

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

**Effekte der ischämischen Fernpräkonditionierung auf die  
gastrointestinale Mikrozirkulation  
im hämorrhagischen Schock in der Ratte**

Dissertation

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

Vorgelegt von  
Hendrik Theodor Untiedt

2026

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: PD Dr. med. Richard Truse

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Maximilian Philipp Scherner

Für meine Familie und alle, die mich auf diesem Weg unterstützt haben

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Hof, S., Untiedt, H., Hübner, A., Marcus, C., Kuebart, A., Herminghaus, A., Vollmer, C., Bauer, I., Picker, O., Truse, R., (2024), Effects of remote ischemic preconditioning on early markers of intestinal injury in experimental hemorrhage in rats. *Scientific Reports*, (14), Article 12960

# Zusammenfassung

Die Aufrechterhaltung einer adäquaten Oxygenierung und Perfusion der Mikrozirkulation gewinnt zur Vermeidung kritischer Sekundärerkrankungen einer akuten Hämorrhagie zunehmend an Bedeutung. Eine vorangehende Behandlung mittels kurzer Zyklen aus Ischämie und Reperfusion zeigt sowohl auf das primär behandelte Organ, als auch auf entfernte Organsysteme protektive Effekte. Letzteres wird als ischämische Fernpräkonditionierung (RIPC) bezeichnet und wird u.a. über vasoaktive Mediatoren und eine Reduktion des oxidativen Stresses vermittelt. Diese Studie untersucht die Auswirkungen einer RIPC auf die intestinale Oxygenierung und Perfusion der Mikrozirkulation während eines hämorrhagischen Schocks. Nach Genehmigung durch die zuständige Behörde wurden die Versuche an männlichen Wistar Ratten (3 Monate alt, ca.  $350 \pm 50$  gKG) in 4 Versuchsgruppen mit je 12 Tieren durchgeführt (randomisiert, verblindet). Nach Induktion einer Allgemeinanästhesie, Instrumentierung der Versuchstiere und Erfassen der Baseline-Werte erfolgte eine Behandlung mittels RIPC (4 · 5 min Ischämie + 5 min Reperfusion) durch atraumatische Kompression beider Hinterläufe mittels pneumatischer Blutdruckmanschetten. Anschließend erfolgte die Induktion eines *fixed-pressure* Schocks (Ziel MAD 35-45 mmHg, 1 h) oder eine Fortführung des Versuchs unter normovolämen Bedingungen. Kontrolltiere erhielten keine RIPC. Es erfolgte die Bestimmung der postkapillären Sauerstoffsättigung ( $\mu\text{HbO}_2$ ) am *colocaecalen* Übergang und dem terminalen *Ileum* mittels Weißlichtgewebespektrometrie. Darüber hinaus wurde die strukturelle (*total vessel density*; TVD) und funktionelle (*microvascular flow index*; MFI) Mikrozirkulation mittels Videomikroskopie evaluiert. Zuletzt erfolgte die Testung auf Normalverteilung und anschließende Auswertung mittels *two-way ANOVA* und *Bonferroni post-hoc* Korrektur. Die Darstellung erfolgt als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung. Das Signifikanzniveau liegt bei  $p < 0,05$ . Der hämorrhagische Schock führte zu einer signifikanten Abnahme der  $\mu\text{HbO}_2$  von  $71 \pm 8$  % auf  $38 \pm 12$  % im *Colon* und im *Ileum* von  $71 \pm 14$  % auf  $26 \pm 14$  %. Auch nach einer RIPC fiel die  $\mu\text{HbO}_2$  im Schock signifikant ab (*Colon* von  $72 \pm 7$  % auf  $36 \pm 10$  %; *Ileum* von  $68 \pm 8,5$  % auf  $25 \pm 13$  %). Bei konstanter TVD führte die Hämorrhagie zu einer signifikanten Abnahme des MFI von  $2,9 \pm 0,2$  auf  $0,9 \pm 0,6$  in RIPC-negativen Versuchstieren (RIPC:  $2,9 \pm 0,2$  auf  $0,7 \pm 0,6$ ). Eine akute Hämorrhagie führt somit durch Reduktion der lokalen Perfusion zu einer verminderten Gewebeoxygenierung in Ratten. Es wurden keine RIPC-assoziierten, signifikanten Unterschiede zwischen den vorbehandelten Tieren und den Kontrolltieren registriert. Vorbeschriebene gewebeprotective Effekte der RIPC scheinen somit im Kontext der akuten Hämorrhagie ohne Retransfusion nicht aus einer Veränderung dieser mikrozirkulatorischen Variablen zu resultieren. Demnach scheint nicht die akute Schädigung durch Ischämie oder Hypoperfusion durch RIPC modulierbar zu sein, sondern vor allem ein Reperfusionsschaden, bzw. die Sequenz aus Ischämie und folgender Reperfusion.

## Summary

Maintaining adequate oxygenation and perfusion of the microcirculation is becoming increasingly important in preventing critical secondary complications of acute hemorrhage. Pretreatment with short cycles of ischemia and reperfusion has shown protective effects on both the primarily treated organ and distant organ systems. This is referred to as remote ischemic preconditioning (RIPC) and is mediated, among other things, by vasoactive mediators and a reduction in oxidative stress. This study investigates the effects of RIPC on intestinal oxygenation and perfusion of the microcirculation during hemorrhagic shock. After approval by the responsible authority, the experiments were conducted on male Wistar rats (3 months old, approx.  $350 \pm 50$  g body weight) in 4 experimental groups of 12 animals each (randomized, blinded). After induction of general anesthesia, instrumentation of the experimental animals and recording of baseline values, RIPC (4 · 5 min ischemia + 5 min reperfusion) was performed by atraumatic compression of both hind legs using pneumatic blood pressure cuffs. This was followed by the induction of a fixed-pressure shock (target MAD 35–45 mmHg, 1 h) or continuation of the experiment under normovolemic conditions. Control animals did not receive RIPC-treatment. Postcapillary oxygen saturation ( $\mu\text{HbO}_2$ ) was determined at the colocecal junction and the terminal ileum using white light tissue spectrometry. Further structural (total vessel density; TVD) and functional (microvascular flow index; MFI) microcirculation was evaluated using video microscopy. Finally, testing for normal distribution was performed, followed by evaluation using two-way ANOVA and Bonferroni post-hoc correction. The results are presented as mean  $\pm$  standard deviation. The significance level is  $p < 0.05$ . The induction of hemorrhagic shock led to a significant decrease in  $\mu\text{HbO}_2$  from  $71 \pm 8$  % to  $38 \pm 12$  % in the colon and from  $71 \pm 14$  % to  $26 \pm 14$  % in the ileum. Even after pretreatment with RIPC,  $\mu\text{HbO}_2$  decreased significantly in shock (colon from  $72 \pm 7$  % to  $36 \pm 10$  %; ileum from  $68 \pm 8,5$  % to  $25 \pm 13$  %). While TVD remained constant, acute hemorrhage led to a significant decrease in MFI from  $2,9 \pm 0,2$  to  $0,9 \pm 0,6$  in RIPC-negative animals (RIPC:  $2,9 \pm 0,2$  to  $0,7 \pm 0,6$ ). In conclusion acute hemorrhage leads to reduced tissue oxygenation in rats due to a reduction in local perfusion. No RIPC-associated significant differences were recorded between the pretreated animals and the control animals. The previously described tissue-protective effects of RIPC do not appear to result from a change in these microcirculatory variables in the context of acute hemorrhage without resuscitation. Based on the current data, it appears that RIPC does not modulate acute damage induced by ischemia, but rather reperfusion injury, or the sequence of ischemia followed by reperfusion.

# Abkürzungsverzeichnis

% ..... Prozent  
· min<sup>-1</sup> ..... Pro Minute  
°C ..... Grad Celsius

## **μ**

μflow ..... Mikrovaskulärer Fluss  
μHbO<sub>2</sub> ..... Mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung  
μm ..... Mikrometer  
μvelo ..... Mikrovaskuläre Blutflussgeschwindigkeit

## **A**

Aa ..... *Arteriae*  
Abb. .... Abbildung  
Abs. .... Absatz  
ANOVA ..... *Analysis of variance*  
ATP ..... Adenosintriphosphat  
aU ..... *Arbitrary Units*  
Az. .... Aktenzeichen

## **B**

BE ..... *Base-Excess*  
BGA ..... Blutgasanalyse  
bspw. .... beispielsweise

## **C**

Ca<sup>2+</sup> ..... Calcium-Ionen  
CC ..... Cytocam  
Cl<sup>-</sup> ..... Chlorid-Ionen  
cm ..... Centimeter  
cmH<sub>2</sub>O ..... Centimeter Wassersäule  
CW ..... *Continuous Wave*

## **D**

DIC ..... Disseminierte intravasale Koagulopathie  
DNA ..... Desoxyribonukleinsäure

## **E**

et al.....*et alia*

## **F**

FiO<sub>2</sub> ..... inspiratorische Sauerstofffraktion

## **G**

G ..... *Gauge*

g · dl<sup>-1</sup> ..... Gramm pro Deziliter

## **H**

h ..... Stunde

Hb ..... Hämoglobin

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ..... Hydrogencarbonat

HF ..... Herzfrequenz

HGI ..... *Heterogeneity index*

HIF-1α ..... Hypoxie-induzierbarer Faktor 1α

HV ..... Hypovolämie

Hz ..... Hertz

## **I**

i.v. ..... Intravenös

IDF ..... *Incident dark-field*

IPC ..... Ischämische Präkonditionierung

## **K**

K<sup>+</sup> ..... Kalium-Ionen

kDa ..... Kilodalton

kgKG ..... Kilogramm Körpergewicht

## **L**

LANUK ..... Landesamt für Natur, Umwelt und Klima

LDH ..... Laktatdehydrogenase

## **M**

MAD ..... Mittlerer arterieller Druck

MFI ..... *microvascular flow index*

mg ..... Milligramm, Milligramm

mg · dl<sup>-1</sup> ..... Milligramm pro Deziliter

mg · kg<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup> ..... Milligramm pro Kilogramm pro Stunde

$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ..... Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht  
 min ..... Minuten  
 ml ..... Milliliter  
 $\text{ml} \cdot \text{h}^{-1}$  ..... Milliliter pro Stunde  
 mm ..... Millimeter  
 $\text{mm} \cdot \text{mm}^{-2}$  ..... Millimeter pro Quadratmillimeter  
 mmHg ..... Millimeter Quecksilbersäule  
 mmol ..... Millimol  
 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  ..... Millimol pro Liter  
 ms ..... Millisekunden  
 mW ..... Milliwatt  
 MW ..... Mittelwert

## **N**

n ..... Anzahl  
 n.v. .... nicht verfügbar  
 $\text{Na}^+$  ..... Natrium-Ionen  
 nm ..... Nanometer  
 NO ..... Stickstoffmonoxid

## **O**

O<sub>2</sub>C ..... *Oxygen to see*

## **P**

$\text{p}_a\text{CO}_2$  ..... Arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck  
 $\text{p}_a\text{O}_2$  ..... Arterieller Sauerstoffpartialdruck  
 PawMax ..... Beatmungsspitzenndruck  
 PawMean ..... Mittlerer Beatmungsdruck  
 PawMin ..... Unterer Beatmungsdruck  
 pH ..... *Potentia Hydrogenii*  
 PPV ..... *Proportion of perfused vessels*  
 PVD ..... *Perfused vessel density*

## **Q**

Q-Q-plots ..... *Quantil-Quantil-Plot*

## **R**

rHb ..... Relativer Hämoglobingehalt  
 RIPC ..... ischämische Fernpräkonditionierung

**S**

s ..... Sekunden

s. ....siehe

S<sub>a</sub>O<sub>2</sub>.....Arterielle Sauerstoffsättigung

SD ..... Standardabweichung

SOFA..... *Sequential Organ Failure Assessment*

**T**

TVD ..... *Total vessel density*

**U**

u.a. .... unter anderem

**W**

W..... Watt

**Z**

z.B. .... zum Beispiel

ZETT ..... Zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1	Pathophysiologie der Hämorrhagie.....	1
1.2	Bedeutung der Mikrozirkulation beim kritisch kranken Patienten.....	2
1.3	Bedeutung des Gastrointestinaltraktes im Schock.....	4
1.4	Die ischämische (Fern-)Präkonditionierung.....	5
1.5	Ziele der Arbeit .....	7
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>8</b>
2.1	Versuchstiere.....	8
2.2	Instrumentierung.....	8
2.3	Versuchsprotokoll.....	9
2.3.1	Ischämische Fernpräkonditionierung (RIPC).....	10
2.3.2	Hämorrhagischer Schock.....	10
2.3.3	Versuchsablauf.....	11
2.4	Versuchsgruppen.....	11
2.4.1	Kontrolle.....	11
2.4.2	RIPC.....	12
2.4.3	Schock.....	12
2.4.4	RIPC + Schock.....	12
2.5	Messungen.....	13
2.5.1	Registrierung der Vitalparameter.....	13
2.5.2	Herzfrequenz.....	13
2.5.3	Mittlerer arterieller Druck (MAD).....	13
2.5.4	Temperatur.....	14
2.5.5	Blutgasanalysen.....	14
2.5.6	Weißlicht-Gewebespektrometrie und Laser-Doppler Flussmessung.....	14
2.5.7	Videomikroskopie.....	16
2.6	Statistik.....	18

<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>19</b>
3.1	<b>Makrozirkulation .....</b>	<b>19</b>
3.2	<b>Messgrößen der Mikrozirkulation .....</b>	<b>21</b>
3.2.1	$\mu\text{HbO}_2$ .....	21
3.2.2	rHb .....	23
3.2.3	$\mu\text{flow}$ , $\mu\text{velo}$ .....	25
3.3	<b>Videomikroskopie .....</b>	<b>28</b>
3.4	<b>Blutgasanalysen .....</b>	<b>30</b>
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>33</b>
4.1	<b>Ergebnisdiskussion .....</b>	<b>33</b>
4.2	<b>Methodenkritik .....</b>	<b>38</b>
4.3	<b>Schlussfolgerungen .....</b>	<b>42</b>
<b>5</b>	<b>LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>43</b>

# Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Versuchsablauf .....	11
Abb. 2: Beispiel einer CytoCam-Aufnahme .....	17
Abb. 3: Verlauf des mittleren arteriellen Blutdruckes über die Versuchszeit .....	19
Abb. 4: Verlauf der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung über die Versuchszeit .....	22
Abb. 5: Verlauf des relativen Hämoglobingehaltes über die Versuchszeit .....	24
Abb. 6: Verlauf des mikrovaskulären Flusses über die Versuchszeit .....	26
Abb. 7: Verlauf der <i>perfused vessel density</i> über die Versuchszeit.....	28
Abb. 8: Verlauf des <i>microvascular flow index</i> über die Versuchszeit .....	29

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über die Vitalparameter.....	20
Tabelle 2: Weißlichtgewebespektrometrie und Laser-Doppler Flussmessungen .....	27
Tabelle 3: Videomikroskopische Parameter.....	30
Tabelle 4: Ergebnisse der Blutgasanalysen I.....	31
Tabelle 5: Ergebnisse der Blutgasanalysen II.....	32

# 1 Einleitung

In der vorliegenden Dissertation wird zur besseren Lesbarkeit das generische Maskulinum verwendet. Die hier verwendeten Personenbezeichnungen beziehen sich, falls nicht explizit anders kenntlich gemacht, auf alle Geschlechter.

## 1.1 Pathophysiologie der Hämorrhagie

Sowohl in der perioperativen Patientenversorgung als auch in der klinischen Notfall- und Intensivmedizin stellt der hämorrhagische Schock nach wie vor ein bedeutendes klinisches Problem dar. Weltweit versterben jährlich geschätzt 1,9 Millionen Menschen infolge eines schweren Blutverlustes, davon etwa 1,5 Millionen traumatisch bedingt[1]. Hierbei treten etwa die Hälfte der verletzungsbedingten Todesfälle innerhalb der ersten 30 Tage nach dem Ereignis auf[2]. Trotz der Etablierung multipler Therapiekonzepte wie der permissiven Hypotonie und der Anwendung standardisierter Trauma-Algorithmen, bleibt die Therapie von Traumapatienten mit hämorrhagischem Schock eine enorme medizinische, strukturelle und auch finanzielle Herausforderung für medizinisches Personal mit einer anhaltend hohen Letalität[1]. In der initialen Schockphase führt der kritische Volumenmangel über eine Stimulation neuroendokriner Signalwege zu einer reflektorischen, vermehrten Aktivität des adrenergen Systems mit endogener Ausschüttung von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark in die systemische Zirkulation[3]. Ebenfalls wird die sympathikotone Innervation der Endorgane und der die Endorgane versorgenden Gefäße gesteigert[3]. Diese Kompensationsmechanismen resultieren in einer Steigerung des Herzzeitvolumens, des totalen peripheren Widerstandes und des Atemminutenvolumens, mit dem Ziel das globale Sauerstoffangebot zu steigern und die terminale Sauerstoffversorgung zu verbessern[3].

Der Anstieg des totalen peripheren Widerstandes ist dabei im Wesentlichen auf eine  $\alpha_1$ -adrenerge Gefäßinnervation des Gastrointestinaltraktes, der Muskulatur und der Haut zurückzuführen. Im Gegensatz dazu führt eine primär  $\beta_2$ -adrenerge Gefäßinnervation kardialer und zerebraler Gefäße zu einer lokalen Vasodilatation[4]. Durch diese ungleiche und organspezifische Gefäßinnervation führt eine uniforme sympathikotone Aktivierung zu einer konsekutiven Umverteilung des zirkulierenden Blutvolumens zu Gunsten lebenswichtiger Organe wie dem Gehirn und dem Herzen[4]. Die Auswirkungen einer Hämorrhagie insbesondere auf die Blutversorgung im Splanchnikusgebiet konnten bereits 1974 von Vatner *et al.* in einer tierexperimentellen Studie an Hunden und Pavianen gezeigt werden[5]. Hierbei wurde durch eine aortale Druckmessung und ultraschallgestützte Dopplerflussmessungen ein deutlicher Abfall des Blutflusses unter anderem in den *Aa. mesentericae* registriert, während der Gefäßwiderstand deutlich angestiegen ist[5].

Die durch schwere Blutverluste eingeschränkte systemische Zirkulation manifestiert sich auf Endorganebene in Form einer verminderten mikrovaskulären Perfusion. Hierdurch folgt letztlich eine Einschränkung der sogenannten Mikrozirkulation[6, 7]. Diese stellt die funktionelle Endstrecke des kardiovaskulären Systems dar und ist sowohl für die Versorgung des von ihr abhängigen Gewebes mit Sauerstoff und Energieträgern als auch für den Abtransport von Stoffwechselprodukten des Zellmetabolismus verantwortlich[8]. Sie ist somit unmittelbar mit dem Erhalt der regionalen Homöostase verknüpft. Strukturell werden präkapilläre Arteriolen, Kapillaren und postkapilläre Venolen mit einem Gefäßdurchmesser unter 100 µm zu dem vaskulärem Kompartiment der Mikrozirkulation gezählt[9].

## **1.2 Bedeutung der Mikrozirkulation beim kritisch kranken Patienten**

Durch Ince *et al.* und Cooper *et al.* wurden bereits in Reviews beschrieben, welche Auswirkungen Einschränkungen der systemischen Zirkulation auf die Mikrozirkulation haben[10, 11]. Hierbei kommt es im Fall der Hämorrhagie durch Aktivierung des Sympathikus und resultierender arterieller Vasokonstriktion zu einer Umverteilung des Blutes zu Lasten der kapillären Perfusion und zusätzlich zu einem stagnierenden mikrovaskulären Blutfluss[10]. Ebenfalls haben Cooper *et al.* aufgezeigt, dass sich Veränderungen der Mikrozirkulation durch einen septischen oder hämorrhagischen Schock bereits vor messbaren Änderungen der Makrozirkulation nachweisen lassen[10]. Kommt es im Rahmen dieser mikrozirkulatorischen Veränderungen zu einer kritischen Minderversorgung der entsprechenden Organe, führt dies zu einer anaeroben Stoffwechsellage der Zellen[4]. Infolgedessen kommt es zu einer vermehrten Ansammlung toxischer Stoffwechselmetabolite wie z.B. Laktat oder Kohlenstoffdioxid, was lokal zu einer metabolischen Azidose[12] führt und wiederum vasodilatativ auf die präkapillären Arteriolen wirkt. Da die konstringierten postkapillären Blutgefäße gering von diesem Mechanismus beeinflusst werden, kommt es zu einem erhöhten hydrostatischen Druck innerhalb der Mikrozirkulation und anschließend zu einem Flüssigkeitsverlust in das Interstitium mit Bildung eines interstitiellen Ödems[13]. Dies führt zu einem *circulus vitiosus* aus einer sich gegenseitig verstärkenden makro- und mikrozirkulatorischen Dysfunktion[14]. Darüber hinaus verlängert sich durch ein interstitielles Ödem die Sauerstoffdiffusionsstrecke und führt somit zu einer Verschlechterung der Gewebeoxygenierung[14]. Durch videomikroskopische mikrozirkulatorische Messungen der mikrovaskulären Gefäßdichte könnte in experimentellen Untersuchungsaufbauten diese Pathologie quantifiziert und überwacht werden. Schlussendlich kann es durch das stockende und heterogene Flussbild zu einer disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) kommen, welche durch Thrombenbildung ebenfalls die Defizite der Gewebeversorgung verstärkt[4].

Auch dies könnte über eine optische Graduierung der Perfusion der mikrovaskulären Gefäße und des Blutflusses quantifiziert werden.

Darüber hinaus zeigten Sakr *et al.* in einer prospektiven Observationsstudie an septischen Patienten durch videomikroskopische sublinguale Mikrozirkulationsmessungen, dass diese Veränderungen nach erfolgreicher Therapie teilweise länger persistieren als in der Klinik übliche makrohämodynamische Messungen suggerieren und gleichzeitig mit einem schlechteren klinischen Outcome assoziiert sind[11, 15]. Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass videomikroskopisch messbare Veränderungen der Mikrozirkulation als früher und sensitiver Indikator für positive oder negative Veränderungen des klinischen Zustands der Patienten in den nächsten 24 Stunden dienen können[16]. So beschrieben beispielsweise Trzeciak *et al.* eine Verbesserung des *SOFA-Scores* (*sequential organ failure assessment*) in den folgenden 24 Stunden nach einer Schocktherapie, wenn in zwei aufeinander folgenden Messungen eine Steigerung des mikrovaskulären Blutflusses ersichtlich war[17]. Letztlich wurde durch De Backer *et al.* in einer Analyse einer prospektiven Observationsstudie beschrieben, dass videomikroskopisch erhobene Parameter der Mikrozirkulation eng mit der Mortalität korrelieren und ebenso wie der *SOFA-Score* als unabhängiger Prädiktor für das Outcome genutzt werden können[18]. Jedoch gilt es zu erwähnen, dass eine Implementierung dieser Messungen in eine Therapiesteuerung bisher nicht erfolgreich war. So zeigten Bruno *et al.* in einer prospektiven, randomisierten, klinischen, multizentrischen Studie, dass eine Therapiesteuerung anhand der Mikrozirkulation in Form von sublingualen, videomikroskopischen Aufnahmen bei Intensivpatienten im Schock nicht zu einer Verbesserung der 30-Tages Überlebensrate führte[19].

