2,9 ± 0,1 auf 1,3 ± 0) (s. Abb. 6). Analog zu den Daten der oralen µHbO<sub>2</sub>-Messung persistierte der protektive Effekt einer CO<sub>2</sub>-Applikation über die gesamte Dauer des Schocks.



Abb. 6: *Microvascular flow index* (MFI) der oralen Schleimhaut: Gegenüberstellung normokapnischer (NK) und hyperkapnischer (HK) Versuchsgruppen unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Der MFI wird zu den Messpunkten unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Sucrosegabe (Sucrose), nach Beginn der Gasintervention (Gas), sowie nach 30- bzw. 60-minütigen Schock (HV30, HV60) und Retransfusion (RT30, RT60) als dimensionslose Größe aufgeführt. Darstellung als MW +/- SEM für n = 5 Hunde, \* = p<0,05 zur jeweiligen normokapnischen Kontrollgruppe.

Unterdessen kam es im Schock ebenfalls zu einer signifikanten Vergrößerung des Heterogenitätsindex (HGI). Dieser stieg unter Normokapnie von  $1,5 \pm 0,1$  auf  $16,7 \pm 0,5$  und unter Hyperkapnie von  $1,1 \pm 0,1$  auf  $14,1 \pm 0,3$  an, ohne einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen im frühen Schock aufzuweisen. Allerdings fiel der HGI am Ende des Schocks durch eine lokale Hyperkapnie schneller wieder ab als dies unter Normokapnie der Fall war. Zum Zeitpunkt HV60 war der HGI unter Hyperkapnie signifikant niedriger als unter Normokapnie ( $6,7 \pm 0,2$  vs.  $11,6 \pm 0,3$ ). Nach Retransfusion des entnommenen Blutvolumens fiel der HGI auf ursprüngliche Werte ab, ohne einen signifikanten Unterschied in Abhängigkeit von den vorherrschenden Kreislaufparametern oder dem applizierten Gas aufzuweisen (s. Abb. 7).


Abb. 7: Heterogenitätsindex (HGI) der oralen Schleimhaut: Gegenüberstellung normokapnischer (NK) und hyperkapnischer (HK) Versuchsgruppen unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Die Angabe erfolgt zu den Messpunkten unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Sucrosegabe (Sucrose), nach Beginn der Gasintervention (Gas), sowie nach 30- bzw. 60-minütigen Schock (HV30, HV60) und Retransfusion (RT30, RT60) als dimensionslose Größe. Darstellung als MW +/- SEM für n = 5 Hunde, \* = p<0,05 zur jeweiligen normokapnischen Kontrollgruppe.

| Variable                   | Gruppe |     | Base | line | S   | ucro | se    |     | Ga | S   |     | Ϊ  | 0        |     | ΗŇ | 0         |              | RT | 30  |     | RT6 | 0     |   |
|----------------------------|--------|-----|------|------|-----|------|-------|-----|----|-----|-----|----|----------|-----|----|-----------|--------------|----|-----|-----|-----|-------|---|
|                            | NK NV  | 19  | +1   | 0    | 19  | +1   | 0,7   | 19  | +1 | 1   | 19  | +1 | 1        | 20  | +1 | 1         | 19           | +1 | 0   | 19  | +1  | 1     |   |
| T/D [ /                    | HK NV  | 19  | +1   | 1    | 19  | +1   | 0,5   | 19  | +1 | 1   | 19  | +1 | 1        | 18  | +1 | 1         | 18           | +1 | 0   | 18  | +1  | 0     |   |
|                            | NK HV  | 18  | +1   | 0    | 19  | +1   | 6'0   | 19  | +1 | 1   | 14  | +1 | 2 #,+    | 15  | +1 | 1 #, +    | 19           | +1 | 1   | 21  | +1  | 1#    |   |
|                            | HK HV  | 19  | +1   | 0    | 18  | +1   | 0,7   | 19  | +1 | 1   | 14  | +1 | 1 #, +   | 16  | +1 | 1 #, +    | 18           | +1 | 1   | 19  | +1  | 1     |   |
|                            | NK NV  | 11  | +1   | 1    | 10  | +1   | 1,8   | 11  | +1 | 1   | 11  | +1 | 1        | 11  | +1 | 1         | 10           | +1 | 2   | 6   | +1  | 2     |   |
| 0//D [mm/mm <sup>2</sup> ] | HK NV  | 13  | +I   | 1    | 12  | +    | 1,1   | 12  | +1 | 1   | 12  | +I | 1        | 11  | +1 | 1         | 6            | +I | 1 # | 10  | +1  | 0     |   |
|                            | NK HV  | 10  | +1   | 1    | 11  | +1   | 1,4   | 11  | +1 | 1   | 3   | +1 | 1 #, +   | 4   | +1 | 1 #, +    | 11           | +1 | 1   | 13  | +1  | 1 #,+ | + |
|                            | HK HV  | 12  | +1   | 1    | 6   | +1   | + 6'0 | 12  | +1 | 1   | 5   | +1 | 1 #, +   | 6   | +1 | 1 #, +    | 6            | +I | 1   | 11  | +1  | 1     |   |
|                            | NK NV  | 61  | +1   | 5    | 53  | +1   | 6     | 54  | +1 | 7   | 58  | +1 | 5        | 53  | +1 | 7         | 48           | Ŧ  | 8   | 47  | +1  | 6     |   |
|                            | HK NV  | 68  | +1   | 4    | 63  | +1   | 4,8   | 61  | +1 | 4   | 60  | +1 | 4        | 61  | +1 | 3         | 49           | +1 | 5 # | 55  | +1  | 3     |   |
| [20]                       | NK HV  | 55  | +1   | 4    | 58  | +1   | 4,8   | 57  | +1 | 9   | 23  | +1 | 3 #, +   | 27  | +1 | 4 #,+     | 55           | +1 | 4   | 62  | +1  | 3 +   |   |
|                            | HK HV  | 59  | +1   | 6    | 49  | +1   | 3,7 + | 60  | +1 | 3   | 32  | +1 | 3 #, +   | 34  | +1 | 5 #,+     | 47           | +I | 5   | 59  | +1  | 3     |   |
|                            | NK NV  | 3   | +1   | 0    | 2,8 | +1   | 0,1   | 2,9 | +1 | 0,1 | 2,9 | +1 | 0        | 2,9 | +1 | 0,1       | 2,9          | +I | 0,1 | 2,9 | +1  | 0,1   |   |
| MEI [meanell]              | HK NV  |     | +I   |      |     | +1   |       |     | +1 |     |     | +1 |          |     | +1 |           |              | +1 |     |     | +1  |       |   |
|                            | NK HV  | 2,8 | +1   | 0,1  | 2,9 | +1   | 0     | 2,9 | +1 | 0,1 | 0,8 | +1 | 0,2 #, + | 1,4 | +1 | 0,2 #, +  | 2,8          | +1 | 0,2 | 3   | +1  | 0     |   |
|                            | HK HV  | 2,9 | +1   | 0,1  | 2,9 | +1   | 0,1   | 2,9 | +  | 0,1 | 1,3 | +  | 0 *,#, + | 2   | +1 | 0,3 *,#,  | + 2,7        | +  | 0,1 | 2,9 | +1  | 0,1   |   |
|                            | NK NV  | 0,7 | +I   | 0,1  | 1,6 | +1   | 0,1   | 1,1 | +1 | 0,1 | 1,4 | +I | 0,1 #    | 1,1 | +1 | 0,1       | 1,1          | +I | 0,1 | 0,4 | +1  | 0,1   |   |
|                            | HK NV  | 0,7 | +I   | 0,1  | 1,1 | +    | 0,1   | 1,4 | +1 | 0,1 | 1,4 | +I | 0,1      | 1,5 | +1 | 0,2       | 2            | +I | 0,2 | 1,9 | +1  | 0,2   |   |
| Ē                          | NK HV  | 1,5 | +1   | 0,1  | 1,4 | +1   | 0,1   | 1,4 | +1 | 0,1 | 17  | +1 | 0,5 #, + | 12  | +1 | 0,3 #, +  | 3,1          | +1 | 0,3 | 0,4 | +1  | 0,1   |   |
|                            | HK HV  | 1,1 | +I   | 0,1  | 1,4 | +    | 0,1   | 1,4 | +1 | 0,1 | 14  | +I | 0,3 #, + | 6,7 | +1 | 0,2 *, +, | <b>#</b> 2,3 | +I | 0,1 | 1,1 | +1  | 0,1   |   |
|                            |        |     |      |      |     |      |       |     |    |     |     |    |          |     |    |           |              |    |     |     |     |       |   |

| er lokalen Stickstoff- (NK) und Kohlenstoffdioxidapplikation   | und der proportional vessel desity (PVD) in [mm/mm <sup>2</sup> ], der                                | HGI). Aufgeführt sind die Zeitpunkte Baseline, Sucrose- und  | ten Messungen nach 30 (RT30) und 60 (RT60) Minuten. Die  | er normovolämen Kontrollgruppe (+) sowie der jeweiligen   |   |
|--|---|--|--|---|---|
| titative (n = 6) und qualitative (n = 5) Flussmessung der bukkalen Schleimhaut in Abhängigkeit von ein | viologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Angabe der total vessel desity (TVD, | fused vessels (PPV) in Prozent [%], des mikrovaskulären Flussindex (MFI) und des Heterogenitätsindex | Gas) sowie der 30- (HV30) und 60-minütige (HV60) Schock mit anschließender Retransfusion und erner | ulgt als MW +/- SEM. Signifikante Ergebnisse gegenüber der normokapnischen Kontrollgruppe (*) und | ∙den zu einem Signifikanzniveau von p<0,05 in der multifaktoriellen Varianzanalyse angegeben. |

# 3.2 Einfluss einer lokalen Hyperkapnie auf systemische Messparameter

#### 3.2.1 Hämodynamik

Die lokale CO<sub>2</sub>-Applikation hatte keinen Einfluss auf systemische, hämodynamische Parameter. Im hämorrhagischen Schock fiel das Herzzeitvolumen unter Normokapnie von  $87 \pm 4 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  auf  $45 \pm 3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  und das kardiale Schlagvolumen von  $24 \pm 1 \text{ ml}$  auf  $13 \pm 1 \text{ ml}$  ab. Erst nach Retransfusion stellten sich sowohl für das Schlagvolumen als auch für das Herzzeitvolumen erneut Werte auf dem ursprünglichen Niveau ein (s. Abb. 8).



**Abb. 8: Herzzeitvolumen (HZV):** Gegenüberstellung normokapnischer (NK) und hyperkapnischer (HK) Versuchsgruppen unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Das HZV wird zu den Messpunkten unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Sucrosegabe (Sucrose), nach Beginn der Gasintervention (Gas), sowie nach 30- bzw. 60-minütigen Schock (HV30, HV60) und Retransfusion (RT30, RT60) in ml/kg/min angegeben. Darstellung als MW +/- SEM für n = 6 Hunde, \* = p<0,05 zur jeweiligen normokapnischen Kontrollgruppe.

Es zeigte sich ein Abfall des mittleren, arteriellen Blutdrucks von  $65 \pm 2$  mmHg auf  $50 \pm 3$  mmHg (s. Abb. 9). Parallel dazu erhöhte sich der periphere arterielle Widerstand von  $23 \pm 1$  mmHg·l<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> auf  $34 \pm 3$  mmHg·l<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>.



**Abb. 9: Mittlere arterieller Blutdruck (MAP):** Gegenüberstellung normokapnischer (NK) und hyperkapnischer (HK) Versuchsgruppen unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Der MAP wird zu den Messpunkten unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Sucrosegabe (Sucrose), nach Beginn der Gasintervention (Gas), sowie nach 30- bzw. 60-minütigen Schock (HV30, HV60) und Retransfusion (RT30, RT60) in mmHg angegeben. Darstellung als MW +/-SEM für n = 6 Hunde, \* = p<0,05 zur jeweiligen normokapnischen Kontrollgruppe.

Die lokale CO<sub>2</sub>-Applikation hatte weder unter physiologischen noch unter hämorrhagischen Bedingungen einen Effekt auf das Herzzeitvolumen. Der Unterschied des Herzzeitvolumens zwischen den normokapnischen und hyperkapnischen Kontrollgruppen kann auf das erhöhte Herzzeitvolumen eines Versuchstieres zurückgeführt werden. Dieser Unterschied bestand bereits zu Beginn des Versuchs und persistierte über die gesamte Dauer des Versuchs. Die Darstellung der Ergebnisse als Änderung bezogen auf den Ausgangswert zeigt keinen Effekt der CO<sub>2</sub>-Applikation auf die systemische Hämodynamik (s. Abb.10).



Abb. 10: Herzzeitvolumen bezogen auf den Ausgangswert ( $\Delta$ HZV): Gegenüberstellung normokapnischer (NK) und hyperkapnischer (HK) Versuchsgruppen unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Das  $\Delta$ HZV wird zu den Messpunkten unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Sucrosegabe (Sucrose), nach Beginn der Gasintervention (Gas), sowie nach 30- bzw. 60-minütigen Schock (HV30, HV60) und Retransfusion (RT30, RT60) in ml/kg/min angegeben. Darstellung als MW +/- SEM für n = 6 Hunde, \* = p<0,05 zur jeweiligen normokapnischen Kontrollgruppe.

