

Aus der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Direktor: Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Untersuchung der Wirkungsmechanismen  
von CO<sub>2</sub>-haltigen Lösungen  
auf die lokale Durchblutung der menschlichen Haut an der  
Hand

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

vorgelegt von  
Isabel Unger  
2025

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. rer. nat. Christoph V. Suschek

Zweitgutachter: PD Dr. rer. nat. Csaba Mahotka

*Meiner Familie*

# Zusammenfassung

Lokale Durchblutungsstörungen aufgrund verengter Blutgefäße und die damit verbundene eingeschränkte Sauerstoffversorgung bilden die zentrale pathologische Grundlage des Raynaud-Phänomens. Verschiedene Studien deuten darauf hin, dass CO<sub>2</sub>-Bäder die Mikrozirkulation in Haut und Unterhaut fördern und daher als ergänzende Therapieoption für schlecht durchblutete Hände in Betracht gezogen werden könnten.

Ziel dieser Arbeit war es, die Wirkung von CO<sub>2</sub>-haltigen Lösungen auf die Durchblutung der Hand zu untersuchen. Besonders interessierte uns hierbei, wie tief das CO<sub>2</sub> die Haut an der Hand penetrieren kann. Wir nutzten eine Multispektralkamera von Kent Imaging Inc., um digitale Aufnahmen von den Behandlungsarealen zu machen. Diese erlaubte die Erfassung und Einschätzung der relativen Änderung der Gewebesauerstoffsättigung über die gesamte Fläche der Hand zur Planung einer präklinischen Pilotstudie. Im Rahmen dieser wurde zur Quantifizierung der Durchblutung die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins, die relative Hämoglobinmenge, der Blutfluss und die Blutflussgeschwindigkeit als Messgrößen herangezogen. Das O2C-System („oxygen-to-see“) der Firma LEA Medizintechnik GmbH erlaubte eine punktuelle Erfassung dieser Parameter in Gewebetiefen von 1-2 mm und 6-8 mm.

Die Studie selbst wurde als zweiseitige Cross-Over-Studie mit insgesamt 30 Probanden durchgeführt. An einem ersten Termin tauchten sie ihre nicht-dominante Hand für 15 Minuten in ein nicht-karbonisiertes, wässriges Bad (22 °C). Bei einem zweiten Termin erfolgte dasselbe Vorgehen in einem CO<sub>2</sub>-gesättigten Bad. Die Messungen wurden jeweils vor und direkt nach der Behandlung sowie 20, 30, 90, 120 und 150 Minuten später vorgenommen.

Bei der oberflächlichen Messung zeigte sich unter CO<sub>2</sub>-Einfluss eine signifikante Zunahme der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins, die auch noch nach bis zu zwei Stunden messbar war. In tieferen Gewebeschichten ließ sich hingegen – auch bei den übrigen Parametern – kein positiver Effekt auf die Mikrozirkulation quantifizieren. Eine mögliche Ursache hierfür könnte die niedrige Wassertemperatur sein. Nichtsdestotrotz könnten CO<sub>2</sub>-Bäder eine vielversprechende, kostengünstige und nicht-invasive Therapieoption darstellen, um die Mikrozirkulation in der Hand langfristig zu verbessern.

# Summary

Local circulatory disorders caused by narrowed blood vessels, and the associated reduced oxygen supply, constitute the central pathological basis of Raynaud's phenomenon. Several studies suggest that CO<sub>2</sub> baths can promote microcirculation in the skin and subcutaneous tissue, and may therefore be considered as an adjunct therapy option for poorly perfused hands.

The aim of this study was to investigate the effects of CO<sub>2</sub>-containing solutions on hand circulation. In particular, we sought to determine how deeply CO<sub>2</sub> can penetrate the skin of the hand. We employed a multispectral camera from Kent Imaging Inc. to obtain digital images of the treatment areas. This allowed for the measurement and assessment of relative changes in tissue oxygen saturation across the entire surface of the hand, serving as the basis for planning a preclinical pilot study. Within this framework, hemoglobin oxygen saturation, relative hemoglobin content, blood flow, and blood flow velocity were chosen as parameters to quantify circulation. The O2C system ("oxygen-to-see") from LEA Medizintechnik GmbH enabled point-specific measurements of these parameters at tissue depths of 1-2 mm and 6-8 mm.

The study itself was conducted as a two-arm crossover trial with a total of 30 participants. At the first appointment, participants immersed their non-dominant hand in a non-carbonated aqueous bath (22 °C) for 15 minutes. At the second appointment, the same procedure was carried out in a CO<sub>2</sub>-saturated bath. Measurements were taken before and immediately after each treatment, as well as 20, 30, 90, 120, and 150 minutes thereafter.

During the superficial measurements, a significant increase in hemoglobin oxygen saturation was observed under CO<sub>2</sub> exposure, which remained detectable for up to two hours. In deeper tissue layers, however, no positive effect on oxygen saturation was identified. Likewise, no measurable improvement in circulation was noted in the other parameters. One possible explanation for this outcome could be the relatively low water temperature. Nonetheless, CO<sub>2</sub> baths could represent a promising, cost-effective, and non-invasive therapeutic option to sustainably improve microcirculation in the hand.

# Abkürzungsverzeichnis

95%-CI	95%-Konfidenzintervall
$\alpha_1$ -Adrenorezeptoren	$\alpha_1$ -Adrenorezeptoren
$\alpha_2$ , $\alpha_2$ A, $\alpha_2$ B, $\alpha_2$ C	Subtypen der $\alpha_2$ -Adrenorezeptoren
ALDH2	Aldehyddehydrogenase 2
ANA	Antinukleäre Antikörper
Anti-Scl-70	Antikörper gegen Topoisomerase I
A.U.	<i>Arbitrary Units</i>
ATP	Adenosintriphosphat
CARBOTHERA™	System zur CO <sub>2</sub> -Anreicherung von Wasser
CGRP	<i>Calcitonin Gene-Related Peptide</i>
CLA	<i>cutaneous lymphocyte antigen</i>
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
cGMP	Cyclisches Guanosinmonophosphat
CRPS	Complex Regional Pain Syndrome
CT-Test	Computergestützter Chronothermometrie-Test
EDHF	Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor
EDRF	endothelial derived relaxing factor
eNOS	Endotheliale NO-Synthase
GG-Korrektur	Greenhouse-Geisser-Korrektur
GPH-Membran	Gas-permeable Hollow Fiber Membrane
GTP	Guanosintriphosphat
H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Kohlensäure
H <sub>2</sub> O	Wasser
Hb	Hämoglobin
HbDeOxy	Desoxyhämoglobin
HbOxy	Oxyhämoglobin
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Bicarbonat
iNOS	Induzierbare NO-Synthase
IR	Infrarotspektroskopie
LF2	Flachsonde Typ LF2
NIR	Nahinfrarotspektroskopie
NA	Noradrenalin
nNOS	Neuronale NO-Synthase

NO	Stickstoffmonoxid
O <sub>2</sub> C	Oxygen to See
pH	Maß für den Säuregrad
pK <sub>s</sub>	Säuredissoziationskonstante
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
P50	Halb-Sättigungsdruck des Hämoglobins
PDE-5	Phosphodiesterase-5
rHb	Relative Hämoglobinmenge
ROCK	Rho-associated kinase
sGC	Lösliche Guanylatzyklase
SLE	Systemischer Lupus erythematos
SO <sub>2</sub>	Sauerstoffsättigung des Hämoglobins
SSRIs	Selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer
SSc	Systemische Sklerose
TPS	Tissue Photo Spectrometry
TRP-Kanäle	Transiente Rezeptorpotenzialkanäle
Flow	Blutfluss
Velocity	Blutflussgeschwindigkeit

# Inhaltsverzeichnis

<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>I</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>II</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>III</b>
<b>INHALTSVERZEICHNIS .....</b>	<b>V</b>
<b>1. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
1.1. RAYNAUD PHÄNOMEN .....	1
1.2. AUFBAU UND FUNKTION DER HAUT .....	6
1.3. GEFÄßVERSORGUNG DER HAUT .....	11
1.4. REGULATION DER HAUTDURCHBLUTUNG .....	13
1.4.1. <i>Neurogene Steuerungsmechanismen</i> .....	13
1.4.2. <i>Lokale Regulationsmechanismen</i> .....	14
1.4.3. <i>Thermoregulation</i> .....	15
1.5. KOHLENSTOFFDIOXID-BÄDER .....	17
1.6. KOHLENSTOFFDIOXID UND NO-SYNTHESE .....	19
1.7. KOHLENSTOFFDIOXID UND DER BOHR-EFFEKT .....	20
1.8. ZIELE DER ARBEIT .....	22
1.8.1. <i>Hypothese</i> .....	22
<b>2. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>23</b>
2.1. STUDIENPLANUNG .....	23
2.1.1. <i>Snapshot NIR Kamera</i> .....	23
2.2. STUDIENDESIGN .....	25
2.3. STUDIENTEILNEHMER UND AUFNAHMEKRITERIEN.....	26
2.4. UNTERSUCHUNGSABLAUF.....	27
2.5. MATERIAL UND MESSVERFAHREN .....	28
2.5.1. <i>CARBOTHERA™ K104 – System</i> .....	28
2.5.2. <i>Gastec Gasprüfröhrchensystem</i> .....	30
2.5.3. <i>O2C („oxygen to see“)</i> .....	31
2.6. DATENVERARBEITUNG UND STATISTISCHE METHODEN.....	39
<b>3. ERGEBNISSE.....</b>	<b>41</b>
3.1. BESCHREIBUNG DER STICHPROBE .....	41
3.2. INTERFERENZSTATISTIK.....	41
3.2.1. <i>Messgröße „oberflächlich SO<sub>2</sub>“</i> .....	41
3.2.2. <i>Messgröße „oberflächlich rHb“</i> .....	45
3.2.3. <i>Messgröße „oberflächlich Flow“</i> .....	48
3.2.4. <i>Messgröße „oberflächlich Velocity“</i> .....	50
3.2.5. <i>Messgröße „tief SO<sub>2</sub>“</i> .....	54
3.2.6. <i>Messgröße „tief rHb“</i> .....	57
3.2.7. <i>Messgröße „tief Flow“</i> .....	60
3.2.8. <i>Messgröße „tief Velocity“</i> .....	63
3.2.9. <i>Zeitverlauf „oberflächlich SO<sub>2</sub>“, „oberflächliche Flow“</i> .....	66
<b>4. DISKUSSION.....</b>	<b>68</b>
<b>3. ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>81</b>
<b>4. LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>82</b>

# 1. Einleitung

## 1.1. Raynaud Phänomen

Das Raynaud-Phänomen (RP) ist ein vaskuläres Geschehen, das durch anfallsartige Vasospasmen der Arterien und Arteriolen, insbesondere im Bereich der Finger und Zehen, charakterisiert ist. Diese Vasospasmen führen zu einer typischen Dreiphasen-Farbveränderung der Haut, dem sogenannten „Tricolore-Phänomen“: Auf eine initiale Blässe (Ischämie) – bei der die Haut infolge des fehlenden Blutflusses weiß erscheint – folgt eine Zyanose (Hypoxie), die durch die Desaturation des verbliebenen Blutvolumens eine bläuliche bis violette Verfärbung verursacht. Sobald die Vasospasmen abklingen und der Blutfluss wiederhergestellt wird, tritt schließlich eine reaktive Hyperämie (Rötung) auf [1]. Die ausgeprägte mikrovaskuläre Überempfindlichkeit gegenüber Kälte- und Stressreizen führt dabei zu akuten Schmerzen während der Ischämiephase und oftmals auch während der nachfolgenden Reperfusion. Erstmals beschrieben wurde diese Erkrankung 1862 von Maurice Raynaud, der in seiner Publikation „De l'asphyxie locale et de la gangrène symétrique des extrémités“ darauf hinwies, dass die Akren vorübergehend und reversibel ihre Farbe ändern können – ausgelöst durch Kälte oder andere Faktoren. Schon damals wurde das Krankheitsbild von der medizinischen Fachwelt weit gefasst, sodass der Begriff Morbus Raynaud nicht nur vorübergehende Farbverfärbungen, sondern auch ausgeprägte akrale Ischämien mit Ulzerationen oder Gangrän umfasste [2]. Das Raynaud-Phänomen kann entweder als primäre, idiopathische Form oder als sekundäre Variante im Rahmen anderer Grunderkrankungen auftreten.

Die primäre Form des Raynaud-Phänomens, auch als Morbus Raynaud oder Raynaud-Krankheit bezeichnet, manifestiert sich typischerweise im jüngeren Erwachsenenalter und betrifft Frauen häufiger als Männer; das Geschlechterverhältnis wird auf etwa 4:1 geschätzt [2], [3]. Die Prävalenz in der Allgemeinbevölkerung variiert je nach Region zwischen 3 % und 5 %, wobei kalte Klimazonen tendenziell höhere Werte aufweisen [4]. Kennzeichnend sind symmetrische, anfallsartige Vasospasmen in den Fingern – seltener auch in den Zehen – die durch Kälteexposition oder Stress ausgelöst werden. Da überwiegend funktionelle, jedoch keine strukturellen Veränderungen der Gefäße vorliegen und keine zugrundeliegende Grunderkrankung nachweisbar ist, verläuft diese Form in der Regel milder und ist selten mit Komplikationen wie Ulzerationen oder Nekrosen assoziiert. Auch zeigen Betroffene meist

unauffällige Befunde in der Nagelfalzkappillarmikroskopie; spezifische Autoantikörper, wie sie bei sekundären Formen häufig zu finden sind, fehlen in der Regel [5].

Ein sekundäres Raynaud-Phänomen setzt den Nachweis einer Grunderkrankung oder Störung voraus, die die Durchblutung der Akren beeinträchtigt – sei es im Sinne einer rein funktionellen (z. B. Vasospasmus) oder einer primär strukturellen Ursache (z. B. Digitalarterienverschlüsse) mit nachfolgender funktioneller Beeinträchtigung [6]. Das sekundäre RP tritt häufig in Assoziation mit entzündlich-rheumatischen Erkrankungen, davon insbesondere Kollagenosen, wie systemischer Sklerose (SSc), rheumatoider Arthritis (RA) oder systemischen Lupus erythematoses (SLE) auf. Ebenso können bestimmte Medikamente, z. B. einige Beta-Blocker und Zytostatika, oder berufliche Expositionen gegenüber Vibrationsbelastungen als Auslöser fungieren [4]. Auch Malignome, Hand-, Armarterienverschlüsse oder -stenosen durch Arteriosklerose, Thromboembolie oder Vaskulitis sowie eine Thrombangiitis obliterans können zu einem sekundären Raynaud-Phänomen führen [6]. Im Vergleich zur primären Form weist das sekundäre Raynaud-Phänomen meist ein höheres Erkrankungsalter, sowie ein erhöhtes Risiko für Gewebeschädigungen auf. Auch treten Raynaud-Attacken beim sekundären RP häufiger und langanhaltender auf - ein typischer Auslöser ist oft nicht auszumachen. In diesen Fällen ist das Vorliegen von Digitalarterienverschlüsse wahrscheinlich.

Diagnostisch orientierend sollte eine Labordiagnostik durchgeführt werden, welche ein Differentialblutbild sowie Gesamteiweiß mit Serum eiweißelektrophorese, C-reaktives Protein, Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit und TSH umfasst. Bei auffälligen Befunden können die Untersuchungen um eine immunologische Diagnostik auf antinukleäre Antikörper (ANA) im Immunfluoreszenztest (IFT) ausgedehnt werden [6], [7]. Apparativ kommt die Kapillarmikroskopie zum Einsatz, in der pathologische Befunde (z. B. Mega-Kapillaren, Kapillarverluste) Indikatoren für eine sekundäre Genese darstellen [3], [6].

Die Pathogenese des RP beruht auf einer komplexen Wechselwirkung zwischen endothelialer Dysfunktion, einer gestörten vaskulären Reaktion auf vasomotorische Stimuli und einer übermäßigen Aktivität des sympathischen Nervensystems [3], [4]. Beim primären Raynaud-Phänomen überwiegen funktionelle Veränderungen, während bei der sekundären Form auch strukturelle Schäden an den Gefäßen hinzutreten können. Zentral ist hierbei eine gesteigerte Empfindlichkeit der glatten Gefäßmuskulatur gegenüber vasokonstriktorischen Signalen wie Noradrenalin (NA) sowie eine verminderte Produktion vasodilatatorischer Substanzen wie Stickstoffmonoxid (NO) und Prostacyclin [5]. Gleichzeitig kommt es häufig zu einer vermehrten Freisetzung von Vasokonstriktoren wie Endothelin-1 und Angiotensin II.

Angiopoietin-2 destabilisiert zudem das Endothel und macht es anfälliger für Entzündungen [8].

Das beim primären RP beobachtete Beschwerdebild beruht großteils auf einer gestörten Thermoregulation der Haut. Zahlreiche Einflussfaktoren modulieren die Körpertemperatur; dabei übernehmen die kutanen Gefäße eine Schlüsselrolle. Sowohl lokale endotheliale Mediatoren als auch periphere und zentrale neurogene Stimuli können den Gefäßtonus dieser Gefäße verändern [2]. Unter Kälteeinwirkung führt die Vasokonstriktion in der Haut zu einem verminderten Wärmeverlust. An den Fingern ermöglichen zahlreiche arteriovenöse Anastomosen - so genannte „AVAs“ - einen schnellen Austausch zwischen arteriellen und venösen Gefäßabschnitten und stehen in Verbindung mit den Kapillaren, die die Haut versorgen. Ein erhöhter Sympathikotonus, vermittelt durch Noradrenalin an den  $\alpha$ -Rezeptoren der glatten Gefäßmuskulatur, löst einen Vasospasmus mit deutlicher Reduktion der kutanen Perfusion aus. Physiologisch kommt es bei Kälte zu einer Abnahme des Blutflusses über die digitalen arteriovenösen Anastomosen, während die nutritive Kapillardurchblutung erhalten bleibt. Beim Raynaud-Phänomen hingegen ist sowohl der Durchfluss in den Anastomosen als auch in den nutritiven Kapillaren vermindert. Insgesamt besteht somit eine funktionelle Störung der Thermoregulation mit gestörter vaskulärer Reaktivität, jedoch ohne Nachweis einer strukturellen Gefäßveränderung [2], [9]. Die Entstehung des primären Raynaud-Phänomens lässt sich jedoch nicht allein durch eine singuläre Fehlregulation erklären; vielmehr handelt es sich um ein Zusammenspiel unterschiedlicher auslösender Mechanismen [2]: Freedman et al. konnten 1995 eine gesteigerte Expression  $\alpha$ 2-adrenerger Rezeptoren in der glatten Muskulatur der Gefäßwand nachweisen [9], [10], [11]. Es existieren drei wesentliche Subtypen der  $\alpha$ 2-adrenergen Rezeptoren:  $\alpha$ 2A,  $\alpha$ 2B und  $\alpha$ 2C. Im Kontext des Raynaud-Phänomens spielt der  $\alpha$ 2C-Subtyp eine herausragende Rolle. Kälttereize führen zu einer Verlagerung dieser Rezeptoren an die Plasmamembran, sodass sie – normalerweise inaktiv unter normothermen Bedingungen – nun über zentral freigesetztes NA eine verstärkte Vasokonstriktion vermitteln. Unabhängig von Noradrenalin kann Kälte über verschiedene weitere Mechanismen eine Verengung kutaner Gefäße auslösen, etwa durch Triggerung transienter Rezeptorpotenzial-(TRP-) Kanäle: Diese Kanäle führen über eine Freisetzung vasoaktiver Neuropeptide wie Neuropeptid Y, *Calcitonin gene-related peptide* (CGRP) oder *vasoactive intestinal polypeptide* (VIP) zur Modulation des Gefäßtonus. So bewirkt CGRP über eine endotheliale NO-Freisetzung eine Vasodilatation; Störungen im CGRP-Signalweg werden als mitverantwortlich für die beeinträchtigte vaskuläre Reaktivität beim Raynaud-Phänomen

angesehen. Genvariationen einzelner Ionenkanäle oder im NO-Stoffwechsel sind als hereditäre Faktoren mit dem Raynaud-Phänomen assoziiert [2].

Bei vielen Formen des sekundären Raynaud-Phänomens lassen sich strukturelle Gefäßschäden als Ursache für die beobachtete Symptomatik finden. So kommt es im Rahmen einer systemischen Sklerose zu einer Intimahyperplasie und Mediahypertrophie sowie Mikrothrombenbildung in Arteriolen [12]. Entzündliche Prozesse können in diesem Rahmen die Gefäßwand schädigen und zu einer endothelialen Aktivierung mit gesteigerter Expression von Adhäsionsmolekülen und proinflammatorischen Zytokinen führen. Langfristig kann es zur chronischen Unterversorgung des Gewebes mit Sauerstoff und Nährstoffen kommen, infolgedessen das Risiko für Hautulzerationen und Nekrosen steigt. In fortgeschrittenen Stadien kann es zu Veränderungen an den Fingernägeln und mitunter sogar zum Verlust von Fingern oder Zehen kommen [3], [4]. Die Prognose des sekundären RP hängt maßgeblich von der Schwere der zugrunde liegenden Erkrankung und dem Ausmaß der vaskulären Schädigung ab; eine frühzeitige Diagnose und Therapie sind entscheidend, um schwerwiegende Folgeschäden zu vermeiden.

Die Behandlung des RP erfordert ein integratives Vorgehen, bei dem sowohl die zugrunde liegende Erkrankung als auch die vaskulären und endothelialen Dysfunktionen, die die Raynaud-Episoden auslösen, adressiert werden [4], [13]. Im Vordergrund steht die Behandlung der Grunderkrankung: Bei Patientinnen und Patienten mit SSc, SLE oder anderen rheumatologischen Krankheitsbildern kann eine Reduktion der Entzündungsaktivität durch Immunmodulatoren oder Biologika zu einer Stabilisierung der Mikrozirkulation und einer Abnahme der Anfallsschwere führen. Auf der medikamentösen Ebene der Raynaud-spezifischen Therapie wird vor allem auf vasodilatatorische und endothelprotektive Substanzen zurückgegriffen. Zu den wichtigsten gehören Kalziumkanalblocker, insbesondere Nifedipin, das als Standardtherapie für die symptomatische Behandlung gilt. Kalziumkanalblocker hemmen den Kalziumeinstrom durch L-Typ-Kalziumkanälen in die glatten Gefäßmuskelzellen und bewirken so eine Vasodilatation. Eine niedrig dosierte Anwendung hat sich in Studien als besonders wirksam erwiesen, um Häufigkeit und Dauer der Anfälle zu reduzieren [2]. Ebenfalls relevant sind Angiotensin-II-Rezeptorblocker, z. B. Losartan, die den Schweregrad und die Frequenz der Raynaud-Episoden lindern können [2]. In therapierefraktären Fällen, insbesondere bei sekundärem Raynaud-Syndrom, werden Phosphodiesterase-5-Inhibitoren, z. B. Sildenafil, in Betracht gezogen. Diese Substanzen erhöhen den Spiegel des cyclischen Guanidinmonophosphats (cGMP), indem sie den Abbau von NO hemmen, und können

insbesondere bei begleitender pulmonaler arterieller Hypertonie, wie sie häufig bei sSc auftritt, von Nutzen sein. Darüber hinaus kann Alprostadil, ein Prostaglandin-Analogon, in fortgeschrittenen Fällen verwendet werden, um die Blutzirkulation zu verbessern. Alprostadil wird oft in intravenöser Form angewendet und induziert eine direkte Vasodilatation. Zudem besitzt Alprostadil antioxidative Eigenschaften und wirkt entzündungshemmend [14], [15]. Als weitere Option steht topisch appliziertes Nitroglycerin zur Verfügung: Über die mitochondrial lokalisierte Aldehyddehydrogenase 2 (ALDH2) wird das Nitroglycerin in NO umgewandelt und induziert eine Vasodilatation durch Aktivierung der Guanylatzyklase [16], [17].

Nicht-medikamentöse Maßnahmen spielen im Management, insbesondere beim sekundären Raynaud, eine zentrale Rolle. Vermeidung von Kälteeinwirkung, das konsequente Tragen von wärmenden Handschuhen oder Socken sowie Wärmepackungen helfen, die periphere Durchblutung zu verbessern und Vasospasmen vorzubeugen [4]. Der Verzicht auf Nikotin, das als starker Vasokonstriktor gilt, gehört ebenfalls zu den wesentlichen Empfehlungen [18]. Psychischer Stress, der eine vermehrte Sympathikusaktivierung bewirkt, kann Raynaud-Attacken verstärken [13], [19]. Stressbewältigungsmaßnahmen wie Meditation, autogenes Training, Atemtechniken oder Biofeedback haben sich daher als hilfreich erwiesen [20], [21].

Neben diesen Ansätzen stellt die physikalische Medizin eine Behandlungsmöglichkeit dar. Regelmäßige Bewegungstherapie, manuelle Lymphdrainage oder Massagen können in Kombination mit balneologischen Verfahren die Durchblutung verbessern. Sandqvist et al. konnten so 2004 positive Effekte von Paraffinbädern der Hände auf Patienten mit systemischer Sklerose nachweisen [22]. Besonders bei Patienten mit sekundärem Raynaud-Phänomen im Kontext einer systemischen Sklerose sind positive Effekte von Kohlenstoffdioxid-Anwendungen dokumentiert [23], [24], [25]. Die CO<sub>2</sub>-Behandlung selbst kann auf verschiedene Weisen erfolgen: Bei transkutanen CO<sub>2</sub>-Bädern („trockene Bäder“) wird das betroffene Körperareal in einer gasdichten Kammer für 20–30 Minuten medizinischem Kohlendioxid ausgesetzt. Alternativ kann CO<sub>2</sub>-angereichertes Wasser in Form der Balneotherapie eingesetzt werden, beispielsweise Thermalquellen mit hohem Kohlendioxidgehalt oder speziell angereicherte CO<sub>2</sub>-Wasserbäder, wobei die Wassertemperatur hier meist im Bereich von 33–37 °C liegt. Darüber hinaus ist auch die subkutane Injektion von CO<sub>2</sub> möglich, um lokal eine gezielte Vasodilatation zu erreichen.

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit ist es, mithilfe innovativer Messtechniken wie dem O2C-Gerät die relativen Veränderungen von Blutfluss und Sauerstoffsättigung im behandelten

Hautareal zu quantifizieren. Insbesondere soll untersucht werden, in bis zu welcher Gewebetiefe sich die Effekte exogen applizierten CO<sub>2</sub> auf lokale hämodynamische Parameter und die Sauerstoffsättigung nachweisen lassen. Diese Erkenntnisse könnten einen wichtigen Beitrag zur Optimierung physikalisch-medizinischer Therapiekonzepte für das Raynaud-Phänomen leisten.

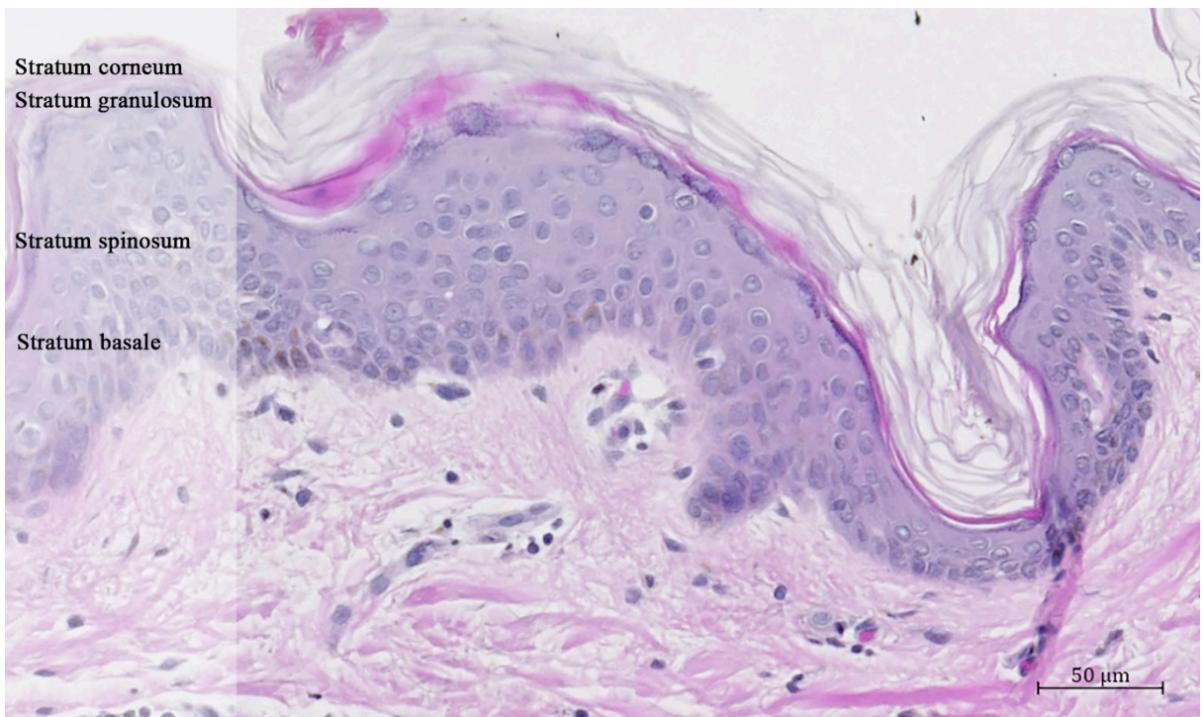
## 1.2. Aufbau und Funktion der Haut

Die Haut ist das größte Organ des menschlichen Körpers und übernimmt als äußere Barriere eine zentrale Schutzfunktion gegenüber mechanischen, chemischen und mikrobiologischen Einflüssen. Ermöglicht wird dies durch ihren charakteristischen dreischichtigen Aufbau, bestehend aus der Epidermis (Oberhaut), der Dermis (Lederhaut) und der Subkutis (Unterhaut)[26], [27].

Die Epidermis ist ein mehrschichtiges, verhorntes Plattenepithel, dessen Zellen zu über 90 % aus Keratinozyten bestehen [28], [29]. Die Keratinozyten durchlaufen einen kontinuierlichen Prozess aus Zellproliferation, Differenzierung und Desquamation. Etwa 10 % der Zellen in der Epidermis sind sogenannte symbiotische Zellen, darunter Langerhans-Zellen, Melanozyten und Merkelzellen. Morphologisch lässt sich die Epidermis in mehrere Schichten gliedern: Im Stratum basale (Basalschicht) erfolgt die mitotische Teilung von Stammzellen, die sich anschließend in Richtung Oberfläche bewegen. Im Stratum spinosum (Stachelzellschicht) beginnt die Bildung von Odland-Körperchen, die Lipide und Enzyme enthalten. Aufgrund der Bildung von Keratohyalin-Granula wurde die nächstobere Schicht als Stratum granulosum (Körnerzellschicht) benannt. Das Stratum lucidum (Glanzschicht) ist nur in der Leistenhaut (z. B. Handflächen und Fußsohlen) erkennbar. Im Stratum corneum (Hornschicht) liegen die Keratinozyten als kernlose, vollständig differenzierte Korneozyten vor, die schließlich abgestoßen werden [26].

Die Epidermis grenzt an die Basallamina, welche sie von der Dermis trennt. Die dermo-epidermale Junktionszone weist eine wellenförmige Struktur aus epidermalen Retezapfen und dermalen Papillen auf, die eine bessere Haftung und eine gewisse Dehnungsreserve ermöglicht. Unter gesunden Bedingungen finden sich nur wenige Gedächtnis-Helfer-T-Lymphozyten in der Epidermis, die mithilfe des *cutaneous lymphocyte antigen* (CLA) aus den Hautgefäßen austreten können. Neutrophile sind hingegen in gesunder Epidermis nicht nachweisbar [26].

Die Haut besitzt eine nahezu undurchlässige Barriere, die einerseits den transepidermalen Wasserverlust minimiert und andererseits das Eindringen schädlicher Substanzen verhindert [30]. Hierzu liegen im Stratum corneum die kernlosen Zellen dicht gepackt aneinander, umgeben von einer umgebenden lipidreichen Matrix. Auch diese Matrix ist Teil der Syntheseleistung der Keratinozyten: In den tieferen Hautschichten finden sich Lipide – ähnlich wie in anderen Geweben – hauptsächlich in Form von membrangebundenen Phospho- und Glykolipiden. Im Stratum spinosum beginnt die Bildung von Odland-Körperchen, die aus parallelen Schichten von Glykosylceramiden, Sterolestern und Phospholipiden zusammengesetzt sind und zusätzlich hydrolytische Enzyme enthalten. Beim Übergang zum Stratum corneum werden diese Organellen in den Interzellularraum freigesetzt, was zur Aktivierung der Enzyme führt. Dadurch werden die Lipide in eine Mischung aus hydrophoben Metaboliten – namentlich Ceramiden, Cholesterin und freien Fettsäuren – umgewandelt, welche das Barrierelipid darstellen. Dieses Lipid lagert sich als breite, parallel angeordnete Lamellen ab, die den Interzellularraum wasserdicht verschließen, während dessen Volumenanteil erheblich zunimmt [26]. Obwohl die Hornschicht gegenüber physikalischen Einwirkungen (mechanisch, thermisch, aktinisch) und chemischen Reizen relativ robust ist, reagiert sie empfindlich auf organische Lösungsmittel, die Lipide extrahieren, sowie auf Detergenzien, welche die Zellmembranen schädigen. Diese Einwirkungen können die Barrierefunktion stören und zu degenerativen Ekzemen führen. Zudem ist die Hornschicht hygroskopisch: Bei längerer Wasserexposition quillt sie auf, sodass sich ihre physikalischen Eigenschaften drastisch verändern: Es kommt zu einer erhöhten Plastizität, eine verminderte Reißfestigkeit, was feuchte Haut anfälliger macht, und eine signifikant gesteigerte Permeabilität – besonders relevant bei der Anwendung von Okklusivverbänden. Hochmolekulare Substanzen, wie Proteine, durchdringen eine intakte Hornschicht praktisch nicht, während niedrigmolekulare Stoffe gemäß dem Fick'schen Diffusionsgesetz in begrenztem Maße eindringen können. Diese Eigenschaft bildet die Grundlage für dermatologische Lokaltherapien. Da Parameter des Fick'schen Gesetzes, wie Hornschichtdicke, Lipidgehalt und Hauttemperatur regional variieren, ist beispielsweise die Permeabilität an Intertrigostellen besonders hoch, während sie an Handflächen und Fußsohlen gering ausfällt. Lipidlösliche Substanzen können die Haut leichter penetrieren als wasserlösliche, was zum einen ein Risiko für toxische Aufnahmen darstellt, zum anderen aber auch die Möglichkeit bietet, Medikamente transdermal, etwa mittels Pflaster, zu verabreichen. Obwohl Haarfollikel und Schweißdrüsen als potenzielle Schwachstellen in der Barriere betrachtet werden könnten, ist ihr Anteil an der Gesamtoberfläche mit etwa 0,1 % so gering, dass sie in der Regel keine bedeutsame Rolle für die Permeation spielen [26].



