

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

**Einfluss der topischen Sauerstoffapplikation auf die orale und
gastrale mukosale Mikrozirkulation unter physiologischen
Kreislaufbedingungen und im milden hämorrhagischen Schock**

Dissertation

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

vorgelegt von
Lea Delinsky (geb. Weber)
2025

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

gez.:

Dekan/in: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter/in: PD Dr. med. Christian Vollmer

Zweitgutachter/in: Prof. Dr. med. Nadja Lehwald-Tywuschik

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Hof, S., Truse, R., **Weber, L.**, Herminghaus, A., Schulz, J., Weber, A. P. M., Maleckova, E., Bauer, I., Picker, O., Vollmer, C., (2022), Local Mucosal CO₂ but Not O₂ Insufflation Improves Gastric and Oral Microcirculatory Oxygenation in a Canine Model of Mild Hemorrhagic Shock, *Front Med (Lausanne)*, Vol. 9, Page 867298.

Zusammenfassung

Eine intakte Mikrozirkulation ist Voraussetzung für die Sauerstoff- und Nährstoffversorgung eines Gewebes. Im hämorrhagischen Schock herrscht ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf. Im Gastrointestinaltrakt führt dieses Sauerstoffdefizit zu einer Störung der Schleimhautbarriere und damit zum Übertritt von Bakterien aus dem Lumen ins Gefäß- und Lymphsystem. Eine systemische Infektion kann lebensbedrohliche Folge sein. Die Steigerung der inspiratorischen Sauerstofffraktion (F_{iO_2}) kann die Gewebeoxygenierung nicht regelhaft verbessern. Durch Bildung reaktiver Sauerstoffspezies kann eine Hyperoxie zur Vasokonstriktion und so paradoxerweise zu einer verminderten Sauerstoffversorgung führen. Topische Therapien sind an anderen Organen bereits etabliert und können die regionale Mikrozirkulation ohne systemische Nebenwirkungen modulieren. Ziel dieser Studie war daher die Untersuchung, ob sich die mikrovaskuläre Oxygenierung oder Perfusion der gastralen und oralen Schleimhaut im hämorrhagischen Schock oder unter physiologischen Kreislaufbedingungen durch die topische Applikation von Sauerstoff ohne systemische Effekte verbessern lässt. Die Studie wurde an sechs anästhesierten Hunden randomisiert im *cross-over*-Design durchgeführt. Die orale und gastrale Mukosa wurde mit Sauerstoff bzw. als Kontrolle mit Stickstoff mit einem Fluss von 15 ml/min behandelt und unter physiologischen Bedingungen sowie nach Induktion eines milden hämorrhagischen Schocks mit anschließender Retransfusion untersucht. Zur Beurteilung der Mikrozirkulation wurden u.a. orale und gastrale mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung (μHbO_2), Blutfluss ($\mu flow$) und Flussgeschwindigkeit ($\mu velocity$) mittels Weißlichtspektrometrie bzw. Laser-Doppler-Spektroskopie untersucht. Ergänzend erfolgte die Videomikroskopie der mikrovaskulären Schleimhautgefäße. Systemische hämodynamische Parameter wurden durch transpulmonale Thermodilution erhoben. Die Angabe der Daten erfolgt als MW \pm SEM, statistische Auswertung mit 2-way ANOVA und Bonferroni-Korrektur für multiple Vergleiche, $p < 0,05$. Weder unter physiologischen Kreislaufbedingungen noch während eines milden hämorrhagischen Schocks hat die kontinuierliche topische Sauerstoffapplikation an der oralen oder gastralen Schleimhaut einen Effekt auf die Schleimhautoxygenierung oder auf die mikrovaskuläre Perfusion. Ebenso bleiben die systemischen hämodynamischen Parameter unbeeinflusst. Topisch applizierter Sauerstoff ist folglich nicht geeignet, um die gastrointestinale Mikrozirkulation positiv zu beeinflussen.

Summary

A sufficient microcirculation is essential for the supply of oxygen and nutrients to a tissue. In hemorrhagic shock, there is a mismatch between oxygen supply and demand. In the gastrointestinal tract, this oxygen deficiency leads to a dysfunction of the mucosal barrier and, as a result, to the translocation of bacteria from the intestinal lumen into the vascular and lymphatic system. Systemic infection can be a life-threatening complication. Increasing the fraction of inspired oxygen (FiO_2) may not regularly improve tissue oxygenation. Due to the formation of reactive oxygen species, hyperoxia can lead to vasoconstriction and thus paradoxically to a reduced oxygen supply. Topical therapies are already established in other organs and can modulate regional microcirculation without systemic side effects. Therefore, the aim of this study was to examine whether microvascular oxygenation or perfusion of the gastric and oral mucosa in hemorrhagic shock or under physiologic circulatory conditions can be improved by topical application of oxygen without systemic effects.

The study was performed in six anesthetized dogs in a randomized cross-over design. Oral and gastric mucosa were treated locally with oxygen or, as a control, nitrogen at a flow rate of 15 ml/min and assessed under physiological circulatory conditions and after induction of mild hemorrhagic shock followed by retransfusion. To evaluate the microcirculation, oral and gastric microvascular oxygen saturation (μHbO_2) and microvascular perfusion ($\mu flow$) were analyzed using white light spectrometry and laser Doppler spectroscopy. In addition, video microscopy of the microvascular mucosal vessels was performed. Systemic hemodynamic parameters were measured by transpulmonary thermodilution. Data are reported as mean \pm SEM, statistical analysis with 2-way ANOVA and Bonferroni correction for multiple comparisons, $p < 0.05$.

Neither under physiological circulatory conditions nor during mild hemorrhagic shock does the continuous topical application of oxygen to the oral or gastric mucosa affect the mucosal oxygenation or microvascular perfusion. The systemic hemodynamic parameters also remain unaffected. Consequently, topically applied oxygen is not suitable for positively affecting the gastrointestinal microcirculation.

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Aa.	Arteriae
Abb.	Abbildung
ADH	antidiuretisches Hormon
ANOVA	<i>analysis of variance</i> (Varianzanalyse)
APSI	<i>average perfused speed indicator</i> (durchschnittlicher Geschwindigkeitsmarker der perfundierten Gefäße)
ATLS	<i>Advanced Trauma Life Support</i>
aU	<i>arbitrary unit</i> (willkürliche Einheit)
AZ	Aktenzeichen
BE	<i>Base Excess</i> (Basenüberschuss)
BGA	Blutgasanalyse
Ca ²⁺	Calcium-Ion
CaO ₂	Sauerstoffgehalt des arteriellen Blutes
Cl ⁻	Chlorid-Ion
CW	<i>continuous wave</i>
DO ₂	systemisches Sauerstoffangebot
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
etCO ₂	endexpiratorischen Kohlenstoffdioxidkonzentration
FiO ₂	inspiratorische Sauerstofffraktion
G	Gauge
h	Stunde
Hb	Hämoglobin
HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonat-Ion
HF	Herzfrequenz
HGI	Heterogenitätsindex
HV	Hypovolämie
Hz	Hertz
HZV	Herzzeitvolumen
I.E.	Internationale Einheit
IDF	<i>incident dark field illumination</i>
IgA	Immunglobulin A
K ⁺	Kalium-Ion
kg	Kilogramm
kgKG	Kilogramm Körpergewicht
l	Liter
LANUV	Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen
mA	Milliampere
MAC	<i>minimal alveolar concentration</i> (minimale alveoläre Konzentration)
MAD	mittlerer arterieller Blutdruck
MFI	<i>microcirculatory flow index</i> (mikrovaskulärer Flussindex)
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter

mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
MW	Mittelwert
N ₂	Stickstoff
Na ⁺	Natrium-Ion
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NV	Normovolämie
O ₂	Sauerstoff
p _a CO ₂	arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck
p _a O ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PEEP	<i>positive endexpiratory pressure</i> (positiver endexpiratorischer Druck)
PiCCO	<i>Pulse Contour Cardiac Output</i> (Pulskontur-Herzzeitvolumen)
pmol	Pikomol
PPV	<i>proportion of perfused vessels</i> (Anteil perfundierter Gefäße)
PVD	<i>perfused vessel density</i> (Dichte perfundierter Gefäße)
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RCF	<i>relative centrifugal force</i> (Relative Zentrifugalbeschleunigung)
rHb	relative Hämoglobinmenge
ROS	<i>reactive oxygen species</i> (reaktive Sauerstoffspezies)
rpm	<i>revolutions per minute</i> (Umdrehungen pro Minute)
RT	Retransfusion
S _a O ₂	arterielle Sauerstoffsättigung
SEM	<i>standard error of the mean</i> (Standardfehler des Mittelwertes)
SV	Schlagvolumen
SVR	<i>systemic vascular resistance</i> (totaler peripherer Widerstand)
T	Temperatur
TD	Thermodilution
TOF	<i>Train-of-Four</i>
TOFR	<i>Train-of-Four-Ratio</i>
TVD	<i>total vessel density</i> (absolute Gefäßdichte)
V	Volumen
vs.	versus
ZETT	Zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben
ZVD	zentraler Venendruck
μflow	mikrovaskulärer Blutfluss
μHbO ₂	mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
μvelocity	mikrovaskuläre Blutflussgeschwindigkeit
°C	Grad Celsius

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Veränderungen der Mikrozirkulation im Schock	1
1.2	Auswirkungen schockbedingter Einschränkungen der Mikrozirkulation auf den Gastrointestinaltrakt	3
1.3	Bewertung der therapeutischen Anwendung von Sauerstoff	5
1.4	Vorteile topischer Therapieansätze	5
1.5	Ziele der Arbeit	6
2	Material und Methoden	7
2.1	Versuchsgenehmigung	7
2.2	Versuchstiere	7
2.3	Versuchsvorbereitung, Narkose und Instrumentierung	8
2.4	Versuchsablauf und Interventionen	10
2.5	Messungen der Mikrozirkulation	14
2.5.1	<i>Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler-Spektroskopie</i>	14
2.5.2	<i>Videomikroskopie der oralen Schleimhaut</i>	15
2.6	Messung der Barrierefunktion durch Translokation von Sacchariden	19
2.7	Messung systemischer hämodynamischer Parameter	21
2.7.1	<i>Herzfrequenz</i>	22
2.7.2	<i>Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD)</i>	22
2.7.3	<i>Herzzeitvolumen (HZV)</i>	22
2.7.4	<i>Körpertemperatur</i>	24
2.7.5	<i>Blutgasanalyse (BGA), Elektrolyt- und Hämatokritbestimmung</i>	24
2.7.6	<i>Berechnung des Sauerstoffstatus</i>	25
2.8	Statistische Auswertung	26

3	Ergebnisse	27
3.1	Mikrozirkulation	27
3.1.1	<i>Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler-Spektroskopie</i>	27
3.1.2	<i>Videomikroskopie</i>	33
3.2	Systemische hämodynamische Parameter	37
3.3	Systemischer Sauerstoffstatus und Blutgasanalyse	40
3.4	Gastrale Barrierefunktion	44
4	Diskussion	46
4.1	Zentrale Ergebnisse	46
4.2	Methodenkritik	46
4.2.1	<i>Experimentelle Rahmenbedingungen</i>	46
4.2.2	<i>Studiendesign und Auswahl des Tiermodells</i>	47
4.2.3	<i>Modell des hämorrhagischen Schocks</i>	49
4.2.4	<i>Durchführung der lokalen Gasapplikation</i>	50
4.2.5	<i>Messmethoden zur Beurteilung der Mikrozirkulation</i>	52
4.2.6	<i>Messmethoden zur Beurteilung der gastrointestinalen Barrierefunktion</i>	54
4.3	Ergebnisdiskussion	55
4.3.1	<i>Einfluss der topischen Sauerstoffapplikation auf die Mikrozirkulation</i>	55
4.3.2	<i>Einfluss auf systemische hämodynamische Parameter</i>	57
4.3.3	<i>Einfluss auf den systemischen Sauerstoffstatus und die Blutgasanalyse</i>	58
4.3.4	<i>Einfluss auf die Barrierefunktion der gastrointestinalen Schleimhaut</i>	60
4.4	Schlussfolgerung, klinische Relevanz und Ausblick	61
5	Literaturverzeichnis	63

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Versuchsprotokoll mit Darstellung der Versuchsgruppen, Interventionen und durchgeführten Messverfahren im zeitlichen Verlauf.....	13
Abb. 2:	Exemplarische Aufnahme der Videomikroskopie an der enoralen Lefzenschleimhaut nach automatischer Stabilisierung	17
Abb. 3:	Exemplarische Aufnahme der Videomikroskopie an der enoralen Lefzenschleimhaut nach Extraktion der kapillären Gefäße.....	18
Abb. 4:	Mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung (μHbO_2) der gastralen Schleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten	28
Abb. 5:	Mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung (μHbO_2) der oralen Schleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten	29
Abb. 6:	Mikrovaskulärer Blutfluss (μflow) der oralen Schleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten.....	30
Abb. 7:	Mikrovaskuläre Flussgeschwindigkeit ($\mu\text{velocity}$) der oralen Schleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten	31
Abb. 8:	Total vessel density (TVD) an der enoralen Lefzenschleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten	33
Abb. 9:	Perfused vessel density (PVD) an der enoralen Lefzenschleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten	34
Abb. 10:	Proportion of perfused vessels (PPV) an der enoralen Lefzenschleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten.....	35
Abb. 11:	Mikrovaskulärer Flussindex (MFI) an der enoralen Lefzenschleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten.....	36
Abb. 12:	Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD) zu den definierten Messzeitpunkten	38
Abb. 13:	Herzzeitvolumen (HZV) zu den definierten Messzeitpunkten	39
Abb. 14:	Systemisches Sauerstoffangebot (DO_2) zu den definierten Messzeitpunkten	41
Abb. 15:	Konzentration von Saccharose im Blutplasma zu den definierten Messzeitpunkten	44

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Statistische Auswertung der Ergebnisse der Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler-Spektroskopie zur Beurteilung der oralen und gastraln Mikrozirkulation.....	32
Tabelle 2: Statistische Auswertung der Ergebnisse der Videomikroskopie zur Beurteilung der Mikrozirkulation an der oralen Schleimhaut.....	37
Tabelle 3: Statistische Auswertung der systemischen hämodynamischen Parameter.....	40
Tabelle 4: Statistische Auswertung der Parameter des systemischen Sauerstoffstatus.....	42
Tabelle 5: Statistische Auswertung der Blutgasanalysen	43
Tabelle 6: Statistische Auswertung der Zuckerkonzentrationen im Blutplasma	45

1 Einleitung

1.1 Veränderungen der Mikrozirkulation im Schock

Mikrozirkulation bezeichnet die Blutversorgung eines Gewebes über die kleinsten Blutgefäße mit einem Durchmesser von unter 100 µm in den periphersten Abschnitten des kardiovaskulären Systems [1]. Die Mikrozirkulation stellt die Verbindung zwischen dem arteriellen und dem venösen Gefäßsystem dar. Über Arteriolen gelangt sauerstoffreiches Blut in die Kapillaren, im Kapillarbett erfolgt per Diffusion der Übertritt von Sauerstoff in die Zellen, über die postkapillären Venolen wird das sauerstoffarme Blut dem venösen System zugeführt. Eine intakte Mikrozirkulation ist für die Versorgung der Zielzellen mit Sauerstoff zum Erhalt sämtlicher Zellfunktionen unerlässlich.

Verschiedene Krankheitsbilder, insbesondere der häufige hämorrhagische Schock, verursachen neben systemischen zirkulatorischen Effekten auch eine pathologische Reduktion der Mikrozirkulation.

Unabhängig von der Ursache ist das klinische Bild des Schocks definiert durch eine Beeinträchtigung der Kreislauftsituation mit einer Hypoxie peripherer Organe infolge eines Missverhältnisses zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot [2]. Beim hier untersuchten hämorrhagischen Schock handelt es sich um die häufigste Unterform des hypovolämen Schocks [3]. Er ist gekennzeichnet durch einen Volumenverlust infolge einer Blutung. Der plötzliche Blutverlust und die resultierende Verminderung des Herzzeitvolumens (HZV) verursachen eine Reduktion des systemischen Sauerstoffangebots (DO_2) [4]. Im Rahmen der physiologischen Gegenregulation wird reflektorisch u.a. durch die Aktivierung des sympathischen Nervensystems und die Ausschüttung von Katecholaminen eine Steigerung der Herzfrequenz, eine Beschleunigung der Atemfrequenz und eine periphere Vasokonstriktion ausgelöst. Um insbesondere die kardiale und zerebrale Perfusion aufrechtzuerhalten, erfolgt eine Kreislaufzentralisation mit Umverteilung des zirkulierenden Blutvolumens. Der Gastrointestinaltrakt erfährt in dieser Situation ebenso wie die Nieren und die Extremitäten eine Reduktion der Blutzufuhr zugunsten der kardialen und zerebralen Versorgung [5]. Im Schock bewirkt eine Abnahme des renalen Perfusionsdrucks die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS). Durch die Freisetzung von Aldosteron und antidiuretischem Hormon (ADH)

wird die Natrium- und Wasserretention der Niere gesteigert, um über eine Zunahme des intravasalen Volumens einen ausreichenden Blutdruck aufrechtzuerhalten [6, 7]. Angiotensin II hat zudem eine unmittelbare vasokonstriktorische Wirkung, die einerseits ebenfalls der Blutdruckstabilisierung dient, andererseits aber eine schockbedingte Minderperfusion des Gewebes aggravieren kann.

Neben diesen systemischen Kreislaufveränderungen, die im Rahmen eines Schocks auftreten, ergeben sich Beeinträchtigungen der Mikrozirkulation. Die schockbedingte Dysregulation der neurogen und humoral vermittelten mikrovaskulären Vasomotorik führt durch verschiedene Mechanismen zu einem mikrozirkulatorischen Perfusionsdefizit. Die präkapillären Arteriolen reagieren auf die sympathische Stimulation mit einer Vasokonstriktion. Durch den verminderten Bluteinstrom in das Kapillarbett reduziert sich der strömungswirksame Druckgradient und der kapilläre Blutfluss wird verlangsamt. Infolge der reduzierten Fließgeschwindigkeit kommt es zur Obstruktion des Lumens kapillärer Gefäße durch zelluläre Blutbestandteile und Mikrothromben. Das Endothel reagiert zudem mit einer vermehrten Freisetzung von vasokonstriktorisch wirkenden Gewebshormonen (u.a. Endothelin und Thromboxan A₂) bei verminderter Synthese endogener Vasodilatoren (u.a. Stickstoffmonoxid und Prostazykline) [1, 5]. Ausdruck dieser beeinträchtigten Mikrozirkulation ist ein inhomogenes Perfusionsmuster mit Ausbildung pathologischer Shuntverbindungen. Eine durch Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren ausgelöste lokale Entzündungsreaktion mit gesteigerter Kapillarpermeabilität und Ödembildung erschwert den Gas- und Nährstoffaustausch durch Diffusion zusätzlich [8, 9].

Auf diese Weise kann eine dysregulierte Mikrozirkulation trotz noch suffizienter systemischer Kreislaufsituation und prinzipiell ausreichendem systemischem Sauerstoffangebot mit einer Minderperfusion und Hypoxie peripherer Gewebe einhergehen [10, 11]. Durch die mangelnde Sauerstoffversorgung eines Gewebes zeigen sich zunächst auf zellulärer Ebene Störungen in sämtlichen sauerstoffabhängigen Stoffwechselfvorgängen und schließlich Einschränkungen in den Organfunktionen. Eine gefürchtete Komplikation im klinischen Management des Schocks ist das Multiorganversagen mit gleichzeitiger Beeinträchtigung mehrerer Organsysteme [12, 13]. In diesem Zusammenhang konnte eine Korrelation zwischen der Schwere der mikrovaskulären Dysfunktion und der Mortalität durch Multiorganversagen mehrfach nachgewiesen werden [14, 15].

1.2 Auswirkungen schockbedingter Einschränkungen der Mikrozirkulation auf den Gastrointestinaltrakt

Eine besondere Bedeutung kommt hierbei der Mikrozirkulation des Gastrointestinaltraktes zu. Grundsätzlich ist der Magen-Darm-Trakt als Ort der Nahrungsaufnahme und des -transportes, der Aufspaltung und Aufnahme von Nährstoffen, Wasser und Elektrolyten und der Ausscheidung unverdaulicher Nahrungsbestandteile von zentraler Bedeutung für den Organismus. Im Rahmen der Verdauungsvorgänge erfüllt die gastrointestinale Schleimhaut vielfältige Resorptions- und Sekretionsaufgaben. Darüber hinaus spielt der Darm auch eine wichtige Rolle in der Immunabwehr.

Unter physiologischen Bedingungen besteht eine symbiotische Verbindung zwischen den die Darmflora bildenden Mikroorganismen und dem Wirtsorganismus. Die intakte Schleimhaut bildet dabei eine suffiziente Barriere gegen den Übertritt von den natürlicherweise im Darmlumen vorkommenden Bakterien, Bakterienbestandteilen und Toxinen ins Blutgefäß- und Lymphsystem [16-18]. Diese intestinale Schleimhautbarriere besteht aus mehreren Komponenten, die eine funktionelle Einheit bilden: Die Darmepithelzellen sind durch *tight junctions* verbunden und von einer präepithelialen Schleimschicht bedeckt. Eingelagerte Paneth-Körnerzellen setzen antimikrobiell wirksame Defensine frei und Plasmazellen sezernieren IgA [19, 20]. Zudem sind die sich in der Darmwand befindlichen Zellen des Immunsystems (Makrophagen, dendritische Zellen, B- und T-Lymphozyten) weiterer Bestandteil dieser Barriere [21].

Wie für sämtliche Zellfunktionen ist auch für die Integrität dieser Schleimhautbarriere eine intakte Mikrozirkulation mit suffizienter Gewebepерfusion und -oxygenierung erforderlich [22].

Die gastrointestinale Mukosa weist in ihrer Gefäßarchitektur insbesondere im Bereich des Dünndarms jedoch Besonderheiten auf, die ihre Anfälligkeit für eine Sauerstoffminderversorgung erhöhen. Die Dünndarmschleimhaut verfügt zur Vergrößerung der Resorptionsfläche über fingerförmige Ausstülpungen, die *Villi intestinales*. An der Villusbasis zweigt die Villusarteriole rechtwinklig aus der versorgenden Arterie ab und führt sauerstoffreiches Blut zur Villusspitze. Dort verzweigt sie sich zu einem Kapillargeflecht, das der Versorgung der apikalen Zellen mit Sauerstoff und Nährstoffen dient und den Abtransport von

Stoffwechselendprodukten gewährleistet. Aus den Kapillaren geht wiederum eine Venole hervor, die das sauerstoffarme Blut zurück zur Villusbasis transportiert. Basisnah bestehen arteriovenöse Shuntverbindungen, sodass in den apikalen Schleimhautarealen eine relative Hypoxie besteht. Aufgrund der kurzen Austauschstrecke und des Sauerstoffkonzentrationsgradienten zwischen parallel verlaufender Arteriole und Venole kann Sauerstoff zudem basisnah direkt diffundieren und die Sauerstoffversorgung der apikalen Schleimhaut dadurch zusätzlich reduzieren [23].

Kommt es im Rahmen einer schockbedingten Kreislaufdysregulation zu den eingangs beschriebenen Veränderungen mit einer Umverteilung des Blutvolumens, ist der Gastrointestinaltrakt besonders von einer Minderdurchblutung und Einschränkungen auf mikrovaskulärer Ebene betroffen [22, 24]. In tierexperimentellen Studien gelang der Nachweis, dass das verfügbare Sauerstoffangebot im Splanchnikusgebiet sowohl während eines septischen als auch eines hämorrhagischen Schocks signifikant reduziert ist [25].

Folge der verschlechterten Sauerstoffversorgung der gastrointestinalen Schleimhaut sind Einschränkungen in der mitochondrialen Zellfunktion und u.a. eine Schädigung der Schleimhautbarriere [26]. Durch diese Barriereinsuffizienz ist der Übertritt von im Darmlumen befindlichen Bakterien und Endotoxinen ins aseptische Gefäß- und Lymphsystem möglich [16, 27]. Die unmittelbare Bakterientranslokation scheint für die Entstehung einer systemischen Inflammation allerdings von nachrangiger Bedeutung zu sein. Vielmehr scheint der Nachweis intestinal gebildeter proinflammatorischer Mediatoren in der mediastinalen Lymphe mit schwerwiegenden systemischen Komplikationen wie der akuten Lungenschädigung, dem Multiorganversagen und der Sepsis zu korrelieren [28, 29]. Auch wenn der genaue Pathomechanismus bislang ungeklärt ist, stellt diese *gut-lymph hypothesis* einen Erklärungsansatz für den Zusammenhang zwischen einer primär nicht infektiösen Schocksymptomatik oder einem Trauma und der nachfolgenden Entstehung einer endogenen systemischen hyperinflammatorischen Reaktion bis hin zur Sepsis dar [30-32]. Der Darm wird vor diesem Hintergrund auch als „Motor des Multiorganversagens“ bezeichnet [33].

1.3 Bewertung der therapeutischen Anwendung von Sauerstoff

Bei akut vital erkrankten Patienten kann es sinnvoll sein, die inspiratorische Sauerstofffraktion (FiO_2) passager zu steigern mit dem Ziel, die respiratorische Situation zu stabilisieren und ein ausreichendes Sauerstoffangebot zur Verfügung zu stellen, um Organfunktionen zu erhalten und die Entstehung von weiteren Komplikationen zu verhindern [34]. Obgleich es bislang nur wenige prospektive randomisierte klinische Studien zum Einsatz einer hohen FiO_2 gibt, wird der Einsatz hoher Konzentrationen reinen Sauerstoffs zur Beatmung in der Intensivmedizin und der perioperativen Versorgung allerdings zunehmend hinterfragt [35, 36]. Die Therapieleitlinie zum akuten Myokardinfarkt sieht in ihrer aktuellen Fassung aus dem Jahr 2017 die routinemäßige Verabreichung von Sauerstoff aufgrund möglicher negativer Effekte auf das geschädigte Myokard nicht mehr vor [37, 38]. Die Sauerstofftherapie soll Patienten mit nachgewiesener Hypoxämie vorbehalten bleiben [39]. Eine Erhöhung der FiO_2 führt mit Ausnahme der Lungenstrombahn in sämtlichen Kapillarbetten zu einer sauerstoffvermittelten Vasokonstriktion und dadurch zu einer Abnahme der Perfusion [40]. Darüber hinaus werden bei erhöhter Sauerstoffzufuhr gewebeschädigende Einflüsse durch die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) und hyperoxiebedingte Lungenschädigungen befürchtet [41].

Zur Anwendung einer gesteigerten Sauerstoffzufuhr speziell in der Situation eines hämorrhagischen Schocks existieren in der Literatur ebenfalls gegensätzliche Daten. Während in einigen Studien eine Hyperoxie ein verbessertes Outcome aufgrund positiver Einflüsse auf Inflammation und Organfunktionen oder einer verbesserten mitochondrialen Funktion erzielte [42-44], konnten andere Studien keine positiven Effekte nachweisen [45, 46].

Aus den möglichen unerwünschten Wirkungen einer Steigerung des systemischen Sauerstoffangebots ergibt sich die Frage nach der Wirksamkeit einer topischen Sauerstofftherapie auf die Gewebeoxygenierung oder -perfusion.

1.4 Vorteile topischer Therapieansätze

Bei einigen Krankheitsbildern ist die topische Applikation bestimmter Pharmaka bereits klinisch etabliert. Beispiele sind die Therapie der pulmonalen Hypertension mit inhalativen Prostaglandinen [47] oder die abschwellende Therapie mit topisch applizierten α -Sympathomimetika an der nasalen Schleimhaut. Weiterhin erfolgt der

klinische Einsatz nicht-selektiver β -Blocker in Form von Augentropfen in der Glaukomtherapie [48] oder topisch appliziert in der Behandlung kutaner Hämangiome [49].

In vorangegangenen Versuchsreihen konnte durch die hiesige Arbeitsgruppe bereits gezeigt werden, dass lokal an der gastralen oder oralen Schleimhaut applizierte Wirkstoffe in der Lage sind, die mikrovaskuläre Durchblutung zu beeinflussen. So zeigten topisch appliziertes Nitroglycerin und Iloprost positive Effekte auf die mikrovaskuläre Oxygenierung und im Fall von Nitroglycerin konnte die schockbedingte Schädigung der gastrointestinalen Schleimhautbarriere reduziert werden [50]. Weiterhin lässt sich durch die topische Applikation von Melatonin die mikrovaskuläre Oxygenierung während eines hämorrhagischen Schocks positiv beeinflussen [51]. Die topische Therapie erzielte dabei die beschriebenen Effekte, ohne systemische Nebenwirkungen wie einen Blutdruckabfall hervorzurufen.