Hieraus lässt sich schlussfolgern, dass die Mikrozirkulation ein von der Makrozirkulation zu unterscheidendes, funktionelles Kompartiment des kardiovaskulären Systems darstellt. Gerade bei kritisch kranken Patienten können sowohl Veränderungen der Mikrozirkulation durch die Erkrankung selbst, als auch iatrogene Interventionen mit dem Ziel die systemische Hämodynamik zu optimieren eine Entkopplung der Mikrozirkulation von makrozirkulatorischen Variablen hervorrufen[11]. Dieses Phänomen beschreibt das Konzept der hämodynamischen Inkohärenz[11]. Diesbezüglich haben Fang *et al.* in einer experimentellen Studie an Sprague-Dawley Ratten die videomikroskopisch erhobenen Veränderungen der bukkalen Mikrozirkulation im septischen Schock mit einem hämorrhagischen Schock verglichen[20]. Hierbei fanden sie heraus, dass die Veränderungen vergleichbar, wenn auch im septischen Schock meist ausgeprägter sind[20]. Darüber hinaus zeigte sich die hämodynamische Inkohärenz im hämorrhagischen Schock weniger ausgeprägt als im septischen Schock[20]. Dies unterstreicht die Notwendigkeit einer zukünftigen Implementierung mikrozirkulatorischer Messungen in die Schockdiagnostik und -therapie in der klinischen Routine.

### 1.3 Bedeutung des Gastrointestinaltraktes im Schock

Die oben beschriebenen Veränderungen sind die vermutliche Ursache für die unmittelbare Organdysfunktion und initial hohe Mortalität im hämorrhagischen Schock[21]. Aber auch nach suffizienter Rekonstitution der Hämodynamik kann es nach Tagen bis Wochen zu relevanten Komplikationen, wie der sekundären Entwicklung einer Sepsis kommen[22]. Schwerwiegende Veränderungen auf der Ebene der Mikrozirkulation und des Zellstoffwechsels führen letztlich zu einer Schädigung der Enterozyten und einer ausgeprägten Störung der intestinalen Barrierefunktion[23]. Dieser verzögerten Mortalität liegt vermutlich unter anderem eine Translokation der physiologisch vorkommenden Enterobakterien in die systemische Zirkulation zugrunde, welche bereits 1979 durch Berg und Garlington beschrieben wurde[24]. Die gastrointestinale Darmschleimhaut stellt eine Grenzfläche zu fakultativ pathogenen Erregern dar und ist damit eine potentielle Eintrittspforte für bakterielle Erreger und Pathogen assoziierte Proteine[24]. Somit scheint eine transepitheliale Passage dieser Pathogene, ihrer Stoffwechselprodukte und sonstiger Zellbestandteile in die systemische Zirkulation einen wesentlichen Beitrag zur Aufrechterhaltung oder Verschlechterung kritischer Krankheitszustände beitragen zu können[23, 24]. Hieraus kann eine systemische Inflammation mit konsekutiver Entwicklung oder Verschlechterung einer Sepsis, damit einhergehender hoher Wahrscheinlichkeit eines Multiorganversagens und erhöhter Mortalität resultieren[23]. Im weiteren Verlauf kamen diesbezüglich auf Grund widersprüchlicher Daten aus experimentellen Studien Zweifel an der intestinalen bakteriellen Translokation als alleinige Ursache für eine sekundäre Verschlechterung des Patientenzustandes auf[25]. Moore *et al.* untersuchten im Jahr 1991 in einer klinischen Studie an verletzten Patienten portalvenöses Blut auf Bakterien, Endotoxine und inflammatorische Zytokine[26]. Hierbei fand sich insbesondere kein signifikanter Unterschied von Patienten mit komplikationslosen Verläufen zu denen mit folgender Entwicklung eines Multiorganversagens[26]. Infolgedessen entstand mit der *gut-lymph hypothesis* eine weitere zentrale Theorie zur Erklärung dieses Phänomens[25]. Entsprechend dieser Hypothese zeigten Senthil *et al.* in einer tierexperimentellen Studie an männlichen Schweinen in einem modifizierten *fixed-pressure* Hämorrhagiemodell mit Retransfusion die Zytotoxizität der während des Schocks gewonnenen intestinalen Lymphe auf Endothelzellen[27].

Unabhängig von dem exakten, zugrunde liegenden Pathomechanismus unterstreichen diese Ergebnisse die zentrale Rolle des Gastrointestinaltraks bei sekundären Komplikationen nach einem hämorrhagischen Schock. Piton *et al.* zeigten in einer prospektiven Observationsstudie, dass eine intestinale Zellschädigung bereits bei nahezu 50% der kritisch kranken Patienten bei Aufnahme auf die Intensivstation vorliegt und diese mit einer erhöhten 28-Tage Mortalität korreliert[28]. Reintam *et al.* zeigten ebenfalls, dass eine kompromittierte gastrointestinale Funktion, quantifiziert durch einen *gastrointestinal failure score*, ebenfalls direkt mit einer

erhöhten Mortalität korreliert[29]. Schlussendlich führte dies zum Konzept der „gut-origin“ Sepsis im kritisch kranken Intensivpatienten[23]. In Anbetracht der genannten Tatsachen kommen potenziell organpräventiven Strategien zum Erhalt der intestinalen Integrität eine wichtige Rolle in der Vermeidung sekundärer Krankheitszustände und einer Reduktion der späten Mortalität in kritisch kranken Patienten zu.

## 1.4 Die ischämische (Fern-)Präkonditionierung

Die zuvor beschriebenen Veränderungen rücken Mechanismen der Organprotektion zunehmend in den Fokus. Eine dieser organprotektiven Mechanismen ist die sogenannte ischämische Präkonditionierung (IPC). In experimentellen Studien hat sich seit der Erstbeschreibung 1986 in einem tierexperimentellen Modell durch Murry *et al.* die IPC als vielversprechender Ansatz erwiesen[30]. Hierbei wirken sich vorangehende, nicht letale Ischämie- und Reperfusionsszyklen protektiv auf den Gewebeschaden des nachgeschalteten Myokards bei einer nachfolgenden, schwerwiegenden Indexischämie aus[30]. In nachfolgenden Studien konnte aufgezeigt werden, dass der protektive Effekt einer vorherigen IPC auf den Gewebeschaden nicht alleinig auf das unmittelbar konditionierte, myokardiale Gewebe beschränkt ist[31]. So konnte ebenfalls eine organprotektive Wirksamkeit der IPC in der Lunge[32], der Leber[33] und dem Gehirn[34] nachgewiesen werden. Cinel *et al.* konnten letztendlich in einem tierexperimentellen Modell des intestinalen Ischämie-Reperfusionsschadens an männlichen Wistar Ratten durch Präkonditionierung einen protektiven Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die Mukosa des *Ileums* nachweisen[35]. Sie registrierten in 24 Stunden später genommenen Gewebeproben eine signifikante Reduktion der apoptotischen Zellen, was ebenfalls durch DNA-Gelelektrophoresen bestätigt wurde[35]. Darüber hinaus zeigten Aksöyek *et al.* in einer experimentellen Studie an männlichen Wistar Ratten mit demselben Präkonditionierungs- und Ischämieprotokoll eine Verminderung des Gewebeschadens und der bakteriellen Translokation nach intestinaler Ischämie durch die Vorbehandlung mittels IPC[36]. Es zeigte sich in der mikrobiologischen Aufarbeitung von Serumproben, mesenterialen Lymphknotenproben und Proben der Leber und der Milz ein signifikant erhöhtes Vorkommen von translozierten Bakterien in der Ischämiegruppe bei ebenfalls signifikant reduziertem Vorkommen in der präkonditionierten Gruppe[36].

Im Jahr 1993 wurde durch Przyklenk *et al.* erstmals das Konzept der ischämischen Fernpräkonditionierung (RIPC) beschrieben, indem sie durch vorangehende ischämische Stimuli an einem umschriebenen myokardialen Gefäßbett protektive Effekte auf hiervon getrennte Perfusionsareale des Myokards bei einer nachfolgenden Ischämie erzielen konnten[37]. Anschließend konnten Hummitzsch *et al.* in einer tierexperimentellen Studien

einen mit der IPC vergleichbaren protektiven Effekt der RIPC auf intestinale Gewebe in einem Ischämie-Reperusionsmodell nachweisen[38]. Es zeigte sich eine Reduktion histologischer Zeichen intestinaler Gewebeschäden, eine erhöhte HIF-1 $\alpha$  Proteinexpression und eine verminderte Serumaktivität einer 130 kDa Gelatinase[38]. Saeki *et al.* wiesen ebenfalls in einer experimentellen Studie an Lewis Ratten protektive Effekte der IPC und RIPC auf intestinale Gewebe in Form von einer histopathologischen Verbesserung und verminderter LDH und Transaminasen im Serum drei Stunden nach Dünndarmtransplantation mit inbegriffener kalter drei-stündiger Ischämie nach[39].

Die im Vergleich zu einer IPC deutlich vereinfachten Durchführbarkeit der RIPC beispielsweise durch eine Kompression der Extremitäten mithilfe pneumatischer Blutdruckmanschetten ermöglicht eine vereinfachte Anwendbarkeit in klinischen Studien. Diese Studien wiesen teilweise vielversprechende Effekte der RIPC nach bei insgesamt jedoch inhomogener Datenlage[40-44]. So konnten Meybohm *et al.* in einer multizentrischen, prospektiven klinischen Studie an Patienten, die sich einer elektiven herzchirurgischen Operation unterzogen keine relevanten Vorteile einer Behandlung mittels RIPC feststellen[40]. Im Gegensatz dazu fanden Jia *et al.* in einer kleineren, prospektiven, randomisierten Studie heraus, dass eine Behandlung mittels RIPC die Inzidenz einer postoperativen Nierenschädigung bei herzchirurgischen Patienten nach einem elektiven operativen Eingriff positiv beeinflusste[43]. Bezogen auf den Gastrointestinaltrakt zeigt sich eine eher spärliche Datenlage. So ergaben tierexperimentelle Daten bspw. eine RIPC-induzierte histopathologische Verbesserung, eine niedrigere LDH und Transaminasen im Serum drei Stunden nach Dünndarmtransplantation[39]. Hierbei zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen RIPC und IPC. Darüber hinaus zeigten Yi *et al.* in einer kleinen klinischen Studie an Patienten mit Resektion eines kolorektalen Karzinoms einen positiven Einfluss der RIPC auf die postoperative gastrointestinale Funktion und verminderte Konzentrationen inflammatorischer Zytokine und Proteine[44].

Die exakten Mediatoren dieser protektiven Effekte sind nur teilweise beschrieben und noch Gegenstand aktueller Forschung. Die bisher vermuteten Signalwege teilen jedoch die Gemeinsamkeit vasoaktiver Substanzen (beispielsweise Adenosin und NO), welche ebenfalls als Mediatoren der Mikrozirkulation der Endorgane fungieren[45]. So konnten Kraemer *et al.* in einer prospektiven Kohortenstudie durch Bestimmung mikrozirkulatorischer Parameter nachweisen, dass eine RIPC die Perfusion der Haut gesunder Probanden verbesserte[46]. Ebenfalls konnten Tapuria *et al.* in einem tierexperimentellen Modell an männlichen Sprague-Dawley Ratten durch eine Videofluoreszenz-Mikroskopie zeigen, dass eine RIPC die Perfusion der hepatischen Mikrozirkulation in einem Ischämie-Reperusionsmodell positiv beeinflusste[47].

## 1.5 Ziele der Arbeit

Der Effekt der RIPC auf die Gewebeoxygenierung und das funktionelle System Mikrozirkulation ist jedoch weiterhin unzureichend untersucht, gerade im Kontext der Hämorrhagie ohne anschließende Retransfusion. Daher sollte in der vorliegenden Studie der Einfluss der RIPC auf die Gewebeoxygenierung und mikrovaskuläre Perfusion des Intestinums als bereits früh kompromittiertes und Outcome relevantes Organsystem untersucht werden. Vor diesem Hintergrund wurde die vorliegende Studie konzipiert mit besonderem Augenmerk auf folgende Kernfragestellungen:

1. Sind die mittels Weißlichtspektroskopie bestimmte Gewebeoxygenierung und die Evaluation mikrovaskulärer Perfusionsmarker durch Einsatz der Laser Doppler Flussmessung und der Videomikroskopie geeignet, um eine regionale Hypoxie und Hypoperfusion in dem hier verwendeten Schockmodell abzubilden[48]?
2. Verbessert eine ischämische Fernpräkonditionierung die intestinale Gewebeoxygenierung und Mikrozirkulation in dem hier verwendeten Modell im Schock ohne folgende Retransfusion[48]?

## 2 Material und Methoden

Für die Durchführung der Versuche lag eine Genehmigung nach § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes durch das Landesamt für Natur, Umwelt und Klima (LANUK Az. 81-02.04.2018.A308) vor. Alle Untersucher konnten eine Bescheinigung über die Fachkunde gemäß § 9 des aktuell geltenden Tierschutzgesetzes nachweisen.

### 2.1 Versuchstiere

Für die Versuche wurden 48 männliche Wistar Ratten mit einem Alter von circa 3 Monaten und einem Körpergewicht von  $350 \pm 50$  g durch die Zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben (ZETT) der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf bereitgestellt. Die Tiere wurden in kleinen Gruppen von zwei bis drei Versuchstieren je Käfig gehalten und morgens in die Räumlichkeiten der Experimentellen Anästhesiologie überführt. Sie erhielten bis zum Versuchsbeginn freien Zugang zu Standardrattennahrung und Trinkwasser. Die weitere Unterbringung bis zum Versuchsbeginn fand in einem abgedunkelten Käfig in den Laborräumen statt. Nach den durchgeführten Versuchen wurden die Versuchstiere in tiefer Narkose durch Exsanguination euthanasiert[48].

### 2.2 Instrumentierung

Für den Versuch wurde zunächst das aktuelle Körpergewicht der Tiere bestimmt. Anschließend erfolgte die Narkoseinduktion durch eine intraperitoneale Injektion von  $100 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1}$  Pentobarbital (Narcoren®, Pentobarbital-Injektionslösung für Tiere, Merial GmbH, Halbergmoos, Deutschland) und die Platzierung der Tiere in Rückenlage auf einer Wärmematte (Julabo 6, Julabo Labortechnik GmbH, Seel-bach, Deutschland). Die Körpertemperatur der Tiere wurde durch eine rektale Messung überprüft. Nach Sicherstellung einer adäquaten Narkosetiefe durch Testung der unwillkürlichen Abwehrreaktionen auf einen standardisierten Schmerzreiz erfolgte eine standardisierte Instrumentierung der Versuchstiere. Diese umfasste eine chirurgische Atemwegssicherung mittels Tracheotomie über einen offen chirurgischen Zugangsweg. Hierfür wurde die Trachea freipräpariert, durch eine Querinzision ventral eröffnet und eine chirurgische Atemwegssicherung mittels einer 16 G Kanüle etabliert (FEP Vasofix®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland, ohne Stahlmandrin). Die Beatmung (Inspira asv, Harvard apparatus, Holliston, Massachusetts, USA) erfolgte in einem volumenkontrollierten Beatmungsmodus (initial Atemfrequenz  $75 \cdot \text{min}^{-1}$ , Tidalvolumen 2 ml, inspiratorische Drucklimitierung  $< 17 \text{ cmH}_2\text{O}$ ,  $\text{FiO}_2 = 0,3$ ) und wurde im Verlauf des Versuchs mit dem Ziel einer normokapnischen Ventilation ( $p_a\text{CO}_2$   $45 \pm 5 \text{ mmHg}$ )

angepasst. Weiterhin erfolgte die Kanülierung der rechten V. jugularis interna mittels einer 24 G Kanüle (Introcan Safety®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) zur intravenösen Aufrechterhaltung der Narkose mittels Applikation von  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  Pentobarbital i.v. und  $4 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$  einer Vollelektrolytlösung als Trägerlösung (Kochsalzlösung, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland). Zusätzlich erfolgte eine Muskelrelaxierung durch Applikation von  $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  Pancuronium (Pancuronium Inresa, Inresa Arzneimittel GmbH, Freiburg, Deutschland). Zuletzt wurde eine invasive arterielle Blutdruckmessung über einen in der linken Arteria carotis einliegenden Katheter etabliert zur kontinuierlichen Aufzeichnung über eine Software (Chart v5 für Windows, AD Instruments GmbH, Spechbach, Deutschland). Hierzu wurde der Nervus vagus dargestellt, von der benachbarten Arteria carotis isoliert und diese mit einer 24 G Kanüle (Introcan Safety®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) instrumentiert. Diese ermöglichte die kontinuierliche Registrierung des arteriellen Blutdrucks. Darüber hinaus wurde der arterielle Katheter genutzt, um rezidivierende Blutgasanalysen durchzuführen und den hämorrhagischen Schock zu induzieren.

Allen Tieren wurden Blutdruckmanschetten über die Hinterläufe gestreift, um eine ischämische Fernpräkonditionierung oder die korrespondierende Kontrollbehandlung durchzuführen. Das Abdomen der Tiere wurde rasiert und eine mediane Laparotomie durchgeführt. Für die Messung der intestinalen Mikrozirkulation wurde das *Caecum* aufgesucht, der *ileocaecale* Übergang externalisiert und Messsonden (s. Kapitel 2.5.6) für die Weißlichtspektrophotometrie sowie die Laser-Doppler Flussmessung auf den Darm aufgelegt. Die Platzierung der Messsonden erfolgte atraumatisch auf der *Tunica Serosa* des terminalen *Ileums* (circa 1-2 cm proximal der Ileozökalklappe) und des proximalen *Colon ascendens*. Die Signale beider Messorte wurden kontinuierlich aufgezeichnet. Der Darm und die Sonden wurden mit Gaze (ES-Kompressen, Paul Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland) abgedeckt und regelmäßig mit Ringerlösung (B. Braun Melsungen AG, Melsungen Deutschland) befeuchtet, um einer Austrocknung vorzubeugen. Darüber hinaus wurden videomikroskopische Aufnahmen der zökalen Mikrozirkulation mittels *incident dark-field imaging* (s. Kapitel 2.5.7) angefertigt[48].

## 2.3 Versuchsprotokoll

Nach vollendeter Instrumentierung erfolgte zunächst die Registrierung der individuellen und über die Zeit konstanten Ausgangswerte. Hiervon wurde ausgegangen, wenn in der kontinuierlichen Aufzeichnung mittels Weißlichtspektrophotometrie und Laser-Doppler Flussmessung sowie der systemischen Hämodynamik über 15 Minuten stabile Messwerte registriert werden konnten. Anschließend wurden die Versuchstiere randomisiert einem von vier Versuchsprotokollen zugeordnet (s. Abb. 1)[48].

### 2.3.1 Ischämische Fernpräkonditionierung (RIPC)

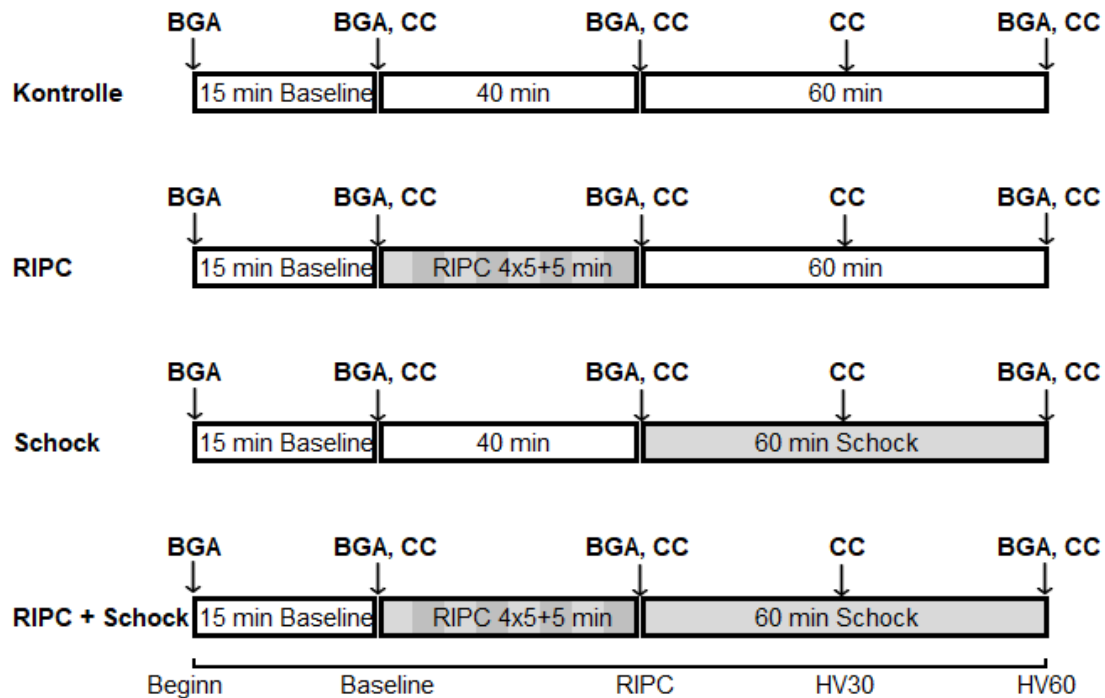
Für die Induktion einer ischämischen Fernpräkonditionierung (RIPC) wurden Blutdruckmanschetten um die proximalen Hinterläufe gelegt und diese bei Versuchstieren mit RIPC-Intervention auf einen Druck von 200-250 mmHg insuffliert[38]. Da der mittlere Blutdruck von Ratten in dieser Versuchsreihe durchschnittlich bei ca. 130 mmHg lag, ist von einer vollständigen Unterbrechung der arteriellen Blutversorgung auszugehen. Nach einer fünf-minütigen Kompression der Hinterläufe mit Unterbrechung der regionalen Perfusion wurden die Blutdruckmanschetten deflationiert, um eine Reperfusion der Extremitäten zu ermöglichen. Die Dauer einer fünf-minütigen Hinterlaufskompression mit anschließender fünf-minütiger Reperfusionsphase wird als RIPC-Zyklus bezeichnet. In der durchgeführten Versuchsreihe wurden vier RIPC-Zyklen für die Induktion einer RIPC durchgeführt[49, 50].