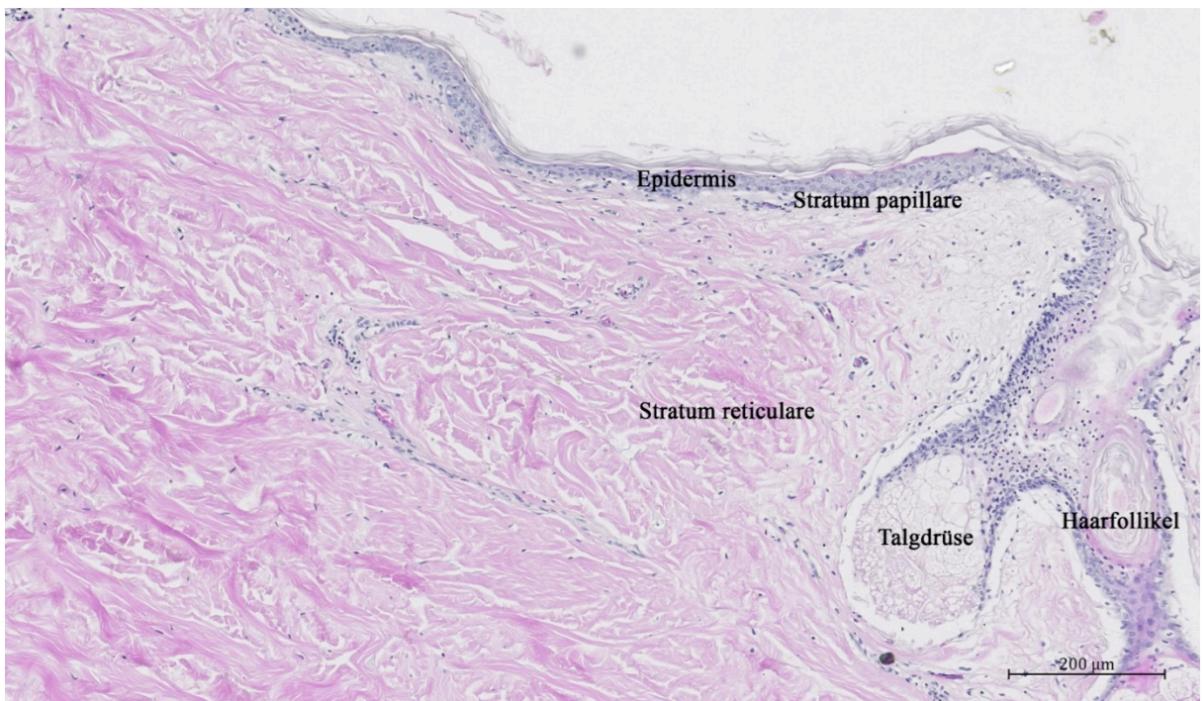
**Abbildung 1. Aufbau der Epidermis am histologischen Präparat**

Sichtbar sind die Epidermis (mit Stratum basale, spinosum, granulosum sowie corneum) sowie Teile der Dermis.

Objektiv: Plan-Apochromat 10x/0.45 M27, Pixelauflösung:  $0,441\mu\text{m} \times 0,441\mu\text{m}$ .

Nach Genehmigung von [31]

Unterhalb der Epidermis liegt die Dermis. Die Dermis ist ein fibroelastisches Bindegewebe, das in zwei Schichten unterteilt wird: Das Stratum papillare - diese oberflächliche Schicht enthält Kapillaren und Nervenendigungen, die die Epidermis versorgen und bildet mit ihren fingerförmigen Papillen eine verzahnte Grenzfläche zur Epidermis – sowie das Stratum reticulare – die tiefere Schicht, bestehend aus dicht gepackten Kollagen- und elastischen Fasern, die der Haut ihre hohe Reißfestigkeit und Elastizität verleihen [26], [32]. Die Grundsubstanz der Dermis setzt sich hauptsächlich aus Kollagenfasern zusammen, die oft parallel angeordnet sind und die Grundlage der Langer'schen Spaltlinien bilden. Ergänzend finden sich elastische Fasern, welche die Rückkehr der Haut in ihre Ausgangsform nach Dehnung ermöglichen. Zwischen den Faserbündeln liegen Fibroblasten, Mastzellen und andere Gewebszellen. Darüber hinaus sind in der Dermis diverse Drüsen zu finden: Schweißdrüsen, die eine thermoregulatorische Kühlung durch Verdunstung unterstützen [33], und Talgdrüsen, deren Sekrete die Haut geschmeidig halten und antimikrobielle Eigenschaften besitzen [34].

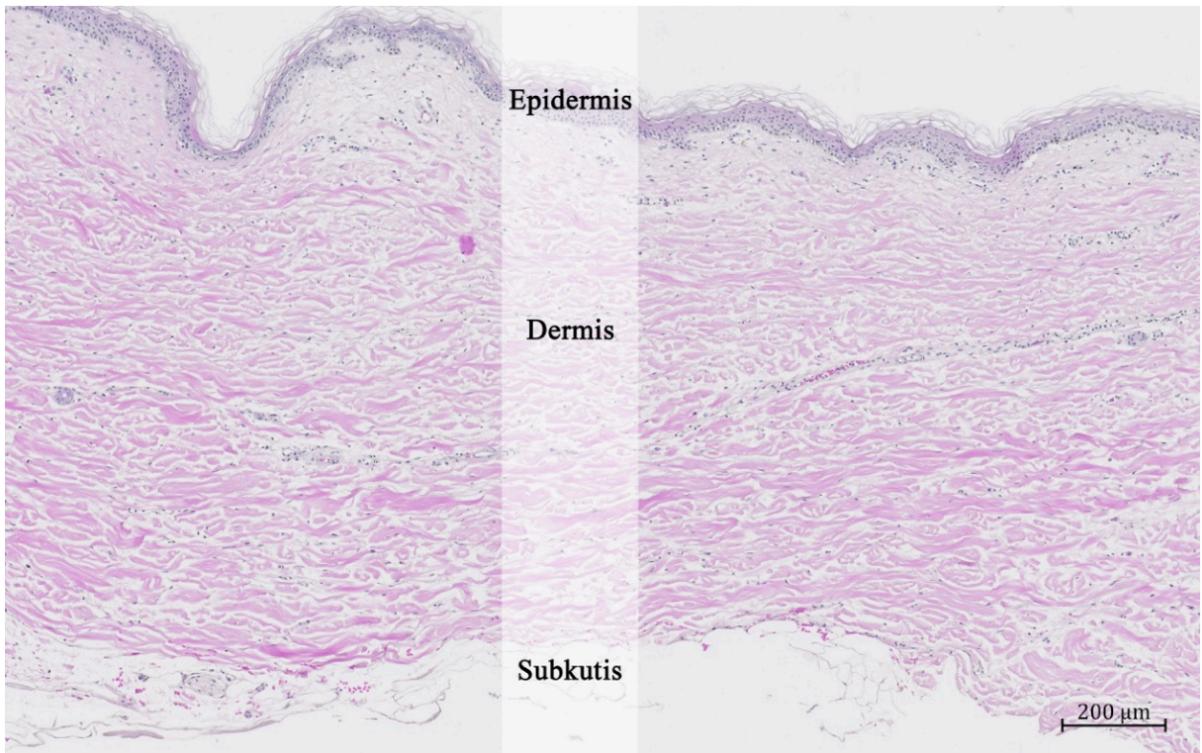


**Abbildung 2. Aufbau der Epidermis und Dermis am histologischen Präparat**

Sichtbar sind die Epidermis sowie die Schichten der Dermis (Stratum papillare und Stratum reticulare). Im rechten Bildrand sind ein Haarfollikel und eine Talgdrüse zu sehen. Objektiv: Plan-APOCHROMAT 10x/0.45 M27, Pixelauflösung: 0,441μm x 0,441μm.

Nach Genehmigung von [31]

Die tiefste Schicht, die Subkutis, besteht überwiegend aus lockerem Bindegewebe und Adipozyten, die als Energiespeicher fungieren. Diese Schicht bietet eine wesentliche Isolation gegen Kälte, dient als mechanische Pufferung gegenüber äußeren Einwirkungen und beherbergt größere Blutgefäße sowie Nerven, die eine effiziente Versorgung der oberen Hautschichten gewährleisten.



**Abbildung 3. Größenrelation der Epidermis zu Dermis und Subkutis am histologischen Präparat**

Sichtbar ist die Epidermis, die Dermis sowie Teile der Subkutis. Objektiv: Plan-Apochromat 10x/0.45

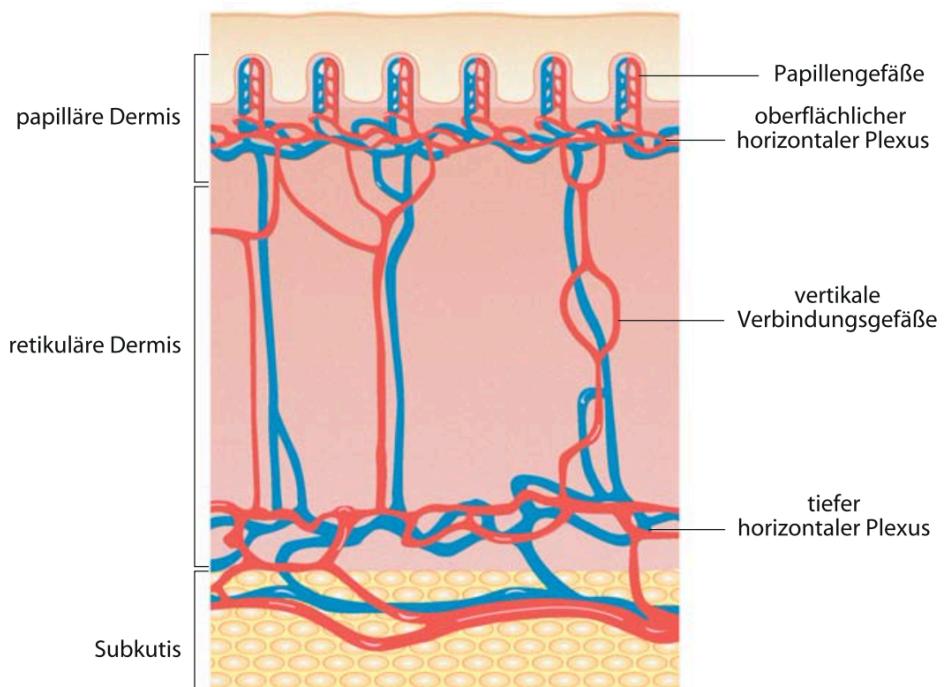
M27, Pixelauflösung: 0,441 μm x 0,441 μm.

Nach Genehmigung von [31]

Verschiedene Körperregionen sind mit spezifisch angepasster Haut ausgestattet, die in zwei Haupttypen unterteilt wird: Leistenhaut und Felderhaut. Die Felderhaut bedeckt den Großteil der menschlichen Körperoberfläche. Sie ist dünn, behaart und mit Drüsen durchsetzt. Im Gegensatz dazu bedeckt die Leistenhaut die Handflächen und Fußsohlen. Sie ist unbehaart und - vor allem durch die prominente Hornschicht – deutlich dicker [35]. Die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen konzentrieren sich vorwiegend auf die Leistenhaut der Handflächen, schließen jedoch auch Felderhautbereiche ein. Die Unterscheidung ist relevant, da die unterschiedlichen Hauttypen – insbesondere durch die variierende Dicke und Zusammensetzung der Hornschicht – eine unterschiedliche Permeabilität und Reaktionsweise auf äußere Einflüsse zeigen.

## 1.3. Gefäßversorgung der Haut

Das Blutgefäßsystem der Haut lässt sich in ein zuführendes und ein abführendes System sowie in ein mikrovaskuläres Netzwerk unterteilen [26]. Die zuführenden und abführenden Gefäße bestehen aus perforierenden Arterien und Venen, die aus dem Fettgewebe und der Muskulatur stammen. Das mikrovaskuläre Netzwerk gliedert sich in zwei horizontal verlaufende Plexus: den oberflächlichen subpapillären Plexus in der papillären Dermis sowie den tiefer gelegenen retikulären Plexus, der sich in der retikulären Dermis und teilweise in der Subkutis befindet [36], [37]. Zwischen diesen beiden Netzwerken verlaufen vertikale Verbindungskapillaren, die zugleich Haarfollikel und Schweißdrüsen mit eigenen Gefäßplexus versorgen. Zusätzlich entspringen vom oberflächlichen Plexus vertikale Kapillarschleifen, die bis in die Spitzen der dermalen Papillen ziehen [26].



**Abbildung 4. Mikrovaskulatur der Haut**

Die kutane Vaskulatur besteht aus Zu- und Ableitungssystem sowie dem mikrovaskulären Gefäßnetz. Die Mikrovaskulatur ist in zwei horizontalen Plexus organisiert. Der oberflächliche Plexus ist an der Grenzfläche zwischen papillärer und retikulärer Dermis lokalisiert, der tiefe Plexus liegt an der Dermis-Subkutis-Grenze. Zwischen diesen Plexus verlaufen vertikale Verbindungsgefäße. Vom oberflächlichen Plexus verlaufen vertikale Kapillarschleifen in die Papillenspitzen.

Modifiziert nach [26]

Beide Plexus enthalten Arteriolen, Kapillaren sowie postkapilläre Venolen. Im oberflächlichen Plexus überwiegen dabei vor allem die postkapillären Venolen und Kapillaren. Da die

postkapillären Venolen insgesamt den größten kumulativen Querschnitt der Hautgefäße aufweisen, übernehmen sie eine bedeutende Reservoirfunktion. In diesen Gefäßen ist die Blutflussgeschwindigkeit besonders gering, was einen intensiven Austausch zwischen Blutzellen und Endothelzellen ermöglicht und sie gleichzeitig zum Hauptort entzündlicher Prozesse in der Haut macht [26]. In der retikulären Dermis und der Subkutis hingegen finden sich größere Gefäße, zu denen Arteriolen, Venolen sowie arteriovenöse Anastomosen (AVAs) gehören. Letztere erlauben eine direkte Umleitung des Blutflusses und dienen als wichtiges Regulationsinstrument, um den Blutstrom je nach thermischen und metabolischen Anforderungen flexibel anzupassen [38]. AVAs sind nur in den Akren nachweisbar. Die Blutzirkulation erfolgt sowohl im arteriellen als auch im venösen Schenkel pulsatil [26].

Die Endothelzellen bilden die innere zelluläre Auskleidung aller Blutgefäße und übernehmen vielfältige Aufgaben, die je nach Gefäßgröße variieren können: Sie steuern unter anderem den Stoffaustausch, die Synthese der Basalmembran und extrazellulären Matrix, den Lipoprotein-Metabolismus sowie Gerinnungs- und Fibrinolysevorgänge. Für die vorliegende Arbeit besonders relevant ist ihre Funktion in der Regulation des Gefäßtonus sowie die Einleitung und Ausführung entzündlicher Prozesse. Die Endothelzelloberfläche wirkt antithrombogen, da sie reich an negativ geladenem Heparan- und Chondroitinsulfat ist, wodurch die passive Adhäsion von Thrombozyten erschwert wird. Darüber hinaus bestehen aktive antikoagulatorische Mechanismen: Endothelzellen setzen NO und Prostacyclin frei, die einer Thrombozytenaggregation entgegenwirken, und binden Thrombin an wandständiges Thrombomodulin, was zur Aktivierung des Protein C und damit zur Fibrinolyse führt. Zudem können Endothelzellen ihre Permeabilität erhöhen, indem sie sich zusammenziehen und so die Interzellularräume erweitern. Dieser Prozess kann als unmittelbare Reaktion auf Histamin, Leukotriene oder Thrombin erfolgen oder verzögert durch Zytokine wie Interleukin-1 (IL-1) oder Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Auch die Regulation des Gefäßtonus erfolgt primär über Endothel-vermittelte Substanzen: NO und Prostacyclin bewirken eine Vasodilatation, wohingegen Thromboxan, Endothelin und Angiotensin II (AT II) eine Vasokonstriktion hervorrufen [26]. Auf diese Weise können Endothelzellen direkt auf Veränderungen im lokalen Gewebestoffwechsel reagieren. Unterstützt wird dieser Mechanismus durch das autonome Nervensystem, dessen sympathische Fasern über  $\alpha$ -adrenerge Rezeptoren eine Vasokonstriktion herbeiführen und somit eine Umverteilung des Blutflusses ermöglichen [39].

## 1.4. Regulation der Hautdurchblutung

Die Durchblutung der Haut wird von einem hochkomplexen physiologischen System kontrolliert, das thermoregulatorische, metabolische und neurogene Mechanismen integriert. Entsprechend kann die kutane Durchblutung zwischen 0,5 l/min und bis zu 7 l/min variieren – ein Bereich, der im Extremfall das gesamte Ruhe-Herzzeitvolumen übersteigen kann [40], [41].

### 1.4.1. Neurogene Steuerungsmechanismen

Auf neuronaler Ebene übernimmt das sympathische Nervensystem die primäre efferente Kontrolle der Hautdurchblutung. Es verfügt sowohl über vasokonstriktorische als auch vasodilatatorische Anteile. Die vasokonstriktorische Kontrolle wird über noradrenerge Nerven vermittelt: Das freigesetzte Noradrenalin bindet an  $\alpha$ -adrenerge Rezeptoren der glatten Gefäßmuskulatur und bewirkt eine Verengung des Gefäßlumens. Dieser Mechanismus ist besonders bei Kälteexposition von Bedeutung, um die Wärme im Körperkern zu erhalten [38], [42]. Im Gegensatz dazu wird die vasodilatatorische Komponente bei Hitzestress aktiv, um eine schnelle Gefäßerweiterung und damit eine vermehrte Wärmeabgabe zu ermöglichen. Obwohl die genauen Signalwege noch nicht vollständig aufgeklärt sind, geht man von spezifischen sympathischen Nervenfasern aus, die diese vasodilatatorische Antwort vermitteln [38].

Die zentrale Steuerung der Hautdurchblutung erfolgt über verschiedene Hirnareale. Die präoptische Region im Hypothalamus spielt dabei eine zentrale Rolle, da sie kontinuierlich Temperaturinformationen empfängt und die erforderlichen Anpassungsreaktionen koordiniert [38], [42]. Auch die medulläre Raphé, in der sympathische Prämotorneurone lokalisiert sind, ist wesentlich an der Regulation der Hautgefäßaktivität beteiligt [42].

Neben der zentralen Steuerung existieren zudem lokale neuronale Mechanismen, die die Hautdurchblutung modulieren können. So führen sowohl direktes Erwärmen als auch Abkühlen der Haut zu einer lokalen Vasodilatation beziehungsweise Vasokonstriktion, wobei sensorische Nerven und Substanzen wie NO beteiligt sind. Arteriovenöse Anastomosen, insbesondere in Handflächen und Fußsohlen, ermöglichen zudem eine schnelle Umverteilung des Blutflusses durch gezieltes Öffnen oder Schließen dieser Gefäßverbindungen [38], [42].

### 1.4.2. Lokale Regulationsmechanismen

Der subpapilläre Gefäßplexus reagiert sehr empfindlich auf Veränderungen des lokalen Gewebestoffwechsels, beispielsweise durch die Reaktion ATP-sensitiver Kaliumkanäle. Dies sind spezialisierte Ionenkanäle, die als metabolische Sensoren agieren. Sie verbinden den energetischen Zustand der Zelle mit ihrer elektrischen Aktivität. Bei niedrigen ATP-Spiegeln öffnen sich diese Kanäle, während sie sich bei einem hohen ATP/ADP-Verhältnis schließen. Bei Ischämie akkumulieren  $\text{CO}_2$ , Laktat und Adenosin, was zur Aktivierung von ATP-sensitiven Kaliumkanälen in den glatten Gefäßmuskelzellen führt. Über eine Hyperpolarisation bewirkt dies eine Vasodilatation [43], [44]. Zusätzlich nimmt bei einem sinkenden pH-Wert die Empfindlichkeit von  $\alpha$ -Rezeptoren gegenüber Katecholaminen ab, wodurch die sympathisch vermittelte Vasokonstriktion weiter reduziert wird [44].

Neben diesen metabolischen Faktoren spielen myogene Mechanismen wie der Bayliss-Effekt eine Rolle, bei dem die glatten Gefäßmuskelzellen auf Druckänderungen mit Kontraktion (bei Dehnung) oder Relaxation (bei Druckabfall) reagieren [44]. Diese myogene Antwort überlagert sich mit Endothel-vermittelten Prozessen: Steigende Scherkräfte aktivieren die endotheliale NO-Synthase, während Hypoxie die Freisetzung des *Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor* (EDHF) fördert [45], [46].

Eine besondere Bedeutung in der Regulation der kutanen Durchblutung hat das Stickstoffmonoxid. NO entfaltet seine vasodilatatorische, aber auch aggregationshemmende Wirkung vorwiegend über den NO-cGMP-Signalweg: Stickstoffmonoxid (NO) wird aus der Aminosäure L-Arginin synthetisiert. Die Aktivierung des Enzyms, das für die NO-Produktion zuständig ist – der endothelialen NO-Synthase (eNOS) – hängt von der Kalziumkonzentration innerhalb der Zelle ab. Der Kalziumanstieg wird durch Signale ausgelöst, die entweder Kalzium von außen in die Zelle strömen lassen oder aus internen Speichern freisetzen. Die Aktivierung der entsprechenden Ionenkanäle erfolgt rezeptorvermittelt – also durch die Bindung endogener (z. B. Acetylcholin, ADP, ATP, Bradykinin, Histamin, Serotonin) oder exogener (z. B. Arzneistoffe) Mediatoren an membranständige Rezeptoren. Innerhalb der Endothelzelle verbindet sich Kalzium mit dem Protein Calmodulin, wodurch die eNOS aktiviert wird und NO freigesetzt. Das Gas diffundiert in die benachbarte Zielzelle und bindet dort an die löslichen Guanylatzyklase (sGC). Zu den Zielzellen zählen sowohl Blutzellen wie Thrombozyten als auch Zellen der Gefäßwand wie glatte Muskelzellen). Die Aktivierung der sGC bewirkt eine

Erhöhung der intrazellulären cGMP-Konzentration. Dies wiederum senkt die intrazelluläre Kalzium-Konzentration durch Aktivierung der Kalzium-ATPase ( $\text{Ca}^{2+}$ -Rücktransport ins Retikulum), sowie der Hemmung spannungsabhängiger  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle. Es kommt zur Hemmung der Thrombozytenaggregation und -adhäsion sowie zur Relaxation glatter Gefäßmuskulatur mit konsekutiver Vasodilatation [46].

### 1.4.3. Thermoregulation

Die reflexartige kutane Vasokonstriktion stellt einen zentralen Bestandteil der körperlichen Reaktion auf Ganzkörperkühlung dar und dient primär dazu, den Wärmeverlust über die Haut zu minimieren und die Kerntemperatur aufrechtzuerhalten. Wenn ein signifikanter Teil der Körperhaut gekühlt wird, werden afferente Signale von peripheren Hautthermorezeptoren an die präoptische Region des Hypothalamus weitergeleitet, wo sie zu efferenten Antworten führen, die eine ausgeprägte Vasokonstriktion der Hautgefäße initiieren [9], [47]. Diese Vasokonstriktion wird vor allem durch sympathische noradrenerge Neurone vermittelt. Das freigesetzte Noradrenalin bindet an  $\alpha 2$ -adrenerge Rezeptoren der glatten Gefäßmuskulatur und induziert einen Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration, der letztendlich die Gefäßverengung bewirkt [9].

Lokale Abkühlung hingegen bewirkt eine Vasokonstriktion über mehrere Mechanismen: Bei Senkung der lokalen Hauttemperatur am Unterarm um 5 bis 10°C wird die anfängliche Vasokonstriktion in erster Linie durch NA über den  $\alpha 2$ -adrenergen Rezeptor vermittelt [48]. Dabei verringert die lokale Kühlung die NA-Freisetzung durch die sympathischen Nerven, erhöht aber die Empfindlichkeit der  $\alpha 2C$ -adrenergen Rezeptoren in der glatten Gefäßmuskulatur [9]. Bei fortgesetzter lokaler Kühlung sind nicht-adrenerge und nicht-neuronale Mechanismen für die Verringerung des Blutflusses in der Haut verantwortlich. Die lokale Kühlung der Haut verringert die Aktivität der endothelialen NO-Synthase, wodurch die NO-vermittelte vasodilatatorische Reaktion reduziert wird, die andernfalls die Vasokonstriktion begrenzen würde [9], [49]. Darüber hinaus führt die lokale Abkühlung zu einem Anstieg der reaktiven Sauerstoffspezies in den Mitochondrien, was über Rho-Kinase-Signalmechanismen zu einer Zunahme der Vasokonstriktion führt [9].

Akrale Hautareale wie Handflächen, Fußsohlen und Zehen sind besonders stark von dieser kältebedingten Vasokonstriktion betroffen und daher anfälliger für Kälteverletzungen und Beeinträchtigungen der Feinmotorik [9], [50]. In diesen Regionen kommt es jedoch auch zu einem Phänomen namens kälteinduzierte Vasodilatation, auch „Jagdreflex“ genannt [51]. Dieser äußert sich in zyklischen, kurzzeitigen Anstiegen von Hautdurchblutung und

Temperatur, die auf einen initialen Abfall während der Kälteexposition folgen. Vermutlich basiert dieses Phänomen auf dem wiederholten Öffnen und Schließen der AVAs [9], [52]. Die zugrunde liegenden Mechanismen sind noch nicht abschließend geklärt; diskutiert werden Axonreflexe, vasodilatatorische Mediatoren, eine Unterbrechung der sympathischen Innervation der AVAs oder eine kälteinduzierte Verminderung der Aktivität der glatten Gefäßmuskulatur [9], [53].

## 1.5. Kohlenstoffdioxid-Bäder

Bereits im 19. Jahrhundert wurden in Europa sogenannte „Kohlensäurebäder“ aus natürlichen Quellen zu therapeutischen Zwecken eingesetzt. Mit Beginn des 20. Jahrhunderts ermöglichte die künstliche Erzeugung von CO<sub>2</sub> die Anwendung dieser Behandlung auch unabhängig von natürlichen Vorkommen. Die CO<sub>2</sub>-Therapie stellt ein vielseitiges physikalisches Verfahren dar, das sowohl als Nassbad als auch als Gasbad durchgeführt werden kann [54]. Im Falle des in dieser Studie zum Einsatz kommenden Nassbades werden wässrige Lösungen mit einem CO<sub>2</sub>-Gehalt von mindestens 1000 mg/l freiem Kohlenstoffdioxid in der Regel als „CO<sub>2</sub>-reich“ bezeichnet [55].

Um die Wirkung dieser Bäder auf den menschlichen Organismus zu verstehen, sind einige chemische Grundlagen bedeutsam: Kohlenstoffdioxid oder Kohlendioxid, ein unbrennbares, leicht saures, farbloses Gas, ist eine chemische Verbindung aus Kohlenstoff und Sauerstoff[54]. In Wasser gelöstes CO<sub>2</sub> steht im Gleichgewicht mit Kohlensäure (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) und Wasser (H<sub>2</sub>O) [54]. Aufgrund ihrer zwei Hydroxygruppen ist Kohlensäure jedoch äußerst instabil und zerfällt nahezu vollständig in CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O (Erlenmeyer-Regel); dieser Prozess wird durch Wärmeeinwirkung beschleunigt [56], [57]. Das sichtbar aufsteigende CO<sub>2</sub> erscheint in Form kleiner Bläschen. Da das Gleichgewicht zu etwa 99,8 % auf Seiten des Kohlenstoffdioxids liegt, ist der tatsächlich vorhandene Anteil an Kohlensäure von 0,2 % verschwindend gering. Infolgedessen ist der Begriff „Kohlensäure-Bad“ eigentlich irreführend, wohingegen „Kohlenstoffdioxid-Bad“ die chemischen Verhältnisse treffender beschreibt. Das in diesen Nass- oder Trockentherapien hochkonzentrierte CO<sub>2</sub> diffundiert bis zu 100-mal leichter durch die Haut als Wasser [54]. Der artifiziell gesetzte Reiz der topischen CO<sub>2</sub>-Applikation führt zu verschiedenen Reaktionen im Organismus, die in unterschiedlichen medizinischen Fachbereichen therapeutisch genutzt werden [54]:

CO<sub>2</sub> wirkt als starker Vasodilatator [58]. Dies zeigt sich in einer rasch einsetzenden Rötung des behandelten Areals, die auf eine erhöhte Durchblutung zurückzuführen ist. Die präkapillare Gefäßweitstellung durch transkutan appliziertes CO<sub>2</sub> bleibt lokal auf das behandelte Hautareal beschränkt und ist bereits ab Konzentrationen von rund 500 mg/l CO<sub>2</sub> nachweisbar [54], [59]. Besonders hervorzuheben ist das unmittelbare Einsetzen dieses Effekts, was in Studien durch Messungen des Kapillardurchmessers bestätigt wurde [60]. Bei Patienten mit arterieller Hypertonie bewirkt die CO<sub>2</sub>-Therapie zudem eine Verbesserung der Gefäßelastizität und eine Senkung des Gefäßwiderstands [61]. Sowohl bei verschiedenen Gefäßerkrankungen als auch

bei gesunden Probanden konnte gezeigt werden, dass diese lokale Durchblutungssteigerung eine bessere Hautdurchblutung, einen geringeren Gefäßwiderstand und eine intensivere Sauerstoffversorgung des umliegenden Gewebes bewirkt [62], [63], [64], [65].

Bei Wundheilungsstörungen kann sich zu Nutze gemacht werden, dass Hyperkapnie nachweislich den Gewebe-pH senkt [62]. Während der pH-Wert der gesunden Haut im Stratum corneum zwischen 4,1 und 5,8 liegt [66], weisen chronische Wunden häufig einen alkalischen pH-Wert von >7,6 auf [67]. Erste Messungen an der Medizinischen Hochschule Hannover belegen, dass die CO<sub>2</sub>-Therapie den Haut-pH in Richtung des pK<sub>s</sub>-Werts der Kohlensäure verschieben kann [62]. Somit ließe sich der wundheilungsfördernde Effekt von CO<sub>2</sub> nicht nur durch die Vasodilatation, sondern auch durch eine Normalisierung des pH-Werts erklären. Zudem wurde gezeigt, dass hochkonzentriertes CO<sub>2</sub> aerobe Bakterien, darunter den häufigen Wundkeim *Staphylococcus aureus*, hemmen oder abtöten kann [67]. Allerdings könnte hierdurch das Wachstum anaerober Erreger gefördert werden, was die Zusammensetzung der Bakterienflora in infizierten Wunden verändern kann. Daher sind vor einer CO<sub>2</sub>-Therapie mikrobiologische Tests und engmaschige Kontrollen erforderlich [54].

Auch der Knochenstoffwechsel ist auf eine gute Durchblutung angewiesen, was insbesondere für die Frakturheilung und skelettale Erkrankungen von Bedeutung ist [68]. In einer Tierstudie von Kuroiwa et al. zeigte sich, dass topisch appliziertes CO<sub>2</sub> die Regeneration femoraler Knochendefekte signifikant fördert [69]. Diese Erkenntnisse könnten künftig eine weitere Indikation für die CO<sub>2</sub>-Therapie begründen.

Interessant, auch im Kontext des Raynaud-Phänomens, sind die Effekte des Kohlenstoffdioxids auf Nervenfasern. Studien belegen, dass CO<sub>2</sub> eine Verringerung der Schmerzempfindlichkeit bewirken kann [70]. Darüber hinaus sind CO<sub>2</sub>-Bäder bei Patientinnen und Patienten mit komplexem regionalen Schmerzsyndrom bereits indiziert [71]. Ob dies auf einen direkten Effekt auf afferente Schmerzfasern zurückzuführen ist oder eher indirekt über die Verbesserung der Mikrozirkulation und vegetativen Regulation vermittelt wird, ist bislang nicht abschließend geklärt [54].