| Variable                                 | Gruppe    |          | <b>3ase</b> | ine    |         | Su              | cros  | Ð        |      | Gas       |          |       | HV3       | 0   |        | HV6 | 0               |      | RT3 | 0              |           | RT  | .09 |                  |
|--|-----------|----------|-------------|--------|---------|-----------------|-------|----------|------|-----------|----------|-------|-----------|---|--------|-----|-----------------|------|-----|----------------|-----------|-----|-----|------------------|
|  | NK NV     | 66       | +1          | 7      |         | 95 ±            |       | 8        | 94   | +1        | 7        | 95    | +1        | 9   | 95     | +1  | 7               | 96   | +1  | 5              | 6         | Ŧ   | 9   |                  |
| 11-11-11-11-11-11-11-11-11-11-11-11-11-  | HK NV     | 88       | +1          | 2      |         | 85 ±            |       | 2 *      | 85   | +1        | 2 *      | 82    | +1        | 2 *   | 84     | +1  | 2 *             | 8    | +1  | *<br>°         | 80        | +   | 2   |                  |
| ן חווחי איוחן עבע                        | NK HV     | 87       | +1          | 4      |         | 83 ±            |       | + +      | 82   | +1        | 4 +      | 45    | +1        | 3 #,+   | 51     | +1  | 3 #,+           | 87   | +1  | 4              | 6         | +   | 5   |                  |
|  | HK HV     | 87       | +1          | 1      |         | 85 ±            |       | 2        | 81   | +1        | 2        | 43    | +1        | 4 #, +  | 51     | +1  | 5 #,+           | 86   | +1  | 3              | 8         | +   | 5   | +                |
|  | NK NV     | 20       | +1          | 1      |         | 22 ±            |       | 2        | 23   | +1        | 2        | 23    | +1        | 2   | 22     | +1  | 9               | 22   | +1  | 2              | 2         | +1  | 2   |                  |
| CVB [                                    | HK NV     | 21       | +1          | 1      |         | 24 ±            |       | 1        | 24   | +1        | 1        | 25    | +1        | 1   | 25     | +1  | 1               | 26   | +1  | 1              | 2         | +   | 1   |                  |
| иш. ישיאטאטאטאטא                         | NK HV     | 23       | +1          | 7      |         | 25 ±            |       | 1        | 25   | +1        | 1        | 34    | +1        | 3 #,+   | 34     | +1  | 2 #,+           | 31   | +1  | 1 #,+          | 5         | +1  | 1   |                  |
|  | НК НV     | 22       | +1          | 1      |         | 23 ±            |       | 2        | 25   | +1        | 2        | 37    | +1        | 5 #,+   | 36     | +1  | 6 #,+           | 29   | +1  | 2 #            | 2         | +   | 2   |                  |
|  | NK NV     | 28       | +1          | 1      |         | 26 ±            |       | 1 #      | 26   | +1        | 1        | 26    | +1        | 1   | 27     | +1  | 1               | 27   | +1  | 1              | 2.        | ± 1 | 1   |                  |
|  | HK NV     | 25       | +1          | 1      |         | 24 ±            |       | 1 *      | 24   | +1        | 1 *,#    | 23    | +1        | 1 *,#   | 24     | +1  | 1 *,#           | 23   | +1  | 1 *,#          | 5         | +1  | 1   | #,*              |
|  | NK HV     | 24       | +1          | 1      |         | 23 ±            |       | 1+       | 23   | +1        | 1+       | 13    | +1        | 1 #, +  | 15     | +1  | 1 #, +          | 27   | +1  | 1 #            | 2         | +1  | 1   | #                |
|  | HK HV     | 25       | +1          | 1      |         | 24 ±            |       | 2        | 23   | +1        | 1 #      | 13    | +1        | 2 #,+   | 15     | +1  | 2 #,+           | 27   | +1  | 1 #, +         | + 2       | +   | 2   | #, +             |
|  | NK NV     | 64       | +1          | 2      |         | 67 ±            |       | 3        | 69   | +1        | 3        | 69    | +1        | 3   | 69     | +1  | 3               | 69   | +1  | Э              | 9         | +1  | Э   |                  |
| MAD [mmHa]                               | HK NV     | 61       | +1          | 2      |         | 66 ±            |       | 3        | 68   | +1        | 3 #      | 67    | +1        | 3   | 70     | +1  | 4 #             | 70   | +1  | 4 #            | 7         | Ŧ   | 3   | #                |
| MAP (MMNg)                               | NK HV     | 65       | +1          | 2      | _       | <del>1</del> 69 |       | 4        | 68   | +1        | 3        | 50    | +1        | 3 #,+   | 56     | +1  | 2 #, +          | 87   | +1  | 3 <b>#</b> , + | 4         | +   | 5   | # <sup>,</sup> + |
|  | НК НV     | 65       | +1          | 1      | _       | 66 ±            |       | 2        | 69   | +1        | 2        | 50    | +1        | 2 #, +  | 57     | +1  | 1 #, +          | 85   | +1  | 4 <b>#</b> ,+  | +         | +   | 9   | #                |
|  | NK NV     | 117      | +1          | 3,5    | 1:      | 19 ±            | 3,    | .7       | 118  | +1        | 3,6      | 118   | +1        | 4   | 117    | +1  | 3,9             | 116  | +1  | 3,7            | 11        | +   | 3,9 |                  |
| ub [min <sup>-1</sup> 1                  | HK NV     | 115      | +1          | 1,9    | 1:      | 18 ±            | 2,    | 1,       | 119  | +1        | 2,6      | 119   | +1        | 2,8   | 118    | +1  | 2,8             | 117  | +1  | 2,3            | 11(       | +   | 2,4 |                  |
|  | NK HV     | 117      | +1          | 2,9    | 1.      | 18 ±            | 3,    | ,2       | 118  | +1        | 3        | 110   | +1        | 2,9 #,+   | 112    | +1  | 3 #, +          | 104  | +1  | 4,1 #, +       | + 10      | +   | 4,3 | #, +             |
|  | HK HV     | 120      | +1          | 1,9 +  | . 1     | 20 ±            | 2,    | ,5       | 121  | +1        | 2,8      | 114   | +1        | 1,9 #,+   | 117    | +1  | 1,8             | 108  | +1  | 4,9 #, +       | + 11:     | +   | 4,3 | #, +             |
|  | NK NV     | 16       | +1          | 1,3    |         | 16 ±            | 1     | 4        | 16   | +1        | 1,2      | 16    | +1        | 1,2   | 16     | +1  | 1,4             | 16   | +1  | 0,9            | 1         | +   | 1   |                  |
| 1 <sup>1</sup> -nim <sup>-1</sup> -nd.lm | HK NV     | 15       | +1          | 0,5 *  |         | 14 ±            | ó     | ,4 *     | 14   | +1        | 0,5 *    | 14    | +1        | 0,4 *   | 14     | +1  | 0,3 *           | 14   | +1  | 0,5 *          | 1         | +1  | 0,5 | *                |
| ר חוחוי איזיוחן 200                      | NK HV     | 14       | +1          | 0,8 +  |         | 14 ±            | °     | + 6'     | 14   | +1        | + 6'0    | 7,4   | +1        | 0,5 #, +  | 8,4    | +1  | 0,6 <b>#,</b> + | 14   | +1  | + 6'0          | H         | +1  | 1,1 |                  |
|  | HK HV     | 15       | +I          | 0,4    |         | 14 ±            | 0     | ,4       | 14   | +1        | 0,6      | 7,3   | +1        | 0,6 #, +  | 8,4    | +1  | 0,8 <b>#,</b> + | 14   | +1  | 0,7            | 1         | +   | 1,1 |                  |
|  | NK NV     | 470      | +1          | 13     | 4       | 33 ±            | 1     | 11       | 413  | +1        | 14 #     | 405   | +1        | 11 #  | 410    | +1  | 16 #            | 415  | +1  | 23 #           | 41:       | Ŧ   | 21  | #                |
| la. <sup>1</sup> .almml vembb            | HK NV     | 387      | +I          | 46 *   | ñ       | 55 ±            | 4     | *        | 358  | +1        | 44 *     | 348   | +1        | 40 *  | 345    | +1  | 38 *            | 345  | +1  | 35 *           | 34        | +1  | 36  |                  |
| ic. Summi yeman                          | NK HV     | 423      | +1          | 39     | 3       | 93 ±            | 8     | 37       | 388  | +1        | 37       | 320   | +1        | 30 #, +   | 330    | +1  | 28 #, +         | 388  | +1  | 42             | 41        | +   | 37  |                  |
|  | HK HV     | 408      | +1          | 41     | ä       | 80              | m<br> | 88       | 367  | +1        | 35       | 316   | +1        | 27 #  | 328    | +1  | 32 #            | 383  | +1  | 34             | 41        | +   | 34  | +                |
| Tchollo 2. Curtomiccho                   | Vuololond | 0 00 000 | tor do      | " Dule | autorle | ulcus.          |       | d abaala | +0+0 | accord to | ni no On | Abbäy | and and a | the second se | 101 20 |     | 71040101010     | CITA |     | Voblan         | : 100 040 |     |     | ac.              |

(HK) unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Angabe des Herzzeitvolumens (HZV) in [m]/kg/min], des systemisch vaskulären Wiederstandes Gasapplikation (Gas) sowie der 30- (HV30) und 60-minütige (HV60) Schock mit änschließender Retransfusion und erneuten Messungen nach 30 (RT30) und 60 (RT60) Minuten. Die Darstellung erfolgt als MW +/- SEM. Signifikante Ergebnisse gegenüber der normokapnischen Kontrollgruppe (\*) und der normovolämen Kontrollgruppe (+) sowie der jeweiligen Baseline (#) werden zu einem Signifikanzniveau von p<0,05 in der multifaktoriellen Varianzanalyse angegeben. (SVR) in [mmHg/l/min], des Schlagvolumens (SV) in [ml], des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) in mmHg, der Herzfrequenz (HR) in [1/min], des systemischen Sauerstoffangebots (DO<sub>2</sub>) in [ml/kg/min] und der arteriellen Blutdruckanstiegsgeschwindigkeit (dPmax) in [mmHg/s]. Aufgeführt sind die Zeitpunkte Baseline, Sucrose- und

### 3.2.2 Arterielle Blutgase

Unter physiologischen Kreislaufbedingungen kam es zu nur geringfügigen Schwankungen des pH-Werts, welcher durchgehend im physiologischen Bereich lag. Unter Hämorrhagie zeigte sich kein Effekt der lokalen Kohlenstoffdioxidapplikation auf den systemischen pH-Wert.

Der  $p_aO_2$  blieb stets innerhalb physiologischer Grenzen und schwankte nur minimal. Der  $p_aCO_2$ zeigte trotz etCO<sub>2</sub>-gesteuerter, manueller Adjustierung der Atemfrequenz in beiden Schockgruppen einen Anstieg von 35 ± 1 mmHg auf 40 ± 1 mmHg. Eine lokale Hyperkapnie hatte keinen Effekt auf den Anstieg des  $p_aCO_2$  (s. Abb. 11).



Abb. 11: Arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck ( $p_aCO_2$ ): Gegenüberstellung normokapnischer (NK) und hyperkapnischer (HK) Versuchsgruppen unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Der  $p_aCO_2$  wird zu den Messpunkten unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Sucrosegabe (Sucrose), nach Beginn der Gasintervention (Gas), sowie nach 30- bzw. 60-minütigen Schock (HV30, HV60) und Retransfusion (RT30, RT60) in mmHg angegeben. Darstellung als MW +/- SEM für n = 6 Hunde, \* = p<0,05 zur jeweiligen normokapnischen Kontrollgruppe.

Die arterielle Sauerstoffsättigung erreichte nie Werte unter 98% und verblieb somit unabhängig der Versuchsbedingungen innerhalb physiologischer Grenzen.