1.5 Ziele der Arbeit

Im Rahmen dieser Studie sollte daher untersucht werden, welche Einflüsse die topische Applikation von reinem Sauerstoff unmittelbar an der oralen und gastralen Schleimhaut auf die lokale Gewebeoxygenierung, die mikrovaskuläre Perfusion und die Barrierefunktion des Gastrointestinaltraktes unter physiologischen Kreislaufbedingungen und während eines milden hämorrhagischen Schocks hat. Ziel ist hierbei eine unmittelbare, lokale Wirksamkeit zu erreichen und systemische Nebenwirkungen zu minimieren.

Ziel dieser Studie war daher die Klärung der folgenden Fragestellungen:

1. Hat die lokale Sauerstoffapplikation einen Einfluss auf die orale und gastrale Mikrozirkulation unter physiologischen Kreislaufbedingungen?
2. Hat die lokale Sauerstoffapplikation einen Einfluss auf die orale und gastrale Mikrozirkulation während eines milden hämorrhagischen Schocks?
3. Hat die lokale Sauerstoffapplikation an der Magenschleimhaut Auswirkungen auf die Integrität der gastralen Schleimhautbarriere?
4. Bleibt die lokale Sauerstoffapplikation in der gewählten Dosierung und Durchführung ohne Nebenwirkungen auf systemische Kreislaufparameter und den systemischen Sauerstoffstatus?

2 Material und Methoden

2.1 Versuchsgenehmigung

Die Durchführung der Versuchsreihe erfolgte mit Genehmigung durch das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz (LANUV) des Landes Nordrhein-Westfalen (AZ 84-02.04.2012.A152). Alle an den Experimenten beteiligten Personen waren auf dem Gebiet der Versuchstierkunde geschult und im Besitz des Fachkundenachweises gemäß § 9 des geltenden Tierschutzgesetzes.

2.2 Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden sechs weibliche gesunde Foxhounds mit einem Körpergewicht von 28-36 kg eingesetzt. Durch regelmäßige Gewichtskontrollen und eine kontinuierliche Anpassung der Futtermenge wurde das Körpergewicht konstant gehalten. Um hormonelle Einflüsse durch den Sexualzyklus auf Stoffwechsel und Kreislauf auszuschließen, wurden ausschließlich kastrierte Hündinnen verwendet.

Die Hunde wurden in der Zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben (ZETT) der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf entsprechend der geltenden Tierschutzbestimmungen gehalten und mit Trockenfutter (*Hundemahlzeit Krokett, Deutsche Tiernahrung Cremer GmbH & Co. KG, Düsseldorf, Deutschland* und *Dog High Energy-Extrudate, ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland*) ernährt. Trinkwasser wurde zu jeder Zeit *ad libitum* angeboten.

Um in den Versuchen eine problemlose, repetitive Punktion der A. carotis zu ermöglichen, wurden die Hunde in Allgemeinnarkose unter Verwendung der inhalativen Anästhetika Isofluran und Lachgas sowie Piritramid als Opiat unter sterilen Kautelen an den Halsschlagadern operiert. Hierbei wurden die Aa. carotides wie von van Leersum detailliert beschrieben beidseits freipräpariert und in oberflächliche Hautschlingen verlegt [52]. Durch dieses Verfahren wurde nach ausreichendem postoperativem Wundheilungsprozess die Punktion der Arterie zur invasiven Blutdruckmessung und Abnahme arterieller Blutgasanalysen erleichtert und eine ausreichende Kompression der Punktionsstelle nach Entfernung des arteriellen Katheters ermöglicht.

Um Messfehler durch Mageninhalt, Peristaltik oder Veränderungen in der Perfusion aufgrund von Verdauungsvorgängen zu vermeiden und das Aspirationsrisiko während der Narkose zu reduzieren, wurde vor jedem Versuch eine zwölfstündige Nahrungskarenz eingehalten.

Zwischen zwei Versuchen wurde bei jedem der Hunde stets ein zeitlicher Abstand von mindestens drei Wochen eingehalten, um Überhangeffekte auszuschließen und eine ausreichende Regeneration im Hinblick auf die durchgeführte Hypovolämie, die verabreichten Pharmaka und die lokale Intervention zu gewährleisten.

2.3 Versuchsvorbereitung, Narkose und Instrumentierung

Zur Reduktion ungewollter zirkadianer oder temperaturbedingter Effekte auf die erhobenen Parameter begannen alle Versuche zur gleichen Tageszeit am Morgen zwischen 8:00 und 9:00 Uhr bei einer Raumtemperatur von 24 °C im leicht abgedunkelten Versuchsraum, in den der Hund zuvor unter weitgehender Vermeidung möglicher Stressoren verbracht wurde.

Die Durchführung der Versuche erfolgte in Allgemeinanästhesie. Zur Narkoseeinleitung wurden 4 mg/kgKG Propofol (*Propofol 1 %, 10 mg/ml, MCT-Fresenius, Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg v.d.H., Deutschland*) über eine Venenverweilkanüle (18 G; *Vasofix® Safety, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland*) am linken Hinterlauf intravenös verabreicht. Nach Lagerung in Rechtsseitenlage erfolgte unter laryngoskopischer Sichtkontrolle die orotracheale Intubation (Murphy-Tubus Größe 9,0 mit Cuff: *Lo Contour™ Murphy 9.0, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland*; McIntosh-Spatel Größe 5: *Medicon eG, Tuttlingen, Deutschland*). Durch Applikation einer Augensalbe (*Bepanthen Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital, Leverkusen, Deutschland*) und Schluss der Augenlider wurden die Augen vor Austrocknung während der Narkose geschützt.

Zur automatischen, volumenkontrollierten Beatmung wurde ein halbgeschlossenes System (*Aestiva 5, Verdampfer Tec 7, Datex Ohmeda, heute GE Healthcare, Chalfont St. Giles, Großbritannien*) verwendet. Die Beatmung erfolgte mit einem Druckluft-Sauerstoff-Gemisch mit einer konstanten FiO_2 von $0,3 \pm 0,01$ ohne PEEP. Das Tidalvolumen wurde mit 12,5 ml/kgKG dem Körpergewicht angepasst, einem für Hunde physiologischen Atemzugvolumen [53]. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte volatil mit Sevoflurane (*Sevorane, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden,*

Deutschland) mit einer endexpiratorischen Konzentration von 2,9 - 3,1 %, entsprechend einem MAC-Wert für Hunde von 1,5 [54].

Durch Anpassung der Atemfrequenz wurde eine Normokapnie mit einem endexpiratorischen Kohlenstoffdioxidpartialdruck (etCO₂) von 35±1 mmHg eingehalten, um bereits gezeigte Einflüsse einer Hyperkapnie auf die Mikrozirkulation der Magenschleimhaut auszuschließen [55]. FiO₂, etCO₂ sowie die endexpiratorische Sevofluranekonzentration wurden kontinuierlich im Nebenstromprinzip gemessen (*Capnomac Ultima, Datex Instrumentarium, Helsinki, Finnland*).

Um die kontrollierte Beatmung zu ermöglichen und Störungen der Messungen durch Bewegungsartefakte zu vermeiden, wurden die narkotisierten Hunde vor Versuchsbeginn durch die intravenöse Injektion von 0,6 mg/kgKG Rocuroniumbromid (*Esmeron® 10 mg/ml, N. V. Organon, Oss, Niederlande*) relaxiert. Mittels kontinuierlicher Infusion von 0,1 mg/kgKG/h Rocuroniumbromid wurde die Relaxierung während der Versuchsdauer aufrechterhalten. Die Überwachung der neuromuskulären Relaxierung erfolgte mit einem Relaxometer im train-of-four-(TOF)-Stimulationsmuster (*TOF Guard® INMT, Organon Teknika BV, Boxtel, Niederlande*) am Nervus ischiadicus des linken Hinterlaufes. Über zwei Elektroden wurde der Nerv mit einer Frequenz von 2 Hz und einer Stromstärke von 15 mA stimuliert. Ein distal an der Extremität fixiertes Akzelerometer registrierte dabei das Ausmaß der Bewegung als Reaktion auf die Stimulation. Der Quotient aus der vierten und ersten Stimulation entspricht der TOF-Ratio (TOFR). Eine TOFR von 0 entspricht einer vollständigen neuromuskulären Blockade, bei einer TOFR > 0,9 kann eine ausreichende Regeneration angenommen werden [56]. Mithilfe dieses Verfahrens konnte eine vollständige Relaxierung während des Versuches mit Sicherheit gewährleistet sowie ein Relaxantienüberhang vor Extubation am Versuchsende vermieden werden [57, 58].

Zur invasiven Blutdruckmessung wurde in die linke A. carotis communis in Seldingertechnik ein druckfester mit heparinisierter Kochsalzlösung gefüllter arterieller Katheter (*PULSIOCATH arterieller Thermodilutionskatheter PV2015L20, Pulsion Medical Systems AG, München, Deutschland; Heparin-Na 5000 I.E./ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland; Verdünnung 1 I.E. Heparin-Na/ml NaCl 0,9 %*) eingebracht und in die Aorta ascendens vorgeschoben. Durch Ausschluss katheterinduzierter EKG-Veränderungen und die Ableitung einer artefaktfreien

arteriellen Blutdruckkurve wurde die korrekte Lage des Katheters ermittelt. Über einen druckfesten Verlängerungskatheter wurde der arterielle Thermodilutionskatheter mit einem auf Herzhöhe des Hundes (orientiert am Processus spinosus des siebten Halswirbelkörpers des liegenden Hundes) montierten Druckwandler (*Modell P23 ID, Gould-Statham® pressure transducer, Elk Grove, Illinois, USA*) verbunden. Vor jedem Versuch wurde der Druckwandler mit Hilfe eines Druckeichgerätes nach Gauer (*HSE Druckeichgerät Typ 367, Hugo Sachs Elektronik, March, Großbritannien*) kalibriert.

Um die Mikrozirkulation der Magenschleimhaut untersuchen und die lokale Intervention durchführen zu können, wurde dem Hund unter Sichtkontrolle eine speziell angefertigte dreilumige orogastrale Sonde gelegt und nach auskultatorischer Lagekontrolle entsprechend fixiert. Über einen Schenkel dieser Magensonde wurden die Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler-Spektroskopie durchgeführt, ein weiterer Schenkel diente der lokalen Applikation von Sauerstoff bzw. Stickstoff am Messort, über den dritten Schenkel wurde eine Mischung verschiedener Saccharide zur Beurteilung der Barrierefunktion (s. 2.6) verabreicht. Dieser Schenkel wurde unverschlossen über der Magenebene des Hundes angebracht und diente somit als Ablaufsonde für das eingeleitete Gas, um eine Überblähung des Magens zu vermeiden. Durch diese Präparation der Magensonde erfolgte die kontinuierliche Insufflation des jeweiligen Gases in unmittelbarer Nähe zum untersuchten Schleimhautareal.

Zur Messung der Mikrozirkulation an der oralen Schleimhaut wurde der enoralen Lefzenschleimhaut ein eigens angefertigtes Silikonpad zur Fixierung der Flachsonde angelegt. Zirkulär um die Messsonde des Weißlichtspektrometers und des Laser-Doppler-Spektroskops befanden sich punktförmige Öffnungen, durch die das eingeleitete Gas unmittelbar an der Schleimhaut austrat.

2.4 Versuchsaufbau und Interventionen

Die Versuchsdurchführung folgte dem in Abb. 1 dargestellten Ablauf.

Im Anschluss an die Narkoseeinleitung und Instrumentierung wurde die Datenaufzeichnung gestartet, sobald sich die hämodynamischen Parameter sowie die Beatmungsparameter auf einem konstanten Niveau zeigten und eine regelrechte Ableitung sämtlicher Messinstrumente etabliert war. Über die Dauer von 30 Minuten wurden sämtliche Parameter unter Ausgangsbedingungen registriert.

Im Rahmen dieser Studie wurden vier Versuchsgruppen untersucht. Die Durchführung der Versuche erfolgte im *cross-over*-Design. Dabei durchläuft jedes der sechs Versuchstiere in randomisierter Reihenfolge jede der vier Versuchsgruppen, sodass sich in Summe 24 Versuche ergeben.

Es wurde der Einfluss der lokalen Sauerstoffapplikation an der oralen und gastraln Schleimhaut unter physiologischen normovolämen Kreislaufbedingungen und während eines milden hämorrhagischen Schocks untersucht. Als Kontrolle wurde Stickstoff verwendet und ebenfalls sowohl unter physiologischen Kreislaufbedingungen als auch unter hämorrhagischen Kreislaufbedingungen appliziert.

Übersicht der vier Versuchsgruppen:

O2HV Einfluss von Sauerstoff unter hämorrhagischen (hypovolämen) Kreislaufbedingungen

N2HV Einfluss von Stickstoff unter hämorrhagischen (hypovolämen) Kreislaufbedingungen

O2NV Einfluss von Sauerstoff unter normovolämen Kreislaufbedingungen

N2NV Einfluss von Stickstoff unter normovolämen Kreislaufbedingungen

Im Anschluss an die 30-minütige Baseline-Phase wurde den Hunden die u.g. Zuckermischung (s. 2.6) über die einliegende Magensonde verabreicht. Nach weiteren 30 Minuten wurde simultan sowohl an der gastraln als auch an der oralen Schleimhaut mit der topischen Gasapplikation begonnen. Das jeweilige Gas, Sauerstoff bzw. Stickstoff, wurde kontinuierlich mit einer Flussgeschwindigkeit von 15 ml/min, reguliert über einen Durchflussmessgerät für Gase (*Schwebekörper-Durchflussmesser für Gase, DK800, KROHNE Messtechnik GmbH, Duisburg, Deutschland*) über die eingangs platzierten Sonden (s. 2.3) jeweils unmittelbar an der oralen und gastraln Schleimhaut appliziert. Diese Flussrate erwies sich als geeignet, nicht zu einer Distension des Hundemagens oder Störungen der spektroskopischen Messungen an der Schleimhaut zu führen. Zu Versuchsbeginn und zu jedem Messzeitpunkt erfolgte die Messung des Rumpfumfanges des Hundes, um eine Überblähung bei mechanischer Verlegung der Ablaufsonde rechtzeitig zu erkennen.

Zur Induktion eines milden hämorrhagischen Schocks wurde den Hunden 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation 20 % des angenommenen Blutvolumens entnommen. Hierbei wurde von einem Blutvolumen von 80 ml/kgKG ausgegangen [59], sodass die entnommene Menge bei 16 ml/kgKG lag. Das Blut wurde innerhalb von 5 Minuten zeitgleich über den am Vorderlauf einliegenden großlumigen peripheren Venenverweilkatheter und den arteriellen Zugang entnommen. Die Entnahme erfolgte in mit Heparin vorgefüllte Einmalspritzen (10 I.E Heparin/ml Blut; *Heparin-Na 5000 I.E./ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland*). Nach der Entnahme wurde das Blut bei 37 °C im Wasserbad gelagert. Die Hypovolämie wurde für 60 Minuten aufrechterhalten. Ein Blutverlust von 20 % entspricht einem Schock der Klasse II gemäß Advanced Trauma Life Support (ATLS) [60]. Es handelt sich dabei um ein reversibles, für die Tiere nicht lebensbedrohliches Modell des hämorrhagischen Schocks, das die Untersuchung von Effekten auf die sensiblen Parameter der Mikrozirkulation erlaubt. Von Folgeschäden für die Tiere ist bei Entnahme dieses Volumenanteils nicht auszugehen [61, 62].

Nach Retransfusion des entnommenen Blutvolumens wurde das verwendete Heparin mit einer entsprechenden Dosis Protamin (1 I.E. Protamin/2 I.E. Heparin; *Protamin ME 1000 I.E/ml, MEDA Pharma GmbH&Co. KG, Bad Homburg, Deutschland*) antagonisiert, um das Risiko für Blutungskomplikationen zu reduzieren.

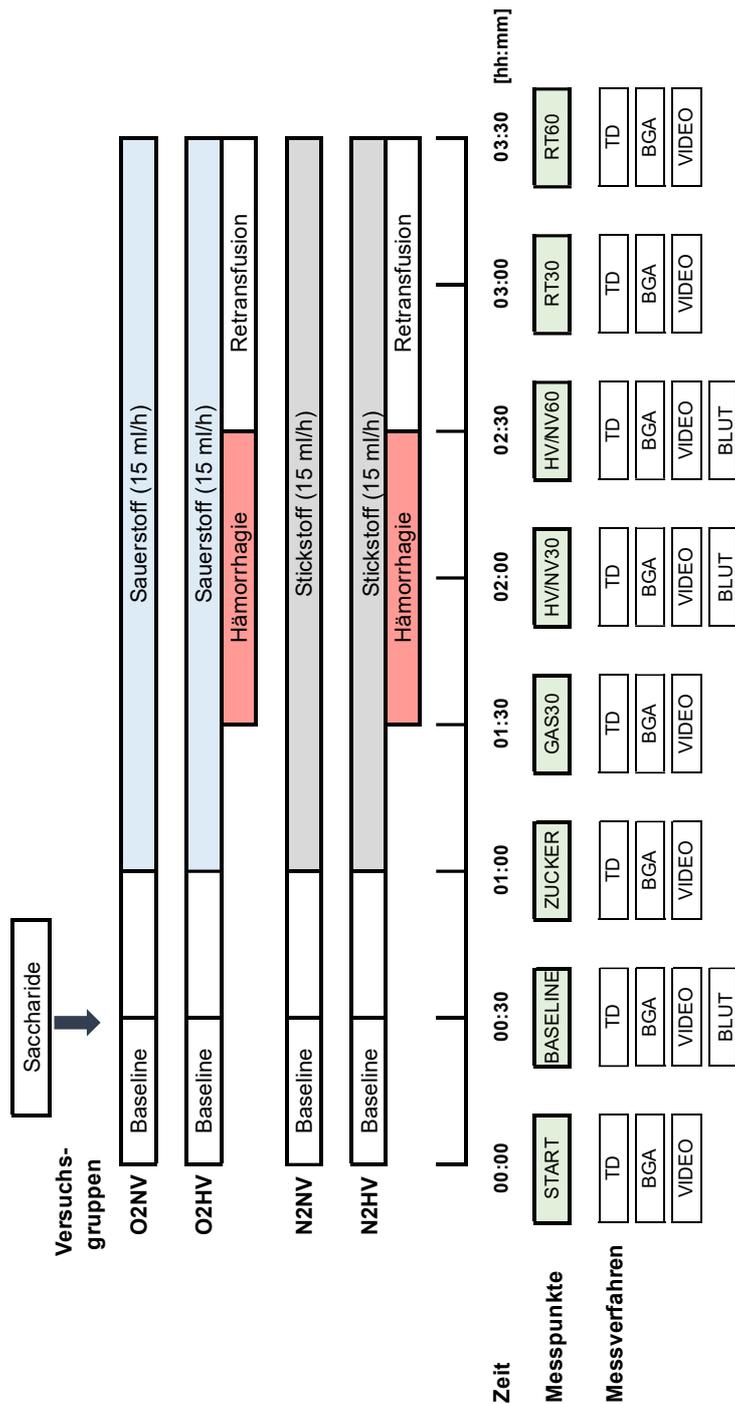


Abb. 1: Versuchsprotokoll mit Darstellung der Versuchsgruppen, Interventionen und durchgeführten Messverfahren im zeitlichen Verlauf

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Zeitangaben in Stunden und Minuten seit Versuchsbeginn. Bezeichnung der Messpunkte entsprechend der jeweils durchgeführten Intervention (START, BASELINE, ZUCKER, GAS30, HV/NV30, HV/NV60, RT30 und RT60) mit Angabe der vergangenen Zeit seit Interventionsbeginn in Minuten (30/60). Angabe der Messverfahren zu den jeweiligen Messpunkten (TD = Thermodilution, BGA = Blutgasanalyse, VIDEO = Videomikroskopie der enoralen Lefzenschleimhaut, BLUT = Blutentnahme zur Messung der Zuckermetabolite). Abbildung modifiziert nach [63].

2.5 Messungen der Mikrozirkulation

2.5.1 Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler-Spektroskopie

Zur kontinuierlichen Messung der Mikrozirkulation der oralen und gastraln Schleimhaut wurde das Gerät O2C (O2C Typ LW2222 Version 2, LEA Medizintechnik GmbH, Gießen, Deutschland) eingesetzt, das die Laser-Doppler-Spektroskopie mit der Weißlichtspektrometrie kombiniert und eine orts- und zeitgleiche Messung mehrerer Parameter zur Beurteilung der Mikrozirkulation erlaubt. Mittels Laser-Doppler-Spektroskopie lässt sich der mikrovaskuläre Blutfluss (μflow) und die mikrovaskuläre Blutflussgeschwindigkeit ($\mu\text{velocity}$) ermitteln. Die Messung der postkapillären mikrovaskulären Sauerstoffsättigung (μHbO_2) und der lokalen Hämoglobinmenge (rHb) erfolgt mittels Weißlichtspektrometrie.

Die Sonden emittieren und registrieren simultan sowohl Weißlicht, erzeugt durch eine 20-Watt-Xenon-Glühbirne, als auch Licht, das durch einen Dioden-Laser mit einer Leistung von 30 mW im CW-Modus (*continuous wave*) erzeugt wird. In dieser Versuchsreihe wurde Weißlicht mit einer Wellenlänge von 500-630 nm und Laserlicht mit einer Wellenlänge von 830 nm verwendet.

Bei beiden Methoden wird das eingestrahlte Licht in Abhängigkeit der Gewebeeigenschaften modifiziert und reflektiert. Das spezifisch veränderte Licht wird an der Gewebeoberfläche über eine integrierte Glasfasersonde detektiert. Der Abstand zwischen der Stelle, an der das Licht in das Gewebe eingestrahlt wird und der Stelle, an der das Licht an der Oberfläche wieder detektiert wird, ist entscheidend für die Detektionstiefe [64].

Trifft das Laserlicht auf einen sich bewegenden Erythrozyten, so führt dies zu einer Frequenzverschiebung, die als Doppler-Shift bezeichnet wird. Aus dieser Frequenzverschiebung lässt sich die mikrovaskuläre Flussgeschwindigkeit ($\mu\text{velocity}$) der Erythrozyten berechnen. Das Verhältnis des frequenzverschobenen Laserlichtes zum nicht-frequenzverschobenen Laserlicht lässt außerdem Rückschlüsse auf die Anzahl der im Gewebe befindlichen Erythrozyten zu. Aus der Kombination dieser beiden Messgrößen lässt sich der mikrovaskuläre Blutfluss (μflow) ermitteln. Die Bestimmung von μflow und $\mu\text{velocity}$ erfolgt als Relativmessung mit Angabe der Ergebnisse in der dimensionslosen Größe aU (*arbitrary units*).

Bei der Weißlichtspektrometrie wird Weißlicht eines kontinuierlichen Spektrums in das Gewebe emittiert. Dort wird es von den Hämoglobinmolekülen der zirkulierenden

Erythrozyten in Abhängigkeit von deren Sauerstoffsättigung absorbiert und spezifisch in seiner Farbe verändert. Durch Abgleich des reflektierten Lichts mit Referenzspektren ermittelt das Gerät die mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung (μHbO_2) in Prozent [65]. Anhand der Stärke der Weißlichtabsorption lässt sich zudem die lokale Hämoglobinmenge (rHb) in aU bestimmen.

Da großkalibrige Gefäße das emittierte Licht vollständig absorbieren, werden mit der Messmethode des O2C nur die Gefäße der Mikrozirkulation mit einem Durchmesser unter 100 μm erfasst [66]. Etwa 75 % des im mikrovaskulären Gefäßsystems befindlichen Blutvolumens befinden sich im venösen Schenkel, während sich ca. 14 % im Kapillarbett und ca. 11% im arteriellen Schenkel befinden, sodass die erhobenen Messwerte in erster Linie den postkapillären venösen Status abbilden [64].

Zur Durchführung der lokalen Messungen an der Magenschleimhaut wurde eine flexible punktförmige Mikrosonde (*LM-10, LEA Medizintechnik GmbH, Gießen, Deutschland*) durch die zu Versuchsbeginn platzierte Magensonde in den Magen vorgeschoben und der gastralen Schleimhaut ohne Druck angelegt. Eine zweite Flachsonde (*LF-2, LEA Medizintechnik GmbH, Gießen, Deutschland*) wurde mit Hilfe der speziell angefertigten Mundsonde aus Silikon an der Wangenschleimhaut des Hundes platziert. Die atraumatische, lockere Platzierung der Sonden an der jeweiligen Schleimhaut ermöglicht die Messung der Mikrozirkulation unter physiologischen Bedingungen ohne druckbedingte Ischämien oder Artefakte. Durch kontinuierliche Aufzeichnung und graphische Darstellung der Signalspektren auf dem integrierten Monitor des O2C-Geräts konnten während des Versuchs die korrekte Lage der Sonden und eine adäquate Signalqualität sichergestellt werden.

Die Aufzeichnung erfolgte in Sequenzen mit einer Dauer von 2 Sekunden. Für jede Sequenz wurden die vorangehend beschriebenen Parameter ermittelt. In der statistischen Auswertung wurden die Mittelwerte der letzten 150 Sequenzen entsprechend einer Messdauer von fünf Minuten einer jeden Interventionsphase berücksichtigt.

2.5.2 Videomikroskopie der oralen Schleimhaut

Zu festgelegten Zeitpunkten wurde die Mikrozirkulation der oralen Schleimhaut zusätzlich mittels Videomikroskopie untersucht. Dazu wurde eine Kamera (*CytoCam, Braedius Medical, Huizen, Niederlande*) verwendet, die nach dem Prinzip der „*incident*

dark field illumination“ (IDF) funktioniert [67]. Aus zirkulär um das Kameraobjektiv angebrachten Dioden wird Licht mit einer Wellenlänge von 530 nm emittiert und das zu untersuchende Gewebe dadurch tangential beleuchtet. Die Belichtung erfolgte stroboskopisch synchron zu den Einzelaufnahmen (*Frames*). Durch diese Technik werden Artefakte durch die sich bewegenden Erythrozyten reduziert und eine genauere automatisierte Flussanalyse ermöglicht [68]. Bei 530 nm liegt der isosbestische Punkt von Hämoglobin. Licht dieser Wellenlänge wird unabhängig vom Oxygenierungsgrad des Hämoglobins absorbiert, sodass sich die Erythrozyten dunkel auf dem hellen Hintergrund darstellen [65, 69].

Eine Aufnahme setzt sich über eine Aufnahmedauer von 4 Sekunden aus 101 *Frames* zusammen. Das analysierte Areal misst 1,55 x 1,15 mm. Durch die integrierte Software wurde eine automatische Stabilisierung der Aufnahmen vorgenommen (vgl. Abb. 2).

Zu jedem Messzeitpunkt wurden fünf Videoaufnahmen der enoralen Lefzenschleimhaut in dem Bereich, an dem Sauerstoff bzw. Stickstoff lokal appliziert wurde, angefertigt. Zu zwei Messzeitpunkten wurden zusätzliche Aufnahmen der Zungenschleimhaut angefertigt. In der Literatur und in der klinischen Anwendung am Menschen wird häufig die sublinguale Schleimhaut aufgrund der einfachen Zugänglichkeit zur Evaluation der Mikrozirkulation herangezogen [70]. In der Auswertung dieser Versuchsreihe zeigte sich jedoch, dass der sublinguale Messort beim Hund keine zuverlässig verwertbaren, repräsentativen Aufnahmen liefert. In die Auswertung einbezogen wurden daher nur die Aufnahmen der enoralen Lefzenschleimhaut.

Bei den Aufnahmen wurden die von De Backer et al. veröffentlichten Richtlinien zur Evaluation der Mikrozirkulation berücksichtigt [71]. Um der physiologischen Variabilität der Mikrozirkulation innerhalb eines Gewebes Rechnung zu tragen, wurden zu jedem Untersuchungszeitpunkt fünf Aufnahmen angefertigt. Durch lockeres Anlegen der Kamera an die Schleimhaut wurden Kompressionsartefakte weitestgehend vermieden. Zu starker mechanischer Druck auf die Schleimhaut äußert sich in einem diskontinuierlichen Blutfluss in den kaliberstärkeren venösen Gefäßen. Aufnahmen mit Kompressionsartefakten wurden nicht in die Auswertung einbezogen. Videos mangelhafter Qualität hinsichtlich Fokussierung, Helligkeit und Kontrastierung wurden ebenso verworfen. Zur Auswertung wurde die Hersteller-Software (*CytoCam*

Tools 1.7.8, Braedius Medical, Huizen, Niederlande) verwendet. Die verwendete Software wurde bereits in mehreren Studien evaluiert [72-75].

In der softwarebasierten Analyse werden Gefäße mit einem Durchmesser von weniger als 20 µm extrahiert und in der Auswertung berücksichtigt [71] (vgl. Abb. 3).