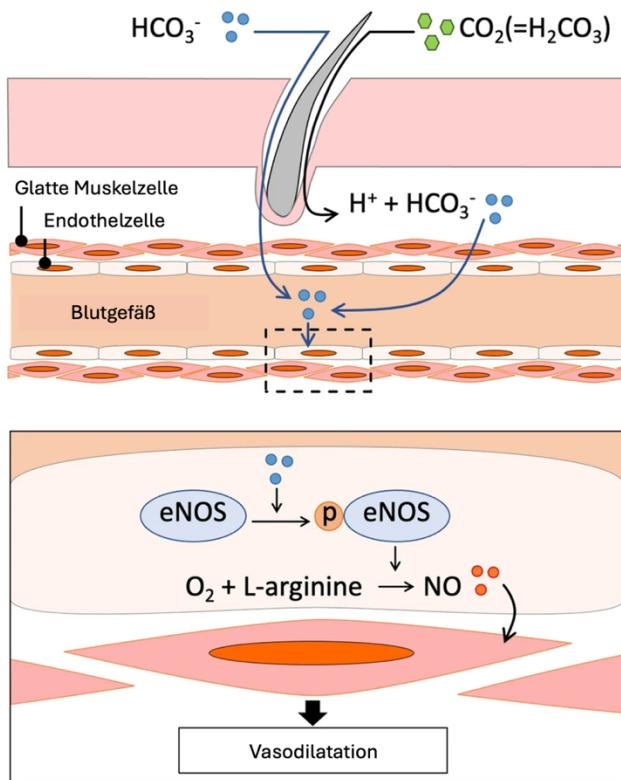
Die in den folgenden Kapiteln im Mittelpunkt stehende gefäßerweiternde Wirkung von Kohlenstoffdioxid und ihre vermuteten Mechanismen werden nachfolgend vertiefend erläutert.

## 1.6. Kohlenstoffdioxid und NO-Synthese

Die transkutane Applikation von Kohlenstoffdioxid führt in der Haut zu einer Reihe chemischer Reaktionen, die letztlich eine Vasodilatation bewirken. Zunächst diffundiert das gelöste  $\text{CO}_2$  durch die Epidermis in das darunterliegende Gewebe, wo es reversibel mit Wasser reagiert und dabei Kohlensäure bildet. Diese instabile Verbindung zerfällt wiederum in Wasserstoffionen ( $\text{H}^+$ ) und Bicarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ), was eine lokale Absenkung des pH-Werts zur Folge hat:



Die hierdurch entstehende Ansäuerung stimuliert die endotheliale NO-Synthase, welche L-Arginin in Stickstoffmonoxid und Citrullin umwandelt [72]. Das freigesetzte NO diffundiert anschließend in die benachbarten glatten Gefäßmuskelzellen, wo es an die lösliche Guanylylcyclase (sGC) bindet und die Umwandlung von Guanosintriphosphat (GTP) in zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) in Gang setzt. Der erhöhte cGMP-Spiegel aktiviert spezifische Proteinkinasen, die zu einer Absenkung der intrazellulären Kalziumkonzentration führen und damit eine Relaxation der glatten Muskulatur auslösen [73].



**Abbildung 5. Schematische Darstellung der Induktion von eNOS durch Bicarbonationen**

Bicarbonat-Ionen ( $\text{HCO}_3^-$ ) und Kohlensäure ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) werden perkutan aufgenommen, wobei Kohlensäure in vivo in Bicarbonat-Ionen umgewandelt wird. In die Endothelzellen eindringende Bicarbonat-Ionen phosphorylieren die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS). Die phosphorylierte eNOS produziert Stickstoffmonoxid (NO), welches die glatte Muskulatur außerhalb der Endothelzellen entspannt und zur Gefäßerweiterung führt. Modifiziert nach [72]

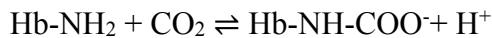
Diese chemische Kaskade ist die Grundlage der unmittelbaren vasodilatatorischen Wirkung von  $\text{CO}_2$ -Bädern. Die dadurch gesteigerte Durchblutung kann zudem sekundär die Sauerstoffversorgung und Nährstoffzufuhr im Gewebe verbessern, was entzündungshemmende und schmerzlindernde Effekte begünstigen kann.

## 1.7. Kohlenstoffdioxid und der Bohr-Effekt

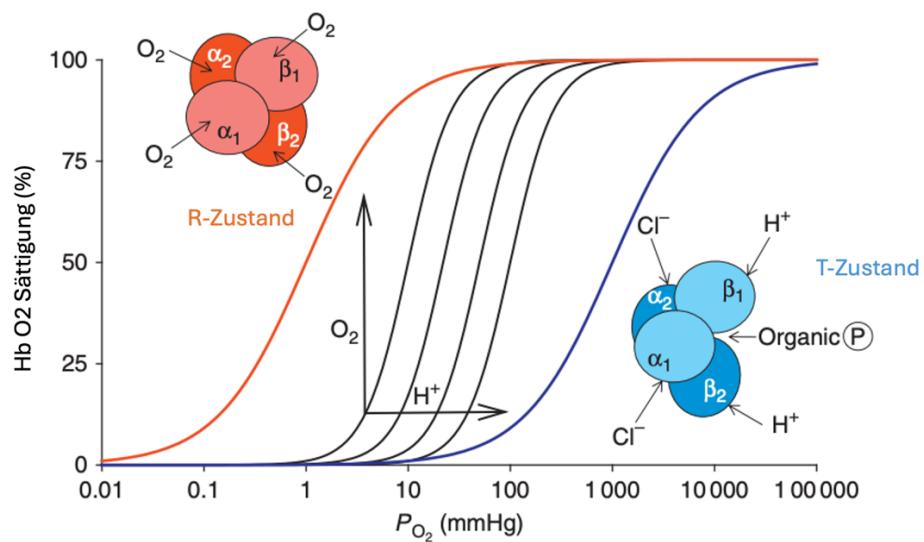
Der Bohr-Effekt beschreibt den Einfluss des  $\text{CO}_2$ -Gehalts und des pH-Werts auf die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins (Hb). Benannt wurde er nach dem dänischen Physiologen Christian Bohr, der diesen Mechanismus 1904 entdeckte. Chemisch beruht der Bohr-Effekt auf einer Reihe von Reaktionen, die den Protonierungszustand und damit die Konfirmation des Hämoglobins verändern. Steigt der  $\text{CO}_2$ -Partialdruck in einem Gewebe, reagiert  $\text{CO}_2$  - wie oben dargestellt - mit Wasser zu Kohlensäure, welche in Protonen und Bicarbonat zerfällt:



Die entstehenden  $\text{H}^+$ -Ionen senken den pH-Wert, wodurch bestimmte Aminosäurereste, z. B. Histidin, im Hämoglobin protoniert werden. Diese Protonierung stabilisiert eine Konformation des Hämoglobins, in der dessen Affinität zu Sauerstoff ( $\text{O}_2$ ) verringert ist, was die Sauerstoffabgabe an das Gewebe erleichtert [74] [75]. Etwa 5 % des  $\text{CO}_2$  werden zudem an die N-terminalen Aminogruppen der Globinketten gebunden, sodass Hämoglobin als Carbamino-Hb vorliegt. Auch dies begünstigt die Freisetzung von  $\text{O}_2$  [76]:



In der Summe fördert der Bohr-Effekt die Sauerstoffabgabe in Geweben mit hohem  $\text{CO}_2$ -Partialdruck. Bei  $\text{CO}_2$ -Bädern kann dieser Mechanismus zu einer erhöhten Gewebesauerstoffsättigung beitragen.



**Abbildung 6. Schematische Darstellung des Bohr-Effekts**

Hämoglobin existiert in zwei Hauptzuständen, die sich in ihrer Sauerstoffaffinität unterscheiden: dem R-Zustand (*relaxed*) mit hoher Affinität und dem T-Zustand (*tense*) mit niedriger Affinität. Bei hohem Sauerstoffpartialdruck ( $\text{pO}_2$ ) wechselt Hämoglobin in den R-Zustand, während Protonen ( $\text{H}^+$ ) den T-Zustand stabilisieren und so die Sauerstoffaufnahme erschweren. Dies führt zu einem Anstieg des P50-Werts, was bedeutet, dass eine höhere Sauerstoffkonzentration nötig ist, um Hämoglobin zur Hälfte zu sättigen. Chloridionen ( $\text{Cl}^-$ ) und organische Phosphate können diesen Effekt weiter verstärken, indem sie den T-Zustand zusätzlich stabilisieren.

Modifiziert nach [74]

## 1.8. Ziele der Arbeit

Diese Arbeit zielt darauf ab, den Einfluss von CO<sub>2</sub>-haltigen Lösungen auf die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins, die relative Hämoglobinmenge, den Blutfluss und die Blutflussgeschwindigkeit zu untersuchen. Ein besonderer Fokus liegt auf der Frage, wie tief das CO<sub>2</sub> in die Haut der Hand eindringen kann. Hierzu wurden mithilfe des O<sub>2</sub>C-Geräts (LEA Medizintechnik GmbH) Messungen in 1-2 mm (*oberflächlich*) und 6-8 mm (*tiefe*) Gewebetiefe durchgeführt.

### 1.8.1. Hypothese

Die 15-minütige Exposition der nicht-dominanten Hand gesunder Probanden in einer bei 22 °C temperierten CO<sub>2</sub>-haltigen Lösung (1 g/l) führt zu einer signifikanten Verbesserung der lokalen Hämodynamik – sowohl in oberflächlichen Gewebeschichten als auch in tieferen Schichten. Unter denselben Versuchsbedingungen, jedoch mit nicht-karbonisiertem 22 °C temperierten Leitungswasser ist dagegen keine signifikante Steigerung der lokalen Durchblutung zu erwarten.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Studienplanung

Um die optimalen experimentellen Bedingungen für die vorliegende Studie zu definieren, wurden zunächst umfangreiche Voruntersuchungen durchgeführt. Dabei kam eine Multispektralkamera von Kent Imaging zum Einsatz, mit der unter anderem der Einfluss unterschiedlicher Wassertemperaturen auf das Versuchssystem überprüft wurde. In Anlehnung an eine vorangegangene interne Studie, bei während der Verwendung von höheren Wassertemperaturen, in diesem Fall 33 °C, keine signifikanten Veränderungen zwischen CO<sub>2</sub> – und Kontrollbad hervorbrachten, entschied man sich für eine Temperatur von 22 °C. Hier schien bildmorphologisch der größte Unterschied zwischen den beiden Bäderarten zu bestehen. Außerdem basierte diese Wahl auf der Erkenntnis, dass sich Kohlenstoffdioxid bei niedrigeren Temperaturen besser in Wasser löst und somit zu stabileren Lösungen mit damit einhergehender verbesserten Reproduzierbarkeit der Messwerte beiträgt [77]. Parallel dazu wurden mithilfe derselben Multispektralkamera geeignete Messpunkte für das im weiteren Studienverlauf verwendete O2C-Gerät identifiziert. Hierzu erfolgte ein systematisches Screening verschiedener potenzieller Messareale an Fleder- und Leistenhaut. Aus diesen Voruntersuchungen gingen vier repräsentative Messpunkte hervor, die die Heterogenität der untersuchten Gewebeareale abbilden und somit eine solide Grundlage für die nachfolgende Datenerhebung darstellen.

#### 2.1.1. Snapshot NIR Kamera

Die von Kent Imaging in Calgary, Kanada, im Jahr 2018 entwickelte Snapshot NIR-Kamera ermöglicht eine nicht-invasive, Echtzeit-Visualisierung der Hautmikrozirkulation mittels Nahinfrarotspektroskopie. Sie kommt in diversen medizinischen Bereichen zum Einsatz, etwa in der Wundversorgung oder in der rekonstruktiven Chirurgie. Das System vereint ein spektrales Messverfahren mit einer bildbasierten Datenerfassung und digitaler Auswertung, um die Parameter Gewebesauerstoffsättigung (StO<sub>2</sub>), Oxyhämoglobin (HbOxy), Deoxyhämoglobin (HbDeOxy) sowie das gesamte Hämoglobin (TotHb) zu bestimmen, wodurch Rückschlüsse auf oberflächliche Arteriolen, Venolen und Kapillaren gezogen werden können [78]. Der Hersteller gibt für das genutzte nahinfrarote Licht eine Eindringtiefe von ca. 2-3 mm in Abhängigkeit des gemessenen Organs an. Die Funktionsweise der Kamera basiert auf dem Prinzip der Nahinfrarotspektroskopie (NIS). Das wissenschaftliche Prinzip dieser

Technologie beruht auf den unterschiedlichen Absorptionsmustern von sauerstoffreichem und sauerstoffarmem Hämoglobin bei der Bestrahlung mit Nahinfrarotlicht (NIR). Durch die Analyse der reflektierten Lichtmuster kann das Gerät das Verhältnis zwischen diesen beiden Formen von Hämoglobin berechnen und eine visuelle Darstellung der Gewebeoxygenierung erstellen. [79] Im Vergleich zur Infrarotspektroskopie (IR), wie sie beispielsweise bei der Pulsoxymetrie zum Einsatz kommt, ist die nahinfrarote Strahlung hochenergetischer und unterliegt einem geringeren Absorptionseffekt an Geweben, sodass sie dieses tiefer durchdringen kann. Dies stellt vor allem in in-vivo-Untersuchungen einen Vorteil dar, da die melaninhaltige Epidermis keine Abschwächung der Strahlung induziert [80].

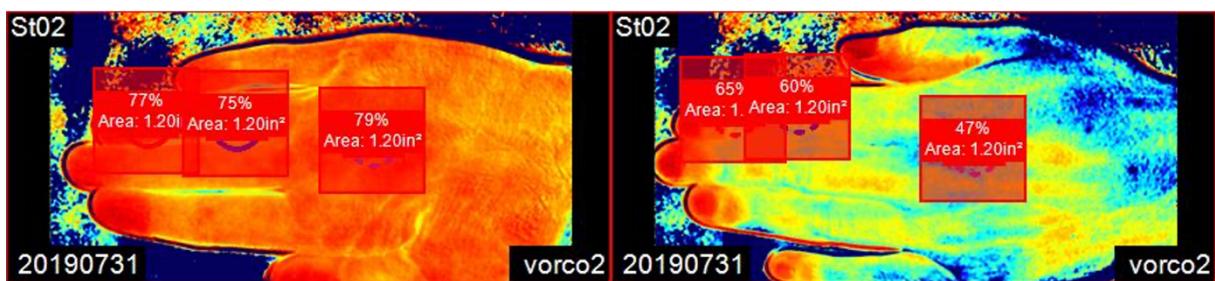


**Abbildung 7. Kent Camera KC103 von Kent Imaging Inc.**  
Nach Genehmigung von [77]

Vor jeder Messung erfolgte eine Kalibrierung der Kamera mittels einer weißen *Spectralon®*-Referenzkarte. Zur präzisen Fokussierung dienen zwei rote Positionierungslampen, die in einem Abstand von ca. 30 cm zur Hautoberfläche konvergieren. Das Gerät verfügt über insgesamt 470 LEDs, die in einer rechteckigen Fläche von rund 190 mm × 115 mm angeordnet sind und Licht in vier spezifischen Wellenlängen des NIR-Spektrums abstrahlen [81] [77]. Die Aufnahmen wurden von der Handinnenfläche und dem Handrücken der nicht-dominanten Hand angefertigt und mittels der Kent-eigenen Software analysiert. Als Messparameter zur

Studienplanung wurde die Gewebesauerstoffsättigung ( $StO_2$ ) gewählt. Da die  $StO_2$ -Werte unmittelbar aus dem Verhältnis von oxygeniertem und desoxygeniertem Hämoglobin errechnet werden, verzichteten wir auf eine separate Auswertung der Einzelkomponenten HbOxy, HbDeOxy und TotHb.

Für die Beurteilung der Gewebesauerstoffsättigung über eine größere Fläche wurden Mittelwerte aus definierten Messbereichen herangezogen.



**Abbildung 8. Screenshot des Monitors der Kent Camera von Kent Imaging Inc.**

Im Rahmen der Studienplanung wurden Aufnahmen der mittels  $CO_2$  exponierten Fläche angefertigt. Es folgte die Einschätzung der Durchblutung mittels flächenhafter Berechnung der Gewebssauerstoffsättigung.

## 2.2. Studiendesign

Die vorliegende Arbeit wurde als prospektive, monozentrische Pilotstudie konzipiert und im Zeitraum von Oktober 2018 bis Mai 2019 durchgeführt. Der zugehörige Ethikantrag wurde bei der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter der Studiennummer 5806R (Studienregistrierungs-ID 2017044214) eingereicht und bewilligt. Die Datenerhebung fand in den Forschungsräumlichkeiten der Klinik für Unfallchirurgie und Orthopädie des Universitätsklinikums Düsseldorf statt. Die Probandenakquise erfolgte zwischen August 2018 und Mai 2019.

Alle Teilnehmenden wurden schriftlich und mündlich über Studieninhalt, Ziele, Dauer sowie mögliche Risiken und Nebenwirkungen informiert. Zudem erhielten sie Hinweise auf die Freiwilligkeit ihrer Teilnahme und ihr Recht, jederzeit ohne Angabe von Gründen aus der Studie auszuscheiden, ohne dass ihnen dadurch Nachteile entstünden. Die Einhaltung der datenschutzrechtlichen Bestimmungen wurde zugesichert. Erst nach einer angemessenen Bedenkzeit und ausführlicher Aufklärung gaben alle Probanden ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme.

## 2.3. Studienteilnehmer und Aufnahmekriterien

In die Studie wurden gesunde Probanden zwischen 18 und 65 Jahren eingeschlossen, die sowohl geistig als auch körperlich in der Lage waren, den Untersuchungsablauf und die Ziele der Studie zu verstehen und daran teilzunehmen. Das schriftliche Einverständnis war Voraussetzung für die Aufnahme. Gründe für den Ausschluss vor Studienbeginn waren bestehende Hauterkrankungen, auffällige irreguläre Pigmentierungen oder offene Wunden im zu untersuchenden Bereich der betroffenen Hand. Darüber hinaus wurden Personen mit bekannten Erkrankungen, die die Durchblutung beeinträchtigen von der Studie ausgeschlossen. Eine detaillierte Auflistung findet sich in Tabelle 1.

**Tabelle 1. Ein- und Ausschlusskriterien**

<b>Einschlusskriterien</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Gesunde Probanden zwischen 18 und 65 Jahren</li><li>• Schriftliche Einwilligung des Probanden</li><li>• Guter und stabiler Gesundheitszustand nach Selbsteinschätzung</li></ul>
<b>Ausschlusskriterien</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Schwangerschaft</li><li>• Diabetes mellitus</li><li>• Akute Entzündungen</li><li>• Nierenerkrankungen</li><li>• Manifestierte kardiovaskuläre Erkrankungen wie z.B. periphere arterielle Erkrankungen, koronar arterielle Erkrankungen, sowie cerebral-vaskuläre Erkrankungen</li><li>• Herzrhythmusstörungen</li><li>• Herzschriftmacher oder anderes implantiertes aktives Medizinprodukte</li><li>• Neigung zu epileptischen Anfällen</li><li>• Hauterkrankungen oder Wunden an der Teststelle</li><li>• Gleichzeitige Teilnahme an anderen klinischen Studien</li></ul>

## 2.4. Untersuchungsablauf

Die Studie wurde in Form einer zweiarmigen Cross-Over-Studie durchgeführt. Nach ausführlicher Aufklärung und einer angemessenen Bedenkzeit erteilten alle Teilnehmenden ihre schriftliche Einwilligung. Jeder Proband erhielt zwei Untersuchungstermine, die im Abstand von einer Woche stattfanden.

An den Versuchstagen wurden die Teilnehmenden nach ihrer Ankunft zunächst gebeten, fünf Minuten in Ruhe zu sitzen. Daraufhin wurde die erste prä-Interventions-Messung vorgenommen. Hierzu kam das das O<sub>2</sub>C-Gerät zum Einsatz, dessen Sonde auf der Handaußen- und Handinnenseite sowie auf dem palmaren Endglied des Ring- und Mittelfingers platziert wurde. Um eine spätere Reproduzierbarkeit zu gewährleisten, wurden die Ecken der Sondenauflage mittels Hautfarbstift markiert.

Die Aufbereitung des Bades unterschied sich zwischen den beiden Terminen: Am ersten Termin wurde ein 22 °C temperiertes Leitungswasserbad vorbereitet, am zweiten Termin ein ebenso 22°C temperiertes, mit CO<sub>2</sub> gesättigtes Wasserbad. Letzteres wurde mithilfe des Carbothera™104-Systems hergestellt; die CO<sub>2</sub>-Konzentration wurde mit dem Gastec-Gasprüfröhrchensystem bestimmt. In beiden Versuchsbedingungen tauchten die Teilnehmenden ihre Hand jeweils 15 Minuten in das Bad. Unmittelbar nach dieser Immersion wurde die Hand vorsichtig abgetrocknet, um Messartefakte zu vermeiden.

Die O<sub>2</sub>C-Messungen erfolgten jeweils vor, direkt nach der Behandlung sowie nach 20, 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten. Die Sondenpositionierung erfolgte an den zuvor markierten Stellen.

Zur Minimierung möglicher Langzeiteffekte wurde zwischen beiden Versuchstagen eine einwöchige „Auswaschphase“ eingehalten. Alle Messungen erfolgten an der nicht-dominanten Hand.

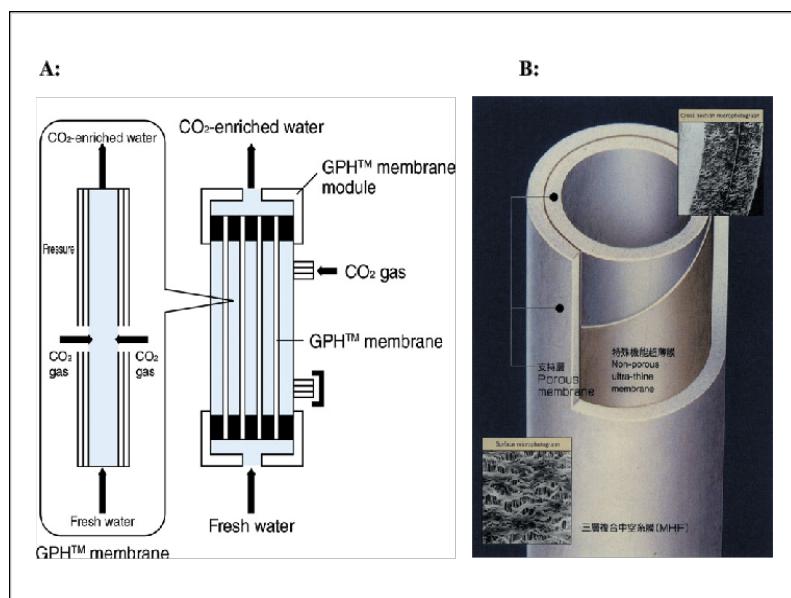
## 2.5. Material und Messverfahren

### 2.5.1. CARBOTHERA™ K104 – System

Das Carbothera™ K104-System dient der Generierung kohlendioxidangereicherten Wassers und wurde ursprünglich zur therapeutischen Fußbadbehandlung entwickelt. Grundlage des Geräts bildet die eigens entwickelte gasdurchlässige Hohlfasermembran (GPH™-Membran) von Mitsubishi Rayon, einem Hersteller synthetischer Fasern in Japan.

Die GPH™-Membran zeichnet sich durch eine dreilagige Verbundstruktur aus, die aus einem nichtporösen, ultradünnen Film mit gasselektiver Permeabilität, eingebettet zwischen zwei porösen Schichten, besteht. Die mittlere Schicht dieser Membran erlaubt den Transit von Gasen wie Sauerstoff, Stickstoff und Kohlendioxid, ohne dass eine Durchlässigkeit für Wasser besteht. Bei Vorliegen eines Druckgradienten diffundiert das Kohlendioxid von der Hochdruck- in die Niederdruckseite, wobei es sich in das Wasser löst [82].

Das Gerät ist in der Lage, kohlendioxidangereichertes Wasser mit Konzentrationen im Bereich von 1.000 bis 1.200 ppm zu erzeugen, was es für den medizinischen Einsatz prädestiniert. Zur Steigerung der Produktionskapazität werden mehrere GPH™-Membranen zu einem Modul zusammengefasst, wodurch eine effiziente und kontinuierliche Erzeugung großer Mengen an kohlendioxidangereichertem Wasser ermöglicht wird [83], [84]

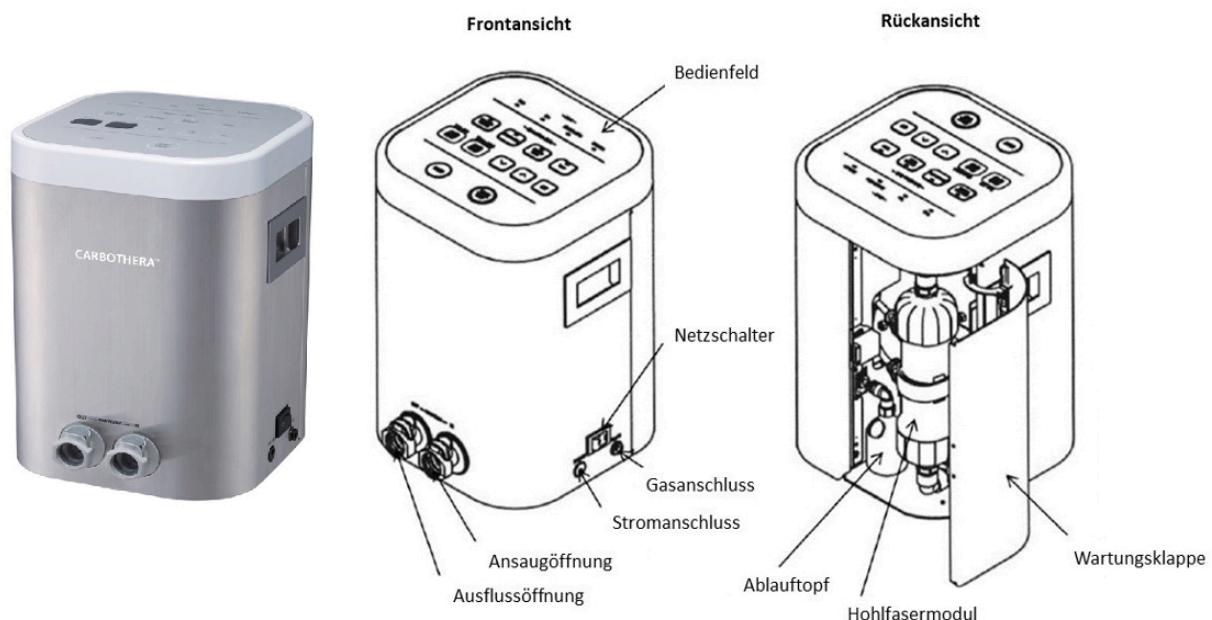


**Abbildung 9. GPH™-Membran**

In Panel A ist die Beschaffenheit der GPH™-Membran dargestellt; Panel B verdeutlicht die Herstellung der kohlendioxidangereicherten Wassers.

Nach Genehmigung von [77]

Die Handhabung des Carbothera™K104-Geräts erfolgt in mehreren, klar definierten Schritten: Zunächst wird ein CO<sub>2</sub>-Zylinder an das Gerät angeschlossen. Anschließend wird mittels eines Schlauchsystems eine Verbindung zu einem adäquaten Behälter hergestellt. Nachdem das System mit Wasser in beliebig gewählter Temperatur befüllt wurde, erfolgt die Einstellung des CO<sub>2</sub>-Druckreglers, wodurch die Zirkulation des Gases in das Wasser initiiert wird. Erreicht das System die vorab definierte Gaskonzentration, wird die CO<sub>2</sub>-Zufuhr unterbrochen, und die Verbindung zum Bad wird getrennt. Im Anschluss erfolgt die therapeutische Applikation, bei der der Patient seine Hände für einen festgelegten Zeitraum in das kohlendioxidangereicherte Wasser eintaucht.

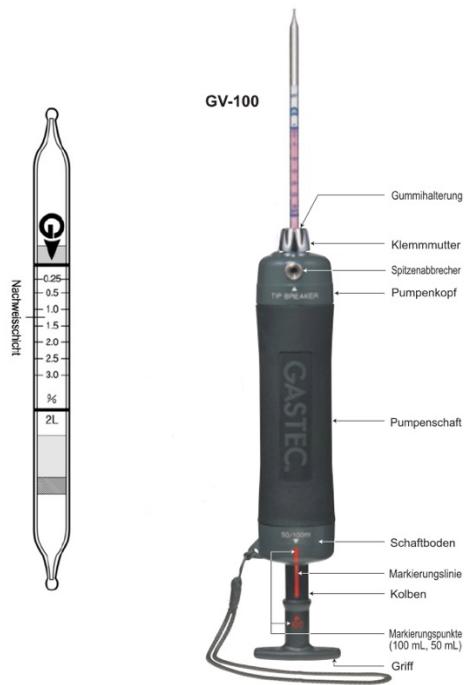


**Abbildung 10. Schematische Darstellung des Carbothera™ K104-Geräts**  
Nach Genehmigung von [77]

Die Anwendung des Carbothera-Geräts zeichnet sich durch eine kompakte Bauweise aus und erfordert keine chemischen Zusätze. Darüber hinaus ermöglicht das System eine präzise Einstellung der CO<sub>2</sub>-Konzentration und gewährleistet durch einen kurzen Produktionszyklus eine konstante Wassertemperatur.

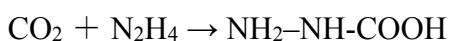
## 2.5.2. Gastec Gasprüfröhrchensystem

Das Gastec Gasprüfröhrchensystem ist ein flexibles Probenahme- und Analysesystem zur schnellen Bestimmung verschiedener Gaskomponenten.



**Abbildung 11. Das Gastec Gasprüfröhrchensystem**  
Nach Genehmigung von [77]

Das System besteht aus einer handgeführten Pumpe und speziellen Glasprüfröhrchen, die ein chemisches Reagenz enthalten. Dieses Reagenz führt in Abhängigkeit von der Konzentration des Zielgases zu einer charakteristischen Farbänderung. Speziell für Kohlenstoffdioxid erfolgt eine Reaktion, bei der Hydrazin zu Carbohydrazid reagiert – ein Vorgang, der sich durch eine violette Verfärbung nachweisen lässt:



Zur Anwendung wird zunächst die Spitze eines Prüfröhrchens mithilfe eines dafür vorgesehenen Spitzenabrechers entfernt. Anschließend wird das Röhrchen so in den Einlass der Pumpe eingeführt, dass der aufgedruckte Pfeil in Richtung der Pumpe zeigt. Dabei ist sicherzustellen, dass der Pumpengriff vollständig eingeschoben ist, sodass die Führungsmarke „50“ am Pumpengehäuse mit der roten Markierung am Griff übereinstimmt. Im nächsten Schritt wird der Griff um einen halben Hub (entsprechend ca. 50 ml) herausgezogen, bis er einrastet. Während dieses Vorgangs wird die CO<sub>2</sub>-haltige Luft oder Lösung durch das Röhrchen geleitet,

wodurch der Indikator im Inneren seine Farbe in Abhängigkeit von der CO<sub>2</sub>-Konzentration ändert. Nach einer Wartezeit von 45 Sekunden gilt die Probenahme als abgeschlossen. Die Länge und Intensität der resultierenden Farbumschlag kann direkt anhand einer auf dem Röhrchen angebrachten Skala abgelesen werden und ist proportional zur nachgewiesenen CO<sub>2</sub>-Menge. Nach Abschluss der Messung werden die verwendeten Röhrchen gemäß den geltenden Umweltvorschriften fachgerecht entsorgt [77], [85].

### 2.5.3. O2C („oxygen to see“)

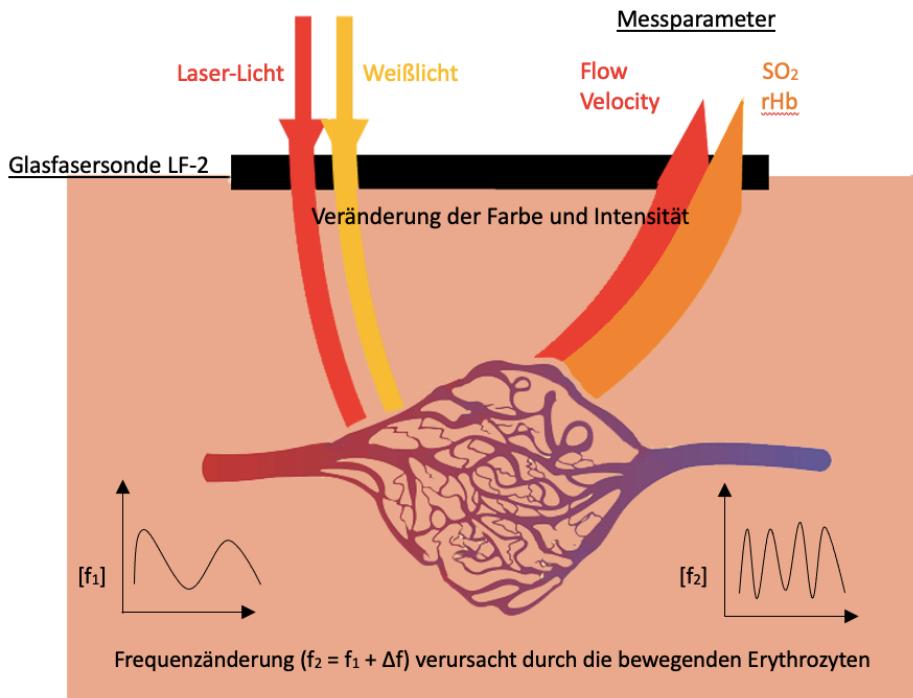
Das O2C („oxygen to see“) wurde von LEA Medizintechnik GmbH in Gießen, Deutschland, entwickelt.