| Variable  | Gruppe   |  | Basel                     | ine                                 | Ś                   | ncre                    | ose  |                            | Ű                    | as                                   |                             | ŇΗ                        | 80  |                        | ₹               | 60                              |                           | *                            | T30                                    |                             | R  | T60                       |                   |
|---|--|--|---------------------------|-------------------------------------|---------------------|-------------------------|--|----------------------------|----------------------|--------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|---|------------------------|-----------------|---------------------------------|---------------------------|------------------------------|--|-----------------------------|--|---------------------------|-------------------|
|   | NK NV  | 98,6   | +I                        | 0,08                                | 98,5                | +1                      | 0,09   | 98,(                       | +                    | 60'0                                 | 98,5                        | +1                        | 0,11  | 98,5                   | +1              | 0,08                            | 98                        | ,6 ±                         | 0,07                                   | 98,                         | + 1  | 0,1                       |                   |
| C.O. [92]   | HK NV  | 98,6   | +I                        | 0,12                                | 98,6                | +I                      | 0,03   | 98,(                       | +                    | 0,04                                 | 98,6                        | +1                        | 0,05  | 98,6                   | +I              | 0,07                            | 98                        | ,6 ±                         | 0,08                                   | 98,                         | 7 ±  | 0,07                      |                   |
| 2302 [70]   | NK HV  | 98,5   | +1                        | 60'0                                | 98,6                | +1                      | 0,13   | 98,7                       | +1                   | 0,1                                  | 8                           | +1                        | 0,11 #,+  | 98,2                   | +1              | 0,14                            | 8                         | +1                           | 0,04 #                                 | 98,6                        | +1   | 0,08                      |                   |
|   | HK HV  | 98,6   | +1                        | 0,12                                | 98,6                | +1                      | 0,12   | 98,7                       | +                    | 0,09                                 | 98,2                        | +1                        | 0,13 #, +   | 98,2                   | +1              | 0,08 #,                         | + 98                      | +<br>+                       | 0,08 +                                 | 98,8                        | +1   | 0,05                      | *                 |
|   | NK NV  | 12,1   | +I                        | 0,14                                | 12,1                | +1                      | 0,15   | 12,3                       | +                    | 0,18                                 | 12,3                        | +1                        | 0,21 #  | 12,2                   | +1              | 0,18                            | 12                        | ,3 ±                         | 0,2                                    | 12,3                        | Ŧ  | 0,22                      |                   |
| 111- F- 400-1-11  | HK NV  | 12,2   | +1                        | 0,23                                | 12,2                | +1                      | 0,22   | 12,3                       | +1                   | 0,22                                 | 12,4                        | +1                        | 0,25 #  | 12,4                   | +I              | 0,24                            | 12                        | +                            | 0,27                                   | 12,4                        | +1   | 0,22                      |                   |
| Г шоот.Я ан   | NK HV  | 12,1   | +1                        | 0,22                                | 12,1                | +1                      | 0,24   | 12,2                       | +                    | 0,24                                 | 12,2                        | +1                        | 0,19  | 12                     | +I              | 0,2 +                           |                           | 12 ±                         | 0,2 +                                  | Ħ                           | +  | 0,24                      | +                 |
|   | HK HV  | 12,4   | +1                        | 0,34 *                              | 12,3                | +1                      | 0,34 *   | 12,3                       | +1                   | 0,36                                 | 12,5                        | +1                        | 0,36 *,#  | 12,3                   | +I              | 0,36 *                          | 12                        | +                            | 0,35 #, +                              | + 12,:                      | +1   | 0,34                      | <b>#</b> '+       |
|   | NK NV  | 153  | +1                        | 2                                   | 152                 | +1                      | 2  | 15                         | +1                   | 4                                    | 155                         | +1                        | 4   | 155                    | +1              | 3                               | 1                         | 53 ±                         | 3                                      | 16:                         | +  | 4                         |                   |
|   | HK NV  | 151  | +1                        | 5                                   | 152                 | +1                      | 2  | 15:                        | +1                   | 1                                    | 156                         | +1                        | 2   | 156                    | +1              | 2                               | 1                         | 54 ±                         | 3                                      | 16(                         | +  | 2                         | #                 |
| po <sub>2</sub> [mmng]  | NK HV  | 149  | +1                        | 3                                   | 156                 | +1                      | 5  | 16                         | +                    | 3#                                   | 142                         | +1                        | 2 +   | 150                    | +I              | 4                               | 1                         | 64 ±                         | 2 #, +                                 | + 15(                       | +  | 44                        |                   |
|   | HK HV  | 153  | +1                        | 5                                   | 154                 | +1                      | 4  | 159                        | +                    | 3                                    | 147                         | +1                        | 3   | 149                    | +1              | 2                               | 1(                        | 67 ±                         | 3 #, +                                 | + 16                        | +  | 2                         | *,#               |
|   | NK NV  | 34   | +I                        | 0                                   | 35                  | +1                      | 0  | 3                          | +                    | 1                                    | 36                          | +1                        | # 0   | 36                     | +1              | 1#                              | ,                         | 37 ±                         | 1 #                                    | 3                           | Ŧ  | 1                         | #                 |
|   | HK NV  | 36   | +1                        | 1                                   | 36                  | +1                      | 0  | э.                         | +                    | 0                                    | 37                          | +1                        | 0   | 37                     | +1              | 1#                              |                           | 37 ±                         | 1#                                     | ĩ                           | +  | 1                         |                   |
| pco <sub>2</sub> [mmng]   | NK HV  | 35   | +1                        | 1                                   | 36                  | +1                      | 1  | 3(                         | +                    | 1                                    | 40                          | +1                        | 1 #, +  | 40                     | +1              | 1#                              |                           | 36 ±                         | 1                                      | 3                           | +  | 1                         |                   |
|   | HK HV  | 35   | +1                        | 1                                   | 36                  | +1                      | 1  | ň                          | +1                   | 1                                    | 40                          | +1                        | 1#,+  | 41                     | +1              | #<br>7                          |                           | 37 ±                         | 1#                                     | ñ                           | +  | 1                         |                   |
|   | NK NV  | 7,39   | +1                        | 0,01                                | 7,4                 | +1                      | 0,01   | ÷L                         | +1                   | 0,01 #                               | 7,4                         | +1                        | 0,01 #  | 7,4                    | +1              | 0,01 #                          | 2                         | 4,<br>+i                     | 0,01 #                                 | 1't                         | +1   | 0,01                      | #                 |
|   | HK NV  | 7,39   | +1                        | 0,01                                | 7,38                | +1                      | 0,01   | 7,38                       | +1                   | 0,01                                 | 7,38                        | +1                        | 0,01 *  | 7,37                   | +1              | 0,01 *,#                        | 7,                        | 37 ±                         | 0,01 #                                 | 7,38                        | +1   | 0,01                      | *                 |
| Ed.   | NK HV  | 7,4  | +1                        | 0,01                                | 7,39                | +1                      | 0,01   | 7,39                       | +1                   | 0,01                                 | 7,32                        | +1                        | 0,01 #, +   | 7,33                   | +1              | 0,01 #,                         | 7,                        | 37 ±                         | 0,01 #, +                              | + 7,3                       | +  | 0,01                      | # <sup>,</sup> +  |
|   | HK HV  | 7,4  | +1                        | 0,01                                | 7,39                | +1                      | 0,01   | 7,39                       | +                    | 0,01 #                               | 7,33                        | +1                        | 0,01 #, +   | 7,32                   | +1              | 0,01 #,                         | + 7,                      | 37 ±                         | 0,01 #                                 | 7,31                        | +  | 0,01                      | #                 |
|   | NK NV  | 20,3   | +1                        | 0,27                                | 30,3                | +1                      | 0,24   | 20,1                       | +                    | 0,3                                  | 19,8                        | +1                        | 0,38  | 19,6                   | +1              | 0,48 #                          |                           | 20 ±                         | 0,53                                   | 19,8                        | Ŧ  | 0,41                      |                   |
| UCO - Lamal. 1 <sup>1</sup> 1   | HK NV  | 21   | +I                        | 0,21 *                              | 20,9                | +1                      | 0,15 *   | 2                          | +                    | 0,15 *                               | 21                          | +1                        | 0,27 *  | 20,9                   | +1              | 0,24 *                          | 20                        | ,8 ±                         | 0,25 *                                 | 20,(                        | Ŧ  | 0,32                      | *                 |
|   | NK HV  | 21,2   | +1                        | 0,15 +                              | 21                  | +1                      | 0,16 +   | 20,9                       | +                    | 0,15 +                               | 20,2                        | +1                        | 0,15 #  | 20,3                   | +1              | 0,17 #,                         | + 20                      | ,6 ±                         | + 0                                    | 20,                         | +  | 0,21                      | +                 |
|   | HK HV  | 21,3   | +1                        | 0,25                                | 21,2                | +1                      | 0,22   | 20,8                       | +1                   | 0,11                                 | 20,1                        | +1                        | 0,13 #, +   | 20,3                   | +1              | 0,06 #                          | 20                        | ,5 ±                         | 0,24 #                                 | 20,4                        | +1   | 0,17                      | #                 |
|   | NK NV  | -3,7   | +1                        | 0,34                                | -3,9                | +1                      | 0,26   | 4                          | +1                   | 0,3                                  | -4,6                        | +1                        | 0,37 #  | -4,8                   | +1              | 0,51 #                          | 4                         | ,6 ±                         | 0,52 #                                 | -4,                         | +  | 0,45                      | #                 |
| u   | HK NV  | -3,1   | +1                        | 0,23                                | -3,2                | +1                      | 0,17   | -3,                        | +1                   | 0,2 *                                | -3,2                        | +1                        | 0,32 *  | -3,4                   | +1              | 0,34 *                          | ų                         | ÷5                           | 0,39 *                                 | -3,(                        | +1   | 0,44                      | *                 |
| 4   | NK HV  | -2,8   | +1                        | 0,14 +                              | 'n                  | +1                      | 0,12 +   | , e,                       | +1                   | 0,12 +                               | -4,7                        | +1                        | 0,24 #  | -4,6                   | +1              | 0,25 #                          | ų                         | +                            | 0,22 #, +                              | +<br>,9,0                   | +1   | 0,25                      | # <sup>,</sup> +  |
|   | HK HV  | -2,7   | +1                        | 0,33                                | -2,9                | +1                      | 0,22   | ς,<br>Έ                    | +1                   | 0,21                                 | -4,9                        | +1                        | 0,19 <b>#,</b> +                                  | -4,7                   | +1              | 0,17 #,                         | Ψ.                        | +                            | 0,21 #                                 | ۲                           | +1   | 0,12                      | #                 |
|   | NK NV  | 1,1  | +1                        | 0,2                                 | 1,3                 | +1                      | 0,2  | 1,(                        | +1                   | 0,2                                  | 2                           | +1                        | 0,3 #   | 2,3                    | +1              | 0,4 #                           | 2                         | ,2 ±                         | 0,4 #                                  | 2,3                         | +1   | 0,4                       | #                 |
| I abtat [mma]. <sup>1-1</sup> 1   | HK NV  | 1,1  | +1                        | 0,1                                 | 1,2                 | +1                      | 0,2  | 1,1                        | +1                   | 0,1                                  | 1,2                         | +1                        | 0,1 *   | 1,3                    | +1              | 0,1 *                           | 7                         | ,3<br>H                      | 0,1 *                                  | 1,                          | +1   | 0,1                       | *                 |
|   | NK HV  | 0,9  | +I                        | 0,1                                 | 1,1                 | +I                      | 0,1  | 1,1                        | +                    | 0,1                                  | 1,3                         | +1                        | 0,1 +   | 1,3                    | +1              | 0,1 +                           | 1                         | ,2 ±                         | 0,1 +                                  | 1,                          | 5 <del>+</del>                                     | 0,1                       | +                 |
|   | HK HV  | 0,9  | +1                        | 0,2                                 | 1,1                 | +1                      | 0,2  | 1,4                        | +                    | 0,2                                  | 1,6                         | +1                        | 0,2 #   | 1,5                    | +1              | 0,2 #                           | 1                         | ,5 ±                         | 0,3                                    | 1,(                         | ÷  | 0,3                       | #                 |
| Tabelle 4: Arterielle BI<br>Kreislaufbedingungen.<br>Kohlenstoffdioxidparti | utgasanalys<br>Angabe de<br>aldrucks (p <sub>i</sub> | en in <i>A</i><br>r arte<br>(CO <sub>2</sub> ) i | vbhäng<br>rielle<br>n [mr | gigkeit vo<br>Sauersto<br>nHg], des | ffsättig<br>pH-W    | · loka<br>ung<br>erts ( | len Stich<br>(S <sub>a</sub> O <sub>2</sub> ) i<br>pH), de | cstoff-<br>n Pro<br>r Stan | (NK) zent [<br>dardb | und Kohle<br>%], des F<br>ikarbonati | nstoffd<br>lämogl<br>konzen | ioxida<br>obing<br>tratio | applikatio<br>ehalts (H<br>n (HCO <sub>3</sub> -) | n (HK<br>b) in<br>sowi | ) unt(<br>[g/1] | er physi<br>00ml], c<br>Laktatk | ologis<br>les al<br>onzer | chen (<br>rteriel<br>itratic | (NV) und h<br>len Sauer<br>on (Laktat) | nämorr<br>stoff-  <br>in [m | hagis<br>(p <sub>a</sub> 0 <sub>2</sub> )<br>mol/l | chen (F<br>) und<br>] und | HV)<br>des<br>des |
| Basenüberschuss (BE)<br>Retransfusion und ern                               | . Angegebei<br>euten Messi                           | n sind<br>ingen                                  | die z<br>nach             | leitpunkt<br>30 (RT30               | e Basel<br>)) und ( | ine, :<br>50 (R         | sucrose-<br>T60) M   | - und<br>inuten            | Gasap<br>. Die I     | plikation<br>Darstellun <sub>i</sub> | g erfolg                    | sowie<br>st als           | der 30-<br>MW +/- 3                               | (HV30<br>SEM. S        | ) un<br>ignifi  | d 60-mi<br>kante Ei             | nütig<br>rgebn            | e (HV<br>isse g              | 60) Schoc<br>egenüber                  | ik mit<br>der no            | ansch<br>rmoka                                     | ließen<br>apnisch         | der<br>hen        |
| Kontrollgruppe (*) und<br>angegeben.  | der normo  | 70läme   | en Kor                    | itrollgrup                          | (+) add             | sowie                   | e der jew  | veilige                    | n Base               | eline (#) w                          | erden 2                     | zu ein                    | em Signif   | ikanzr                 | iveau           | ı von p<                        | 0,05 i                    | n der                        | multifakto                             | riellen                     | Varia  | nzanal                    | yse               |

### 3.2.3 Systemisches Sauerstoffangebot

Im hämorrhagischen Schock kam es zu einer Reduktion des systemischen Sauerstoffangebots von 14,4  $\pm$  0,83 ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> auf 7,4  $\pm$  0,51 ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>. Kohlenstoffdioxid hatte keinen Einfluss auf den DO<sub>2</sub>-Abfall. Das DO<sub>2</sub> unter Hyperkapnie fiel von 14,7  $\pm$  0,38 ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> auf 7,3  $\pm$  0,64 ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> (s. Abb. 12).



Abb. 12: Systemisches Sauerstoffangebot (DO<sub>2</sub>): Gegenüberstellung normokapnischer (NK) und hyperkapnischer (HK) Versuchsgruppen unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Das DO<sub>2</sub> wird zu den Messpunkten unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Sucrosegabe (Sucrose), nach Beginn der Gasintervention (Gas), sowie nach 30- bzw. 60-minütigen Schock (HV30, HV60) und Retransfusion (RT30, RT60) in ml/kg/min angegeben. Darstellung als MW +/- SEM für n = 6 Hunde, \* = p<0,05 zur jeweiligen normokapnischen Kontrollgruppe.

Eine signifikante Steigerung des systemischen Sauerstoffangebots in der NK NV-Gruppe bereits unter Ausgangsbedingungen und über die gesamte Versuchsdauer ist auf das erhöhte Herzzeitvolumen eines einzelnen Tieres zurückzuführen. Die Darstellung als Änderung bezogen auf den jeweiligen Baselinewert zeigt keinen signifikanten Unterschied des DO<sub>2</sub> durch Kohlenstoffdioxidapplikation unter physiologischen Kreislaufbedingungen (s. Abb. 13).



Abb. 13: Systemisches Sauerstoffangebot bezogen auf den Ausgangswert ( $\Delta DO_2$ ): Gegenüberstellung normokapnischer (NK) und hyperkapnischer (HK) Versuchsgruppen unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Das  $\Delta DO_2$  wird zu den Messpunkten unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Sucrosegabe (Sucrose), nach Beginn der Gasintervention (Gas), sowie nach 30- bzw. 60-minütigen Schock (HV30, HV60) und Retransfusion (RT30, RT60) in ml/kg/min angegeben. Darstellung als MW +/- SEM für n = 6 Hunde, \* = p<0,05 zur jeweiligen normokapnischen Kontrollgruppe.

# 3.3 Indirekte Parameter des Zellmetabolismus

### 3.3.1 Mikrozirkulatorisches Sauerstoffangebot

Während das mikrovaskuläre Sauerstoffangebot des Magens in allen vier Versuchsgruppen konstant war, kam es im Mund zu einer Reduktion des  $\mu$ DO<sub>2</sub> von 1555 ± 310 aU auf 843 ± 303 aU durch die Induktion des Schocks. Die lokale CO<sub>2</sub>-Gabe hatte jedoch keinen Effekt auf das mikrovaskuläre Sauerstoffangebot im Schock.

# 3.3.2 Mikrozirkulatorischer Sauerstoffverbrauch

Entgegengesetzt dem mikrovaskulären Sauerstoffangebot, führte der Schock nicht an der oralen, sondern an der gastralen Mukosa zu einem gesteigerten Sauerstoffverbrauch. Dieser stieg von  $519 \pm 63$  aU auf  $1734 \pm 243$  aU an. Eine lokale Hyperkapnie hatte ungeachtet der begleitenden Kreislaufbedingungen weder am Magen noch im Mund einen Effekt auf den mikrovaskulären Sauerstoffverbrauch.

# 3.4 Sucrosekonzentration im Serum als Marker für Barrierestörungen

Die Messung der Sucrosekonzentration im Serum zur Bestimmung einer intestinalen Permeabilitätsstöung konnte weder einen Effekt von Kohlenstoffdioxid auf die mukosale Barriere nachweisen, noch gelang es, eine gesteigerte Permeabilität im hämorrhagischen Schock abzubilden. Die plasmatische Sucrosekonzentration unterlag deutlichen Schwankungen zwischen den Versuchen. Dies wird durch eine große Streuung abgebildet.

| Variable        | Gruppe |      | <b>3ase</b> | line |      | Sucr | ose   |      | Ga | s                |      | H  | 30     |     |     | HV6  | -        |      | RT | 30    |      | RT6 | 0     |
|-----------------|--------|------|-------------|------|------|------|-------|------|----|------------------|------|----|--------|-----|-----|------|----------|------|----|-------|------|-----|-------|
|                 | NK NV  | 2543 | +1          | 175  | 4427 | +1   | 640 # | 4367 | +1 | 465 #            | 4156 | +I | 538 #  | 4   | 450 | +    | # 00     | 4400 | +1 | 394 # | 3939 | +1  | 595   |
| [1] Mazan [1]   | HK NV  | 3272 | +1          | 526  | 2920 | +I   | 481 * | 3736 | +1 | 543              | 3894 | +1 | 509    | e   | 430 | +    | 120      | 4023 | +I | 367   | 4227 | +1  | 676   |
|                 | NK HV  | 2386 | +1          | 246  | 2865 | +1   | 352 + | 2949 | +1 | 408              | 2878 | +I | 373    | 2   | 658 | +    | 116 +    | 3061 | +I | 507   | 3481 | +1  | 521   |
|                 | HK HV  | 2936 | +1          | 316  | 3033 | +1   | 479   | 4285 | +1 | 721              | 3911 | +  | 730    | 4   | 340 | ± 1: | 83 *     | 3973 | +I | 795   | 3579 | +1  | 609   |
|                 | NK NV  | 2370 | +1          | 376  | 2703 | +I   | 589   | 1955 | +1 | 127              | 2460 | +1 | 596    | 2   | 172 | +    | 142      | 2278 | +I | 323   | 2142 | +1  | 450   |
|                 | HK NV  | 2117 | +I          | 226  | 1997 | +1   | 202   | 2809 | +1 | 531              | 3120 | +I | 468    | 2   | 451 | +    | 105      | 2727 | +I | 540   | 2413 | +1  | 363   |
|                 | NK HV  | 1555 | +1          | 310  | 2026 | +I   | 616   | 1851 | +1 | 455              | 843  | +  | 303 +  |     | 625 | +    | 57 +     | 1800 | +I | 310   | 3126 | +1  | 482 # |
|                 | HK HV  | 2098 | +1          | 335  | 2246 | +I   | 555   | 3229 | +1 | 611 *            | 973  | +I | 278 +  | 1   | 322 | +1   | 104      | 2679 | +I | 680   | 2922 | +1  | 423   |
|                 | NK NV  | 422  | +I          | 129  | 653  | +1   | 201   | 850  | +1 | 178              | 1000 | +I | 208 #  | 1   | 143 | +    | # 65;    | 869  | +I | 263   | 824  | +1  | 318   |
| [1] hose M OV.  | HK NV  | 694  | +I          | 121  | 609  | +I   | 111   | 722  | +1 | 213              | 767  | +I | 174    |     | 804 | +    | 66       | 830  | +I | 118   | 812  | +1  | 154   |
|                 | NK HV  | 519  | +I          | 63   | 567  | +I   | 62    | 540  | +1 | 66               | 1734 | +1 | 243 #, | +   | 295 | +1   | \$20 #   | 671  | +I | 152   | 594  | +1  | 123   |
|                 | HK HV  | 439  | +1          | 100  | 435  | +1   | 60    | 534  | +1 | 117              | 1579 | +  | 244 #, | + 1 | 501 | +    | 141 #, + | 573  | +I | 115   | 525  | +1  | 86    |
|                 | NK NV  | 349  | +I          | 86   | 420  | +I   | 124   | 293  | +1 | 31               | 443  | +I | 122    |     | 328 | +1   | 42       | 341  | +I | 33    | 311  | +1  | 77    |
| [1]e] Jeze O/(" | HK NV  | 353  | +I          | 67   | 337  | +1   | 73    | 447  | +1 | <mark>9</mark> 1 | 410  | +I | 67     |     | 390 | +1   | 68       | 490  | +I | 63    | 300  | +1  | 53    |
|                 | NK HV  | 255  | +I          | 66   | 371  | +I   | 104   | 296  | +1 | 63               | 494  | +I | 158    |     | 311 | +1   | 62       | 352  | +I | 88    | 181  | +1  | 40    |
|                 | HK HV  | 338  | +1          | 66   | 406  | +1   | 125   | 456  | +1 | 165              | 407  | +1 | 104    |     | 405 | +1   | 68       | 484  | +1 | 113   | 257  | +1  | 74    |