Bei Versuchstieren, die keine RIPC-Intervention erhielten, wurden Blutdruckmanschetten über beide Hinterläufe gestreift, diese jedoch nicht inflationiert. Entsprechend erfolgte eine Beobachtung der Versuchstiere für äquivalente Zeitintervalle[48].

### 2.3.2 Hämorrhagischer Schock

Die Induktion einer akuten Hämorrhagie erfolgte über rezidivierende Blutentnahmen aus dem arteriell einliegenden Katheter, bis ein mittlerer arterieller Blutdruck von  $40 \pm 5$  mmHg erreicht wurde. Dieses Vorgehen zur Induktion einer akuten Hämorrhagie wird als „*fixed-pressure hemorrhage*“[51] bezeichnet. Um eine am Blutdruck gemessene konstante Schocktiefe zu gewährleisten erfolgten im Falle einer Rekompensation weitere Blutentnahmen, sowie im Fall einer zunehmenden hämodynamischen Instabilität Bolusgaben einer kristalloiden Vollelektrolytlösung. Versuchstiere ohne Induktion einer Hämorrhagie wurden für äquivalente Zeitintervalle observiert[48].

### 2.3.3 Versuchsablauf



**Abb. 1: Versuchsablauf**

Schematische Darstellung der einzelnen Phasen des Versuchsablaufes aller Versuchsgruppen über die Zeit. Kennzeichnung der Zeitpunkte der Datenerhebung mittels IDF-Aufnahmen („CC“) und Blutgasanalysen („BGA“). Dazu Benennung der Messzeitpunkte im unteren Teil, Beginn (0:00 h), Baseline (0:15 h), RIPC (0:55 h), HV30 (1:25 h) und HV60 (1:55 h). Modifiziert nach[48].

## 2.4 Versuchsgruppen

Die randomisierte Zuordnung der Tiere zu den einzelnen Versuchsgruppen erfolgte unmittelbar vor Versuchsbeginn per Losverfahren. Insgesamt wurden 48 Tiere vier unterschiedlichen Gruppen zugeteilt (n = 12). Es folgt eine chronologische Beschreibung der Versuchsgruppen[48].

### 2.4.1 Kontrolle

Nach Registrierung der Ausgangswerte wurde der Versuch in der Kontrollgruppe für eine Dauer von 100 min ohne Induktion einer RIPC-Intervention und ohne Induktion eines akuten hämorrhagischen Schocks fortgeführt. Während der gesamten Zeit wurde die intestinale Mikrozirkulation kontinuierlich mittels Weißlichtspektrophotometrie und Laser-Doppler Flussmessung evaluiert und der arterielle Blutdruck sowie die Atemwegsdrücke

aufgezeichnet. Darüber hinaus erfolgte eine intermittierende Visualisierung der Mikrozirkulation des Kolons mittels *incident dark-field imaging* sowie die Durchführung arterieller Blutgasanalysen zu den Zeitpunkten 00:15 h (Baseline), 00:55 h (RIPC), 1:25 h (HV30) und 1:55 h (HV60). Nach insgesamt 115 min wurden die Versuche beendet und die Tiere in tiefer Narkose durch Exsanguination euthanasiert.

### **2.4.2 RIPC**

Nach Registrierung der Ausgangswerte wurde in der RIPC-Gruppe eine ischämische Fernpräkonditionierung durchgeführt. Anschließend folgte der weitere Versuchsablauf ohne Induktion eines hämorrhagischen Schocks. Während der gesamten Zeit wurde die intestinale Mikrozirkulation kontinuierlich mittels Weißlichtspektrophotometrie und Laser-Doppler Flussmessung evaluiert und der arterielle Blutdruck sowie die Atemwegsdrücke aufgezeichnet. Darüber hinaus erfolgte eine intermittierende Visualisierung der Mikrozirkulation des Kolons mittels *incident dark-field imaging* sowie die Durchführung arterieller Blutgasanalysen zu den Zeitpunkten 00:15 h, 00:55 h, 1:25 h und 1:55 h. Nach insgesamt 115 min wurden die Versuche beendet und die Tiere in tiefer Narkose durch Exsanguination euthanasiert.

### **2.4.3 Schock**

Nach Registrierung der Ausgangswerte und weiteren 40 Minuten Versuchsdauer ohne die Induktion einer RIPC wurde ein hämorrhagischer Schock für die Dauer von einer Stunde induziert. Während der gesamten Zeit wurde die intestinale Mikrozirkulation kontinuierlich mittels Weißlichtspektrophotometrie und Laser-Doppler Flussmessung evaluiert und der arterielle Blutdruck sowie die Atemwegsdrücke aufgezeichnet. Darüber hinaus erfolgte eine intermittierende Visualisierung der Mikrozirkulation des Kolons mittels *incident dark-field imaging* sowie die Durchführung arterieller Blutgasanalysen zu den Zeitpunkten 00:15 h, 00:55 h, 1:25 h und 1:55 h. Nach insgesamt 115 min wurden die Versuche beendet und die Tiere in tiefer Narkose durch Exsanguination euthanasiert.

### **2.4.4 RIPC + Schock**

Nach Registrierung der Ausgangswerte wurde in der Interventionsgruppe mit hämorrhagischem Schock eine ischämische Fernpräkonditionierung durchgeführt. Anschließend erfolgte die Induktion eines hämorrhagischen Schocks. Während der gesamten Zeit wurde die intestinale Mikrozirkulation kontinuierlich mittels Weißlichtspektrophotometrie

und Laser-Doppler Flussmessung evaluiert und der arterielle Blutdruck sowie die Atemwegsdrücke aufgezeichnet. Darüber hinaus erfolgte eine intermittierende Visualisierung der Mikrozirkulation des Kolons mittels *incident dark-field imaging* sowie die Durchführung arterieller Blutgasanalysen zu den Zeitpunkten 00:15 h, 00:55 h, 1:25 h und 1:55 h. Nach insgesamt 115 min wurden die Versuche beendet und die Tiere in tiefer Narkose durch Exsanguination euthanasiert.

## **2.5 Messungen**

### **2.5.1 Registrierung der Vitalparameter**

Während der Versuche wurden kontinuierlich der Blutdruck, die Herzfrequenz und der Atemwegsdruck der Versuchstiere aufgezeichnet. Hierfür wurden Signale durch einen Universalverstärker amplifiziert und digitalisiert registriert (Powerlab®, ADInstruments, Castle Hill, Australien). Die Visualisierung sowie die spätere Auswertung der erhobenen Daten erfolgten auf einem externen Computer (Windows® XP, Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) mit entsprechender Software (Chart v5 für Windows, AD Instruments GmbH, Spechbach, Deutschland)[48].

### **2.5.2 Herzfrequenz**

Die Erfassung der Herzfrequenz [ $1 \cdot \text{min}^{-1}$ ] der Versuchstiere erfolgte anhand der invasiv gemessenen arteriellen Blutdruckkurve. Nach Voreinstellung eines Frequenzfilters und Testung auf Artefakte erfasste die Software die Herzfrequenz anhand der maximalen Oszillationen dieser Kurve.

### **2.5.3 Mittlerer arterieller Druck (MAD)**

Die in die Arteria carotis eingebrachte Kanüle wurde mit einem entlüfteten Druckaufnehmersystem verbunden (Gould Statham-Druckwandler, P23ID, GOULD, Elk Grove, USA). Dieser wandelt Druckschwankungen innerhalb des arteriellen Systems mit Hilfe des piezoelektrischen Effektes in ein elektrisches Signal um. Der Druckwandler wurde vor Versuchsbeginn mit einem Quecksilbermanometer über drei Kalibrierungspunkte geeicht und auf die Herzhöhe der Versuchstiere eingestellt. Der mittlere arterielle Blutdruck (MAD, [mmHg]) wurde auf dem Endgerät als Integral der Blutdruckkurve über die Zeit errechnet.

## 2.5.4 Temperatur

Die Körperkerntemperatur [°C] wurde über eine rektale Messsonde gemessen (Digital VET-Thermometer VT 1831, Microlife AG, Widnau, Schweiz) und die Körperkerntemperatur durch eine beheizbare Wärmematte (Julabo 6, Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach, Deutschland), auf der die Tiere platziert wurden, in einem für Ratten normothermen Bereich (altersentsprechend ca. 36–37 °C)[52] gehalten.

## 2.5.5 Blutgasanalysen

Nach vorheriger Aspiration der Spülflüssigkeit wurde intermittierend 150 µl Blut in eine 1 ml-Spritze (Omnifix®-F Luer Solo, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) asserviert und automatisiert analysiert (Radiometer ABL800 FLEX).

Neben den arteriellen Blutgaspartialdrücken ( $p_aO_2$  und  $p_aCO_2$ ; [mmHg]) und der arteriellen Sauerstoffsättigung ( $S_aO_2$ ; [%]), wurden der Base-Excess (BE; [mmol · l<sup>-1</sup>]), der pH-Wert, das Laktat und der Bikarbonatgehalt ( $HCO_3^-$ ; [mmol · l<sup>-1</sup>]) des entnommenen Blutes bestimmt. Darüber hinaus wurden die Elektrolyte ( $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ ; [mmol · l<sup>-1</sup>]) und der Glucose- ([mg · dl<sup>-1</sup>]) und Hämoglobingehalt (Hb; [g · dl<sup>-1</sup>]) der Probe gemessen.

## 2.5.6 Weißlicht-Gewebespektrometrie und Laser-Doppler Flussmessung

Für die Messung mittels Weißlicht-Gewebespektrometrie und Laser-Doppler-Flussmessung (O2C (*oxygen to see*), LEA Medizintechnik GmbH, Gießen, Deutschland) wurden zwei Messsonden (Flachsonde Typ LFX-2, LEA Medizintechnik GmbH, Gießen, Deutschland) atraumatisch und ohne Anpressdruck auf das distale *Ileum* und das proximale *Colon ascendens* platziert. Die Sonden emittieren sowohl Laserlicht für die Laser-Doppler Flussmessung als auch Weißlicht für die Gewebespektrometrie[53]. Das in das Gewebe eingestrahlte Licht wird dann entweder an Grenzoberflächen gestreut und kann zumindest in Teilen an der Gewebeoberfläche detektiert werden oder wird durch Chromophore der Zellen wie Hämoglobin absorbiert[53]. Der räumliche Abstand zwischen Emission und Detektion wird als *Separation* bezeichnet und bestimmt die Eindringtiefe der durchgeführten Messung[53]. Durch eine Änderung des Wellenlängenbereichs und der *Separation* lassen sich somit Messtiefen von etwa 100 µm bis 15 mm festlegen[53].

Die Messung mittels Weißlicht-Gewebespektrometrie ermöglicht die Bestimmung der mikrovaskulären Oxygenierung ( $\mu HbO_2$ ; [%]) und des relativen Hämoglobingehalts (rHb; [aU]) in der jeweils untersuchten Gewebeeinheit[53]. Da es nicht möglich ist, ideales Weißlicht mit gleichen Anteilen aller inkludierten Wellenlängenbereiche zu erzeugen, erfolgte unmittelbar vor jedem Versuch ein Weißlichtabgleich des Gerätes. Das verwendete Licht mit einem

Wellenlängenbereich von circa 450 bis 1000 nm wird hierzu von einer 20-W-Xenon Glühbirne erzeugt[53] und bei der Passage durch das Gewebe wellenlängenspezifisch von Hämoglobin absorbiert[54]. Das an der Oberfläche detektierte Licht unterscheidet sich somit hinsichtlich Intensität und Farbspektrum von dem emittierten Licht[53]. Oxy- und Desoxyhämoglobin weisen unterschiedliche optische Eigenschaften im sichtbaren Bereich des Lichts auf und absorbieren damit unterschiedliche Wellenlängenbereiche des Lichtes[54, 55]. Somit kann aus dem reflektierten Komplementärfarbspektrum die durchschnittliche Gewebeoxygenierung berechnet werden[53]. Da die postkapillären Venolen Kapazitätsgefäße darstellen und somit circa 75 % des mikrovaskulären Blutvolumens beinhalten[56], ist das reflektierte Farbspektrum zum venösen Anteil der Mikrozirkulation hin verschoben. Der gemessene  $\mu\text{HbO}_2$  gibt somit vor allem die venöse Sauerstoffsättigung der Mikrozirkulation wieder. Nach dem Prinzip der letzten Wiese entspricht dies einem Maß für die regionale Sauerstoffreserve des untersuchten Gewebes[53]. Hierdurch eignet sich die beschriebene Methode besonders zur Hypoxiediagnostik[57]. Da das Maß der Absorption des emittierten Lichtes ebenfalls von der Menge des vorhandenen Hämoglobins abhängt, lässt sich durch eine spektrale Auswertung hieraus auch ein Rückschluss auf die vorhandene Hämoglobinmenge (rHb) ziehen[53].

Mit Hilfe der Laser-Doppler-Untersuchung kann der mikrovaskuläre Blutfluss ( $\mu\text{flow}$ ) und die mikrovaskuläre Blutflussgeschwindigkeit ( $\mu\text{velocity}$ ) bestimmt werden[58]. Hierfür generiert ein in die Sonden integrierter Diodenlaser im CW-Modus mit einer Leistung von 30 mW Laserlicht mit einer Wellenlänge von 820 nm[53]. Aufgrund der Streuung des Laserlichtes an zellulären und interstitiellen Komponenten entstehen im untersuchten Gewebe Lichtvektoren in sämtlichen Raumebenen und somit auch retrograd auf die Messsonde gerichtete Vektoren[53]. Abhängig von der Flussgeschwindigkeit der Erythrozyten und der räumlichen Ausrichtung der mikrovaskulären Gefäße entsteht in einem Anteil des emittierten Laserlichts ein sogenannter *Doppler-Shift*, also eine Veränderung der Wellenlänge durch Auftreffen auf einen sich bewegenden Körper[59]. Da diese Frequenzverschiebung proportional zur Geschwindigkeit des Körpers ist, kann hierdurch die mikrovaskuläre Blutflussgeschwindigkeit ( $\mu\text{velo}$ ; [aU]), der sich bewegenden Erythrozyten quantifiziert werden[53]. Darüber hinaus lässt sich der mikrovaskuläre Fluss ( $\mu\text{flow}$ ; [aU]) im untersuchten Bereich bestimmen[53].

Gefäße mit einem Diameter von größer als 100  $\mu\text{m}$  führen zu einer Totalabsorption des verwendeten Weiß- und Laserlichts, sodass die Messungen spezifisch für mikrovaskuläre Gefäße sind[48, 60].

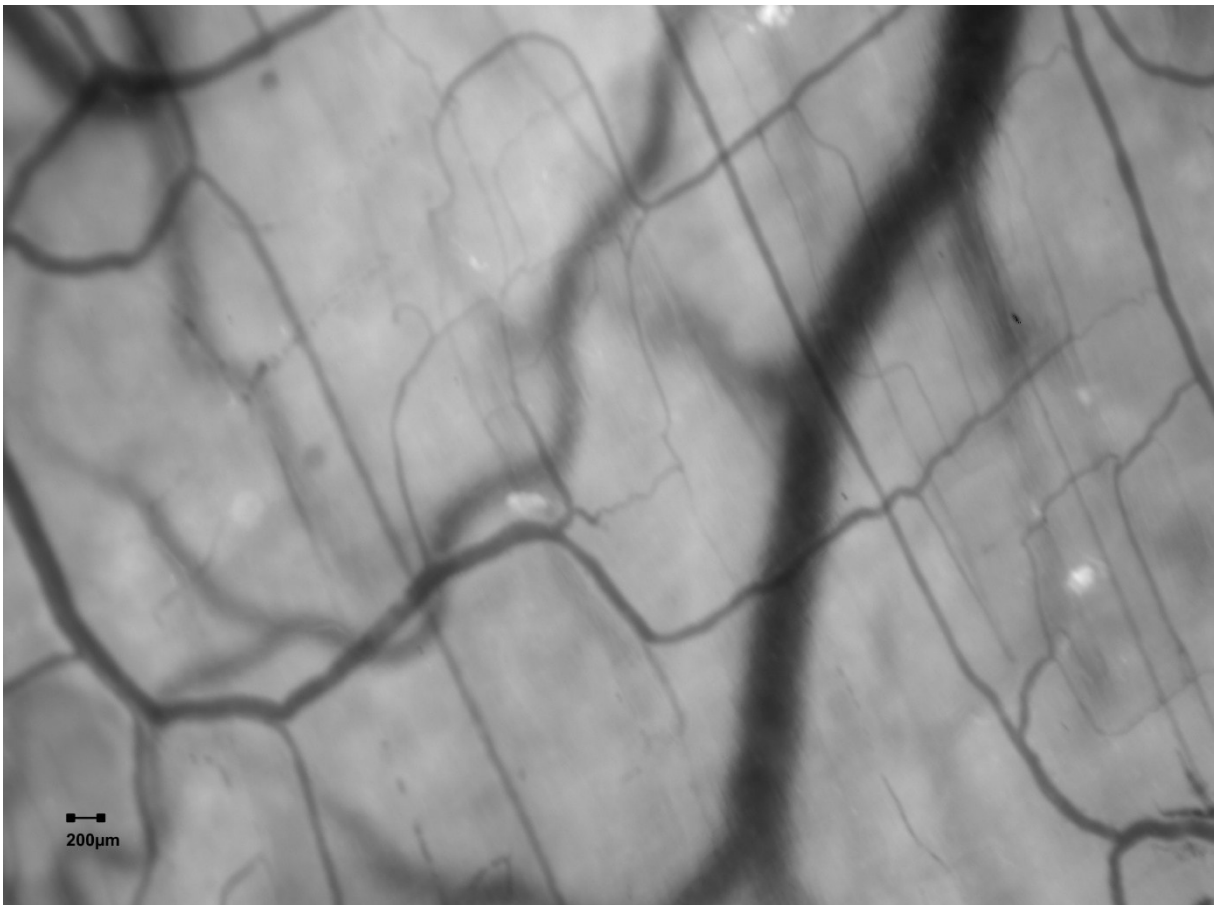
## 2.5.7 Videomikroskopie

Eine Visualisierung der regionalen Mikrozirkulation des Kolons erfolgte mittels optischer Handkamera (CytoCam®, Braedius Medical, Huizen, The Netherlands). Hierdurch besteht die Möglichkeit Variablen der mikrovaskulären Blutkonvektion und Sauerstoffdiffusion zu quantifizieren und zu analysieren[61].

Grundlage dieser Methode ist die *incident dark-field (IDF) illumination*, welche erstmals von Sherman *et al.* beschrieben wurde[62]. 12 Hochleistungsdioden sind zirkulär um ein komplexes Linsensystem angeordnet. Diese emittieren gepulstes grünes Licht mit einer Wellenlänge von 548 nm und einer Repetitionsfrequenz von 250 Hz in das zu untersuchende Gewebe[63]. Grünes Licht mit einer Wellenlänge von 548 nm wird sowohl von oxygeniertem als auch von desoxygeniertem Hämoglobin absorbiert[54]. Das übrige Licht wird an zellulären und interstitiellen Grenzstrukturen gebrochen und erneut an die Gewebeoberfläche reflektiert[61]. Hier können die reflektierten Anteile des initial entsendeten Lichts nun von einer Kamera registriert werden. Bei der genannten Repetitionsfrequenz von 250 Hz und einer Lichtemissionsdauer von 2 ms werden die Signale im Verhältnis 1:1 von der Grünlichtquelle ausgesendet und vom Sensor detektiert. Eine Synchronisierung der Emission und Detektion erfolgt geräteintern. Die gepulste Lichtemission dient hierbei einer höheren Auflösung der sich bewegenden Erythrozyten. Durch diese optischen Phänomene werden Erythrozyten als Lichtausparung sichtbar und stellen damit indirekt die Gefäßverläufe der Mikrozirkulation dar (s. Abbildung 2). Da durch diese Technik eine direkte Visualisierung der Gefäße unterbleibt, können blutleere, kollabierte Gefäße nicht durch dieses Verfahren abgebildet werden[64].

Videoaufnahmen der intestinalen Mikrozirkulation fanden am Ende der Baseline (Baseline) am Ende der Interventionsphase (RIPC), 30 Minuten nach Schockinduktion oder der Narkosefortführung unter normovolämen Bedingungen (HV30) und zum Versuchsende (HV60) statt. Die regionale Mikrozirkulation wurden entsprechend internationalen Empfehlungen standardisiert evaluiert. Gemäß diesen Empfehlungen wurden zu jedem Aufnahmezeitpunkt fünf Videosequenzen mit je 101 *frames* und ca. 4 s Laufzeit aufgenommen[65, 66]. Anschließend wurden die Videos mit einer validierten Software (Cytocam Tools 1.7.8., Braedius Medical, Huizen, NL) stabilisiert und die absolute Gefäßdichte (*total vessel density* (TVD); [ $\text{mm} \cdot \text{mm}^{-1}$ ]), die perfundierte Gefäßdichte (*perfused vessel density* (PVD); [ $\text{mm} \cdot \text{mm}^{-2}$ ]) und der Anteil an perfundierten Gefäßen and der absoluten Gefäßdichte (*proportion of perfused vessels* (PPV); [ $\text{mm} \cdot \text{mm}^{-2}$ ]) bestimmt. Für die Bestimmung der TVD wurde ein Raster aus jeweils drei horizontalen- und vertikalen Linien auf die Aufnahme projiziert. Die Anzahl der Schnittpunkte der abgebildeten Gefäße mit den Gitterlinien ist dann proportional zu der absoluten Gefäßdichte. Die perfundierte Gefäßdichte und der Anteil an perfundierten Gefäßen als sekundäre Größen werden nachfolgend in einem zweiten Schritt durch die Software berechnet.

Der mikrovaskuläre Fluss Index (*microvascular flow index* (MFI)) und der Heterogenitätsindex (*Heterogeneity index* (HGI)) wurde durch einen gegenüber dem Versuchsprotokoll verblindeten Untersucher berechnet. Hierzu wurde der Bildschirm in vier Quadranten unterteilt und jedem Quadranten ein Zahlenwert entsprechend der abgebildeten Flusscharakteristik zugeordnet[64]. Dabei entsprach der Wert „0“ einem abwesenden, „1“ einem intermittierenden, „2“ einem stockenden und „3“ einem normalen Blutfluss[65]. Der Heterogenitätsindex (HGI) wurde als Differenz der in einer Aufnahme bestimmten maximalen und minimalen Flusswertes dividiert durch den durchschnittlichen Flusswert gebildet. Es wurden ausschließlich Gefäße mit einem Diameter von kleiner 20  $\mu\text{m}$  ausgewertet[65].