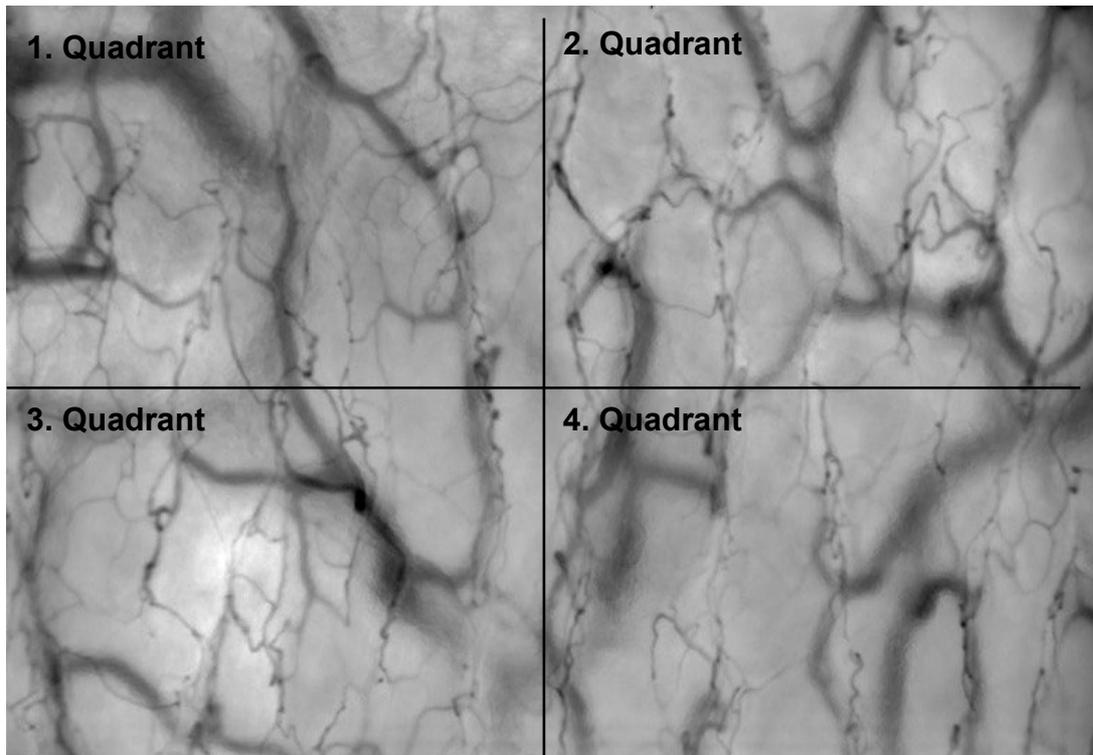


Abb. 2: Exemplarische Aufnahme der Videomikroskopie an der enoralen Lefzenschleimhaut nach automatischer Stabilisierung
Field of view 1,55 mm x 1,15 mm. Quelle: Eigene Aufnahme

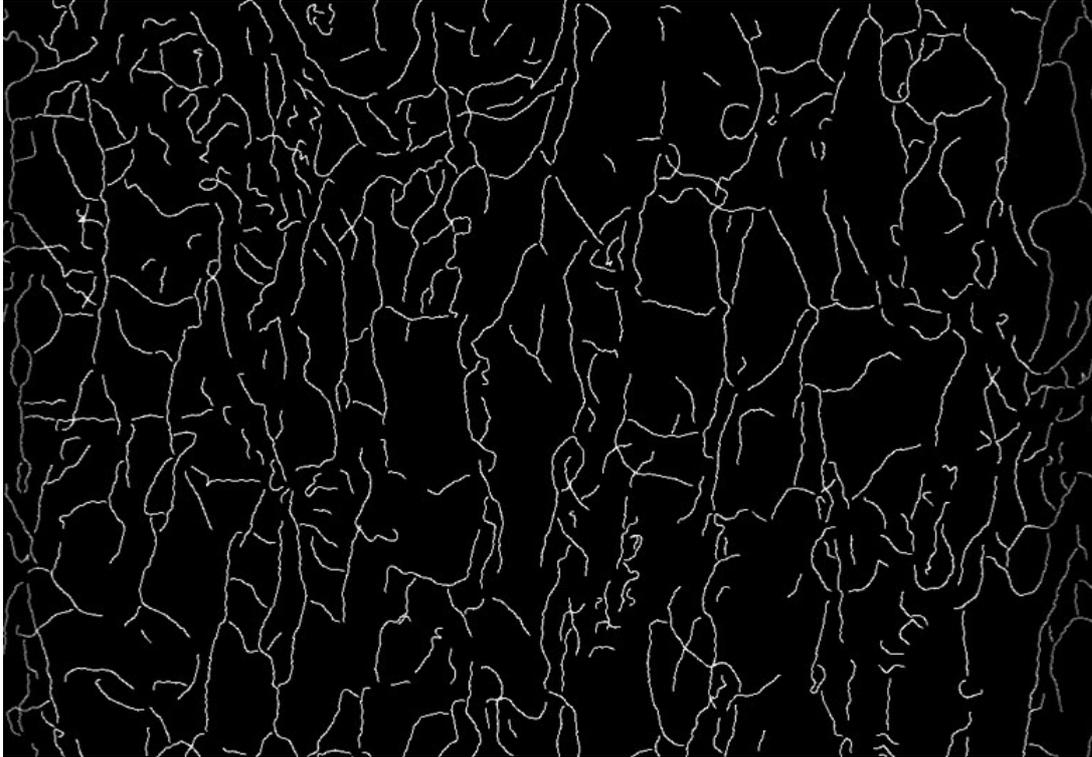


Abb. 3: Exemplarische Aufnahme der Videomikroskopie an der enoralen Lefzenschleimhaut nach Extraktion der kapillären Gefäße

Field of view 1,55 mm x 1,15 mm. Quelle: Eigene Aufnahme

Zur videomikroskopischen Beurteilung der Mikrozirkulation werden vier Parameter ermittelt: die absolute Dichte aller mikrovaskulären Gefäße (*total vessel density* [mm/mm^2] = TVD), die Dichte der durchbluteten Gefäße (*perfused vessel density* [mm/mm^2] = PVD), der sich aus den beiden erst genannten Messgrößen ergebende relative Anteil der durchbluteten Gefäßen (*proportion of perfused vessels* [%] = PPV) sowie ein dimensionsloser Marker für die Perfusionsgeschwindigkeit (*average perfused speed indicator* = APSI).

Zusätzlich zu der softwaregestützten Auswertung wurden die Videoaufnahmen am bewegten Bild manuell ausgewertet und der *microcirculatory flow index* (MFI) bestimmt. Die Auswertung erfolgte anhand definierter Kriterien zur Bestimmung des MFI [71]. Über die Aufnahmen wurde dazu ein Raster gelegt, das diese in vier gleich große Quadranten gliedert. Die Flussqualität wurde in jedem Quadranten anhand einer Skala von 0 bis 3 evaluiert: 0 = kein Blutfluss, 1 = intermittierender Blutfluss, 2 = träger Blutfluss („*sluggish*“), 3 = normaler, unbeeinträchtigter Blutfluss. Aus den pro Quadrant erhobenen Werten wurde für jede Videoaufnahme der Mittelwert gebildet [76]. Die Auswertung erfolgte verblindet durch den immer gleichen Untersucher.

Um der Heterogenität als Zeichen einer beeinträchtigten Mikrozirkulation Rechnung zu tragen, wurde von Trzeciak et al. ein Heterogenitätsindex (HGI) vorgeschlagen, der hier Anwendung fand [77]. Dazu werden zu jedem Messzeitpunkt Aufnahmen an drei bis fünf Lokalisationen an der enoralen Lefzenschleimhaut angefertigt und für jede Aufnahme der MFI pro Quadrant bestimmt. Anschließend wird die Differenz zwischen dem höchsten und dem niedrigsten MFI gebildet und durch den Mittelwert der zu diesem Messzeitpunkt erhobenen Werte dividiert. Dieser Heterogenitätsindex hat den Vorteil, dass deutliche Abweichungen vom Mittelwert stärker berücksichtigt werden. Die Zunahme der Heterogenität der Mikrozirkulation ist ein entscheidender Hinweis für ein relevantes Shuntvolumen, das insbesondere im septischen oder distributiven Schock auftritt [71].

2.6 Messung der Barrierefunktion durch Translokation von Sacchariden

Zur Beurteilung der Transport- und Barrierefunktion der gastrointestinalen Mukosa wurde den Hunden zum definierten Zeitpunkt (s. Abb. 1) über die Magensonde eine Mischung verschiedener Mono- und Disaccharide gastral appliziert. Das Gemisch enthielt 1,7 mg/kgKG Saccharose (*D(+)-Saccharose, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland*), 16,7 mg/kgKG Lactulose (*Bifiteral[®], Abbott Arzneimittel GmbH, Hannover, Deutschland*), 6,7 mg/kgKG Rhamnose (*Rhamnose, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland*), 6,7 mg/kgKG Mannitol (*Mannit-Lösung 15%, Serag-Wiessner GmbH & Co. KG, Naila, Deutschland*) sowie 66,7 mg/kgKG Xylose (*D(+)-Xylose, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland*). Gelöst wurden die Zucker in 0,78 ml/kgKG Wasser.

Die unterschiedlichen Saccharide werden in Abhängigkeit ihrer molekularen Eigenschaften und der enzymatischen Ausstattung des Dünndarms in unterschiedlichen Abschnitten des Gastrointestinaltraktes gespalten oder resorbiert. Der Nachweis der einzelnen Saccharide im Blut erlaubt daher Rückschlüsse auf die Lokalisation einer möglichen Barrierschädigung innerhalb des Gastrointestinaltraktes. Alle verwendeten Zucker werden nach Übertritt ins Blut nicht metabolisiert und unverändert ausgeschieden und sind somit als spezifische Marker geeignet [78, 79].

Saccharose ist ein Disaccharid bestehend aus je einem Molekül α -D-Glucose und β -D-Fructose, die über eine glycosidische Bindung aneinander gebunden sind.

Disaccharide können die intakte Magenschleimhaut nicht überwinden und werden im Magen nicht gespalten oder verändert [80]. Erst nach Übertritt in den proximalen Dünndarm wird Saccharose von der spezifischen Disaccharidase in die Monosaccharide Glukose und Fruktose gespalten und die Spaltprodukte resorbiert [81, 82]. Unter physiologischen Bedingungen können nach der oralen Aufnahme keine relevanten Mengen Saccharose im Blutplasma nachgewiesen werden. Bei einer Schädigung der gastralen Schleimhautbarriere hingegen gelangt Saccharose direkt ins Blut. Im Blut befindliche Saccharose unterliegt keiner weiteren Metabolisierung, die Ausscheidung erfolgt über den Urin [83, 84]. Der Nachweis von oral aufgenommener Saccharose in Blut oder Urin kann demnach hinweisgebend sein auf einen Defekt des oberen Gastrointestinaltraktes wie gastroduodenale Ulzera oder frühe Formen des Magenkarzinoms [85-87]. Durch die gastrale Saccharoseapplikation und -bestimmung im Blutplasma sollte in dieser Studie eine durch Hämorrhagie bedingte Schädigung der Barrierefunktion im Bereich des Magens detektiert werden.

Die Substanzen Lactulose, Mannitol, Rhamnose und Xylose können nach oraler Applikation aufgrund ihres jeweiligen Resorptionsverhaltens ebenfalls zur Beurteilung der Barrierefunktion insbesondere der Dünndarmschleimhaut genutzt werden [78, 79, 88-92]. Da in dieser Studie die gastrale Barrierefunktion betrachtet wurde, erfolgte keine Messung der letztgenannten Substanzen bzw. ihrer Metabolite. Da bei den intestinalen Absorptionsvorgängen der Zucker u.a. die Osmolarität der Zuckermischung von Bedeutung ist, sind die verabreichten Zucker vollständig aufzuführen, wenngleich sie in dieser Versuchsreihe nicht Gegenstand von Messungen waren.

Zur Beurteilung der Zuckertranslokation wurden unter Baseline-Bedingungen sowie 30 und 60 Minuten nach Induktion des hämorrhagischen Schocks (Zeitpunkte HV30 und HV60) Blutproben in EDTA-Vacutainer entnommen (*BD Vacutainer Trace Element K2 EDTA (K2E) Plus Blood Collection Tubes 10,8 mg, BD, Plymouth, Großbritannien*) und umgehend bei 0 °C zentrifugiert (15 min, RCF = 3000 G; *Rotina 420 R, Hettich Zentrifugen, Mühlheim a. d. Ruhr, Deutschland*). Der Plasmaüberstand wurde gewonnen, Proben zu 30 µl erstellt und bis zur weiteren Verarbeitung auf Eis gelagert.

Zur Extraktion wurde den Plasmaproben 400 µl eines gekühlten Extraktionsmediums hinzugefügt. Dieses Extraktionsmedium wurde für jeden Versuch mit Aceton (*Aceton, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland*) und Isopropanol (*2-Propanolol,*

Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) sowie einer Ribitol-Stocklösung (20 mM; 30 mg Ribitol/10 ml H₂O) im Verhältnis 2000 : 1000 : 3 frisch hergestellt und bis zum Gebrauch desoxygeniert bei -20 °C gelagert.

Die mit Extraktionsmedium versetzten Plasmaproben wurden homogenisiert (10 Sekunden mit *Vortex-Genie 1 Touch Mixer, Scientific Industries INC, Bohemia, USA*) und bei 4 °C für 5 Minuten geschüttelt. Anschließend wurden sie bei 0 °C für zwei Minuten zentrifugiert (20800 rcf; *Centrifuge 5417R, Eppendorf, Hamburg, Deutschland*). Der flüssige Überstand jeder Probe wurde gesammelt, unter Verwendung von Stickstoff desoxygeniert und in Dunkelheit bei -80 °C bis zur weiteren Aufbereitung und Messung gelagert [93].

Die Analyse wurde in einem externen Labor des Instituts für Biochemie der Pflanzen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt. Die Messung erfolgte enzymatisch unter Verwendung eines modifizierten Protokolls nach Stitt [94].

Die Ergebnisse werden als relative Mengen pro Mikroliter Blutplasma angegeben.

2.7 Messung systemischer hämodynamischer Parameter

Während der gesamten Versuchsdauer wurde zur Beurteilung der Kreislaufsituation kontinuierlich ein Elektrokardiogramm (EKG) aufgezeichnet sowie der mittlere arterielle Blutdruck (MAD) invasiv gemessen. Zur Überwachung der Beatmung wurden FiO₂, etCO₂ und die endexpiratorische Narkosegaskonzentration sowie der Atemwegsdruck gemessen. Die erhobenen Daten wurden durch einen Mehrkanaloszillographen (*11-G4145-01, Gould Inc., Cleveland, Ohio, USA*) aufgenommen und verstärkt. Nach Umwandlung von einem analogen in ein digitales Signal (*Powerlab/800®, ADInstruments, Pty Ltd., Castle Hill, Australien*; Abtastrate 400 Hz) wurden die Messdaten mit Hilfe des Programmes *Chart* aufgezeichnet und graphisch abgebildet (*Chart v. 4.2, ADInstruments, Pty Ltd., Castle Hill, Australien*). Zur Auswertung und Datenanalyse wurde das gleiche Programm in der Version *Chart v. 5.5.6* genutzt.

2.7.1 Herzfrequenz

Nach Einleitung der Inhalationsnarkose erfolgte die kontinuierliche Ableitung eines 1-Kanal-Oberflächen-EKG. Die Bestimmung der Herzfrequenz erfolgte R-Zacken-getriggert mit Hilfe des Programmes *Chart v. 5.5.6*.

2.7.2 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD)

Die Messung des MAD erfolgte invasiv über den in der A. carotis communis einliegenden arteriellen Katheter. Der Blutdruckverlauf wurde kontinuierlich registriert und der MAD durch Integration der Originalsignale durch das Programm *Chart v. 5.5.6* ermittelt.

2.7.3 Herzzeitvolumen (HZV)

Die Bestimmung des HZV als Maß der kardialen Pumpleistung erfolgte mittels transpulmonaler Thermodilution (PiCCO Monitoring Kit PV8215, Pulsion Medical Systems AG, München, Deutschland; PiCCO 4.2, PULSION Medical Systems AG, München, Deutschland), die zu Versuchsbeginn und dann regelmäßig im dreißigminütigen Intervall durchgeführt wurde.

Hierzu wurden im Bolus jeweils 10 ml eisgekühlter isotoner Natriumchloridlösung (*NaCl 0,9 %*, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) über eine Venenverweilkanüle (*Vasofix® Safety*, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland; 16 G) am Vorderlauf des Hundes peripher venös injiziert. Über einen am Injektionsort angebrachten Thermistor wurde zunächst die Temperatur des Injektats gemessen. Eine weitere Thermistorsonde befand sich im arteriellen Thermodilutionskatheter in der Aorta ascendens. Die Datenaufzeichnung und -sicherung erfolgte mit der Software *PiCCO VoLEF Data Acquisition for Win32*, Version 4.0 (*PULSION Medical Systems AG, München, Deutschland*).

Die Verteilung des gekühlten Injektats über venöses System, rechtes Herz, Lungenstrombahn und linkes Herz bis zum Auswurf in die Aorta ascendens ist abhängig von der Blutflussgeschwindigkeit und dem transportierten Blutvolumen. Aus der über den Katheter registrierten Temperaturänderung über die Zeit ergibt sich die Thermodilutionskurve [95].

Das HZV lässt sich anhand der Stewart-Hamilton-Methode berechnen [96]:

$$HZV = \frac{(T_B - T_I) \cdot V_I \cdot K}{\int \Delta T_B \cdot dt}$$

mit

T_B = Temperatur des Bluts vor Injektion in °C

T_I = Temperatur des Injektats in °C

V_I = Volumen des Injektats in ml

K = Injektatkonstante

$\int \Delta T_B \cdot dt$ = Fläche unter der Thermodilutionskurve.

Die Methode der transpulmonalen Thermodilution unterliegt im Vergleich zur Erfassung der Thermodilutionskurve in der A. pulmonalis geringeren atemabhängigen Schwankungen, da durch die längere Messdauer über den Zeitraum von 120 Sekunden eine Mittelung über den Atemzyklus erreicht wird [97]. Außerdem ist die Methode – nach der vorbereitenden Operation der Carotiden – weniger invasiv als die Anlage eines Pulmonalkatheters. Die Messergebnisse beider Verfahren weisen eine hohe Übereinstimmung und eine vergleichbare Reproduzierbarkeit auf [95, 97, 98].

Die initial durchgeführte Thermodilution diente neben der Bestimmung des Ausgangswertes des HZV auch zur Kalibrierung der arteriellen Pulsconturanalyse. Das kardiale Schlagvolumen (SV) und der systemische vaskuläre Widerstand (SVR) als dynamische Parameter des intravasalen Volumenstatus und der kardialen Vorlast wurden im Verlauf kontinuierlich durch eine Pulsconturanalyse ermittelt. In der Versuchsauswertung wurden aufgrund einer höheren Messgenauigkeit während hämodynamischer Instabilität jedoch nur die Ergebnisse der im 30-minütigen Abstand durchgeführten Thermodilution berücksichtigt [99].

Der SVR lässt sich durch den Quotienten aus arteriovenöser Druckdifferenz und HZV berechnen:

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

In diesem Versuchsaufbau wurde kein zentralvenöser Katheter platziert und der zentrale Venendruck (ZVD) nicht direkt gemessen. Unter der Annahme eines konstant

niedrigen ZVD ergibt sich zur Bestimmung des SVR näherungsweise die folgende Formel:

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

2.7.4 Körpertemperatur

Vorangegangenen Studien haben gezeigt, dass eine milde Hypothermie positive Einflüsse auf den mikrozirkulatorischen Blutfluss und die Schleimhautoxygenierung hat [100, 101]. Um in der aktuellen Versuchsreihe unbeabsichtigte Einflüsse durch die Körpertemperatur auf die gemessenen Parameter auszuschließen, wurde auf die Durchführung der Versuche unter Normothermie geachtet. Der Versuchsraum wurden dazu auf 24 °C temperiert. Diese Temperatur entspricht dem Indifferenzbereich des Hundes [102]. Über die Thermistorsonde des arteriellen Katheters (vgl. 2.7.3) wurde die Körpertemperatur kontinuierlich gemessen und bei Bedarf durch Abdecken der Hunde mit einer wärmeisolierenden Folie oder unter Einsatz eines Erwärmungsgerätes (*500E BAIR HUGGER, Augustine Medical Inc., Eden Prairie, Minnesota, USA*) konstant gehalten.

Die gemessene Körpertemperatur der Hunde lag während der Versuche stets im physiologischen Bereich bei 38 ± 1 °C.

2.7.5 Blutgasanalyse (BGA), Elektrolyt- und Hämatokritbestimmung

Intermittierend wurden in 30-minütigem Abstand mit heparinisierten Spritzen (*PICO50, Radiometer Medical, Brønshøj, Dänemark*) über den arteriellen Katheter Blutproben zur Blutgasanalyse (BGA) und Elektrolytbestimmung entnommen. Die Messungen erfolgten mit Hilfe eines BGA-Gerätes (*ABL700, Radiometer GmbH, Willich, Deutschland*).

Bestimmt wurden der arterielle Sauerstoff- (p_aO_2) und Kohlenstoffdioxidpartialdruck (p_aCO_2), die Hämoglobin (Hb)-, Laktat- und Glucosekonzentration, der Hämatokritwert, der pH-Wert sowie die Bikarbonatkonzentration (HCO_3^-), der Base-Excess (BE) und die Konzentrationen der Elektrolyte Natrium (Na^+), Kalium (K^+), Chlorid (Cl^-) und Calcium (Ca^{2+}).

Zur manuellen Verifizierung des maschinell bestimmten Hämatokritwertes wurde arterielles Blut in heparinisierten Kapillaren (*Brand GmbH, Wertheim, Deutschland*, Länge 75 mm, Durchmesser 1,15 mm) vier Minuten bei 13000 rpm zentrifugiert (*Hettich Hämatokrit Zentrifuge Typ 2010, Hettich GmbH, Tuttlingen, Deutschland*) und der Hämatokritwert anhand einer Skala anschließend abgelesen.

2.7.6 Berechnung des Sauerstoffstatus

Mit Hilfe einer für Hunde angepassten Form der Hill-Formel lässt sich aus dem p_aO_2 , dem pH-Wert und der Temperatur die Sauerstoffsättigung des arteriellen Blutes (S_aO_2) in Prozent wie folgt berechnen [103]:

$$S_aO_2[\%] = 100 \cdot \frac{10^{2,5198 \cdot \log p_aO_2 + 1,1804 \cdot (pH - 7) - 0,047234 \cdot T - 2,3621}}{1 + 10^{2,5198 \cdot \log p_aO_2 + 1,1804 \cdot (pH - 7) - 0,047234 \cdot T - 2,3621}}$$

mit

p_aO_2 = Sauerstoffpartialdruck des arteriellen Blutes im mmHg

pH = pH-Wert des arteriellen Blutes

T = Temperatur des arteriellen Blutes in °C.

Der Sauerstoffgehalt des arteriellen Blutes (C_aO_2) setzt sich zusammen aus dem an Hämoglobin gebundenen Sauerstoff und dem physikalisch im Blut gelösten Sauerstoff.

Der Anteil des oxygenierten Hämoglobins ergibt sich aus dem Produkt der Hämoglobinkonzentration (Hb), der Hüfner-Zahl von 1,34 ml/g als maximaler Sauerstoffbindungskapazität von 1 g Hämoglobin und der S_aO_2 . Den Anteil des physikalisch gelösten Sauerstoffs erhält man durch Multiplikation des p_aO_2 mit dem Bunsen-Löslichkeitskoeffizienten für Sauerstoff, der bei einer Temperatur von 37 °C bei 0,0031 im arteriellen Blut liegt [104].

Für den arteriellen Sauerstoffgehalt (C_aO_2) gilt demnach:

$$C_aO_2 = Hb \cdot 1,34 \cdot \frac{S_aO_2}{100} + p_aO_2 \cdot 0,0031$$

Das systemische Sauerstoffangebot (DO_2) lässt sich daraus wie folgt berechnen:

$$DO_2 = C_aO_2 \cdot HZV$$

2.8 Statistische Auswertung

Zur Auswertung wurden die Daten der letzten fünf Minuten einer jeden Interventionsphase herangezogen. Als Ausgangswerte dienten die zum Zeitpunkt Baseline erhobenen Werte.

Die Angabe der Ergebnisse erfolgt als Mittelwerte \pm Standardfehler (MW \pm SEM). Um Effekte zwischen den Gruppen, aber auch im Zeitverlauf innerhalb einer Gruppe sichtbar zu machen, wurde eine Varianzanalyse für wiederholte Messungen (ANOVA – *analysis of variance*) durchgeführt, an die ein *Bonferroni* post-hoc-Test für multiple Vergleiche angeschlossen wurde. Bei einem p-Wert $< 0,05$ wurde jeweils eine statistische Signifikanz angenommen. Eine a-priori-Teststärkenanalyse erbrachte eine erforderliche Stichprobengröße von $n=6$.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm GraphPad Prism (GraphPad Prism Version 9.3.0, GraphPad Software, La Jolla California, USA).

3 Ergebnisse

Während der Baselinephase vor Beginn der lokalen Gasapplikation zeigte sich in sämtlichen relevanten Parametern kein signifikanter Unterschied zwischen den vier Gruppen, sodass vergleichbare Ausgangsbedingungen angenommen werden können.

3.1 Mikrozirkulation

3.1.1 Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler-Spektroskopie

Der hämorrhagische Schock führte sowohl in der mit Sauerstoff behandelten Interventionsgruppe O2HV als auch in der mit Stickstoff behandelten Kontrollgruppe N2HV zu einem signifikanten Abfall der gastralen und oralen mikrovaskulären Sauerstoffsättigung (μHbO_2) gegenüber der Baseline und im Vergleich zur Normovolämie (s. Abb. 4 und Abb. 5). In der Interventionsgruppe O2HV zeigte sich gastral ein Abfall von $78 \pm 1 \%$ auf $45 \pm 6 \%$ und oral von $80 \pm 1 \%$ auf $43 \pm 5 \%$. In der Kontrollgruppe N2HV fiel die μHbO_2 gastral von $77 \pm 2 \%$ auf $45 \pm 8 \%$, oral von $86 \pm 1 \%$ auf $46 \pm 4 \%$. Die Retransfusion des entnommenen Blutvolumens führte zu einer Erholung der Werte etwa auf das Ausgangsniveau.

Weder unter hämorrhagischen noch unter physiologischen Kreislaufbedingungen konnte an der gastralen oder an der oralen Schleimhaut eine signifikante Differenz der μHbO_2 -Werte zwischen Interventions- und Kontrollgruppe nachgewiesen werden.

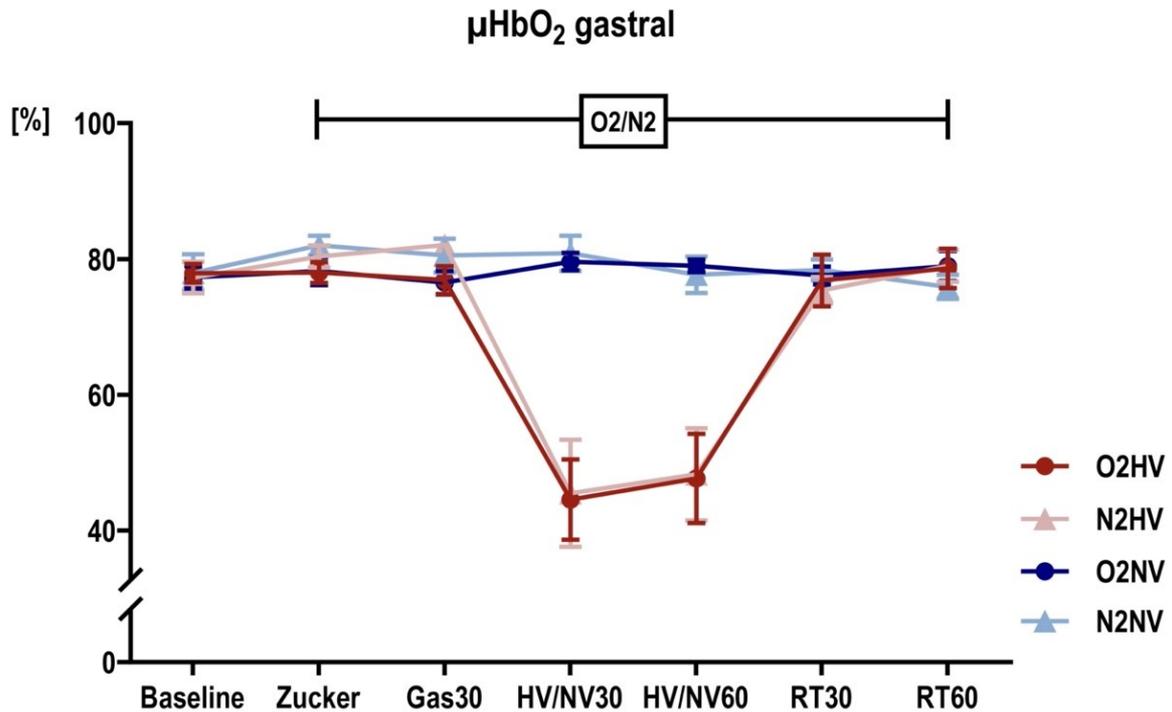


Abb. 4: Mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung (μHbO_2) der gastralen Schleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe der μHbO_2 in Prozent (%) unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW \pm SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe. Abbildung modifiziert nach [63].