Tabelle 5: Mikrovaskuläres Sauerstoffangebot (µD02) und mikrovaskulärer Sauerstoffverbrauch (µV02) an oraler und gastraler Schleimhaut in Abhängigkeit von einer lokalen Stickstoff- (NK) und Kohlenstoffdioxidapplikation (HX) unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen in arbitrary units (aU). Angegeben sind die Zeitpunkte Baseline, Sucrose- und Gasapplikation (Gas) sowie der 30- (HV30) und 60-minütige (HV60) Schock mit anschließender Retransfusion und erneuten Messungen nach 30 (RT30) und 60 (RT60) Minuten. Die Darstellung erfolgt als MW +/- SEM. Signifikante Ergebnisse gegenüber der normokapnischen Kontrollgruppe (\*) und der normovolämen Kontrollgruppe (+) sowie der jeweiligen Baseline (#) werden zu einem Signifikanzniveau von p<0,05 in der multifaktoriellen Varianzanalyse angegeben.

| Variable              | Gruppe |     | Base | line |     | Sucr | rose |     | 9  | as   |     | H  | /30  |   | -   | 1100  |   |   | RT3 | 0 |   | RI | L60 |  |
|-----------------------|--------|-----|------|------|-----|------|------|-----|----|------|-----|----|------|---|-----|-------|---|---|-----|---|---|----|-----|--|
|                       | NK NV  | 1,7 | +I   | 0,63 | 1,7 | Ŧ    | 0,63 | 1,7 | +1 | 0,63 | 0,2 | +I | 0,11 | 2 | 3   | 1,4   | 7 | 0 | +1  | 0 | 0 | +I | 0   |  |
| [[ii] and [Vilaco/ii] | HK NV  | 1,2 | +I   | 0,4  | 1,2 | ŧ    | 0,4  | 1,2 | +1 | 0,4  | 0,1 | +I | 0,09 |   | 1   | 0     | 9 | 0 | +1  | 0 | 0 | +I | 0   |  |
| anci ose [vàiose/ hi] | NK HV  | 1   | +I   | 0,36 | 1   | ±    | 0,36 | 1   | +I | 0,36 | 1,8 | +I | 1,3  | 1 | 3 1 | : 0,5 | 6 | 0 | +I  | 0 | 0 | +I | 0   |  |
|                       | HK HV  | 0,2 | +I   | 0,11 | 0,2 | +I   | 0,11 | 0,2 | +I | 0,11 | 1,8 | +I | 1,1  |   |     | 0,6   | 2 | 0 | +1  | 0 | 0 | +I | 0   |  |

hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen. Angabe in [Xylose/µl]. Aufgeführt sind die Zeitpunkte Baseline, Sucrose- und Gasapplikation (Gas) sowie der 30- (HV30) und 60-minütige (HV60) Schock mit anschließender Retransfusion und erneuten Messungen nach 30 (RT30) und 60 (RT60) Minuten. Die Darstellung erfolgt als MW +/- SEM. Signifikante Ergebnisse gegenüber der normokapnischen Kontrollgruppe (\*) und der normovolämen Kontrollgruppe (+) sowie der jeweiligen Baseline (#) werden zu einem Signifikanzniveau von p<0,05 in Tabelle 6: Plasmatische Sucrosekonzentration (Sucrose) in Abhängigkeit von einer lokalen Stickstoff- (NK) und Kohlenstoffdioxidapplikation (HK) unter physiologischen (NV) und der multifaktoriellen Varianzanalyse angegeben.

# 4 Diskussion

## 4.1 Methodenkritik

Ein streng standardisiertes Vorgehen war nötig, um mit einer geringen Anzahl an Versuchstieren valide Aussagen formulieren zu können. Die Versuche wurden immer zur gleichen Tageszeit in einem abgedunkelten Raum durchgeführt, um einen Einfluss der zirkadianen Rhythmik zu unterbinden<sup>100</sup>. Um das Geschlecht als möglichen *confounder* zu eliminieren, nahmen ausschließlich weibliche Hunde an den Versuchen teil. Hunde im Oestrus wurden von den Versuchen ausgeschlossen um hormonelle Schwankungen zu minimieren<sup>100</sup>. Die Versuche wurden in einem Crossover-Studiendesign durchgeführt, in dem jeder Hund in zufälliger Reihenfolge alle vier Studienprotokolle durchlief und sich selbst als Kontrollgruppe diente<sup>62</sup>. Interindividuelle Schwankungen der Messwerte wurden somit minimiert. Einen weiteren Vorteil stellt die leichte Trainierbarkeit der Hunde für eine komplikationslose und für die Versuchstiere stressfreie Durchführung der Versuche dar. Psychischer Stress durch eine ungewohnte Versuchsumgebung kann zu einer Ausschüttung endogener Katecholamine führen und somit die Messergebnisse verfälschen. Messungen an einem Kleintiermodell wären aufgrund der aufwendigen Instrumentierung nicht möglich gewesen. Sowohl die O2C-Sonden als auch der Thermodilutionskatheter des Picco-Systems benötigen für den atraumatischen Vorschub einen größeren ösophagealen und arteriellen Durchmesser als er bei Kleintieren vorliegt. Wiederholte Blutabnahmen von mindestens 1ml Volumen für arterielle Blutgasanalysen und die Bestimmung der Sucrosewerte im Plasma wären - beispielsweise in einem Mausmodell - nicht ohne Beeinflussung hämodynamischer Parameter möglich gewesen. Großtiermodelle sind hinsichtlich der Hämodynamik eher mit dem Menschen vergleichbar als Kleintiermodelle und ermöglichen eine nicht-invasive, intraabdominellen Messung ohne ein chirurgisches Trauma zu verursachen. Chirurgische Interventionen im Rahmen eines darüber hinaus erweiterten Monitorings würden zusätzlichen Stress für die Versuchstiere und eine weitere Eintrittspforte für bakterielle Erreger darstellen, welche potentiell Einfluss auf die Ergebnisse unserer Messung nehmen könnten.

Nach Instrumentierung der Hunde schloss sich eine Observationsphase zur Verifizierung einer korrekten Installation an. Erst bei einem stabilen Signal der Weißlichtspektrometrie, einer gleichbleibenden arteriellen Blutdruckkurve und stabilen Beatmungsparametern konnte davon ausgegangen werden, dass die nachfolgenden Effekte nicht auf die durchgeführte Anästhesie oder eine Manipulation im Rahmen der Instrumentierung zurückzuführen waren. Die mit der Aufzeichnung beginnende "Baseline"-Phase diente der Festlegung eines individuellen Grundniveaus.

## 4.1.1 Messung der Mikrozirkulation

Durch die Darstellung der oralen und gastralen Spektroskopiekurven auf einem externen Monitor konnte die korrekte Lage der Sonden auch während des Versuchs verifiziert werden. Beurteilt wurde hierzu die Oszillationscharakteristik der Messspektren. Da Nahrung im gastralen Lumen zu einer Fehlmessung und Dislokation der Messsonde führen kann, wurden die Hunde vor dem Versuchstag nüchtern belassen<sup>62</sup>.

Die Methode der Gewebsspektroskopie wurde bereits erfolgreich in Versuchsreihen zu den Themen Transplantatabstoßung<sup>101</sup>, kutane Lappenplastiken<sup>102,103</sup> und Wundheilungstörungen<sup>104</sup> verwendet. Außerdem erfolgten mehrere Versuchsreihen zur Evaluation der gastrointestinalen Mikrozirkulation<sup>105,106</sup>. Im Unterschied zu der gemischtvenösen Sauerstoffsättigung (SvO<sub>2</sub>) spiegelt die  $\mu$ HbO<sub>2</sub> ein kleineres Gefäßbett wider und erlaubt dadurch eine differenzierte Betrachtung der Sauerstoffreserve des untersuchten Gewebes.

Es wird vermutet, dass die Reduktion der mikrovaskulären Oxygenierung und damit auch der Gewebeintegrität im Schock auf eine Perfusionsheterogenität des Gewebes zurückzuführen ist<sup>107,108</sup>. Da mehrere Gefäße durch die Weißlichtspektroskopie erfasst werden, geben unsere Messungen einen Überblick über die Gesamtversorgung des Zielgewebes und werden nicht von einer punktuellen Heterogenität beeinflusst.

Das Kolon weist die dichteste bakterielle Besiedlung des Magendarmtrakts auf, sodass eine bakterielle Translokation insbesondere hier wahrscheinlich erscheint. Für eine Evaluation der Mikrozirkulation am Kolon wäre jedoch eine zusätzliche Instrumentierung nötig gewesen. Da ein chirurgisches Trauma die Mikrozirkulation negativ beeinflussen kann und durch die invasiven Messungen keine wiederholten Versuche möglich gewesen wären, wurde auf eine zusätzliche Instrumentierung verzichtet. Die Repräsentativität der oralen und gastralen Mikrozirkulationsmessung für den gesamten Magendarmtrakt konnte mehrfach in experimentellen Studien nachgewiesen werden<sup>109,110</sup>.

## 4.1.2 Cytocam-IDF

Neben der Beurteilung der Oxygenierung wurde in der vorliegenden Studie ergänzend die Flussqualität untersucht, da es zunehmende Hinweise auf einen Zusammenhang von gastrointestinaler Barrierefunktion und mikrovaskulärem Perfusionsmuster<sup>111</sup> gibt. Der genaue Zusammenhang zwischen Barrierefunktion, Perfusionsmuster und Oxygenierung ist hierbei nicht abschließend geklärt. In der vorliegenden Studie konnte die Mikrozirkulation in Echtzeit visualisiert und eine direkte Beurteilung von Gefäßarchitektur und Flussqualität durchgeführt werden<sup>89</sup>. Sowohl für den *De Backer Score*<sup>27</sup> als auch für die Berechnung des MFI<sup>91</sup> ist eine niedrige Variabilität und damit eine gute Reproduzierbarkeit beschrieben. Die Auswertung

unserer Daten erfolgte standardisiert und Software-unterstützt in Anlehnung an eine internationale Expertenempfehlung<sup>89</sup>. Da der MFI als Größe manuell bestimmt wird, erfolgte die Auswertung durch verblindete Untersucher.

In unseren Versuchen ging eine Verbesserung der oralen µHbO<sub>2</sub> mit einer signifikanten Steigerung des MFI einher, während die übrigen Parameter der erfassten Flussqualität keine Alteration durch die Gasapplikation zeigten. Es wird vermutet, dass die Heterogenität der Gewebeperfusion bei kritisch kranken Patienten zunimmt und unter anderem für eine reduzierte Barrierefunktion verantwortlich ist<sup>112,113,114,111</sup>. In diesem Fall wäre es möglich, dass unzureichend perfundierte Gefäße und solche mit kompensatorisch gesteigertem Fluss in direkter Nachbarschaft zu einander vorliegen. Da der MFI eine durchschnittliche Flussqualität darstellt, wäre ein unveränderter MFI trotz mikrozirkulatorischer Alteration fälschlicherweise möglich. Voraussetzung für die Bestimmung des MFI ist daher eine verhältnismäßig homogene Gewebeperfusion, wie sie in gesunden Organismen oder bei milden Krankheitszuständen auftritt<sup>89</sup>. Der Gebrauch des MFI ermöglicht in diesem Fall eine differenziertere Betrachtung der Flusscharakteristik<sup>85</sup>. Bei einer zunehmenden Kompromittierung der Mikrozirkulation hingegen muss der PPV als Maß für die Blutkonvektion genutzt werden. Eine differenziertere Darstellung der Perfusionsmuster, wie sie der MFI vornimmt, wäre in diesem Fall jedoch nicht mehr möglich<sup>89</sup>. Da es sich in unserem Schockmodell um die Induktion eines milden Schocks mit nur leichten Alterationen der Mikrozirkulation handelt, können die Ergebnisse des MFI in unsere pathophysiologischen Überlegungen einfließen. Durch die parallele Bestimmung des MFI sowie des PPV konnten wir die Blutkonvektion unabhängig von der hämodynamischen Kompromittierung im Schock abbilden. Entsprechend dem Ziel die Mikrozirkulation in milden und initialen Schockzuständen zu charakterisieren, konnten wir einen Einfluss der lokalen Hyperkapnie auf den MFI, nicht jedoch auf den PPV nachweisen. Um eine Veränderung des PPV durch Kohlenstoffdioxid im Schock darstellen zu können, wäre vermutlich die Induktion einer zunehmend schweren Hämorrhagie notwendig gewesen. Zusätzlich erfolgte die Messung des MFI an mehreren Orten, um den Einfluss einer heterogenen Gewebeperfusion auf unsere Messung zu minimieren.

Die Messung im hämorrhagischen Schock ist besonders anspruchsvoll, da es zu druckbedingten Messartefakten kommen kann. Insbesondere durch die verminderte Blutfülle der Gefäße kann es selbst bei geringem Anpressdruck vermehrt zu einem Kollaps der Kapillaren kommen, der fälschlicherweise als Minderperfusion fehlinterpretiert werden könnte. Andererseits führt ein zu geringer Anpressdruck zu einer reduzierten Bildqualität, sodass die Bildschärfe nicht für die automatische Auswertungssoftware ausreicht. Daher wurden einzelne Aufnahmen mit druckbedingten Messartefakten, welche verblindet gemäß den Kriterien der Konsensuskonferenz identifiziert wurden, ausgeschlossen<sup>89</sup>. Aufgrund einer nicht ausreichenden Aufnahmequalität erfolgte die Exklusion eines Versuchstieres, sodass die statistische Auswertung des MFI mit einem Stichprobenumfang von n=5 Hunden durchgeführt wurde.

## 4.1.3 Sucrosemessung

In der Bestimmung der plasmatischen Sucrosekonzentration zur Evaluation der Barrierefunktion konnte weder eine Steigerung der intestinalen Permeabilität im hämorrhagischen Schock, noch ein Effekt der Kohlenstoffdioxidapplikation nachgewiesen werden.

Während den Versuchen trat ein inkonstanter, nicht weiter quantifizierbarer Reflux auf, sodass nicht sicher zu bestimmen war, wie viel Sucrose sich zum Zeitpunkt des Schocks tatsächlich im Gastrointestinaltrakt befunden hat. Dies spiegelt sich in der großen Streuung der Messwerte wieder. Ein möglicher Anstieg der plasmatischen Sucrosekonzentration im hämorrhagischen Schock sowie ein Effekt der Kohlenstoffdioxidapplikation wird vermutlich durch die variable Streuung überdeckt, sodass statistisch kein signifikanter Effekt zu verzeichnen war.