**Abb. 2: Beispiel einer CytoCam-Aufnahme**

Exemplarisches frame einer CytoCam-Aufnahme der caecalen Mikrozirkulation eines Versuchstiers. Schwarz dargestellt sind die aufgenommenen Erythrozyten und damit indirekt die Gefäße der Mikrozirkulation. Aufnahmebereich: 1,783 mm<sup>2</sup>; unkorrigierte Vergrößerung: 4

Um die Mikrozirkulation eines Gewebes zu beurteilen ist die Interpretation aller genannten Parameter notwendig. An Hämoglobin gebundener Sauerstoff wird von den Erythrozyten zum Zielgewebe transportiert und freigesetzt. Hierfür wird ein ausreichender Blutfluss und Perfusionszeit benötigt[61]. In einem zweiten Schritt folgt die Diffusion des Sauerstoffs zu den Zielzellen des Gewebes[67], welche entsprechend des Fickschen Gesetzes maßgeblich von

der mittleren Diffusionsstrecke abhängig ist[56]. Die mikrovaskuläre Perfusion wird durch die PPV als qualitatives Maß beschrieben, welches jedoch nur perfundierte oder nicht perfundierte Gefäße und somit lediglich Extremwerte abbildet. Der MFI erfasst eine Graduierung der Flusscharakteristik über die Zeit und kann kleinere Veränderungen der mikrovaskulären Perfusion erfassen[65]. Folglich werden PPV, MFI und HGI als funktionelle Parameter der Mikrozirkulation verstanden. Die TVD und die PVD spiegeln die Struktur der Mikrozirkulation und damit die zurückzulegende, mittlere Diffusionsstrecke wider[48].

## 2.6 Statistik

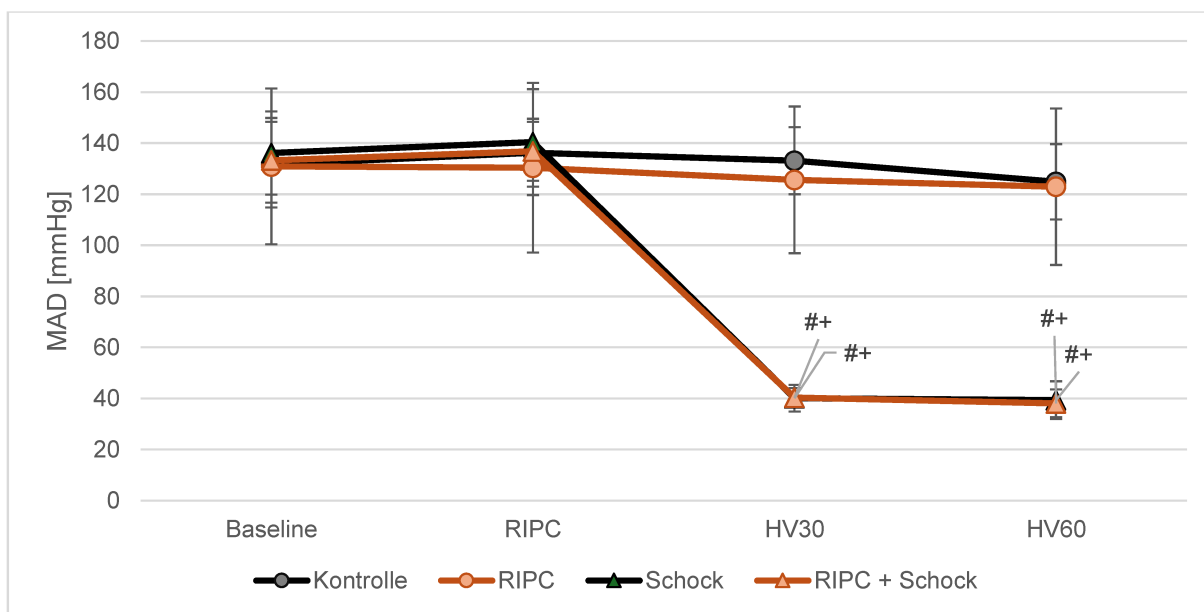
Vor Studienbeginn wurde eine Gruppengröße von  $n = 12$  in einer Poweranalyse (G\*Power Version 3.1.9.2) bestimmt um signifikante Ergebnisse zwischen den Versuchsgruppen mit einer Power  $> 0,8$  und einem alpha-Fehler von  $< 0,05$  für den primären Endpunkt ( $\mu\text{HbO}_2$ ) zu bestimmen.

Kontinuierlich erhobene Daten wurden über die jeweils letzten fünf Minuten des Untersuchungszeitraums gemittelt. Die Testung auf Normalverteilung der Daten erfolgte mittels *Q-Q-plots* (IBM SPSS Statistics, International Business Machine Corp., United States). Für den Vergleich zwischen den Versuchsgruppen und den Vergleich mit der individuellen Baseline wurde eine multifaktorielle Varianzanalyse mittels *two-way ANOVA (analysis of variance)* und *Bonferroni post-hoc* Korrektur durchgeführt (GraphPad Prism v6.05 für Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA). Statistisch signifikante Ergebnisse wurden für ein Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  angenommen. Die Ergebnisse werden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (MW  $\pm$  SD) dargestellt[48].

# 3 Ergebnisse

## 3.1 Makrozirkulation

Alle Versuchsgruppen wiesen vergleichbare MAD-Ausgangswerte am Ende der Baseline auf (durchschnittlich  $133 \pm 20$  mmHg). Die Induktion einer akuten Hämorrhagie führte zu einem signifikanten Abfall des MAD von  $\text{Schock}_{\text{Baseline}}$ :  $136 \pm 16$  mmHg auf  $\text{Schock}_{\text{HV60}}$ :  $39 \pm 7$  mmHg bzw. von  $\text{RIPC} + \text{Schock}_{\text{Baseline}}$ :  $133,3 \pm 17$  mmHg auf  $\text{RIPC} + \text{Schock}_{\text{HV60}}$ :  $38 \pm 5$  mmHg. Versuchstiere ohne Induktion einer akuten Hämorrhagie hingegen zeigten einen konstanten Blutdruckverlauf, ohne signifikante Veränderungen über die Versuchsdauer. Eine vorherige RIPC hatte weder unter physiologischen noch unter hämorrhagischen Kreislaufbedingungen einen Einfluss auf den MAD ( $\text{Kontrolle}_{\text{HV60}}$ :  $125 \pm 15$  mmHg vs.  $\text{RIPC}_{\text{HV60}}$ :  $123 \pm 31$  mmHg bzw.  $\text{Schock}_{\text{HV60}}$ :  $39 \pm 7$  mmHg vs.  $\text{RIPC} + \text{Schock}_{\text{HV60}}$ :  $38 \pm 5$  mmHg (Abb. 3)[48]. Die detaillierte Darstellung der erhobenen Vitalparameter findet sich nachfolgend in Tab. 1.



**Abb. 3: Verlauf des mittleren arteriellen Blutdruckes über die Versuchszeit**

Darstellung des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAD) in [mmHg] über die Versuchszeit. Die Datenerhebungen erfolgten 15 Minuten nach Versuchsbeginn unter stabilen Konditionen („Baseline“), nach Beendigung der ischämischen Präkonditionierung beziehungsweise des vergleichbaren Zeitfensters für -naive Tiere (55 min, „RIPC“), 30- (HV30) und 60 Minuten (HV60) nach Schockinduktion oder Fortführung unter normovolämen Bedingungen. Die Daten werden als MW  $\pm$  SD für n = 12 Versuchstiere angegeben. Statistisch signifikante Ergebnisse wurden für  $p < 0,05$  in der two-way ANOVA angenommen. Signifikante Unterschiede der Versuchsgruppen zur jeweiligen RIPC-negativen Gruppe werden mit „\*“, zur jeweiligen normovolämen Gruppe mit „#“ und zur individuellen Baseline mit „+“ gekennzeichnet. Modifiziert nach[48].

Parameter	Gruppe	Baseline	RIPC	HV30	HV60
MAD [mmHg]	Kontrolle	132±17	136±13	133±13	125±15
	RIPC	131±30	130±33	126±29	123±31
	Schock	136±16	140±21	40±5 #+	39±7 #+
	RIPC + Schock	133±17	137±12	40±4 #+	38±5 #+
HF [min <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	433±57	429±54	432±58	414±57
	RIPC	438±66	459±38	454±42	443±39
	Schock	419±43	443±47	385±75	378±51
	RIPC + Schock	402±37	433±39	383±61	364±51
PawMean [cmH <sub>2</sub> O]	Kontrolle	6±0,9	6,5±1,3	6,6±1,2	6,7±1,2
	RIPC	5,9±0,9	6,3±0,8	6,4±0,8	6,7±0,9
	Schock	5,9±0,8	6,2±0,9	6,5±0,8	6,7±0,8
	RIPC + Schock	6±0,6	6,4±0,7	6,7±0,8	6,8±0,8
PawMax [cmH <sub>2</sub> O]	Kontrolle	12,2±1,3	13,4±1,9	13,8±1,9	14,2±1,7
	RIPC	12,2±1,2	13,5±1,5	14±1,6	14,8±1,7
	Schock	11,9±1,3	12,9±1,4	14±1,7	14,5±1,5
	RIPC + Schock	11,9±1,2	13,1±1,7	14±1,9	14,6±1,9
PawMin [cmH <sub>2</sub> O]	Kontrolle	1,1±0,9	1,2±1,1	1,2±1,1	1,2±1
	RIPC	0,9±0,9	0,9±0,8	0,8±0,7	0,8±0,7
	Schock	1,2±0,8	1,2±0,9	1,1±0,9	1,1±0,8
	RIPC + Schock	1,2±0,7	1,2±0,6	1,1±0,6	1±0,5
Temperatur [°C]	Kontrolle	37±0,5	37,1±0,5	n.v. ± n.v.	37,1±0,5
	RIPC	37,2±1	37,5±1	n.v. ± n.v.	37,1±0,6
	Schock	37±0,3	37,2±0,5	n.v. ± n.v.	37±0,6
	RIPC + Schock	37±0,3	37,3±0,5	n.v. ± n.v.	36,7±0,5

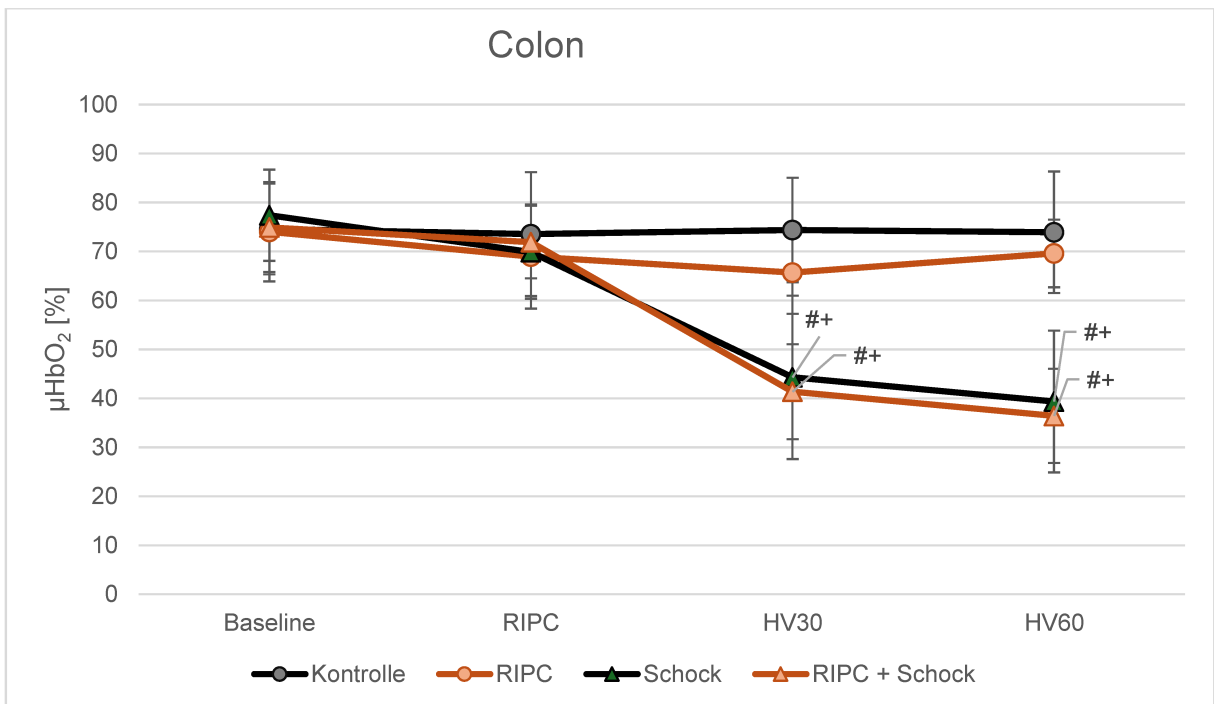
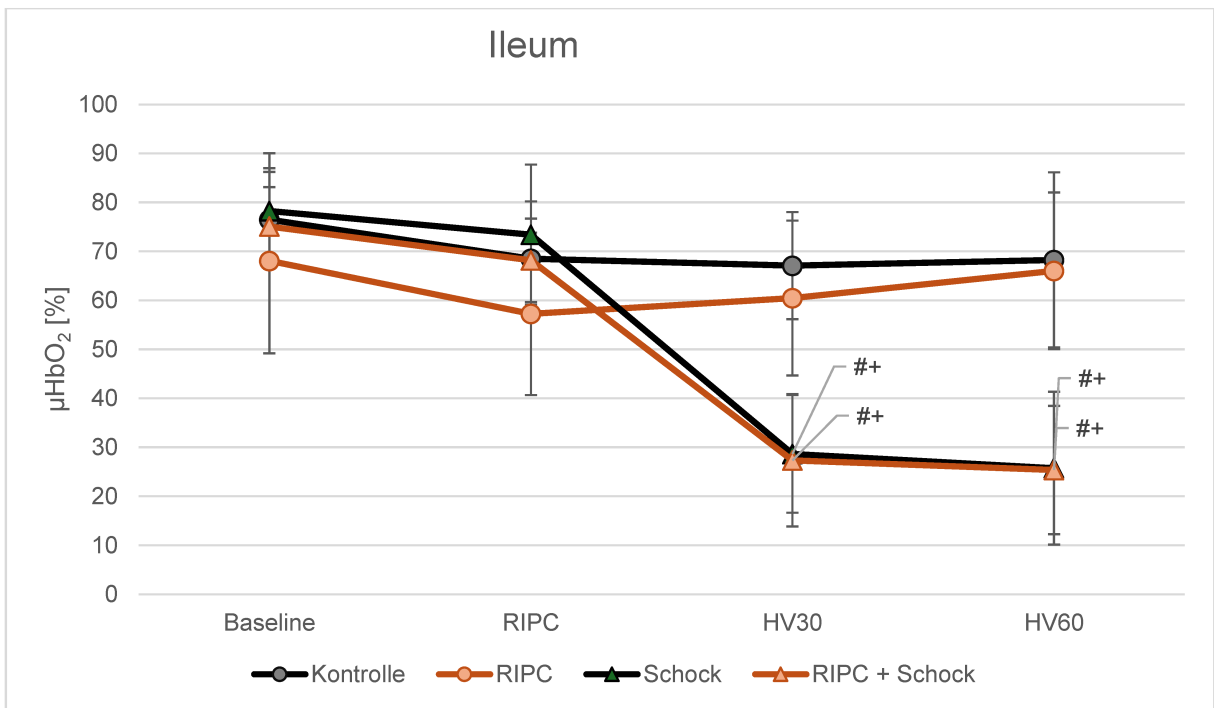
**Tabelle 1: Übersicht über die Vitalparameter**

Tabellarische Übersicht der erhobenen Vitalparameter. Dargestellt werden der mittlere arterielle Druck (MAD) in [mmHg], die Herzfrequenz (HF) in [min<sup>-1</sup>], der durchschnittliche, obere und untere Atemwegsdruck (PawMean, PawMax, PawMin) in [cmH<sub>2</sub>O] und die Temperatur in [°C]. Die Datenerhebungszeitpunkte werden in der Kopfzeile benannt (Baseline = 0:15 h, RIPC = 0:55 h, HV30 = 1:25 h, HV60 = 1:55 h). Die Daten werden als MW ± SD für n = 12 Versuchstiere angegeben. Bei zu diesem Zeitpunkt nicht verfügbaren Daten erfolgte der Eintrag „n.v.“. Statistisch signifikante Ergebnisse für den MAD wurden für p < 0,05 in der two-way ANOVA angenommen. Signifikante Unterschiede der Versuchsgruppen zur jeweiligen RIPC-negativen Gruppe werden mit „\*“, zur jeweiligen normovolämen Gruppe mit „#“ und zur individuellen Baseline mit „+“ gekennzeichnet. Es erfolgte keine statistische Aufarbeitung der Parameter HF, PawMean, PawMax, PawMin und der Körpertemperatur.

## 3.2 Messgrößen der Mikrozirkulation

### 3.2.1 $\mu\text{HbO}_2$

Die zu Versuchsbeginn erhobenen Werte des  $\mu\text{HbO}_2$  unterschieden sich nicht zwischen den Versuchsgruppen. In den normovolämen Versuchstieren hatte die Dauer des Versuchs keinen Einfluss auf die  $\mu\text{HbO}_2$  (*Ileum* Kontrolle<sub>Baseline</sub>:  $77 \pm 10 \%$  vs. RIPC<sub>Baseline</sub>:  $68 \pm 19 \%$  und Kontrolle<sub>HV60</sub>:  $68 \pm 18 \%$  vs. RIPC<sub>HV60</sub>:  $66 \pm 16 \%$ ). In beiden Schockgruppen führte die Induktion einer akuten Hämorrhagie zu einer signifikanten Reduktion des  $\mu\text{HbO}_2$  sowohl im *Ileum* von Schock<sub>Baseline</sub>:  $78 \pm 12 \%$  auf Schock<sub>HV60</sub>:  $26 \pm 16 \%$  bzw. von RIPC + Schock<sub>Baseline</sub>:  $75 \pm 8 \%$  auf RIPC + Schock<sub>HV60</sub>:  $25 \pm 13 \%$ , als auch im *Colon* von Schock<sub>Baseline</sub>:  $77 \pm 9 \%$  auf Schock<sub>HV60</sub>:  $39 \pm 15 \%$  bzw. von RIPC + Schock<sub>Baseline</sub>:  $75 \pm 9 \%$  auf RIPC + Schock<sub>HV60</sub>:  $36 \pm 10 \%$ . Somit bestanden ab dem Zeitpunkt der Schockinduktion signifikante Unterschiede zwischen den normovolämen mit den hypovolämen Gruppen hinsichtlich des  $\mu\text{HbO}_2$  (Beispiel: *Ileum* Kontrolle<sub>HV60</sub>:  $68 \pm 18 \%$  vs. Schock<sub>HV60</sub>:  $26 \pm 16 \%$ ). Eine RIPC-Intervention zeigte bei beiden Gruppen keinen signifikanten Einfluss auf den  $\mu\text{HbO}_2$  in Betrachtung mit ihren Vergleichsgruppen (Beispiel: *Ileum* RIPC<sub>HV60</sub>:  $66 \pm 16 \%$  vs. RIPC + Schock<sub>HV60</sub>:  $25 \pm 13 \%$ ) (Abb. 4)[48].

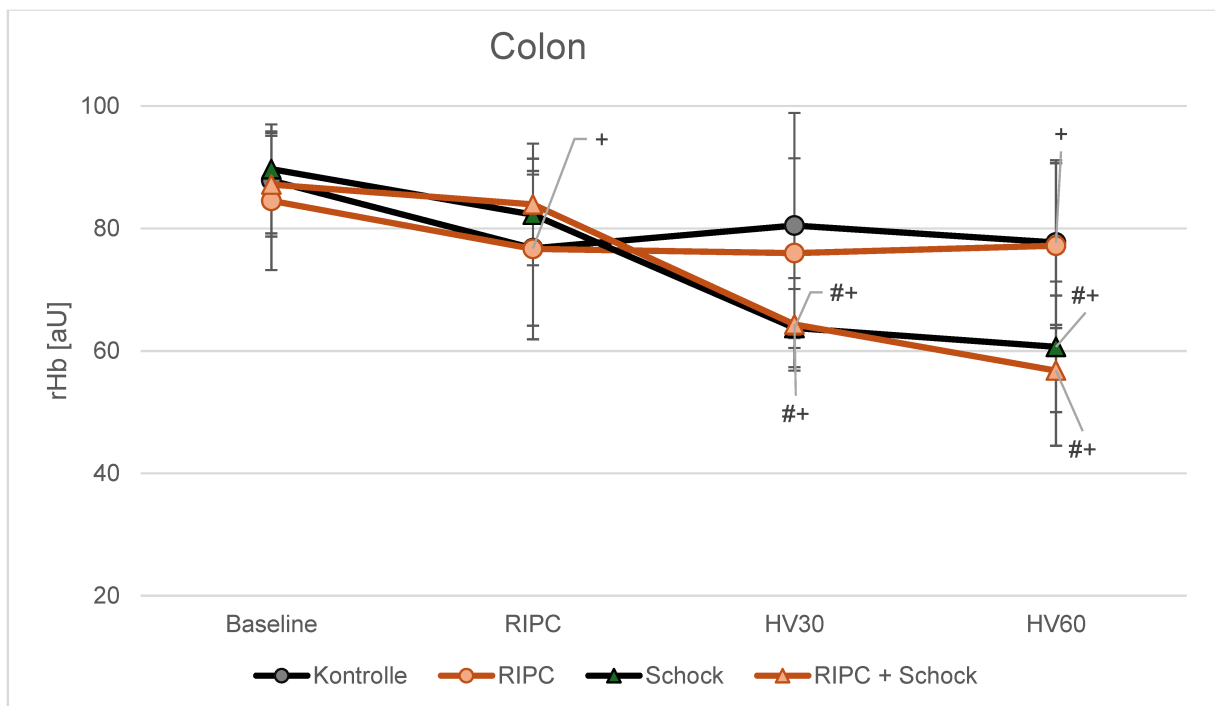
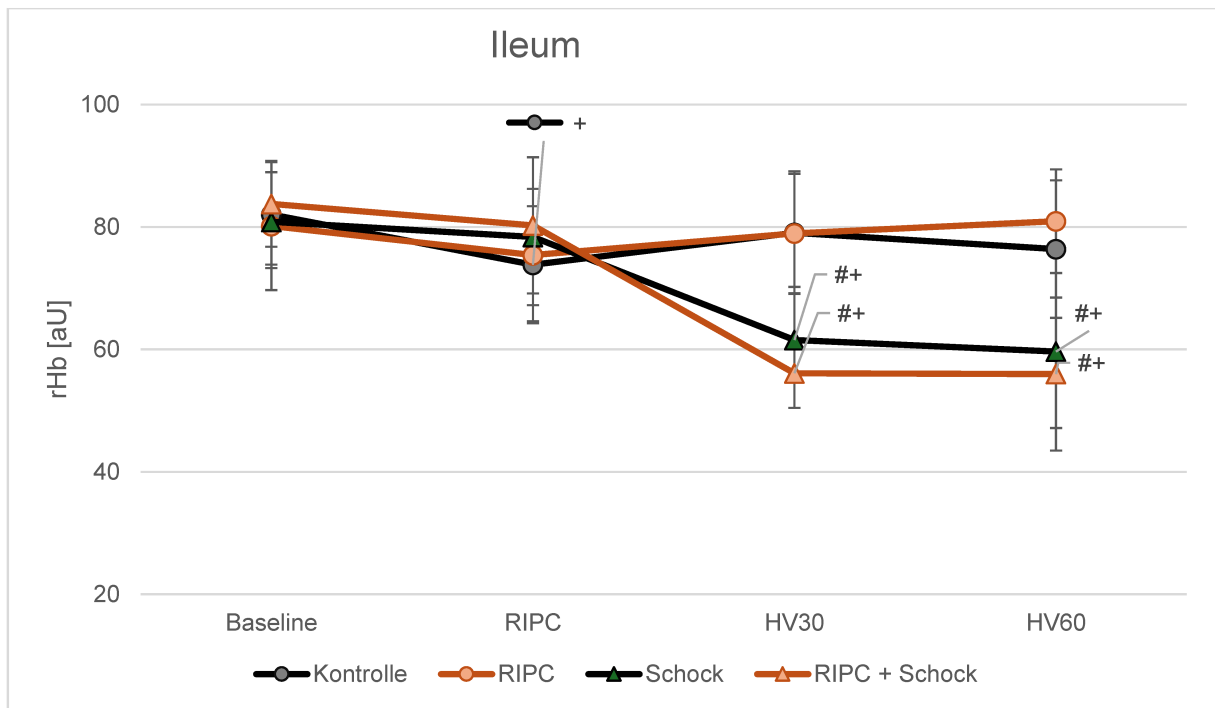


**Abb. 4: Verlauf der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung über die Versuchszeit**

Darstellung der  $\mu\text{HbO}_2$  des Ileums (oben) und Colons (unten) in Prozent [%] über die Versuchszeit. Die Datenerhebungen erfolgten 15 min nach Versuchsbeginn (Baseline), nach Beendigung des 40-minütigen Interventionszeitfensters (RIPC), 30- (HV30) und 60 Minuten (HV60) nach Schockinduktion oder Fortführung unter normovolämen Bedingungen. Die Daten werden als  $\text{MW} \pm \text{SD}$  für  $n = 12$  Versuchstiere angegeben. Statistisch signifikante Ergebnisse wurden für  $p < 0,05$  in der two-way ANOVA angenommen. Signifikante Unterschiede der Versuchsgruppen zur jeweiligen RIPC-negativen Gruppe werden mit „\*“, zur jeweiligen normovolämen Gruppe mit „#“ und zur individuellen Baseline mit „+“ gekennzeichnet. Modifiziert nach [48].