**Abbildung 12. O2C („Oxygen-To-See“) von LEA Medizintechnik GmbH**  
Nach Genehmigung von [77]

Das O2C-Gerät kombiniert mit seinem optischen Sensor zwei Messmodalitäten zur Bewertung mikrozirkulatorischer Parameter. Zum einen wird die Laser-Doppler-Spektroskopie eingesetzt, die mittels der Erfassung frequenzveränderter Streulichtsignale, verursacht durch sich bewegende Erythrozyten, die Blutflussgeschwindigkeit (*Velocity*) und der Blutfluss (*Flow*) in den Mikrogefäßen bestimmt [86], [87], [88]. Zum anderen nutzt die Weißlicht-Spektrometrie die Absorptionsspektren des Hämoglobins, um sowohl die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins (SO<sub>2</sub>) als auch die relative Hämoglobinkonzentration (rHb) zu ermitteln. Die Kombination beider Methoden, auch als *Tissue Photo Spectrometry* (TPS) bezeichnet, ermöglicht eine nicht-invasive Quantifizierung der Durchblutung und Stoffwechselaktivität im Gewebe. Die optische Sonde emittiert dabei sowohl Laser- als auch Weißlicht und dringt – abhängig von der Sondenkonfiguration – in Tiefen von 2 bis 8 mm in das Gewebe ein. In der

vorliegenden Studie werden die Messwerte aus Kanal 1, der eine Gewebetiefe von 1–2 mm (*oberflächlich*) abbildet, sowie aus Kanal 2, der Werte in 6–8 mm Tiefe (*tiefe*) erfasst.



**Abbildung 13. Schematische Darstellung der Messprinzipien des O2Cs**

Während der Messung werden gleichzeitig Laserlicht und Weißlicht in das Gewebe projiziert. Aus der frequenzveränderten Reflexion des Laserlichts lassen sich Rückschlüsse auf den Blutfluss und Blutflussgeschwindigkeit ziehen. Durch Reflexion des Weißlichts werden Sauerstoffsättigung und relative Hämoglobinmenge bestimmt.

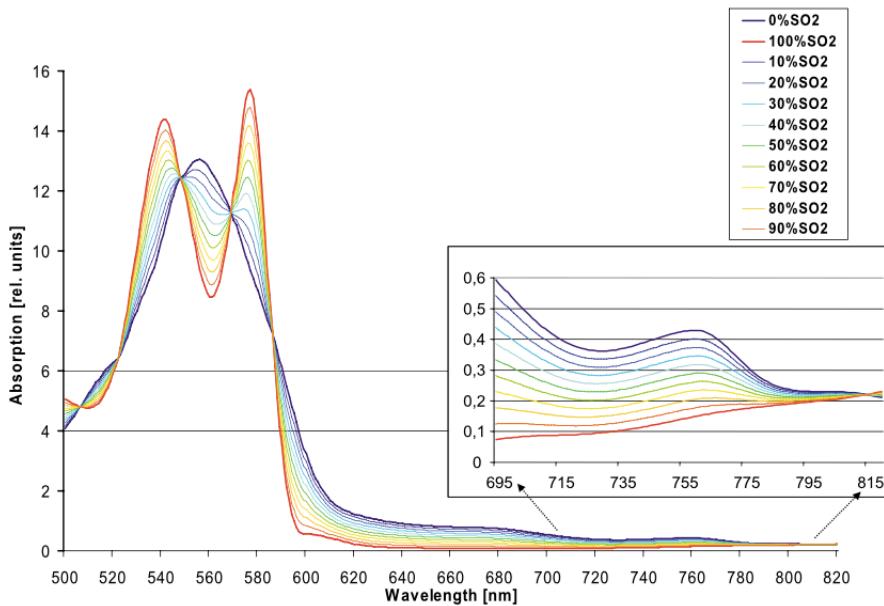
Nach Genehmigung von [77]

Das O2C ermittelt hauptsächlich Informationen über das kapillär-venösen Gebiet des Gefäßbaumes, also den abführenden Gefäßen nach Sauerstoffabgabe an die Organe bzw. Zellen. Der Grund hierfür ist, dass Licht von Gefäßen mit einem Durchmesser größer als etwa 100  $\mu\text{m}$  vollständig absorbiert wird und somit nicht zum Detektor zurückkehrt. Daher erfassen die Messungen nur die kleineren Gefäße der Mikrozirkulation – also Arteriolen, Kapillaren und Venolen. Da etwa 85 % des Blutes im kapillär-venösen Bereich zirkulieren, spiegeln die mit dem O2C-System erfassten Messwerte vor allem diesen Bereich wider. Dadurch wird die Sauerstoffversorgung lokal im Gewebe des jeweiligen Organs erfasst und nicht global [88].

### 2.5.3.1. Weißlichtspektrometrie

Die erste optische Methode, die im O2C-Gerät implementiert ist, die Weißlichtspektrometrie, dient der Detektion der sogenannten Hämoglobinparameter. Hierfür kommt eine Halogenlampe zum Einsatz, die Licht im Wellenlängenbereich von 450 bis 900 nm abstrahlt [89].

Die Messung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins erfolgt indirekt über die Farbanalyse des Blutes [90]. Wie in Abb. 14 dargestellt, verändert Blut seine Farbe und hiermit sein Absorptionsspektrum mit dem Grad der Sättigung des Hämoglobins mit Sauerstoff [91]. Wird das breitbandige Licht nun punktuell in das Gewebe eingestrahlt, so wird ein Teil dieses Lichts absorbiert und ein anderer Teil gestreut. Aufgrund der unterschiedlichen Remissionsspektren von oxygeniertem und desoxygeniertem Hämoglobin im sichtbaren Spektrum kann durch Analyse des zurückgeworfenen Lichts der Anteil des oxygenierten Hämoglobins berechnet werden. Der ermittelte Wert der Sauerstoffsättigung entspricht somit der durchschnittlichen Beladung des Hämoglobins mit Sauerstoff. Hauptsächlich wird die kapillär-venöse Sauerstoffsättigung, also die Sättigung des Hämoglobins nach Abgabe des Sauerstoffs an das Gewebe gemessen [88]. Hier ist nur noch die Menge an Sauerstoff erhalten, die im Gewebe nicht verbraucht wurde und als Reserve zur Verfügung steht - es handelt sich somit um das Gebiet, an dem am ehesten kritische Sauerstoffversorgungsparameter auftreten [88]. Im Gegensatz zur arteriellen Sauerstoffsättigung erlaubt die kapillär-venöse Sättigung Rückschlüsse auf das Gleichgewicht zwischen Sauerstoffanlieferung und -verbrauch. Die lokale SO<sub>2</sub>-Messung ist somit ein Maß zur Bestimmung des Zustandes einer lokalen Gewebehypoxie. Wiederrum im Gegensatz zur gemischt-venösen Sauerstoffsättigung spielt Shunt-Blut eine weniger große Rolle. Deshalb kann die kapillär-venöse Sauerstoffsättigung auch niedriger sein als die gemischt-venöse [91]. Der ermittelte Wert der Sauerstoffsättigung wird in Prozent (%) angegeben. Der Messbereich befindet sich hierzu bei 0 – 100% bei einer Messauflösung von +/- 1 % [88].



**Abbildung 14. Veränderungen im Absorptionsspektrum des Hämoglobins in Abhängigkeit von der Sauerstoffsättigung.**

Nach Genehmigung von [77]

Die Weißlichtspektrometrie dient zudem der Detektion des Parameters „relative Hämoglobinmenge“. Die relativen Hämoglobinmenge entspricht der Hämoglobinmenge im Messvolumen und ist ein hochpräzises Maß für die venöse Blutfüllung [90]. Sie wird direkt über die Lichtabsorption im Gewebe bestimmt. Bei einer hohen Blutmenge im beleuchteten Messvolumen absorbiert das Hämoglobin, welches den stärksten Lichtabsorber im Gewebe darstellt, mehr Licht, sodass weniger Licht den Detektor erreicht. So gibt der Parameter Auskunft über den Füllzustand der Mikrogefäß, welcher wiederum abhängig von Kapillardichte, Kapillarrecruitment und vor allem venöser Füllung ist. Damit ist die Hämoglobinmenge der entscheidende klinische Indikator zur Diagnosestellung eines venösen Staus. Die relative Hämoglobinmenge wird in der Einheit *Arbitrary Units* (A.U.) angegeben. Der Messbereich befindet sich hierzu bei 0 – 120 A.U. bei einer Messauflösung von +/- 1 A.U. [88].

Bei der Messung von SO<sub>2</sub> sowie rHb wird eine Fremdlichtkorrektur angewendet. Trotzdem reagieren die Messungen empfindlich auf externe Lichtquellen wie OP-Lampen, direktes Sonnenlicht oder Infrarot-Heizungen. Besonders in hell ausgeleuchteten Operationssälen kann es erforderlich sein, die Sonde abzudecken. Es ist entscheidend, die Sonde vor wechselnden Lichtverhältnissen zu schützen, da Fremdlicht die Qualität des Hämoglobin-Spektrums beeinträchtigen kann. Dadurch könnten ungenaue Werte für Sauerstoffsättigung und relative Hämoglobinmenge entstehen [91].

### 2.5.3.2. Laser-Doppler-Spektroskopie

Die zweite Methode, die im O2C-Gerät implementiert ist, die Laser-Doppler-Spektroskopie, wertet Bewegungsmuster der Blutbestandteile aus. Das Laserlicht kommt zum Einsatz, um Bewegung in biologischem Gewebe sichtbar zu machen. Grundlage hierfür ist der von Bonner et al. (1990) beschriebene relativistische Dopplereffekt. Das Verfahren verwendet zur Laseremission eine Halbleiterdiode mit einer Wellenlänge im nahen Infrarotbereich [89], da sich dieser Wellenlängenbereich besonders gut für das Eindringen ins Gewebe und die Wechselwirkung mit Erythrozyten eignet. Während der Laser-Doppler-Spektroskopie wird das ausgesandte Laserlicht in das Gewebe geleitet, wo es auf bewegte Erythrozyten in den mikrovaskulären Blutgefäßen trifft. Die Bewegung der roten Blutkörperchen verursacht dabei eine Frequenzverschiebung des zurückgestreuten Laserlichts [77]. Die Ausprägung dieser Frequenzverschiebung ist direkt proportional zur Geschwindigkeit der sich bewegenden Erythrozyten und wird in Hertz (Hz) erfasst [89], [90]. Der Blutfluss wird anschließend durch Multiplikation der Geschwindigkeit (*Velocity*) mit der Anzahl bewegter Erythrozyten berechnet [89]. Im klinischen Setting gibt der Blutfluss Auskunft über Ischämie oder Hyperämie [91].

Beide ermittelte Parameter, *Flow* und *Velocity*, werden in der Einheit *Arbitrary Units* (A.U.) angegeben. Für die *Velocity* gibt der Hersteller einen Messbereich von 0 – 4000 A.U. mit einer Messauflösung von +/- 1 A.U. an; Angaben zum hieraus errechneten *Flow* werden nicht gegeben [91]. Der Grund für die Einführung der relativen Einheit, die lediglich als „beliebige Einheit“ zu übersetzen ist, liegt in der Art der Signalentstehung: Die gemessenen Blutflusssignale basieren auf elektrischen Größen wie Frequenzen und Amplituden. Eine direkte Zuordnung zu klassischen physikalischen Einheiten wäre daher kompliziert, da sich daraus eine Kombination elektrischer Einheiten ergeben würde. Üblicherweise wird daher eine frei definierbare Einheit genutzt. Um Blutflusswerte in ml/min anzugeben, müssten die elektrischen Messsignale individuell für jedes Organ, bzw. für Organe mit ähnlichen optischen Eigenschaften, kalibriert werden, etwa durch Vergleich mit Methoden wie der Plethysmographie oder der Mikrosphären-Technik. Erst nach einer solchen Kalibrierung, die direkt am jeweiligen Organ erfolgen muss, könnten die Blutflussdaten in ml/min umgerechnet werden. Da bisher kein künstliches Modell existiert, das menschliches Gewebe realistisch nachbildet, wäre eine solche Kalibrierung zwingend erforderlich [88]. Dasselbe Prinzip gilt auch für die Angabe der rHb in A.U.

Die Kombination der Laser-Doppler-Spektroskopie mit der Weißlichtspektrometrie, insbesondere der Parameter  $\text{SO}_2$  und *Flow* ist von zentraler Bedeutung: Die vom O<sub>2</sub>C-System ermittelte Sauerstoffsättigung zeigt an, wie groß der Anteil von Sauerstoff beladenem Hämoglobin im kapillar-venösen Bereich des Gefäßbaumes ist. Dies ist wichtig für die Bestimmung von Gewebehypoxie. Eine erniedrigte Sauerstoffsättigung kann an einem erhöhten Verbrauch, aber auch an einem erhöhten Zufluss begründet sein. Um zu ermitteln, wieviel Sauerstoff absolut vorhanden ist, braucht man zusätzlich zur  $\text{SO}_2$  den *Flow*. Dieser gibt Auskunft über Ischämie oder Hyperämie. Erst durch die Verknüpfung von Blutfluss, also Zufluss, und kapillär-venöser Sauerstoffsättigung, also Abfluss, lässt sich die tatsächlich an das Gewebe abgegebene Sauerstoffmenge berechnen [88].

Die absolut mit dem O<sub>2</sub>C generierten Werte müssen im Hinblick auf das gemessene Organ interpretiert werden. Die folgende Tabelle 2 enthält relevante Referenzwerte:

**Tabelle 2. Referenzwerte O<sub>2</sub>C**

<b>Finger/Zeh</b>	<b>normale Werte</b>	<b>kritische Werte</b>
$\text{SO}_2$ (%)	70-90	<10
rHb (A.U.)	35-90	<15 oder >90
Flow (A.U.)	10-200	<5

**Arm/Bein**

$\text{SO}_2$ (%)	20-50	<10
rHb (A.U.)	35-90	<15 oder >90
Flow (A.U.)	10-50	<5

Aufgeführt sind die Referenzwerte der mittels O<sub>2</sub>C bestimmten Parameter an Finger und Zeh bzw. Arm und Bein.  $\text{SO}_2$ : Sauerstoffsättigung des Hämoglobins; rHb, relative Hämoglobinmenge; Flow, Blutfluss; %, Prozent; A.U., Arbitrary Units. Modifiziert nach [91].

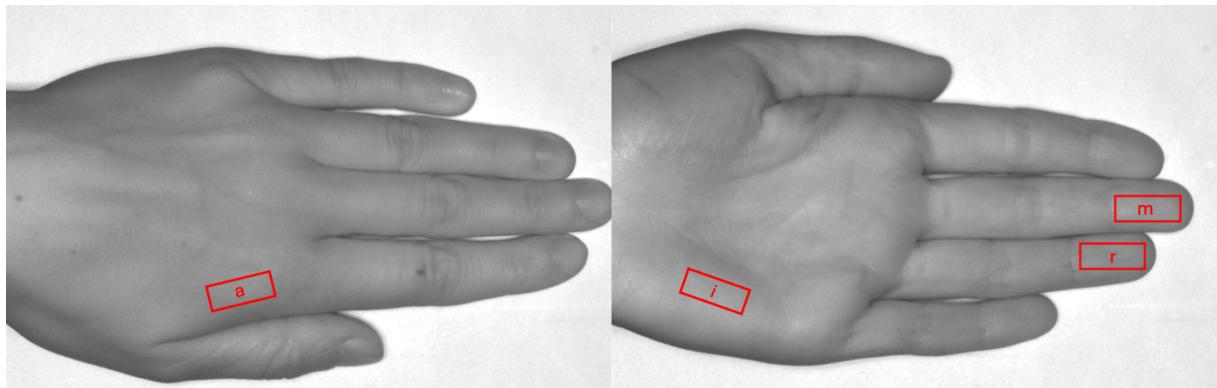
### 2.5.3.3. Messtiefen

Das O<sub>2</sub>C-System ermöglicht die Erfassung der zuvor beschriebenen Parameter in unterschiedlichen Detektionstiefen, was durch Variieren des Abstands zwischen Lichtquelle (Illumination) und Detektion realisiert wird. Hierbei lassen sich, abhängig von der Wahl des Abstands und des verwendeten Wellenlängenbereichs, Detektionstiefen von ca. 100 µm bis zu 15 mm einstellen [91].

In der vorliegenden Studie wurden mit zwei Detektionstiefen gearbeitet: eine oberflächliche Messung im Bereich von 1–2 mm und eine tiefere Messung im Bereich von 6–8 mm. Im Bereich der Leistenhaut (Messpunkt *i*, *m*, *r*) wird durch die oberflächliche Messung am ehesten der Bereich der mittleren Dermis abgebildet. Messpunkt *a* spiegelt in der oberflächlichen Messung den Bereich der unteren Dermis wider. In einer Gewebetiefe von 6-8 mm trifft man sowohl im Bereich der Leistenhaut als auch im Bereich der Felderhaut auf Sehnen bzw. Muskulatur.

### 2.5.3.4. Messpunkte

Für die Datenerfassung wurden an der nicht-dominanten Hand der Probanden vier repräsentative Messpunkte definiert. Wie in Abbildung 14 ersichtlich, umfassen diese Punkte die Handaußenfläche (*a*), die Handinnenfläche (*i*) sowie das Endglied des Mittelfingers (*m*) und des Ringfingers (*r*). Dabei wurden sowohl Areale der Leistenhaut (Messpunkte *i*, *m*, *r*) als auch der Felderhaut (Messpunkt *a*) berücksichtigt, um eine Erfassung der Heterogenität der Haut zu gewährleisten.



**Abbildung 15. Messpunkte zur Erfassung der mittels O<sub>2</sub>C erfassten Daten**

Repräsentative Darstellung der ausgewählten Messpunkte – *a*: Handaußenfläche, *i*: Handinnenfläche, *m*: Endglied des Mittelfingers, *r*: Endglied des Ringfingers

### **2.5.3.5. Sonde**

Als Sonde verwendeten wir eine Flachsonde (Typ LF2), die im Gegensatz zu senkrechten oder mikrosondenbasierten Systemen mit einem integrierten Umlenkspiegel ausgestattet ist. Diese Bauweise ermöglicht es, den Sensorkopf tangential zu den Lichtfasern an der Haut anzubringen, was eine leichtere und stabilere Fixierung sicherstellt. Im Sondenkopf sind jeweils ein Lichtwellenleiter zur Aussendung von Weiß- und Laserlicht integriert, während zwei separate Kanäle zur Detektion des rückgestreuten Weiß- bzw. Laserlichts vorgesehen sind. Dies erlaubt die gleichzeitige Erfassung der Parameter in zwei unterschiedlichen Gewebetiefen.

### **2.5.3.6. Datenverarbeitung und -Analyse**

Alle mit dem O<sub>2</sub>C-Gerät erfassten Messwerte wurden innerhalb eines Zeitraums von 10 bis 20 Sekunden sowohl grafisch als auch numerisch aufgezeichnet und gespeichert [77]. Zur Gewinnung einer präzisen Aussage über die durchschnittliche lokale Durchblutung wurde aus den gesammelten Daten ein Mittelwert über ein 10-Sekunden-Zeitfenster berechnet. Diese berechneten Durchschnittswerte wurden anschließend als Basis für die weiteren statistischen Analysen herangezogen.

## 2.6. Datenverarbeitung und Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte unter Verwendung der Software IBM SPSS Statistics 28.0 für Mac. Zur Charakterisierung der Stichprobe wurden die Variablen Geschlecht, Lebensalter, Körpergröße und Körpergewicht herangezogen.

Die Bestimmung der erforderlichen Stichprobengröße wurde mittels G\*Power 3.1 durchgeführt. Hierbei wurde ein mittleres Effektmaß von 0,25 zugrunde gelegt, welches aus vorangegangenen Referenzversuchen einer internen Studie mit topischer Stickstoffmonoxid-Behandlung abgeleitet wurde. Für den F-Test mit wiederholten, d.h. abhängigen, Messungen wurden ein Signifikanzniveau von 0,05 sowie eine statistische Power von 0,8 festgelegt. Da Messungen an sechs Zeitpunkten sowie an insgesamt vier verschiedenen Messpunkten der Hand durchgeführt wurden, wurde eine innerhalb der Probanden enge, aber zwischen den Probanden breitere Streuung unter Berücksichtigung einer Korrelation von 0,4 („correlation among repeated measurements“ = 0,4) einbezogen.

Für die statistische Analyse der mit dem O2C-System erfassten Daten wurde zunächst der Mauchly-Test auf Sphärizität angewandt, um zu überprüfen, ob die Varianzen der Differenzen zwischen den Messzeitpunkten gleich sind. Die Annahme der Sphärizität stellt eine zentrale Voraussetzung für die Durchführung einer Varianzanalyse mit Messwiederholung (ANOVA mit wiederholten Messungen) dar, da deren Verletzung zu verzerrten Testergebnissen führen kann. Wird der Mauchly-Test signifikant, so weist dies auf eine Verletzung der Sphärizitätsannahme hin, woraufhin eine Greenhouse-Geisser-Korrektur zur Anpassung der Freiheitsgrade angewendet wird. Diese Korrektur minimiert das Risiko eines Typ-I-Fehlers und führt zu konservativeren, damit statistisch genaueren Ergebnissen. Zur Untersuchung von Haupteffekten sowie Interaktionseffekten wurde somit eine Varianzanalyse mit Messwiederholung durchgeführt. Im Gegensatz zur klassischen ANOVA, die Mittelwertunterschiede zwischen unabhängigen Gruppen (Zwischensubjekteffekte) analysiert, erlaubt die ANOVA mit Messwiederholung die Untersuchung von Veränderungen innerhalb derselben Versuchspersonen über verschiedene Bedingungen und Zeitpunkte (Innersubjekteffekte).

Dabei wurden drei unabhängige Faktoren berücksichtigt:

1. Die Wasserart: Leitungswasser ( $CtI$ ) oder  $CO_2$ -haltiges Wasser ( $CO_2$ )
2. Der Messzeitpunkt: vor ( $T1$ ) oder nach ( $T2$ ) der Behandlung

3. Der Messpunkt an der Hand: *Handaußenfläche*, *Handinnenfläche*, *Mittelfinger* oder *Ringfinger*

Die abhängigen Variablen umfassten vier verschiedene Parameter:

1. Sauerstoffsättigung des Hämoglobins (SO<sub>2</sub>)
2. Relative Hämoglobinmenge (rHb)
3. Blutfluss (Flow)
4. Blutflussgeschwindigkeit (Velocity)

Jeder dieser Parameter wurde in zwei unterschiedlichen Gewebetiefen (oberflächlich und tief) analysiert, sodass separate Auswertungen pro Tiefe erfolgten. Da insgesamt acht Varianzanalysen (vier Parameter  $\times$  zwei Gewebetiefen) durchgeführt wurden, bestand die Gefahr einer Alpha-Fehlerinflation, da mit jeder zusätzlichen Analyse die Wahrscheinlichkeit steigt, fälschlicherweise einen Effekt als signifikant zu interpretieren. Um dem entgegenzuwirken, wurde das Signifikanzniveau mittels Bonferroni-Korrektur angepasst. Anstelle des üblichen Werts von 0,05 wurde daher ein korrigiertes Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05/8 = 0,00625$  festgelegt. Diese Anpassung gewährleistet, dass nur tatsächlich relevante Effekte als signifikant bewertet werden und das Risiko von Fehlinterpretationen minimiert wird.

Für die Auswertung des Zeitverlaufs wurden bei den Probanden am Messpunkt „Handaußenfläche“ zu acht definierten Zeitpunkten (0, 15, 20, 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten) die Messparameter „oberflächliche Sauerstoffsättigung“ sowie „oberflächlicher Flow“ erfasst. Die Messwerte zum Zeitpunkt 0 wurden bei allen Probanden als Referenz auf 100 normiert, sodass im weiteren Verlauf nur noch die Änderungen gegenüber diesem Ausgangswert dargestellt werden. Zur statistischen Analyse wurden für jeden Messzeitpunkt separate gepaarte t-Tests durchgeführt, um gezielt Unterschiede zwischen den Bedingungen CO<sub>2</sub> und Kontrollwasser zu untersuchen. Die Verwendung gepaarter Tests stellt dabei sicher, dass die Messwiederholungen an denselben Probanden angemessen berücksichtigt werden und somit systematische Verzerrungen vermieden werden, die bei einem unpaaren Testansatz auftreten könnten. Da durch die Durchführung von acht Einzeltests das Problem der multiplen Testung entsteht, wurde das Gesamtniveau des  $\alpha$ -Fehlers mittels der Holm-Sidak-Methode kontrolliert. Diese Post-hoc-Korrektur minimiert das Risiko von Typ-I-Fehlern und sorgt dafür, dass das Signifikanzniveau von 0,05 über alle durchgeführten Tests hinweg eingehalten wird.

## 3. Ergebnisse

### 3.1. Beschreibung der Stichprobe

Insgesamt erklärten sich 30 Personen bereit, an den Untersuchungen im Rahmen der Studie teilzunehmen. Alle 30 (100 %) Probanden wurden in die Studie eingeschlossen. Die Stichprobe setzte sich aus 16 weiblichen Teilnehmern (63,3 %) und 11 männlichen Teilnehmern (36,7 %) zusammen. Das Alter der Probanden variierte zwischen 18 und 56 Jahren, mit einem Mittelwert von  $M = 26,03$  Jahren.

**Tabelle 3. Beschreibung der Stichprobe anhand von Alter, Größe und Gewicht**

	Mittelwert	Std.-Abw.	min.	Max.
Alter (Jahre)	26,03	8,05	18	56
Größe (cm)	174,93	10,91	158	195
Gewicht (kg)	70,06	15,36	48	94

Std.-Abw.: Standartabweichung; min: Minimum; max.: Maximum; cm: Zentimeter; kg: Kilogramm.

### 3.2. Interferenzstatistik

#### 3.2.1. Messgröße „oberflächlich SO<sub>2</sub>“

Zur Überprüfung, ob die Annahme der Sphärizität für die Innersubjektfaktoren sowie deren Interaktionen erfüllt war, wurde der Mauchly-Test auf Sphärizität durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass für die Faktoren *Wasserart* ( $W = 1,000$ ,  $\chi^2(0) = 0,000$ ,  $p = n/a$ ) und *Messzeitpunkt* ( $W = 1,000$ ,  $\chi^2(0) = 0,000$ ,  $p = n/a$ ) sowie für die Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Messzeitpunkt* ( $W = 1,000$ ,  $\chi^2(0) = 0,000$ ,  $p = n/a$ ) die Sphärizitätsannahme nicht verletzt wurde.

Für den Faktor *Messpunkt* hingegen wurde eine signifikante Verletzung der Sphärizitätsannahme festgestellt ( $W = 0,572$ ,  $\chi^2(5) = 15,465$ ,  $p = 0,009$ ). Auch die Interaktionen *Wasserart*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,523$ ,  $\chi^2(5) = 17,982$ ,  $p = 0,003$ ), *Messzeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,288$ ,  $\chi^2(5) = 34,464$ ,  $p < 0,001$ ) sowie *Wasserart*  $\times$  *Messzeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,243$ ,  $\chi^2(5) = 39,170$ ,  $p < 0,001$ ) zeigten signifikante Abweichungen von der Sphärizität. Daher wurden für diese Faktoren in der weiteren Analyse Freiheitsgrade mittels der Greenhouse-

Geisser-Korrektur ( $\epsilon = 0,521\text{--}0,739$ ) angepasst, um Verzerrungen in den Innersubjekteffekten zu vermeiden.

Die anschließende Analyse der Innersubjekteffekte ergab mehrere signifikante Haupteffekte: Die *Wasserart* (Leitungswasser vs. CO<sub>2</sub>-haltiges Wasser) hatte einen hochsignifikanten Einfluss auf die Messwerte ( $F(1,29) = 31,201, p < 0,001$ ). Auch der *Messzeitpunkt* zeigte einen signifikanten Effekt ( $F(1,29) = 4,746, p = 0,038$ ), wobei dieser Wert unter Anwendung der Greenhouse-Geisser-Korrektur berechnet wurde. Zudem hatte der *Messpunkt* – also die spezifische Stelle an der Hand, an der die Messung durchgeführt wurde – einen hochsignifikanten Einfluss auf die Ergebnisse ( $F(3,87) = 102,526, p < 0,001$ ), was darauf hindeutet, dass die gemessenen Werte in Abhängigkeit vom untersuchten Bereich der Hand variieren.

Neben diesen Haupteffekten konnten auch signifikante Interaktionseffekte festgestellt werden. Insbesondere zeigte sich eine hochsignifikante Wechselwirkung zwischen Wasserart und Messzeitpunkt ( $F(1,29) = 27,526, p < 0,001$ ), was darauf hindeutet, dass die Wirkung der Wasserart sich im Verlauf der Zeit verändert. Darüber hinaus ergab die Analyse eine signifikante dreifache Interaktion zwischen Wasserart, Messzeitpunkt und Messpunkt ( $F(3,87) = 16,066, p < 0,001$ ). Dies bedeutet, dass die Effekte von Wasserart und Messzeitpunkt nicht für alle Messpunkte gleich ausfielen, sondern von der jeweiligen Stelle an der Hand abhängig waren.

Um die genaue Natur dieser Unterschiede zu bestimmen, wurden anschließend paarweise Vergleiche durchgeführt. Die detaillierten Ergebnisse dieser Vergleiche sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

**Tabelle 4. Paarweise Vergleiche – SO<sub>2</sub> oberflächlich**

			MD	SE	p.
Total	Ctl	ΔT	8,829	2,152	0,000
	CO <sub>2</sub>	ΔT	-13,405	2,560	0,000
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	1,081	1,521	0,483
Außen	Ctl	ΔT	9,043	4,483	0,053
	CO <sub>2</sub>	ΔT	-34,617	5,110	0,000
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	3,916	3,436	0,264
Innen	Ctl	ΔT	3,712	2,934	0,216
	CO <sub>2</sub>	ΔT	-10,675	3,463	0,004
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	-0,404	2,674	0,881
Mittelfinger	Ctl	ΔT	10,704	2,740	0,001
	CO <sub>2</sub>	ΔT	-4,526	2,656	0,099
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	1,483	2,480	0,555
Ringfinger	Ctl	ΔT	11,858	2,894	0,000
	CO <sub>2</sub>	ΔT	-3,800	1,564	0,022
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	-0,670	1,689	0,695

Total: Mittelwert über alle Messpunkte; Ctl: Control; CO<sub>2</sub>: Kohlenstoffdioxid; T1: prä-Messzeitpunkt vor der Behandlung; T2: post-Messzeitpunkt nach der Behandlung; ΔT: T1–T2; MD: Mittelwertdifferenz; SE: Standardfehler; p: Signifikanzwert.

Gemittelt über alle Messpunkte („Total“) zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* eine signifikante Veränderung der oberflächlichen Sauerstoffsättigung zwischen den Zeitpunkten T1 und T2 ( $p < 0,001$ ) mit einer positiven Mittelwertdifferenz von 8,829. Diese Differenz weist darauf hin, dass die Sauerstoffsättigung im Zeitverlauf abnahm. In der Wasserart *CO<sub>2</sub>* hingegen wurde eine signifikante Zunahme der Sauerstoffsättigung festgestellt ( $p < 0,001$ ), erkennbar an einer negativen Mittelwertdifferenz von -13,405. Zum Zeitpunkt T1 zeigten sich über alle Messpunkte gemittelt keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Wasserarten ( $p = 0,483$ ).

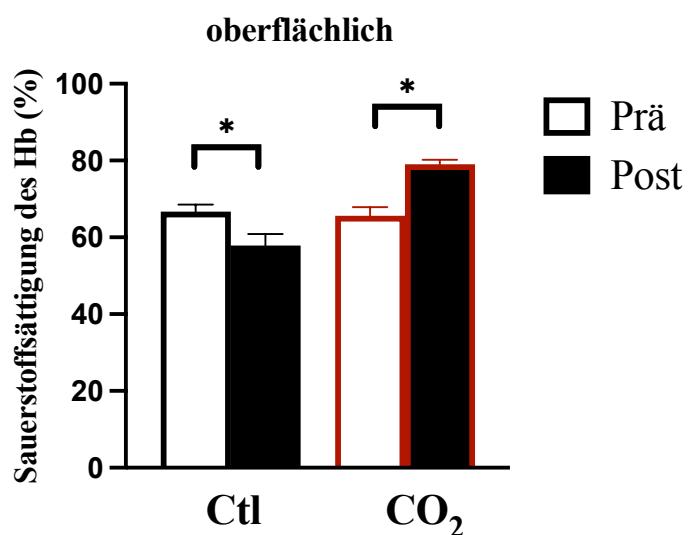
Auf Ebene der einzelnen Messpunkte ergaben sich folgende Befunde: Am Messpunkt „Handaußenfläche“ zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* über die Zeit eine tendenzielle Abnahme ( $p = 0,053$ ), die jedoch das festgelegte Signifikanzniveau nicht erreichte. In der Wasserart *CO<sub>2</sub>* wurde hingegen eine signifikante Zunahme der Sauerstoffsättigung zwischen

T1 und T2 beobachtet ( $p < 0,001$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten ( $p = 0,264$ ).

Am Messpunkt „Handinnenfläche“ ergab sich innerhalb der Wasserart *Ctl* keine signifikante Veränderung über die Zeit ( $p = 0,216$ ), während in der Wasserart *CO<sub>2</sub>* eine signifikante Zunahme festgestellt wurde ( $p = 0,004$ ). Auch hier war zum Zeitpunkt T1 kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten nachweisbar ( $p = 0,881$ ).