#### 4.1.4 Interventionen

Ziel der Blutentnahme war die Induktion eines milden hämorrhagischen Schocks. Die Entnahme von 20% des geschätzten Blutvolumens stellt laut Advanced Trauma Life Support (ATLS) einen Schock der Stufe II dar, welcher mit der Ausschüttung endogener Katecholamine und somit einer peripheren Vasokonstriktion im Rahmen der physiologischen Zentralisation einhergeht<sup>115</sup>. Insgesamt handelt es sich bei dem Schock der Stufe II jedoch um ein potentiell reversibles Krankheitsbild. Wir konnten eine signifikante Verringerung des HZV und des DO<sub>2</sub>. sowie eine deutliche Reduktion der µHbO<sub>2</sub>, der TVD, der PPV und des MFI als Korrelat eines ausreichenden Schocks verzeichnen. Die µHbO2 als Hypoxieindikator fiel jedoch in keinem der Versuche unter 17,3% und befand sich damit stets oberhalb der kritischen Hypoxiegrenze für irreversible Schädigungen von 10%<sup>83</sup>. Sowohl bei Messungen der Mikrozirkulation als auch bei der Evaluation der Makrozirkulation, zeigte sich nach Retransfusion ohne Ausnahme eine Rekonstitution der Messwerte auf das ursprüngliche Niveau. Wir können somit von einem milden Schock ohne bleibende Organschädigung ausgehen. Ein fehlender Anstieg der Herzfrequenz könnte als ausbleibende Kreislaufkompensation gewertet werden und somit für einen zu milden hämorrhagischen Schock sprechen. Da jedoch Sevofluran zu einer Blockade des Baroreflexes führt, ist die Herzfrequenz kein geeigneter Parameter, um eine stattfindende Kompensation der Hypovolämie unter Sevoflurannarkose zu erfassen<sup>116</sup>. Somit waren unsere Interventionen ausreichend, um einen milden, reversiblen Schock zu induzieren, in dem eine therapeutische Intervention noch zu einem vermehrten Funktionserhalt führen kann.

# 4.2 Ergebnisdiskussion

Bezüglich der anfangs gestellten Fragen lassen sich folgende Ergebnisse aus den erhobenen Daten ableiten:

- (i) Eine lokale Hyperkapnie hat keinen Effekt auf die gastrale und orale Oxygenierung und Perfusion unter physiologischen Kreislaufbedingungen.
- (ii) Im hämorrhagischen Schock reduziert eine lokale CO<sub>2</sub>-Applikation den Abfall der mikrovaskulären Oxygenierung an der gastralen und oralen Schleimhaut und steigert den Mikrovaskulären Fluss Index.

Wie eingangs dargelegt, basiert der Gedanke, den Einfluss einer lokalen Hyperkapnie auf die gastrointestinale Mukosa zu untersuchen, auf tierexperimentellen Studien, welche einen protektiven Effekt von Kohlenstoffdioxid auf unterschiedliche Organsysteme vermuten lassen (s.o.). Ein erhöhter arterieller Kohlenstoffdioxidgehalt könnte jedoch auch mit nachteiligen Effekten - beispielsweise einer Azidose oder einem erhöhten intrazerebralen Druck - assoziiert sein<sup>59</sup>.

Unsere Ergebnisse zeigen zunächst, dass unter physiologischen Kreislaufbedingungen eine lokale Therapie mit Kohlenstoffdioxid ohne systemische Nebenwirkungen möglich und somit sicher anzuwenden ist. Allerdings ist diese unter physiologischen Bedingungen nicht in der Lage, die Mikrozirkulation analog zur systemischen Hyperkapnie zu verbessern<sup>48</sup>. Da in Vorgängerstudien eine konzentrationsabhängige Steigerung der µHbO<sub>2</sub> auch unter physiologischen Kreislaufbedingungen nachgewiesen werden konnte<sup>48</sup>, zeigt eine ausbleibende Steigerung des µHbO<sub>2</sub> in unseren Versuchen, dass es sich bei der durchgeführten Gasintervention um eine moderate Beeinflussung der lokalen Homöostase handelt. Eine Kohlenstoffdioxidapplikation vergleichbare führte unter hämorrhagischen Kreislaufbedingungen jedoch zu einem verminderten Abfall der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung im Schock. Die Autoregulation der Mikrozirkulation scheint somit unter pathologischen Kreislaufbedingungen sensibler für die kohlenstoffdioxidvermittelten Effekte zu sein als unter physiologischen Kreislaufbedingungen. Die Veränderungen waren dabei unabhängig von systemischen Kreislaufparametern.

Der protektive Effekt einer systemischen Kohlenstoffdioxidintervention auf die mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung wurde in vorherigen Studien auf eine Verbesserung hämodynamischer Parameter zurückgeführt<sup>48,49</sup>. In der aktuellen Versuchsreihe konnte zwar eine signifikante Reduktion des HZV sowie des MAP und des SV durch Induktion des hämorrhagischen Schocks nachgewiesen werden, es zeigte sich jedoch keine Modulation durch die lokale Kohlenstoffdioxidapplikation. Auch der absolute Sauerstoffgehalt des Blutes unterschied sich nicht, da sowohl die Hämoglobinkonzentration, als auch die Sauerstoffsättigung und der arterielle Sauerstoffpartialdruck konstant blieben. Folglich lag in beiden Versuchsgruppen ein vergleichbares, systemisches Sauerstoffangebot vor. Die Ursache für eine Verbesserung der  $\mu$ HbO<sub>2</sub> liegt somit wahrscheinlich in regionalen Veränderungen der Mikrozirkulation selbst und ist unabhängig von systemischen Kreislaufveränderungen. Denkbar wären folgende Mechanismen, die allesamt zu einer Steigerung des  $\mu$ HbO<sub>2</sub> im hämorrhagische Schock führen könnten:

- 1) Eine veränderte Balance aus arteriellem Zu- und venösem Abfluss
- Eine gesteigerte Sauerstoffliberalisation im Zielgewebe und Verk
  ürzung der Diffusionsstrecke durch Wiedereröffnung kollabierter Kapillaren
- 3) Veränderungen des Zellmetabolismus

Nachfolgend sollen die verschiedenen Mechanismen genauer beleuchtet und vor dem Hintergrund unserer Ergebnisse diskutiert werden.

# 4.2.1 Balance aus arteriellem Zu- und venösem Abfluss

Die Balance aus arterieller Blutzufuhr und venösem Blutabfluss hat, unter der Voraussetzung eines konstanten Zellmetabolismus, einen direkten Einfluss auf die mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung. Reduziert sich die arterielle Sauerstoffzufuhr, wird initial die gleiche Menge an Sauerstoff aus einem geringeren Blutvolumen extrahiert. Folglich verbleibt weniger Sauerstoff an Hämoglobin gebunden und als Gas gelöst im Blut und die µHbO<sub>2</sub> sinkt. Umgekehrt führt die Erhöhung der arteriellen Blutzufuhr, beispielsweise durch eine präkapilläre Vasodilatation<sup>43</sup>, wie sie aus der zerebralen Blutdruckregulation bekannt ist, zu einem Sauerstoffüberangebot und somit zu einer Steigerung der postkapillären Sauerstoffsättigung. Eine hyperkapnieinduzierte Aktivierung von Kaliumkanälen kann beispielsweise am Herzen im Rahmen einer akuten Myokardischämie eine Vasodilatation der Koronararterien induzieren und so die arterielle Blutzufuhr steigern<sup>117</sup>. Im Kolon konnte jedoch gezeigt werden, dass die protektiven Effekte einer Hyperkapnie auf die mikrozirkulatorische Oxygenierung unabhängig von der K<sup>+</sup><sub>ATP</sub>-Kanalaktivität sind<sup>118</sup>. Außerdem kam es in unseren Versuchen weder an der gastralen noch an der buccalen Mukosa zu einer signifikanten Steigerung des mikrovaskulären Blutflusses, wie es für eine präkapilläre Vasodilatation typisch gewesen wäre. Darüber hinaus vermindert eine lokale Hyperkapnie sowohl am Magen als auch an der Mundschleimhaut den rHb. Lokales Kohlenstoffdioxid verminderte den rHb-Abfall nur an der Mundschleimhaut, nicht jedoch am Magen, wohingegen eine lokale Hyperkapnie sowohl am Mund als auch am Magen den Abfall des µHbO<sub>2</sub> verminderte. Eine präkapilläre Vasodilatation mit einer Steigerung des mikrovaskulären Flusses und des relativen Hämoglobingehalts ist somit nicht für die kohlenstoffdioxidvermittelte Steigerung der  $\mu$ HbO<sub>2</sub> im Schock verantwortlich.

Neben einer arteriellen Reduktion der Sauerstoffzufuhr kann jedoch auch eine venöse Abflussstörung zu einer reduzierten  $\mu$ HbO<sub>2</sub> führen. Eine verlängerte Transitzeit führt in diesem Fall zu einer gesteigerten Sauerstoffausschöpfung. Der  $\mu$ flow wäre hierbei ähnlich der arteriellen Zuflussstörung reduziert, der rHb jedoch durch die Blutfülle gesteigert. Bei konstantem  $\mu$ flow und einem reduzierten statt gesteigerten rHb im normovolämen Schock ist jedoch nicht von einer venösen Abflussstörung als Ursache für den Abfall der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung auszugehen.

#### 4.2.2 Sauerstoffliberalisation im Zielgebewebe und Diffusionsstrecke zur Zelle

Da Sauerstoff ein membrangängiges Gas ist und biologische Lipidmembranen daher keine relevante Barriere darstellen, kommt der Liberalisation durch das Hämoglobin und der Diffusion zu den Parenchymzellen eine entscheidende Rolle für die periphere Sauerstoffversorgung zu. Eine Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve würde zu einer verstärkten Bindung der Sauerstoffmoleküle innerhalb des Hämoglobinmoleküls führen. Die Sauerstoffliberalisation wäre erschwert<sup>113</sup>, sodass Sauerstoff an Hämoglobin gebunden bleiben und eine Erhöhung der postkapillären Sauerstoffsättigung resultieren würde. Entsprechend unserem Versuchsprotokoll wäre eine Hyperkapnie oder eine lokale metabolische Azidose gewesen. Diese würden jedoch zu einer Rechtsverschiebung möglich der Sauerstoffbindungskurve mit erleichterter Sauerstofffreisetzung an das Gewebe führen<sup>16</sup>. Die mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung würde somit im Rahmen der Hyperkapnie weiter reduziert werden, anstatt durch lokale CO<sub>2</sub>-Applikation anzusteigen.

Anhand der Visualisierung der Mikrozirkulation mittels CytoCam war es uns möglich, die mikrozirkuläre Gefäßarchitektur direkt zu evaluieren. Eine Vergrößerung der Diffusionsstrecke würde hierbei durch eine Abnahme der TVD und der PVD aufgezeigt werden<sup>85</sup>. Tatsächlich konnten wir eine Reduktion von TVD und PVD und damit eine Zunahme der Diffusionsstrecke im Schock nachweisen. Die lokale CO<sub>2</sub>-Applikation führte jedoch nicht zu einem Anstieg der TVD und der PVD im Schock. Der Anstieg der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung in unseren Versuchen ist somit nicht das Resultat einer Wiedereröffnung kollabierter Gefäße mit konsekutiver Verkürzung der Diffusionsstrecke.

# 4.2.3 Veränderung des Zellmetabolismus

Bisher wurde davon ausgegangen, dass der zelluläre Sauerstoffverbrauch im hämorrhagischen Schock konstant bleibt und sich die Reduktion der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung auf hämodynamische Phänomene zurückführen lässt. Tatsächlich ist jedoch der Zellstoffwechsel und somit auch der Sauerstoffbedarf der einzelnen Zelle eine alternierende Variable<sup>119,120</sup>. Drei Mechanismen eines veränderten Zellstoffwechsels wären denkbar, die zu einer Steigerung der  $\mu$ HbO<sub>2</sub> führen.

Zunächst könnte Kohlenstoffdioxid eine Utilisationsstörung der Zellen gegenüber Sauerstoff induzieren. Eine Utilisationsstörung beschreibt den unzureichenden Gebrauch des verfügbaren Sauerstoffs trotz adäquatem Sauerstoffangebot. Hierdurch würde Sauerstoff im Zytoplasma akkumulieren und zurück in das Interstitium bzw. nach intravasal diffundieren. Der Sauerstoff würde wieder von Hämoglobin aufgenommen werden, wodurch es zu einer postkapillären Steigerung der Sauerstoffsättigung kommen würde. Der zelluläre Metabolismus würde hierdurch jedoch von einer aeroben auf eine anaerobe Stoffwechsellage wechseln, sodass Laktat akkumulieren und in die systemische Zirkulation ausgeschwämmt werden würde. Weder durch die Induktion des Schocks noch durch die Gasapplikation an Mund und Magen konnten wir eine Modulation des systemischen Laktatlevels feststellen. Eine zelluläre Utilisationsstörung ist daher unwahrscheinlich.

Als zweites wäre eine Reduktion des basalen Zellstoffwechsels denkbar, wie sie bereits für andere Organsysteme beschrieben wurde. Kardiomyozyten beispielsweise besitzen die Fähigkeit, im Rahmen einer koronaren Herzkrankheit bei kritischer Perfusion, ihren Energiestoffwechsel auf ein Minimum zu beschränken, um hypoxische Episoden besser bewältigen zu können<sup>121</sup>. Entgegen einem Myokardinfarkt sind diese Zellen jedoch vital, weisen keinen strukturellen Zellschaden auf und befinden sich lediglich in einem funktionellen "Winterschlaf". Über eine Myokardszintigrafie kann der basale Stoffwechsel visualisiert und der prognostische Wert einer Revaskularisierung abgeschätzt werden<sup>122</sup>. Vergleichbare Messmethoden sind für den Magendarmtrakt derzeit nicht etabliert. Es wäre jedoch auch am Magendarmtrakt denkbar, dass eine lokale Hyperkapnie den basalen Zellstoffwechsel reduziert und die Zellen so vor hypoxischen Schäden bewahrt. Die mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung würde dann im hämorrhagischen Schock auch ohne eine Zunahme des mikrovaskulären Flusses ansteigen.

Einen dritten Erklärungsansatz für die gesteigerte µHbO<sub>2</sub> stellt eine Effektivitätssteigerung der mitochondrialen Funktion dar<sup>123</sup>. Man geht davon aus, dass die ATPase-Funktion der ATP-Synthetase eine variable Energiebilanz pro Molekül Sauerstoff aufweist<sup>124,125</sup>. Die Zellen brauchen somit unterschiedlich viele Sauerstoffmoleküle, um eine gleichbleibende Anzahl an ATP Molekülen zu generieren und den basalen Stoffwechsel aufrechtzuhalten. Ein vergleichbarer Mechanismus wäre auch als Adaptationsmechanismus im Rahmen kritischer Erkrankungen denkbar. Entgegen einer Utilisationsstörung würde es sich in diesem Fall jedoch nicht um einen defizitären Stoffwechsel handeln. Das Laktat wäre somit normwertig, der

mikrovaskuläre Sauerstoffverbrauch  $\mu$ VO<sub>2</sub> wie in unseren Versuchen konstant und der  $\mu$ HbO<sub>2</sub>-Abfall vermindert.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass der Zellmetabolismus und insbesondere die mitochondriale Funktion entscheidende Variablen in der Beurteilung der mikrozirkulatorischen Sauerstoffbilanz sind. Während eine zelluläre Sauerstoffutilisationsstörung vor dem Hintergrund unserer Messung unwahrscheinlich erscheint, ist ein reduzierter, zellulärer Sauerstoffverbrauch und eine Verbesserung der mitochondrialen Zellatmung mit unseren Ergebnissen vereinbar. Beide Mechanismen stellen einen möglichen Erklärungsansatz für den verminderten Abfall der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung im hämorrhagischen Schock dar.

Sofern ein veränderter Zellmetabolismus ursächlich für eine Steigerung der  $\mu$ HbO<sub>2</sub> im hämorrhagischen Schock ist, bleibt jedoch ungeklärt, auf welchen Reiz es zu diesen Veränderungen kommt, da sowohl die Balance aus Blutzufuhr und Blutabfluss als auch die Gefäßarchitektur keinen Hinweis auf den ursächlichen Mechanismus geben.