### 3.2.2 rHb

Die Baselinewerte der regional gemessenen Blutmenge (rHb) zeigten keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Die Induktion einer akuten Hämorrhagie führte sowohl im *Ileum* (Schock<sub>Baseline</sub>:  $81 \pm 8$  aU auf Schock<sub>HV60</sub>:  $60 \pm 9$  aU bzw. von RIPC + Schock<sub>Baseline</sub>:  $84 \pm 7$  aU auf RIPC + Schock<sub>HV60</sub>:  $56 \pm 13$  aU) als auch im *Colon* (Schock<sub>Baseline</sub>:  $90 \pm 6$  aU auf Schock<sub>HV60</sub>:  $61 \pm 11$  aU bzw. von RIPC + Schock<sub>Baseline</sub>:  $87 \pm 8$  aU auf RIPC + Schock<sub>HV60</sub>:  $57 \pm 12$  aU) zu einem signifikanten Abfall des rHb. In den Versuchstieren ohne Schockinduktion hingegen blieb der rHb in beiden Organen konstant, ohne signifikante Veränderungen über die Versuchsdauer (*Ileum* Kontrolle<sub>Baseline</sub>:  $82 \pm 9$  aU vs. RIPC<sub>Baseline</sub>:  $80 \pm 10$  aU und Kontrolle<sub>HV60</sub>:  $76 \pm 11$  aU vs. RIPC<sub>HV60</sub>:  $81 \pm 9$  aU). Somit bestehen ab dem Zeitpunkt der Schockinduktion signifikante Unterschiede zwischen den normovolämen und den Schockgruppen hinsichtlich des rHb (*Ileum* Kontrolle<sub>Baseline</sub>:  $82 \pm 9$  aU vs. Schock<sub>Baseline</sub>:  $81 \pm 8$  aU und Kontrolle<sub>HV60</sub>:  $76 \pm 11$  aU vs. Schock<sub>HV60</sub>:  $60 \pm 9$  aU). Eine RIPC-Intervention zeigte sowohl unter normovolämen als auch unter hämorrhagischen Bedingungen keinen signifikanten Einfluss auf den rHb (Abb. 5)[48].

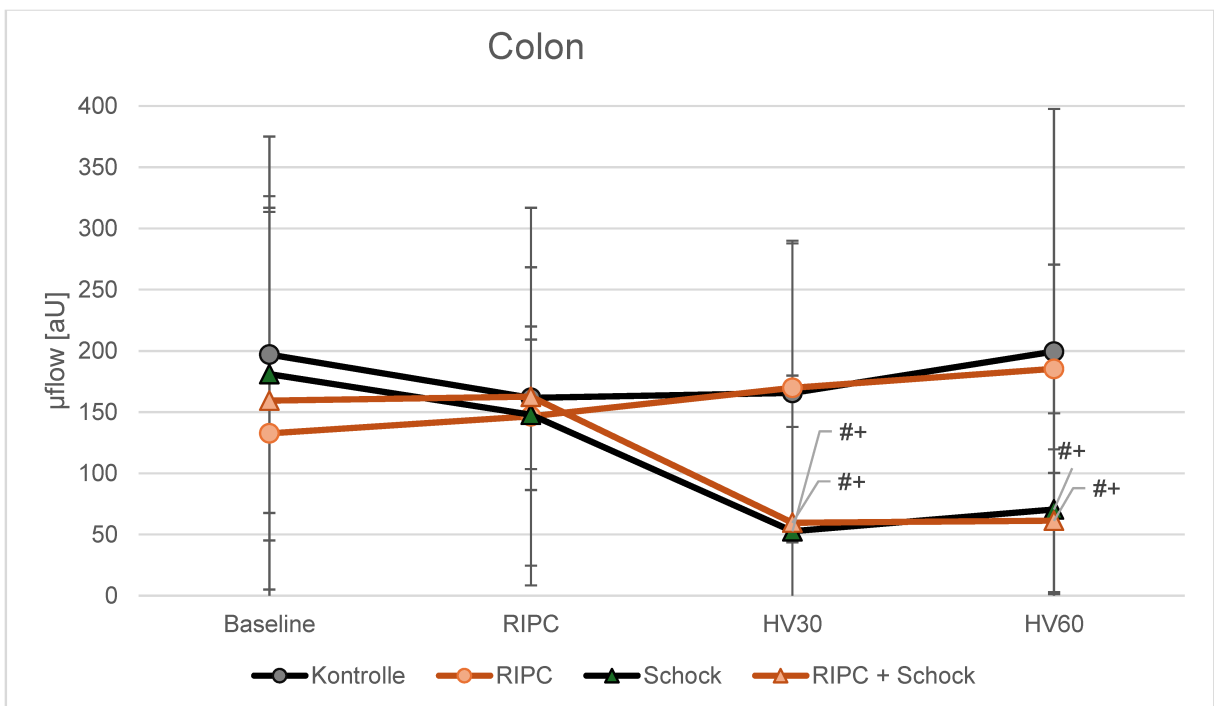
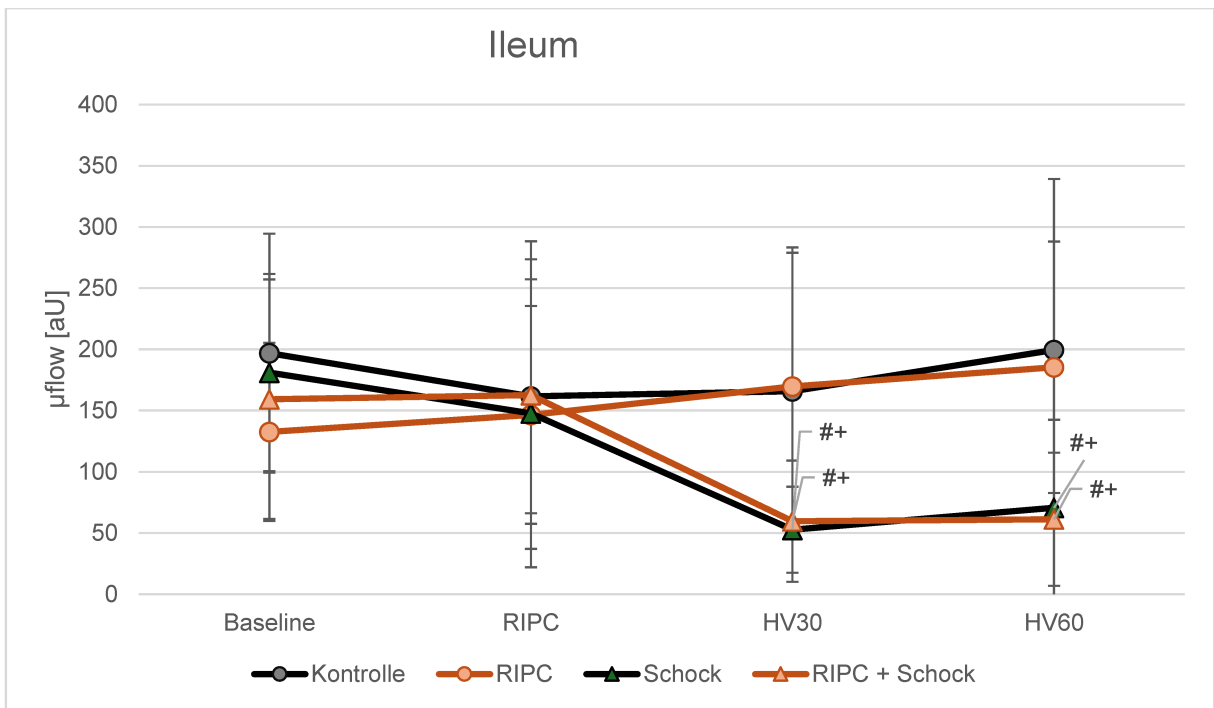


**Abb. 5: Verlauf des relativen Hämoglobingehaltes über die Versuchszeit**

Darstellung des rHb des Ileums (oben) und Colons (unten) in arbitrary units [aU] über die Versuchszeit. Die Datenerhebungen erfolgten 15 min nach Versuchsbeginn (Baseline), nach Beendigung des 40-minütigen Interventionszeitfensters (RIPC), 30- (HV30) und 60 Minuten (HV60) nach Schockinduktion oder Fortführung unter normovolämen Bedingungen. Die Daten werden als  $MW \pm SD$  für  $n = 12$  Versuchstiere angegeben. Statistisch signifikante Ergebnisse wurden für  $p < 0,05$  in der two-way ANOVA angenommen. Signifikante Unterschiede der Versuchsgruppen zur jeweiligen RIPC-negativen Gruppe werden mit „\*“, zur jeweiligen normovolämen Gruppe mit „#“ und zur individuellen Baseline mit „+“ gekennzeichnet.

### 3.2.3 $\mu$ flow, $\mu$ velo

An beiden Messorten zeigte sich weder unter Normovolämie noch unter Hypovolämie ein durch die RIPC induzierter, signifikanter Unterschied bezüglich des registrierten mikrovaskulären Flusses. Die Induktion eines hämorrhagischen Schocks verminderte den mikrovaskulären Blutfluss in beiden Schockgruppen signifikant, verglichen mit den vorherigen Baseline-Messungen (*Ileum*  $\mu$ flow Schock<sub>Baseline</sub>:  $181 \pm 81$  aU auf Schock<sub>HV60</sub>:  $71 \pm 72$  aU; RIPC + Schock<sub>Baseline</sub>:  $159 \pm 98$  aU auf RIPC + Schock<sub>HV60</sub>:  $61 \pm 54$  aU) und normovolämen Gruppen. Eine Darstellung des  $\mu$ flow im *Ileum* der verschiedenen Versuchsgruppen findet sich in Abbildung 6. Eine Übersicht aller mittels Weißlichtgewebespektrometrie und Laser-Doppler Flussmessungen erhobenen Parameter der Mikrozirkulation findet sich nachfolgend in Tabelle 2[48].



**Abb. 6: Verlauf des mikrovaskulären Flusses über die Versuchszeit**

Darstellung des  $\mu$ flow des Ileums (oben) und des Colons (unten) in arbitrary units [aU] über die Versuchszeit. Die Datenerhebungen erfolgten 15 min nach Versuchsbeginn (Baseline), nach Beendigung des 40-minütigen Interventionszeitfensters (RIPC), 30- (HV30) und 60 Minuten (HV60) nach Schockinduktion oder Fortführung unter normovolämischen Bedingungen. Die Daten werden als  $MW \pm SD$  für  $n = 12$  Versuchstiere angegeben. Statistisch signifikante Ergebnisse wurden für  $p \leq 0,05$  in der two-way ANOVA angenommen. Signifikante Unterschiede der Versuchsgruppen zur jeweiligen RIPC-negativen Gruppe werden mit „\*“, zur jeweiligen normovolämischen Gruppe mit „#“ und zur individuellen Baseline mit „+“ gekennzeichnet.

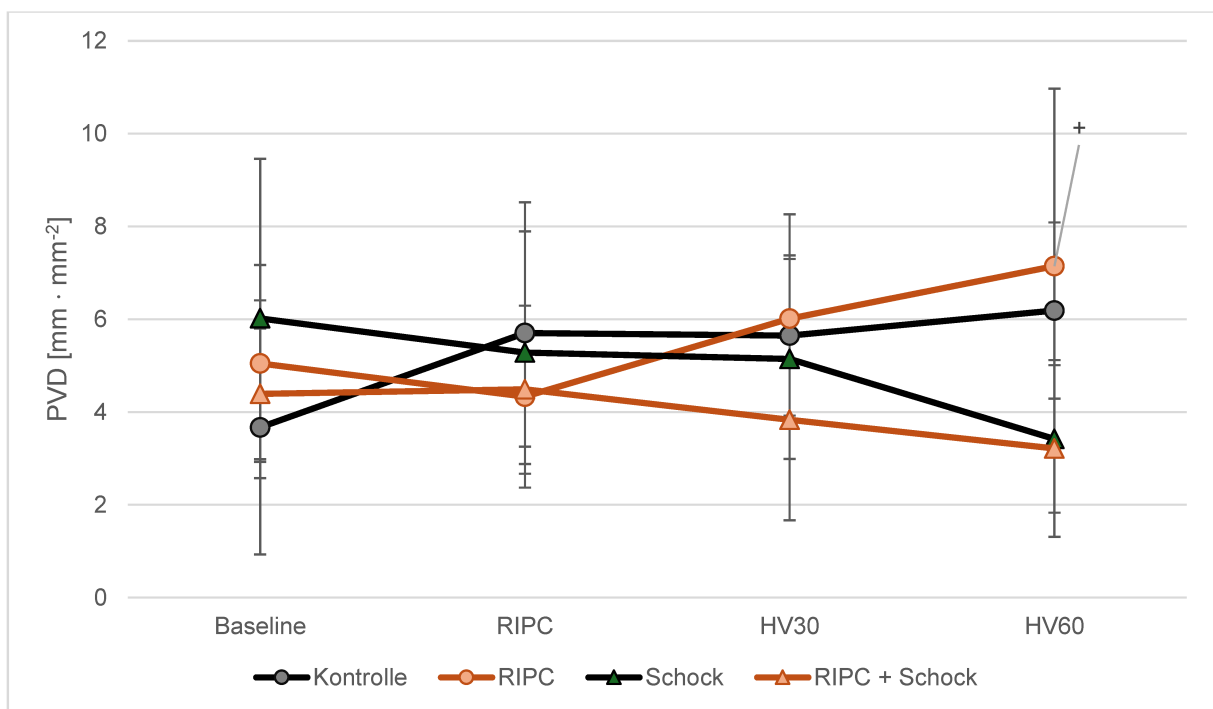
Parameter	Gruppe	Baseline	RIPC	HV30	HV60
$\mu\text{HbO}_2$ <i>Ileum</i> [%]	Kontrolle	77±9,7	69±11,7	67±11 +	68±17,9
	RIPC	68±19	57±16,6	61±16	66±16
	Schock	78±12	73±14,3	29±12 #+	26±16 #+
	RIPC + Schock	75±8	68±8,5	27±14 #+	25±13 #+
$\mu\text{HbO}_2$ <i>Colon</i> [%]	Kontrolle	75±9,3	74±13	74±11	74±12
	RIPC	74±10	69±11	66±8,4	70±6,9
	Schock	77±9,3	70±9,5	44±17 #+	39±15 #+
	RIPC + Schock	75±9,1	72±7,4	41±9,7 #+	36±9,6 #+
rHb <i>Ileum</i> [aU]	Kontrolle	82±8,8	74±9,5 +	79±10	76±11
	RIPC	80±10	75±11	79±9,8	81±8,5
	Schock	81±8,1	78±13	62±8,7 #+	60±8,9 #+
	RIPC + Schock	84±7,0	80±11	56±5,7 #+	56±13 #+
rHb <i>Colon</i> [aU]	Kontrolle	88±9,2	77±13 +	81±18	78±13 +
	RIPC	85±11	77±15	76±16	77±14
	Schock	90±5,9	82±6,5	64±6,4 #+	61±11 #+
	RIPC + Schock	87±8	84±9,9	64±7,6 #+	57±12 #+
$\mu\text{flow}$ <i>Ileum</i> [aU]	Kontrolle	197±98	162±96	166±113	200±140
	RIPC	133±73	146±89	170±113	185±103
	Schock	181±81	148±126	53±35 #+	71±72 #+
	RIPC + Schock	159±98	163±126	60±50 #+	61±54 #+
$\mu\text{flow}$ <i>Colon</i> [aU]	Kontrolle	239±129	153±58	230±122	228±198
	RIPC	215±243	195±122	187±120	209±85
	Schock	215±136	160±61	107±127 #+	97±79 #+
	RIPC + Schock	241±154	264±154	104±78 #+	79±58 #+
$\mu\text{velo}$ <i>Ileum</i> [aU]	Kontrolle	30±12	29±13	28±11	31±14
	RIPC	26±10	26±9,7	28±12	30±11
	Schock	31±10	24±11	15±3,9 #+	15±7,9 #+
	RIPC + Schock	28±11	29±12	16±8 #+	17±8,4 #+
$\mu\text{velo}$ <i>Colon</i> [aU]	Kontrolle	29±9,9	23±2,9	31±9,1	28±11
	RIPC	26±13	27±9,8	27±11	29±10
	Schock	26±10	23±5,7	16±8,2 #+	17±7,1 #+
	RIPC + Schock	28±13	30±13	18±6 #+	15±5 #+

**Tabelle 2: Weißlichtgewebespektrometrie und Laser-Doppler Flussmessungen**

Tabellarische Übersicht der mittels Laser-Doppler-Untersuchung und Weißlicht-Gewebespektroskopie erhobenen Daten ( $\mu\text{HbO}_2$ , rHb, flow) des Ileums und Colons. Darstellung in ihrer jeweiligen Einheit (s. 1. Spalte). Die Datenerhebungszeitpunkte werden in der Kopfzeile benannt (Baseline = 0:15 h, RIPC = 0:55 h, HV30 = 1:25 h, HV60 = 1:55 h). Die Daten werden als MW  $\pm$  SD für n = 12 Versuchstiere angegeben. Statistisch signifikante Ergebnisse wurden für  $p \leq 0,05$  in der two-way ANOVA angenommen. Signifikante Unterschiede der Versuchsgruppen zur jeweiligen RIPC-negativen Gruppe werden mit „\*“, zur jeweiligen normovolämen Gruppe mit „#“ und zur individuellen Baseline mit „+“ gekennzeichnet. Modifiziert nach [48].

### 3.3 Videomikroskopie

Sowohl die TVD, PVD und PPV wiesen zu Versuchsbeginn keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auf. Die TVD zeigte weder zu Beginn der Messung noch im zeitlichen Verlauf des Versuchs relevante signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen[48]. Hinsichtlich des PVDs (Abbildung 7) ließen sich nach Induktion eines hämorrhagischen Schocks signifikante Unterschiede der Schockgruppen zu den normovolämen Tieren feststellen ( $RIPC_{HV60}$ :  $7,1 \pm 3,8 \text{ mm} \cdot \text{mm}^{-2}$  vs.  $RIPC + \text{Schock}_{HV60}$ :  $3,2 \pm 1,9 \text{ mm} \cdot \text{mm}^{-2}$ ). Analog dazu zeigte die PPV ebenfalls lediglich schockbedingte Signifikanzen (beispielsweise  $RIPC_{HV60}$ :  $47 \pm 18 \%$  vs.  $RIPC + \text{Schock}_{HV60}$ :  $31 \pm 11 \%$ ). Es bestanden keine signifikanten, RIPC-induzierten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen.