Am Messpunkt „Mittelfinger“ zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* eine signifikante Abnahme der Sauerstoffsättigung ( $p = 0,001$ ). In der Wasserart *CO<sub>2</sub>* ließ sich zwar eine Zunahme beobachten, diese erreichte jedoch keine statistische Signifikanz ( $p = 0,099$ ). Auch hier bestand zum Zeitpunkt T1 kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten ( $p = 0,555$ ).

Am Messpunkt „Ringfinger“ zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* eine signifikante Abnahme der Sauerstoffsättigung ( $p < 0,001$ ), während in der Wasserart *CO<sub>2</sub>* keine signifikante Veränderung festgestellt wurde ( $p = 0,022$ ). Zum Zeitpunkt T1 lag auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den Bedingungen vor ( $p = 0,695$ ).



**Figure 1. Auswirkungen des Faktors “Wasserart” auf die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins, gemittelt über alle Messpunkte.**

Ctl: Control; CO<sub>2</sub>: Kohlenstoffdioxid; Hb: Hämoglobin

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Effekte der Wasserart auf die oberflächliche Sauerstoffsättigung sowohl von der behandelten Wasserart als auch vom spezifischen Messpunkt abhängig sind. Während in der Kontrollgruppe *Ctl* eine tendenzielle Abnahme der

Sauerstoffsättigung im Zeitverlauf zu beobachten war, führte die CO<sub>2</sub>-Therapie zu einer tendenziellen Zunahme. Gemittelt über alle Messpunkte waren diese Tendenzen signifikant.

### 3.2.2. Messgröße „oberflächlich rHb“

Zur Überprüfung, ob die Annahme der Sphärizität für die Innersubjektfaktoren sowie deren Interaktionen erfüllt war, wurde der Mauchly-Test durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass für die Faktoren *Wasserart* ( $W = 1,000, \chi^2(0) = 0,000, p = n/a$ ) und *Zeitpunkt* ( $W = 1,000, \chi^2(0) = 0,000, p = n/a$ ) die Sphärizitätsannahme nicht verletzt wurde. Auch die Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt* erfüllte die Sphärizitätsvoraussetzung ( $W = 1,000, \chi^2(0) = 0,000, p = n/a$ ). Jedoch wurde für den Faktor *Messpunkt* eine signifikante Verletzung der Sphärizitätsannahme festgestellt ( $W = 0,496, \chi^2(5) = 19,449, p = 0,002$ ). Für die Interaktionen *Wasserart*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,834, \chi^2(5) = 5,034, p = 0,412$ ), *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,855, \chi^2(5) = 4,356, p = 0,500$ ) sowie *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,772, \chi^2(5) = 7,177, p = 0,208$ ) war die Sphärizitätsannahme hingegen nicht verletzt. Aufgrund der signifikanten Sphärizitätsverletzung beim Faktor *Messpunkt* wurden in der weiteren Analyse Korrekturen der Freiheitsgrade mittels der Greenhouse-Geisser-Methode ( $\varepsilon = 0,694$ ) angewendet, um Verzerrungen in den Innersubjekteffekten zu vermeiden.

Die statistische Analyse der Innersubjekteffekte ergab folgende Ergebnisse: Der Faktor *Wasserart* (Leitungswasser vs. CO<sub>2</sub>-haltiges Wasser) zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die Messwerte ( $F(1,29) = 0,234, p = 0,632$ ). Der Faktor *Zeitpunkt* wies einen signifikanten Effekt auf ( $F(1,29) = 12,965, p = 0,001$ ) – dieser Wert wurde unter Anwendung der Greenhouse-Geisser-Korrektur berechnet. Auch der Faktor *Messpunkt*, also die spezifische Stelle an der Hand, an der die Messung durchgeführt wurde, hatte einen hochsignifikanten Einfluss auf die Ergebnisse ( $F(3,87) = 17,630, p < 0,001$ ), was darauf hinweist, dass die gemessenen Werte je nach untersuchtem Bereich der Hand variieren.

Darüber hinaus wurden signifikante Interaktionseffekte festgestellt: Eine hochsignifikante Wechselwirkung zwischen *Wasserart* und *Zeitpunkt* ( $F(1,29) = 14,827, p = 0,001$ ) deutet darauf hin, dass die Wirkung der Wasserart sich im Zeitverlauf ändert. Eine signifikante Interaktion zwischen *Wasserart* und *Messpunkt* ( $F(3,87) = 4,205, p = 0,008$ ) sowie zwischen *Zeitpunkt* und *Messpunkt* ( $F(3,87) = 9,396, p < 0,001$ ) zeigt, dass die Effekte der Faktoren in Abhängigkeit vom spezifischen Messpunkt unterschiedlich ausfallen. Die dreifache Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* erreichte hingegen keine Signifikanz ( $F(3,87) = 2,027, p = 0,116$ ).

Um die genaue Natur dieser Unterschiede zu bestimmen, wurden anschließende paarweise Vergleiche durchgeführt, die in Tabelle 5 detailliert dargestellt sind.

**Tabelle 5. Paarweise vergleiche - rHb oberflächlich**

			MD	SE	p.
Total	Ctl	ΔT	7,011	1,453	0,001
	CO <sub>2</sub>	ΔT	0,871	1,248	0,491
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	2,345	1,470	0,122
Außen	Ctl	ΔT	6,303	2,210	0,008
	CO <sub>2</sub>	ΔT	-4,576	1,938	0,025
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	2,906	1,952	0,147
Innen	Ctl	ΔT	3,106	1,542	0,053
	CO <sub>2</sub>	ΔT	-2,184	1,841	0,245
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	0,147	1,445	0,920
Mittelfinger	Ctl	ΔT	8,545	2,010	0,001
	CO <sub>2</sub>	ΔT	4,988	1,775	0,009
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	1,449	1,861	0,443
Ringfinger	Ctl	ΔT	10,091	2,440	0,001
	CO <sub>2</sub>	ΔT	5,255	2,039	0,015
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	4,877	2,315	0,044

Total: Mittelwert über alle Messpunkte; Ctl: Control; CO<sub>2</sub>: Kohlenstoffdioxid; T1: prä-Messzeitpunkt vor der Behandlung; T2: post-Messzeitpunkt nach der Behandlung; ΔT: T1-T2; MD: Mittelwertdifferenz; SE: Standardfehler; p: Signifikanzwert.

Gemittelt über alle Messpunkte („Total“) zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* eine signifikante Abnahme der oberflächlichen relativen Hämoglobinmenge zwischen T1 und T2 (p < 0,001) mit einer positiven Mittelwertdifferenz von 7,011. Innerhalb der Wasserart *CO<sub>2</sub>* hingegen ergab sich keine signifikante Veränderung (p = 0,491). Zum Zeitpunkt T1 bestand weder über alle Messpunkte gemittelt noch an den einzelnen Messpunkten ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten (p = 0,122).

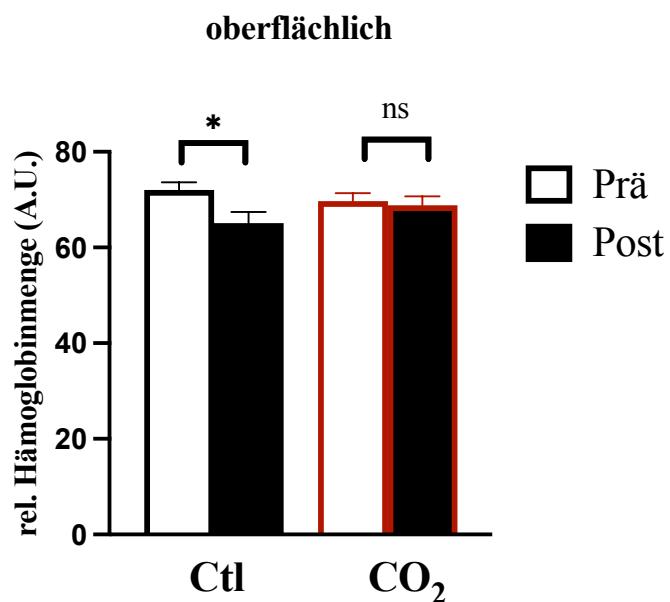
Auf Ebene der einzelnen Messpunkte ergaben sich folgende Ergebnisse: Am Messpunkt „Handaußenfläche“ zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* eine tendenzielle Abnahme über die Zeit, die jedoch das Signifikanzniveau nicht erreichte (p = 0,008). Innerhalb der Wasserart *CO<sub>2</sub>*

wurde hingegen eine Tendenz zur Zunahme der relativen Hämoglobinmenge festgestellt ( $p = 0,025$ ). Auch hier lag zum Zeitpunkt T1 kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten vor ( $p = 0,147$ ).

Am Messpunkt „Handinnenfläche“ ergaben sich weder innerhalb der Wasserart *Ctl* noch innerhalb der Wasserart  $CO_2$  signifikante Veränderungen zwischen T1 und T2 ( $p = 0,053$  bzw.  $p = 0,245$ ). Zum Zeitpunkt T1 war kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten erkennbar ( $p = 0,920$ ).

Am Messpunkt „Mittelfinger“ zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* eine signifikante Abnahme der relativen Hämoglobinmenge über die Zeit ( $p < 0,001$ ), während in der Wasserart  $CO_2$  keine signifikante Veränderung festgestellt werden konnte ( $p = 0,009$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten ( $p = 0,443$ ).

Am Messpunkt „Ringfinger“ zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* ebenfalls eine signifikante Abnahme der relativen Hämoglobinmenge über die Zeit ( $p < 0,001$ ), während in der Wasserart  $CO_2$  keine signifikante Veränderung festgestellt wurde ( $p = 0,015$ ). Zum Zeitpunkt T1 lag am Messpunkt „Ringfinger“ kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten vor ( $p = 0,044$ ).



**Figure 2. Auswirkungen des Faktors “Wasserart” auf die oberflächliche relative Hämoglobinmenge, gemittelt über alle Messpunkte.**

Ctl: Control;  $CO_2$ : Kohlenstoffdioxid; A.U.: Arbitrary Unit

Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass die Veränderung der oberflächlichen relativen Hämoglobinmenge im Zeitverlauf sowohl von der Wasserart als auch vom spezifischen Messpunkt abhängt. Während in der Kontrollgruppe (*Ctl*) eine konsistente Abnahme der rHb beobachtet wurde, blieben die Veränderungen in der CO<sub>2</sub>-Gruppe überwiegend nicht signifikant.

### 3.2.3. Messgröße „oberflächlich Flow“

Zur Überprüfung, ob die Annahme der Sphärizität für die Innersubjektfaktoren sowie deren Interaktionen erfüllt war, wurde zunächst der Mauchly-Test durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass für den Faktor *Wasserart* ( $W = 1,000$ ,  $\chi^2(0) = 0$ ,  $p = \text{n/a}$ ), für die Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt* ( $W = 1,000$ ,  $\chi^2(0) = 0$ ,  $p = \text{n/a}$ ) sowie für die Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,773$ ,  $\chi^2(5) = 7,147$ ,  $p = 0,210$ ) und die dreifache Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,698$ ,  $\chi^2(5) = 9,970$ ,  $p = 0,076$ ) die Sphärizitätsannahme nicht verletzt wurde. Im Gegensatz dazu wies der Faktor *Messpunkt* eine signifikante Verletzung der Sphärizität auf ( $W = 0,286$ ,  $\chi^2(5) = 34,673$ ,  $p < 0,001$ ) ebenso wie die Interaktion *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,493$ ,  $\chi^2(5) = 19,591$ ,  $p = 0,002$ ). Für diese Faktoren wurden daher in den weiteren Analysen Greenhouse-Geisser-Korrekturen ( $\varepsilon = 0,589$  bis  $0,773$ ) angewendet, um Verzerrungen in den Innersubjekteffekten zu vermeiden.

Die anschließenden Tests der Innersubjekteffekte ergaben signifikante Haupteffekte für: *Wasserart* ( $F(1,29) = 6,750$ ,  $p = 0,015$ ), *Zeitpunkt* ( $F(1,29) = 21,465$ ,  $p < 0,001$ ) sowie *Messpunkt* ( $F(3,87) = 37,798$ ,  $p < 0,001$ ).

Die Interaktion zwischen *Wasserart* und *Zeitpunkt* war hingegen nicht signifikant ( $F(1,29) = 0,258$ ,  $p = 0,615$ ), während sowohl die Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Messpunkt* ( $F(3,87) = 2,937$ ,  $p = 0,038$ ) als auch die Interaktion *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $F(3,87) = 10,684$ ,  $p < 0,001$ ) signifikante Effekte zeigten. Die dreifache Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* fiel nicht signifikant aus ( $F(3,87) = 0,202$ ,  $p = 0,895$ ).

Um die spezifischen Unterschiede zwischen den Bedingungen weiter zu untersuchen, wurden Post-hoc-Analysen durchgeführt. Die detaillierten Ergebnisse dieser paarweisen Vergleiche sind in Tabelle 6 dargestellt.

**Tabelle 6. Paarweise vergleiche - Flow oberflächlich**

			MD	SE	p.
Total	Ctl	$\Delta T$	42,559	13,403	0,004
	$CO_2$	$\Delta T$	50,921	12,619	0,000
	T1	Ctl- $CO_2$	19,155	12,091	0,124
Außen	Ctl	$\Delta T$	3,027	4,421	0,499
	$CO_2$	$\Delta T$	-0,350	2,610	0,894
	T1	Ctl- $CO_2$	7,824	4,450	0,089
Innen	Ctl	$\Delta T$	53,009	19,452	0,011
	$CO_2$	$\Delta T$	67,341	19,570	0,002
	T1	Ctl- $CO_2$	18,458	20,300	0,371
Mittelfinger	Ctl	$\Delta T$	59,186	17,142	0,002
	$CO_2$	$\Delta T$	70,719	17,963	0,000
	T1	Ctl- $CO_2$	9,240	19,799	0,644
Ringfinger	Ctl	$\Delta T$	55,015	24,100	0,030
	$CO_2$	$\Delta T$	65,972	18,935	0,002
	T1	Ctl- $CO_2$	41,098	20,613	0,056

Total: Mittelwert über alle Messpunkte; Ctl: Control;  $CO_2$ : Kohlenstoffdioxid; T1: prä-Messzeitpunkt vor der Behandlung; T2: post-Messzeitpunkt nach der Behandlung;  $\Delta T$ : T1-T2; MD: Mittelwertdifferenz; SE: Standardfehler; p: Signifikanzwert.

Gemittelt über alle Messpunkte zeigte sich, dass der oberflächliche Blutfluss innerhalb der Wasserart *Ctl* zwischen T1 und T2 signifikant abnahm ( $p = 0,003$ ). Auch innerhalb der Wasserart *CO<sub>2</sub>* wurde eine signifikante Abnahme des Flows festgestellt ( $p < 0,001$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten ( $p = 0,124$ ).

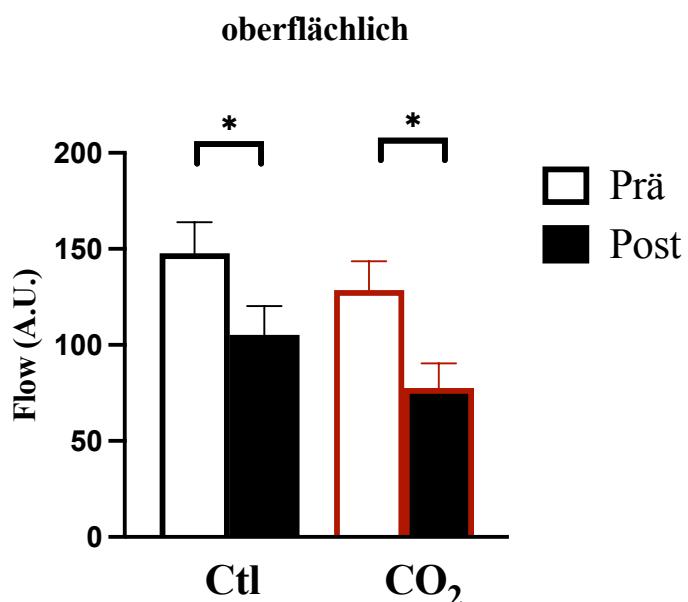
Auf Ebene der einzelnen Messpunkte ergaben sich folgende Ergebnisse: Am Messpunkt „Handaußenfläche“ zeigten sich innerhalb der Wasserart *Ctl* sowie innerhalb der Wasserart *CO<sub>2</sub>* keine signifikanten Veränderungen über die Zeit ( $p = 0,026$  bzw.  $p = 0,278$ ), und auch zum Zeitpunkt T1 bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten ( $p = 0,572$ ).

Am Messpunkt „Handinnenfläche“ wurde innerhalb der Wasserart *Ctl* eine signifikante Abnahme des Flows über die Zeit festgestellt ( $p = 0,004$ ); auch innerhalb der Wasserart *CO<sub>2</sub>*

trat eine signifikante Abnahme auf ( $p = 0,002$ ). Zum Zeitpunkt T1 war der Unterschied zwischen den Wasserarten nicht signifikant ( $p = 0,920$ ).

Am Messpunkt „Mittelfinger“ zeigte sich eine signifikante Abnahme des Flows sowohl innerhalb der Wasserart *Ctl* ( $p < 0,001$ ) als auch innerhalb der Wasserart  $CO_2$  ( $p < 0,001$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten ( $p = 0,644$ ).

Am Messpunkt „Ringfinger“ hingegen zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* keine signifikante Veränderung über die Zeit ( $p = 0,013$ ), während innerhalb der Wasserart  $CO_2$  eine signifikante Abnahme des Flows beobachtet wurde ( $p = 0,001$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand am Messpunkt „Ringfinger“ kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten ( $p = 0,056$ ).



**Figure 3. Auswirkungen des Faktors “Wasserart” auf den oberflächlichen Blutfluss, gemittelt über alle Messpunkte.**

Ctl: Control;  $CO_2$ : Kohlenstoffdioxid; A.U.: Arbitrary Unit

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Veränderung des oberflächlichen Blutflusses sowohl von der Wasserart als auch vom Messpunkt abhängig ist. Gemittelt über alle Messpunkte zeigte sich sowohl in der Wasserart *Ctl* sowie  $CO_2$  eine signifikante Abnahme des oberflächlichen Blutflusses.

### 3.2.4. Messgröße “oberflächlich Velocity”

Der Mauchly-Test auf Sphärizität ergab, dass die Annahme der Sphärizität für die Faktoren *Wasserart* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ), *Zeitpunkt* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ), die Interaktion *Wasserart*  $\times$

*Zeitpunkt* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ), *Wasserart*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,716$ ,  $p = 0,100$ ) sowie die dreifache Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,704$ ,  $p = 0,084$ ) nicht verletzt wurde. Für den Faktor *Messpunkt* ( $W = 0,245$ ,  $\chi^2(5) = 39,037$ ,  $p < 0,001$ ) sowie für die Interaktion *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,505$ ,  $\chi^2(5) = 18,923$ ,  $p = 0,002$ ) trat hingegen eine signifikante Verletzung der Sphärizitätsannahme auf. Daher wurden für diese Faktoren in den nachfolgenden Analysen Greenhouse-Geisser-Korrekturen ( $\epsilon \approx 0,567$  bis  $0,752$ ) angewendet.

Die Analyse der Innersubjekteffekte ergab signifikante Haupteffekte für: *Wasserart* ( $F(1,29) = 6,750$ ,  $p = 0,015$ ), *Zeitpunkt* ( $F(1,29) = 21,465$ ,  $p < 0,001$ ) sowie *Messpunkt* ( $F(3,87) = 37,798$ ,  $p < 0,001$ ).

Die Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt* war nicht signifikant ( $F(1,29) = 0,258$ ,  $p = 0,615$ ), während sowohl die Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Messpunkt* ( $F(3,87) = 2,937$ ,  $p = 0,038$ ) als auch die Interaktion *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $F(3,87) = 10,684$ ,  $p < 0,001$ ) signifikante Effekte zeigten. Die dreifache Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* war nicht signifikant ( $F(3,87) = 0,202$ ,  $p = 0,895$ ).

Zur weiteren Aufschlüsselung dieser Befunde wurden Post-hoc-Analysen durchgeführt, deren Ergebnisse in Tabelle 7 dargestellt sind.

**Tabelle 7. Paarweise vergleiche - Velocity oberflächlich**

			MD	SE	p.
Total	Ctl	$\Delta T$	5,572	1,782	0,004
	$CO_2$	$\Delta T$	6,258	1,729	0,001
	T1	Ctl- $CO_2$	3,618406	1,688508	0,041
Außen	Ctl	$\Delta T$	-0,730	0,991	0,468
	$CO_2$	$\Delta T$	0,066	0,899	0,942
	T1	Ctl- $CO_2$	1,758	0,807	0,038
Innen	Ctl	$\Delta T$	7,793	2,409	0,003
	$CO_2$	$\Delta T$	8,533	2,759	0,004
	T1	Ctl- $CO_2$	4,141	2,739	0,141
Mittelfinger	Ctl	$\Delta T$	8,113	2,372	0,002
	$CO_2$	$\Delta T$	8,396	2,377	0,001
	T1	Ctl- $CO_2$	2,075	2,863	0,474
Ringfinger	Ctl	$\Delta T$	7,114	3,015	0,025
	$CO_2$	$\Delta T$	8,039	2,390	0,002
	T1	Ctl- $CO_2$	6,500	2,630	0,020

Total: Mittelwert über alle Messpunkte; Ctl: Control;  $CO_2$ : Kohlenstoffdioxid; T1: prä-Messzeitpunkt vor der Behandlung; T2: post-Messzeitpunkt nach der Behandlung;  $\Delta T$ : T1-T2; MD: Mittelwertdifferenz; SE: Standardfehler; p: Signifikanzwert.

Gemittelt über alle Messpunkte zeigte sich, dass die Blutflussgeschwindigkeit innerhalb der Wasserart *Ctl* zwischen T1 und T2 signifikant abnahm ( $p = 0,004$ ; MD = 5,572). Ebenso wurde innerhalb der Wasserart *CO<sub>2</sub>* eine signifikante Abnahme beobachtet ( $p = 0,001$ ; MD = 6,258). Der Vergleich der Wasserarten zum Zeitpunkt T1 ergab keinen signifikanten Unterschied ( $p = 0,041$ ).

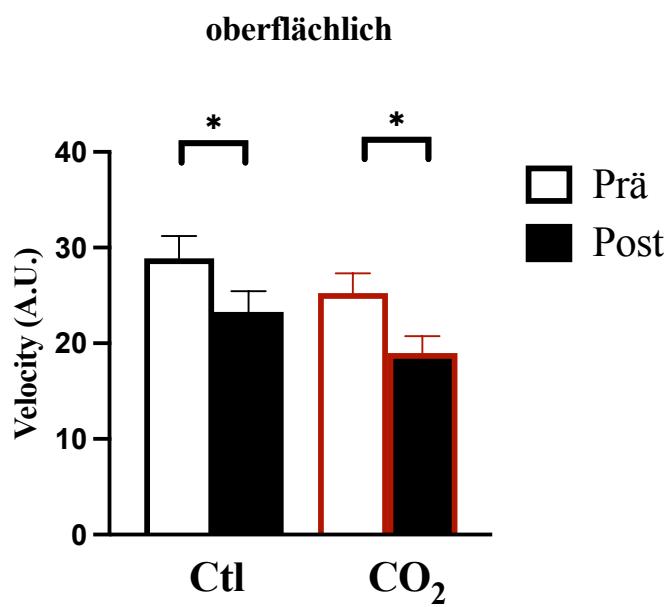
Auf Ebene der einzelnen Messpunkte zeigten sich folgende Ergebnisse: Am Messpunkt „Handaußenfläche“ traten innerhalb der Wasserart *Ctl* sowie innerhalb der Wasserart *CO<sub>2</sub>* über die Zeit keine signifikanten Veränderungen auf ( $p = 0,468$  bzw.  $p = 0,942$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten ( $p = 0,038$ ).

Am Messpunkt „Handinnenfläche“ wurde innerhalb der Wasserart *Ctl* eine signifikante Abnahme der Blutflussgeschwindigkeit festgestellt ( $p = 0,003$ ; MD = 7,793), ebenso wie

innerhalb der Wasserart  $CO_2$  ( $p = 0,004$ ;  $MD = 8,533$ ). Der Vergleich der Wasserarten zum Zeitpunkt T1 ergab keinen signifikanten Unterschied ( $p = 0,141$ ).

Am Messpunkt „Mittelfinger“ zeigte sich sowohl innerhalb der Wasserart  $Ctl$  eine signifikante Abnahme der Blutflussgeschwindigkeit ( $p = 0,002$ ;  $MD = 8,113$ ) als auch innerhalb der Wasserart  $CO_2$  ( $p = 0,001$ ;  $MD = 8,396$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Wasserarten ( $p = 0,474$ ;  $MD = 2,075$ ).

Am Messpunkt „Ringfinger“ wurde innerhalb der Wasserart  $Ctl$  keine signifikante Veränderung festgestellt ( $p = 0,025$ ;  $MD = 7,114$ ), während innerhalb der Wasserart  $CO_2$  eine signifikante Abnahme der Blutflussgeschwindigkeit beobachtet wurde ( $p = 0,002$ ;  $MD = 8,039$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten ( $p = 0,020$ ;  $MD = 6,500$ ).



**Figure 4. Auswirkungen des Faktors “Wasserart” auf die oberflächliche Blutflussgeschwindigkeit gemittelt über alle Messpunkte.**

Ctl: Control;  $CO_2$ : Kohlenstoffdioxid; A.U.: Arbitrary Unit

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Veränderung der Blutflussgeschwindigkeit sowohl von der Wasserart als auch vom spezifischen Messpunkt abhängig ist. Gemittelt über alle Messpunkte zeigte sich sowohl in der Wasserart  $Ctl$  sowie  $CO_2$  eine signifikante Abnahme der oberflächlichen Blutflussgeschwindigkeit.

### 3.2.5. Messgröße „tief SO<sub>2</sub>“

Der Mauchly-Test auf Sphärizität zeigte, dass die Annahme der Sphärizität für Wasserart ( $W = 1,000$ ,  $p = n/a$ ), Zeitpunkt ( $W = 1,000$ ,  $p = n/a$ ) und die Interaktion Wasserart  $\times$  Zeitpunkt ( $W = 1,000$ ,  $p = n/a$ ) nicht verletzt wurde. Für die Faktoren Messpunkt ( $W = 0,095$ ,  $p < 0,001$ ), Wasserart  $\times$  Messpunkt ( $W = 0,088$ ,  $p < 0,001$ ), Zeitpunkt  $\times$  Messpunkt ( $W = 0,361$ ,  $p < 0,001$ ) sowie die dreifache Interaktion Wasserart  $\times$  Zeitpunkt  $\times$  Messpunkt ( $W = 0,326$ ,  $p < 0,001$ ) trat hingegen eine signifikante Verletzung auf. Daher wurden für diese Faktoren Greenhouse-Geisser-Korrekturen ( $\varepsilon \approx 0,430\text{--}0,645$ ) angewendet.

Die Tests der Innersubjekteffekte ergaben keine signifikanten Haupteffekte für Wasserart ( $F(1,29) = 1,187$ ,  $p = 0,285$ ) und Zeitpunkt ( $F(1,29) = 3,909$ ,  $p = 0,058$ ), jedoch einen hochsignifikanten Effekt für Messpunkt ( $F(3,87) = 47,846$ ,  $p < 0,001$ ).

Die Interaktionen Wasserart  $\times$  Zeitpunkt ( $F(1,29) = 0,194$ ,  $p = 0,663$ ), Wasserart  $\times$  Messpunkt ( $F(3,87) = 0,197$ ,  $p = 0,898$ ) sowie Zeitpunkt  $\times$  Messpunkt ( $F(3,87) = 1,446$ ,  $p = 0,235$ ) waren nicht signifikant. Die dreifache Interaktion Wasserart  $\times$  Zeitpunkt  $\times$  Messpunkt hingegen erreichte Signifikanz ( $F(3,87) = 5,825$ ,  $p = 0,001$ ).

Zur genaueren Aufschlüsselung dieser Befunde wurden Post-hoc-Analysen durchgeführt, deren Ergebnisse in Tabelle 8 dargestellt sind.

**Tabelle 8. Paarweise Vergleiche - SO<sub>2</sub> tief**

			MD	SE	p.
Total	Ctl	ΔT	3,083	3,136	<b>0,334</b>
	CO <sub>2</sub>	ΔT	5,035	2,902	<b>0,093</b>
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	-3,121	2,934	<b>0,296</b>
Außen	Ctl	ΔT	5,305	3,712	<b>0,164</b>
	CO <sub>2</sub>	ΔT	-4,005	3,775	<b>0,297</b>
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	1,366	3,250	<b>0,677</b>
Innen	Ctl	ΔT	3,832	3,352	<b>0,262</b>
	CO <sub>2</sub>	ΔT	5,987	2,781	<b>0,040</b>
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	-2,303	2,201	<b>0,304</b>
Mittelfinger	Ctl	ΔT	1,636	4,531	<b>0,721</b>
	CO <sub>2</sub>	ΔT	9,477	3,282	<b>0,007</b>
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	-5,335	4,842	<b>0,280</b>
Ringfinger	Ctl	ΔT	1,560	4,662	<b>0,740</b>
	CO <sub>2</sub>	ΔT	8,682	3,301	<b>0,014</b>
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	-6,213	4,446	<b>0,173</b>

Total: Mittelwert über alle Messpunkte; Ctl: Control; CO<sub>2</sub>: Kohlenstoffdioxid; T1: prä-Messzeitpunkt vor der Behandlung; T2: post-Messzeitpunkt nach der Behandlung; ΔT: T1-T2; MD: Mittelwertdifferenz; SE: Standardfehler; p: Signifikanzwert.

Gemittelt über alle Messpunkte („Total“) ergab sich innerhalb der Wasserart *Ctl* zwischen T1 und T2 keine signifikante Veränderung der tiefen Sauerstoffsättigung (p = 0,334). Auch in der Wasserart *CO<sub>2</sub>* trat gemittelt über alle Messpunkte keine signifikante Veränderung auf (p = 0,093). Zum Zeitpunkt T1 bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten (p = 0,296).

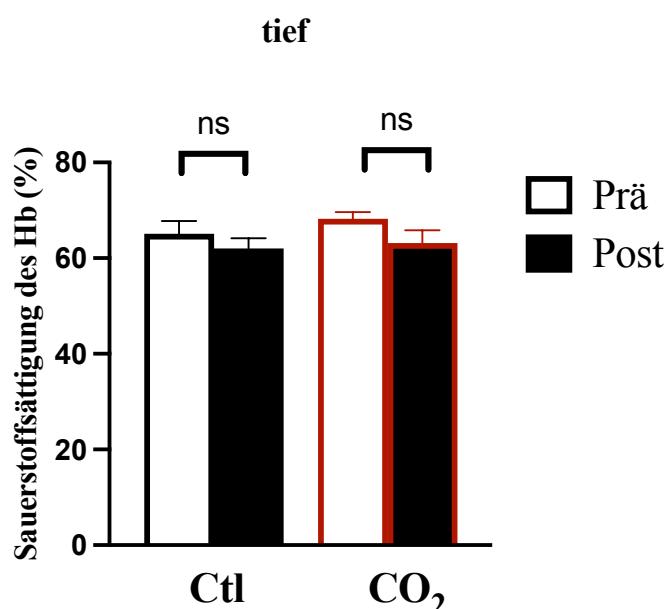
Auf Ebene der einzelnen Messpunkte zeigten sich folgende Befunde: Am Messpunkt „Handaußenfläche“ ergab sich innerhalb der Wasserart *Ctl* keine signifikante Veränderung zwischen T1 und T2 (p = 0,164), ebenso wenig in der Wasserart *CO<sub>2</sub>* (p = 0,297). Auch zum

Zeitpunkt T1 war kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten zu verzeichnen ( $p = 0,677$ ).

Am Messpunkt „Handinnenfläche“ wurde innerhalb der Wasserart *Ctl* keine signifikante Veränderung der tiefen Sauerstoffsättigung festgestellt ( $p = 0,262$ ), während in der Wasserart  $CO_2$  eine Veränderung beobachtet wurde, die das Signifikanzniveau jedoch nicht erreichte ( $p = 0,040$ ). Auch zum Zeitpunkt T1 bestand kein signifikanter Unterschied zwischen *Ctl* und  $CO_2$  ( $p = 0,304$ ).

Am Messpunkt „Mittelfinger“ zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* keine signifikante Veränderung über die Zeit ( $p = 0,721$ ). In der Wasserart  $CO_2$  hingegen trat eine Tendenz zur Zunahme der tiefen Sauerstoffsättigung auf ( $p = 0,007$ ), die jedoch nicht signifikant war. Auch zum Zeitpunkt T1 war kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten vorhanden ( $p = 0,280$ ).

Am Messpunkt „Ringfinger“ wurde innerhalb der Wasserart *Ctl* keine signifikante Veränderung beobachtet ( $p = 0,740$ ), während in der Wasserart  $CO_2$  eine Tendenz zur Zunahme auftrat ( $p = 0,014$ ), welche jedoch nicht die Signifikanz erreichte. Zum Zeitpunkt T1 bestand ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten ( $p = 0,173$ ).