Möglich wäre zum einen direkter Effekt des CO<sub>2</sub> auf zelluläre Signalkaskaden und die mitochondriale Funktion. In einem Ischämie-Reperfusionsmodell an Rattengehirnen führte die Applikation von Kohlenstoffdioxid zu einer Steigerung antiapoptotischer Proteine wie Bcl-2 und Bax im Zytoplasma. Außerdem wurde die Expression proapoptotischer Proteine wie dem zytosolischen Cytochrome C und der Caspase-3 inhibiert<sup>126</sup>. Die Autoren Chi und Wang konnten an Kardiomyozyten nachweisen, dass Kohlenstoffdioxid das mitochondriale Membranpotential und die Membranpermeabilität aufrechterhält und eine morphologische Veränderung der Mitochondrien verhindern kann<sup>127</sup>. Zuletzt ist anzumerken, dass eine oxydative Phosphorylierung unter aeroben Stoffwechselbedingungen zwar mit einer außerordentlich hohen ATP-Ausbeute von 30 ATP je Glucosemolekül einhergeht<sup>128</sup>, der zelluläre Strukturstoffwechsel jedoch hinsichtlich der energetischen Effizienz besser unter anaeroben Bedingungen zu bewältigen ist<sup>129</sup>. Kohlestoffdioxid übt somit unmittelbar eine Vielzahl von protektiven Effekten auf die zelluläre Funktion aus.

Zum anderen konnten wir in unserer Versuchsreihe zeigen, dass ein verminderter Abfall des  $\mu$ HbO<sub>2</sub> im hämorrhagischen Schock an der oralen Mundschleimhaut mit einer Steigerung des MFI einhergeht. Denkbar wäre somit, dass die verminderte Reduktion der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung nicht auf einen direkten Effekt auf die zelluläre Funktion, sondern auf eine verbesserte Flussqualität innerhalb der Mikrozirkulation zurückzuführen ist. Diese könnte den zellulären Metabolismus auch sekundär beeinflussen. Es fällt auf, dass die Steigerung der oralen mikrovaskulären Sauerstoffsättigung durch Kohlenstoffdioxid über die gesamte Dauer des Schocks von einer Steigerung des MFI begleitet wird. Der MFI ist somit der einzige, von uns

erfasste Parameter, welcher über die gesamte Versuchsdauer mit dem Verlauf des  $\mu$ HbO<sub>2</sub> korreliert, sofern dieser an der gleichen Stelle bestimmt wird.

Die Steigerung des MFI entspricht einem kontinuierlicheren Fluss innerhalb der Mikrozirkulation<sup>91</sup>. Der MFI gilt, wie auch der PPV, als Parameter der Blutflusskonvektion. Eine Steigerung des MFI durch lokales Kohlenstoffdioxid führt somit zu einer stabileren Sauerstoffkonvektion und vermutlich auch zu einem stabileren intrazellulären Sauerstoffpartialdruck. Weitere Parameter der mikrovaskulären Perfusion, wie die TVD, die PVD oder die PPV, spiegelten zwar den hämorrhagischen Schock adäquat wider, es konnte jedoch keine Alteration in Abhängigkeit von der Gasintervention nachgewiesen werden.

Alterationen der Mikrozirkulation konnten bereits vermehrt unter septischen Bedingungen nachgewiesen werden<sup>15,13</sup>. Eine Verbesserung der Mikrozirkulation im septischen Schock war zudem mit einem geringeren Auftreten eines Multiorganversagens und einer verminderten Mortalität der Patienten assoziiert<sup>10</sup>. Neben dem PPV als stärkster Prädiktor für ein schlechtes *outcome* septischer Patienten<sup>15</sup>, korrelierte auch eine persistierende Verminderung des MFI mit einem septischen Multiorganversagen<sup>13</sup>. Da lokales Kohlenstoffdioxid zu einer Steigerung des MFI im hämorrhagischen Schock führt, wäre eine Senkung der Mortalität in kritisch kranken Patienten durch eine lokale Kohlenstoffdioxidapplikation denkbar.

Unklar ist, ob die CO<sub>2</sub>-bedingte Steigerung des MFI und des µHbO<sub>2</sub> durch Vasopressin vermittelt wird. Bereits 1984 konnte Rose zeigen, dass eine Hyperkapnie zu erhöhten Vasopressinspiegeln im Hund führt<sup>130</sup>. Gleichzeitig steigert eine Hyperkapnie unter physiologischen Kreislaufbedingungen die mikrovaskuläre Oxygenierung<sup>48</sup>. Die Blockade des Vasopressin V1A Rezeptors hob dabei die Wirkung der Hyperkapnie auf<sup>106</sup>. Neuere Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe zeigen ergänzend einen konzentrationsabhängigen Effekt von extern zugeführtem low-dose-Vasopressin auf die gastrointestinale Oxygenierung unter physiologischen Kreislaufbedingungen<sup>131</sup>. Somit wäre es denkbar, dass Vasopressin eine CO<sub>2</sub>-bedingte Steigerung der mikrovaskulären Oxygenierung vermittelt.

Da die Applikation eines  $V_{1A}$ -Rezeptorblockers einen  $\mu$ HbO<sub>2</sub>-Anstieg auch ohne extern zugeführtes Vasopressin unter physiologischen Kreislaufbedingungen verhindert<sup>106</sup> liegt die Vermutung nahe, dass eine Kohlenstoffdioxidapplikation durch endogene Vasopressinfreisetzung und Stimulation der V<sub>1A</sub>-Rezeptoren zu einer Steigerung des  $\mu$ HbO<sub>2</sub> führt.

Eine nachfolgende Studie sollte klären, ob es auch unter  $V_{1A}$ -Rezeptorblockade zu einem  $\mu$ HbO<sub>2</sub>-Anstieg durch lokales Kohlenstoffdioxid kommt. Somit könnte gezeigt werden, dass die Effekte einer lokalen Kohlenstoffdioxidapplikation durch regionale Vasopressinrezeptoren vermittelt werden. In einem weiteren Schritt sollte erörtert werden, über welchen Mechanismus Vasopressin zu einer Steigerung der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung führt. Neben einer

Vasokonstriktion kann Vasopressin auch vasodilatative Effekte aufweisen<sup>132</sup>. Dies ist auf unterschiedliche Rezeptoren, deren Verteilung und Bindungskinetik zurückzuführen<sup>133,134</sup>. Eine Vorhersage über den Effekt von Vasopressin auf die gastrointestinale Mikrozirkulation ist durch eben diese gegensätzlichen Effekte äußerst schwierig. Darüber hinaus scheint der Effekt von Vasopressin auf die Mikrozirkulation von den begleitenden Kreislaufbedingungen abhängig zu sein. So konnte eine intestinale Vasokonstriktion, eine Reduktion des Herzzeitvolumens und ein Abfall des systemischen Sauerstoffangebots im Tierexperiment zwar unter physiologischen Kreislaufbedingungen<sup>135</sup> nicht jedoch unter septischen Bedingungen nachgewiesen werden<sup>136</sup>. Auch die Applikation des extern zugeführten Vasopressinanalogons Terlipressin führt je nach Flussbedingung zu einer Reduktion oder zu einer Steigerung des mikrovaskulären Flusses<sup>137,138,139</sup>.

Neben einer Beeinflussung der Vasomotorik sind jedoch auch direkte Effekte von Vasopressin auf die mitochondriale Funktion von Niere<sup>140</sup> und Hirn<sup>141</sup> bekannt. Zusammenfassend wäre denkbar, dass Kohlenstoffdioxid über eine Vasopressinfreisetzung zu einer Veränderung der mikrovaskulären Perfusionscharakteristik, der mitochondrialen Funktion oder zu einer Veränderung beider Komponenten führt. Dies könnte den in unseren Versuchen verminderten Abfall der  $\mu$ HbO<sub>2</sub> im hämorrhagischen Schock unter lokaler Hyperkapnie erklären.

Wir konnten zeigen, dass eine lokale Kohlenstoffdioxidgabe die mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung im Schock steigert und das Flussprofil zu einem kontinuierlichen Flussprofil hin verschiebt, ohne die Gefäßarchitektur grundlegend zu verändern. Über einen kausalen Zusammenhang dieser Beobachtungen, eine Beteiligung von Vasopressin an molekularen Signalkaskaden und der zellulären Energiebilanz kann derzeit jedoch nur spekuliert werden, sodass weitere Untersuchungen nötig sind, um den genauen Mechanismus der protektiven Effekte von Kohlenstoffdioxid zu entschlüsseln. Die Vermutung, dass eine lokale Kohlenstoffdioxidgabe das *outcome* kritisch kranker Patienten verbessert, ist im Weiteren durch klinische Studien zu prüfen.

# 4.2.4 Orale und Gastrale µHbO<sub>2</sub> im Vergleich

Als Ort unserer O2C-Messung wählten wir die orale und gastrale Mukosa, um eine atraumatische Instrumentierung der Versuchstiere zu gewährleisten. Bei dem Vergleich der gastralen und oralen µHbO<sub>2</sub>-Messkurven lässt sich sowohl an Mund als auch an Magen ein protektiver Effekt der CO<sub>2</sub>-Applikation feststellen, auch wenn dieser an der oralen Mukosa länger anhält als im Magen. Mund und Magen scheinen daher vergleichbaren Regulationsmechanismen zu unterliegen, welche lediglich geringfügige Nuancen aufweisen. Ursächlich für die unterschiedliche Ausprägung im Verlauf des Schocks könnte eine unterschiedliche Ausstattung der Gewebe mit adrenergen Rezeptoren sein. Wahrscheinlich ist

dabei nicht das Vorkommen einzelner Rezeptortypen, sondern vielmehr eine unterschiedliche Dichte der Rezeptoren für die beobachteten Unterschiede entscheidend. Demzufolge wäre eine schnellere Erholung zentraler Kompartimente wie dem Magen nach Einsetzen körpereigener Kompensationsmechanismen denkbar. An peripheren Messstellen würde die Kompromittierung länger anhalten, sodass therapeutische Interventionen vor allem dort einen größeren und länger anhaltenden Effekt aufweisen würden.

#### 4.2.5 Systemisches CO<sub>2</sub>

Neben der Untersuchung, ob eine lokale Gasintervention mit Kohlenstoffdioxid derjenigen mit Stickstoff überlegen ist, war ein zentraler Bestandteil unserer Arbeit der Nachweis, dass die lokale Gasapplikation keinerlei Auswirkung auf systemische Parameter hat. Um einen systemischen Effekt von Kohlenstoffdioxid zu unterbinden, erfolgte eine konsequente, manuelle Anpassung der Beatmung. Hierzu wurde die Atemfrequenz kontinuierlich variiert, um einen etCO<sub>2</sub> von 35mmHg zu erreichen. Es zeigte sich jedoch ein signifikanter Anstieg des p<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> durch Induktion der Hämorrhagie in beiden Schockgruppen. Während der etCO<sub>2</sub> nur einen indirekter Messwert für den arteriellen Kohlenstoffdioxid darstellt, handelt es sich bei dem p<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> um die biologisch entscheidende Messgröße. Vor dem Hintergrund unserer Ergebnisse ist es jedoch unwahrscheinlich, dass der günstige Effekt einer lokalen CO<sub>2</sub>-Applikation auf ein erhöhten p<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> zurückzuführen ist, auch wenn dieser im Schock erhöht war. Der p<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> beider Schockgruppen unterschied sich nicht signifikant, während in der µHbO<sub>2</sub>-Messung ein verminderter Abfall nach Kohlenstoffdioxidapplikation zu verzeichnen war, sodass der protektive Effekt nicht auf einen systemisch gesteigerten p<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> zurückzuführen ist.

# 4.3 Schlussfolgerung

Lokales Kohlenstoffdioxid ist als Metabolit des regulären Zellstoffwechsels wesentlich an der Autoregulation der Mikrozirkulation beteiligt. Wir konnten zeigen, dass eine lokale CO2-Applikation unter physiologischen Bedingungen nicht zu einer Veränderung der Mikrozirkulation führt, wohingegen der Abfall der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung im hämorrhagischen Schock abgemildert werden konnte. Diese Effekte zeigten sich unabhängig von systemischen Kreislaufparametern und sind somit nicht auf eine Erhöhung des systemischen Sauerstoffangebots zurückzuführen. Ein therapeutischer Einsatz wäre somit ohne nachteilige Effekte einer systemischen Hyperkapnie, welche den Einsatz von CO<sub>2</sub> limitieren könnten, denkbar. Da anhand unserer Daten kein Hinweis auf einen defizitären Zellstoffwechsel vorliegt, scheint insbesondere eine Verbesserung der zellulären Energiebilanz oder Veränderungen innerhalb der Mikrozirkulation selbst für den verminderten µHbO2-Abfall verantwortlich zu sein. Während der Einfluss von Kohlenstoffdioxid auf die gastrointestinale Sauerstoffutilisation noch in externen Studien evaluiert werden muss, zeigt sich in unseren Messungen bereits eine Verbesserung der mikrovaskulären Flussqualität als Erklärungsansatz für den protektiven Effekt von Kohlenstoffdioxid. Während der gemittelte, mikrovaskuläre Fluss selbst nicht durch die lokale Kohlenstoffdioxidapplikation beeinflusst wird, führt diese zu einer Erhöhung des mikrovaskulären Flowindex. Eine Steigerung des mikrovaskulären Flowindex steht für einen kontinuierlicheren Kapillarfluss und somit für eine verbesserte Sauerstoffkonvektion innerhalb der Mikrozirkulation. Hieraus könnte eine verbesserte Zellfunktion auf subzellulärer Ebene resultieren. Ob ein reduzierter Abfall der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung auch zu einer Verbesserung der gastrointestinalen Barrierefunktion oder sogar einer Reduktion der Mortalität kritisch kranker Patienten führt, muss in zukünftigen Studien geklärt werden.

## 4.4 Ausblick

Es werden verbesserte Therapiekonzepte für die Behandlung kritisch kranker Patienten benötigt. Lokales Kohlenstoffdioxid scheint auf der Basis dieser Studie eine Schlüsselrolle in der Aufrechterhaltung einer adäquaten Oxygenierung innerhalb der Mikrozirkulation zu spielen. Hieraus kann ein vielversprechender Therapieansatz zur Reduktion eines posttraumatischen Multiorganversagens abgeleitet werden. Ob eine lokale Hyperkapnie auch im klinischen Alltag in der Lage ist, das *outcome* der Patienten zu verbessern und das Auftreten von Sepsis und Multiorganversagen zu reduzieren, muss in klinischen Studien evaluiert werden. Auch wenn bisher vielversprechende Ergebnisse zu CO<sub>2</sub>-Interventionen am Magendarmtrakt und weiteren Organsystemen vorliegen, ist der genaue Mechanismus, über den CO<sub>2</sub> wirkt, noch weitestgehend ungeklärt. In Zukunft wären daher weiterführende Untersuchungen der zugrunde liegenden pathophysiologischen Mechanismen wünschenswert. Hervorzuheben ist insbesondere der Einfluss von Kohlenstoffdioxid auf die mitochondriale Zellatmung. Neben der Erforschung zellulärer Regulationsmechanismen sollte auch den vorherrschenden Flussprofilen der Mikrozirkulation ein steigendes Interesse zukommen, da diesen eine entscheidende Rolle als Bindeglied zwischen Gefäßarchitektur und zellulärer Funktion zukommen könnte.