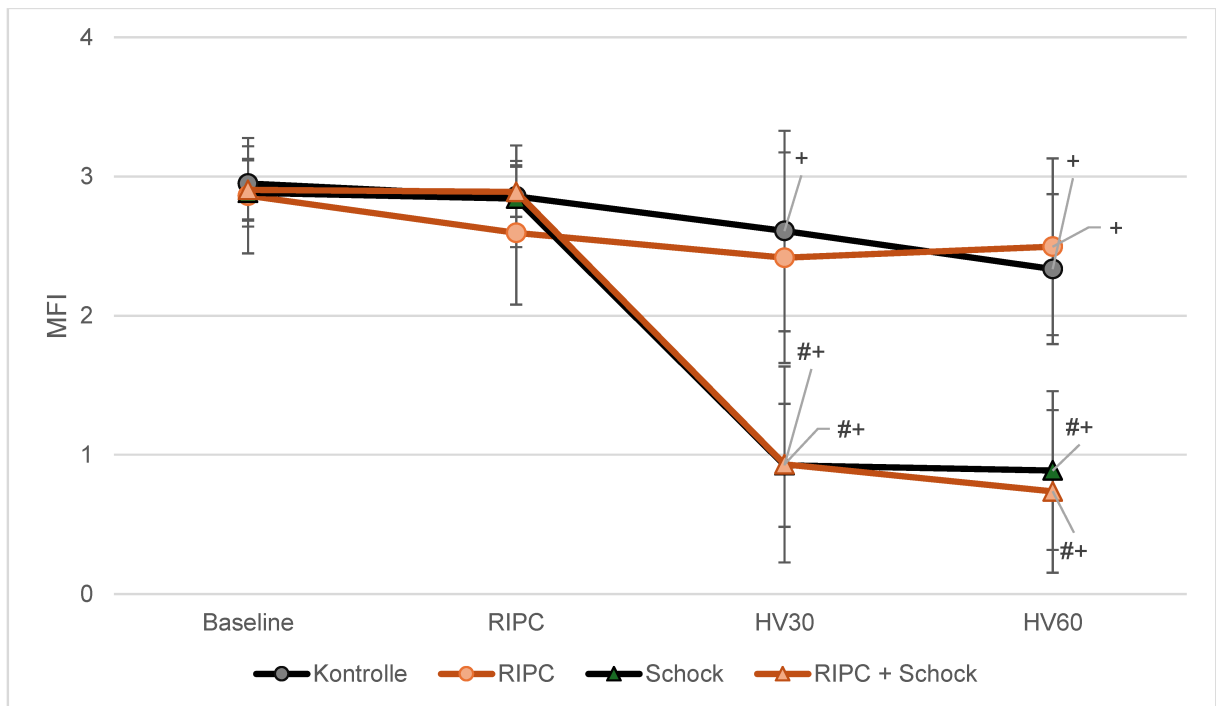


**Abb. 7: Verlauf der perfused vessel density über die Versuchszeit**

Darstellung des PVD in  $[\text{mm} \cdot \text{mm}^{-2}]$  über die Versuchszeit. Die Datenerhebungen erfolgten 15 min nach Versuchsbeginn (Baseline), nach Beendigung des 40-minütigen Interventionszeitfensters (RIPC), 30- (HV30) und 60 Minuten (HV60) nach Schockinduktion oder Fortführung unter normovolämen Bedingungen. Die Daten werden als  $MW \pm SD$  für  $n = 12$  Versuchstiere angegeben. Statistisch signifikante Ergebnisse wurden für  $p < 0,05$  in der two-way ANOVA angenommen. Signifikante Unterschiede der Versuchsgruppen zur jeweiligen RIPC-negativen Gruppe werden mit „\*“, zur jeweiligen normovolämen Gruppe mit „#“ und zur individuellen Baseline mit „+“ gekennzeichnet.

Der MFI und der HGI zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen zu Versuchsbeginn. Nach Schockinduktion kam es zu einem signifikanten Abfall des MFI ( $\text{Schock}_{\text{Baseline}}$ :  $2,9 \pm 0,4$  vs.  $\text{Schock}_{\text{HV60}}$ :  $0,9 \pm 0,6$ ; Darstellung in Abbildung 8) und Anstieg des HGI ( $\text{Schock}_{\text{Baseline}}$ :  $0,4 \pm 0,4$  vs.  $\text{Schock}_{\text{HV60}}$ :  $2,3 \pm 1,7$ ). Weder unter physiologischen noch

unter hämorrhagischen Bedingungen ließ sich ein signifikanter Unterschied durch RIPC zwischen den Versuchsgruppen nachweisen. Die detaillierte Darstellung der videomikroskopisch erhobenen Parameter und signifikanter Abweichungen dieser findet sich in Tabelle 3[48].



**Abb. 8: Verlauf des *microvascular flow index* über die Versuchszeit**

Darstellung des MFI als dimensionslose Größe über die Versuchszeit. Die Datenerhebungen erfolgten 15 min nach Versuchsbeginn (Baseline), nach Beendigung des 40-minütigen Interventionszeitfensters (RIPC), 30- (HV30) und 60 Minuten (HV60) nach Schockinduktion oder Fortführung unter normovolämen Bedingungen. Die Daten werden als  $MW \pm SD$  für  $n = 12$  Versuchstiere angegeben. Statistisch signifikante Ergebnisse wurden für  $p < 0,05$  in der two-way ANOVA angenommen. Signifikante Unterschiede der Versuchsgruppen zur jeweiligen RIPC-negativen Gruppe werden mit „\*“, zur jeweiligen normovolämen Gruppe mit „#“ und zur individuellen Baseline mit „+“ gekennzeichnet. Modifiziert nach[48].

Parameter	Gruppe	Baseline	RIPC	HV30	HV60
TVD [mm · mm <sup>2</sup> ]	Kontrolle	11±2,4	13,5±5,5	13,6±3,4	12,4±3,5
	RIPC	12,8±2,3	11,9±3,9	12,6±3,5	14,3±4,4
	Schock	13,4±3,8	12,6±4	10,1±6,2 #+	10,6±4,5
	RIPC + Schock	11,3±2,1	10,7±1	9,4±2,6	10,8±4,6
PVD [mm · mm <sup>2</sup> ]	Kontrolle	3,7±2,7	5,7±2,8	5,6±1,7	6,2±1,9
	RIPC	5±2,1	4,3±2	6±2,2	7,1±3,8 +
	Schock	4,8±3,4	5,7±2,6	3,4±2,2	4,3±1,6
	RIPC + Schock	4,4±1,4	4,5±1,2	3,8±2,2	3,2±1,9
PPV [%]	Kontrolle	35,1±12,7	43±12,6	44,1±9,1	52,1±10,2
	RIPC	42,4±13,7	39±8,8	50,4±15,5	46,8±18,2
	Schock	35,4±16,6	45,2±15,1	35,2±15,1	44,5±11,9
	RIPC + Schock	38,9±9,5	42,8±11,9	44,2±15,8	31,1±11,4
MFI	Kontrolle	3±0,3	2,9±0,4	2,6±0,7 +	2,3±0,5 +
	RIPC	2,9±0,4	2,6±0,5	2,4±0,8 +	2,5±0,6
	Schock	2,9±0,2	2,8±0,2	0,9±0,4 #+	0,9±0,6 #+
	RIPC + Schock	2,9±0,2	2,9±0,2	0,9±0,7 #+	0,7±0,6 #+
HGI	Kontrolle	0,3±0,4	0,3±0,5	0,7±1,1	1±0,7
	RIPC	0,2±0,6	0,7±0,7	0,8±0,7	0,8±0,8
	Schock	0,4±0,4	0,3±0,4	0,6±1 #+	2,3±1,7 #+
	RIPC + Schock	0,2±0,3	0,2±0,3	2,9±1,2 #+	3,7±2,7 #+

**Tabelle 3: Videomikroskopische Parameter**

Tabellarische Übersicht der videomikroskopisch erhobenen Daten (TVD, PVD, PPV, MFI, HGI) des Coecums in ihrer jeweiligen Einheit (s. 1. Spalte). Darstellung als MW ± SD für n = 12 Versuchstiere zu den jeweiligen Datenerhebungszeitpunkten. Erhebungszeitpunkte werden in der Kopfzeile benannt (Baseline = 0:15 h, RIPC = 0:55 h, HV30 = 1:25 h, HV60 = 1:55 h). Statistisch signifikante Ergebnisse wurden für p < 0,05 in der two-way ANOVA angenommen. Signifikante Unterschiede der Versuchsgruppen zur jeweiligen RIPC-negativen Gruppe werden mit „\*“, zur jeweiligen normovolämen Gruppe mit „#“ und zur individuellen Baseline mit „+“ gekennzeichnet. Tabellarische Darstellung für TVD und PVD modifiziert nach[48].

### 3.4 Blutgasanalysen

Die während der Versuche erhobenen Blutgasanalysen der Versuchstiere dienten zur Überwachung und Anpassung der Ventilation während des Versuchsablaufs. Hierbei zeigten sich zu allen Zeitpunkten gemittelt über alle Versuchsgruppen pCO<sub>2</sub>-Werte um die 37,5 ± 6 mmHg bei einem pH-Wert von 7,40 ± 0,08 und eine ausreichende Oxygenierung der Tiere. Die Blutgasanalysen wurden nicht weitergehend statistisch ausgewertet und auf Signifikanzen getestet. Ihre Darstellung erfolgt der Übersicht halber in den Tabellen 4 und 5 als MW ± SD.

Parameter	Gruppe	Baseline	RIPC	HV60
Hb [g · dl <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	13,4±1,1	13,2±1	12,7±1,4
	RIPC	13,5±1,4	12,9±1,6	12,6±1,8
	Schock	13,4±1	13,2±1,7	7,2±1,6
	RIPC + Schock	13,8±0,6	13,4±0,4	7,2±0,9
K <sup>+</sup> [mmol · l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	3,5±0,6	3,7±0,7	3,5±0,8
	RIPC	3,6±0,4	3,9±0,5	3,5±0,3
	Schock	3,4±0,5	3,7±0,6	4,6±0,8
	RIPC + Schock	3,5±0,3	3,7±0,4	4,5±0,7
Na <sup>+</sup> [mmol · l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	145±2	146±2	146±3
	RIPC	146±4	145±2	145±3
	Schock	145±3	145±2	143±3
	RIPC + Schock	145±2	145±2	143±3
Ca <sup>2+</sup> [mmol · l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	1,1±0,2	1,1±0,3	1,2±0,2
	RIPC	1±0,3	1±0,3	1,2±0,2
	Schock	1±0,3	1±0,3	1,2±0,3
	RIPC + Schock	1,2±0,1	1,1±0,2	1,3±0,1
Cl <sup>-</sup> [mmol · l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	109±3	110±3	112±5
	RIPC	107±5	111±4	111±3
	Schock	110±4	109±4	113±3
	RIPC + Schock	108±2	110±1	114±3
Glucose [mg · dl <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	124±19	131±15	125±26
	RIPC	123±19	132±20	126±28
	Schock	124±22	128±22	182±78
	RIPC + Schock	128±12	133±12	183±62
Laktat [mmol · l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	12,7±4,7	8,7±2,6	8,3±2,8
	RIPC	16,3±5,1	8,9±2,6	6,9±2,6
	Schock	14,6±4,8	8,7±2,4	45,8±15,4
	RIPC + Schock	16,4±5,6	9,9±2,5	50,2±10,6

**Tabelle 4: Ergebnisse der Blutgasanalysen I**

Tabellarische Übersicht der mittels Blutgasanalysen der Versuchstiere erhobenen Daten (Hb, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Glucose, Laktat). Darstellung in ihrer jeweiligen Einheit (s. 1. Spalte) als MW ± SD der einzelnen Versuchsgruppen zu den jeweiligen Datenerhebungszeitpunkten. Letztere werden in der Kopfzeile benannt (Baseline = 0:15 h, RIPC = 0:55 h, HV30 = 1:25 h, HV60 = 1:55 h). Es erfolgte keine statistische Aufarbeitung der mittels Blutgasanalysen erhobenen Daten.

Parameter	Gruppe	Baseline	RIPC	HV60
pH	Kontrolle	7,39±0,08	7,40±0,06	7,37±0,06
	RIPC	7,41±0,11	7,42±0,03	7,37±0,10
	Schock	7,40±0,06	7,40±0,06	7,41±0,18
	RIPC + Schock	7,41±0,05	7,41±0,03	7,42±0,10
S <sub>a</sub> O <sub>2</sub> [%]	Kontrolle	96±2	95±3	95±2
	RIPC	95±5	96±2	95±1
	Schock	95±2	94±3	96±1
	RIPC + Schock	95±1	95±1	96±2
p <sub>a</sub> O <sub>2</sub> [mmHg]	Kontrolle	145±32	148±38	145±22
	RIPC	147±62	132±19	146±30
	Schock	171±14	n.v.± n.v.	176±10
	RIPC + Schock	131±30	126±31	163±42
p <sub>a</sub> CO <sub>2</sub> [mmHg]	Kontrolle	41±7	39±5	40±3
	RIPC	37±5	37±5	37±5
	Schock	39±6	41±9	28±10
	RIPC + Schock	40±5	39±3	26±7
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mmol · l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	24±2,4	24,2±2	23±2,4
	RIPC	23,7±4,1	24,2±2,1	22,4±4,6
	Schock	23,9±1,3	24±2,3	18,3±3,5
	RIPC + Schock	25,1±1,1	24,6±1,1	18,6±2,2
BE [mmol · l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	-0,4±2,6	-0,4±2,2	-1,6±2,9
	RIPC	-1,2±4,8	-0,6±2,6	-2,7±6
	Schock	-0,3±1,7	-0,3±2,9	-7,1±4,8
	RIPC + Schock	0,7±1	0,1±1,3	-7,4±2,8

**Tabelle 5: Ergebnisse der Blutgasanalysen II**

Tabellarische Übersicht der mittels Blutgasanalysen der Versuchstiere erhobenen Daten (pH, S<sub>a</sub>O<sub>2</sub>, p<sub>a</sub>O<sub>2</sub>, p<sub>a</sub>CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, BE). Darstellung in ihrer jeweiligen Einheit (s. 1. Spalte) als MW ± SD der einzelnen Versuchsgruppen zu den jeweiligen Datenerhebungszeitpunkten. Letztere werden in der Kopfzeile benannt (Baseline = 0:15 h, RIPC = 0:55 h, HV30 = 1:25 h, HV60 = 1:55 h). Die Eintragung „n.v.“ bedeutet Werte sind aus technischen Gründen nicht verfügbar. Es erfolgte keine statistische Aufarbeitung der mittels Blutgasanalysen erhobenen Daten.

## 4 Diskussion

### 4.1 Ergebnisdiskussion

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss einer ischämischen Fernpräkonditionierung auf die intestinale Oxygenierung und Mikrozirkulation in einem hämorrhagischen Schockmodell der Ratte untersucht. Hinsichtlich der initial formulierten Fragestellungen lassen sich aufgrund der erhobenen Ergebnisse folgende Schlussfolgerungen formulieren:

1. Die mittels Weißlichtspektroskopie bestimmte Gewebeoxygenierung und die Evaluation mikrovaskulärer Perfusionsmarker durch Einsatz der Laser Doppler Flussmessung und der Videomikroskopie sind geeignet, um eine regionale Hypoxie und Hypoperfusion in dem hier verwendeten Schockmodell abzubilden[48].
2. Eine ischämische Fernpräkonditionierung verbessert weder die intestinale Gewebeoxygenierung noch die regionale Mikrozirkulation im hämorrhagischen Schock in dem hier verwendeten Modell[48].

Es folgt eine Diskussion der Ergebnisse vor dem Hintergrund der bestehenden Fachliteratur, die Herleitung der aus den Ergebnissen gezogenen Schlussfolgerungen sowie eine kritische Bewertung der angewandten Messmethoden.

Kritisch kranke Patienten und insbesondere Patienten im hämorrhagischen Schock zeigen eine hämodynamische Instabilität. Umso wichtiger ist es, dass eine solche Instabilität nicht durch Interventionen aggraviert wird. Da es in der Klinik üblich ist neben anderen problemlos zu erhebenden Parametern wie der Herzfrequenz und der Rekapillarierungszeit die hämodynamische Stabilität anhand des MAD zu beurteilen[3], wurde dieser als Indikator für eine Instabilität genutzt. Somit gilt es an dieser Stelle zu erwähnen, dass in diesem Modell kein RIPC-assoziiertes signifikanter Unterschied hinsichtlich des MAD als hier zentralem Parameter der Makrohämodynamik hat. Dies war sowohl unter normovolämen Bedingungen, als auch im hämorrhagischen Schock zu beobachten und steht im Einklang mit den Ergebnissen mehrerer Studien, in denen die RIPC ebenfalls ohne signifikanten Einfluss auf die Makrohämodynamik durchgeführt wurde[68, 69].

Der fehlende Einfluss auf den MAD kann jedoch ebenfalls auf die Methodenwahl des *fixed-pressure* Schockmodells zurückzuführen sein[51]. Dessen Anwendung birgt den Vorteil, dass ein konstanter mittlerer arterieller Druck erreicht wird[51]. Hierbei werden körpereigene Kompensationsmechanismen durch repetitive Volumenentnahmen oder -substitution weitestgehend ausgeschaltet[51]. Dadurch wird eine hohe Reproduzierbarkeit und gute Vergleichbarkeit zwischen den durchgeführten Versuchen ermöglicht[51, 70]. Dies bestätigt sich durch die geringen Standardabweichungen innerhalb und zwischen den

Versuchsgruppen. Durch das konstante Beibehalten des MAD auf einem definierten Niveau ist es jedoch denkbar, dass dieses Modell ebenfalls protektive Effekte durch eine RIPC-induzierte Veränderung der Makrohämodynamik verschleiern könnte.

Bezüglich der ersten Kernfragestellung dieser Studie gilt es festzustellen, dass die hier verwendeten Messmethoden geeignet sind, eine regionale Hypoperfusion und Gewebhypoxie im hier verwendeten Schockmodell zu detektieren. Da der  $\mu\text{HbO}_2$  der gemessene Wert der postkapillären Sauerstoffsättigung ist, spiegelt er als Parameter ein Maß für die Reserve der Gewebeoxygenierung wieder und lässt daraus resultierend Rückschlüsse auf die regionale Balance aus Sauerstoffangebot und dem Sauerstoffverbrauch im untersuchten Zielgewebe zu[57]. Harrison *et al.* berichteten, dass  $\mu\text{HbO}_2$ -Werte von unter 10 % mit einer kritischen Gewebeversorgung und konsekutiver, irreversibler -schädigung einhergehen[71]. Nach Induktion des hämorrhagischen Schocks kam es zu einer signifikanten Reduktion des intestinalen  $\mu\text{HbO}_2$ . Dies war sowohl im *Ileum* als auch im *Colon* in beiden Schockgruppen nachzuweisen. Bei den gemessenen  $\mu\text{HbO}_2$ -Werten am Ende des hämorrhagischen Schocks von durchschnittlich  $38 \pm 12$  % im *Ileum* und  $26 \pm 14$  % im *Colon* ist somit von einer relevanten Einschränkung der Gewebeoxygenierung und Verminderung der Gewebesauerstoffreserve auszugehen. Diese Beobachtungen suggerieren unter diesen Umständen eine Kohärenz zur Makrohämodynamik. In einem klinischen Setting jedoch kann es nach erfolgreicher Therapie des Schockzustandes zu einer hämodynamischen Inkohärenz kommen, bei der es möglich war systemische Parameter zu normalisieren während weiterhin mikrozirkulatorische Defizite persistieren[15]. Dies unterstreicht den potenziellen Stellenwert direkter Messungen von Parametern der Mikrozirkulation wie dem  $\mu\text{HbO}_2$  verglichen mit den bisher gängigen globalen zirkulatorischen Parametern[48].

Weiterhin sollte diese Studie untersuchen, ob die intestinale Gewebeoxygenierung und Mikrozirkulation während eines hämorrhagischen Schocks in dem hier verwendeten Modell ohne Retransfusion durch eine vorangehende RIPC verbessert werden konnte. Diesbezüglich konnte kein Effekt der RIPC auf die erhobenen Parameter der intestinalen Gewebeoxygenierung und Mikrozirkulation, weder unter physiologischen noch unter hämorrhagischen Kreislaufbedingungen, festgestellt werden. Somit scheint eine RIPC anhand dieser Parameter keine protektiven Effekte auf das Intestinum in diesem Modell zu erzielen. Dafür sind mehrere Erklärungen denkbar. Zunächst ist ein Einfluss durch eine potenzielle Zeitabhängigkeit der RIPC-Effekte bei unmittelbarer Schockinduktion nach der Behandlung möglich[72]. Darüber hinaus kann hierbei ein Zusammenhang zum gewählten Ischämiemodell im Sinne einer schockbedingten Hypoperfusion anstelle der bereits vielfach untersuchten vollständigen Ischämie bestehen[38, 48, 73]. In Anbetracht der Ergebnisse gilt es ebenfalls die Bedeutung der in dieser Studie nicht untersuchten Reperfusionphase auf etwaige protektive

Effekte einer RIPC zu diskutieren[74, 75]. Es folgt nun eine differenzierte Erörterung der genannten Hypothesen.

Eine mögliche Erklärung für ausbleibende Effekte der RIPC in diesem Modell könnte sein, dass protektive Effekte der ischämischen Fernpräkonditionierung, etwa die Ausschüttung von vasoaktiven Mediatoren oder eine Aktivierung zellulärer Schutzmechanismen[45, 76], in der frühen Phase des hämorrhagischen Schocks nicht ausreichend wirksam sind, um die bereits etablierten hämodynamischen Veränderungen auszugleichen. Darüber hinaus sind bereits durch Bolli *et al.* langfristige Effekte in der sogenannten „späten Phase“ der RIPC beschrieben, welche jedoch erst nach einer Latenz von mehreren Stunden zum Tragen kommen, wie Veränderungen der Genexpression und Enzyminduktion[72]. Diese späten Effekte der RIPC können durch die verhältnismäßig kurze Versuchszeit und zeitlich direkter Folge der Schockinduktion auf die Vorbehandlung mittels RIPC keine Auswirkungen auf unsere Versuchsergebnisse haben.

Anschließend ist zu postulieren, dass der Charakter der Ischämie selbst einen Einfluss auf die etwaigen Effekte einer RIPC haben kann. Ein organprotektiver Effekt der RIPC auf den Gastrointestinaltrakt konnte vielfach nachgewiesen werden, jedoch in Modellen der vollständigen Unterbrechung der Blutzufuhr im Sinne einer *no-flow* Ischämie[38, 39]. Neu im Vergleich zur aktuellen Datenlage ist die Untersuchung der Effekte einer RIPC ohne *no-flow* Ischämie und Reperfusion, sondern ausschließlich während einer Ischämie durch eine ausgeprägte Hypoperfusion des Intestinums im hämorrhagischen Schock ohne Retransfusion[48]. Hierbei ist eine unterschiedlich ausgeprägte Akkumulation von Metaboliten und inflammatorischen Mediatoren und gleichzeitig, durch die erhaltene Restperfusion, eine mögliche systemischen Wirkung dieser Substanzen bereits während der Ischämie selbst denkbar. So beobachteten bspw. Dengler *et al.* in einer tierexperimentellen Studie an Pferden signifikant erhöhte Werte reaktiver Sauerstoffspezies unmittelbar nach Einsetzen einer *low-flow* Ischämie durch 80-prozentigen Verschluss der *Aa. mesentericae* verglichen mit einer *no-flow* Ischämie durch vollständigen Verschluss dieser Gefäße[73]. Diese Befunde sind insofern relevant, als dass der protektive Effekt von RIPC zumindest teilweise auf einer Modulation des oxidativen Stresses basiert[77]. Entsprechend kann die unterschiedliche Akkumulation von Metaboliten und reaktiven Sauerstoffspezies in minderperfundierten Stromgebieten im Vergleich zu einer totalen Ischämie[73] einen Einfluss auf die Protektion durch ischämische Präkonditionierung ausüben. Eine abschließende Beurteilung dieser Hypothese ist jedoch anhand der aktuellen Studienlage noch nicht möglich.