**Figure 5. Auswirkungen des Faktors “Wasserart” auf die tiefe Sauerstoffsättigung des Hämoglobins gemittelt über alle Messpunkte.**

Ctl: Control;  $CO_2$ : Kohlenstoffdioxid; Hb: Hämoglobin

Die Ergebnisse zeigen, dass sich die tiefe Sauerstoffsättigung weder in der Wasserart *Ctl* noch in der Wasserart *CO<sub>2</sub>* signifikant über die Zeit verändert hat. Zwar traten in einigen Messpunkten Tendenzen zu Veränderungen auf, insbesondere in der Wasserart *CO<sub>2</sub>*, jedoch erreichten diese nicht die erforderliche statistische Signifikanz. Dies deutet darauf hin, dass die Wasserart möglicherweise keinen entscheidenden Einfluss auf die tiefe Sauerstoffsättigung hat oder dass mögliche Effekte zu gering ausfallen, um mit der gewählten Methodik eindeutig nachgewiesen zu werden.

### 3.2.6. Messgröße „tief rHb“

Der Mauchly-Test auf Sphärizität ergab, dass die Annahme der Sphärizität für die Faktoren *Wasserart* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ), *Zeitpunkt* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ) sowie für die Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ) nicht verletzt wurde. Im Gegensatz dazu zeigte sich für die Faktoren *Messpunkt* ( $W = 0,169$ ,  $p < 0,001$ ), *Wasserart*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,220$ ,  $p < 0,001$ ), *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,258$ ,  $p < 0,001$ ) sowie für die dreifache Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,121$ ,  $p < 0,001$ ) eine signifikante Verletzung der Sphärizitätsannahme. Daher wurden für diese Faktoren Greenhouse-Geisser-Korrekturen mit Epsilon-Werten zwischen 0,528 und 0,642 angewendet.

Die Analyse der Innersubjekteffekte ergab einen signifikanten Haupteffekt der *Wasserart* ( $F(1,29) = 7,378$ ,  $p = 0,011$ ) sowie einen hochsignifikanten Haupteffekt des *Messpunkts* ( $F(3,87) = 17,359$ ,  $p < 0,001$ ). Hingegen zeigte sich für den Faktor *Zeitpunkt* kein signifikanter Effekt ( $F(1,29) = 2,678$ ,  $p = 0,113$ ).

Auch die Interaktionen zwischen den Faktoren erreichten keine statistische Signifikanz. Weder die Interaktion zwischen *Wasserart* und *Zeitpunkt* ( $F(1,29) = 1,277$ ,  $p = 0,268$ ) noch die Interaktionen zwischen *Wasserart* und *Messpunkt* ( $F(3,87) = 0,311$ ,  $p = 0,817$ ) oder *Zeitpunkt* und *Messpunkt* ( $F(3,87) = 1,149$ ,  $p = 0,334$ ) zeigten signifikante Effekte. Ebenso war die dreifache Interaktion zwischen *Wasserart*, *Zeitpunkt* und *Messpunkt* ( $F(3,87) = 0,367$ ,  $p = 0,777$ ) nicht signifikant.

Um genauere Einblicke in die Unterschiede zwischen den Bedingungen zu erhalten, wurden ergänzend Post-hoc-Analysen durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Analysen sind in Tabelle 9 dargestellt.

**Tabelle 9. Paarweise Vergleiche - rHb tief**

			MD	SE	p.
Total	Ctl	ΔT	7,327	4,409	0,107
	CO <sub>2</sub>	ΔT	1,294	2,947	0,664
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	13,342	5,460	0,021
Außen	Ctl	ΔT	2,180	7,642	0,777
	CO <sub>2</sub>	ΔT	-4,489	4,488	0,325
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	16,633	9,664	0,096
Innen	Ctl	ΔT	12,066	12,226	0,332
	CO <sub>2</sub>	ΔT	-0,396	3,610	0,913
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	16,690	12,726	0,200
Mittelfinger	Ctl	ΔT	4,891	3,921	0,222
	CO <sub>2</sub>	ΔT	2,997	3,090	0,340
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	10,771	3,604	0,006
Ringfinger	Ctl	ΔT	10,171	3,602	0,008
	CO <sub>2</sub>	ΔT	7,063	3,733	0,068
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	9,273	3,079	0,005

Total, Mittelwert über alle Messpunkte; Ctl, control; CO<sub>2</sub>, Kohlenstoffdioxid; T1, prä - Messzeitpunkt vor der Behandlung“; T2, post – Messzeitpunkt nach der Behandlung; ΔT, T1-T2; MD, Mittelwertdifferenz; SE, Standardfehler; p, Signifikanzwert.

Die Analyse der tiefen relativen Hämoglobinmenge zeigte, dass weder in der Wasserart *Ctl* noch in der Wasserart *CO<sub>2</sub>* eine signifikante Veränderung zwischen den Zeitpunkten T1 und T2 auftrat (p = 0,107 bzw. p = 0,664). Der Vergleich der beiden Wasserarten zum Zeitpunkt T1 ergab keinen signifikanten Unterschied (p = 0,021).

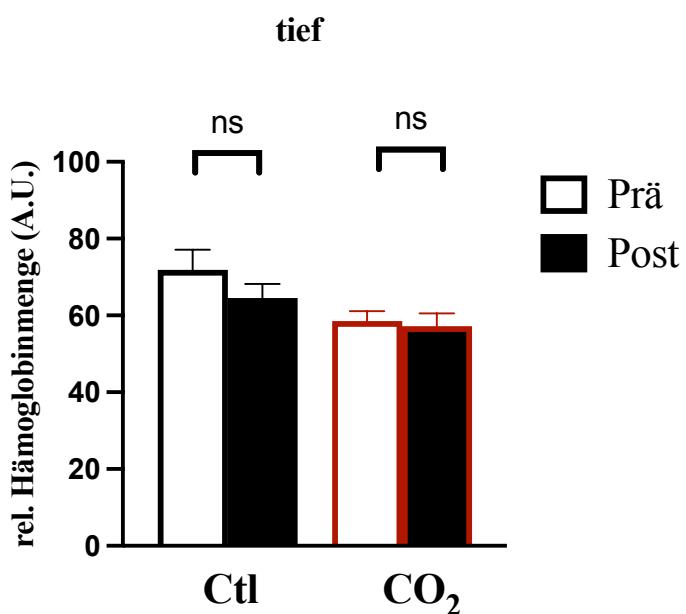
Betrachtet man die einzelnen Messpunkte, so zeigte sich an der Handaußenfläche weder in der Wasserart Ctl (p = 0,777) noch in der Wasserart *CO<sub>2</sub>* (p = 0,325) eine signifikante Veränderung

über die Zeit, ebenso wenig bestand zum Zeitpunkt T1 ein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten ( $p = 0,096$ ).

An der Handinnenfläche ergab sich in beiden Wasserarten keine signifikante Veränderung der rHb über die Zeit ( $p = 0,332$  bzw.  $p = 0,913$ ), und auch zum Zeitpunkt T1 war kein signifikanter Unterschied zwischen *Ctl* und  $CO_2$  festzustellen ( $p = 0,200$ ).

Am Messpunkt „Mittelfinger“ zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* ( $p = 0,222$ ) sowie der Wasserart  $CO_2$  ( $p = 0,340$ ) ebenfalls keine signifikante Veränderung zwischen T1 und T2. Zum Zeitpunkt T1 ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten ( $p = 0,006$ ).

Auch am Messpunkt „Ringfinger“ konnte innerhalb der Wasserart *Ctl* ( $p = 0,008$ ) sowie innerhalb der Wasserart  $CO_2$  ( $p = 0,068$ ) keine signifikante Veränderung festgestellt werden. Zum Zeitpunkt T1 bestand allerdings auch hier ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten ( $p = 0,005$ ).



**Figure 6. Auswirkungen des Faktors “Wasserart” auf die tiefe relative Hämoglobinmenge, gemittelt über alle Messpunkte.**

Ctl: Control;  $CO_2$ : Kohlenstoffdioxid; A.U.: Arbitrary Unit

Die Ergebnisse zeigen, dass sich die tiefe relative Hämoglobinmenge über die Zeit hinweg weder in der Wasserart *Ctl* noch in der Wasserart  $CO_2$  signifikant verändert. Auch an den

einzelnen Messpunkten wurde keine Signifikanz festgestellt. Insgesamt deuten die Befunde darauf hin, dass die Wasserart keinen deutlichen Einfluss auf die tiefen rHb-Veränderungen ausübt.

### 3.2.7. Messgröße „tief Flow“

Der Mauchly-Test auf Sphärizität ergab, dass die Annahme der Sphärizität für die Faktoren *Wasserart* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ), *Zeitpunkt* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ) sowie für die Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ) nicht verletzt wurde. Im Gegensatz dazu zeigte sich für den Faktor *Messpunkt* ( $W = 0,229$ ,  $p < 0,001$ ) eine signifikante Verletzung der Sphärizitätsannahme, ebenso wie für die Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,669$ ,  $p = 0,048$ ) und für die dreifache Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,663$ ,  $p = 0,045$ ). Für diese Faktoren wurde daher eine Greenhouse-Geisser-Korrektur mit Epsilon-Werten zwischen 0,540 und 0,810 angewendet. Die Interaktion *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,854$ ,  $p = 0,498$ ) erfüllte hingegen die Sphärizitätsannahme.

Die Analyse der Innersubjekteffekte ergab, dass der Faktor *Wasserart* ( $F(1,29) = 1,751$ ,  $p = 0,196$ ) keinen signifikanten Haupteffekt aufwies. Dagegen zeigten die Faktoren *Zeitpunkt* ( $F(1,29) = 14,758$ ,  $p = 0,001$ ) und *Messpunkt* ( $F(3,87) = 22,813$ ,  $p < 0,001$ ) signifikante Haupteffekte.

Bezüglich der zweifachen Interaktionen zeigte sich, dass die Interaktion *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $F(3,87) = 3,958$ ,  $p = 0,011$ ) signifikant war, während die Interaktionen *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt* ( $F(1,29) = 0,917$ ,  $p = 0,346$ ) und *Wasserart*  $\times$  *Messpunkt* ( $F(3,87) = 0,477$ ,  $p = 0,699$ ) keine statistische Signifikanz erreichten. Schließlich wurde für die dreifache Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $F(3,87) = 5,736$ ,  $p = 0,001$ ) ein signifikanter Effekt festgestellt, was auf ein komplexes Zusammenspiel dieser Faktoren hinweist.

Die detaillierten Post-hoc-Analysen zu den Unterschieden zwischen den Gruppen sind in Tabelle 10 dargestellt.

**Tabelle 10. Paarweise Vergleiche - Flow tief**

			MD	SE	p.
Total	Ctl	ΔT	17,311	8,249	<b>0,045</b>
	CO <sub>2</sub>	ΔT	28,530	8,470	<b>0,002</b>
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	3,888	7,866	<b>0,625</b>
Außen	Ctl	ΔT	17,389	8,442	<b>0,048</b>
	CO <sub>2</sub>	ΔT	-14,981	8,472	<b>0,088</b>
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	28,680	9,738	<b>0,006</b>
Innen	Ctl	ΔT	25,402	11,003	<b>0,028</b>
	CO <sub>2</sub>	ΔT	43,427	12,268	<b>0,001</b>
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	0,956	14,482	<b>0,948</b>
Mittelfinger	Ctl	ΔT	14,686	11,388	<b>0,207</b>
	CO <sub>2</sub>	ΔT	47,779	11,036	<b>0,000</b>
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	-15,312	12,762	<b>0,240</b>
Ringfinger	Ctl	ΔT	11,767	16,054	<b>0,469</b>
	CO <sub>2</sub>	ΔT	37,894	14,418	<b>0,014</b>
	T1	Ctl-CO <sub>2</sub>	1,227	14,158	<b>0,932</b>

Total, Mittelwert über alle Messpunkte; Ctl, control; CO<sub>2</sub>, Kohlenstoffdioxid; T1, prä - Messzeitpunkt vor der Behandlung“; T2, post – Messzeitpunkt nach der Behandlung; ΔT, T1-T2; MD, Mittelwertdifferenz; SE, Standardfehler; p, Signifikanzwert.

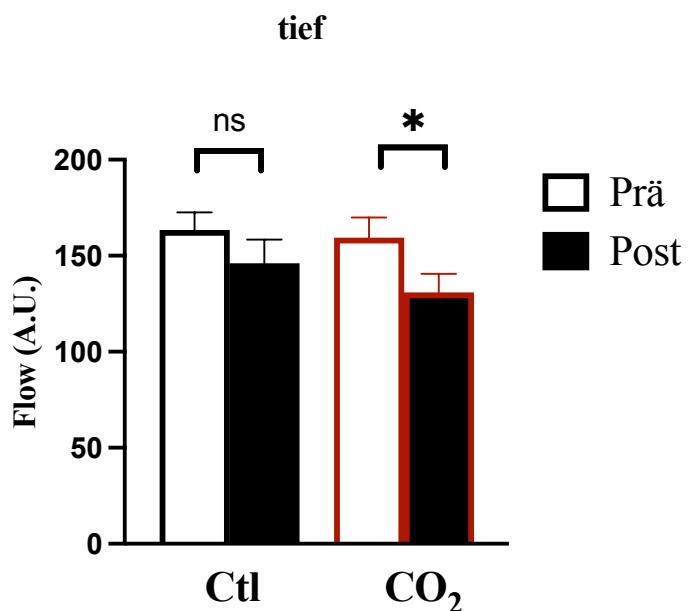
Die Analyse des durchschnittlichen tiefen Blutflusses über alle Messpunkte hinweg ergab, dass innerhalb der Wasserart *Ctl* zwischen den Zeitpunkten T1 und T2 eine Tendenz zur Abnahme bestand (p = 0,046), während in der Wasserart *CO<sub>2</sub>* das Signifikanzniveau zur Abnahme erreicht wurde (p = 0,003). Zum Zeitpunkt T1 zeigte sich zwischen den beiden Wasserarten kein signifikanter Unterschied (p = 0,628).

Betrachtet man die einzelnen Messpunkte, so ließ sich an der Handaußenfläche sowohl in der Wasserart *Ctl* (p = 0,049) als auch in der Wasserart *CO<sub>2</sub>* (p = 0,089) keine signifikante Veränderung über die Zeit feststellen. Zum Zeitpunkt T1 bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten (p = 0,007).

An der Handinnenfläche zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* keine signifikante Abnahme des Blutflusses über die Zeit (p = 0,029), während in der Wasserart *CO<sub>2</sub>* eine signifikante

Abnahme beobachtet wurde ( $p = 0,002$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten ( $p = 0,949$ ).

Am Messpunkt „Mittelfinger“ ließ sich innerhalb der Wasserart *Ctl* keine signifikante Veränderung über die Zeit feststellen ( $p = 0,208$ ), während innerhalb der Wasserart  $CO_2$  eine signifikante Abnahme des Blutflusses auftrat ( $p < 0,001$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand an diesem Messpunkt kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten ( $p = 0,241$ ).



**Figure 7. Auswirkungen des Faktors „Wasserart“ auf den tiefen Blutfluss, gemittelt über alle Messpunkte.**  
Ctl: Control;  $CO_2$ : Kohlenstoffdioxid; A.U.: Arbitrary Unit

Insgesamt ließ sich eine Abnahme des tiefen Blutflusses verzeichnen. Gemittelt über alle Messpunkte zeigte sich diese innerhalb der Wasserart  $CO_2$  signifikant, während in der Wasserart *Ctl* eine Tendenz zur Abnahme bestand, welche das Signifikanzniveau nicht erreichte.

### 3.2.8. Messgröße „tief Velocity“

Der Mauchly-Test auf Sphärizität ergab, dass die Annahme der Sphärizität für die Faktoren *Wasserart* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ), *Zeitpunkt* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ) sowie für die Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt* ( $W = 1,000$ ,  $p = \text{n/a}$ ) nicht verletzt wurde. Im Gegensatz dazu wurde für den Faktor *Messpunkt* ( $W = 0,091$ ,  $p < 0,001$ ) eine signifikante Verletzung der Sphärizitätsannahme festgestellt, ebenso wie für die Interaktionen *Wasserart*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,611$ ,  $p = 0,018$ ), *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,576$ ,  $p = 0,009$ ) sowie die dreifache Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $W = 0,605$ ,  $p = 0,016$ ). Für diese Faktoren wurde eine Greenhouse-Geisser-Korrektur mit Epsilon-Werten zwischen 0,453 und 0,804 angewendet.

Die Analyse der Innersubjekteffekte ergab signifikante Haupteffekte für die Faktoren *Wasserart* ( $F(1,29) = 7,502$ ,  $p = 0,010$ ), *Zeitpunkt* ( $F(1,29) = 25,490$ ,  $p < 0,001$ ) und *Messpunkt* ( $F(3,87) = 29,687$ ,  $p < 0,001$ ).

Während die Interaktionen *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt* ( $F(1,29) = 0,152$ ,  $p = 0,700$ ) und *Wasserart*  $\times$  *Messpunkt* ( $F(3,87) = 1,550$ ,  $p = 0,207$ ) nicht signifikant waren, zeigte die Interaktion *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $F(3,87) = 19,402$ ,  $p < 0,001$ ) einen signifikanten Effekt. Die dreifache Interaktion *Wasserart*  $\times$  *Zeitpunkt*  $\times$  *Messpunkt* ( $F(3,87) = 2,295$ ,  $p = 0,083$ ) erreichte jedoch keine statistische Signifikanz.

Die detaillierten Post-hoc-Analysen zu den Unterschieden zwischen den Gruppen sind in Tabelle 11 dargestellt.

**Tabelle 11. Paarweise Vergleiche - Velocity tief**

			MD	SE	p.
Total	Ctl	$\Delta T$	9,171	2,490	0,001
	$CO_2$	$\Delta T$	10,334	2,391	0,000
	T1	Ctl- $CO_2$	4,452	2,199	0,052
Außen	Ctl	$\Delta T$	2,795	1,668	0,105
	$CO_2$	$\Delta T$	-2,559	2,040	0,220
	T1	Ctl- $CO_2$	5,341	1,733	0,004
Innen	Ctl	$\Delta T$	9,945	2,989	0,002
	$CO_2$	$\Delta T$	13,558	3,312	0,000
	T1	Ctl- $CO_2$	3,055	3,812	0,429
Mittelfinger	Ctl	$\Delta T$	11,953	3,231	0,001
	$CO_2$	$\Delta T$	14,312	2,818	0,000
	T1	Ctl- $CO_2$	3,526	3,332	0,299
Ringfinger	Ctl	$\Delta T$	11,992	3,919	0,005
	$CO_2$	$\Delta T$	16,026	3,574	0,000
	T1	Ctl- $CO_2$	5,884	3,255	0,081

Total, Mittelwert über alle Messpunkte; Ctl, control;  $CO_2$ , Kohlenstoffdioxid; T1, prä - Messzeitpunkt vor der Behandlung“; T2, post – Messzeitpunkt nach der Behandlung;  $\Delta T$ , T1-T2; MD, Mittelwertdifferenz; SE, Standardfehler; p, Signifikanzwert.

Betrachtet man die tiefe durchschnittliche Blutflussgeschwindigkeit über alle Messpunkte hinweg, so zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* zwischen den Zeitpunkten T1 und T2 eine signifikante Abnahme ( $p = 0,001$ ). Ebenso wurde innerhalb der Wasserart *CO<sub>2</sub>* eine signifikante Abnahme der Blutflussgeschwindigkeit festgestellt ( $p < 0,001$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand zwischen den Wasserarten *Ctl* und *CO<sub>2</sub>* kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,052$ ).

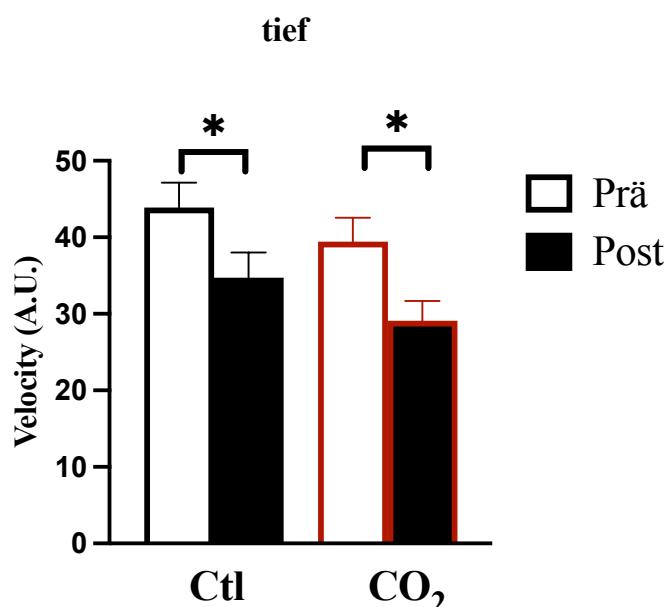
Am Messpunkt der Handaußenfläche zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* zwischen den Zeitpunkten T1 und T2 keine signifikante Veränderung ( $p = 0,105$ ). Dasselbe galt für die Wasserart *CO<sub>2</sub>*, bei der ebenfalls keine signifikante Veränderung festgestellt wurde ( $p = 0,220$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand jedoch an diesem Messpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten ( $p = 0,004$ ).

An der Handinnenfläche konnte innerhalb der Wasserart *Ctl* eine signifikante Abnahme der Blutflussgeschwindigkeit über die Zeit festgestellt werden ( $p = 0,002$ ). Innerhalb der Wasserart *CO<sub>2</sub>* zeigte sich ebenfalls eine signifikante Abnahme ( $p < 0,001$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand

kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten an diesem Messpunkt ( $p = 0,429$ ).

Am Messpunkt „Mittelfinger“ ließ sich innerhalb der Wasserart *Ctl* eine signifikante Abnahme der Blutflussgeschwindigkeit über die Zeit feststellen ( $p = 0,001$ ). Ebenso zeigte sich innerhalb der Wasserart  $CO_2$  eine signifikante Abnahme ( $p < 0,001$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Wasserarten *Ctl* und  $CO_2$  an diesem Messpunkt ( $p = 0,299$ ).

Am Messpunkt „Ringfinger“ zeigte sich innerhalb der Wasserart *Ctl* über die Zeit hinweg eine signifikante Abnahme ( $p = 0,005$ ). Innerhalb der Wasserart  $CO_2$  wurde ebenfalls eine signifikante Abnahme festgestellt ( $p < 0,001$ ). Zum Zeitpunkt T1 bestand zwischen den beiden Wasserarten an diesem Messpunkt kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,081$ ).



**Figure 8. Auswirkungen des Faktors „Wasserart“ auf die tiefe Blutflussgeschwindigkeit, gemittelt über alle Messpunkte.**

Ctl: Control;  $CO_2$ : Kohlenstoffdioxid; A.U.: Arbitrary Unit

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass die Blutflussgeschwindigkeit sowohl in der Wasserart *Ctl* als auch in der Wasserart  $CO_2$  über die Zeit abnimmt. Während einige Messpunkte eine signifikante Veränderung aufweisen, fallen andere unter das angepasste Signifikanzniveau und sind daher nicht mehr als signifikant zu bewerten.

### 3.2.9. Zeitverlauf „oberflächlich SO<sub>2</sub>“, „oberflächliche Flow“

In unserer Untersuchung wurden die Messparameter „oberflächliche Sauerstoffsättigung des Hämoglobins“ und „oberflächlicher Blutfluss“ am Messpunkt „Handaußenfläche“ über einen Zeitraum von bis zu 150 Minuten nach Immersion analysiert.

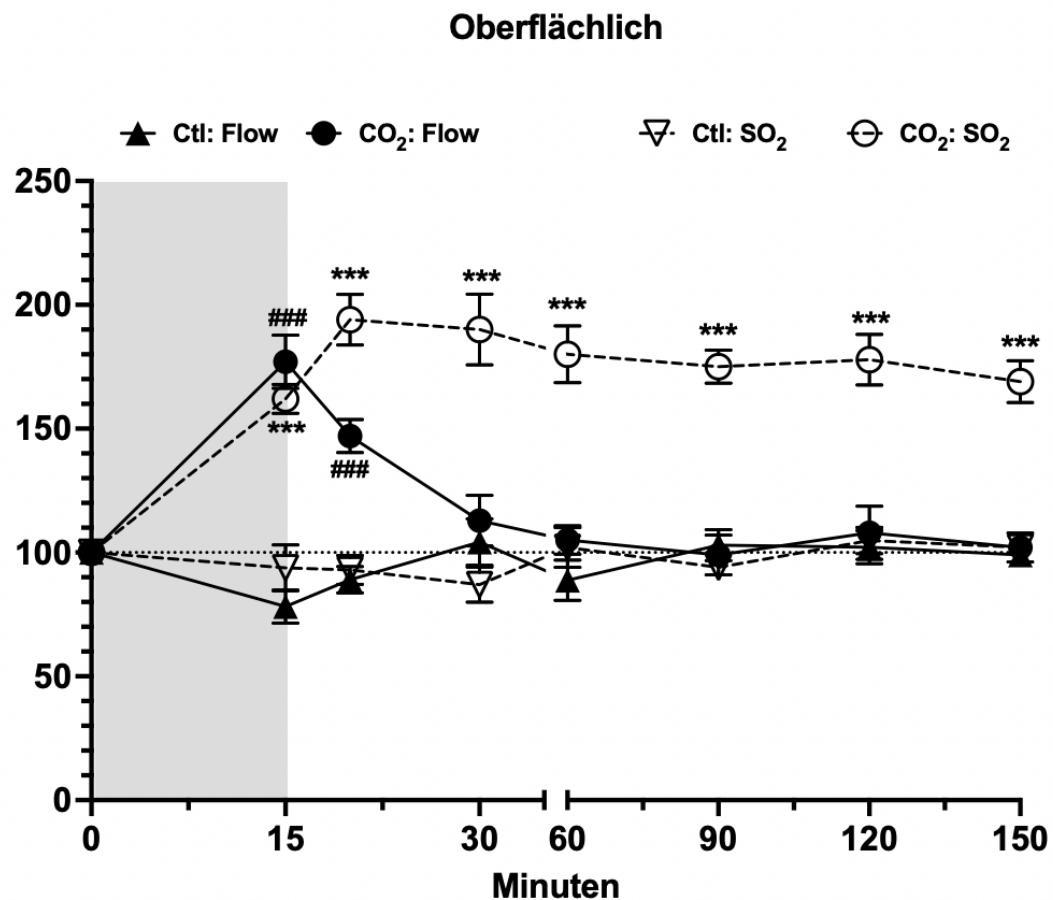
**Tabelle 12. Deskriptive Statistik Zeitverlauf**

Zeit (min.)	CO <sub>2</sub> : Flow		CO <sub>2</sub> : SO <sub>2</sub>		Ctl: Flow		Ctl: SO <sub>2</sub>	
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
<b>0</b>	100	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00
<b>15</b>	177	10.74	162	5.86	78	6.72	93	9.32
<b>20</b>	147	6.73	194	10.24	89	5.40	93	5.87
<b>30</b>	112	10.29	190	14.39	104	9.43	87	7.14
<b>60</b>	105	5.76	180	11.58	89	8.12	102	8.04
<b>90</b>	99	8.30	175	6.75	103	6.30	94	2.62
<b>120</b>	108	10.76	177	10.19	102	6.71	104	5.32
<b>150</b>	102	5.81	169	8.48	99	3.96	102	4.09

Deskriptive Statistik von Blutfluss (Flow) und Sauerstoffsättigung (SO<sub>2</sub>) in den Versuchsbedingungen CO<sub>2</sub> und Kontrolle (Ctl) über den Zeitverlauf. Angegeben sind jeweils Mittelwert (Mean) und Standardfehler (SE) zu den Messzeitpunkten 0, 15, 20, 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten.

Wie in Abbildung 16 dargestellt, nimmt die oberflächliche Sauerstoffsättigung am Messpunkt „Handaußenfläche“ nach einer CO<sub>2</sub>-Immersion deutlich zu. Bereits nach 15 Minuten unterscheidet sich die Sauerstoffsättigung signifikant zwischen den beiden Wasserarten CO<sub>2</sub> und Ctl ( $p < 0.005$ , MD: 68,17). Ein signifikanter Unterschied lässt sich ebenso nach 20 ( $p < 0.005$ , MD: 101,0), 30 ( $p < 0.005$ , MD: 103,0), 60 ( $p < 0.005$ , MD: 78,0), 90 ( $p < 0.005$ , MD: 73,0), 120 sowie 150 ( $p < 0.005$ , MD: 66,83) Minuten nachweisen.

Auch hinsichtlich des oberflächlichen Blutflusses zeigt sich nach einer CO<sub>2</sub>-Immersion ein Anstieg. Dieser ist im Vergleich zur Kontrollbedingung Ctl nach 15 ( $p < 0.005$ , MD: 98,83) sowie 20 Minuten ( $p < 0.005$ , MD: 58,0) signifikant erhöht. Ab den Messzeitpunkten 30 ( $p = 0.401$ , MD: 8,66), 60 ( $p = 0.119$ , MD: 16,17), 90 ( $p = 0.697$ , MD: -4,0), 120 ( $p = 0.571$ , MD: 5,83) und 150 ( $p = 0.771$ , MD: -3,0) Minuten bestand hingegen kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Wasserarten.



**Abbildung 16. Oberflächliche SO<sub>2</sub> und oberflächlicher Flow verglichen zwischen den beiden Wasserarten CO<sub>2</sub> und Ctl über die Zeit**

Insgesamt zeigte sich nach der CO<sub>2</sub>-Immersion ein signifikanter Anstieg der oberflächlichen Sauerstoffsättigung sowie des Blutflusses an der Handaußenfläche. Bereits ab 15 Minuten waren im Vergleich zur Kontrollbedingung signifikante Unterschiede in der Sauerstoffsättigung feststellbar, ein Effekt, der über den gesamten Messzeitraum (15 bis 150 Minuten) konstant war. Der Blutfluss nahm ebenfalls in den ersten 20 Minuten signifikant zu, wobei sich ab 30 Minuten keine weiteren signifikanten Unterschiede zwischen CO<sub>2</sub> und Ctl mehr zeigten.

## 4. Diskussion

Das Raynaud-Phänomen ist eine häufig vorkommende, aber oft unerkannte vasospastische Störung, die erstmals 1862 von Maurice Raynaud beschrieben wurde [8]. Es gilt heute als vorübergehender, episodischer und reversibler Vasospasmus peripherer Blutgefäße – insbesondere der digitalen Arterien und Arteriolen – und äußert sich durch einen charakteristischen dreiphasigen Farbverlauf: von Weiß infolge der Gefäßverengung mit nachfolgender Ischämie, über Blau aufgrund der Zyanose, bis hin zu Rot als Folge einer reaktiven Vasodilatation. Am häufigsten sind hierbei die Finger betroffen, meist als Reaktion auf Stressfaktoren wie Kälteeinwirkung [2].

Die Prävalenz des RP wird auf 3–5 % der Allgemeinbevölkerung geschätzt, variiert jedoch erheblich [4], [8]. Das Raynaud-Phänomen lässt sich in das primäre oder idiopathische RP, auch Raynaud-Krankheit genannt, und in das sekundäre RP, auch als Raynaud-Syndrom bezeichnet, unterteilen. Das sekundäre RP manifestiert sich häufig als klinische Begleiterscheinung einer zugrunde liegenden, meist entzündlich-rheumatischen Erkrankung wie der systemischen Sklerose oder dem systemischen Lupus erythematoses, wobei insbesondere die Kollagenosen eine zentrale Rolle spielen [6]. Im Gegensatz dazu wird das RP als primär eingestuft, wenn keine zugrunde liegende Krankheit nachgewiesen werden kann [8].

Da das RP sowohl idiopathisch als auch sekundär verursacht sein kann, unterscheiden sich die pathophysiologischen Mechanismen in beiden Formen. Beim primären RP stehen vor allem funktionelle Veränderungen im Rahmen einer Fehlfunktion der Thermoregulation im Vordergrund, wohingegen beim sekundären RP mehrere, teils strukturelle Faktoren an der Entstehung beteiligt sind [8]. Im Kontext der systemischen Sklerose werden beim sekundären RP beispielsweise strukturelle Veränderungen wie eine fibrotische Proliferation der Intima beobachtet, welche das Gefäßlumen verengt und den peripheren Blutfluss beeinträchtigt [92]. Funktionelle Störungen betreffen vor allem das Endothel, das normalerweise Vasodilatatoren wie Stickstoffmonoxid und Prostacyclin produziert. Eine verminderte Produktion oder Wirksamkeit dieser Substanzen, kombiniert mit einer gesteigerten Produktion von Vasokonstriktoren wie Endothelin-1 und Angiotensin II, verstärkt die Vasokonstriktion. Zusätzlich destabilisiert Angiopoietin-2 das Endothel, wodurch es anfälliger für Entzündungen wird [8]. Auch neurale Fehlfunktionen spielen bei RP eine Rolle: Es kommt zu einer verstärkten Vasokonstriktion, die via NA insbesondere über  $\alpha$ 2-Adrenorezeptoren vermittelt wird [2]. Intravaskuläre Faktoren wie eine erhöhte Thrombozytenaktivierung und -Aggregation, eine

verminderte Fibrinolyse, oxidativer Stress sowie eine gesteigerte Blutviskosität tragen zusätzlich zu einer Gefäßverengung bei und begünstigen so Raynaud-Attacken [8].