Es ist möglich, dass ein tieferes Verständnis der zellulären und mikrozirkulatorischen Regulationsmechanismen zudem einen Fortschritt in der Therapie weiterer Krankheitsbilder mit hoher Mortalität bewirkt. Unsere Experimente beziehen sich ausschließlich auf den hämorrhagischen Schock. Da ein ähnlicher Pathomechanismus jedoch auch für weitere Schockformen, wie beispielsweise den septischen Schock, angenommen wird, wäre eine Übertragung neuer Therapiekonzepte denkbar. Eine Störung der gastrointestinalen Barrierefunktion ist jedoch auch bei einer portalen Hypertonie, einem Rechtsherzversagen oder einem Ileus von entscheidender Bedeutung für die Aufrechterhaltung des Krankheitsgeschehens. Aufgrund einer ähnlichen Pathogenese wäre es somit wünschenswert, auch für diese Krankheitsbilder lokales Kohlenstoffdioxid als therapeutische Option zu untersuchen.

# 5 Literaturverzeichnis

- 1. Miranda M, Balarini M, Caixeta D, Bouskela E. Microcirculatory dysfunction in sepsis: pathophysiology, clinical monitoring, and potential therapies. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2016;311(1):H24-35.
- 2. Eipel C, Bordel R, Nickels RM, Menger MD, Vollmar B. Impact of leukocytes and platelets in mediating hepatocyte apoptosis in a rat model of systemic endotoxemia. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2004;286(5):G769-776.
- 3. Böcker W, Denk H, Heitz PU, Moch H, Höfler G, Kreipe H. Pathologie: mit Zugang zum Elsevier-Portal. 5th ed. München: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH; 2012.
- 4. Burchardi H, Larsen R, Kuhlen R, Jauch K-W. Die Intensivmedizin. 10., überarb. u. erw. Heidelberg: Springer; 2007.
- 5. Blum HE, Müller-Wieland D. Klinische Pathophysiologie. 10., aktualisierte und erweiterte. Stuttgart New York: Thieme; 2018.
- 6. Vatner SF. Effects of hemorrhage on regional blood flow distribution in dogs and primates. J Clin Invest 1974;54(2):225–35.
- Dalton JM, Gore DC, Makhoul RG, Fisher MR, DeMaria EJ. Decreased splanchnic perfusion measured by duplex ultrasound in humans undergoing small volume hemorrhage. Crit Care Med 1995;23(3):491–7.
- Akin S, Kara A, den Uil CA, Ince C. The response of the microcirculation to mechanical support of the heart in critical illness. Best Pract Res Clin Anaesthesiol 2016;30(4):511– 22.
- 9. Edouard AR, Degrémont AC, Duranteau J, Pussard E, Berdeaux A, Samii K. Heterogeneous regional vascular responses to simulated transient hypovolemia in man. Intensive Care Med 1994;20(6):414–20.
- 10. Sakr Y, Dubois M-J, De Backer D, Creteur J, Vincent J-L. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. Crit Care Med 2004;32(9):1825–31.
- 11. Jones AE, Trzeciak S, Kline JA. The Sequential Organ Failure Assessment score for predicting outcome in patients with severe sepsis and evidence of hypoperfusion at the time of emergency department presentation. Crit Care Med 2009;37(5):1649–54.
- 12. den Uil CA, Lagrand WK, van der Ent M, et al. Impaired microcirculation predicts poor outcome of patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. Eur Heart J 2010;31(24):3032–9.
- 13. Trzeciak S, McCoy JV, Phillip Dellinger R, 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):2210–7.
- 14. Top APC, Ince C, de Meij N, van Dijk M, Tibboel D. Persistent low microcirculatory vessel density in nonsurvivors of sepsis in pediatric intensive care. Crit Care Med 2011;39(1):8–13.

- 15. De Backer D, Donadello K, Sakr Y, et al. Microcirculatory alterations in patients with severe sepsis: impact of time of assessment and relationship with outcome. Crit Care Med 2013;41(3):791–9.
- 16. Heinrich PC, Müller M, Graeve L. Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie. 9., vollständig überarb. Aufl. 2014. Berlin Heidelberg: Springer; 2014.
- 17. Herold G. Innere Medizin 2019. Köln: Herold, Gerd; 2018.
- Donley ER, Loyd JW. Hemorrhage Control [Internet]. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 [cited 2019 Aug 16]. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535393/
- 19. Muthukumar V, Karki D, Jatin B. Concept of Lethal Triad in Critical Care of Severe Burn Injury. Indian J Crit Care Med 2019;23(5):206–9.
- Sherren PB, Hussey J, Martin R, Kundishora T, Parker M, Emerson B. Lethal triad in severe burns. Burns 2014;40(8):1492–6.
- 21. Lethal triad. JEMS 2014;39(6):18.
- 22. Heckbert SR, Vedder NB, Hoffman W, et al. Outcome after hemorrhagic shock in trauma patients. J Trauma 1998;45(3):545–9.
- 23. Goris RJ, te Boekhorst TP, Nuytinck JK, Gimbrère JS. Multiple-organ failure. Generalized autodestructive inflammation? Arch Surg 1985;120(10):1109–15.
- 24. Berg RD, Garlington AW. Translocation of Certain Indigenous Bacteria from the Gastrointestinal Tract to the Mesenteric Lymph Nodes and Other Organs in a Gnotobiotic Mouse Model. Infect Immun 1979;23(2):403–11.
- 25. Assimakopoulos SF, Triantos C, Thomopoulos K, et al. Gut-origin sepsis in the critically ill patient: pathophysiology and treatment. Infection 2018;46(6):751–60.
- Matheson PJ, Wilson MA, Garrison RN. Regulation of intestinal blood flow. J Surg Res 2000;93(1):182–96.
- 27. De Backer D, Creteur J, Preiser J-C, Dubois M-J, Vincent J-L. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. Am J Respir Crit Care Med 2002;166(1):98–104.
- 28. Assimakopoulos SF, Scopa CD, Vagianos CE. Pathophysiology of increased intestinal permeability in obstructive jaundice. World J Gastroenterol 2007;13(48):6458–64.
- 29. Assimakopoulos SF, Papageorgiou I, Charonis A. Enterocytes' tight junctions: From molecules to diseases. World J Gastrointest Pathophysiol 2011;2(6):123–37.
- 30. Nutsch KM, Hsieh C-S. T cell tolerance and immunity to commensal bacteria. Curr Opin Immunol 2012;24(4):385–91.
- 31. Becattini S, Taur Y, Pamer EG. Antibiotic-Induced Changes in the Intestinal Microbiota and Disease. Trends Mol Med 2016;22(6):458–78.
- 32. Ince C. The microcirculation is the motor of sepsis. Crit Care 2005;9 Suppl 4:S13-19.

- 33. Klingensmith NJ, Coopersmith CM. The Gut as the Motor of Multiple Organ Dysfunction in Critical Illness. Crit Care Clin 2016;32(2):203–12.
- 34. Clark JA, Coopersmith CM. Intestinal crosstalk: a new paradigm for understanding the gut as the "motor" of critical illness. Shock 2007;28(4):384–93.
- 35. Mittal R, Coopersmith CM. Redefining the gut as the motor of critical illness. Trends Mol Med 2014;20(4):214–23.
- 36. Hoiland RL, Fisher JA, Ainslie PN. Regulation of the Cerebral Circulation by Arterial Carbon Dioxide. Compr Physiol 2019;9(3):1101–54.
- 37. Gutierrez G. Blood flow, not hypoxia, determines intramucosal PCO2. Crit Care 2005;9(2):149–50.
- De Backer D, Orbegozo Cortes D, Donadello K, Vincent J-L. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. Virulence 2014;5(1):73–9.
- 39. Beach JM, McGahren ED, Duling BR. Capillaries and arterioles are electrically coupled in hamster cheek pouch. Am J Physiol 1998;275(4):H1489-1496.
- Gnaegi A, Feihl F, Boulat O, Waeber B, Liaudet L. Moderate hypercapnia exerts beneficial effects on splanchnic energy metabolism during endotoxemia. Intensive Care Med 2009;35(7):1297–304.
- 41. Cullen DJ, Eger EI. Cardiovascular effects of carbon dioxide in man. Anesthesiology 1974;41(4):345–9.
- 42. Akça O, Doufas AG, Morioka N, Iscoe S, Fisher J, Sessler DI. Hypercapnia improves tissue oxygenation. Anesthesiology 2002;97(4):801–6.
- Wang Z, Su F, Bruhn A, Yang X, Vincent J-L. Acute hypercapnia improves indices of tissue oxygenation more than dobutamine in septic shock. Am J Respir Crit Care Med 2008;177(2):178–83.
- 44. Kregenow DA, Swenson ER. The lung and carbon dioxide: implications for permissive and therapeutic hypercapnia. Eur Respir J 2002;20(1):6–11.
- 45. Domino KB, Emery MJ, Swenson ER, Hlastala MP. Ventilation heterogeneity is increased in hypocapnic dogs but not pigs. Respir Physiol 1998;111(1):89–100.
- 46. Marhong J, Fan E. Carbon dioxide in the critically ill: too much or too little of a good thing? Respir Care 2014;59(10):1597–605.
- Laffey JG, Engelberts D, Duggan M, Veldhuizen R, Lewis JF, Kavanagh BP. Carbon dioxide attenuates pulmonary impairment resulting from hyperventilation. Crit Care Med 2003;31(11):2634–40.
- Schwartges I, Schwarte LA, Fournell A, Scheeren TWL, Picker O. Hypercapnia induces a concentration-dependent increase in gastric mucosal oxygenation in dogs. Intensive Care Med 2008;34(10):1898–906.

- Schwartges I, Picker O, Beck C, Scheeren TWL, Schwarte LA. Hypercapnic acidosis preserves gastric mucosal microvascular oxygen saturation in a canine model of hemorrhage. Shock 2010;34(6):636–42.
- Stübs CCM, Picker O, Schulz J, et al. Acute, short-term hypercapnia improves microvascular oxygenation of the colon in an animal model of sepsis. Microvasc Res 2013;90:180–6.
- 51. Morisaki H, Yajima S, Watanabe Y, et al. Hypercapnic acidosis minimizes endotoxininduced gut mucosal injury in rabbits. Intensive Care Med 2009;35(1):129–35.
- 52. Carrera E, Kim D-J, Castellani G, et al. Effect of hyper- and hypocapnia on cerebral arterial compliance in normal subjects. J Neuroimaging 2011;21(2):121–5.
- 53. Grubb RL, Raichle ME, Eichling JO, Ter-Pogossian MM. The effects of changes in PaCO2 on cerebral blood volume, blood flow, and vascular mean transit time. Stroke 1974;5(5):630–9.
- 54. Mattle H, Mumenthaler M. Neurologie. 13. vollständig überarbeitete. Stuttgart: Thieme; 2012.
- Coakley RJ, Taggart C, Greene C, McElvaney NG, O'Neill SJ. Ambient pCO2 modulates intracellular pH, intracellular oxidant generation, and interleukin-8 secretion in human neutrophils. J Leukoc Biol 2002;71(4):603–10.
- Gates KL, Howell HA, Nair A, et al. Hypercapnia Impairs Lung Neutrophil Function and Increases Mortality in Murine Pseudomonas Pneumonia. Am J Respir Cell Mol Biol 2013;49(5):821–8.
- Casalino-Matsuda SM, Nair A, Beitel GJ, Gates KL, Sporn PHS. Hypercapnia Inhibits Autophagy and Bacterial Killing in Human Macrophages by Increasing Expression of Bcl-2 and Bcl-xL. J Immunol 2015;194(11):5388–96.
- Pugin J, Dunn-Siegrist I, Dufour J, Tissières P, Charles P-E, Comte R. Cyclic stretch of human lung cells induces an acidification and promotes bacterial growth. Am J Respir Cell Mol Biol 2008;38(3):362–70.
- 59. Curley G, Contreras MMB, Nichol AD, Higgins BD, Laffey JG. Hypercapnia and acidosis in sepsis: a double-edged sword? Anesthesiology 2010;112(2):462–72.
- 60. Normansell R, Kew KM, Stovold E. Interventions to improve adherence to inhaled steroids for asthma. Cochrane Database Syst Rev [Internet] 2017 [cited 2019 Aug 16];2017(4). Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6478134/
- 61. Hill NS, Preston IR, Roberts KE. Inhaled Therapies for Pulmonary Hypertension. Respir Care 2015;60(6):794–802; discussion 802-805.
- 62. Vollmer C, Nommensen J, Watolla M, Bauer I, Picker O. Influence of thoracic epidural anesthesia on gastric oxygenation during hypothermia and hemorrhage. Auton Neurosci 2016;195:1–7.
- 63. van Leersum EC. Eine Methode zur Erleichterung der Blutdruckmessung bei Tieren. Pflüger's Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere 1911;142(7):377–95.

- 64. Sakka SG, Reuter DA, Perel A. The transpulmonary thermodilution technique. J Clin Monit Comput 2012;26(5):347–53.
- 65. Monnet X, Teboul J-L. Transpulmonary thermodilution: advantages and limits. Crit Care 2017;21(1):147.
- 66. Kettunen R, Timisjärvi J, Kouvalainen E, Koskela M, Nuutinen L, Heikkilä J. Stewart-Hamilton and gamma variate methods in computer analysis of dye curves. Scand J Clin Lab Invest 1984;44(7):587–94.
- 67. Boisson M, Poignard ME, Pontier B, Mimoz O, Debaene B, Frasca D. Cardiac output monitoring with thermodilution pulse-contour analysis vs. non-invasive pulse-contour analysis. Anaesthesia 2019;74(6):735–40.
- 68. Brandes R, Lang F, Schmidt RF. Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie. 32. Aufl. 2019. Springer; 2019.
- Vollmer C, Weiß S, Beck C, Bauer I, Picker O. Hypothermia improves oral and gastric mucosal oxygenation during hypoxic challenges. Br J Anaesth 2014;113(3):433–42.
- Vollmer C, Schwartges I, Swertz M, Beck C, Bauer I, Picker O. Hypothermia improves oral and gastric mucosal microvascular oxygenation during hemorrhagic shock in dogs. Oxid Med Cell Longev 2013;2013:589606.
- 71. Hammel HT, Wyndham CH, Hardy JD. Heat production and heat loss in the dog at 8-36 degrees C environmental temperature. Am J Physiol 1958;194(1):99–108.
- 72. Rossing RG, Cain SM. A nomogram relating pO2, pH, temperature, and hemoglobin saturation in the dog. J Appl Physiol 1966;21(1):195–201.
- 73. Scheeren TWL, Schwarte LA, Loer SA, Picker O, Fournell A. Dopexamine but not dopamine increases gastric mucosal oxygenation during mechanical ventilation in dogs. Crit Care Med 2002;30(4):881–7.
- 74. Jakobsson A, Nilsson GE. Prediction of sampling depth and photon pathlength in laser Doppler flowmetry. Med Biol Eng Comput 1993;31(3):301–7.
- 75. Möller KO, Nilsson G, Fagrell B. Laser-Doppler Flowmetry for microcirculation monitoring. Introduction. Technol Health Care 1999;7(2–3):i–ii.
- 76. Beauvoit B, Evans SM, Jenkins TW, Miller EE, Chance B. Correlation between the light scattering and the mitochondrial content of normal tissues and transplantable rodent tumors. Anal Biochem 1995;226(1):167–74.
- 77. Kouadio AA, Jordana F, Koffi NJ, Le Bars P, Soueidan A. The use of laser Doppler flowmetry to evaluate oral soft tissue blood flow in humans: A review. Arch Oral Biol 2018;86:58–71.
- 78. Krug A. Mikrozirkulation und auerstoffversorgung des Gewebes, Methode des so genannten O2C (oxygen to see). Phlebologie 6/2007:300–12.
- 79. Kuchenreuther S, Adler J, Schütz W, Eichelbrönner O, Georgieff M. The Erlanger Microlightguide Photometer: a new concept for monitoring intracapillary oxygen supply of tissue--first results and a review of the physiological basis. J Clin Monit 1996;12(3):211–24.