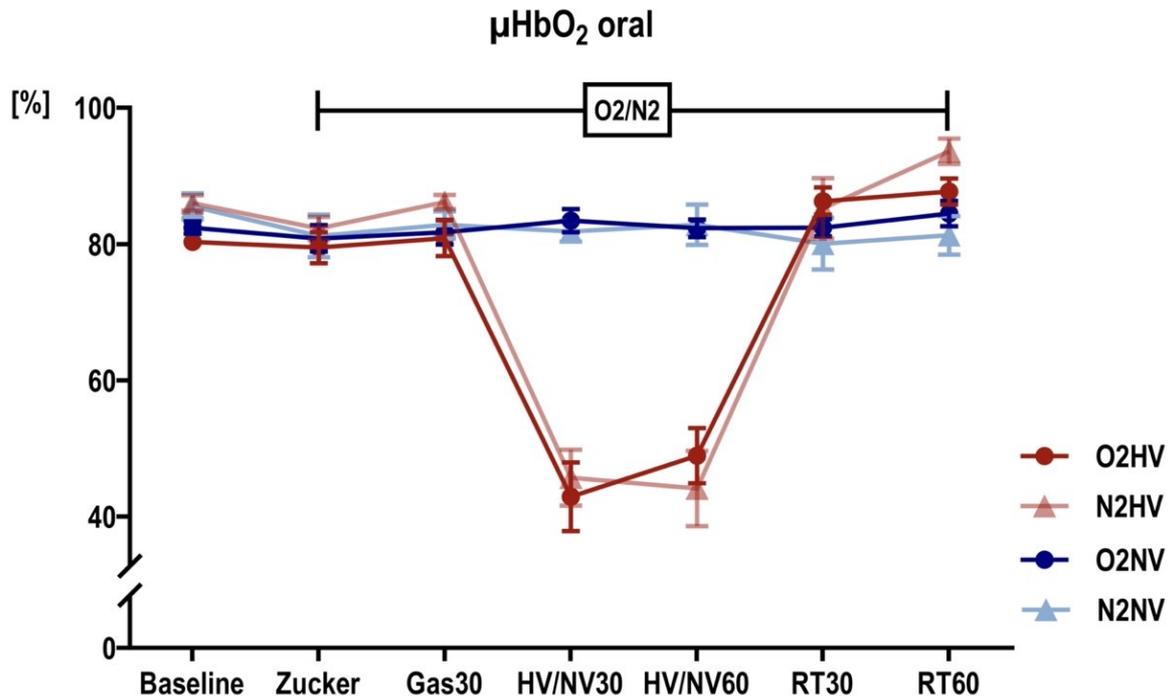


Abb. 5: Mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung (μHbO_2) der oralen Schleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe der μHbO_2 in Prozent (%) unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW \pm SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe. Abbildung modifiziert nach [63].

An der oralen Schleimhaut bewirkte der hämorrhagische Schock zum Zeitpunkt HV30 sowohl in der Interventionsgruppe O₂HV als auch in der Kontrollgruppe N₂HV eine signifikante Reduktion des mikrovaskulären Blutflusses (μflow) im Vergleich zur Baseline (O₂HV von 93 ± 13 aU auf 23 ± 6 aU und N₂HV von 135 ± 24 aU auf 54 ± 8 aU). Zum Zeitpunkt HV60 zeigt sich in O₂HV und N₂HV eine signifikante Abweichung zur Normovolämie (vgl. Tabelle 1).

In der mit Stickstoff behandelten Kontrollgruppe N₂HV lag das Ausgangsniveau des oralen μflow bereits vor Start der Gasapplikation höher als in der mit Sauerstoff behandelten Interventionsgruppe O₂HV. Diese Diskrepanz zeigte sich während der gesamten Versuchsdauer sowohl während der Hypovolämie als auch während der Retransfusion fortbestehend. Zu den Messzeitpunkten RT30 und RT60 ergab sich eine statistisch signifikante Abweichung (s. Abb. 6).

Unter physiologischen Kreislaufbedingungen nahm der orale μ flow mit Andauern der Gasapplikation in der Interventionsgruppe (O2NV) ab, wohingegen er in der Kontrollgruppe (N2NV) zunahm. Eine statistische Signifikanz zeigte sich hier nicht.

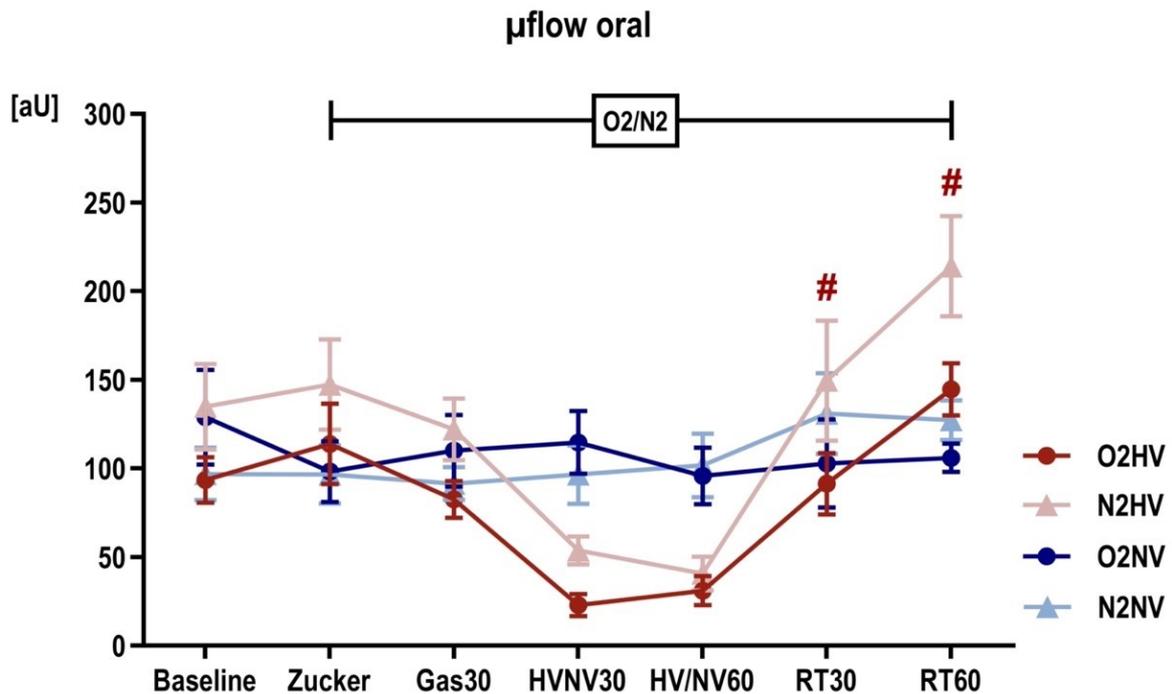


Abb. 6: Mikrovasculärer Blutfluss (μ flow) der oralen Schleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe des μ flow in *arbitrary units* (aU) unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW \pm SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe.

Auch an der gastralen Schleimhaut bewirkte der hämorrhagische Schock eine Reduktion des μ flow. Aufgrund einer größeren Streuung der erhobenen Messwerte ergab sich hier keine statistische Signifikanz im Vergleich zur Baseline. Ein Effekt der lokalen Sauerstoffapplikation war an der gastralen Schleimhaut nicht zu erkennen (vgl. Tabelle 1).

An der oralen Schleimhaut zeigte sich die mikrovaskuläre Flussgeschwindigkeit (μ velocity) durch den hämorrhagischen Schock in der mit Sauerstoff behandelten Interventionsgruppe O2HV zum Zeitpunkt HV30 signifikant reduziert im Vergleich zur mit Stickstoff behandelten Kontrollgruppe N2HV. In geringerem Ausmaß lag diese

Diskrepanz bereits zu Versuchsbeginn vor (s. Abb. 7). Unter normovolämischen Kreislaufbedingungen unterschritt die orale μ velocity in der mit Sauerstoff behandelten Interventionsgruppe O2NV mit anhaltender Gasinsufflation ebenfalls die μ velocity der Kontrollgruppe N2NV. Eine statistische Signifikanz ergab sich nicht.

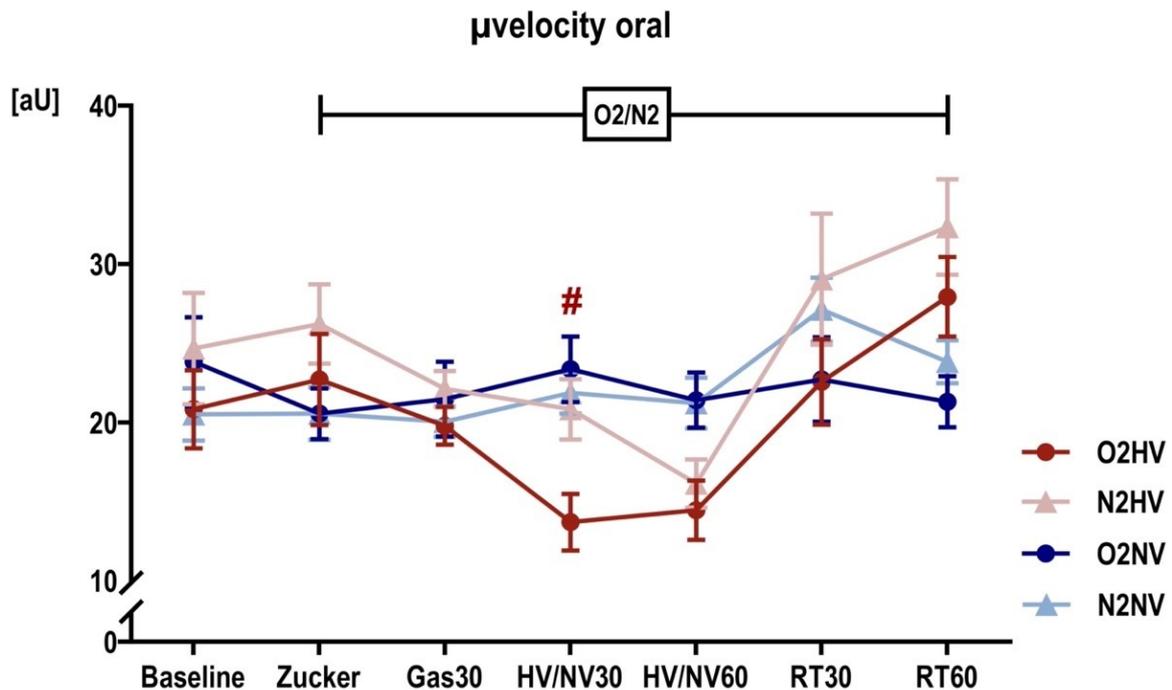


Abb. 7: Mikrovaskuläre Flussgeschwindigkeit (μ velocity) der oralen Schleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe der μ velocity in *arbitrary units* (aU) unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW \pm SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe.

An der gastralen Schleimhaut konnten die an der oralen Schleimhaut beobachteten Veränderungen der μ velocity nicht reproduziert werden (vgl. Tabelle 1).

Die lokale Hämoglobinmenge (rHb) zeigte sich an der oralen Schleimhaut während des hämorrhagischen Schocks in beiden Gruppen (O₂HV und N₂HV) signifikant reduziert im Vergleich zur Baseline und zur Normovolämie. Ein Effekt der lokalen Sauerstoffapplikation zwischen den Gruppen zeigte sich nicht. An der gastralen Schleimhaut zeigte sich der Abfall des rHb während des hämorrhagischen Schocks in

beiden Gruppen (O2HV und N2HV) weniger ausgeprägt. Auch hier zeigte sich keine Wirksamkeit der lokalen Sauerstoffapplikation (vgl. Tabelle 1).

Tabelle 1: Statistische Auswertung der Ergebnisse der Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler-Spektroskopie zur Beurteilung der oralen und gastral Mikrozirkulation

Parameter	Gruppe	Baseline	Zucker	Gas30	HV30	HV60	RT30	RT60
μHbO ₂ gastral [%]	N2 NV	78 ± 3	82 ± 1	81 ± 3	81 ± 3	78 ± 3	78 ± 2	76 ± 2
	O2 NV	77 ± 2	78 ± 2	77 ± 2	80 ± 1	79 ± 1	78 ± 1	79 ± 2
	N2 HV	77 ± 2	80 ± 2	82 ± 1	45 ± 8 *§	48 ± 7 *§	75 ± 2	79 ± 2
	O2 HV	78 ± 1	78 ± 2	77 ± 2	45 ± 6 *§	48 ± 7 *§	77 ± 4	79 ± 3
μHbO ₂ oral [%]	N2 NV	86 ± 2	81 ± 3	83 ± 2	82 ± 1	83 ± 3	80 ± 4	81 ± 3
	O2 NV	82 ± 1	81 ± 2	82 ± 2	83 ± 2	82 ± 1	82 ± 1	84 ± 2
	N2 HV	86 ± 1	82 ± 2	86 ± 1	46 ± 4 *§	44 ± 6 *§	85 ± 4	94 ± 2 *§
	O2 HV	80 ± 1	79 ± 2	81 ± 3	43 ± 5 *§	49 ± 4 *§	86 ± 2	88 ± 2
μflow gastral [aU]	N2 NV	148 ± 15	176 ± 16	184 ± 17	178 ± 14	158 ± 17	159 ± 20	133 ± 16
	O2 NV	154 ± 15	194 ± 14	193 ± 19	190 ± 17	194 ± 27	167 ± 21	160 ± 27
	N2 HV	141 ± 16	153 ± 23	175 ± 14	149 ± 34	158 ± 24	170 ± 20	207 ± 29 §
	O2 HV	134 ± 11	203 ± 26 *	164 ± 16	151 ± 16	141 ± 17	196 ± 44	170 ± 29
μflow oral [aU]	N2 NV	97 ± 15	96 ± 16	92 ± 9	97 ± 16	102 ± 18	131 ± 23	127 ± 11
	O2 NV	129 ± 27	98 ± 17	110 ± 20	115 ± 18	96 ± 16	103 ± 25	106 ± 8
	N2 HV	135 ± 24	147 ± 26 §	122 ± 17	54 ± 8 *	41 ± 9 *§	149 ± 34	214 ± 28 *§
	O2 HV	93 ± 13	114 ± 23	82 ± 11	23 ± 6 *§	31 ± 8 *§	91 ± 17 #	145 ± 15 *#
μvelocity gastral [aU]	N2 NV	20 ± 2	20 ± 1	21 ± 1	23 ± 3	19 ± 1	19 ± 1	17 ± 1
	O2 NV	20 ± 1	23 ± 1	22 ± 2	21 ± 2	23 ± 2	20 ± 2	20 ± 2
	N2 HV	19 ± 1	19 ± 2	21 ± 1	18 ± 2 §	20 ± 1	22 ± 2	22 ± 2
	O2 HV	18 ± 1	23 ± 2	19 ± 1	18 ± 1	18 ± 1	20 ± 2	20 ± 2
μvelocity oral [aU]	N2 NV	20 ± 2	21 ± 2	20 ± 1	22 ± 1	21 ± 2	27 ± 2 *	24 ± 1
	O2 NV	24 ± 3	21 ± 2	21 ± 2	23 ± 2	21 ± 2	23 ± 3	21 ± 2
	N2 HV	25 ± 4	26 ± 3	22 ± 1	21 ± 2	16 ± 2 *	29 ± 4	32 ± 3 *§
	O2 HV	21 ± 2	23 ± 3	20 ± 1	14 ± 2 *§#	14 ± 2 *§	23 ± 3	28 ± 3 *§
rHb gastral [aU]	N2 NV	58 ± 2	58 ± 2	55 ± 3	59 ± 3	52 ± 3	52 ± 2	55 ± 4
	O2 NV	57 ± 2	67 ± 4	61 ± 3	60 ± 2	57 ± 2	53 ± 2	56 ± 2
	N2 HV	57 ± 2	59 ± 1	58 ± 3	48 ± 6 §	49 ± 5	53 ± 4	54 ± 3
	O2 HV	55 ± 3	59 ± 3	59 ± 3	53 ± 8	52 ± 5	54 ± 4	56 ± 4
rHb oral [aU]	N2 NV	98 ± 4	94 ± 4	93 ± 3	93 ± 2	90 ± 3 *	93 ± 3	90 ± 5 *
	O2 NV	96 ± 3	92 ± 4	91 ± 3	91 ± 1	90 ± 3	91 ± 2	94 ± 2
	N2 HV	98 ± 2	92 ± 3	95 ± 3	62 ± 2 *§	65 ± 4 *§	92 ± 3	97 ± 3
	O2 HV	94 ± 2	92 ± 2	93 ± 2	62 ± 3 *§	68 ± 4 *§	87 ± 4	94 ± 3

O2 = Sauerstoffapplikation, N2 = Stickstoffapplikation, HV = hämorrhagische (hypovoläme) Kreislaufbedingungen, NV = physiologische (normovoläme) Kreislaufbedingungen, RT = Retransfusion, Gas = topische Sauerstoff- bzw. Stickstoffapplikation, Zucker = Verabreichung der Zuckermischung, 30/60 = Zeitangabe in Minuten seit Beginn der jeweiligen Intervention.

Angaben als MW ± SEM für n = 6, * = p < 0,05 vs. Baseline, # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe, § = p < 0,05 vs. Normovolämie.

Tabelle modifiziert nach [63].

3.1.2 Videomikroskopie

In der Videomikroskopie zeigte sich die absolute Gefäßdichte (*total vessel density*, TVD) an der enoralen Lefzenschleimhaut während des hämorrhagischen Schocks im Vergleich zur Baseline und zur Normovolämie signifikant reduziert (s. Abb. 8).

Zum Zeitpunkt HV30 ist die TVD in der mit Sauerstoff behandelten Interventionsgruppe O2HV signifikant höher als in der mit Stickstoff behandelten Kontrollgruppe N2HV. Diese Differenz hat sich während der Versuchsdauer trotz anhaltender topischer Gasinsufflation zunehmend nivelliert und war zum Versuchsende nahezu ausgeglichen.

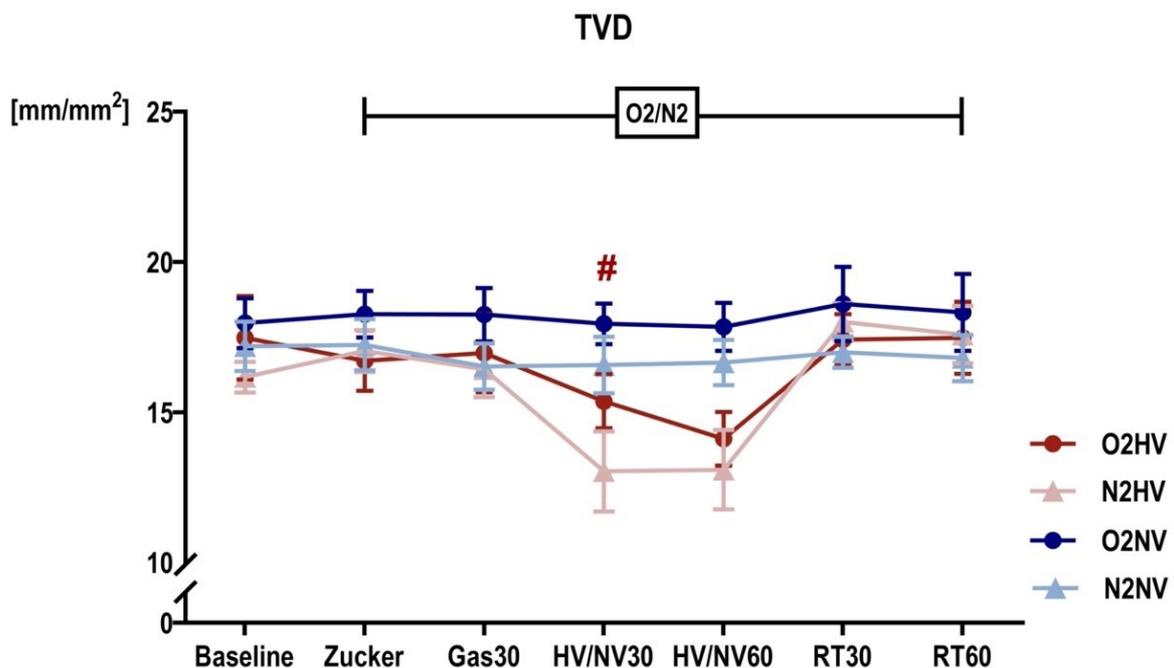


Abb. 8: Total vessel density (TVD) an der enoralen Lefzenschleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe der TVD in mm/mm² unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW ± SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe.

Die Dichte der perfundierten Gefäße (*perfused vessel density*, PVD) war im hämorrhagischen Schock zum Zeitpunkt HV30 sowohl in der mit Sauerstoff behandelten Interventionsgruppe O2HV als auch in der mit Stickstoff behandelten

Kontrollgruppe N2HV signifikant niedriger als in den normovolämischen Gruppen: $1,6 \pm 0,5 \text{ mm/mm}^2$ in N2HV vs. $4,5 \pm 1,2 \text{ mm/mm}^2$ in N2NV bzw. $2,9 \pm 0,6 \text{ mm/mm}^2$ in O2HV vs. $5,8 \pm 1,0 \text{ mm/mm}^2$ in O2NV (vgl. Tabelle 2).

Ab dem Zeitpunkt HV60 lag die PVD in der Interventionsgruppe O2HV geringfügig unter der PVD in der Kontrollgruppe N2HV, zum Zeitpunkt RT30 lag hier eine statistisch signifikante Differenz vor (s. Abb. 9).

Unter normovolämischen Kreislaufbedingungen zeigte sich ein gegenläufiger Trend ohne statistische Signifikanz.

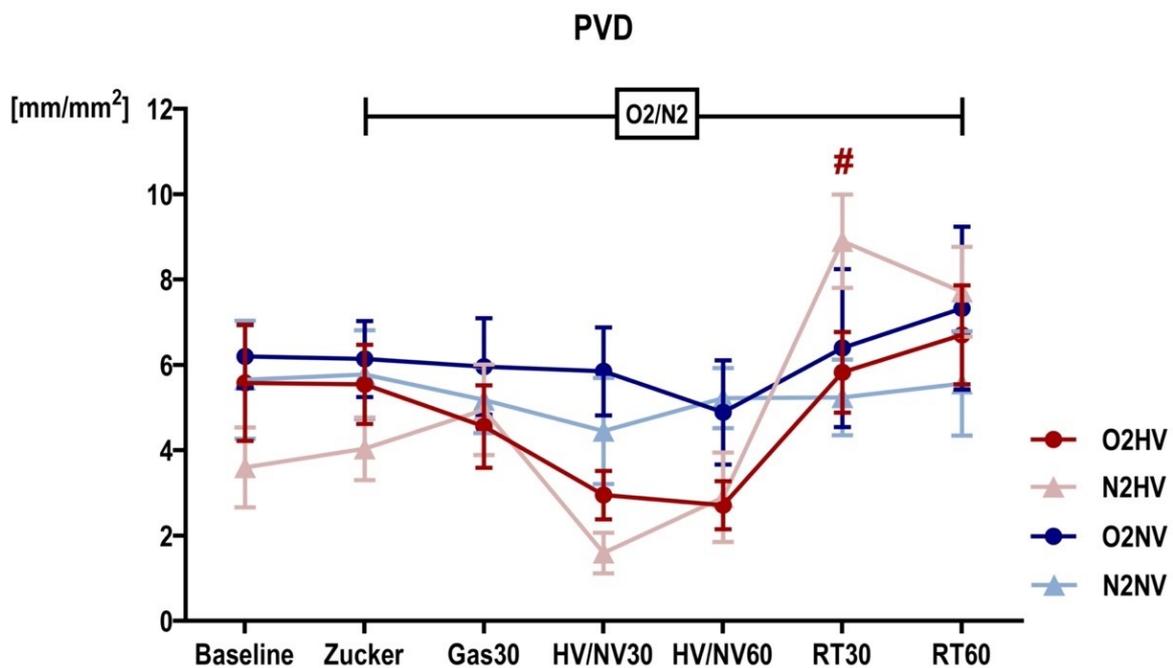


Abb. 9: Perfused vessel density (PVD) an der enoralen Lefzenschleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe der PVD mm/mm² unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW ± SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe.

Der relative Anteil der perfundierten Gefäße (*proportion of perfused vessels*, PPV) lag mit Andauern der Gasapplikation in der mit Sauerstoff behandelten Interventionsgruppe O2HV ab dem Zeitpunkt HV60 unter der mit Stickstoff behandelten Kontrollgruppe (N2HV), zum Zeitpunkt RT30 lag auch hier eine

statistische Signifikanz vor. Unter normovolämen Kreislaufbedingungen war dieser Effekt nicht zu reproduzieren (s. Abb. 10).

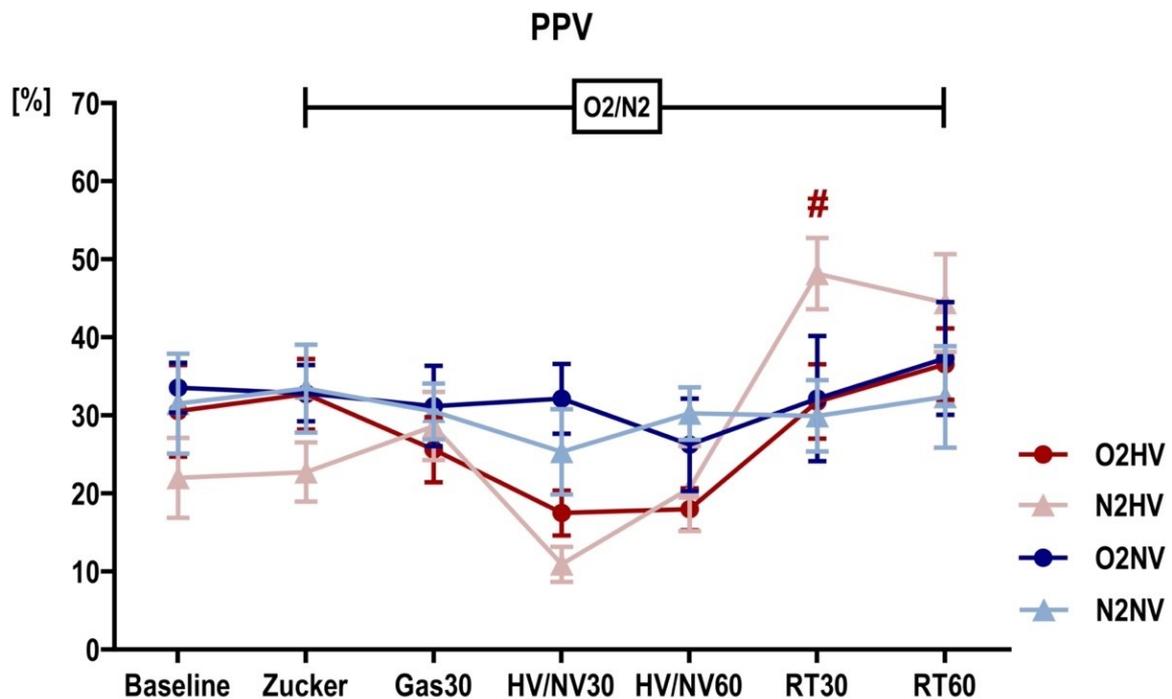


Abb. 10: Proportion of perfused vessels (PPV) an der enoralen Lefzenschleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe der PPV in Prozent (%) unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW ± SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe.

Der anhand standardisierter Beurteilungskriterien durch den Untersucher bewertete mikrovaskuläre Flussindex (MFI) und der sich hieraus ergebende Heterogenitätsindex (HGI) zeigten während des hämorrhagischen Schocks eine signifikante Abnahme der Flussqualität gegenüber der Baseline und im Vergleich zur Normovolämie (vgl. Tabelle 2). Zum Zeitpunkt HV30 lag der MFI in der mit Sauerstoff behandelten Interventionsgruppe O₂HV signifikant höher als in der mit Stickstoff behandelten Kontrollgruppe N₂HV, zum Zeitpunkt HV60 ist der Effekt nicht mehr nachweisbar (s. Abb. 11).