Die Behandlung des Raynaud-Phänomens stellt aufgrund der komplexen und bislang nicht vollständig verstandenen Pathophysiologie eine Herausforderung dar. Neben der Therapie einer möglichen Grunderkrankung stehen zunächst nicht-pharmakologische Maßnahmen im Vordergrund: Lebensstiländerungen wie das Vermeiden von Kälte und Stress, das Tragen warmer Kleidung oder der Verzicht auf Nikotin können vasospastische Anfälle reduzieren. Genügen diese Ansätze nicht, kommt eine pharmakologische Behandlung infrage. Calciumkanalblocker – insbesondere die dihydropyridinbasierten Substanzen wie Nifedipin –, stellen das Mittel der ersten Wahl da. Auch  $\alpha$ 1-Adrenorezeptor-Antagonisten wie Buflomedil können durch Hemmung der Wirkung von Noradrenalin unterstützend wirken. Über die Reduktion der Vasokonstriktion durch Angiotensin II kam es zudem in Studien zur Reduktion von Schweregrad und Frequenz des RP unter dem Angiotensin-II-Rezeptor-Blocker Losartan. Phosphodiesterase-5 Hemmer wirken über den Abbau von cGMP durch PDE-5. Selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRIs) zeigen durch Hemmung der Serotonin-vermittelten Gefäßkontraktilität sowie einer Thrombozytenaggregationshemmung positive Effekte [2]. Zusätzlich stellt die parenterale Gabe von Prostaglandinanaloga, welche eine Vasodilatation hervorrufen und die Thrombozytenfunktion hemmen, eine weitere Behandlungsoption für das sekundäre Raynaud-Phänomen dar. In schweren Fällen, insbesondere bei akralen Nekrosen im Rahmen sekundärer Formen, kommen eine lokalisierte digitale Sympathektomie oder Botulinumtoxin-Injektionen in Betracht [2].

Angesichts der beschriebenen Pathomechanismen sowie der teilweise etablierten Therapieoptionen erscheint es sinnvoll, mögliche Behandlungsansätze mittels CO<sub>2</sub>-Anwendung zu erwägen. Es wird angenommen, dass CO<sub>2</sub> die kutane Durchblutung über mehrere Mechanismen verbessern kann. Einerseits kann CO<sub>2</sub> eine Vasodilatation zu induzieren, vermutlich durch eine gesteigerte NO-Synthese:

In einer randomisierten Doppelblind-Studie mit zehn Patienten im Stadium II der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit führten Savin et al. eine 20-minütige lokale Exposition der Haut mit CO<sub>2</sub>-reichem Thermalgas im Vergleich zu wasserdampfgesättigter Luft bei gleicher Temperatur durch. Es zeigte sich für die CO<sub>2</sub>-Anwendung ein signifikanter Anstieg des femoralen Blutflusses, des Tibiadrucks und der transkutanen O<sub>2</sub>-Spannung im Fuß – ohne Änderungen der systemischen Hämodynamik. Wasserdampf hingegen hatte keine Wirkung.

Erstmals konnte so gezeigt werden, dass perkutanes CO<sub>2</sub> bei Patienten mit arterieller Pathologie gezielt lokale vasomotorische Effekte auslöst [93].

Ogoh. et al. erfassten für gesunde Probanden vor und nach einem Unterschenkelbad in 38 °C CO<sub>2</sub>-reichem bzw. normalem Wasser den Hautblutfluss und die flussvermittelte Dilatation (FMD). Das CO<sub>2</sub>-Bad steigerte den Hautblutfluss und die FMD deutlich und die Zunahme des Blutflusses korrelierte positiv mit der FMD. Für die gleiche Durchblutungssteigerung hätte man normales Wasser erst auf etwa 43 °C erhitzen müssen. Es konnte damit gezeigt werden, dass CO<sub>2</sub>-reiches Wasser die endothelabhängige Gefäßerweiterung bei geringerem Hitzestress verbessert [94].

Die vasodilatative Effekt des CO<sub>2</sub>-Bades wurde später durch Wollina et al. [95], Abdulhamza et al. [96] sowie Hartmann et al. (67) bei Probanden mit diabetischem Fußsyndrom bestätigt.

Untersuchungen an der oberen Extremität stammen bereits aus dem Jahr 1958, als Diji et al. bei einer mit Kohlendioxid gesättigten Handimmersion eine Erhöhung der Wärmetransferrate an das Wasser nachweisen konnten. In einem Mausmodell führte eine tägliche, zehnminütige Behandlung mit CO<sub>2</sub>-angereichertem Wasser zu einem signifikanten Anstieg der Durchblutung bei Tieren mit einseitiger Ischämie der Hinterläufe. Dieser Effekt ließ sich durch eine Hemmung der NO-Synthese aufheben, was auf einen direkten Zusammenhang zwischen CO<sub>2</sub> und NO hinweist [97].

Neben dem NO-vermittelten Mechanismus lässt sich vermuten, dass die Gewebeoxygenierung auch unmittelbar positiv beeinflusst wird. Hierbei könnte der Bohr-Effekt eine zentrale Rolle spielen: Durch eine Rechtsverschiebung der Sauerstoffsättigungskurve bei Konformationsänderung des Hämoglobins wird die Sauerstoffabgabe erleichtert.

Der Zusammenhang zwischen Bohr-Effekt und CO<sub>2</sub>-Immersion wurde von Sakai et al. erstmals 2011 in vivo untersucht: In der durchgeführten Studie wurde ein neu entwickeltes transkutanes CO<sub>2</sub>-System (Hydrogel) eingesetzt, um am Menschen in vivo den Bohr-Effekt zu prüfen. In vitro zeigte das Hydrogel eine gesteigerte CO<sub>2</sub>-Permeation durch Rattenhaut. Bei gesunden Probanden führte die 10-minütige CO<sub>2</sub>-Applikation zu einem signifikanten intramuskulären pH-Abfall und, gemessen mit NIS, zu einem raschen Abfall der Oxy-Hämoglobin-Konzentration und Anstieg der Desoxy-Hämoglobin-Konzentration. Damit liefern die

Ergebnisse den ersten direkten Nachweis, dass transkutan verabreichtes CO<sub>2</sub> die O<sub>2</sub>-Freisetzung aus Hämoglobin (mittels Bohr-Effekt) im lebenden menschlichen Gewebe fördert.[62]

Auf dieser Grundlage untersuchten mehrere Studien und klinische Erhebungen die Wirkung von CO<sub>2</sub>-Anwendungen beim Raynaud-Phänomen. Tucker et al. (1998) prüften den Effekt einer transkutanen CO<sub>2</sub>-Applikation mithilfe eines „Aktivgels“ bei Patienten mit schwerem Raynaud-Syndrom. Veränderungen von Mikrozirkulationsvolumen und -fluss wurden über Infrarot-Photoplethysmographie und Laser-Doppler-Fluxmetrie erfasst. In beiden Gruppen – sowohl bei den Raynaud-Patienten als auch in der Kontrollgruppe – kam es zu einem Anstieg von Volumen und Fluss [98].

Schmidt et al. (2005) untersuchten hämodynamische Veränderungen bei primärem und sekundärem RP mittels Laser-Doppler-Flow (LDF) und einem computergestützten Chronothermometrie-Test (CT-Test). Hierbei wurde CO<sub>2</sub>-Gas auf zuvor befeuchtete Haut am Unterarm appliziert. Während der CO<sub>2</sub>-Behandlung kam es zu einem signifikanten Anstieg des digitalen Blutflusses und der Vasomotion, bei der Placebo-Anwendung konnte keine Veränderungen beobachtet werden. Beide Gruppen reagierten während der Behandlung ähnlich auf Kältereize, allerdings zeigten Patienten mit CO<sub>2</sub>-Behandlung noch drei Monate später eine deutlich verkürzte Aufwärmzeit und eine erhöhte Aufwärmrate [25].

In weiterer Folge konzentrierten sich die Studien insbesondere auf Patienten mit sekundärem Raynaud-Phänomen im Kontext einer systemischen Sklerose. So konnten Müller-Eschner et al. 2012 erstmals einen kurzfristig positiven Effekt von CO<sub>2</sub>-Immersionen auf die akrale Durchblutung bei SSc nachweisen, wobei ein 35 °C-supergesättigtes CO<sub>2</sub>-Handbad eingesetzt und die Perfusion mittels Doppler-Ultraschall (Gefäßwiderstand und arterieller Blutfluss) bestimmt wurde [99].

2019 verglichen Lange et al. die Wirkung einer einmaligen CO<sub>2</sub>-Handimmersion mit einer einmaligen Heißwasserimmersion bei SSc-Patienten hinsichtlich der akralen Perfusion. Auch hier kam ein Doppler-Ultraschall zum Einsatz. Nach der CO<sub>2</sub>-Immersion verbesserte sich die Durchblutung signifikant, während bei der Heißwasserimmersion keine relevanten Veränderungen beobachtet wurden [23].

Aufgrund dieser Erkenntnisse werden bereits verschiedene moderne Applikationsformen in der Praxis eingesetzt, darunter transkutane Gasapplikation (lokale Exposition gegenüber CO<sub>2</sub>-

angereicherter Luft), CO<sub>2</sub>-Handbäder (Immersion in CO<sub>2</sub>-supersaturiertem Wasser) oder auch perkutane Injektionen (subkutane CO<sub>2</sub>-Insufflation).

Das Ziel dieser Untersuchung war die Erfassung relativer Veränderungen des Blutflusses sowie der Gewebesauerstoffsättigung im behandelten Hautareal mittels Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler-Spektroskopie. Besonderes Augenmerk lag dabei auf der Bestimmung der Gewebetiefe, in der Effekte exogen zugeführten Kohlenstoffdioxids auf lokale hämodynamische Parameter nachweisbar sind.

Voruntersuchungen erfolgten mithilfe einer nahinfrarotbasierten Multispektralkamera (Kent Imaging, Calgary), mit welcher unter anderem der Einfluss unterschiedlicher Wassertemperaturen auf das Versuchssystem überprüft wurde. In Anlehnung an eine vorangegangene interne Studie, bei der höhere Wassertemperaturen keine signifikanten Ergebnisse lieferten, entschieden wir uns für eine Temperatur von 22 °C. Diese Wahl basiert außerdem auf der Erkenntnis, dass sich Kohlenstoffdioxid bei niedrigeren Temperaturen besser in Wasser löst und somit zu stabileren Lösungen sowie einer verbesserten Reproduzierbarkeit der Messwerte beiträgt [77]. Parallel dazu wurden mithilfe der Multispektralkamera geeignete Messpunkte für das im weiteren Studienverlauf verwendete O<sub>2</sub>C-Gerät identifiziert. Aus diesen Voruntersuchungen gingen vier repräsentative Messpunkte hervor, mit der man die Heterogenität der untersuchten Gewebeareale abzubilden versuchte.

Zur Messung der relevanten Parameter im Rahmen der Studie wurde das O<sub>2</sub>C-System (Lea GmbH, Gießen) eingesetzt, welches die Messverfahren von Weißlichtspektrometrie und Laser-Doppler-Spektroskopie kombiniert. Erfasst wurden die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins, die relative Hämoglobinmenge, der Blutfluss sowie die Blutflussgeschwindigkeit in zwei unterschiedlichen Gewebetiefen (1–2 mm und 6–8 mm). Die Messungen erfolgten punktuell an der dorsalen und palmaren Handfläche sowie an den Endgliedern des Mittel- und Ringfingers. Die Datenerhebung fand vor (T1=0 min) und unmittelbar nach (T2=15 min) einer 15-minütigen Exposition in einem CO<sub>2</sub>-gesättigten Handbad sowie in einem Leitungswasser-Handbad statt. Zusätzlich wurden Messungen zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Exposition (20, 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten) durchgeführt. Zur statistischen Analyse kam eine multifaktorielle Varianzanalyse zum Einsatz. Zur Statistischen Analyse des Zeitverlaufes kamen gepaarte t-Tests zum Einsatz.

Es existieren Evaluationsuntersuchungen zur Verwendung des O<sub>2</sub>C zur Detektion der beschriebenen Parameter [100], [101], [102] sowie deren Reproduzierbarkeit [103]. Bezuglich der Reproduzierbarkeit der Daten in unserer Studie wiesen alle vor der Durchführung der Handbäder erhobenen Parameter gemittelt über die vier Messpunkte keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Wasserarten auf.

In den oberflächlichen Messungen in 1–2 mm Gewebetiefe zeigte sich nach dem CO<sub>2</sub>-Bad eine signifikante Zunahme der Sauerstoffsättigung gemittelt über alle Messpunkte. Da die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins den kapillär-venösen O<sub>2</sub>-Gehalt des Hämoglobins widerspiegelt, kann die Zunahme dieses Parameters unterschiedlich begründet werden. Zum einen kann sie auf ein gesteigertes Sauerstoffangebot durch erhöhten Zufluss oder optimierte Sauerstoffabgabe zurückzuführen sein. Im Hinblick auf die Versuchsbedingungen scheint dies am wahrscheinlichsten. Einerseits besteht ein verbessertes Sauerstoffangebot durch den Bohr-Effekt: Die Dissoziation von Kohlensäure in Bicarbonat-Ionen und Protonen führt zu einer künstlichen Absenkung des pH-Wertes. Es kommt zur Konformationsänderung des Hämoglobins, wodurch die Freisetzung von O<sub>2</sub> in das Gewebe erleichtert wird [74]. Ein zusätzlich positiver Effekt könnte durch eine NO-vermittelte Vasodilatation begründet sein: Die in die Endothelzellen eindringenden Bicarbonat-Ionen phosphorylieren die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS). Die phosphorylierte eNOS produziert Stickstoffmonoxid, welches folgend in die benachbarte glatte Muskelzelle diffundiert, an die lösliche Guanylylcyclase (sGC) bindet und die Umwandlung von Guanosintriphosphat (GTP) in zyklisches Guanosinmonophosphat induziert. Der erhöhte cGMP-Spiegel aktiviert spezifische Proteinkinasen, die zu einer Absenkung der intrazellulären Kalziumkonzentration führen und damit eine Relaxation der glatten Muskulatur auslösen [73].

Im Gegensatz zum CO<sub>2</sub>-Bad wurde nach dem Kontroll-Bad eine signifikante Abnahme der oberflächlichen Sauerstoffsättigung verzeichnet. Der beobachtete negative Effekt könnte auf die kühle Wassertemperatur zurückzuführen sein.

Es ist beschrieben, dass besonders akrale Hautareale, wie in unserer Studie untersucht, besonders stark von einer kältebedingten Vasokonstriktion betroffen sind [9], [50]. Lokale Abkühlung bewirkt eine Vasokonstriktion über mehrere Mechanismen: Eine anfängliche Vasokonstriktion wird hierbei in erster Linie durch NA über den  $\alpha$ 2-adrenergen Rezeptor vermittelt [48]. Dabei verringert die lokale Kühlung die NA-Freisetzung durch die sympathischen Nerven, erhöht aber die Empfindlichkeit der  $\alpha$ 2C-adrenergen Rezeptoren in der glatten Gefäßmuskulatur [9]. Bei fortgesetzter lokaler Kühlung verringert wird die Aktivität der

endothelialen NO-Synthase verringert, wodurch die NO-vermittelte vasodilatatorische Reaktion reduziert wird, die andernfalls die Vasokonstriktion begrenzen würde [9], [49]. Darüber hinaus führt die lokale Abkühlung zu einem Anstieg der reaktiven Sauerstoffspezies in den Mitochondrien, was über Rho-Kinase (ROCK)-Signalmechanismen zu einer Zunahme der Vasokonstriktion führt [9]. In Zusammenschau könnte die Abnahme der SO<sub>2</sub> so durch einen reduzierten Blutzufuss mit einhergehendem reduzierten O<sub>2</sub>-Angebot erklärt werden.

An dieser Stelle ist zu erwähnen dass, vermutlich bei tieferen Temperaturen, ein antagonistischer Effekt namens kälteinduzierte Vasodilatation (CIVD) oder „Jagdreflex“ beobachtet werden könnte [51]. Die CIVD äußert sich in zyklischen, kurzzeitigen Anstiegen von Hautdurchblutung und Temperatur, die auf einen initialen Abfall während der Kälteexposition folgen. Vermutlich basiert dieses Phänomen auf dem wiederholten Öffnen und Schließen von der AVAs [9], [52]. Hierauf gibt es bei unseren Untersuchungen keinen Hinweis.

In Zusammenschau kompensiert der positive Effekt der CO<sub>2</sub>-Exposition offenbar die negativen Einflüsse des mit 22 °C kühle gewählten Wasserbades.

Für die Messungen der Sauerstoffsättigung in einer Gewebetiefe von 6–8 mm ergaben sich keine signifikanten Veränderungen - weder nach CO<sub>2</sub>- als auch nach *Ctl*-Bad. Dies könnte darauf hindeuten, dass das CO<sub>2</sub> nicht bis in diese tiefere Gewebeschicht diffundieren kann.

Bezüglich der relativen Hämoglobinmenge konnten in den oberflächlichen Messungen durch die CO<sub>2</sub>-Behandlung keine signifikanten Veränderungen festgestellt werden. Im Gegensatz dazu zeigte die Kontrollbehandlung mit 22 °C Leitungswasser eine signifikante Abnahme der relativen Hämoglobinmenge. Die relativen Hämoglobinmenge entspricht der Hämoglobinmenge im Messvolumen und ist – begründet durch die Messmethodik – ein Maß für den Füllungszustand des Gefäßes, insbesondere für die für die venöse Blutfüllung [90]. Es liegt nahe, dass der vasodilatative Effekt des CO<sub>2</sub>s – vermutlich vermittelt durch eine gesteigerte NO-Produktion – teilweise durch eine temperaturbedingte Vasokonstriktion kompensiert wird, während das Kontrollbad einen klaren vasokonstriktiven Effekt hervorruft.

In den tieferen Gewebeschichten von 6-8 mm ergaben sich erneut keine signifikanten Veränderungen. Erneut könnte dies darauf hindeuten, dass das CO<sub>2</sub> nicht bis in diese tiefere Gewebeschicht diffundieren kann.

Der oberflächliche Blutfluss nahm über alle Messpunkte gemittelt signifikant ab – sowohl nach der CO<sub>2</sub>-Behandlung als auch nach dem Kontrollbad – was vermutlich primär auf eine temperaturbedingte Vasokonstriktion zurückzuführen ist.

Während die Abnahme Blutflusses in 6-8 mm Tiefe nach der Kontrollbehandlung nicht stark genug war, um das Signifikanzniveau zu erreichen, zeigte sich bei der CO<sub>2</sub>-Behandlung eine relevante signifikante Abnahme. Daraus lässt sich schließen, dass die Temperatureffekte auch in den Gefäßen der tieferen Gewebsschichten eine Rolle spielen könnten.

Die Blutflussgeschwindigkeit zeigte ähnliche Ergebnisse wie der Blutfluss, was aufgrund der Herleitung dieser Messgröße nachvollziehbar ist. Sowohl nach der CO<sub>2</sub>-Behandlung als auch nach dem Kontrollbad kam es über alle Messpunkte hinweg zu einer signifikanten Abnahme der Blutflussgeschwindigkeit. Interessanterweise war dieser Rückgang nicht nur in den oberflächlichen Messungen, sondern auch in den tieferen Gewebeschichten signifikant – sowohl nach der Kontrollbehandlung als auch nach der CO<sub>2</sub>-Behandlung. Dies deutet erneut darauf hin, dass der kühlende Effekt des Bades – am über eine kältebedingte Vasokonstriktion – auch in tieferen Gewebeschichten messbar ist.

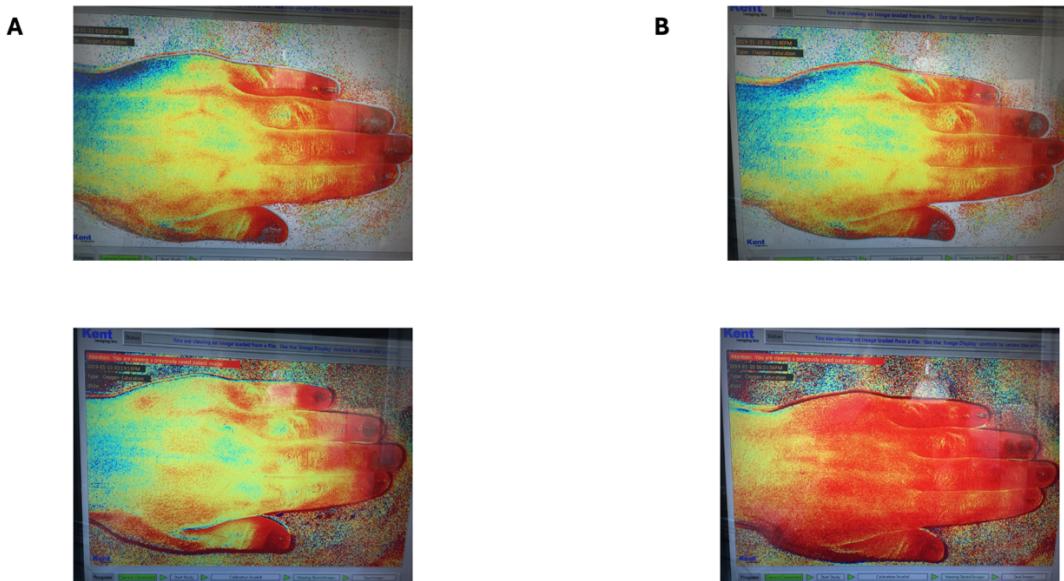
In unserer Untersuchung betrachteten wir nicht nur die unmittelbaren Auswirkungen der Wasserarten, sondern analysierten auch deren Effekte über einen längeren Zeitraum, in dem wir Messungen 20, 30, 90, 120 und 150 Minuten nach Beginn des Handbades durchführten. Dabei zeigten sich interessante Ergebnisse: Die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins blieb bis zu zwei Stunden nach der Immersion in das CO<sub>2</sub>-Bad signifikant erhöht im Vergleich zu der Kontrollbehandlung. Künftige Untersuchungen sollten sich darauf konzentrieren, zu untersuchen, wie lange die SO<sub>2</sub> nach CO<sub>2</sub> Anwendung signifikant erhöht bleibt – unsere Untersuchungen endeten nach 150 Minuten. Im Gegensatz dazu sank der Blutfluss unmittelbar nach Beendigung des CO<sub>2</sub>-Bades. Der initiale Anstieg des Flows mit nachgeschaltetem raschem Abfall könnte einerseits auf einen verzögerten Eintritt der temperaturbedingten Vasokonstriktion hindeuten. Anderseits könnte die durch den Bohr Effekt optimierte Sauerstoffabgabe in zweiter Instanz zur Adaption des Zuflusses durch eine sekundäre Vasokonstriktion führen.

Passende Ergebnisse wurden von Sommer et al. 2002 präsentiert: Hierbei wurden die mittels O<sub>2</sub>C detektieren Parameter SO<sub>2</sub> sowie Blutfluss mit dem durch subkutane pO<sub>2</sub>-Elektrode gemessenen Sauerstoffpartialdrucks (PsqO<sub>2</sub>) während Ganzkörpererwärmung und normobarer

Hyperoxie an freiwilligen Probanden verglichen: Es zeigte sich eine signifikante Korrelation für die Veränderungen von SO<sub>2</sub>, Flow und PsqO<sub>2</sub> während der Ganzkörpererwärmung. Keine Korrelation wurde zwischen SO<sub>2</sub> und PsqO<sub>2</sub> während der Verabreichung von 100 % Sauerstoff festgestellt. Allerdings konnte zusätzlich gefunden werden: Während PsqO<sub>2</sub> während der normobaren Hyperoxie anstieg, blieb SO<sub>2</sub> unverändert und BF nahm ab [104]. Interpretationen dieser Arbeit stützten sich in erster Linie auf die Diskrepanz von PsqO<sub>2</sub> und SO<sub>2</sub> unter normobarer Hyperoxie; einen Ansatz zur Begründung des Rückgangs im Blutfluss wurde nicht präsentiert. Der Grund für die beschriebene Diskrepanz könnte darin liegen, dass die kapillarvenöse Sauerstoffsättigung, die durch SO<sub>2</sub> widergespiegelt wird, nicht messbar erhöht ist, da die gesamte Sauerstoffzufuhr zum Gewebe während normobarer Hyperoxie nicht erhöht ist (BF nimmt ab und die Menge an physikalisch gelöstem Sauerstoff ist gering), während PsqO<sub>2</sub> erhöht ist, da es durch unverhältnismäßig hohen arteriellen pO<sub>2</sub> verzerrt wird.

Insgesamt deuten die vorliegenden Ergebnisse darauf hin, dass CO<sub>2</sub> insbesondere in oberflächlichen Gewebeschichten eine Verbesserung der Sauerstoffversorgung bewirkt, während tiefere Gewebebereiche nicht signifikant beeinflusst werden. Dies lässt sich am wahrscheinlichsten durch eine gesteigerte NO-Produktion sowie den Bohr-Effekt erklären. Besonders im Kontext des Raynaud-Phänomens könnten CO<sub>2</sub>-Bäder eine potenzielle therapeutische Relevanz besitzen, da die Pathophysiologie dieser Erkrankung primär die in der Haut in der Dermis lokalisierten Arteriolen betrifft, welche durch das CO<sub>2</sub> erreicht werden könnten. Der fehlende Effekt in tieferen Gewebsschichten könnte auf ein unzureichendes Diffusionspotential von CO<sub>2</sub> in diese Gewebsschichten bzw. auf eine zu niedrig gewählte Wassertemperatur hinweisen.

In der Rückschau unserer Untersuchungen wurden die Interpretationen unserer Ergebnisse durch die Wahl der Wassertemperatur deutlich erschwert. In den Voruntersuchungen zu dieser Arbeit nutzten wir zur Auswahl der Wassertemperatur die multispektrale Kamera von Kent Imaging Inc. Abb. 17 zeigt eine exemplarische Aufnahme der Multispektralkamera, wie sie uns zur Einschätzung der Temperaturwahl diente.



**Abbildung 17. Multispektralaufnahmen der linken Hand prä (oben) und post (unten) dem 15-minütigen Eintauchen in das 22 °C temperierte Wasserbad**

Während sich im nicht-karbonisierten Wasserbad (A) kein Unterschied zwischen den beiden Messpunkten detektieren lässt, so kommt es im CO<sub>2</sub> angereicherten Wasserbad (B) nach kürzester Zeit zu einer Zunahme der Gewebssauerstoffsättigung.

Zu sehen ist, dass wir vor Durchführung der Studie eine deutliche Zunahme der Sauerstoffsättigung unter 22°C abgebildeten. Die Kameraaufnahmen ermöglichten eine flächenhafte, anschauliche und direkte Darstellung der jeweiligen Effekte, erfasste jedoch primär die oberflächlichen Messwerte. Der Hersteller gibt hierfür eine Eindringtiefe des Nahinfraroten Lichtes von 2-3 mm an [78]. Da sich die Untersuchungen in unserer Studie unter Verwendung des O<sub>2</sub>C-Verfahrens dann folgend auf Tiefen von 1-2 mm sowie 6-8mm konzentrierten, waren die Veränderungen in den tieferen Gewebsschichten zunächst nicht absehbar. Zukünftige Voruntersuchungen zur optimalen Wahl der Wassertemperatur sollten unter Hinzunahme des O<sub>2</sub>C-Gerätes wiederholt werden. Innerhalb dieser Methodik sollte die Wassertemperatur so gewählt werden, dass es in der Kontrollgruppe nach Leitungswasseranwendung zu ausbleibender Veränderung der Parameter kommt. So könnte man den Effekt der Temperatur und die dadurch erschwerte Interpretation eliminieren.

Eine differenzierte Betrachtung der Ergebnisse in Abhängigkeit von den gewählten Messpunkten ist essenziell. Die vielversprechendsten Effekte wurden an der Handaußenfläche beobachtet, weshalb sich unsere weiterführenden Analysen in Bezug auf den Zeitverlauf auf diesen Messpunkt konzentrierten. Hier zeigte sich bezüglich der oberflächlichen SO<sub>2</sub> die mit einer Mittelwertdifferenz von 34,62 deutlichste Zunahme nach CO<sub>2</sub>-Behandlung. Zudem zeigte sich an diesem Messpunkt der oberflächliche Blutfluss mit positiver Tendenz, auch wenn hier

keine Signifikanz erreicht werden konnte. In den tiefen Messungen zeigten sich bezüglich beider Parameter erneut eine tendenzielle Zunahme, welche das Signifikanzniveau verfehlten. Auch diese Ergebnisse waren vor Durchführung der Untersuchung mit der Multispektralkamera nicht absehbar. Die Hinzunahme zusätzlicher Messpunkte, die den Bereich der Handinnenfläche repräsentieren, könnten zu aussagekräftigeren Gesamtergebnissen führen.

Ein möglicher Grund für die Unterschiede zwischen den Messpunkten könnte die verschiedene Beschaffenheit der Felder- und Leistenhaut sein.  $\text{CO}_2$  könnte an den Messpunkten Handinnenfläche, Ringfinger und Mittelfinger aufgrund der dickeren Hornschicht schlechter diffundieren, gleichzeitig beeinflusst die dadurch verlängerte Diffusionsstrecke bis zu den ersten Hautgefäßen im Stratum papillare maßgeblich den Effekt des  $\text{CO}_2$ s im Rahmen des Fick'schen Diffusionsgesetzes. Diese Aspekte sind besonders im Hinblick auf das Raynaud-Phänomen relevant, da die betroffenen Akren zu einem großen Anteil von Leistenhaut bedeckt sind. Dies könnte die Behandlung mit  $\text{CO}_2$  einen Nachteil gegenüber alternativen, nicht transkutanen Therapieansätzen darstellen.

Weitere Schwachpunkte in der durch uns gewählten Vorgangsweise müssen zugestanden werden: Es sei angemerkt, dass, obwohl eine Kontrolle der Wassertemperatur vor Immersion durchgeführt wurde, diese nicht kontinuierlich während des 15-minütigen Bades kontrolliert wurde, wie es beispielsweise in der Studie von Ogoh et al. [94] der Fall war [77]. Dies führt fortschreitend zu einem Temperaturausgleich mit der Raumtemperatur, welche nicht explizit erhoben und für die Versuchstage angeglichen wurde. Auch könnte durch die Temperaturänderung während der Durchführung des Bades direkt die Löslichkeit des  $\text{CO}_2$  beeinflusst worden sein. Ähnliches gilt für die Messungen zu den nachfolgenden Zeitpunkten, da die Hände der Probanden nicht temperaturgeregelt wurden.

Des Weiteren muss diskutiert werden, ob es sinnvoll ist,  $\text{CO}_2$ - und *Ctl*-Bad an unterschiedlichen Tagen durchzuführen. Betrachtet man die einzelnen Messpunkte separiert voneinander, so liegen signifikant unterschiedliche Ausgangswerte vor Durchführung der Bäder vor. Zu vermuten ist, dass Faktoren wie Umgebungstemperatur, Hauttemperatur, Tageszeitpunkt als auch emotionaler Zustand und Stoffwechselleage des jeweiligen Probanden an dem Tag eine entscheidende Rolle gespielt haben können. Hier sollte man erwägen, den Vergleich der Bäder an der linken sowie rechten Hand parallel durchzuführen.

Auch das O2C-Geräts selbst, als System zu Erfassung hämodynamischer Parameter in der Mikrozirkulation, unterliegt Einflüssen, die die Validität und Reproduzierbarkeit der Messergebnisse beeinträchtigen können: Besonders die Blutflussmessung erweist sich als äußerst anfällig für Bewegungsartefakte. Eine absolut bewegungsfreie Applikation der Sonde ist daher essenziell, um Artefakte zu minimieren. Zu den für das O2C beschriebenen häufigsten Fehlerquellen zählen Bewegungen des Sondenschlauchs infolge unzureichender Zugentlastung, Atembewegungen sowie kaum sichtbares Muskelzittern des Patienten. Diese Bewegungsartefakte können die Signalqualität erheblich beeinträchtigen und zu fehlerhaften Blutflusswerten führen. Im Gegensatz dazu zeigen sich Messungen der Sauerstoffsättigung und der relativen Hämoglobinkonzentration weitgehend unabhängig von Bewegungen und gelten als stabil, selbst unter erschwerten klinischen Bedingungen [88]. Dennoch sind auch diese Parameter nicht vollständig artefaktfrei: Ein wesentlicher Störfaktor stellt Fremdlicht dar. Obwohl das Gerät eine Fremdlichtkorrektur durchführt, können starke externe Lichtquellen die Messergebnisse verfälschen. Besonders kritisch ist der Einfluss wechselnder Lichtverhältnisse, da diese die spektrale Qualität des detektierten Hämoglobinsignals mindern und somit zu inkorrekten Werten für die Sauerstoffsättigung und Hämoglobinkonzentration führen können. Zudem ist bei allen Messungen der Mikrozirkulation die Druckempfindlichkeit der Gewebe-Sensor-Schnittstelle zu berücksichtigen. Eine zu starke Anpressung der Sonde kann nicht nur das lokale Gewebe kompromittieren, sondern insbesondere an Extremitäten den venösen Abfluss beeinträchtigen und so die Messergebnisse verfälschen [88]. In unserer Untersuchung wurde die verwendete Flachsonde aufgrund der oft noch feuchten Hautbeschaffenheit nicht mit Klebstoff oder Tape fixiert. Der Druck wurde subjektiv durch die die Studie durchführende Person gleich gewählt, was potenziell zu deutlichen Messfehlern führen kann. Insgesamt verdeutlichen diese Aspekte die Notwendigkeit einer sorgfältigen und standardisierten Sondenapplikation sowie der Kontrolle umgebungsbedingter Einflussfaktoren, um valide und reproduzierbare Daten zur Mikrozirkulation zu erhalten. Die zur Ermittlung Evaluation des O2C-Gerätes durchgeführten Studien arbeiteten durchgehend mittels mechanischer Fixierung der Sonde mittels Kleber bzw. Folierung [100], [101], [102], [103].