Darüber hinaus gilt es zu bedenken, dass protektive Effekte einer RIPC bisher lediglich in Modellen mit inkludierter Reperfusion nach stattgehabter Ischämie beschrieben wurden. Ebenfalls im Kontext einer Hämorrhagie wurden diese Effekte nur unter Inklusion einer Retransfusion im Sinne eines Äquivalentes zu einer Reperfusionsphase beschrieben[76]. Im

vorliegenden Modell handelt es sich jedoch um eine ausschließliche Untersuchung etwaiger Effekte während einer Hypoperfusion ohne anschließende Retransfusion. Es ist bereits bekannt, dass es während einer Ischämie durch eine ATP-Depletion und einem sinkenden pH durch anaeroben Metabolismus letztendlich zu Zellschädigung und -untergang kommt[75]. Davon abzugrenzen ist jedoch der sekundäre Reperfusionsschaden, bei dem nach Wiederherstellung der Durchblutung eine verstärkte lokale inflammatorische Reaktion und oxidativer Stress durch reaktive Sauerstoffspezies zu einer sekundären Zellschädigung führen[74]. Die Konzeption dieser Studie erfolgte, um exakt die Fragestellung zu adressieren, ob die organprotektiven Effekte einer RIPC nur im Kontext einer Reperfusion oder bereits während der Ischämie zur Geltung kommen und sie klar von einer Abhängigkeit zum Reperfusionsschaden zu trennen. Somit liegt es nach diesen Ergebnissen nahe, dass eine RIPC sich nicht auf die Schädigung während der Ischämie bzw. Hypoperfusion auswirkt, sondern vornehmlich spezifisch protektive Effekte beim Auftreten eines Reperfusionsschadens ausübt.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass eine Vorbehandlung mittels RIPC die intestinale  $\mu\text{HbO}_2$  während einer Hämorrhagie nicht messbar verändert. Infolgedessen ist eine begrenzte Wirksamkeit der RIPC im Kontext der Hämorrhagie ohne anschließenden Volumenersatz zu postulieren. Dies unterstreicht die Notwendigkeit weiterer Studien mit unterschiedlichen Schweregraden des Schockmodells, Zeitpunkten der Schockinduktion in Relation zur Vorbehandlung mittels RIPC und vor allem die Kombination mit einer Reperusionsphase durch Volumenersatz.

Insbesondere der prospektive Charakter der RIPC-Vorbehandlung ist ein limitierender Faktor für die klinische Umsetzbarkeit der Intervention. Die Behandlung mittels RIPC muss vor dem Ischämie-Ereignis geschehen, sodass eine Umsetzung im Falle unerwarteter Ereignisse, wie es bspw. bei einem Trauma der Fall wäre, nicht möglich ist. Diesbezüglich gilt es zu erwähnen, dass in der Fachliteratur bereits positive Effekte einer ischämischen Postkonditionierung, also einer RIPC-vergleichbaren Behandlung nach einer stattgehabten Ischämie mit anschließender Reperfusion, beschrieben sind[78, 79]. Diese Behandlung mit retrospektivem Charakter wäre somit in vielen Fällen deutlich realistischer in den klinischen Alltag implementierbar. Somit handelt es sich bei der vorliegenden Studie um eine *proof-of-principle* Studie.

Abgesehen von dem  $\mu\text{HbO}_2$  als direktem Parameter der Gewebeoxygenierung wurden in dieser Studie auch strukturelle und funktionelle Parameter der Mikrozirkulation entsprechend den durch de Backer *et al.* festgelegten, standardisierten Kriterien[65] erfasst. Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass die Induktion eines hämorrhagischen Schocks primär zu einer ausgeprägten funktionellen Beeinträchtigung der mikrovaskulären Perfusion führt. Dies ergibt sich aus der signifikanten Reduktion des MFI durch Induktion einer akuten Hämorrhagie als Ausdruck einer verminderten Perfusionsqualität. Ebenfalls stieg der HGI signifikant an, was

auf eine zunehmende Heterogenität des mikrovaskulären Flussbildes schließen lässt. Äquivalent hierzu ließ sich ein schockinduzierter, signifikanter Abfall des  $\mu$ flow und der  $\mu$ velo registrieren. Dieser wurde ebenfalls nicht durch eine RIPC beeinflusst[48].

Strukturelle Parameter wie TVD und PVD blieben hingegen größtenteils unverändert. Dies bedeutet, dass die mikrovaskuläre Gefäßarchitektur in der Frühphase des hämorrhagischen Schocks weitestgehend erhalten blieb wohingegen es zu einer deutlichen Beeinträchtigung der mikrovaskulären Perfusion durch eine akute Hämorrhagie kommt. Diese Beobachtung ist teilweise konträr zu den Ergebnissen einer ähnlichen Studie in einem Hundemodell von Hof *et al.*, bei der in einem milderen Schockmodell auch strukturelle Veränderungen der Mikrozirkulation in den bukkalen Aufnahmen registriert wurden[80]. Gleichzeitig kam es zu keinen strukturellen Veränderungen der sublingualen Mikrozirkulation[80]. Folglich ist davon auszugehen, dass dieses konträre Ergebnis eine Gewebeabhängigkeit der Auswirkungen eines hämorrhagischen Schocks auf die Struktur der Mikrozirkulation widerspiegelt, da die bukkale Schleimhaut einem strukturell unterschiedlichen Gewebeverband angehört als die intestinale Mukosa. Anhand dieser Ergebnisse ist davon auszugehen, dass eine Übertragbarkeit der Studienergebnisse aus unterschiedlichen Organen desselben funktionellen Verbandes – in diesem Fall des Gastrointestinaltraktes – nicht immer gegeben ist[48].

Es zeigte sich unter diesen Versuchsbedingungen keinerlei signifikante Veränderung der genannten Parameter durch eine Vorbehandlung mittels RIPC. Dementsprechend lässt sich ableiten, dass weder die strukturelle Integrität noch der funktionelle Zustand der Mikrozirkulation in der Frühphase dieses hämorrhagischen Schocks durch eine ischämische Präkonditionierung beeinflusst wird[48]. Dies ist teilweise konträr zu den Ergebnissen einiger präklinischer Studien, die in Modellen zum Ischämie- und Reperfusionsschaden über eine Verbesserung mikrozirkulatorischer Parameter berichteten[81]. Wie bereits zuvor beschrieben ist hierbei die unterschiedliche Modellkonzeption mit dem Verzicht auf eine Retransfusion in der vorliegenden Studie als Ursache der konträren Ergebnisse am naheliegendsten. Somit ist auch betreffend dieser Parameter von einer Spezifität der protektiven Effekte für einen Reperfusionsschaden auszugehen. Zuletzt ist hier ebenfalls auf die zuvor beschriebene Zeitabhängigkeit gewisser Wirkmechanismen der RIPC als Ursache für den ausbleibenden Effekt auf die videomikroskopisch evaluierten Parameter zu verweisen. Da es sich hierbei um eine veränderte Genexpression und Enzyminduktion mit letztendlich vasoaktiven Effekten, antiinflammatorische und endothel-protective Mechanismen handelt, ist eine Verbesserung der funktionellen Parameter der Mikrozirkulation in der späten Phase der Präkonditionierung denkbar[72, 82, 83].

Insgesamt wird gezeigt, dass die Induktion eines hämorrhagischen Schocks zu einer funktionellen Störung der Mikrozirkulation führt, ohne die strukturelle Integrität der

Mikrozirkulation zu beeinflussen. Dies konnte durch eine Vorbehandlung mittels RIPC unter diesen Versuchsbedingungen nicht verhindert oder abgeschwächt werden[48].

## 4.2 Methodenkritik

Da für die Versuche Ratten genutzt wurden, ist die Auseinandersetzung mit der Frage der Übertragbarkeit auf den Menschen unabdingbar. Unter anderem weisen Ratten trotz biologischer Ähnlichkeit teilweise eine zum Menschen unterschiedliche Physiologie auf[84, 85]. So bestehen beispielweise insbesondere im Hinblick auf die Traumaforschung Differenzen hinsichtlich der Blutgerinnung und die kreislaufphysiologische Kompensation im Schock[84]. Solche Differenzen können zur Folge haben, dass eine Übertragung von erfolgreichen Tierversuchen im nächsten Schritt am Menschen scheitern. Hierbei gilt es jedoch zu bedenken, dass solche translationalen Schwierigkeiten ebenso in multiplen Confoundern, die Menschen als komplexe Individuen mit sich bringen, begründet sein können. Aus diesem Grund bieten sich Tierversuche an Tiermodellen mit möglichst wenig genetischer Variabilität an, da es eine gute Möglichkeit ist, Confounder in der Grundlagenforschung zu eliminieren[84]. Ebenfalls hat man in der tierexperimentellen Traumaforschung feststellen müssen, dass Nagetiermodelle durch ihre ähnliche Physiologie und ihre unkomplizierte Handhabung bei einer ausreichenden Größe für eine problemlose Instrumentierung sehr praktikabel sind[84]. Dennoch gibt es bspw. bei der physiologischen Trauma-Antwort des Körpers, angefangen bei der kaum vorhandenen Herzfrequenzvariabilität der Ratte, erhebliche Unterschiede zum Menschen, die eine Übertragbarkeit der Ergebnisse erschweren und somit bei der Interpretation bedacht werden sollten[84]. Aus diesem Grund hat sich ein standardisiertes Vorgehen, wie bereits von mehreren Autoren in der Vergangenheit gefordert[85], etabliert und es erfolgen systematische Reviews der tierexperimentellen Untersuchungsmodelle.

Entsprechend den hohen ethischen Standards bei der Durchführung von Tierversuchen wurden auch in der vorliegenden Studie die Grundsätze nach Russel und Burch's „3-R Prinzip“[86] beachtet. Hierbei erwies sich die Ratte als sehr geeigneter Modellorganismus. Ebenfalls wurden lediglich männliche Tiere verwendet, um die benötigte Anzahl der Versuchstiere aus Tierschutzgründen zu reduzieren. Diese Beschränkung auf das männliche Geschlecht ist im Sinne der Traumaforschung repräsentativ, da der Hauptanteil der Traumapatienten männlich ist[87]. Darüber hinaus fanden Heinen *et al.* in einer tierexperimentellen Studie heraus, dass ein signifikanter RIPC-Effekt ebenfalls geschlechtsabhängig ist und vor allem in männlichen Individuen ausgeprägt ist[88]. Jedoch ist dies ebenfalls eine Limitation dieser Studie, da bereits geschlechtsabhängige Unterschiede bezüglich des Outcomes von Traumpatienten festgestellt wurden[89].

Bei Untersuchungen der RIPC ist auf Grund der Komplexität des multifaktoriellen Wirkmechanismus und der Fragestellung im klinischen Kontext der Hämorrhagie ein *in vivo* Modell das geeignetste. Insbesondere wäre eine Untersuchung im Kontext einer akuten Hämorrhagie nicht repräsentativ in einem *in vitro* Studiendesign abzubilden. Für diese Spezies existieren bereits viele vergleichbare Daten und standardisierte Vorgehensweisen, insbesondere hinsichtlich der Untersuchung eines hämorrhagischen Schocks[90] und der ischämischen Fernpräkonditionierung[91]. Insbesondere konnte unsere experimentelle Forschungsgruppe in der Vergangenheit bereits mehrere erfolgreiche Versuchsreihen mit der kombinierten Untersuchung der intestinalen Mikrozirkulation und Gewebeoxygenierung in Ratten durchführen, sodass der methodische Transfer auf die vorliegende Studie durch bereits vorhandene Expertise gestützt wurde. Diese Tatsache erlangt vor allem in Anbetracht der aktuell noch geringen Datenlage zu unserer Fragestellung an Bedeutung. Darüber hinaus ist die Ratte der kleinste mögliche Modellorganismus, an dem die notwendigen Kanülierungen und Messungen gut durchführbar sind.

Um eine Hämorrhagie in einer experimentellen Studie abzubilden wurden bereits verschiedene standardisierte Vorgehensweisen in der Literatur beschrieben[51, 92], aus denen sich für eine *fixed-pressure* Hämorrhagie[90] entschieden wurde. Nach der Erstbeschreibung von Penfield *et al.*[93] und Modifizierung durch Wiggers *et al.*[94] hat es sich als ein Modell mit hohem Maß an Standardisierung und Reproduzierbarkeit erwiesen[51]. Die *fixed-pressure* Hämorrhagie legt im Vergleich zu anderen Hämorrhagiemodellen einen Fokus auf die Änderungen der Makrohämodynamik und eignet sich hierdurch hervorragend für Untersuchungen von Veränderungen der Mikrozirkulation und Gewebe unter festgelegten hämodynamischen Bedingungen ohne den Einfluss individueller Kompensationsmechanismen[92]. Hierdurch ergibt sich bei Betrachtung der mikrozirkulatorischen Veränderungen ein besseres Bild der hämodynamischen Inkohärenz[92]. Darüber hinaus spiegelt dieses Modell einen klinischen Standpunkt wieder, in dem der genaue Blutverlust den Behandlern meist nicht bekannt ist und die Hämorrhagie anhand makrozirkulatorischer Parameter bemessen wird[92]. Da die *fixed-pressure* Hämorrhagie sich an dem mittleren arteriellen Blutdruck orientiert gilt es zu beachten, dass unterschiedliche Schocktiefen bei zuvor veränderten Ausgangsblutdruckwerten resultieren können. Effekte präexistenter hypertoner Blutdruckwerte auf die Einflüsse eines folgenden hämorrhagischen Schocks wurden bereits zuvor beschrieben[95]. So untersuchten Sinert *et al.* in einer experimentellen Studie an normotensiven und spontan hypertensiven Ratten in einem *fixed-volume* Schockmodell die Reaktion der Versuchstiere auf den Verlust von 25 % des Blutvolumens[95]. Hierbei registrierten sie bereits zu Versuchsbeginn eine deutlich stärkere Reduktion des MAD in der hypertensiven Versuchsgruppe mit anschließend ausbleibender Rekompensation und vermindertem *Base Excess*, während die normotensiven Tiere sich nach 15 Minuten erholten[95]. Da die Baseline-Werte des MAD unserer Tiere

untereinander vergleichbar waren, ist von einer nahezu identischen Schocktiefe der Versuchstiere auszugehen. Dennoch zeigen unsere Tiere unter Ausgangsbedingungen einen erhöhten MAD[96]. Auf Grund der regelhaften Testung auf Schutzreflexe vor der Instrumentierung und ebenfalls regelrechten Atemwegsdrücken verglichen mit anderen Studien[97] ist nicht von einem relevanten Stresseffekt auszugehen. Zwischen Ausgangsblutdruck und dem Zielblutdruck des Schockmodells ergibt sich eine Differenz von im Mittel 96 mmHg. Dies entspricht einem Abfall um im Mittel 71 %. Dieser ausgeprägte Blutdruckabfall im Vergleich zu den Baselinewerten mit konsekutiven Einschränkungen der Mikrozirkulation könnte etwaige diskrete Effekte der RIPC überlagern[48]. Dies verbleibt jedoch spekulativ.

Ebenso ist die Durchführung der Intervention kritisch zu hinterfragen. Eine ischämische Fernpräkonditionierung wurde vielfach an unterschiedlichen Individuen in leicht modifizierten Formen mit kontroversen Ergebnissen durchgeführt[41, 98]. Aus der Tatsache, dass in der Literatur modifizierte Algorithmen der ischämischen Fernpräkonditionierung beschrieben sind, lässt sich die Frage nach dem Einfluss des verwendeten RIPC-Algorithmus auf den tatsächlich gemessenen RIPC-Effekt ableiten. Johnsen *et al.* haben sich dieser Frage der Dosisabhängigkeit in einem *murinen* Herzinfarktmodell genähert[99]. Ihre Ergebnisse legen nahe, dass eine optimale Fernpräkonditionierung mittels vier bis sechs Zyklen einer RIPC erfolgt[99]. Darüber hinaus ist für den Effekt irrelevant, ob einer oder beide Hinterläufe genutzt werden[99]. Ebenfalls fanden sie heraus, dass Ischämiezyklen von zwei Minuten denselben protektiven Effekt erzeugten wie fünf-minütige Zyklen, dieser Effekt jedoch bei einer weiteren Verlängerung der Zykluslänge verschwindet[99]. Die Suffizienz der Interventions-Ischämie wurde sowohl über einen ausreichend über dem mittleren arteriellen Blutdruck liegenden Manschettendruck als auch optisch durch Beobachtung einer lividen Verfärbung der Hinterläufe sichergestellt. Somit ist davon auszugehen, dass das verwendete RIPC-Protokoll und der erzielte RIPC-Stimulus suffizient sind.

Unterschiedliche Ergebnisse zum RIPC-Effekt auf das Myokard[100, 101] in experimentellen Studien, sowie eine bisher erfolglose Translation des RIPC-Effekts in klinische Studien mit ausbleibender Verbesserung des Outcomes[41] am Menschen könnte darauf hinweisen, dass der RIPC-Effekt von umgebenden Faktoren abhängig ist. Die Identifikation von potenziellen Confoundern ist somit essentiell. In der Literatur ist bereits eine Vielzahl an Variablen beschrieben, die einen signifikanten Einfluss auf den RIPC-Effekt haben[102] und bei der Konzeption der gezeigten Studie berücksichtigt wurden. So zeigten Behmenburg *et al.* in einer experimentellen Studie an Wistar Ratten, dass eine Anästhesie mittels Propofol den Effekt einer RIPC am Myokard verhindert[68]. Darüber hinaus zeigen verschiedene Medikamente kardioprotektive Effekte, darunter beispielsweise volatile Anästhetika und alpha-2-Adrenozeptor Agonisten[103]. Ein solch protektiver Effekt ist ebenfalls für Opiatrezeptor

Agonisten beschrieben[104]. Aus diesen Gründen wurde sowohl für die Narkoseinduktion, als auch für die Aufrechterhaltung der Narkose eine Pentobarbital-Monoanästhesie durchgeführt, um den Einfluss der verwendeten Narkotika auf den RIPC-Effekt als potentiellen Confounder einzugrenzen. Ebenfalls konnten Behmenburg *et al.* in einer experimentellen Studie an Wistar Ratten einen Effekt des Alters auf den Effekt einer RIPC am Myokard beschreiben[105]. So wurde in zwei bis drei Monate alten Ratten ein kardioprotektiver Effekt durch RIPC erzielt, während dieser in 22-24 Monate alten Ratten nicht mehr vorhanden war[105]. Darüber hinaus zeigten Heinen *et al.* in einer experimentellen Studie an Patienten einen Einfluss des Geschlechtes auf einen RIPC-Effekt[88]. Hierzu entnahmen sie den Probanden nach RIPC-Stimulus Plasma und perfundierten Rattenherzen in einem Langendorff-Modell damit[88]. Anschließend zeigte sich lediglich durch das Plasma der männlichen Probanden ein signifikanter kardioprotektiver Effekt bei nachfolgender Ischämie[88]. Um die Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurden deshalb nur männliche, junge Versuchstiere einer definierten Altersgruppe genutzt. Die Tiere wurden normokapnisch beatmet, da Schwartges *et al.* zeigen konnten, dass die Applikation einer systemischen Hyperkapnie durch Steigerung der inspiratorischen Kohlenstoffdioxidfraktion die intestinale, mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung während eines hämorrhagischen Schocks verbessert[106]. Zuletzt beachteten wir die Einhaltung einer strikten Normothermie der Versuchstiere, da eine Hypothermie die mikrovaskuläre Oxygenierung des der Gastrointestinaltraktes bei weiblichen Hunden sowohl unter Hypoxie[107] als auch unter Hämorrhagie[108, 109] signifikant verbessert. Trotz der intensiven Beachtung aller bekannten Variablen ist nach aktuellem Erkenntnisstand trotzdem nicht auszuschließen, dass unentdeckte Confounder ursächlich für das Ausbleiben eines protektiven Effektes der Intervention in dieser Versuchsreihe sind.

Die Messung des  $\mu\text{HbO}_2$  und die videomikroskopischen Aufnahmen sind bereits zuvor etablierte und mehrfach genutzte Verfahren zur Evaluation der Mikrozirkulation[80, 110, 111]. Dennoch ist zu bedenken, dass bisher keine umfangreiche Validierung der Software-gestützten, automatisierten Auswertung der angefertigten videomikroskopischen Aufnahmen besteht[112]. Die Methode der Weißlicht-Gewebespektrometrie wurde unter anderem bereits in klinischen Studien zu kutanen Lappenplastiken[111] und Wundheilungsstörungen[113] genutzt. Es erfolgten ebenfalls bereits tierexperimentelle Studien zur Untersuchung der gastrointestinalen Mikrozirkulation[110, 114]. Die Qualität des registrierten Signals des O2C während der gesamten Versuchsdauer auf einem externen Monitor angezeigt. So bestand die Möglichkeit, jederzeit die korrekte Sondenlage und Empfangsqualität zu überprüfen. Durch die geringe Sondengröße spiegelt der  $\mu\text{HbO}_2$  die Oxygenierung in einem umschriebenen, kleinen Gefäßbett wider[53] und ermöglicht eine gezielte Handhabung in einem kleinen Modellorganismus, wie der Ratte. Hierdurch können im Vergleich zu globalen Oxygenierungsparametern gezielte Aussagen über die Sauerstoffreserve eines spezifischen Gewebes getroffen werden. Außerdem wird vermutet, dass sich im Rahmen eines Schocks

eine Perfusionsheterogenität der Mikrozirkulation einstellt[115, 116]. Da ein Gefäßbett mit mehreren Blutgefäßen erfasst wird, werden die Messergebnisse nicht von punktuellen Unterschieden der Perfusion beeinflusst, sondern spiegeln einen Mittelwert wider.

Aufgrund dieser heterogenen Perfusion[115] der Mikrozirkulation ergänzten wir diese Ergebnisse um die videomikroskopischen Aufnahmen des Zäkums um ein detaillierteres Bild über den Zustand der Mikrozirkulation zu erhalten. Diese vermutet zunehmende Heterogenität[115] der Perfusion der Mikrozirkulation im schweren Schock mit sowohl minderperfundierten, als auch kompensatorisch gesteigert perfundierten Arealen kann jedoch durch den MFI durch seine Charakteristik als gebildeter Mittelwert des untersuchten Areals nur unzureichend abgebildet werden. In diesem Fall spiegelt die PPV die Kompromittierung der Mikrozirkulation geeigneter wider. Zuletzt gilt es zu erwähnen, dass nicht-invasive, optische Messungen der Mikrozirkulation mit direktem Kontakt zum Gewebe sehr störanfällig sind. Bei zu geringen Anpressdruck herrscht eine zu schlechte Bildqualität, ein zu hoher Anpressdruck beeinflusst die Ergebnisse negativ durch die Kompression ansonsten perfundierter Gefäße. Dies gilt insbesondere bei ohnehin kompromittierter mikrovaskulärer Perfusion. Infolgedessen war es nötig, einzelne Aufnahmen mit Messartefakten gemäß den Kriterien der Konsensuskonferenz[65] auszuschließen und die Ergebnisse somit um solche Artefakte zu bereinigen.