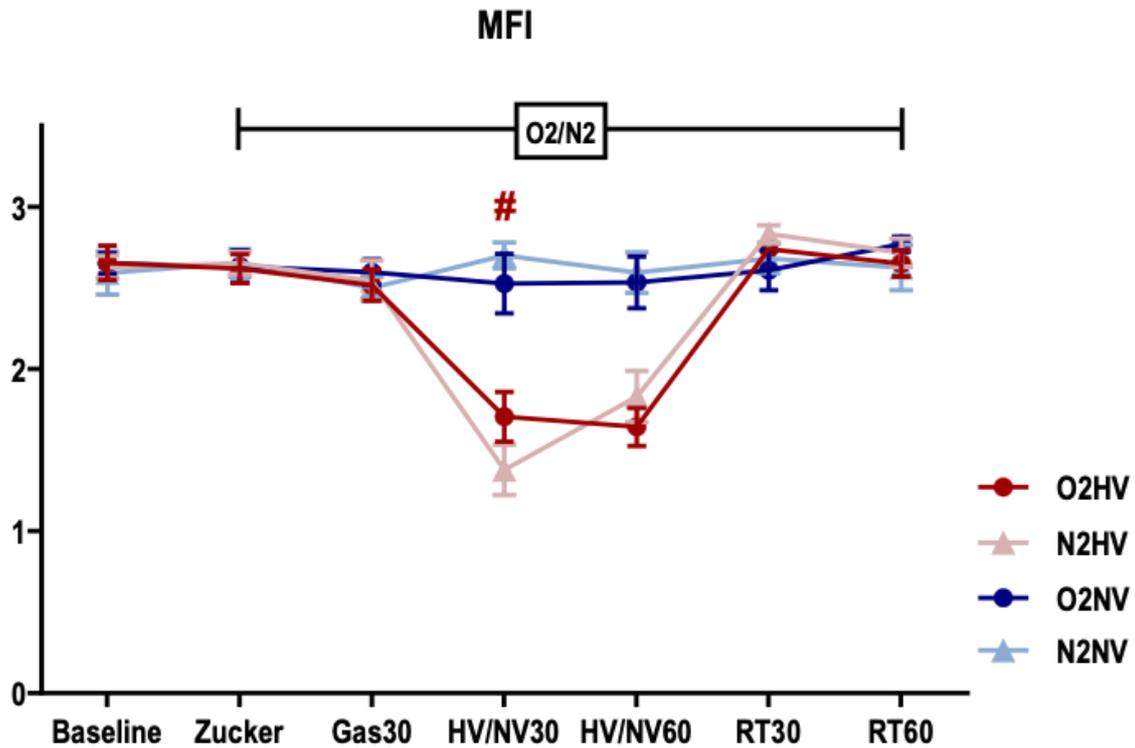


Abb. 11: Mikrovaskulärer Flussindex (MFI) an der enoralen Lefzenschleimhaut zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe des MFI als dimensionslose Größe unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW ± SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe.

Tabelle 2: Statistische Auswertung der Ergebnisse der Videomikroskopie zur Beurteilung der Mikrozirkulation an der oralen Schleimhaut

Parameter	Gruppe	Baseline	Zucker	Gas30	HV30	HV60	RT30	RT60
TVD [mm/mm ²]	N2 NV	17,2 ± 0,8	17,2 ± 0,9	16,5 ± 0,8	16,6 ± 0,9	16,7 ± 0,7	17,0 ± 0,5	16,8 ± 0,8
	O2 NV	18,0 ± 0,8	18,3 ± 0,8	18,2 ± 0,9	17,9 ± 0,8	17,8 ± 0,8	18,6 ± 1,2	18,3 ± 1,3
	N2 HV	16,2 ± 0,5	17,0 ± 0,7	16,4 ± 0,9	13,0 ± 1,3 *§	13,1 ± 1,3 *§	18,0 ± 0,6	17,6 ± 1,0
	O2 HV	17,5 ± 1,4	16,7 ± 1,0	17,0 ± 1,3	15,4 ± 0,9 *§#	14,1 ± 0,9 *§	17,4 ± 0,9	17,5 ± 1,2
PVD [mm/mm ²]	N2 NV	5,7 ± 1,4	5,8 ± 1,0	5,2 ± 0,8	4,5 ± 1,2	5,2 ± 0,7	5,2 ± 0,9	5,6 ± 1,2
	O2 NV	6,2 ± 0,7	6,1 ± 0,9	6,0 ± 1,1	5,8 ± 1,0	4,9 ± 1,2	6,4 ± 1,8	7,3 ± 1,9
	N2 HV	3,6 ± 0,9	4,0 ± 0,7	5,0 ± 1,1	1,6 ± 0,5 §	2,9 ± 1,0	8,9 ± 1,1 *§	7,7 ± 1,1 *
	O2 HV	5,6 ± 1,4	5,5 ± 0,9	4,6 ± 1,0	2,9 ± 0,6 §	2,7 ± 0,6 *	5,8 ± 0,9 #	6,7 ± 1,2
PPV [%]	N2 NV	31,5 ± 6,4	33,4 ± 5,6	30,5 ± 3,6	25,3 ± 5,4	30,2 ± 3,3	29,9 ± 4,6	32,4 ± 6,5
	O2 NV	33,5 ± 3,2	32,8 ± 3,6	31,2 ± 5,1	32,1 ± 4,5	26,2 ± 5,9	32,1 ± 8,0	37,3 ± 7,2
	N2 HV	22,0 ± 5,1	22,7 ± 3,8	28,6 ± 4,4	10,9 ± 2,2	20,6 ± 5,4	48,2 ± 4,6 *§	44,4 ± 6,3 *
	O2 HV	30,6 ± 5,9	32,7 ± 4,5	25,6 ± 4,2	17,5 ± 2,9	18,0 ± 2,7	31,8 ± 4,7 #	36,6 ± 4,6
APSI	N2 NV	2,7 ± 0,2	2,6 ± 0,2	2,7 ± 0,1	2,5 ± 0,2	2,7 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,7 ± 0,2
	O2 NV	2,7 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,4 ± 0,2	2,5 ± 0,2	2,8 ± 0,2
	N2 HV	2,4 ± 0,2	2,9 ± 0,5	2,6 ± 0,1	2,1 ± 0,2	2,4 ± 0,1	3,5 ± 0,2 *§	3,1 ± 0,3 *
	O2 HV	2,6 ± 0,2	2,7 ± 0,2	2,5 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,8 ± 0,1 #	2,9 ± 0,1
MFI (manuell)	N2 NV	2,6 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,1
	O2 NV	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,5 ± 0,2	2,5 ± 0,2	2,6 ± 0,1	2,8 ± 0,0
	N2 HV	2,6 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,5 ± 0,1	1,4 ± 0,2 *§	1,8 ± 0,2 *§	2,8 ± 0,1	2,7 ± 0,1
	O2 HV	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,5 ± 0,1	1,7 ± 0,2 *§#	1,6 ± 0,1 *§	2,7 ± 0,1	2,7 ± 0,1
HGI	N2 NV	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,1
	O2 NV	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,0
	N2 HV	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,1	1,3 ± 0,1 *§	1,2 ± 0,1 *§	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0
	O2 HV	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,1 ± 0,1 *§	1,1 ± 0,3 *§	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0

O2 = Sauerstoffapplikation, N2 = Stickstoffapplikation, HV = hämorrhagische (hypovolämie) Kreislaufbedingungen, NV = physiologische (normovolämie) Kreislaufbedingungen, RT = Retransfusion, Gas = topische Sauerstoff- bzw. Stickstoffapplikation, Zucker = Verabreichung der Zuckermischung, 30/60 = Zeitangabe in Minuten seit Beginn der jeweiligen Intervention.

Angaben als MW ± SEM für n = 6, * = p < 0,05 vs. Baseline, # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe, § = p < 0,05 vs. Normovolämie.

Tabelle modifiziert nach [63].

3.2 Systemische hämodynamische Parameter

Der induzierte hämorrhagische Schock führte erwartungsgemäß zu systemischen Kreislaufveränderungen.

Es zeigte sich zum Zeitpunkt HV30 sowohl in der Interventionsgruppe O2HV als auch in der Kontrollgruppe N2HV ein signifikanter Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAD) im Vergleich zur Baseline (O2HV von 65 ± 3 mmHg auf 50 ± 2 mmHg, N2HV von 61 ± 1 mmHg auf 50 ± 2 mmHg) und im Vergleich zur Normovolämie (O2HV 50 ± 2 mmHg vs. O2NV 66 ± 2 mmHg und N2HV 50 ± 2 mmHg vs. N2NV 65 ± 3 mmHg, vgl. Tabelle 3). Die Retransfusion des entnommenen Blutvolumens führte zum

Zeitpunkt RT30 zu einem Anstieg des MAD über das Ausgangsniveau und im Vergleich zur Normovolämie (s. Abb. 12).

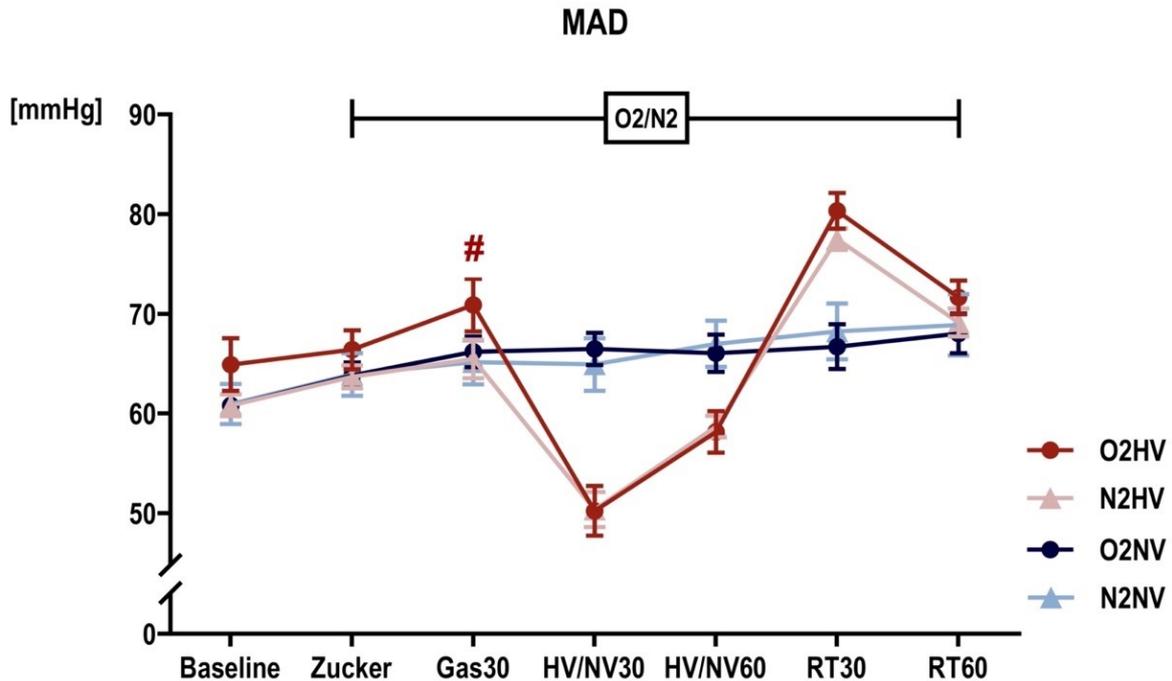


Abb.12: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD) zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe des MAD in mmHg unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW ± SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe.

Das kardiale Schlagvolumen (SV) zeigte sich durch den hämorrhagischen Schock zum Zeitpunkt HV30 ebenfalls signifikant reduziert im Vergleich zur Baseline und im Vergleich zur Normovolämie (O₂HV von 23 ± 1 ml auf 14 ± 1 ml und N₂HV von 24 ± 2 ml auf 13 ± 1 ml sowie O₂HV 14 ± 1 ml vs. O₂NV 22 ± 2 ml und N₂HV 13 ± 1 ml vs. N₂NV 22 ± 2 ml, vgl. Tabelle 3). Die Retransfusion des entnommenen Blutvolumens führte zu einer Zunahme des SV über das Ausgangsniveau.

Die Herzfrequenz (HF) zeigte während des hämorrhagischen Schocks zum Zeitpunkt HV30 keinen Unterschied zur Baseline oder zu den normovolämischen Gruppen. Die Retransfusion bewirkte zum Zeitpunkt RT30 eine signifikante Reduktion des

Herzfrequenzniveaus im Vergleich zum Ausgangsniveau und im Vergleich zur Normovolämie (vgl. Tabelle 3).

Aus dem während des hämorrhagischen Schocks verminderten SV und der konstanten HF ergab sich konsekutiv eine Reduktion des Herzzeitvolumens (HZV) (s. Abb. 13).

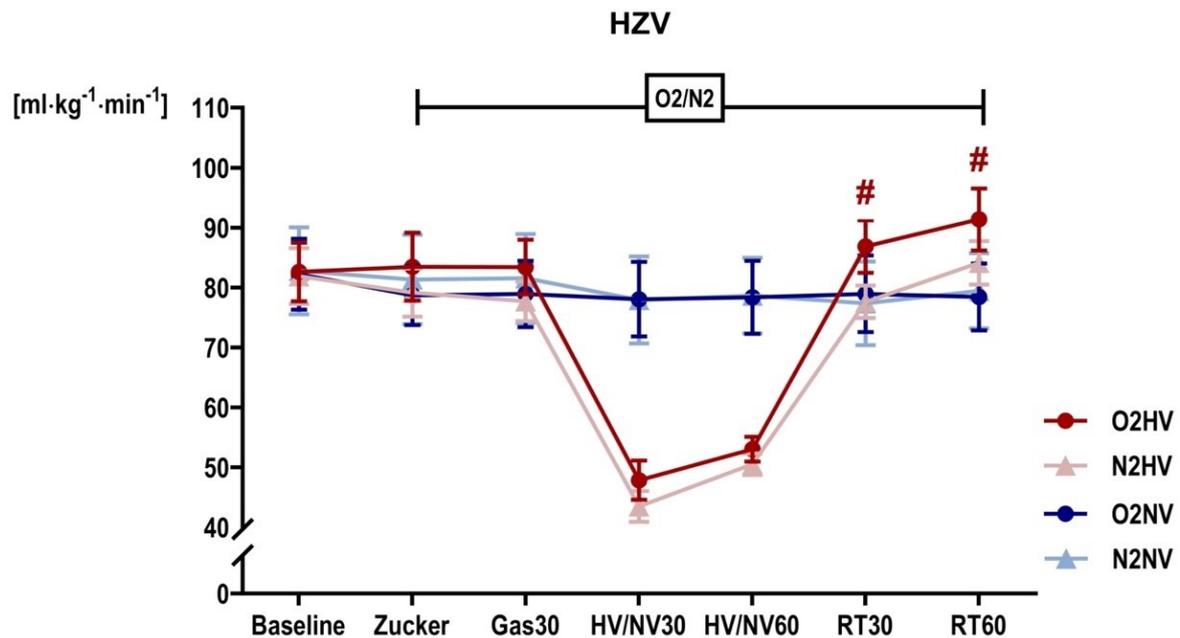


Abb. 13: Herzzeitvolumen (HZV) zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe des HZV in ml·kg⁻¹·min⁻¹ unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW ± SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe.

Der totale periphere Widerstand (SVR) zeigte sich während des hämorrhagischen Schocks zum Zeitpunkt HV30 infolge einer kompensatorischen systemischen Vasokonstriktion erhöht (O₂HV von 26 ± 2 mmHg·l⁻¹·min auf 34 ± 3 mmHg·l⁻¹·min und N₂HV von 26 ± 2 mmHg·l⁻¹·min auf 37 ± 3 mmHg·l⁻¹·min, vgl. Tabelle 3). Die lokale Sauerstoffapplikation hat hierbei keinen Einfluss auf den SVR.

In keinem der untersuchten systemischen hämodynamischen Parameter ergab sich während des milden hämorrhagischen Schocks oder unter physiologischen Kreislaufbedingungen eine signifikante Abweichung zwischen den mit Sauerstoff

behandelten Interventionsgruppen und den mit Stickstoff behandelten Kontrollgruppen.

Tabelle 3: Statistische Auswertung der systemischen hämodynamischen Parameter

Parameter	Gruppe	Baseline	Zucker	Gas30	HV30	HV60	RT30	RT60
MAD [mmHg]	N2 NV	61 ± 2	64 ± 2	65 ± 2	65 ± 3	67 ± 2 *	68 ± 3 *	69 ± 3 *
	O2 NV	61 ± 1	64 ± 1	66 ± 2 *	66 ± 2 *	66 ± 2 *	67 ± 2 *	68 ± 2 *
	N2 HV	61 ± 1	64 ± 1	65 ± 2 *	50 ± 2 *§	59 ± 1 §	77 ± 1 *§	69 ± 1 *
	O2 HV	65 ± 3	66 ± 2	71 ± 3 *§#	50 ± 2 *§	58 ± 2 *§	80 ± 2 *§	72 ± 2 *
HZV [ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹]	N2 NV	83 ± 7	81 ± 7	82 ± 7	78 ± 7	79 ± 6	77 ± 7	79 ± 6
	O2 NV	82 ± 6	79 ± 5	79 ± 6	78 ± 6	78 ± 6	79 ± 6	78 ± 6
	N2 HV	82 ± 5	79 ± 4	78 ± 3	43 ± 3 *§	51 ± 2 *§	78 ± 3	84 ± 4
	O2 HV	83 ± 5	83 ± 6	83 ± 5	48 ± 3 *§	53 ± 2 *§	87 ± 4 §#	91 ± 5 *§#
HF [1/min]	N2 NV	111 ± 3	113 ± 3	111 ± 3	111 ± 3	111 ± 3	109 ± 3	108 ± 3
	O2 NV	114 ± 2	116 ± 2	115 ± 2	114 ± 2	114 ± 2	112 ± 2	111 ± 2
	N2 HV	110 ± 2	110 ± 2	110 ± 2	109 ± 2	115 ± 4 *	98 ± 3 *§	103 ± 2 *§
	O2 HV	115 ± 2 #	117 ± 2 #	117 ± 2 #	111 ± 2	115 ± 3	104 ± 2 *§#	108 ± 2 *#
SV [ml]	N2 NV	24 ± 2	23 ± 2	23 ± 2	22 ± 2	23 ± 2	23 ± 2	23 ± 2
	O2 NV	23 ± 2	22 ± 2	22 ± 2	22 ± 2	22 ± 2	22 ± 2	23 ± 2
	N2 HV	24 ± 2	23 ± 2	23 ± 1	13 ± 1 *§	14 ± 1 *§	26 ± 2 §	26 ± 1 *§
	O2 HV	23 ± 1	23 ± 2	23 ± 2	14 ± 1 *§	15 ± 1 *§	27 ± 2 *§	27 ± 2 *§
SVR [mmHg·l ⁻¹ ·min ⁻¹]	N2 NV	24 ± 2	26 ± 3	26 ± 3	27 ± 3	27 ± 2	29 ± 2 *	28 ± 2
	O2 NV	24 ± 2	26 ± 3	27 ± 3	28 ± 3	27 ± 3	27 ± 3	28 ± 2 *
	N2 HV	24 ± 2	26 ± 2	27 ± 2	37 ± 3 *§	37 ± 2 *§	32 ± 2 *	26 ± 2
	O2 HV	25 ± 2	26 ± 2	27 ± 2	34 ± 3 *§	35 ± 2 *§	29 ± 2 *	25 ± 2

O2 = Sauerstoffapplikation, N2 = Stickstoffapplikation, HV = hämorrhagische (hypovolämie) Kreislaufbedingungen, NV = physiologische (normovolämie) Kreislaufbedingungen, RT = Retransfusion, Gas = topische Sauerstoff- bzw. Stickstoffapplikation, Zucker = Verabreichung der Zuckermischung, 30/60 = Zeitangabe in Minuten seit Beginn der jeweiligen Intervention.

Angaben als MW ± SEM für n = 6, * = p < 0,05 vs. Baseline, # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe, § = p < 0,05 vs. Normovolämie.

Tabelle modifiziert nach [63].

3.3 Systemischer Sauerstoffstatus und Blutgasanalyse

Parallel zum HZV sank auch das systemische Sauerstoffangebot (DO₂) im hämorrhagischen Schock zum Zeitpunkt HV30 in der Interventionsgruppe O2HV signifikant von 13,1 ± 1,0 ml·kg⁻¹·min⁻¹ auf 7,7 ± 0,6 ml·kg⁻¹·min⁻¹, in der Kontrollgruppe N2HV ebenfalls signifikant von 13,3 ± 1,2 ml·kg⁻¹·min⁻¹ auf 7,1 ± 0,5 ml·kg⁻¹·min⁻¹ (vgl. Tabelle 4). Zwischen den mit Sauerstoff behandelten Interventionsgruppen und den mit Stickstoff behandelten Kontrollgruppen zeigte sich weder unter hämorrhagischen noch unter normovolämischen Kreislaufbedingungen ein Unterschied (s. Abb. 14).

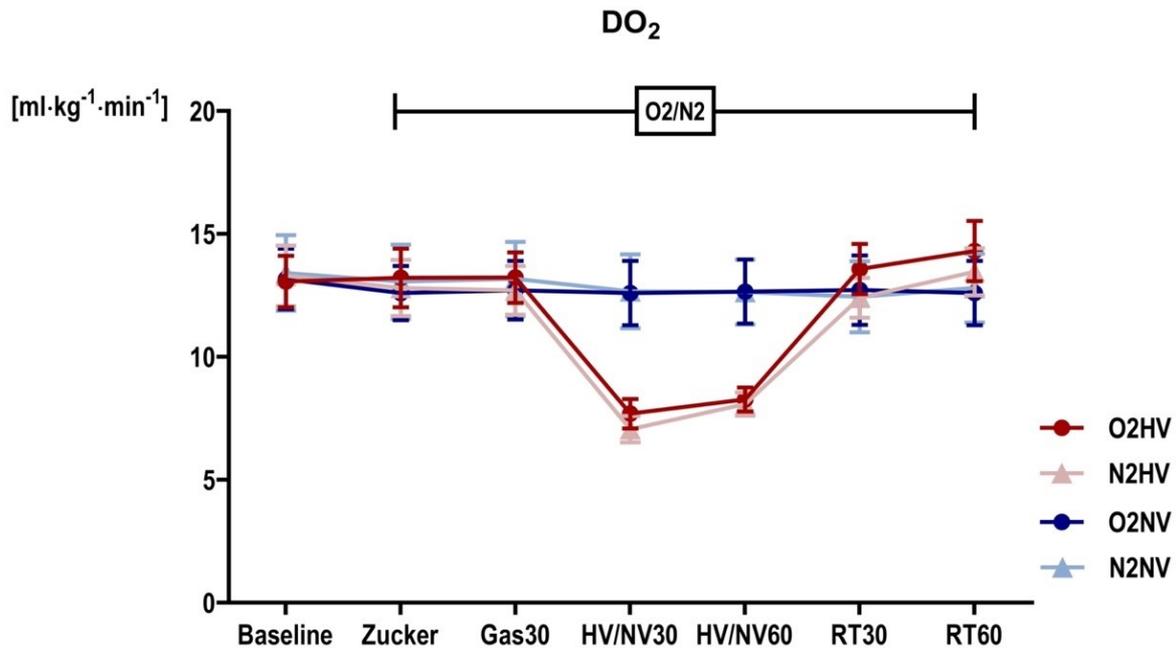


Abb.14: Systemisches Sauerstoffangebot (DO₂) zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe des DO₂ in ml·kg⁻¹·min⁻¹ unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW ± SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe.

Der hämorrhagische Schock bewirkte in O₂HV und N₂HV einen statistisch signifikanten Abfall der arteriellen Sauerstoffsättigung (S_aO₂) gegenüber der Baseline und im Vergleich zur Normovolämie (vgl. Tabelle 4). Zwischen den mit Sauerstoff und Stickstoff behandelten Gruppen zeigte sich weder unter hämorrhagischen noch unter normovolämen Kreislaufbedingungen ein signifikanter Unterschied in der S_aO₂.

Hinsichtlich des arteriellen Sauerstoffgehalts (C_aO₂) führte der hämorrhagische Schock nicht zu relevanten Abweichungen im Vergleich zu den Ausgangswerten. Zu den Messzeitpunkten Gas30, HV60, RT30 und RT60 zeigte sich eine statistisch signifikante Differenz zwischen den Gruppen O₂HV und N₂HV (vgl. Tabelle 4).

Im akuten hämorrhagischen Schock zeigten sich nur geringe Abweichungen der Hb- und Hämatokritwerte zwischen den hypovolämen und normovolämen Gruppen. Nur in der Gruppe O₂HV bewirkt der hämorrhagische Schock zum Zeitpunkt HV30 einen signifikanten Hb-Abfall im Vergleich zur Baseline (vgl. Tabelle 4).

Tabelle 4: Statistische Auswertung der Parameter des systemischen Sauerstoffstatus

Parameter	Gruppe	Baseline	Zucker	Gas30	HV30	HV60	RT30	RT60
S _a O ₂ [%]	N2 NV	98,5 ± 0,2	98,5 ± 0,1	98,6 ± 0,1	98,6 ± 0,1	98,5 ± 0,2	98,5 ± 0,1	98,6 ± 0,1
	O2 NV	98,5 ± 0,1	98,5 ± 0,1	98,6 ± 0,1	98,6 ± 0,1	98,6 ± 0,1	98,5 ± 0,1	98,6 ± 0,1
	N2 HV	98,4 ± 0,2	98,5 ± 0,1	98,5 ± 0,1	97,6 ± 0,2 *§	97,9 ± 0,1 *§	98,6 ± 0,1	98,5 ± 0,1
	O2 HV	98,3 ± 0,2	98,4 ± 0,1	98,4 ± 0,1	97,5 ± 0,2 *§	97,9 ± 0,2 *§	98,5 ± 0,1	98,6 ± 0,1 *
C _a O ₂ [ml/dl]	N2 NV	16,0 ± 0,6	15,9 ± 0,6	16,0 ± 0,7	16,1 ± 0,7	16,0 ± 0,7	15,9 ± 0,7	15,9 ± 0,7
	O2 NV	15,9 ± 0,5	15,9 ± 0,6	16,0 ± 0,6	16,0 ± 0,6	16,0 ± 0,6	16,0 ± 0,6	15,9 ± 0,6
	N2 HV	16,1 ± 0,7	16,0 ± 0,7	16,2 ± 0,7	16,2 ± 0,7	16,0 ± 0,6	15,9 ± 0,7	15,9 ± 0,7
	O2 HV	15,8 ± 0,5	15,7 ± 0,5	15,8 ± 0,5 #	16,0 ± 0,3	15,5 ± 0,4 §#	15,5 ± 0,5 §#	15,5 ± 0,5 §#
DO ₂ [ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹]	N2 NV	13,4 ± 1,5	13,1 ± 1,5	13,2 ± 1,5	12,7 ± 1,5	12,6 ± 1,3	12,4 ± 1,4	12,8 ± 1,4
	O2 NV	13,2 ± 1,2	12,6 ± 1,1	12,7 ± 1,2	12,6 ± 1,3	12,7 ± 1,3	12,7 ± 1,4	12,6 ± 1,3
	N2 HV	13,3 ± 1,2	12,8 ± 1,1	12,7 ± 1,0	7,1 ± 0,5 *§	8,1 ± 0,5 *§	12,4 ± 0,8	13,5 ± 1,0
	O2 HV	13,1 ± 1,0	13,2 ± 1,2	13,2 ± 1,0	7,7 ± 0,6 *§	8,3 ± 0,5 *§	13,6 ± 1,0	14,3 ± 1,2 *§
Hb [g/dl]	N2 NV	11,8 ± 0,4	11,7 ± 0,4	11,8 ± 0,5	11,8 ± 0,5	11,7 ± 0,5	11,7 ± 0,5	11,7 ± 0,6
	O2 NV	11,7 ± 0,4	11,7 ± 0,4	11,8 ± 0,4	11,8 ± 0,4	11,8 ± 0,4	11,7 ± 0,4	11,7 ± 0,5
	N2 HV	11,9 ± 0,5	11,8 ± 0,5	11,9 ± 0,5	12,1 ± 0,5	11,8 ± 0,5	11,7 ± 0,5	11,7 ± 0,5
	O2 HV	11,6 ± 0,4	11,6 ± 0,4	11,6 ± 0,4 #	11,9 ± 0,2 *	11,5 ± 0,3 #	11,4 ± 0,4 §	11,4 ± 0,4 #
Hämatokrit [%]	N2 NV	35,8 ± 1,2	35,0 ± 1,4	35,4 ± 1,5	36,0 ± 1,4	35,4 ± 1,4	35,5 ± 1,6	35,6 ± 1,8
	O2 NV	35,7 ± 1,1	35,1 ± 1,2	35,4 ± 1,3	35,4 ± 1,4	35,2 ± 1,3	35,1 ± 1,4	35,2 ± 1,5
	N2 HV	35,9 ± 1,6	35,4 ± 1,6	36,4 ± 1,7 §	36,7 ± 1,5	36,3 ± 1,3	35,6 ± 1,6	35,5 ± 1,6
	O2 HV	35,1 ± 1,1	35,1 ± 1,2	35,2 ± 1,2 #	36,3 ± 0,7 *	34,8 ± 1,0 #	34,6 ± 1,1 #	34,9 ± 1,1

O2 = Sauerstoffapplikation, N2 = Stickstoffapplikation, HV = hämorrhagische (hypovoläme) Kreislaufbedingungen, NV = physiologische (normovoläme) Kreislaufbedingungen, RT = Retransfusion, Gas = topische Sauerstoff- bzw. Stickstoffapplikation, Zucker = Verabreichung der Zuckermischung, 30/60 = Zeitangabe in Minuten seit Beginn der jeweiligen Intervention.

Angaben als MW ± SEM für n = 6, * = p < 0,05 vs. Baseline, # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe, § = p < 0,05 vs. Normovolämie.

Tabelle modifiziert nach [63].