- 80. Gandjbakhche AH, Bonner RF, Arai AE, Balaban RS. Visible-light photon migration through myocardium in vivo. Am J Physiol 1999;277(2):H698-704.
- 81. Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S. Physiologie. 7. vollständig überarbeitete und erweiterte. Stuttgart New York: Thieme; 2014.
- 82. Siegemund M, van Bommel J, Ince C. Assessment of regional tissue oxygenation. Intensive Care Med 1999;25(10):1044–60.
- 83. Harrison DK, Newton DJ, McCollum PT, Jain AS. Lightguide spectrophotometry for the assessment of skin healing viability in critical limb ischaemia. Adv Exp Med Biol 1996;388:45–51.
- Sato N, Kawano S, Kamada T, Takeda M. Hemodynamics of the gastric mucosa and gastric ulceration in rats and in patients with gastric ulcer. Dig Dis Sci 1986;31(2 Suppl):35S-41S.
- 85. Aykut G, Veenstra G, Scorcella C, Ince C, Boerma C. Cytocam-IDF (incident dark field illumination) imaging for bedside monitoring of the microcirculation. Intensive Care Med Exp 2015;3(1):40.
- Sherman H, Klausner S, Cook WA. Incident dark-field illumination: a new method for microcirculatory study. Angiology 1971;22(5):295–303.
- 87. Uz Z, Ince C, Guerci P, et al. Recruitment of sublingual microcirculation using handheld incident dark field imaging as a routine measurement tool during the postoperative deescalation phase-a pilot study in post ICU cardiac surgery patients. Perioper Med (Lond) 2018;7:18.
- Pranskunas A, Arstikyte J, Pranskuniene Z, et al. Time Evolution of Sublingual Microcirculatory Changes in Recreational Marathon Runners. Biomed Res Int [Internet] 2017 [cited 2019 Aug 19];2017. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5554555/
- 89. De Backer D, Hollenberg S, Boerma C, et al. How to evaluate the microcirculation: report of a round table conference. Crit Care 2007;11(5):R101.
- van Elteren HA, Ince C, Tibboel D, Reiss IKM, de Jonge RCJ. Cutaneous microcirculation in preterm neonates: comparison between sidestream dark field (SDF) and incident dark field (IDF) imaging. J Clin Monit Comput 2015;29(5):543–8.
- 91. Boerma EC, Mathura KR, van der Voort PHJ, Spronk PE, Ince C. Quantifying bedsidederived imaging of microcirculatory abnormalities in septic patients: a prospective validation study. Crit Care 2005;9(6):R601-606.
- 92. Ince C. The rationale for microcirculatory guided fluid therapy. Curr Opin Crit Care 2014;20(3):301–8.
- 93. Meddings JB, Sutherland LR, Byles NI, Wallace JL. Sucrose: a novel permeability marker for gastroduodenal disease. Gastroenterology 1993;104(6):1619–26.
- 94. De-Souza DA, Greene LJ. Intestinal permeability and systemic infections in critically ill patients: effect of glutamine. Crit Care Med 2005;33(5):1125–35.
- 95. Fiehn O, Kind T. Metabolite profiling in blood plasma. Methods Mol Biol 2007;358:3–17.

- Brilhaus D, Bräutigam A, Mettler-Altmann T, Winter K, Weber APM. Reversible Burst of Transcriptional Changes during Induction of Crassulacean Acid Metabolism in Talinum triangulare. Plant Physiol 2016;170(1):102–22.
- 97. Murphy GS. Neuromuscular Monitoring in the Perioperative Period. Anesth Analg 2018;126(2):464–8.
- 98. Kazama T, Ikeda K. Comparison of MAC and the rate of rise of alveolar concentration of sevoflurane with halothane and isoflurane in the dog. Anesthesiology 1988;68(3):435–7.
- 99. Dyson DH. Positive pressure ventilation during anesthesia in dogs: Assessment of surface area derived tidal volume. Can Vet J 2012;53(1):63–6.
- 100. Coyne MD, Kesick CM, Doherty TJ, Kolka MA, Stephenson LA. Circadian rhythm changes in core temperature over the menstrual cycle: method for noninvasive monitoring. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2000;279(4):R1316-1320.
- 101. Dutkowski P, Furrer K, Tian Y, Graf R, Clavien P-A. Novel short-term hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) system prevents injury in rat liver graft from non-heart beating donor. Ann Surg 2006;244(6):968–76; discussion 976-977.
- 102. Hölzle F, Swaid S, Nolte D, Wolff K-D. Nutritive perfusion at donor site after microvascular fibula transfer. Microsurgery 2003;23(4):306–12.
- 103. Hölzle F, Rau A, Swaid S, Loeffelbein DJ, Nolte D, Wolff K-D. [Simultaneous noninvasive monitoring for radial forearm and fibula flaps using laser Doppler flowmetry and tissue spectrophotometry]. Mund Kiefer Gesichtschir 2005;9(5):290–9.
- 104. Beckert S, Witte MB, Königsrainer A, Coerper S. The impact of the Micro-Lightguide O2C for the quantification of tissue ischemia in diabetic foot ulcers. Diabetes Care 2004;27(12):2863–7.
- Vollmer C, Schwartges I, Behmke R, Bauer I, Picker O. Hypercapnia counteracts captopril-induced depression of gastric mucosal oxygenation. J Endocrinol 2013;218(3):245–53.
- 106. Vollmer C, Schwartges I, Naber S, Beck C, Bauer I, Picker O. Vasopressin V(1A) receptors mediate the increase in gastric mucosal oxygenation during hypercapnia. J Endocrinol 2013;217(1):59–67.
- 107. De Backer D. Detailing the cardiovascular profile in shock patients. Crit Care 2017;21(Suppl 3):311.
- Ospina-Tascón GA, García Marin AF, Echeverri GJ, et al. Effects of dobutamine on intestinal microvascular blood flow heterogeneity and O2 extraction during septic shock. J Appl Physiol 2017;122(6):1406–17.
- 109. Temmesfeld-Wollbrück B, Szalay A, Mayer K, Olschewski H, Seeger W, Grimminger F. Abnormalities of gastric mucosal oxygenation in septic shock: partial responsiveness to dopexamine. Am J Respir Crit Care Med 1998;157(5 Pt 1):1586–92.
- 110. Verdant CL, De Backer D, Bruhn A, et al. Evaluation of sublingual and gut mucosal microcirculation in sepsis: a quantitative analysis. Crit Care Med 2009;37(11):2875–81.

- 111. Humer MF, Phang PT, Friesen BP, Allard MF, Goddard CM, Walley KR. Heterogeneity of gut capillary transit times and impaired gut oxygen extraction in endotoxemic pigs. J Appl Physiol 1996;81(2):895–904.
- 112. Farquhar I, Martin CM, Lam C, Potter R, Ellis CG, Sibbald WJ. Decreased capillary density in vivo in bowel mucosa of rats with normotensive sepsis. J Surg Res 1996;61(1):190–6.
- Edul VSK, Enrico C, Laviolle B, Vazquez AR, Ince C, Dubin A. Quantitative assessment of the microcirculation in healthy volunteers and in patients with septic shock. Crit Care Med 2012;40(5):1443–8.
- 114. Walley KR. Heterogeneity of oxygen delivery impairs oxygen extraction by peripheral tissues: theory. J Appl Physiol 1996;81(2):885–94.
- 115. ATLS Subcommittee, American College of Surgeons' Committee on Trauma, International ATLS working group. Advanced trauma life support (ATLS®): the ninth edition. J Trauma Acute Care Surg 2013;74(5):1363–6.
- 116. Umehara S, Tanaka M, Nishikawa T. Effects of sevoflurane anesthesia on carotid-cardiac baroreflex responses in humans. Anesth Analg 2006;102(1):38–44.
- 117. Berwick ZC, Payne GA, Lynch B, Dick GM, Sturek M, Tune JD. Contribution of adenosine A(2A) and A(2B) receptors to ischemic coronary dilation: role of K(V) and K(ATP) channels. Microcirculation 2010;17(8):600–7.
- 118. Beck C, Barthel F, Hahn A-M, et al. The beneficial effects of acute hypercapnia on microcirculatory oxygenation in an animal model of sepsis are independent of K(+)ATP channels. Microvasc Res 2015;99:78–85.
- Teslaa T, Teitell MA. Pluripotent stem cell energy metabolism: an update. EMBO J 2015;34(2):138–53.
- 120. Sajjanar B, Siengdee P, Trakooljul N, et al. Cross-talk between energy metabolism and epigenetics during temperature stress response in C2C12 myoblasts. Int J Hyperthermia 2019;36(1):776–84.
- 121. Conti CR. The stunned and hibernating myocardium: a brief review. Clin Cardiol 1991;14(9):708–12.
- 122. Ryan MJ, Perera D. Identifying and Managing Hibernating Myocardium: What's New and What Remains Unknown? Curr Heart Fail Rep 2018;15(4):214–23.
- Salin K, Villasevil EM, Anderson GJ, et al. Differences in mitochondrial efficiency explain individual variation in growth performance. Proc Biol Sci 2019;286(1909):20191466.
- 124. Julienne CM, Dumas J-F, Goupille C, et al. Cancer cachexia is associated with a decrease in skeletal muscle mitochondrial oxidative capacities without alteration of ATP production efficiency. J Cachexia Sarcopenia Muscle 2012;3(4):265–75.
- 125. Wikström MK, Saari HT. Conformational changes in cytochrome aa3 and ATP synthetase of the mitochondrial membrane and their role in mitochondrial energy transduction. Mol Cell Biochem 1976;11(1):17–33.

- 126. Tao T, Liu Y, Zhang J, Xu Y, Li W, Zhao M. Therapeutic hypercapnia improves functional recovery and attenuates injury via antiapoptotic mechanisms in a rat focal cerebral ischemia/reperfusion model. Brain Res 2013;1533:52–62.
- 127. Chi L, Wang N, Yang W, et al. Protection of Myocardial Ischemia-Reperfusion by Therapeutic Hypercapnia: a Mechanism Involving Improvements in Mitochondrial Biogenesis and Function. J Cardiovasc Transl Res 2019;12(5):467–77.
- Rich PR, Maréchal A. The mitochondrial respiratory chain. Essays Biochem 2010;47:1– 23.
- 129. Lever MA, Rogers KL, Lloyd KG, et al. Life under extreme energy limitation: a synthesis of laboratory- and field-based investigations. FEMS Microbiol Rev 2015;39(5):688–728.
- 130. Rose CE, Anderson RJ, Carey RM. Antidiuresis and vasopressin release with hypoxemia and hypercapnia in conscious dogs. Am J Physiol 1984;247(1 Pt 2):R127-134.
- 131. Truse R, Grewe S, Herminghaus A, et al. Exogenous vasopressin dose-dependently modulates gastric microcirculatory oxygenation in dogs via V1A receptor. Crit Care 2019;23(1):353.
- 132. Evora PR, Pearson PJ, Schaff HV. Arginine vasopressin induces endothelium-dependent vasodilatation of the pulmonary artery. V1-receptor-mediated production of nitric oxide. Chest 1993;103(4):1241–5.
- 133. Holmes CL, Landry DW, Granton JT. Science review: Vasopressin and the cardiovascular system part 1--receptor physiology. Crit Care 2003;7(6):427–34.
- 134. Holmes CL, Landry DW, Granton JT. Science Review: Vasopressin and the cardiovascular system part 2 clinical physiology. Crit Care 2004;8(1):15–23.
- Knotzer H, Pajk W, Maier S, et al. Arginine vasopressin reduces intestinal oxygen supply and mucosal tissue oxygen tension. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2005;289(1):H168-173.
- 136. Knotzer H, Maier S, Dünser MW, et al. Arginine vasopressin does not alter mucosal tissue oxygen tension and oxygen supply in an acute endotoxemic pig model. Intensive Care Med 2006;32(1):170–4.
- 137. Asfar P, Pierrot M, Veal N, et al. Low-dose terlipressin improves systemic and splanchnic hemodynamics in fluid-challenged endotoxic rats. Crit Care Med 2003;31(1):215–20.
- 138. Asfar P, Hauser B, Iványi Z, et al. Low-dose terlipressin during long-term hyperdynamic porcine endotoxemia: effects on hepatosplanchnic perfusion, oxygen exchange, and metabolism. Crit Care Med 2005;33(2):373–80.
- 139. Asfar P, Bracht H, Radermacher P. Impact of vasopressin analogues on the gut mucosal microcirculation. Best Pract Res Clin Anaesthesiol 2008;22(2):351–8.
- 140. Sims CA, Yuxia G, Singh K, Werlin EC, Reilly PM, Baur JA. Supplemental arginine vasopressin during the resuscitation of severe hemorrhagic shock preserves renal mitochondrial function. PLoS ONE 2017;12(10):e0186339.

141. Ida KK, Chisholm KI, Malbouisson LMS, et al. Protection of cerebral microcirculation, mitochondrial function, and electrocortical activity by small-volume resuscitation with terlipressin in a rat model of haemorrhagic shock. Br J Anaesth 2018;120(6):1245–54.
## Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Olaf Picker für das Überlassen meines Promotionsthemas und die Supervision der Versuchsreihe. In gleicher Weise möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. rer. nat. für die methodische Unterstützung bedanken.

Danken möchte ich auch Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Christian Vollmer und Herrn Dr. med. Richard Truse, welche als wissenschaftliche Mitarbeiter unserer Klinik wesentlich an der Konzeption, Supervision und Zielführung meiner Arbeit beteiligt waren. Beiden möchte ich für Ihre außerordentliche Hilfestellung bei der Finalisierung meiner Dissertationsschrift und dem Disputationsvortrag danken. Auch Frau Priv.-Doz. Dr. med. Anna Herminghaus fühle ich mich zu tiefsten Dank verpflichtet für Ihre Hilfe bei der Versuchsdurchführung.

Maßgeblich danke ich auch unserer Chemielaborantin Birgitt Berke. Während mein Blick auf das Versuchsprotokoll gerichtet war, hatte sie durch ihre jahrelange Expertise stets ein ganzheitliches Bild vor Augen und gewährleitete mit ihrem integrativen Ansatz die herausragende Qualität dieser Arbeit. Sie prägte in unserer täglichen Arbeit wesentlich mein Bild von einer verantwortungsbewussten Forschung mit einer ethischen Verpflichtung gegenüber der wissenschaftlichen Gemeinschaft und unserer Versuchstiere.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei unseren Versuchstieren Emma, Eva, Kathi, Kessie Martha und Mia bedanken. Tierversuche werden in der öffentlichen Debatte immer wieder kritisch beleuchtet. Kritik dient meiner Auffassung nach der Verbesserung. Ich bin sehr froh, dass ich durch Euch eine wertschätzende und persönliche Beziehung zu Tierversuchen aufbauen durfte. Dieses Gedankengut will ich weitertragen. Auch wenn Kontrollinstanzen notwendig sind um einen Rahmen zum Schutz des Lebens bereitzustellen, so liegt die Verantwortung letztlich bei uns!

Der letzte namentliche Dank gilt meiner Familie, welche mich in jedem Bestreben stets unterstützt hat. Liebende Eltern zeigen Wege auf, wenn man unentschlossen ist und stützen, wenn man Halt sucht. All das darf ich durch euch erfahren. Ich schätze mich außerdem dankbar, dass mein Bruder, Alexander, mir nicht nur eine familiäre Stütze, sondern auch mein bester Freund, mein bester Berater und mein ehrlichster Kritiker ist. Mit euch an meiner Seite schaue ich in eine Zukunft voller Herausforderungen, gewiss diese meistern zu können. Aus diesem Grund möchte ich meine Dissertation meiner Familie widmen, die mich zu der Person gemacht hat, die ich bin.