Insgesamt untermauern unsere Ergebnisse den oberflächlichen, möglicherweise langfristigen Effekt von CO<sub>2</sub>-Bädern auf die Sauerstoffversorgung der Haut und liefern Ansatzpunkte für weitere, optimierte Studien. Hierbei sollten Einschränkungen bezüglich der Wahl von Wassertemperatur, Messpunkten, sowie Messzeitpunkten berücksichtigt werden und Messfehler durch parallelisierte Kontrollen, kontinuierliche Temperaturüberwachung und standardisierte Sondenfixierung minimiert werden. Nichtsdestotrotz könnten CO<sub>2</sub>-Bäder eine

vielversprechende, kostengünstige und nicht-invasive Therapieoption zur Behandlung des Raynaud-Phänomens darstellen.

### 3. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1. Aufbau der Epidermis am histologischen Präparat.....	8
Abbildung 2. Aufbau der Epidermis und Dermis am histologischen Präparat.....	9
Abbildung 3. Größenrelation der Epidermis zu Dermis und Subkutis am histologischen Präparat.....	10
Abbildung 4. Mikrovaskulatur der Haut.....	11
Abbildung 5. Schematische Darstellung der Induktion von eNOS durch Bicarbonationen.....	20
Abbildung 6. Schematische Darstellung des Bohr-Effekts .....	21
Abbildung 7. Kent Camera KC103 von Kent Imaging Inc. ....	24
Abbildung 8. Screenshot des Monitors der Kent Camera von Kent Imaging Inc. ....	25
Abbildung 9. GPH <sup>TM</sup> -Membran.....	28
Abbildung 10. Schematische Darstellung des Carbothera <sup>TM</sup> K104-Geräts.....	29
Abbildung 11. Das Gastec Gasprüfröhrchensystem.....	30
Abbildung 12. O2C („Oxygen-To-See“) von LEA Medizintechnik GmbH.....	31
Abbildung 13. Schematische Darstellung der Messprinzipien des O2Cs .....	32
Abbildung 14. Veränderungen im Absorptionsspektrum des Hämoglobins in Abhängigkeit von der Sauerstoffsättigung.....	34
Abbildung 15. Messpunkte zur Erfassung der mittels O2C erfassten Daten.....	37
Abbildung 16. Oberflächliche SO <sub>2</sub> und oberflächlicher Flow verglichen zwischen den beiden Wasserarten CO <sub>2</sub> und Ctl über die Zeit.....	67
Abbildung 17. Multispektralaufnahmen der linken Hand prä (oben) und post (unten) dem 15-minütigen Eintauchen in das 22 °C temperierte Wasserbad.....	77
 Tabelle 1. Ein- und Ausschlusskriterien .....	26
Tabelle 2. Referenzwerte O2C.....	36
Tabelle 3. Beschreibung der Stichprobe anhand von Alter, Größe und Gewicht .....	41
Tabelle 4. Paarweise Vergleiche – SO <sub>2</sub> oberflächlich .....	43
Tabelle 5. Paarweise vergleiche - rHb oberflächlich.....	46
Tabelle 6. Paarweise vergleiche - Flow oberflächlich.....	49
Tabelle 7. Paarweise vergleiche - Velocity oberflächlich.....	52
Tabelle 8. Paarweise Vergleiche - SO <sub>2</sub> tief.....	55
Tabelle 9. Paarweise Vergleiche - rHb tief.....	58
Tabelle 10. Paarweise Vergleiche - Flow tief .....	61
Tabelle 11. Paarweise Vergleiche - Velocity tief .....	64
Tabelle 12. Deskriptive Statistik Zeitverlauf .....	66

## 4. Literatur- und Quellenverzeichnis

- [1] M. Maciejewska, M. Sikora, C. Maciejewski, R. Alda-Malicka, J. Czuwara, und L. Rudnicka, „Raynaud’s Phenomenon with Focus on Systemic Sclerosis“, *J. Clin. Med.*, Bd. 11, Nr. 9, S. 2490, Apr. 2022, doi: 10.3390/jcm11092490.
- [2] F. Hafner, „Primäres Raynaud-Phänomen“, in *Klinische Angiologie*, U. Hoffmann, N. Weiss, M. Czihal, K. S. Mühlberg, und E. Freisinger, Hrsg., Berlin, Heidelberg: Springer, 2020, S. 1–8. doi: 10.1007/978-3-662-61379-5\_106-1.
- [3] A. L. Herrick, „Pathogenesis of Raynaud’s phenomenon“, *Rheumatol. Oxf. Engl.*, Bd. 44, Nr. 5, S. 587–596, Mai 2005, doi: 10.1093/rheumatology/keh552.
- [4] F. M. Wigley und N. A. Flavahan, „Raynaud’s Phenomenon“, *N. Engl. J. Med.*, Bd. 375, Nr. 6, S. 556–565, Aug. 2016, doi: 10.1056/NEJMra1507638.
- [5] J. A. Block und W. Sequeira, „Raynaud’s phenomenon“, *The Lancet*, Bd. 357, Nr. 9273, S. 2042–2048, Juni 2001, doi: 10.1016/S0140-6736(00)05118-7.
- [6] O. Sander und C. Dechant, „Sekundäres Raynaud-Phänomen“, in *Klinische Angiologie*, U. Hoffmann, N. Weiss, M. Czihal, K. S. Mühlberg, und E. Freisinger, Hrsg., Berlin, Heidelberg: Springer, 2020, S. 1–9. doi: 10.1007/978-3-662-61379-5\_107-1.
- [7] J. Belch *u. a.*, „ESVM guidelines – the diagnosis and management of Raynaud’s phenomenon“, *Vasa*, Bd. 46, Nr. 6, S. 413–423, Okt. 2017, doi: 10.1024/0301-1526/a000661.
- [8] I. Nawaz, Y. Nawaz, E. Nawaz, M. R. Manan, und A. Mahmood, „Raynaud’s Phenomenon: Reviewing the Pathophysiology and Management Strategies“, *Cureus*, Bd. 14, Nr. 1, S. e21681, doi: 10.7759/cureus.21681.
- [9] B. K. Alba, J. W. Castellani, und N. Charkoudian, „Cold-induced cutaneous vasoconstriction in humans: Function, dysfunction and the distinctly counterproductive“, *Exp. Physiol.*, Bd. 104, Nr. 8, S. 1202–1214, 2019, doi: 10.1113/EP087718.
- [10] J. P. Cooke *u. a.*, „Role of digital artery adrenoceptors in Raynaud’s disease“, *Vasc. Med. Lond. Engl.*, Bd. 2, Nr. 1, S. 1–7, 1997, doi: 10.1177/1358863X9700200101.
- [11] R. R. Freedman, „Raynaud’s disease and phenomenon“, in *Psychophysiological disorders: Research and clinical applications*, in Application and practice in health psychology series. , Washington, DC, US: American Psychological Association, 1993, S. 245–267. doi: 10.1037/10142-007.
- [12] „Sklerodermie - Braun-Falco’s Dermatologie, Venerologie und Allergologie - eMedpedia | springermedizin.de“. Zugriffen: 22. April 2025. [Online]. Verfügbar unter: [https://www.springermedizin.de/emedpedia/detail/braun-falcos-dermatologie-venerologie-und-allergologie/sklerodermie?epediaDoi=10.1007%2F978-3-662-49546-9\\_53](https://www.springermedizin.de/emedpedia/detail/braun-falcos-dermatologie-venerologie-und-allergologie/sklerodermie?epediaDoi=10.1007%2F978-3-662-49546-9_53)
- [13] A. L. Herrick, „Contemporary management of Raynaud’s phenomenon and digital ischaemic complications“, *Curr. Opin. Rheumatol.*, Bd. 23, Nr. 6, S. 555–561, Nov. 2011, doi: 10.1097/BOR.0b013e32834aa40b.
- [14] S. Marchesi *u. a.*, „Prostaglandin E1 improves endothelial function in critical limb ischemia“, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, Bd. 41, Nr. 2, S. 249–253, Feb. 2003, doi: 10.1097/00005344-200302000-00014.
- [15] M. Wang, X.-F. Cai, S.-M. Zhang, S.-Y. Xia, W.-H. Du, und Y.-L. Ma, „Alprostadiol alleviates liver injury in septic rats via TLR4/NF-κB pathway“, *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, Bd. 25, Nr. 3, S. 1592–1599, Feb. 2021, doi: 10.26355/eurrev\_202102\_24869.
- [16] M. W. Hüllner, „Rolle der Aldehyddehydrogenase Typ 2 für die Bioaktivierung von Nitroglycerin in menschlichen Venen“, Staats- und Universitätsbibliothek Hamburg Carl

- von Ossietzky, 2007. Zugegriffen: 6. April 2025. [Online]. Verfügbar unter: <https://ediss.sub.uni-hamburg.de/handle/ediss/1994>
- [17] L. J. Ignarro, „After 130 years, the molecular mechanism of action of nitroglycerin is revealed“, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, Bd. 99, Nr. 12, S. 7816–7817, Juni 2002, doi: 10.1073/pnas.132271799.
- [18] A. Kreuter *u. a.*, „S2k-Leitlinie: Diagnostik und Therapie der zirkumskripten Sklerodermie“, *JDDG J. Dtsch. Dermatol. Ges.*, Bd. 22, Nr. 4, S. 605–621, Apr. 2024, doi: 10.1111/ddg.15328\_g.
- [19] R. R. Freedman, P. Ianni, und P. Wenig, „Behavioral treatment of Raynaud’s disease“, *J. Consult. Clin. Psychol.*, Bd. 51, Nr. 4, S. 539–549, Aug. 1983, doi: 10.1037/0022-006x.51.4.539.
- [20] L. Caspary und A. Creutzig, „Raynaud-Phänomen - Aktuelle Diagnostik und Therapie“, *DMW - Dtsch. Med. Wochenschr.*, Bd. 131, Nr. 21, S. 1223–1227, Mai 2006, doi: 10.1055/s-2006-941757.
- [21] R. Appiah, S. Hiller, L. Caspary, K. Alexander, und A. Creutzig, „Treatment of primary Raynaud’s syndrome with traditional Chinese acupuncture“, *J. Intern. Med.*, Bd. 241, Nr. 2, S. 119–124, Feb. 1997, doi: 10.1046/j.1365-2796.1997.91105000.x.
- [22] G. Sandqvist, A. Akesson, und M. Eklund, „Evaluation of paraffin bath treatment in patients with systemic sclerosis“, *Disabil. Rehabil.*, Bd. 26, Nr. 16, S. 981–987, Aug. 2004, doi: 10.1080/09638280410001702405.
- [23] U. Lange, S. Bogensperger, I. H. Tarner, und U. Müller-Ladner, „The effects of a single carbon dioxide and hot water hand bath on acral perfusion in systemic sclerosis: A randomized, clinical study“, *J. Scleroderma Relat. Disord.*, Bd. 4, Nr. 2, S. 160–162, Juni 2019, doi: 10.1177/2397198318819919.
- [24] G. Werner und U. Eder, „Kohlensäurebäder in der Behandlung der progressiven systemischen Sklerodermie“, *Aktuelle Rheumatol.*, Bd. 21, Nr. 04, S. 213–216, Juli 1996, doi: 10.1055/s-2008-1043718.
- [25] J. Schmidt, P. Monnet, B. Normand, und R. Fabry, „Microcirculatory and clinical effects of serial percutaneous application of carbon dioxide in primary and secondary Raynaud’s phenomenon“, *VASA Z. Gefäßkrankheiten*, Bd. 34, Nr. 2, S. 93–100, Mai 2005, doi: 10.1024/0301-1526.34.2.93.
- [26] P. Fritsch, Hrsg., „Grundlagen“, in *Dermatologie und Venerologie für das Studium*, Berlin, Heidelberg: Springer, 2009, S. 6–76. doi: 10.1007/978-3-540-79303-8\_2.
- [27] G. J. Tortora und B. H. Derrickson, *Principles of Anatomy and Physiology*. John Wiley & Sons, 2018.
- [28] J. A. Segre, „Epidermal barrier formation and recovery in skin disorders“, *J. Clin. Invest.*, Bd. 116, Nr. 5, S. 1150–1158, Mai 2006, doi: 10.1172/JCI28521.
- [29] L. Eckhart, S. Lippens, E. Tschachler, und W. Declercq, „Cell death by cornification“, *Biochim. Biophys. Acta*, Bd. 1833, Nr. 12, S. 3471–3480, Dez. 2013, doi: 10.1016/j.bbamcr.2013.06.010.
- [30] E. Proksch, J. M. Brandner, und J.-M. Jensen, „The skin: an indispensable barrier“, *Exp. Dermatol.*, Bd. 17, Nr. 12, S. 1063–1072, Dez. 2008, doi: 10.1111/j.1600-0625.2008.00786.x.
- [31] C. M. Oprisch, „Charakterisierung der Rolle von GDF-5 in der Wundheilung von Verbrennungswunden anhand eines ex vivo-Verbrennungsmodell der menschlichen Haut“, 2022.
- [32] J. Kanitakis, „Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin“, *Eur. J. Dermatol. EJD*, Bd. 12, Nr. 4, S. 390–399; quiz 400–401, 2002.
- [33] K. Sato und F. Sato, „Individual variations in structure and function of human eccrine sweat gland“, *Am. J. Physiol.*, Bd. 245, Nr. 2, S. R203-208, Aug. 1983, doi: 10.1152/ajpregu.1983.245.2.R203.

- [34] C. C. Zouboulis, „Human skin: an independent peripheral endocrine organ“, *Horm. Res.*, Bd. 54, Nr. 5–6, S. 230–242, 2000, doi: 10.1159/000053265.
- [35] A. K. Kersten, „Die Wirkung von topischen Lokalanästhetika auf die Mikrozirkulation der Haut“, Eberhard Karls Universität zu Tübingen, 2021.
- [36] I. M. Braverman, „The cutaneous microcirculation: ultrastructure and microanatomical organization“, *Microcirc. N. Y. N* 1994, Bd. 4, Nr. 3, S. 329–340, Sep. 1997, doi: 10.3109/10739689709146797.
- [37] I. M. Braverman, „The cutaneous microcirculation“, *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.*, Bd. 5, Nr. 1, S. 3–9, Dez. 2000, doi: 10.1046/j.1087-0024.2000.00010.x.
- [38] N. Charkoudian, „Skin Blood Flow in Adult Human Thermoregulation: How It Works, When It Does Not, and Why“, *Mayo Clin. Proc.*, Bd. 78, Nr. 5, S. 603–612, Mai 2003, doi: 10.4065/78.5.603.
- [39] D. L. Kellogg, „In vivo mechanisms of cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans during thermoregulatory challenges“, *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985, Bd. 100, Nr. 5, S. 1709–1718, Mai 2006, doi: 10.1152/japplphysiol.01071.2005.
- [40] „Physiologie der Haut“. Zugegriffen: 7. März 2025. [Online]. Verfügbar unter: <http://physiologie.cc/XVIII.8.htm>
- [41] S. Lutze, T. Westphal, M. Jünger, und A. Arnold, „Mikrozirkulationsstörungen der Haut“, *JDDG J. Dtsch. Dermatol. Ges.*, Bd. 22, Nr. 2, S. 236–266, 2024, doi: 10.1111/ddg.15242\_g.
- [42] Y. Ootsuka und M. Tanaka, „Control of cutaneous blood flow by central nervous system“, *Temp. Multidiscip. Biomed. J.*, Bd. 2, Nr. 3, S. 392–405, Juli 2015, doi: 10.1080/23328940.2015.1069437.
- [43] „Kaliumkanäle - Altmeyers Enzyklopädie - Fachbereich Innere Medizin“. Zugegriffen: 24. April 2025. [Online]. Verfügbar unter: <https://www.altmeyers.org/de/innere-medizin/kaliumkanale-117989>
- [44] „Regulation der Organdurchblutung - via medici“, via medici: leichter lernen – mehr verstehen. Zugegriffen: 7. März 2025. [Online]. Verfügbar unter: <https://viamedici.thieme.de/lernmodul/541188/530950/regulation+der+organdurchblutung>
- [45] M. bei DocCheck, „Vasodilatation“, DocCheck Flexikon. Zugegriffen: 7. März 2025. [Online]. Verfügbar unter: <https://flexikon.doccheck.com/de/Vasodilatation>
- [46] A. Schröder, „Arylazoamidoxime und verwandte Substanzen als NO-Donoren“, TU Berlin, 2007.
- [47] J. M. Johnson, C. T. Minson, und D. L. Kellogg, „Cutaneous vasodilator and vasoconstrictor mechanisms in temperature regulation“, *Compr. Physiol.*, Bd. 4, Nr. 1, S. 33–89, Jan. 2014, doi: 10.1002/cphy.c130015.
- [48] J. M. Johnson, T. C. Yen, K. Zhao, und W. A. Kosiba, „Sympathetic, sensory, and nonneuronal contributions to the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling“, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, Bd. 288, Nr. 4, S. H1573-1579, Apr. 2005, doi: 10.1152/ajpheart.00849.2004.
- [49] G. J. Hodges, K. Zhao, W. A. Kosiba, und J. M. Johnson, „The involvement of nitric oxide in the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling in humans“, *J. Physiol.*, Bd. 574, Nr. Pt 3, S. 849–857, Aug. 2006, doi: 10.1113/jphysiol.2006.109884.
- [50] D. Brajkovic, M. B. Ducharme, und J. Frim, „Influence of localized auxiliary heating on hand comfort during cold exposure“, *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985, Bd. 85, Nr. 6, S. 2054–2065, Dez. 1998, doi: 10.1152/jappl.1998.85.6.2054.
- [51] T. Lewis, „Observations upon the reactions of the vessels of the human skin to cold“, *Heart*, Bd. 15, S. 177–208, 1930.
- [52] T. K. Bergersen, J. Hisdal, und L. Walløe, „Perfusion of the human finger during cold-induced vasodilatation“, *Am. J. Physiol.*, Bd. 276, Nr. 3, S. R731-737, März 1999, doi: 10.1152/ajpregu.1999.276.3.R731.

- [53] S. S. Cheung und H. A. M. Daanen, „Dynamic adaptation of the peripheral circulation to cold exposure“, *Microcirc. N. Y. N* 1994, Bd. 19, Nr. 1, S. 65–77, Jan. 2012, doi: 10.1111/j.1549-8719.2011.00126.x.
- [54] A. Ranker, „Kohlendioxid-Bäder (CO<sub>2</sub>-Bäder)“, *Phys. Med. Rehabil. Kurortmed.*, Bd. 30, Nr. 04, S. 193–198, Aug. 2020, doi: 10.1055/a-1198-1860.
- [55] M. Hashimoto und N. Yamamoto, „Decrease in heart rates by artificial CO<sub>2</sub> hot spring bathing is inhibited by beta1-adrenoceptor blockade in anesthetized rats“, *J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985*, Bd. 96, Nr. 1, S. 226–232, Jan. 2004, doi: 10.1152/japplphysiol.00812.2003.
- [56] „Erlenmeyer-Regel“. Zugegriffen: 6. März 2025. [Online]. Verfügbar unter: <https://www.chemie.de/lexikon/Erlenmeyer-Regel.html>
- [57] H. Matz, E. Orion, und R. Wolf, „Balneotherapy in dermatology“, *Dermatol. Ther.*, Bd. 16, Nr. 2, S. 132–140, 2003, doi: 10.1046/j.1529-8019.2003.01622.x.
- [58] A. Battisti-Charbonney, J. Fisher, und J. Duffin, „The cerebrovascular response to carbon dioxide in humans“, *J. Physiol.*, Bd. 589, Nr. Pt 12, S. 3039–3048, Juni 2011, doi: 10.1113/jphysiol.2011.206052.
- [59] W. Schnizer, R. Erdl, P. Schöps, und N. Seichert, „The effects of external CO<sub>2</sub> application on human skin microcirculation investigated by laser Doppler flowmetry“, *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.*, Bd. 4, Nr. 4, S. 343–350, 1985.
- [60] „Changes in Microvascular Diameter and Oxygen Tension Induced by Carbon Dioxide | Circulation Research“. Zugegriffen: 6. März 2025. [Online]. Verfügbar unter: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.RES.32.3.370>
- [61] B. Németh *u. a.*, „Transcutaneous Carbon Dioxide Treatment Is Capable of Reducing Peripheral Vascular Resistance in Hypertensive Patients“, *Vivo Athens Greece*, Bd. 32, Nr. 6, S. 1555–1559, 2018, doi: 10.21873/invivo.11414.
- [62] Y. Sakai *u. a.*, „A novel system for transcutaneous application of carbon dioxide causing an ‚artificial Bohr effect‘ in the human body“, *PLoS One*, Bd. 6, Nr. 9, S. e24137, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0024137.
- [63] B. R. Hartmann, E. Bassenge, und M. Pittler, „Effect of carbon dioxide-enriched water and fresh water on the cutaneous microcirculation and oxygen tension in the skin of the foot“, *Angiology*, Bd. 48, Nr. 4, S. 337–343, Apr. 1997, doi: 10.1177/000331979704800406.
- [64] R. Fabry *u. a.*, „Clinical and microcirculatory effects of transcutaneous CO<sub>2</sub> therapy in intermittent claudication. Randomized double-blind clinical trial with a parallel design“, *VASA Z. Gefasskrankheiten*, Bd. 38, Nr. 3, S. 213–224, Aug. 2009, doi: 10.1024/0301-1526.38.3.213.
- [65] M. Finzgar, Z. Melik, und K. Cankar, „Effect of transcutaneous application of gaseous carbon dioxide on cutaneous microcirculation“, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, Bd. 60, Nr. 4, S. 423–435, Aug. 2015, doi: 10.3233/CH-141898.
- [66] E. Proksch, „pH in nature, humans and skin“, *J. Dermatol.*, Bd. 45, Nr. 9, S. 1044–1052, Sep. 2018, doi: 10.1111/j.1346-8138.14489.
- [67] S. L. Percival, S. McCarty, J. A. Hunt, und E. J. Woods, „The effects of pH on wound healing, biofilms, and antimicrobial efficacy“, *Wound Repair Regen. Off. Publ. Wound Heal. Soc. Eur. Tissue Repair Soc.*, Bd. 22, Nr. 2, S. 174–186, 2014, doi: 10.1111/wrr.12125.
- [68] R. E. Tomlinson und M. J. Silva, „Skeletal Blood Flow in Bone Repair and Maintenance“, *Bone Res.*, Bd. 1, Nr. 4, S. 311–322, Dez. 2013, doi: 10.4248/BR201304002.
- [69] Y. Kuroiwa *u. a.*, „Topical cutaneous application of CO<sub>2</sub> accelerates bone healing in a rat femoral defect model“, *BMC Musculoskelet. Disord.*, Bd. 20, Nr. 1, S. 237, Mai 2019, doi: 10.1186/s12891-019-2601-5.

- [70] M. Grönroos und A. Pertovaara, „A selective suppression of human pain sensitivity by carbon dioxide: central mechanisms implicated“, *Eur. J. Appl. Physiol.*, Bd. 68, Nr. 1, S. 74–79, 1994, doi: 10.1007/BF00599245.
- [71] B. Stengg, C. Prager, und K. Ammer, „Komplexes regionales Schmerzsyndrom (CRPS 1 und 2)“, *ResearchGate*, 2003, Zugegriffen: 7. März 2025. [Online]. Verfügbar unter: [https://www.researchgate.net/publication/245023011\\_Komplexes\\_regionales\\_Schmerzsyndrom\\_CRPS\\_1\\_und\\_2](https://www.researchgate.net/publication/245023011_Komplexes_regionales_Schmerzsyndrom_CRPS_1_und_2)
- [72] T. Yamazaki *u. a.*, „The effects of bathing in neutral bicarbonate ion water“, *Sci. Rep.*, Bd. 11, Nr. 1, S. 21789, Nov. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-01285-4.
- [73] „CV Physiology | Nitric Oxide“. Zugegriffen: 6. März 2025. [Online]. Verfügbar unter: <https://cvphysiology.com/blood-flow/bf011>
- [74] M. Berenbrink, „Transport and exchange of respiratory gases in the blood | Evolution of the Bohr Effect“, in *Encyclopedia of Fish Physiology*, A. P. Farrell, Hrsg., San Diego: Academic Press, 2011, S. 921–928. doi: 10.1016/B978-0-12-374553-8.00114-3.
- [75] A. Benner, A. K. Patel, K. Singh, und A. Dua, „Physiology, Bohr Effect“, in *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025. Zugegriffen: 7. April 2025. [Online]. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526028/>
- [76] *Endspurt Vorklinik: Biochemie 3: Die Skripten fürs Physikum*, 5. aktualisierte Auflage. in *Endspurt Vorklinik*. Stuttgart: Thieme, 2020.
- [77] S. Germanos, „Untersuchung der Wirkungsmechanismen von CO<sub>2</sub>-haltigen Lösungen auf die lokale Durchblutung der menschlichen Haut“, Heinrich Heine Universität, 2023.
- [78] „Technology & Research for SnapshotNIR“, Kent Imaging. Zugegriffen: 13. März 2025. [Online]. Verfügbar unter: <https://www.kentimaging.com/technology-research>
- [79] „The Science Behind SnapshotNIR“, Kent Imaging. Zugegriffen: 7. April 2025. [Online]. Verfügbar unter: <https://www.kentimaging.com/news-articles/the-science-behind-snapshotnir>
- [80] A. S. Landsman, D. Barnhart, und M. Sowa, „Near-Infrared Spectroscopy Imaging for Assessing Skin and Wound Oxygen Perfusion“, *Clin. Podiatr. Med. Surg.*, Bd. 35, Nr. 3, S. 343–355, Juli 2018, doi: 10.1016/j.cpm.2018.02.005.
- [81] Kent Imaging Inc., *Kent Camera – Multispectral Imaging Device, KC103, Operating Instructions, DC076-07, Canada*.
- [82] P. Tappia, G. Pierce, und B. Ramjiawan, „Evaluation of the clinical utility, efficacy and safety of a novel medical device for the treatment of foot ulcers: Rationale and design of the carbothera trial“, *Curr. Res. Cardiol.*, Bd. 03, 01 2016, doi: 10.4172/2368-0512.1000076.
- [83] „Filtration Technology | Mitsubishi Cleansui“. Zugegriffen: 11. April 2025. [Online]. Verfügbar unter: <https://mitsubishicleansui.vn/en/filtration-technology/>
- [84] P. S. Tappia *u. a.*, „A Novel Bathing Therapeutic Approach for Diabetic Foot Ulcers“, *Appl. Sci.*, Bd. 11, Nr. 18, Art. Nr. 18, Jan. 2021, doi: 10.3390/app11188402.
- [85] Gastec Corporation, „Anleitung für Kohlendioxid-Prüfröhrchen“.
- [86] D. Ehrl *u. a.*, „Impact of Postoperative Norepinephrine Administration on Free Flap Flow“, *J. Clin. Med.*, Bd. 13, Nr. 24, S. 7816, Dez. 2024, doi: 10.3390/jcm13247816.
- [87] J. Valentini, M. Sigl, C. Dunckel, J. Krisam, K. Amendt, und H. J. Greten, „Can acupuncture increase microcirculation in peripheral artery disease and diabetic foot syndrome? – a pilot study“, *Front. Med.*, Bd. 11, S. 1371056, Feb. 2024, doi: 10.3389/fmed.2024.1371056.
- [88] „O2C: FAQs“, lea.de. Zugegriffen: 14. März 2025. [Online]. Verfügbar unter: <http://www.lea.de/deu/txFAQ.htm>
- [89] O. Schedler, „Physikalische Prinzipien der Laser-Doppler-Flowspektrometrie – O2 to See (O2S)“, *Berl. Med. J.*, Bd. 5, Nr. 1, 2023, doi: 10.36210.
- [90] „O2C: Messprinzip“, lea.de. Zugegriffen: 14. März 2025. [Online]. Verfügbar unter: <http://www.lea.de/deu/txMessprinzip.html>

- [91] „LEA Medizintechnik GmbH: Innovative medical technology“. Zugegriffen: 7. April 2025. [Online]. Verfügbar unter: <http://www.lea.de/deu/indexd.html>
- [92] M. Müller-Eschner, J. Strunk, U. Müller-Ladner, und U. Lange, „Auswirkungen von CO2-Handbädern bei systemischer Sklerose mit Raynaud-Syndrom“, *Phys. Med. Rehabil. Kurortmed.*, Bd. 20, S. A26, Juli 2012, doi: 10.1055/s-0030-1265653.
- [93] E. Savin *u. a.*, „Vasomotor effects of transcutaneous CO<sub>2</sub> in stage II peripheral occlusive arterial disease“, *Angiology*, Bd. 46, Nr. 9, S. 785–791, Sep. 1995, doi: 10.1177/000331979504600904.
- [94] S. Ogoh *u. a.*, „Acute vascular effects of carbonated warm water lower leg immersion in healthy young adults“, *Physiol. Rep.*, Bd. 4, Nr. 23, S. e13046, Dez. 2016, doi: 10.14814/phy2.13046.
- [95] U. Wollina *u. a.*, „The Role of Complex Treatment in Mixed Leg Ulcers - A Case Report of Vascular, Surgical and Physical Therapy“, *Open Access Maced. J. Med. Sci.*, Bd. 6, Nr. 1, S. 67–70, Jan. 2018, doi: 10.3889/oamjms.2018.023.
- [96] N. Shalan, A. Al-Bazzaz, I. Al-Ani, F. Najem, und M. Al-Masri, „Effect of Carbon Dioxide Therapy on Diabetic Foot Ulcer“, *J. Diabetes Mellit.*, Bd. 5, Nr. 4, Art. Nr. 4, Sep. 2015, doi: 10.4236/jdm.2015.54035.
- [97] A. Diji, „Local vasodilator action of carbon dioxide on blood vessels of the hand“, *J. Appl. Physiol.*, Bd. 14, Nr. 3, S. 414–416, Mai 1959, doi: 10.1152/jappl.1959.14.3.414.
- [98] A. T. Tucker, R. M. Pearson, E. D. Cooke, und N. Benjamin, „Effect of nitric-oxide-generating system on microcirculatory blood flow in skin of patients with severe Raynaud's syndrome: a randomised trial“, *Lancet Lond. Engl.*, Bd. 354, Nr. 9191, S. 1670–1675, Nov. 1999, doi: 10.1016/s0140-6736(99)04095-7.
- [99] M. Müller-Eschner, K. Albrecht, I. H. Tarner, U. Müller-Ladner, J. Strunk, und U. Lange, „Acute haemodynamic response to carbon dioxide hand immersion in patients with systemic sclerosis evaluated by Doppler ultrasonography“, *Clin. Exp. Rheumatol.*, Bd. 31, Nr. 2 Suppl 76, S. 184–185, 2013.
- [100] B. Walter, R. Bauer, A. Krug, T. Derfuss, F. Traichel, und N. Sommer, „Simultaneous measurement of local cortical blood flow and tissue oxygen saturation by Near infra-red Laser Doppler flowmetry and remission spectroscopy in the pig brain“, *Acta Neurochir. Suppl.*, Bd. 81, S. 197–199, 2002, doi: 10.1007/978-3-7091-6738-0\_51.
- [101] L. A. Schwarte, A. Fournell, J. van Bommel, und C. Ince, „Redistribution of intestinal microcirculatory oxygenation during acute hemodilution in pigs“, *J. Appl. Physiol.*, Bd. 98, Nr. 3, S. 1070–1075, März 2005, doi: 10.1152/japplphysiol.00861.2004.
- [102] C. Wunder, R. W. Brock, A. Krug, N. Roewer, und O. Eichelbrönnner, „A remission spectroscopy system for in vivomonitoring of hemoglobin oxygen saturation in murine hepatic sinusoids, in early systemic inflammation“, *Comp. Hepatol.*, Bd. 4, Nr. 1, S. 1, Jan. 2005, doi: 10.1186/1476-5926-4-1.
- [103] S. C. Wolf, S. Coerper, und H. D. Becker, „Evaluation des Mikrolichtleiters und Spektrophotometers (O<sub>2</sub>C) zur Erfassung und Quantifizierung der Ischämie im Rahmen der Heilung ischämischer Wunden (AKF-Nr. 95-0-0)“.
- [104] S. Louis, „Tissue oxygen supply determined by Microvascular Oxygen Saturation (SO<sub>2</sub>), Blood Flow (BF) and subcutaneous Tissue pO<sub>2</sub> (PsqO<sub>2</sub>) during whole Body Heating and Normobaric Hyperoxia in healthy Volunteers“.

# Danksagung

Zuallererst gebührt mein tiefster Dank Herrn Professor Christoph Suschek. Christoph, Du hast mir nicht nur dieses Thema überlassen und mich wissenschaftlich bis an das Ende dieser Arbeit begleitet – mit Deinem unerschütterlichen Optimismus, Deiner leuchtenden Positivität, Deiner Menschlichkeit warst Du mir eine Stütze, wie man sie sich besser nicht wünschen kann. Ich bin froh, in Dir nicht nur einen brillanten Doktorvater, sondern auch einen so herzlichen Freund gefunden zu haben. Von Herzen vielen Dank!

Natürlich gilt mein Dank dem gesamten Laborteam. Ihr habt mir nicht nur immer wieder Eure Hände und Zeit zur Verfügung gestellt, sondern durch Eure Kollegialität und Hilfsbereitschaft dafür gesorgt, dass ich jeden Tag gerne ins Labor gekommen bin.

An meine Freunde, die ihre Zeit, Kraft und Nerven in diese Arbeit investiert haben – vor allem in den Momenten, in denen sie mir selbst fehlten: Danke, dass ihr immer für mich da wart.

Schließlich, und das ist mir besonders wichtig, gilt mein tiefster Dank meiner Familie. Meinen Eltern, die mich seit Beginn meiner akademischen Laufbahn unterstützten, aufbauten, auffingen und damit bis heute nicht aufgehört haben. Meinen wunderbaren Schwestern, die immer an meiner Seite standen. Ich werde für immer dankbar für Euch sein.