Der arterielle Sauerstoffpartialdruck (p_aO₂) fiel während der Hämorrhagie sowohl in der Interventionsgruppe O2HV als auch in der Kontrollgruppe N2HV signifikant im Vergleich zur Baseline und im Vergleich zur Normovolämie. Ein Unterschied zwischen den mit Sauerstoff und Stickstoff behandelten Gruppen zeigte sich auch hier weder unter physiologischen noch unter hämorrhagischen Kreislaufbedingungen (vgl. Tabelle 5).

Der arterielle Kohlenstoffdioxidpartialdruck (p_aCO₂) zeigte während des hämorrhagischen Schocks sowohl in O2HV als auch in N2HV einen Anstieg auf maximal 41,4 ± 1,4 mmHg in O2HV bzw. 41,8 ± 1,1 mmHg in N2HV (vgl. Tabelle 5).

In allen vier Versuchsgruppen zeigte sich während der Versuchsdauer ein signifikanter Abfall des pH-Wertes im Vergleich zur Baseline. Während des hämorrhagischen Schocks lag der pH-Wert in den Gruppen O2HV und N2HV signifikant unter dem der normovolämen Gruppen O2NV und N2NV (Zeitpunkt HV30: O2HV 7,31 ± 0,02 vs.

O2NV 7,38 ± 0,01 und N2HV 7,30 ± 0,02 vs. N2NV 7,38 ± 0,01). Die entsprechenden Werte des Base Excesses (BE) und des Bikarbonats (HCO₃⁻) sind Tabelle 5 zu entnehmen.

Während der Versuchsdauer zeigte sich außerdem in allen vier Gruppen ein im Vergleich zur Baseline signifikanter Anstieg des Laktats. Der hämorrhagische Schock bewirkte keinen Unterschied zwischen den Gruppen. Auch die lokale Sauerstoffapplikation zeigte keinen Effekt (vgl. Tabelle 5).

Tabelle 5: Statistische Auswertung der Blutgasanalysen

Parameter	Gruppe	Baseline	Zucker	Gas30	HV30	HV60	RT30	RT60
pH	N2 NV	7,40 ± 0,02	7,39 ± 0,02	7,39 ± 0,01	7,38 ± 0,01 *	7,37 ± 0,02 *	7,36 ± 0,02 *	7,36 ± 0,02 *
	O2 NV	7,39 ± 0,01	7,39 ± 0,01	7,39 ± 0,01	7,38 ± 0,01 *	7,38 ± 0,01 *	7,37 ± 0,02 *	7,37 ± 0,02 *
	N2 HV	7,39 ± 0,01	7,38 ± 0,01	7,38 ± 0,01	7,30 ± 0,02 *§	7,31 ± 0,02 *§	7,35 ± 0,02 *	7,35 ± 0,01 *
	O2 HV	7,39 ± 0,01	7,39 ± 0,01	7,38 ± 0,01	7,31 ± 0,02 *§	7,32 ± 0,01 *§#	7,37 ± 0,01 *#	7,38 ± 0,01 *#
p _a CO ₂ [mmHg]	N2 NV	147 ± 4	151 ± 3	154 ± 5	153 ± 3	151 ± 5	155 ± 4 *	157 ± 4 *
	O2 NV	148 ± 4	148 ± 3	152 ± 3	154 ± 4	156 ± 4 *	154 ± 4	155 ± 3 *
	N2 HV	146 ± 4	149 ± 4	152 ± 4	137 ± 3 *§	143 ± 3 §	157 ± 2 *	157 ± 3 *
	O2 HV	143 ± 4	145 ± 3	147 ± 3	133 ± 2 *§	139 ± 3 §	152 ± 2 *	154 ± 3 *
p _a CO ₂ [mmHg]	N2 NV	36,4 ± 1,0	36,5 ± 0,9	35,9 ± 0,4	36,4 ± 0,9	36,8 ± 0,9	37,3 ± 1,0	37,9 ± 1,0 *
	O2 NV	36,3 ± 0,8	36,8 ± 0,9	36,5 ± 0,9	36,9 ± 1,2	36,7 ± 0,9	37,2 ± 0,9	37,4 ± 1,0
	N2 HV	36,8 ± 0,8	36,9 ± 0,9	36,7 ± 0,7	41,8 ± 1,1 *§	41,4 ± 0,9 *§	37,4 ± 0,9	37,7 ± 0,7
	O2 HV	36,2 ± 0,8	36,5 ± 0,8	36,6 ± 0,9	41,4 ± 1,4 *§	39,4 ± 1,3 *§#	36,5 ± 0,7	36,6 ± 0,7
BE [mmol/l]	N2 NV	-2,2 ± 0,6	-2,5 ± 0,5	-3,1 ± 0,7 *	-3,2 ± 0,5 *	-3,6 ± 0,6 *	-3,7 ± 0,8 *	-3,8 ± 0,8 *
	O2 NV	-2,5 ± 0,2	-2,6 ± 0,2	-2,9 ± 0,2	-3,2 ± 0,4	-3,3 ± 0,4 *	-3,4 ± 0,5 *	-3,4 ± 0,6 *
	N2 HV	-2,5 ± 0,3	-3,0 ± 0,4	-3,3 ± 0,5 *	-5,3 ± 0,7 *§	-5,3 ± 0,7 *§	-4,5 ± 0,5 *§	-4,1 ± 0,6 *
	O2 HV	-2,5 ± 0,4	-2,7 ± 0,3	-3,2 ± 0,3	-5,0 ± 0,5 *§	-5,2 ± 0,8 *§	-3,9 ± 0,3 *	-3,4 ± 0,3 *
HCO ₃ ⁻ [mmol/l]	N2 NV	21,6 ± 0,4	21,4 ± 0,3	20,9 ± 0,5 *	20,8 ± 0,3 *	20,6 ± 0,4 *	20,5 ± 0,5 *	20,6 ± 0,5 *
	O2 NV	21,4 ± 0,2	21,4 ± 0,1	21,1 ± 0,1	20,9 ± 0,3	20,8 ± 0,2	20,8 ± 0,3	20,9 ± 0,3
	N2 HV	21,5 ± 0,2	21,1 ± 0,3	20,8 ± 0,3 *	19,9 ± 0,4 *§	19,9 ± 0,5 *§	19,9 ± 0,3 *	20,3 ± 0,5 *
	O2 HV	21,3 ± 0,3	21,2 ± 0,3	20,8 ± 0,2	20,1 ± 0,4 *§	19,7 ± 0,7 *§	20,3 ± 0,2 *	20,7 ± 0,2 *
Laktat [mmol/l]	N2 NV	1,0 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,9 ± 0,2 *	2,1 ± 0,3 *	2,2 ± 0,4 *	2,3 ± 0,4 *
	O2 NV	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,6 ± 0,2 *	1,7 ± 0,2 *	1,8 ± 0,3 *	1,9 ± 0,2 *
	N2 HV	0,8 ± 0,1	1,2 ± 0,2	1,4 ± 0,2 *	2,0 ± 0,3 *	2,0 ± 0,3 *	1,8 ± 0,3 *	1,8 ± 0,3 *
	O2 HV	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,6 ± 0,2 *	1,9 ± 0,2 *	1,8 ± 0,2 *	1,6 ± 0,2 *	1,6 ± 0,2 *
Glukose [mg/dl]	N2 NV	99 ± 2	98 ± 2	96 ± 3	95 ± 2	92 ± 2 *	93 ± 2 *	95 ± 2
	O2 NV	102 ± 3 #	103 ± 2	101 ± 2	99 ± 1	97 ± 1 *	97 ± 1 *	97 ± 2 *
	N2 HV	99 ± 2	97 ± 2	96 ± 2	104 ± 2 *§	99 ± 3 §	91 ± 2 *	95 ± 1
	O2 HV	102 ± 2	102 ± 2	100 ± 2	104 ± 2	102 ± 3 §	96 ± 2 *	99 ± 2

O2 = Sauerstoffapplikation, N2 = Stickstoffapplikation, HV = hämorrhagische (hypovolämie) Kreislaufbedingungen, NV = physiologische (normovolämie) Kreislaufbedingungen, RT = Retransfusion, Gas = topische Sauerstoff- bzw. Stickstoffapplikation, Zucker = Verabreichung der Zuckermischung, 30/60 = Zeitangabe in Minuten seit Beginn der jeweiligen Intervention.

Angaben als MW ± SEM für n = 6, * = p < 0,05 vs. Baseline, # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe, § = p < 0,05 vs. Normovolämie.

Tabelle modifiziert nach [63].

3.4 Gastrale Barrierefunktion

Die Saccharosekonzentration im Blutplasma nahm im Laufe des Versuchs in allen vier Gruppen stetig zu (s. Abb. 15). Ein signifikanter Unterschied zwischen hämorrhagischen und normovolämen Kreislaufbedingungen oder zwischen den mit Sauerstoff oder Stickstoff behandelten Gruppen zeigte sich nicht.

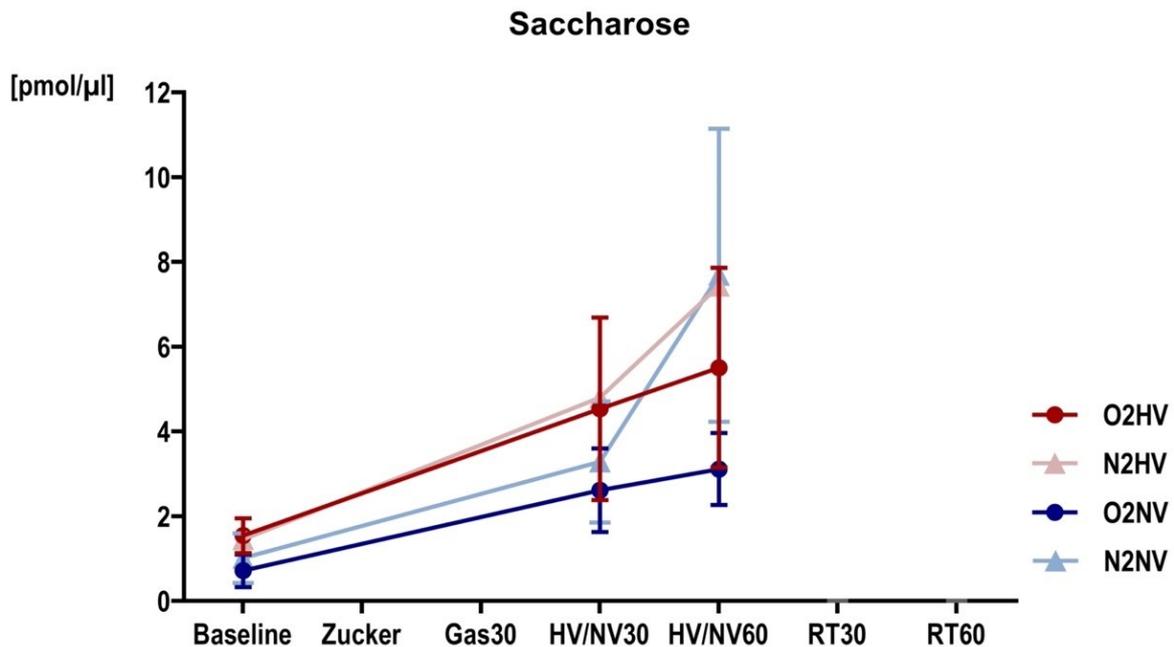


Abb. 15: Konzentration von Saccharose im Blutplasma zu den definierten Messzeitpunkten

Gegenüberstellung der mit Sauerstoff (O₂) und Stickstoff (N₂) behandelten Versuchsgruppen jeweils unter physiologischen (NV) und hämorrhagischen (HV) Kreislaufbedingungen sowie während der anschließenden Retransfusion (RT). Angabe der Saccharosekonzentration in pmol/μl unter Ausgangsbedingungen (Baseline), nach Applikation der Saccharidmischung (Zucker), 30 Minuten nach Beginn der Gasapplikation, 30 bzw. 60 Minuten nach Induktion des Schocks bzw. unter beibehaltener Normovolämie (HV/NV30, HV/NV60) und 30 bzw. 60 Minuten nach Retransfusion (RT30, RT60). Dargestellt als MW ± SEM für n = 6. # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe.

Tabelle 6: Statistische Auswertung der Zuckerkonzentrationen im Blutplasma

Parameter	Gruppe	Baseline	HV30	HV60
Glukose-6-phosphat [pmol/μl]	N2 NV	1,5 ± 0,8	3,0 ± 0,7	4,0 ± 1,8
	O2 NV	2,8 ± 0,8	3,7 ± 1,3	3,2 ± 1,0
	N2 HV	6,1 ± 3,2	2,0 ± 0,3	4,8 ± 1,5
	O2 HV	3,6 ± 1,0	4,0 ± 1,9	6,8 ± 2,9
Glukose [pmol/μl]	N2 NV	219 ± 33	237 ± 23	266 ± 26
	O2 NV	230 ± 17	247 ± 28	253 ± 28
	N2 HV	225 ± 28	224 ± 27	221 ± 47
	O2 HV	232 ± 27	276 ± 39	215 ± 30
Fruktose [pmol/μl]	N2 NV	0,8 ± 0,4	3,8 ± 1,5	5,4 ± 2,7 *
	O2 NV	1,0 ± 0,5	3,1 ± 1,9	4,4 ± 2,1
	N2 HV	2,9 ± 0,9	4,0 ± 1,2	4,3 ± 1,4
	O2 HV	1,3 ± 0,4	4,8 ± 3,1	4,4 ± 1,1
Saccharose [pmol/μl]	N2 NV	1,0 ± 0,6	3,3 ± 1,4	7,7 ± 3,5 *
	O2 NV	0,7 ± 0,4	2,6 ± 1,0	3,1 ± 0,9
	N2 HV	1,5 ± 0,4	4,8 ± 2,9	7,4 ± 2,9 *
	O2 HV	1,5 ± 0,4	4,5 ± 2,2	5,5 ± 2,4

O2 = Sauerstoffapplikation, N2 = Stickstoffapplikation, HV = hämorrhagische (hypovolämie) Kreislaufbedingungen, NV = physiologische (normovolämie) Kreislaufbedingungen, RT = Retransfusion, Gas = topische Sauerstoff- bzw. Stickstoffapplikation, Zucker = Verabreichung der Zuckermischung, 30/60 = Zeitangabe in Minuten seit Beginn der jeweiligen Intervention.

Angaben als MW ± SEM für n = 6, * = p < 0,05 vs. Baseline, # = p < 0,05 vs. mit Stickstoff behandelte Kontrollgruppe, § = p < 0,05 vs. Normovolämie.

Tabelle modifiziert nach [63].

4 Diskussion

4.1 Zentrale Ergebnisse

Mit dieser Versuchsreihe soll die Frage beantwortet werden, ob topisch applizierter Sauerstoff in der Lage ist, die lokale Mikrozirkulation der oralen oder gastraln Schleimhaut während eines milden hämorrhagischen Schocks zu beeinflussen. Die zentralen Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Unter physiologischen Kreislaufbedingungen hat die lokale Sauerstoffapplikation keinen Einfluss auf die orale oder gastrale Mikrozirkulation.
2. Während eines milden hämorrhagischen Schocks hat die lokale Sauerstoffapplikation keinen Einfluss auf die orale oder gastrale Mikrozirkulation.
3. Die lokale Sauerstoffapplikation hat keinen mit der angewendeten Methodik messbaren Einfluss auf die gastrointestinale Barrierefunktion.
4. In der gewählten Dosierung und Durchführung bleibt die lokale Sauerstoffapplikation ohne Nebenwirkungen auf systemische Kreislaufparameter und den systemischen Sauerstoffstatus.

4.2 Methodenkritik

4.2.1 Experimentelle Rahmenbedingungen

Um verlässliche Schlussfolgerungen aus den durchgeführten Experimenten und deren Auswertung zu ziehen und die formulierten Fragestellungen zu beantworten, muss gewährleistet sein, dass die Datenerhebung nicht durch äußere oder vom Untersuchungsziel abweichende innere Faktoren beeinflusst wird.

Durch die Auswahl der Versuchstiere (weibliche, kastrierte Foxhounds ohne relevante gesundheitliche Vorschädigungen), die Konstanthaltung ihres Gewichts durch angepasste Fütterung und die gleiche Haltungsform wurde eine möglichst homogene Kohorte erstellt. Durch die strikt eingehaltene Nahrungskarenz von zwölf Stunden vor jedem Versuch bei einem Wasserangebot *ad libitum* wurden Artefakte durch

Verdauungsvorgänge reduziert und die Ausgangsbedingungen vereinheitlicht. Durch Sicherstellung einheitlicher Umgebungsfaktoren (u.a. Tageszeit, Temperatur) sowie die Standardisierung der Versuchsvorbereitung, der Instrumentierung und des Versuchsablaufs wurde eine hohe Vergleichbarkeit gewährleistet. Zu Versuchsbeginn (*Baseline*) zeigten sich entsprechend einheitliche, stabile Ausgangsbedingungen ohne signifikante Abweichungen zwischen den Gruppen in den Mittelwerten der relevanten Parameter, sodass im Versuchsverlauf ermittelte Differenzen auf die jeweils durchgeführte Intervention zurückgeführt werden können.

4.2.2 Studiendesign und Auswahl des Tiermodells

Für die Durchführung der Studie wurde das *cross-over*-Design gewählt. Dabei durchläuft jedes der sechs Versuchstiere jede der vier Gruppen mit den jeweiligen Interventionen (O₂HV, N₂HV, O₂NV und N₂NV). Das Studiendesign ermöglicht sowohl den Vergleich innerhalb einer Gruppe (Abweichungen zur Baseline) als auch den Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen bzw. Interventionen (Hypovolämie vs. Normovolämie und Sauerstoff vs. Stickstoff). Indem jedes Versuchstier seine eigenen Kontrollwerte liefert, wird der Einfluss interindividueller Unterschiede und konfundierender Variablen reduziert. Die Hunde durchliefen die einzelnen Gruppen in randomisierter Reihenfolge. Zwischen den einzelnen Versuchen wurde eine ausreichende Regenerationszeit eingehalten, um Überhang- oder Überlappungseffekte durch verabreichte Therapeutika oder durchgeführte Interventionen auszuschließen. Durch den wiederholten Einsatz eines jeden Versuchstieres in jeder Versuchsgruppe wird in diesem Studiendesign eine vergleichsweise geringe Anzahl an Versuchstieren benötigt.

Als Versuchstier wurde in dieser Studie der Hund gewählt. Das Hundemodell ist in der Erforschung des hämorrhagischen Schocks bereits vielfach verwendet worden [61, 105, 106]. Für den Hund existieren etablierte Methoden für die Messung hämodynamischer Parameter [52]. Nur bei einem ausreichend großen Tier gelingt die Instrumentierung (u.a. Platzierung des Thermodilutionskatheters) zuverlässig und komplikationsarm. Zur Induktion des hämorrhagischen Schocks wurden den Hunden 20 % ihres geschätzten Blutvolumens entnommen. Die näherungsweise Abschätzung dieses zu entnehmenden Blutvolumens anhand des Körpergewichtes sowie die risikoarme Entnahme mit anschließender Retransfusion gestaltet sich bei einem Tier

mit entsprechend großem Blutvolumen deutlich praktikabler als bei einem kleineren Organismus. Ebenfalls werden die zusätzlichen wiederholten Blutentnahmen zur Bestimmung der Blutgase sowie zur Messung der Zuckermetabolite nur von ausreichend großen Tieren mit entsprechend großen physiologischen Blutvolumen ohne störende Auswirkungen auf die hämodynamischen Parameter toleriert.

Die Kreislauftsituation des Hundes ist der des Menschen zudem deutlich ähnlicher als etwa die eines Nagetieres. Einschränkend ist hierbei allerdings zu berücksichtigen, dass die Milz des Hundes in besonderem Maße die Eigenschaft eines Blutreservoirs besitzt. Im Falle eines raschen Blutverlustes kann kompensatorisch Blut aus der Milz mobilisiert werden, um den Kreislauf kurzfristig zu stabilisieren [107, 108]. Dieser Einflussfaktor ließe sich nur durch eine für den Hund äußerst risiko- und komplikationsreiche Splenektomie ausschließen [50]. Die Bedeutung der Splenektomie im Tiermodell des hämorrhagischen Schocks ist nicht eindeutig beschrieben. Bei splenektomierten Tieren könnte die induzierte Hämorrhagie eine verstärkte Inflammationsreaktion auslösen, die ihrerseits Einfluss auf die Messparameter hätte und die Ergebnisse modifizieren könnte [109]. Weiterhin macht die operative Entfernung der Milz die Tiere anfälliger für Infektionskrankheiten [110]. Da das *cross-over*-Design dieser Studie die wiederholte Teilnahme eines Tieres an den Versuchen voraussetzt, ist die langfristige Gesunderhaltung der Tiere auch für die Qualität der Versuche von besonderer Bedeutung und es wurde auf eine Splenektomie verzichtet.

Für die Instrumentierung zur Untersuchung der lokalen Mikrozirkulation ist ebenfalls ein Versuchstier ausreichender Größe von Vorteil. Je kleiner das Versuchstier ist, desto weniger gut zugänglich ist die gastrale Schleimhaut für die Durchführungen der Messungen, ohne ein relevantes Perforations- oder Verletzungsrisiko der zu passierenden Strukturen und Hohlorgane einzugehen. Eine streng atraumatische und zuverlässig reproduzierbare Platzierung der Messsonden insbesondere an der gastralen Schleimhaut des vitalen Organismus, die nicht ihrerseits Einflüsse auf die mikrovaskuläre Blutversorgung hat, ist Voraussetzung für die Durchführung der Messungen. Sämtliche operative oder invasive Instrumentierung könnte ihrerseits bereits Veränderungen in der Mikrozirkulation verursachen [111].

Zwar bestehen grundsätzliche Unterschiede zwischen der Spezies des Menschen und der des Hundes, insgesamt ist der Verdauungstrakt des Hundes aber hinsichtlich

seiner Physiologie, seines histologischen Aufbaus sowie seiner Durchblutung mit der des Menschen vergleichbar [112]. Somit ist die Übertragbarkeit der in dieser Studie erhobenen Messergebnisse auf den Menschen zumindest in begrenztem Maße gerechtfertigt.

4.2.3 Modell des hämorrhagischen Schocks

In dieser Studie wurden den Hunden zur Induktion eines hämorrhagischen Schocks 20 % ihres geschätzten Blutvolumens entnommen, dies entspricht 16 ml/kgKG bei einem angenommenen Blutvolumen von ca. 80 ml/kgKG [59]. Nach der Klassifikation des ATLS (*Advanced Trauma Life Support*) von 2018 entspricht dies einem Schock „Class 2 (mild)“, der durch einen Blutverlust von 15-30 % definiert ist [113]. In die ATLS-Klassifikation fließen neben dem relativen Blutverlust auch die Reaktionen des Organismus zur Gegenregulation ein. Bei einem derartigen Schock sei eine Zunahme der Herzfrequenz möglich, der Blutdruck sei bei reduziertem Pulsdruck noch stabil. Außerdem sei die Atemfrequenz erhöht und das Bewusstsein beginnend eingeschränkt. Laborchemisch zeige sich ein negativer Base Excess als Zeichen einer beginnenden metabolische Azidose.

Es wurde in dieser Studie bewusst ein Modell eines milden, nicht letalen, hämorrhagischen Schocks gewählt, das durch die moderaten Auswirkungen auf die Tiere eine repetitive Versuchsdurchführung im *cross-over*-Studiendesign ermöglicht und so zu einer erheblichen Reduktion der benötigten Versuchstiere führt. Der milde hämorrhagische Schock führt zu einer moderaten und reversiblen Beeinträchtigung der Mikrozirkulation, sodass eine Verbesserung durch die durchgeführte Intervention – anders als bei einer schwerwiegenden Schädigung der Mikrozirkulation – grundsätzlich zu erreichen ist.

Aufgrund der Durchführung des Versuchs am narkotisierten und beatmeten Hund lassen sich Atemfrequenz und Bewusstseinsstatus in diesem Modell nicht beurteilen. Ein signifikanter Anstieg der Herzfrequenz im Sinne einer reflektorischen Tachykardie als Reaktion auf die Hypovolämie konnte in dieser Studie nicht registriert werden. Nachweisbar war hingegen ein rascher und signifikanter Abfall des MAD nach Entnahme des definierten Blutvolumens. Eine Abnahme des pH-Wertes bei negativerem Base Excess zeigte die metabolische Reaktion auf den induzierten hämorrhagischen Schock.

In der klinischen Anwendung sind die von der ATLS-Klassifikation genannten Kriterien zur Beurteilung der Schwere eines hämorrhagischen Schocks teilweise kritisch beurteilt worden [114, 115]. Guly et al. stellen fest, dass die Herzfrequenz von zahlreichen Störfaktoren beeinflusst wird und die Reaktion der Herzfrequenz auf einen hypovolämischen Schock geringer ausfallen kann als in den ATLS-Kriterien vorgegeben wird [116].

Ein vereinfachtes Instrumentarium zur Diagnosestellung des Schocks ist der Schock-Index nach Allgöwer. Hierbei wird der Quotient aus Herzfrequenz und systolischem Blutdruck gebildet und als dimensionsloser Wert angegeben. Liegt dieser über eins, kann von einem drohenden bzw. manifestem Schock ausgegangen werden [117]. Exemplarisch ergibt sich zum Zeitpunkt HV30 ein Wert von 1,67 in der Gruppe O2HV bzw. 1,64 in der Gruppe N2HV.

Auch in den Parametern der Mikrozirkulation lassen sich Folgen der induzierten Hämorrhagie feststellen. Es hat sich eine Beeinträchtigung des Blutflusses mit heterogener Perfusion und intermittierendem Flussprofil sowie eine verminderte postkapilläre Sauerstoffsättigung gezeigt. Diese Veränderungen sind kennzeichnend für die Mikrozirkulation im Schock [118]. Das verwendete Schockmodell scheint in der Lage zu sein, signifikante messbare Auswirkungen auf die Mikrozirkulation zu produzieren und demnach geeignet zu sein, um mögliche Effekte verschiedener Interventionen abzubilden.

4.2.4 Durchführung der lokalen Gasapplikation

Die Sauerstoff- und Stickstoffapplikation an der gastralen und oralen Schleimhaut erfolgte mit einer gleichmäßigen, definierten Flussrate von 15 ml/min. Durch die Anlage einer geöffneten Magensonde, über die das Gasgemisch ungehindert aus dem Magen entweichen konnte, wurde einer übermäßigen Distension des Magens vorgebeugt. In regelmäßigen Messungen konnte keine Zunahme des Rumpfumfanges verzeichnet werden.

Zur Kontrolle der Wirkung der Sauerstoffapplikation wurde die Applikation des Inertgases Stickstoff in gleicher Flussgeschwindigkeit gewählt.

Durch die kontinuierliche Insufflation von Sauerstoff bzw. Stickstoff an der Schleimhaut in unmittelbarer Nähe zur Messsonde an der oralen und gastralen Schleimhaut kann

von einer erhöhten lokalen Konzentration des jeweiligen Gases am Messort ausgegangen werden. Eine Messung des O₂-Gehaltes des intragastralen Gasgemisches erfolgte allerdings nicht. Folglich ist unklar, ob am Messort eine wirksame bzw. ausreichende Gaskonzentration erreicht werden konnte und ob eine Aufsättigung des jeweiligen Gases im Magenumen stattgefunden hat.

Unklar ist auch, ob topisch an der Schleimhautoberfläche applizierter Sauerstoff in der Lage ist, die mukosalen mikrovaskulären Blutgefäße zu erreichen und dort vasomotorisch oder die Oxygenierung modulierend wirksam zu werden.

Die gastrale Mukosa des Hundes besteht aus einschichtigem, hochprismatischem Plattenepithel, in das die unterschiedlichen, für digestive und immunologische Vorgänge notwendigen Drüsenzellen eingebettet sind. Überzogen ist die gastrale Schleimhaut von einer von den Nebenzellen sezernierten Schleimschicht [119]. Die kapillären Blutgefäße der gastralen Schleimhaut sind in der darunter liegenden Submukosa lokalisiert. Die orale Schleimhaut des Hundes besteht im Bereich der enoralen Lefzen aus mehrschichtig unverhorntem Plattenepithel mit eingelagerten Speichelzellen und aufgelagerter Speichelschicht [120]. Auch hier liegt das kapilläre Gefäßnetz in der Submukosa. Voraussetzung für eine Wirksamkeit des topisch applizierten Sauerstoffs auf die Mikrozirkulation wäre, dass das Gas die Schleim- bzw. Speichelschicht und das jeweilige avaskuläre Epithel *per diffusionem* passieren kann. An der Oberfläche der gastrointestinalen Schleimhaut herrscht physiologischerweise eine relative Hypoxie mit niedrigen Sauerstoffpartialdrücken von unter 10 mmHg [121]. Albenberg et al. haben gezeigt, dass bei einer systemischen Hyperoxie durch die Inhalation von reinem Sauerstoff auch der intraluminale Sauerstoffpartialdruck innerhalb des Darmlumens ansteigt und postulieren die Diffusion von Sauerstoff entlang des herrschenden Sauerstoffgradienten [122]. Dieser Annahme folgend erscheint auch die Diffusion von Sauerstoff in entgegengesetzter Richtung denkbar, wenn der intraluminale Sauerstoffpartialdruck über den intravasalen Sauerstoffpartialdruck gesteigert und der Gradient so umgekehrt wird.

In einem analogen Versuchsaufbau konnte durch die hiesige Arbeitsgruppe gezeigt werden, dass die topische Applikation von Kohlenstoffdioxid (CO₂) an der gastralen und oralen Schleimhaut in der Lage ist, die lokale mikrovaskuläre Oxygenierung während eines milden hämorrhagischen Schocks zu verbessern. Dieser Effekt könnte durch ein verändertes mikrovaskuläres Flussprofil mit Steigerung der lokalen

Sauerstoffreserve bedingt sein [63]. Wenngleich der Wirkungsmechanismus der lokalen Hyperkapnie auf die mukosale Mikrozirkulation noch nicht abschließend geklärt ist, konnte dennoch gezeigt werden, dass eine topische Gasapplikation eine Wirksamkeit auf die mukosale Mikrozirkulation erlangt.

4.2.5 Messmethoden zur Beurteilung der Mikrozirkulation

Dieser Arbeit liegt die Annahme zugrunde, dass Veränderungen in der Mikrozirkulation der gastrointestinalen Schleimhaut Auswirkungen auf die Organfunktion dieser Einheit haben. Dementsprechend sind die Messungen der Mikrozirkulation der zentrale Gegenstand dieser Versuchsreihe. Um ein möglichst umfassendes Bild der Mikrozirkulation zu erhalten, ist neben der Messung mittels der in einem Gerät kombinierten Methoden der Weißlichtspektrometrie und der Laser-Doppler-Spektroskopie an der oralen und gastralen Schleimhaut, zusätzlich die Videomikroskopie an der oralen Mukosa zur Anwendung gekommen.

Das verwendete Messinstrument O2C, das die Weißlichtspektrometrie und die Laser-Doppler-Spektroskopie kombiniert, leitet die Signale mit einer hohen Frequenz ab und stellt die abgeleiteten Daten auf dem integrierten Monitor nahezu in Echtzeit dar. Dadurch kann anhand des angezeigten Reflexionsspektrums eine dauerhaft hohe Signalqualität sichergestellt werden. Die hochfrequente Ableitung der Signale ist notwendig, um auch kurzfristige Veränderungen der Mikrozirkulation sensibel zu erfassen [101, 123, 124]. Aufgrund der über die Magensonde nur indirekten Zugänglichkeit der gastralen Schleimhaut zeigte sich die Ableitung einer ausreichenden Signalqualität insgesamt erschwert im Vergleich zum oralen Messort, daher könnten methodische Aspekte zu den unterschiedlichen Ergebnissen zwischen oraler und gastraler Mikrozirkulation beigetragen haben.

Durch die geringe Größe der verwendeten punktförmigen gastralen Messsonde kann eine Beeinflussung der gastralen Mikrozirkulation durch die Sonde selbst, etwa durch Druckartefakte, weitestgehend vermieden werden. Durch die Applikation des Gases in unmittelbarer räumlicher Nähe zu der Messsonde soll sichergestellt werden, dass die Messungen exakt in dem topisch behandelten Schleimhautareal durchgeführt werden. Ein möglicher Nachteil des geringen Durchmessers der punktförmigen Messsonde ist, dass die Heterogenität der mikrovaskulären Perfusion, die kennzeichnend ist für Schockzustände, nicht umfassend erfasst werden kann [70]. In vorangegangenen

Studien dieser Arbeitsgruppe konnte jedoch belegt werden, dass auch die punktförmige Messsonde in der Lage ist, schockbedingte Veränderungen in der Mikrozirkulation zu detektieren [50, 51, 125].

Zur umfassenden Beurteilung der gastrointestinalen Mikrozirkulation wäre sicherlich eine Untersuchung im Bereich der Dün- und Dickdarmschleimhaut von besonderem Interesse. Eine intrainestinale Positionierung der Messsonden ist jedoch aus methodischen Gründen am vitalen Organismus ebenso schwierig wie die topische Applikation der lokalen Therapie.

Einige Autoren postulieren, dass bei kritisch kranken Patienten der Zustand der oralen bzw. speziell der sublingualen Mikrozirkulation mit der Mikrozirkulation des Splanchnikusgebietes und der Niere korreliert und ein sensibler Indikator für den Kreislaufzustand des Patienten sei [126-128]. Andere Autoren zeigen eine Diskrepanz zwischen der sublingualen Mikrozirkulation und der des Darmes mit unterschiedlichem Reaktionsverhalten der jeweiligen Kapillarbetten auf Interventionen, sodass Rückschlüsse nicht oder nur eingeschränkt zulässig seien [129, 130]. Auch in dieser und vorangegangenen Studie dieser Arbeitsgruppe zeigte sich ein differentes Perfusionsmuster der oralen und der gastralen Schleimhaut [51, 125, 131]. Inwiefern sich also Messdaten über den Zustand der Mikrozirkulation von einem Organsystem auf andere Organsysteme übertragen lassen, bleibt Gegenstand weiterer Forschung.

Ein auch in der klinischen Forschung etabliertes Instrumentarium zur qualitativen Beurteilung des mikrovaskulären Blutflusses und der Kapillardichte stellt die Videomikroskopie dar. Aus methodischen Gründen ist eine Messung mit dem portablen Videomikroskop nur an der oralen Schleimhaut zu realisieren. Um repräsentative Videoaufnahmen zu erhalten, wurden diese exakt in dem Schleimhautareal angefertigt, in dem auch die lokale Gasapplikation stattgefunden hat und auch die spektrometrischen Messungen erfolgt sind. Den Konsensusempfehlungen folgend, wurden pro Messzeitpunkt jeweils fünf Aufnahmen angefertigt [71]. Aufnahmen, die den beschriebenen Qualitätskriterien nicht genügten, wurden nicht in die Auswertung eingeschlossen. Neben der softwaregestützten Auswertung, erfolgte die manuelle Bestimmung des *microcirculatory flow index* (MFI) verblindet durch den Untersucher. Es konnte belegt werden, dass die Ergebnisse dieser Auswertung trotz der subjektiven Beurteilung der Flusseigenschaften durch den

Untersucher sowohl eine hohe Intrarater- als auch eine hohe Interrater-Reliabilität aufweisen [76].

Die manuelle Auswertung berücksichtigt dabei stärker als die softwaregestützte Auswertung den Aspekt der Heterogenität der mikrovaskulären Durchblutung während Schockzuständen. Während die softwaregestützte Auswertung sämtliche Gefäße erfasst, jeweils die Flussparameter bestimmt und daraus die Mittelwerte ermittelt, ist es dem Untersucher den von Boerma et al. veröffentlichten Kriterien folgend möglich, die Perfusion in dem zu beurteilenden Quadranten in ihrer Gesamtheit zu beurteilen und somit der Heterogenität als Diagnosekriterium Rechnung zu tragen [76].

4.2.6 Messmethoden zur Beurteilung der gastrointestinalen Barrierefunktion

Zur Untersuchung der gastrointestinalen Schleimhautbarriere ist den Versuchstieren eine Zuckermischung aus Mono- und Disacchariden gastral verabreicht worden, die sich hinsichtlich ihres Resorptionsverhaltens unterscheiden und daher Rückschlüsse auf die Integrität der Barriere zulassen.

Die Verabreichung erfolgte eine Stunde vor Induktion des hämorrhagischen Schocks und vor Beginn der lokalen Gasapplikation. Aufgrund der Gasinsufflation in den Magen kam es zu einem variablen Reflux der Zuckermischung über den geöffneten Schenkel der einliegenden Magensonde, der das Volumen der Zuckerlösung in den einzelnen Versuchen in unterschiedlichem Ausmaß beeinflusst haben könnte. Unwahrscheinlich ist, dass der Zucker nach einer Stunde den Magen des sedierten und relaxierten Hundes in relevanter Menge passiert hat und in den Dünndarm übergetreten ist. Aussagen über die gemessenen Plasmakonzentrationen der einzelnen Zucker sind demnach stets vor dem Hintergrund einer unsicheren Applikationsform und Resorption zu bewerten. Durch diese methodischen Schwierigkeiten lässt sich die hohe Streubreite der erhobenen Messwerte bereits teilweise erklären, die die Aussagekraft der Ergebnisse deutlich schmälert.

In der Literatur ist eine Modulation der intestinalen Schleimhautbarriere durch hochosmolare Lösungen beschrieben [132]. Auch wenn dieser Effekt bislang nur für die Darmschleimhaut beschrieben worden ist, könnte er zu einer vom induzierten Schock unabhängigen Saccharoseresorption beigetragen haben.

Wenngleich das gewählte Schockmodell des milden hämorrhagischen Schocks die unter 4.2.3 beschriebenen systemischen Veränderungen bewirkt und makrozirkulatorische Kriterien eines Schocks erfüllt, ist nicht zu belegen, dass die Hämorrhagie in ihrer Ausprägung und Dauer ausreichend ist, um einen effektiven Schaden der gastrointestinalen Schleimhautbarriere zu verursachen. Bei fehlendem Nachweis eines schockbedingten Übertritts von Saccharose ins Gefäßsystem kann kein relevanter schädigender Effekt des induzierten Schocks auf die gastrointestinale Schleimhautbarriere identifiziert werden.

Weiterhin ist zu diskutieren, ob die Messzeitpunkte zum Nachweis einer Saccharosetranslokation, die sämtlich während der einstündigen Hypovolämie stattfanden, zeitlich zu nah am schädigenden Ereignis liegen. Erwartungsgemäß tritt die Insuffizienz der Schleimhautbarriere mit zeitlicher Latenz zum Schock auf, wenn die zelluläre Hypoxie zu Zellschädigungen und funktionellen Beeinträchtigung führt [133]. Weitere Messungen mit zeitlichem Abstand zum schädigenden Ereignis wären zu erwägen gewesen.

4.3 Ergebnisdiskussion

4.3.1 Einfluss der topischen Sauerstoffapplikation auf die Mikrozirkulation

Die μHbO_2 wird von der topischen Sauerstoffapplikation weder an der oralen, noch an der gastralen Schleimhaut beeinflusst. Die Messung der μHbO_2 erfolgt überwiegend postkapillär. In der Literatur wird eine gesteigerte Sauerstoffextraktion im Kapillarbett im Zusammenhang mit einer gestörten Mikrozirkulation beschrieben [134]. Insofern ist nicht auszuschließen, dass ein gesteigerter Sauerstoffbedarf im durch den hämorrhagischen Schock minderperfundierten Gewebe einen möglichen Einfluss der topischen Sauerstofftherapie auf die μHbO_2 kaschiert.

An der oralen Schleimhaut zeigte sich der μflow in der mit Sauerstoff behandelten Interventionsgruppe O2HV bereits im Ausgangsniveau geringer als in der mit Stickstoff behandelten Kontrollgruppe N2HV. Nach der Retransfusion des entnommenen Blutvolumens ergibt sich hier eine statistisch signifikante Differenz. Diese Beobachtung könnte hinweisend sein auf eine durch Sauerstoff induzierte Vasokonstriktion der kleinsten Blutgefäße. Bei Anwendung einer systemischen Hyperoxie durch Steigerung der FiO_2 wird die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) und deren Wirkung auf das Endothel als ursächlich für die sauerstoffvermittelte

Vasokonstriktion angenommen [36]. Durch Reaktion der ROS mit dem endogenen Vasodilatator Stickstoffmonoxid (NO) wird eine endotheliale Dysfunktion mit Überwiegen des vasokonstriktorischen Einflusses und in der Folge Erhöhung des systemischen Gefäßwiderstandes (SVR) bewirkt [36, 135]. Die regionale Durchblutung verschiedener Organsysteme, darunter Gehirn und Mesenterialgebiet werden durch eine systemische Hyperoxie nachweislich negativ beeinflusst [136]. Dabei scheint eine Hyperoxie insbesondere auf die Vasomotorik der kleinsten Blutgefäße vasokonstriktorisch zu wirken [34].

Bei der Bewertung eines möglichen vasokonstriktorischen Effekts der topischen Sauerstoffapplikation auf den oralen μ flow muss jedoch einschränkend beachtet werden, dass bereits zu Versuchsbeginn vor dem Start der topischen Gasapplikation der μ flow in der Interventionsgruppe O2HV im Ausgangsniveau niedriger lag als der μ flow in der Kontrollgruppe N2HV, ohne zu diesem Zeitpunkt jedoch eine statistische Signifikanz zu erreichen. Nach Beginn der topischen Gasapplikation bestand diese Diskrepanz während des hämorrhagischen Schocks fort. Vor diesem Hintergrund ist die statistisch signifikante Abweichung des μ flow zwischen den Gruppen O2HV und N2HV zu den Messzeitpunkten RT30 und RT60 wahrscheinlich nicht auf einen lokalen vasokonstriktorischen Effekt der topischen Sauerstoffapplikation zurückzuführen. Diese Einschätzung wird dadurch verstärkt, dass sich unter normovolämen Kreislaufbedingungen zu keinem Messzeitpunkt eine statistisch signifikante Abweichung zwischen den Gruppen O2NV und N2NV ergibt.

Die Messergebnisse der Videomikroskopie an der oralen Schleimhaut als zweite Untersuchungsmethode der Mikrozirkulation zeigen einen ähnlichen Verlauf und stützen diese Annahme. Die an der oralen Schleimhaut gemessenen Werte der PVD und PPV lagen in der Interventionsgruppe O2HV ebenfalls bereits zu Versuchsbeginn unter denen der Kontrollgruppe N2HV. Auch hier sind die statistisch signifikanten Abweichungen im weiteren Versuchsverlauf unter Berücksichtigung dieser initialen Diskrepanz zu bewerten.

Würde es sich bei den ermittelten Abweichungen um tatsächliche Einschränkungen in der mikrovaskulären Durchblutung durch eine sauerstoffvermittelte Vasokonstriktion handeln, wäre eine Zunahme der μ velocity im Sinne einer Flussbeschleunigung infolge eines verminderten Gefäßdurchmessers zu erwarten. Hier jedoch zeigte sich der Kurvenverlauf der μ velocity ebenfalls weitgehend parallel zum dem von μ flow, PVD

und PPV. Auch die μ velocity lag in der mit Sauerstoff behandelten Interventionsgruppe O2HV teilweise signifikant niedriger als in der mit Stickstoff behandelten Kontrollgruppe N2HV. In den normovolämen Gruppen konnte dieser Trend – wenn auch nicht statistisch signifikant – ebenfalls beobachtet werden. Die parallele Reduktion von μ flow, μ velocity, PVD und PPV scheinen also dem gleichen Einflussfaktor zu unterliegen. Eine sauerstoffbedingte Vasokonstriktion erscheint in dieser Konstellation ätiologisch unwahrscheinlich.

An der gastralen Schleimhaut konnte anders als an der oralen Schleimhaut durch die Induktion des hämorrhagischen Schocks keine statistisch signifikante Reduktion des μ flow oder der μ velocity nachgewiesen werden. Die Begründung könnte in einem zwischen oraler und gastral Mikrozirkulation differierenden Perfusions- und Reaktionsverhalten, insbesondere während kompromittierter Kreislaufbedingungen, liegen. Diese Beobachtung lässt auch Zweifel an der Übertragbarkeit der an der oralen und gastralen Schleimhaut erhobenen Messergebnisse auf distale Abschnitte des Gastrointestinaltraktes zu [129].

Weißlichtspektrometrisch erfolgte auch die Messung des rHb. Hier zeigte sich an der oralen Schleimhaut in beiden vom hämorrhagischen Schock betroffenen Gruppen (O2HV und N2HV) ein signifikanter Abfall. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den in der BGA erhobenen systemischen Hb-Werten, in denen sich durch den induzierten hämorrhagischen Schock kein relevanter Hb-Abfall zeigte. Diese Ergebnisse belegen die Annahme, dass unter beeinträchtigten Kreislaufbedingungen die Beeinträchtigung der mikrovaskuläre Blutversorgung überproportional stark ausfällt [11].

4.3.2 Einfluss auf systemische hämodynamische Parameter

Um den lokalen Therapieansatz adäquat bewerten zu können, ist die Analyse der systemischen Hämodynamik bedeutend. Ziel ist eine Wirksamkeit der topischen Therapie auf die Mikrozirkulation ohne Beeinflussung systemischer hämodynamischer Parameter.

In dieser Versuchsreihe zeigte sich während des hämorrhagischen Schocks als Ausdruck des plötzlichen Volumendefizits erwartungsgemäß ein Abfall des MAD und des kardialen SV sowie ein Anstieg des SVR. Resultierend aus dem reduzierten SV ergab sich ein vermindertes HZV.

Über den Barorezeptorreflex wird durch die Hypovolämie eine reflektorische Zunahme des Sympathikotonus und Schwächung des Parasympathikotonus mit Vasokonstriktion der Widerstandsgefäße und somit Zunahme des SVR bewirkt [137-139]. Die im Anschluss folgende rasche Retransfusion bewirkt einen gegensätzlichen Effekt mit peripherer Vasodilatation und Abnahme des SVR.

Der Barorezeptorreflex dient einer kurzfristigen Reaktion auf sich ändernde Druck- und Volumenverhältnisse mit dem Ziel der Blutdruckstabilisierung. Einschränkend muss hierbei berücksichtigt werden, dass der Barorezeptorreflex unter Narkose mit dem Inhalationsanästhetikum Sevofluran abgeschwächt sein kann [138].

Auffallend ist, dass der induzierte hämorrhagische Schock nicht zu einem gegenregulatorischen Anstieg der Herzfrequenz führte. In der Interventionsgruppe O₂HV zeigte sich sogar ein leichter Abfall der Herzfrequenz nach Induktion des hämorrhagischen Schocks. Neben der kurzfristigen Mobilisation eines zusätzlichen Blutvolumens aus der Milz als Besonderheit des Hundes (vgl. 4.2.2) kann der Bezhold-Jarisch-Reflex ein möglicher Erklärungsansatz sein. Hierbei kommt es infolge myokardschädigender Einflüsse, z.B. hypoxischer Zustände, vermittelt durch verschiedene kardiale sensorische Rezeptoren zu einer reflektorischen kardiokardialen Reaktion im Sinne einer Bradykardie und einer kardiovaskulären Reaktion im Sinne einer arteriellen Hypotonie [140].

Weder unter hämorrhagischen noch unter physiologischen Kreislaufbedingungen zeigen sich relevante Differenzen in den untersuchten systemischen hämodynamischen Parametern zwischen den mit Sauerstoff behandelten Versuchsgruppen und den mit Stickstoff behandelten Kontrollgruppen. Insofern wird das Kriterium erfüllt, dass die lokale Sauerstofftherapie keinen Einfluss auf die Hämodynamik hat.

4.3.3 Einfluss auf den systemischen Sauerstoffstatus und die Blutgasanalyse

Die topische Sauerstoffapplikation blieb sowohl unter hämorrhagischen als auch unter physiologischen Kreislaufbedingungen ohne Einfluss auf den systemischen Sauerstoffstatus.

Die einstündige Hämorrhagie führte erwartungsgemäß nicht zu einem relevanten Abfall der Hämoglobinkonzentration oder des Hämatokrits. Bei einem akuten Blutverlust bleibt der Hb-Wert zunächst unverändert, erst durch eine

kompensatorische Flüssigkeitsverschiebung ins intravasale Kompartiment tritt eine Blutungsanämie mit zeitlicher Verzögerung auf. Die Bedeutung der Messung von Hb- und Hämatokritwerten der akuten Phase einer Blutung ist daher nur eingeschränkt aussagekräftig [141].

Hämoglobin ist bei einem p_aO_2 von 90 bis 100 mmHg nahezu vollständig mit Sauerstoff gesättigt. Durch eine weitere Erhöhung der Sauerstoffzufuhr kann lediglich eine Steigerung des physikalisch gelösten Sauerstoffs erreicht werden. Die dadurch zu erzielende Zunahme der Sauerstoffkonzentration des Blutes ist geringfügig und von fraglicher klinischer Relevanz auf die Sauerstoffversorgung des Gewebes (vgl. 2.7.6) [35].

Im hämorrhagischen Schock zeigte sich in O2HV und N2HV trotz unveränderter Beatmungsparameter erwartungsgemäß eine statistisch signifikante Reduktion des p_aO_2 und S_aO_2 sowie ein Anstieg des pCO_2 . Wenngleich die erhobenen Werte sämtlich innerhalb des physiologischen Referenzbereichs liegen, zeigt sich in diesen Veränderungen der Effekt des Schocks auf die systemische Oxygenierung und Stoffwechsellage mit gesteigerter anaerober Glykolyse und vermehrter Produktion von CO_2 [142].

Der induzierte hämorrhagische Schock bewirkte keine relevante Veränderung des C_aO_2 im Vergleich zu den Ausgangswerten. Zu den Messzeitpunkten Gas30, HV60, RT30 und RT60 zeigte sich zwar eine statistisch signifikante, klinisch aber wahrscheinlich nicht bedeutsame Differenz zwischen den Gruppen O2HV und N2HV (vgl. Tabelle 4). In die Berechnung des C_aO_2 fließen neben dem Hb-Wert die S_aO_2 für den an Hämoglobin gebundenen Sauerstoff und der p_aO_2 für den physikalisch gelösten Sauerstoff als unabhängige Parameter ein (vgl. 2.7.6). Der im Vergleich zur Kontrollgruppe N2HV in der Interventionsgruppe O2HV zeitweise signifikant niedrigere C_aO_2 korrelierte mit den zu den jeweiligen Messzeitpunkten geringfügig und ohne klinische Relevanz ebenfalls verminderten Hb-Werten. Er ist a.e. hierin begründet und steht nicht in kausalem Zusammenhang mit der durchgeführten topischen Gasapplikation, zeigte sich doch in S_aO_2 und p_aO_2 keine signifikanten Differenzen zwischen den Gruppen (vgl. Tabelle 4 und Tabelle 5).

Dass während des hämorrhagischen Schocks keine Reduktion des C_aO_2 detektiert werden kann, ist durch die während der kurzen Hämorrhagiedauer stabile Hämoglobinkonzentration zu erklären.

Während sich in den Messgrößen Hb, Hämatokrit und C_aO_2 kein signifikanter bzw. in der S_aO_2 ein lediglich geringer, klinisch a.e. irrelevanter Effekt des induzierten hämorrhagischen Schocks zeigt, kommt durch den deutlichen Abfall des DO_2 während der Hämorrhagie die absolute Abnahme des systemisch verfügbaren Sauerstoffs zum Ausdruck. Dieser Abfall der DO_2 ist bedingt durch das im Schock reduzierte HZV.

Infolge des induzierten hämorrhagischen Schocks sind schocktypische metabolische Veränderungen im Sinne einer milden metabolischen Azidose mit negativem BE aufgetreten. Die Entwicklung einer metabolischen Azidose infolge einer Hämorrhagie kann meist auf einen Laktatanstieg infolge der systemischen Hypoxie zurückgeführt werden. Ein klinisch relevanter Laktatanstieg ist in dieser Versuchsreihe allerdings ausgeblieben, auch zeigte sich kein Unterschied zwischen den normo- und hypovolämen Gruppen hinsichtlich der Laktatkonzentration. Bruegger et al. haben zeigen können, dass im Modell eines hämorrhagischen Schocks beim Hund in ihrer Gesamtheit mehrere, durch die klassische Blutgasanalyse nicht erfasste Anionen zur metabolischen Azidose beitragen [143]. Insgesamt sind die durch den in dieser Versuchsreihe induzierten milden hämorrhagischen Schock verursachten metabolischen Veränderungen nur von moderater Ausprägung und zeigen sich bereits zum Zeitpunkt RT30 deutlich reversibel.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die lokale Sauerstofftherapie keine systemische Hyperoxie verursacht und nicht zu einer systemischen sauerstoffbedingten Vasokonstriktion oder sonstigen systemischen Kreislaufveränderungen führt.

4.3.4 Einfluss auf die Barrierefunktion der gastrointestinalen Schleimhaut

Wie oben dargestellt, unterliegt die Beurteilung der Barrierefunktion der gastralen Schleimhaut anhand des Resorptionsmusters von Saccharose mehreren methodischen Limitationen. Zusammenfassend konnte durch diese Methode kein eindeutiger Effekt des induzierten hämorrhagischen Schocks dargestellt werden. Eine eindeutige Aussage zum Einfluss der Intervention einer lokalen Sauerstoffapplikation kann daher nicht erfolgen.

4.4 Schlussfolgerung, klinische Relevanz und Ausblick

Der hämorrhagische Schock ist ein in der traumatologischen und perioperativen Patientenversorgung gefürchtetes Krankheitsbild mit einer hohen Letalität [144]. Der rasche Blutverlust führt neben einer hämodynamischen Instabilität zu einer eingeschränkten Gewebepfusion und einer Reduktion der Sauerstoffversorgung mit zellulärer Hypoxie und Beeinträchtigungen in den Organfunktionen [145]. Das Multiorganversagen stellt in diesem Kontext eine Komplikation mit potentiell letalem Ausgang dar [146]. Im Gastrointestinaltrakt führt eine Störung der Mikrozirkulation zur Insuffizienz der Schleimhautbarriere mit der Folge einer Bakterientranslokation und der Entstehung eines septischen Geschehens [147].

Im klinischen Management des hämorrhagischen Schocks steht neben der Identifikation und Therapie der Blutungsursache die Stabilisierung der Kreislagsituation im Vordergrund. Hierbei sind die Volumentherapie mit kristalloiden und kolloidalen Infusionslösungen sowie Bluttransfusionen und der systemische Einsatz von Vasopressoren von höchster Relevanz. Durch Anpassung der Beatmungssituation soll eine ausreichende Oxygenierung gewährleistet werden [148]. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass diese Maßnahmen nicht in der Lage sind, die Mikrozirkulation suffizient zu beeinflussen [70, 149, 150]. Beim Einsatz vasopressiver Substanzen mit dem Ziel der Kreislaufstabilisierung besteht das Risiko einer mesenterialen Ischämie oder der Minderperfusion der Extremitäten als unerwünschte Nebenwirkung [151]. In den letzten Jahren ist die Überwachung der Mikrozirkulation bei kritisch erkrankten Patienten zum Beispiel im Rahmen eines hypovolämen Schock oder einer Sepsis in den Fokus klinischer Studien gerückt [14, 152, 153]. In der klinischen Routine der Patientenversorgung hat ein entsprechendes Monitoring jedoch noch keine nennenswerte Bedeutung gewinnen können [154, 155]. Maßnahmen, um die Mikrozirkulation isoliert ohne negative Effekte auf die Hämodynamik zu beeinflussen, sind derzeit noch Gegenstand der Forschung. Zur Umgehung systemischer Nebenwirkungen erscheint ein lokaler Therapieansatz unmittelbar an den kleinsten Gefäßen der Mikrozirkulation vielversprechend.

Es konnte bereits gezeigt werden, dass eine topische pharmakologische Therapie mit Nitroglycerin, Iloprost oder Melatonin die gastrale Mikrozirkulation im hämorrhagischen Schock verbessern kann [50, 51]. Auch eine lokale Hypothermie an der gastralen Schleimhaut scheint die mikrovaskuläre Oxygenierung positiv zu beeinflussen [131].

Die topischen Therapien versprechen eine sichere und nebenwirkungsarme Anwendung in der komplexen Betreuung des kritisch erkrankten Patientenkollektivs.

Zur Verbesserung der Gewebeoxygenierung im Gastrointestinaltrakt scheint eine Steigerung der inspiratorischen Sauerstoffzufuhr (F_{iO_2}) nicht geeignet, führt sie doch über eine sauerstoffvermittelte Vasokonstriktion zu einer Minderperfusion und einer paradoxerweise reduzierten Sauerstoffversorgung des Gewebes [135]. Darüber hinaus wurden unmittelbar schädigende Effekte einer Hyperoxie auf die Dün- und Dickdarmepithelzellen nachgewiesen [156, 157].

Vor diesem Hintergrund soll in dieser Studie die Frage beantwortet werden, ob sich eine topische Sauerstoffapplikation unmittelbar an der Schleimhaut positiv auf die lokale Mikrozirkulation auswirken kann. Es konnte gezeigt werden, dass die topische Sauerstoffapplikation weder die mikrovaskuläre Oxygenierung beeinflusst noch das mikrovaskuläre Perfusionsmuster verändert.

Diese Studie zeigte zudem die methodischen Herausforderungen in der Durchführung der lokalen Applikation gasförmiger Substanzen an der gastrointestinalen Schleimhaut auf, die die Anwendung in der klinischen Praxis deutlich erschweren dürfte und den regelhaften Einsatz in der Patientenversorgung unwahrscheinlich erscheinen lässt.

In einer analogen Studie konnte gezeigt werden, dass die topische Applikation von Kohlenstoffdioxid an der oralen und gastralen Schleimhaut eine Verbesserung der mikrovaskulären Oxygenierung bewirkt und mit einer höheren mikrovaskulären Blutflusskontinuität während eines milden hämorrhagischen Schocks assoziiert ist [63]. Denkbar erscheint hier eine durch die Hyperkapnie ausgelöste Vasopressinvermittelte V_{1A} -Rezeptoraktivierung, die die mikrovaskulären Flusseigenschaften und die lokale Sauerstoffversorgung positiv beeinflussen könnte [158, 159]. Den genauen zugrundeliegenden Wirkmechanismus der lokalen Hyperkapnie auf die Mikrozirkulation zu ermitteln und therapeutisch nutzbar zu machen könnte Gegenstand weiterer Forschung sein.

5 Literaturverzeichnis

1. Szopinski, J., K. Kusza, and M. Semionow, *Microcirculatory responses to hypovolemic shock*. J Trauma, 2011. **71**(6): p. 1779-88.
2. Standl, T., et al., *The Nomenclature, Definition and Distinction of Types of Shock*. Dtsch Arztebl Int, 2018. **115**(45): p. 757-768.
3. De Backer, D., et al., *Comparison of dopamine and norepinephrine in the treatment of shock*. N Engl J Med, 2010. **362**(9): p. 779-89.
4. Bitterman, H., et al., *Effects of oxygen on regional hemodynamics in hemorrhagic shock*. Am J Physiol, 1996. **271**(1 Pt 2): p. H203-11.
5. Bonanno, F.G., *Physiopathology of shock*. J Emerg Trauma Shock, 2011. **4**(2): p. 222-32.
6. Yilmaz, E.N., et al., *The renin-angiotensin system in swine during hypovolaemic shock combined with low-flow ischaemia of the sigmoid colon*. Cardiovasc Surg, 1999. **7**(5): p. 539-44.
7. Bulkley, G.B., et al., *Control of gastric vascular resistance in cardiogenic shock*. Surgery, 1985. **98**(2): p. 213-23.
8. Mazzoni, M.C., et al., *Amiloride-sensitive Na⁺ pathways in capillary endothelial cell swelling during hemorrhagic shock*. J Appl Physiol (1985), 1992. **73**(4): p. 1467-73.
9. Guven, G., M.P. Hilty, and C. Ince, *Microcirculation: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Application*. Blood Purif, 2020. **49**(1-2): p. 143-150.
10. De Backer, D., et al., *Microcirculatory alterations in patients with severe sepsis: impact of time of assessment and relationship with outcome*. Crit Care Med, 2013. **41**(3): p. 791-9.
11. Hayes, M.A., et al., *Elevation of systemic oxygen delivery in the treatment of critically ill patients*. N Engl J Med, 1994. **330**(24): p. 1717-22.
12. Deitch, E.A., *Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy*. Ann Surg, 1992. **216**(2): p. 117-34.
13. Barea-Mendoza, J.A., et al., *Risk Factors Associated With Early and Late Posttraumatic Multiorgan Failure: An Analysis From RETRAUCI*. Shock, 2021. **55**(3): p. 326-331.
14. Ostergaard, L., et al., *Microcirculatory dysfunction and tissue oxygenation in critical illness*. Acta Anaesthesiol Scand, 2015. **59**(10): p. 1246-59.
15. De Backer, D., et al., *Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis*. Am J Respir Crit Care Med, 2002. **166**(1): p. 98-104.
16. Russell, D.H., et al., *Hemorrhagic shock increases gut macromolecular permeability in the rat*. Shock, 1995. **4**(1): p. 50-5.
17. Magnotti, L.J. and E.A. Deitch, *Burns, bacterial translocation, gut barrier function, and failure*. J Burn Care Rehabil, 2005. **26**(5): p. 383-91.
18. Deitch, E.A., *Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man*. Arch Surg, 1989. **124**(6): p. 699-701.
19. Blikslager, A.T., et al., *Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa*. Physiol Rev, 2007. **87**(2): p. 545-64.
20. Qin, X., et al., *The mucus layer is critical in protecting against ischemia-reperfusion-mediated gut injury and in the restitution of gut barrier function*. Shock, 2011. **35**(3): p. 275-81.
21. Wells, J.M., et al., *Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011. **108** Suppl 1: p. 4607-14.

22. Fiddian-Green, R.G., *Splanchnic ischaemia and multiple organ failure in the critically ill*. Ann R Coll Surg Engl, 1988. **70**(3): p. 128-34.
23. Takala, J., *Determinants of splanchnic blood flow*. Br J Anaesth, 1996. **77**(1): p. 50-8.
24. Jakob, S.M. and J. Takala, *Gut perfusion in the critically ill*. Intensive Care Med, 2000. **26**(6): p. 813-5.
25. Arvidsson, D., et al., *Splanchnic oxygen consumption in septic and hemorrhagic shock*. Surgery, 1991. **109**(2): p. 190-7.
26. Fink, M., *Cytopathic hypoxia in sepsis*. Acta Anaesthesiol Scand Suppl, 1997. **110**: p. 87-95.
27. Swank, G.M. and E.A. Deitch, *Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes*. World J Surg, 1996. **20**(4): p. 411-7.
28. Deitch, E.A., *Gut-origin sepsis: evolution of a concept*. Surgeon, 2012. **10**(6): p. 350-6.
29. Senthil, M., et al., *Gut-lymph hypothesis of systemic inflammatory response syndrome/multiple-organ dysfunction syndrome: validating studies in a porcine model*. J Trauma, 2006. **60**(5): p. 958-65; discussion 965-7.
30. Eltzschig, H.K. and P. Carmeliet, *Hypoxia and inflammation*. N Engl J Med, 2011. **364**(7): p. 656-65.
31. Lamprecht, G. and A. Heininger, *[Current aspects of sepsis caused by bacterial translocation]*. Zentralbl Chir, 2012. **137**(3): p. 274-8.
32. Besselink, M.G., et al., *Intestinal barrier dysfunction in a randomized trial of a specific probiotic composition in acute pancreatitis*. Ann Surg, 2009. **250**(5): p. 712-9.
33. Carrico, C.J., et al., *Multiple-organ-failure syndrome*. Arch Surg, 1986. **121**(2): p. 196-208.
34. Orbegozo Cortes, D., et al., *Normobaric hyperoxia alters the microcirculation in healthy volunteers*. Microvasc Res, 2015. **98**: p. 23-8.
35. Asfar, P., M. Singer, and P. Radermacher, *Understanding the benefits and harms of oxygen therapy*. Intensive Care Med, 2015. **41**(6): p. 1118-21.
36. Berger, M.M., et al., *[Hyperoxia in Anesthesia and Intensive Care Medicine - too much of a good thing?]*. Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther, 2016. **51**(6): p. 372-7.
37. Stub, D., et al., *Air Versus Oxygen in ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction*. Circulation, 2015. **131**(24): p. 2143-50.
38. Ibanez, B., et al., *2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation*. European Heart Journal, 2017. **39**(2): p. 119–177.
39. Hofmann, R., et al., *Oxygen Therapy in Suspected Acute Myocardial Infarction*. N Engl J Med, 2017. **377**(13): p. 1240-1249.
40. Rousseau, A., et al., *Hyperoxia decreases cutaneous blood flow in high-perfusion areas*. Microvasc Res, 2007. **74**(1): p. 15-22.
41. Carraway, M.S. and C.A. Piantadosi, *Oxygen toxicity*. Respir Care Clin N Am, 1999. **5**(2): p. 265-95.
42. Knoller, E., et al., *Effects of Hyperoxia and Mild Therapeutic Hypothermia During Resuscitation From Porcine Hemorrhagic Shock*. Crit Care Med, 2016. **44**(5): p. e264-77.
43. Hartmann, C., et al., *Effects of Hyperoxia During Resuscitation From Hemorrhagic Shock in Swine With Preexisting Coronary Artery Disease*. Crit Care Med, 2017. **45**(12): p. e1270-e1279.

44. Nussbaum, B.L., et al., *Hyperoxia or Therapeutic Hypothermia During Resuscitation from Non-Lethal Hemorrhagic Shock in Swine*. Shock, 2017. **48**(5): p. 564-570.
45. Frank, H.A. and J. Fine, *Traumatic Shock. V. A Study of the Effect of Oxygen on Hemorrhagic Shock*. J Clin Invest, 1943. **22**(2): p. 305-14.
46. Douzinas, E.E., *Progressive hemorrhage: administer oxygen or early resuscitation?* Intensive Care Med, 2009. **35**(10): p. 1664-6.
47. Olschewski, H., et al., *Inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension*. N Engl J Med, 2002. **347**(5): p. 322-9.
48. Negri, L., A. Ferreras, and M. Iester, *Timolol 0.1% in Glaucomatous Patients: Efficacy, Tolerance, and Quality of Life*. J Ophthalmol, 2019. **2019**: p. 4146124.
49. Wu, H.W., et al., *Topical Timolol Vs. Oral Propranolol for the Treatment of Superficial Infantile Hemangiomas*. Front Oncol, 2018. **8**: p. 605.
50. Truse, R., et al., *Effect of Topical Iloprost and Nitroglycerin on Gastric Microcirculation and Barrier Function during Hemorrhagic Shock in Dogs*. J Vasc Res, 2017. **54**(2): p. 109-121.
51. Truse, R., et al., *Topical Melatonin Improves Gastric Microcirculatory Oxygenation During Hemorrhagic Shock in Dogs but Does Not Alter Barrier Integrity of Caco-2 Monolayers*. Front Med (Lausanne), 2020. **7**: p. 510.
52. van Leersum, E.C., *Eine Methode zur Erleichterung der Blutdruckmessung bei Tieren*. Pflügers Archiv European Journal of Physiology, 1911. **142**(7-8): p. 377-395.
53. Dyson, D.H., *Positive pressure ventilation during anesthesia in dogs: Assessment of surface area derived tidal volume*. Can Vet J, 2012. **53**(1): p. 63-6.
54. Kazama, T. and K. Ikeda, *Comparison of MAC and the rate of rise of alveolar concentration of sevoflurane with halothane and isoflurane in the dog*. Anesthesiology, 1988. **68**(3): p. 435-7.
55. Schwartges, I., et al., *Hypercapnic acidosis preserves gastric mucosal microvascular oxygen saturation in a canine model of hemorrhage*. Shock, 2010. **34**(6): p. 636-42.
56. Hemmerling, T.M. and N. Le, *Brief review: Neuromuscular monitoring: an update for the clinician*. Can J Anaesth, 2007. **54**(1): p. 58-72.
57. Murphy, G.S., et al., *Intraoperative acceleromyography monitoring reduces symptoms of muscle weakness and improves quality of recovery in the early postoperative period*. Anesthesiology, 2011. **115**(5): p. 946-54.
58. Sakai, D.M., et al., *Recovery from rocuronium-induced neuromuscular block was longer in the larynx than in the pelvic limb of anesthetized dogs*. Vet Anaesth Analg, 2017. **44**(2): p. 246-253.
59. Sigrist, *Notfallmedizin für Hund und Katze*. Enke Verlag in Georg Thieme Verlag KG Stuttgart, 2017: p. 217.
60. Hooper, N. and T.J. Armstrong, *Hemorrhagic Shock*, in *StatPearls*. 2021: Treasure Island (FL).
61. Vivaldi, E., S. Macinelli, and B. Gunther, *Experimental hemorrhagic shock in dogs: standardization*. Res Exp Med (Berl), 1983. **182**(2): p. 127-37.
62. Walcott, W.W., *Blood volume in experimental hemorrhagic shock*. Am J Physiol, 1945. **143**: p. 247-253.
63. Hof, S., et al., *Local Mucosal CO(2) but Not O(2) Insufflation Improves Gastric and Oral Microcirculatory Oxygenation in a Canine Model of Mild Hemorrhagic Shock*. Front Med (Lausanne), 2022. **9**: p. 867298.

64. Krug, A., *Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes - Methode des sogenannten O2C (oxygen to see)*. Phlebologie, 2006: p. 300-312.
65. Zijlstra, W.G., A. Buursma, and W.P. Meeuwse-van der Roest, *Absorption spectra of human fetal and adult oxyhemoglobin, de-oxyhemoglobin, carboxyhemoglobin, and methemoglobin*. Clin Chem, 1991. **37**(9): p. 1633-8.
66. Gandjbakhche, A.H., et al., *Visible-light photon migration through myocardium in vivo*. Am J Physiol, 1999. **277**(2 Pt 2): p. H698-704.
67. Sherman, H., S. Klausner, and W.A. Cook, *Incident dark-field illumination: a new method for microcirculatory study*. Angiology, 1971. **22**(5): p. 295-303.
68. Hutchings, S., S. Watts, and E. Kirkman, *The Cytocam video microscope. A new method for visualising the microcirculation using Incident Dark Field technology*. Clin Hemorheol Microcirc, 2016. **62**(3): p. 261-71.
69. Goedhart, P.T., et al., *Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation*. Opt Express, 2007. **15**(23): p. 15101-14.
70. De Backer, D., K. Donadello, and D.O. Cortes, *Monitoring the microcirculation*. J Clin Monit Comput, 2012. **26**(5): p. 361-6.
71. De Backer, D., et al., *How to evaluate the microcirculation: report of a round table conference*. Crit Care, 2007. **11**(5): p. R101.
72. Domizi, R., et al., *Association between sublingual microcirculation, tissue perfusion and organ failure in major trauma: A subgroup analysis of a prospective observational study*. PLoS One, 2019. **14**(3): p. e0213085.
73. Kern, H., et al., *Microcirculation research in community hospitals - challenges and chances*. Clin Hemorheol Microcirc, 2017.
74. Carsetti, A., et al., *Accuracy of an automatic analysis software to detect microvascular density parameters*. Intensive Care Medicine Experimental, 2015. **3**(1): p. 1-2.
75. Carsetti, A., et al., *Ability and efficiency of an automatic analysis software to measure microvascular parameters*. J Clin Monit Comput, 2017. **31**(4): p. 669-676.
76. Boerma, E.C., et al., *Quantifying bedside-derived imaging of microcirculatory abnormalities in septic patients: a prospective validation study*. Crit Care, 2005. **9**(6): p. R601-6.
77. Trzeciak, S., et al., *Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival*. Ann Emerg Med, 2007. **49**(1): p. 88-98, 98 e1-2.
78. Sorensen, S.H., et al., *A blood test for intestinal permeability and function: a new tool for the diagnosis of chronic intestinal disease in dogs*. Clin Chim Acta, 1997. **264**(1): p. 103-15.
79. Grootjans, J., et al., *Non-invasive assessment of barrier integrity and function of the human gut*. World J Gastrointest Surg, 2010. **2**(3): p. 61-9.
80. Sutherland, L.R., et al., *A simple, non-invasive marker of gastric damage: sucrose permeability*. Lancet, 1994. **343**(8904): p. 998-1000.
81. Rumessen, J.J. and E. Gudmand-Hoyer, *Absorption capacity of fructose in healthy adults. Comparison with sucrose and its constituent monosaccharides*. Gut, 1986. **27**(10): p. 1161-8.
82. Corpe, C.P., C.F. Burant, and J.H. Hoekstra, *Intestinal fructose absorption: clinical and molecular aspects*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 1999. **28**(4): p. 364-74.
83. Kawabata, H., et al., *Sucrose permeability as a means of detecting diseases of the upper digestive tract*. J Gastroenterol Hepatol, 1998. **13**(10): p. 1002-6.

84. Vinet, B., et al., *Automated enzymatic assay for the determination of sucrose in serum and urine and its use as a marker of gastric damage*. Clin Chem, 1998. **44**(11): p. 2369-71.
85. Maino, M., et al., *Effects of chronic therapy with non-steroidal antiinflammatory drugs on gastric permeability of sucrose: a study on 71 patients with rheumatoid arthritis*. World J Gastroenterol, 2006. **12**(31): p. 5017-20.
86. Hewetson, M., et al., *Sucrose concentration in blood: a new method for assessment of gastric permeability in horses with gastric ulceration*. J Vet Intern Med, 2006. **20**(2): p. 388-94.
87. Shishido, T., et al., *Significance of a novel sucrose permeability test using serum in the diagnosis of early gastric cancer*. World J Gastroenterol, 2005. **11**(44): p. 6905-9.
88. Muehler, A., et al., *Clinical relevance of intestinal barrier dysfunction in common gastrointestinal diseases*. World J Gastrointest Pathophysiol, 2020. **11**(6): p. 114-130.
89. Blijlevens, N.M., J.P. Donnelly, and B.E. de Pauw, *Prospective evaluation of gut mucosal barrier injury following various myeloablative regimens for haematopoietic stem cell transplant*. Bone Marrow Transplant, 2005. **35**(7): p. 707-11.
90. Wyatt, J., et al., *Intestinal permeability and the prediction of relapse in Crohn's disease*. Lancet, 1993. **341**(8858): p. 1437-9.
91. Roberts, J.G., et al., *D-Xylose blood-level time-curve as an index of intestinal absorption, with a description of a simplified method for estimation of blood xylose levels*. Can Med Assoc J, 1960. **83**: p. 112-7.
92. Ohkohchi, N., et al., *Mechanism of D-xylose transport in human small intestine*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 1986. **5**(3): p. 372-8.
93. Brilhaus, D., et al., *Reversible Burst of Transcriptional Changes during Induction of Crassulacean Acid Metabolism in Talinum triangulare*. Plant Physiol, 2016. **170**(1): p. 102-22.
94. Stitt, M., *Product inhibition of potato tuber pyrophosphate:fructose-6-phosphate phosphotransferase by phosphate and pyrophosphate*. Plant Physiol, 1989. **89**(2): p. 628-33.
95. Segal, E., et al., *Transpulmonary thermodilution cardiac output measurement using the axillary artery in critically ill patients*. J Clin Anesth, 2002. **14**(3): p. 210-3.
96. Ehlers, K.C., et al., *Cardiac output measurements. A review of current techniques and research*. Ann Biomed Eng, 1986. **14**(3): p. 219-39.
97. Sakka, S.G., K. Reinhart, and A. Meier-Hellmann, *Comparison of pulmonary artery and arterial thermodilution cardiac output in critically ill patients*. Intensive Care Med, 1999. **25**(8): p. 843-6.
98. Zollner, C., et al., *[Retrospective analysis of transpulmonary and pulmonary arterial measurement of cardiac output in ARDS patients]*. Anaesthesist, 1998. **47**(11): p. 912-7.
99. Johansson, A. and M. Chew, *Reliability of continuous pulse contour cardiac output measurement during hemodynamic instability*. J Clin Monit Comput, 2007. **21**(4): p. 237-42.
100. Vollmer, C., et al., *Hypothermia improves oral and gastric mucosal microvascular oxygenation during hemorrhagic shock in dogs*. Oxid Med Cell Longev, 2013: p. 589606.
101. Vollmer, C., et al., *Hypothermia improves oral and gastric mucosal oxygenation during hypoxic challenges*. Br J Anaesth, 2014. **113**(3): p. 433-42.

102. Hammel, H.T., C.H. Wyndham, and J.D. Hardy, *Heat production and heat loss in the dog at 8-36 degrees C environmental temperature*. Am J Physiol, 1958. **194**(1): p. 99-108.
103. Rossing, R.G. and S.M. Cain, *A nomogram relating pO₂, pH, temperature, and hemoglobin saturation in the dog*. J Appl Physiol, 1966. **21**(1): p. 195-201.
104. Zander, R., *The oxygen status of arterial human blood*. Scand J Clin Lab Invest Suppl, 1990. **203**: p. 187-96.
105. Hauser, B., et al., *Hemodynamic, metabolic, and organ function effects of pure oxygen ventilation during established fecal peritonitis-induced septic shock*. Crit Care Med, 2009. **37**(8): p. 2465-9.
106. Schoenberg, M.H., et al., *Hemorrhagic shock in the dog. I. Correlation between survival and severity of shock*. Res Exp Med (Berl), 1985. **185**(1): p. 21-33.
107. Elenes, N.A., R.A. Ewald, and W.H. Crosby, *The Reservoir Function of the Spleen and Its Relation to Postsplenectomy Anemia in the Dog*. Blood, 1964. **24**: p. 299-304.
108. Shoukas, A.A., et al., *The importance of the spleen in blood volume shifts of the systemic vascular bed caused by the carotid sinus baroreceptor reflex in the dog*. Circ Res, 1981. **49**(3): p. 759-66.
109. Pottecher, J., et al., *Re: The significance of splenectomy in experimental swine models of hemorrhagic shock*. J Trauma Acute Care Surg, 2013. **75**(5): p. 921-2.
110. Kemming, G.I., et al., *Mycoplasma haemocanis infection--a kennel disease?* Comp Med, 2004. **54**(4): p. 404-9.
111. Nam, K. and Y. Jeon, *Microcirculation during surgery*. Anesth Pain Med (Seoul), 2022. **17**(1): p. 24-34.
112. Dressman, J.B., *Comparison of canine and human gastrointestinal physiology*. Pharm Res, 1986. **3**(3): p. 123-31.
113. Surgeons, A.C.o., *Advanced Trauma Life Support® Student Course Manual 10th Edition*. 2018.
114. Guly, H.R., et al., *Vital signs and estimated blood loss in patients with major trauma: testing the validity of the ATLS classification of hypovolaemic shock*. Resuscitation, 2011. **82**(5): p. 556-9.
115. Mutschler, M., et al., *The ATLS((R)) classification of hypovolaemic shock: a well established teaching tool on the edge?* Injury, 2014. **45 Suppl 3**: p. S35-8.
116. Guly, H.R., et al., *Testing the validity of the ATLS classification of hypovolaemic shock*. Resuscitation, 2010. **81**(9): p. 1142-7.
117. Koch, E., et al., *Shock index in the emergency department: utility and limitations*. Open Access Emerg Med, 2019. **11**: p. 179-199.
118. De Backer, D., et al., *Microcirculatory alterations: potential mechanisms and implications for therapy*. Ann Intensive Care, 2011. **1**(1): p. 27.
119. Henderson, A.K. and C.R.L. Webster. *Disruption of the gastric mucosal barrier in dogs*. 2006.
120. Cherry, R.L., J.D. Smith, and G. Ben-Shlomo, *Canine oral mucosa evaluation as a potential autograft tissue for the treatment of unresponsive keratoconjunctivitis sicca*. Vet Ophthalmol, 2018. **21**(1): p. 48-51.
121. Glover, L.E., J.S. Lee, and S.P. Colgan, *Oxygen metabolism and barrier regulation in the intestinal mucosa*. J Clin Invest, 2016.
122. Albenberg, L., et al., *Correlation between intraluminal oxygen gradient and radial partitioning of intestinal microbiota*. Gastroenterology, 2014. **147**(5): p. 1055-63 e8.

123. Bludau, M., et al., *Quantitative measurement of gastric mucosal microcirculation using a combined laser Doppler flowmeter and spectrophotometer*. Dis Esophagus, 2008. **21**(7): p. 668-72.
124. Maier, S., et al., *Microcirculatory parameters after isotonic and hypertonic colloidal fluid resuscitation in acute hemorrhagic shock*. J Trauma, 2009. **66**(2): p. 337-45.
125. Vollmer, C., et al., *Melatonin pretreatment improves gastric mucosal blood flow and maintains intestinal barrier function during hemorrhagic shock in dogs*. Microcirculation, 2017. **24**(4).
126. Dilken, O., B. Ergin, and C. Ince, *Assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients: consensus and debate*. Ann Transl Med, 2020. **8**(12): p. 793.
127. Verdant, C.L., et al., *Evaluation of sublingual and gut mucosal microcirculation in sepsis: a quantitative analysis*. Crit Care Med, 2009. **37**(11): p. 2875-81.
128. Creteur, J., et al., *Sublingual capnometry tracks microcirculatory changes in septic patients*. Intensive Care Med, 2006. **32**(4): p. 516-23.
129. Edul, V.S., et al., *Dissociation between sublingual and gut microcirculation in the response to a fluid challenge in postoperative patients with abdominal sepsis*. Ann Intensive Care, 2014. **4**: p. 39.
130. van Genderen, M.E., et al., *Microvascular perfusion as a target for fluid resuscitation in experimental circulatory shock*. Crit Care Med, 2014. **42**(2): p. e96-e105.
131. Truse, R., et al., *Regional hypothermia improves gastric microcirculatory oxygenation during hemorrhage in dogs*. PLoS One, 2019. **14**(12): p. e0226146.
132. Grauso, M., et al., *Hyperosmolar environment and intestinal epithelial cells: impact on mitochondrial oxygen consumption, proliferation, and barrier function in vitro*. Sci Rep, 2019. **9**(1): p. 11360.
133. Yoseph, B.P., et al., *Mechanisms of Intestinal Barrier Dysfunction in Sepsis*. Shock, 2016. **46**(1): p. 52-9.
134. Ellis, C.G., et al., *Effect of a maldistribution of microvascular blood flow on capillary O₂ extraction in sepsis*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002. **282**(1): p. H156-64.
135. Iscoe, S., R. Beasley, and J.A. Fisher, *Supplementary oxygen for nonhypoxemic patients: O₂ much of a good thing?* Crit Care, 2011. **15**(3): p. 305.
136. Bergofsky, E.H. and P. Bertun, *Response of regional circulations to hyperoxia*. J Appl Physiol, 1966. **21**(2): p. 567-72.
137. Choong, Y.T., et al., *Baroreceptor reflex control of heart rate in angiotensin type 1A receptor knockout mice*. Physiol Rep, 2013. **1**(6): p. e00171.
138. Umehara, S., M. Tanaka, and T. Nishikawa, *Effects of sevoflurane anesthesia on carotid-cardiac baroreflex responses in humans*. Anesth Analg, 2006. **102**(1): p. 38-44.
139. Swenne, C.A., *Baroreflex sensitivity: mechanisms and measurement*. Neth Heart J, 2013. **21**(2): p. 58-60.
140. Campagna, J.A. and C. Carter, *Clinical relevance of the Bezold-Jarisch reflex*. Anesthesiology, 2003. **98**(5): p. 1250-60.
141. Figueiredo, S., et al., *How useful are hemoglobin concentration and its variations to predict significant hemorrhage in the early phase of trauma? A multicentric cohort study*. Ann Intensive Care, 2018. **8**(1): p. 76.
142. Fecher, A., et al., *The Pathophysiology and Management of Hemorrhagic Shock in the Polytrauma Patient*. J Clin Med, 2021. **10**(20).

143. Bruegger, D., et al., *Causes of metabolic acidosis in canine hemorrhagic shock: role of unmeasured ions*. Crit Care, 2007. **11**(6): p. R130.
144. Eastridge, B.J., J.B. Holcomb, and S. Shackelford, *Outcomes of traumatic hemorrhagic shock and the epidemiology of preventable death from injury*. Transfusion, 2019. **59**(S2): p. 1423-1428.
145. Gutierrez, G., H.D. Reines, and M.E. Wulf-Gutierrez, *Clinical review: hemorrhagic shock*. Crit Care, 2004. **8**(5): p. 373-81.
146. Vincent, J.L. and D. De Backer, *Circulatory shock*. N Engl J Med, 2013. **369**(18): p. 1726-34.
147. Deitch, E.A., *The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure*. Arch Surg, 1990. **125**(3): p. 403-4.
148. Spahn, D.R., et al., *The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fifth edition*. Crit Care, 2019. **23**(1): p. 98.
149. Kyle, B., E. Litton, and K.M. Ho, *Effect of hyperoxia and vascular occlusion on tissue oxygenation measured by near infra-red spectroscopy (InSpectra): a volunteer study*. Anaesthesia, 2012. **67**(11): p. 1237-41.
150. Sakr, Y., *Understanding the microcirculation in sepsis: still a long way to go*. Intensive Care Med, 2011. **37**(7): p. 1057-8.
151. Jozwiak, M., et al., *Vasopressors and Risk of Acute Mesenteric Ischemia: A Worldwide Pharmacovigilance Analysis and Comprehensive Literature Review*. Front Med (Lausanne), 2022. **9**: p. 826446.
152. Verdant, C. and D. De Backer, *How monitoring of the microcirculation may help us at the bedside*. Curr Opin Crit Care, 2005. **11**(3): p. 240-4.
153. De Backer, D. and A. Durand, *Monitoring the microcirculation in critically ill patients*. Best Pract Res Clin Anaesthesiol, 2014. **28**(4): p. 441-51.
154. Jacquet-Lagrece, M., et al., *Is handheld video microscopy really the future of microcirculation monitoring?* Crit Care, 2023. **27**(1): p. 352.
155. Dubin, A., et al., *Monitoring Microcirculation: Utility and Barriers - A Point-of-View Review*. Vasc Health Risk Manag, 2020. **16**: p. 577-589.
156. Li, S., et al., *Change of intestinal mucosa barrier function in the progress of non-alcoholic steatohepatitis in rats*. World J Gastroenterol, 2008. **14**(20): p. 3254-8.
157. Zhao, M., et al., *Reactive oxygen species induce injury of the intestinal epithelium during hyperoxia*. Int J Mol Med, 2018. **41**(1): p. 322-330.
158. Truse, R., et al., *Exogenous vasopressin dose-dependently modulates gastric microcirculatory oxygenation in dogs via V1A receptor*. Crit Care, 2019. **23**(1): p. 353.
159. Schoneborn, S., et al., *Vasopressin V1A receptors mediate the stabilization of intestinal mucosal oxygenation during hypercapnia in septic rats*. Microvasc Res, 2016. **106**: p. 24-30.