### **4.3 Schlussfolgerungen**

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch eine ischämische Fernpräkonditionierung in einem *fixed-pressure* Hämorrhagiemodell ohne anschließende Retransfusion keine organprotektiven Effekte im Sinne einer Verbesserung der erhobenen Variablen der Mikrozirkulation und Gewebeoxygenierung feststellbar sind. Sowohl die intestinale Gewebeoxygenierung als auch Variablen der regionalen Mikrozirkulation zeigen bereits früh im hämorrhagischen Schock gravierende Änderungen als Zeichen einer regionalen Hypoxie und Hypoperfusion.

Es hat sich gezeigt, dass eine Übertragung von Studienergebnissen zur RIPC zwischen unterschiedlichen experimentellen Modellen nicht ohne weiteres möglich ist, da die protektiven Effekte stark von den Untersuchungsbedingungen abhängig sind. Hierbei scheint insbesondere das Vorliegen eines kombinierten Ischämie- und Reperfusionsschadens relevant für einen protektiven Effekt zu sein. Außerdem können auch diskretere Einflüsse, wie die genaue Art der ischämischen Schädigung und das Ausmaß eines Schocks oder einer Minderperfusion ausreichend sein, um etwaige Effekte der RIPC zu überlagern.

## 5 Literatur- und Quellenverzeichnis

1. Cannon JW. Hemorrhagic Shock. *The New England journal of medicine* 2018; 378: 370–9.
2. Gunst M, Ghaemmaghami V, Gruszecki A, Urban J, Frankel H, Shafi S. Changing epidemiology of trauma deaths leads to a bimodal distribution. *Proceedings (Baylor University. Medical Center)* 2010; 23: 349–54.
3. Striebel HW, ed. *Operative Intensivmedizin: Sicherheit in der klinischen Praxis* (2nd ed.). Schattauer, 2015.
4. Siegenthaler W. *Klinische Pathophysiologie* (11th ed.). Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag, 2020.
5. Vatner SF. Effects of hemorrhage on regional blood flow distribution in dogs and primates. *J Clin Invest* 1974; 54: 225–35.
6. Dalton JM, Gore DC, Makhoul RG, Fisher MR, DeMaria EJ. Decreased splanchnic perfusion measured by duplex ultrasound in humans undergoing small volume hemorrhage. *Crit Care Med* 1995; 23: 491–7.
7. Groh J, Dieterich HJ, Peter K. Hypovolämisch-hämorrhagischer Schock. Pathophysiologie und Therapie. *Infusionstherapie (Basel, Switzerland)* 1990; 17 Suppl 2: 4–8.
8. Brandes R, Lang F, Schmidt RF, eds. *Physiologie des Menschen: Mit Pathophysiologie : mit 850 Farbabbildungen* (32nd ed.). Berlin Heidelberg: Springer, 2019.
9. Miranda M, Balarini M, Caixeta D, Bouskela E. Microcirculatory dysfunction in sepsis: pathophysiology, clinical monitoring, and potential therapies. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 2016; 311: H24-35.
10. Cooper ES, Silverstein DC. Fluid Therapy and the Microcirculation in Health and Critical Illness. *Frontiers in veterinary science* 2021; 8: 625708.
11. Ince C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. *Critical care (London, England)* 2015; 19 Suppl 3: S8.
12. Heinrich PC, Müller M, Graeve L, Löffler G, Petrides PE, eds. *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie* (9th ed.). Berlin Heidelberg: Springer, 2014.
13. Böcker W, Denk H, Heitz PU, Moch H, Höfler G, Kreipe H, eds. *Pathologie: Mit rund 150 Tabellen; [Plus im Web mediscript* (5th ed.). München: Urban & Fischer in Elsevier, 2012.
14. Herold G. *Innere Medizin: Eine vorlesungsorientierte Darstellung : 2021 : unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung, mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis*. Köln: Gerd Herold, 2021.
15. Sakr Y, Dubois M-J, Backer D de, Creteur J, Vincent J-L. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Critical care medicine* 2004; 32: 1825–31.

16. Uil CA den, Lagrand WK, van der Ent M, et al. Impaired microcirculation predicts poor outcome of patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *European heart journal* 2010; 31: 3032–9.
17. Trzeciak S, McCoy JV, Phillip Dellinger R, et al. Early increases in microcirculatory perfusion during protocol-directed resuscitation are associated with reduced multi-organ failure at 24 h in patients with sepsis. *Intensive Care Med* 2008; 34: 2210–7.
18. Backer D de, Donadello K, Sakr Y, et al. Microcirculatory alterations in patients with severe sepsis: impact of time of assessment and relationship with outcome. *Critical care medicine* 2013; 41: 791–9.
19. Bruno RR, Wollborn J, Fengler K, et al. Direct assessment of microcirculation in shock: a randomized-controlled multicenter study. *Intensive care medicine* 2023; 49: 645–55.
20. Fang X, Tang W, Sun S, et al. Comparison of buccal microcirculation between septic and hemorrhagic shock. *Critical care medicine* 2006; 34: S447-53.
21. Donley ER, Munakomi S, Loyd JW. *StatPearls: Hemorrhage Control*. Treasure Island (FL), 2025.
22. Heckbert SR, Vedder NB, Hoffman W, et al. Outcome after hemorrhagic shock in trauma patients. *J Trauma* 1998; 45: 545–9.
23. Assimakopoulos SF, Triantos C, Thomopoulos K, et al. Gut-origin sepsis in the critically ill patient: pathophysiology and treatment. *Infection* 2018; 46: 751–60.
24. Berg RD, Garlington AW. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. *Infection and immunity* 1979; 23: 403–11.
25. Deitch EA, Xu D, Kaise VL. Role of the gut in the development of injury- and shock induced SIRS and MODS: the gut-lymph hypothesis, a review. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* 2006; 11: 520–8.
26. Moore FA, Moore EE, Poggetti R, et al. Gut bacterial translocation via the portal vein: a clinical perspective with major torso trauma. *J Trauma* 1991; 31: 629-36; discussion 636-8.
27. Senthil M, Brown M, Xu D-Z, Lu Q, Feketeova E, Deitch EA. Gut-lymph hypothesis of systemic inflammatory response syndrome/multiple-organ dysfunction syndrome: validating studies in a porcine model. *The Journal of trauma* 2006; 60: 958-65; discussion 965-7.
28. Piton G, Belon F, Cypriani B, et al. Enterocyte damage in critically ill patients is associated with shock condition and 28-day mortality. *Critical care medicine* 2013; 41: 2169–76.
29. Reintam A, Parm P, Kitus R, Starkopf J, Kern H. Gastrointestinal failure score in critically ill patients: a prospective observational study. *Critical care (London, England)* 2008; 12: R90.

30. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124–36.
31. Wever KE, Menting TP, Rovers M, et al. Ischemic preconditioning in the animal kidney, a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e32296.
32. Soncul H, Oz E, Kalaycioglu S. Role of ischemic preconditioning on ischemia-reperfusion injury of the lung. *Chest* 1999; 115: 1672–7.
33. Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bentley RC. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg* 2000; 232: 155–62.
34. Liu X, Sheng R, Qin Z. The neuroprotective mechanism of brain ischemic preconditioning. *Acta pharmacologica Sinica* 2009; 30: 1071–80.
35. Cinel I, Avlan D, Cinel L, et al. Ischemic preconditioning reduces intestinal epithelial apoptosis in rats. *Shock* 2003; 19: 588–92.
36. Aksöyek S, Cinel I, Avlan D, et al. Intestinal ischemic preconditioning protects the intestine and reduces bacterial translocation. *Shock* 2002; 18: 476–80.
37. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 1993; 87: 893–9.
38. Hummitzsch L, Zitta K, Berndt R, et al. Remote ischemic preconditioning attenuates intestinal mucosal damage: insight from a rat model of ischemia-reperfusion injury. *Journal of translational medicine* 2019; 17: 136.
39. Saeki I, Matsuura T, Hayashida M, Taguchi T. Ischemic preconditioning and remote ischemic preconditioning have protective effect against cold ischemia-reperfusion injury of rat small intestine. *Pediatric surgery international* 2011; 27: 857–62.
40. Meybohm P, Bein B, Brosteanu O, et al. A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery. *N Engl J Med* 2015; 373: 1397–407.
41. Hausenloy DJ, Candilio L, Evans R, et al. Remote Ischemic Preconditioning and Outcomes of Cardiac Surgery. *The New England journal of medicine* 2015; 373: 1408–17.
42. Roubille F, Macia J-C, Ivanes F, et al. Effects of remote ischemic conditioning on kidney injury in at-risk patients undergoing elective coronary angiography (PREPARE study): a multicenter, randomized clinical trial. *Scientific reports* 2019; 9: 11985.
43. Jia P, Ji Q, Zou Z, et al. Effect of Delayed Remote Ischemic Preconditioning on Acute Kidney Injury and Outcomes in Patients Undergoing Cardiac Surgery: A Randomized Clinical Trial. *Circulation* 2024; 150: 1366–76.
44. Yi M, Wu Y, Li M, Zhang T, Chen Y. Effect of remote ischemic preconditioning on postoperative gastrointestinal function in patients undergoing laparoscopic colorectal cancer resection. *International journal of colorectal disease* 2023; 38: 68.

45. Cohen MV, Downey JM. Adenosine: trigger and mediator of cardioprotection. *Basic Res Cardiol* 2008; 103: 203–15.
46. Kraemer R, Lorenzen J, Kabbani M, et al. Acute effects of remote ischemic preconditioning on cutaneous microcirculation--a controlled prospective cohort study. *BMC surgery* 2011; 11: 32.
47. Tapuria N, Junnarkar SP, Dutt N, et al. Effect of remote ischemic preconditioning on hepatic microcirculation and function in a rat model of hepatic ischemia reperfusion injury. *HPB : the official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association* 2009; 11: 108–17.
48. Hof S, Untiedt H, Hübner A, et al. Effects of remote ischemic preconditioning on early markers of intestinal injury in experimental hemorrhage in rats. *Scientific reports* 2024; 14: 12960.
49. Brandenburger T, Grievink H, Heinen N, et al. Effects of remote ischemic preconditioning and myocardial ischemia on microRNA-1 expression in the rat heart in vivo. *Shock* 2014; 42: 234–8.
50. Hu X, Yang Z, Yang M, et al. Remote ischemic preconditioning mitigates myocardial and neurological dysfunction via K(ATP) channel activation in a rat model of hemorrhagic shock. *Shock* 2014; 42: 228–33.
51. Fülöp A, Turóczi Z, Garbaisz D, Harsányi L, Sziártó A. Experimental models of hemorrhagic shock: a review. *European surgical research. Europäische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales europeennes* 2013; 50: 57–70.
52. Rezende LMT de, Brito LC, Moura AG, et al. Core temperature circadian rhythm across aging in Spontaneously Hypertensive Rats. *Journal of thermal biology* 2021; 97: 102807.
53. Krug A. Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes. *Phlebologie* 2006; 35: 300–12.
54. Zijlstra WG, Buursma A, Meeuwse-van der Roest WP. Absorption spectra of human fetal and adult oxyhemoglobin, de-oxyhemoglobin, carboxyhemoglobin, and methemoglobin. *Clinical chemistry* 1991; 37: 1633–8.
55. Kuchenreuther S, Adler J, Schütz W, Eichelbrönner O, Georgieff M. The Erlanger Microlightguide Photometer: a new concept for monitoring intracapillary oxygen supply of tissue--first results and a review of the physiological basis. *Journal of clinical monitoring* 1996; 12: 211–24.
56. Pape H-C, ed. *Physiologie* (7th ed.). s.l.: Georg Thieme Verlag KG, 2014.
57. Siegemund M, van Bommel J, Ince C. Assessment of regional tissue oxygenation. *Intensive Care Med* 1999; 25: 1044–60.
58. Möller KO, Nilsson G, Fagrell B. Laser-Doppler Flowmetry for microcirculation monitoring. Introduction. *Technology and health care : official journal of the European Society for Engineering and Medicine* 1999; 7: i–ii.

59. Kouadio AA, Jordana F, Koffi NJ, Le Bars P, Soueidan A. The use of laser Doppler flowmetry to evaluate oral soft tissue blood flow in humans: A review. *Archives of oral biology* 2018; 86: 58–71.
60. Gandjbakhche AH, Bonner RF, Arai AE, Balaban RS. Visible-light photon migration through myocardium in vivo. *The American journal of physiology* 1999; 277: H698-704.
61. Aykut G, Veenstra G, Scorcella C, Ince C, Boerma C. Cytocam-IDF (incident dark field illumination) imaging for bedside monitoring of the microcirculation. *Intensive Care Med Exp* 2015; 3: 40.
62. Sherman H, Klausner S, Cook WA. Incident dark-field illumination: a new method for microcirculatory study. *Angiology* 1971; 22: 295–303.
63. Uz Z, Ince C, Guerci P, et al. Recruitment of sublingual microcirculation using handheld incident dark field imaging as a routine measurement tool during the postoperative de-escalation phase-a pilot study in post ICU cardiac surgery patients. *Perioperative medicine (London, England)* 2018; 7: 18.
64. Pranskunas A, Arstikyte J, Pranskuniene Z, et al. Time Evolution of Sublingual Microcirculatory Changes in Recreational Marathon Runners. *BioMed research international* 2017; 2017: 7120785.
65. Backer D de, Hollenberg S, Boerma C, et al. How to evaluate the microcirculation: report of a round table conference. *Crit Care* 2007; 11: R101.
66. Ince C, Boerma EC, Cecconi M, et al. Second consensus on the assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients: results from a task force of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive care medicine* 2018; 44: 281–99.
67. Ince C. The rationale for microcirculatory guided fluid therapy. *Current opinion in critical care* 2014; 20: 301–8.
68. Behmenburg F, van Caster P, Bunte S, et al. Impact of Anesthetic Regimen on Remote Ischemic Preconditioning in the Rat Heart In Vivo. *Anesth Analg* 2018; 126: 1377–80.
69. Müller J, Taebing M, Oberhoffer R. Remote Ischemic Preconditioning Has No Short Term Effect on Blood Pressure, Heart Rate, and Arterial Stiffness in Healthy Young Adults. *Frontiers in physiology* 2019; 10: 1094.
70. Lomas-Niera JL, Perl M, Chung C-S, Ayala A. Shock and hemorrhage: an overview of animal models. *Shock (Augusta, Ga.)* 2005; 24 Suppl 1: 33–9.
71. Harrison DK, Newton DJ, McCollum PT, Jain AS. Lightguide spectrophotometry for the assessment of skin healing viability in critical limb ischaemia. *Advances in experimental medicine and biology* 1996; 388: 45–51.
72. Bolli R. The late phase of preconditioning. *Circ Res* 2000; 87: 972–83.
73. Dengler F, Sternberg F, Grages M, Kästner SB, Verhaar N. Adaptive mechanisms in no flow vs. low flow ischemia in equine jejunum epithelium: Different paths to the same destination. *Frontiers in veterinary science* 2022; 9: 947482.

74. Wu M-Y, Yiang G-T, Liao W-T, et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology* 2018; 46: 1650–67.
75. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *International review of cell and molecular biology* 2012; 298: 229–317.
76. Zhou H, Li L, Sun H, et al. Remote Ischemic Preconditioning Attenuates Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury after Hemorrhagic Shock by Increasing Autophagy. *International journal of medical sciences* 2021; 18: 873–82.
77. Lee WY, Lee SM. Ischemic preconditioning protects post-ischemic oxidative damage to mitochondria in rat liver. *Shock* 2005; 24: 370–5.
78. Turóczy Z, Fülöp A, Czigány Z, et al. Improvement of small intestinal microcirculation by postconditioning after lower limb ischemia. *Microvascular research* 2015; 98: 119–25.
79. Abreu MS, Tannuri ACA, Rodrigues RFG, et al. Effects of local and remote ischemic postconditioning methods on ischemiareperfusion injury in a young animal model of acute mesenteric ischemia. *Acta cirurgica brasileira* 2023; 38: e381323.
80. Hof S, Truse R, Weber L, et al. Local Mucosal CO<sub>2</sub> but Not O<sub>2</sub> Insufflation Improves Gastric and Oral Microcirculatory Oxygenation in a Canine Model of Mild Hemorrhagic Shock. *Frontiers in medicine* 2022; 9: 867298.
81. Zhao Z-Z, Li E, Li X-J, Guo Q, Shi Q-B, Li M-W. Effects of remote ischemic preconditioning on coronary blood flow and microcirculation. *BMC cardiovascular disorders* 2023; 23: 404.
82. Loukogeorgakis SP, Panagiotidou AT, Broadhead MW, Donald A, Deanfield JE, MacAllister RJ. Remote ischemic preconditioning provides early and late protection against endothelial ischemia-reperfusion injury in humans: role of the autonomic nervous system. *Journal of the American College of Cardiology* 2005; 46: 450–6.
83. Kim J, Franke WD, Lang JA. Delayed window of improvements in skin microvascular function following a single bout of remote ischaemic preconditioning. *Experimental physiology* 2021; 106: 1380–8.
84. Weber B, Lackner I, Haffner-Luntzer M, et al. Modeling trauma in rats: similarities to humans and potential pitfalls to consider. *Journal of translational medicine* 2019; 17: 305.
85. Pound P, Ebrahim S, Sandercock P, Bracken MB, Roberts I. Where is the evidence that animal research benefits humans? *BMJ (Clinical research ed.)* 2004; 328: 514–7.
86. Russell WMS, Burch RL. *The principles of humane experimental technique* (1959th ed.). Potters Bar, Herts.: Universities Federation for Animal Welfare, 1992.
87. Taghavi S, Tatum D, Reza T, et al. Sex Differences in the Massively Transfused Trauma Patient. *Shock (Augusta, Ga.)* 2021; 55: 607–12.
88. Heinen A, Behmenburg F, Aytulun A, et al. The release of cardioprotective humoral factors after remote ischemic preconditioning in humans is age- and sex-dependent. *Journal of translational medicine* 2018; 16: 112.

89. Bösch F, Angele MK, Chaudry IH. Gender differences in trauma, shock and sepsis. *Military Medical Research* 2018; 5: 35.
90. Bauer I, Bauer M. Small animal models of hemorrhagic shock-induced liver dysfunction. *Curr Protoc Toxicol* 2002; Chapter 14: Unit14 3.
91. Chen L, Weng Y, Qing A, et al. Protective Effect of Remote Ischemic Preconditioning against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Rats and Mice: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Reviews in cardiovascular medicine* 2022; 23: 413.
92. Hof S, Marcus C, Kuebart A, et al. A Toolbox to Investigate the Impact of Impaired Oxygen Delivery in Experimental Disease Models. *Frontiers in medicine* 2022; 9: 869372.
93. Penfield WG. THE TREATMENT OF SEVERE AND PROGRESSIVE HEMORRHAGE BY INTRAVENOUS INJECTIONS. *The American journal of physiology* 1919; 48: 121–32.
94. Wiggers CJ. THE PRESENT STATUS OF THE SHOCK PROBLEM. *Physiological Reviews* 1942; 22: 74–123.
95. Sinert R, Guerrero P, Quintana E, et al. The effect of hypertension on the response to blood loss in a rodent model. *Academic emergency medicine : official journal of the Society for Academic Emergency Medicine* 2000; 7: 318–26.
96. Kapsdorferová V, Grešová S, Švorc P. Measurement of blood pressure in rats: Invasive or noninvasive methods? *Physiological reports* 2024; 12: e70041.
97. Pecchiari M, Monaco A, Koutsoukou A, Della Valle P, Gentile G, D'Angelo E. Effects of various modes of mechanical ventilation in normal rats. *Anesthesiology* 2014; 120: 943–50.
98. Li C, Xu M, Wu Y, Li YS, Huang WQ, Liu KX. Limb remote ischemic preconditioning attenuates lung injury after pulmonary resection under propofol-remifentanyl anesthesia: a randomized controlled study. *Anesthesiology* 2014; 121: 249–59.
99. Johnsen J, Pryds K, Salman R, Løfgren B, Kristiansen SB, Bøtker HE. The remote ischemic preconditioning algorithm: effect of number of cycles, cycle duration and effector organ mass on efficacy of protection. *Basic research in cardiology* 2016; 111: 10.
100. Basalay MV, Downey JM, Davidson SM, Yellon DM. The Infarct-Limiting Effect of Remote Ischemic Conditioning in Rats Is Not Affected by Aspirin. *Cardiovascular drugs and therapy* 2025; 39: 691–5.
101. Sayour NV, Brenner GB, Makkos A, et al. Cardioprotective efficacy of limb remote ischaemic preconditioning in rats: discrepancy between a meta-analysis and a three-centre in vivo study. *Cardiovasc Res* 2023; 119: 1336–51.
102. Healy D, Prunier F. Remote Ischaemic Preconditioning and Confounders of Cardioprotection. *Cardiology* 2016; 133: 125–7.
103. Lotz C, Kehl F. Volatile anesthetic-induced cardiac protection: molecular mechanisms, clinical aspects, and interactions with nonvolatile agents. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* 2015; 29: 749–60.

104. Dragasis S, Bassiakou E, Iacovidou N, et al. The role of opioid receptor agonists in ischemic preconditioning. *European journal of pharmacology* 2013; 720: 401–8.
105. Behmenburg F, Heinen A, Bruch LV, Hollmann MW, Huhn R. Cardioprotection by Remote Ischemic Preconditioning is Blocked in the Aged Rat Heart in Vivo. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2017; 31: 1223–6.
106. Schwartges I, Picker O, Beck C, Scheeren TW, Schwarte LA. Hypercapnic acidosis preserves gastric mucosal microvascular oxygen saturation in a canine model of hemorrhage. *Shock* 2010; 34: 636–42.
107. Vollmer C, Weiss S, Beck C, Bauer I, Picker O. Hypothermia improves oral and gastric mucosal oxygenation during hypoxic challenges. *Br J Anaesth* 2014; 113: 433–42.
108. Vollmer C, Schwartges I, Swertz M, Beck C, Bauer I, Picker O. Hypothermia improves oral and gastric mucosal microvascular oxygenation during hemorrhagic shock in dogs. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 2013: 589606.
109. Truse R, Smyk M, Schulz J, et al. Regional hypothermia improves gastric microcirculatory oxygenation during hemorrhage in dogs. *PLoS One* 2019; 14: e0226146.
110. Vollmer C, Schwartges I, Naber S, Beck C, Bauer I, Picker O. Vasopressin V(1A) receptors mediate the increase in gastric mucosal oxygenation during hypercapnia. *The Journal of endocrinology* 2013; 217: 59–67.
111. Hölzle F, Rau A, Swaid S, Loeffelbein DJ, Nolte D, Wolff K-D. Simultanes nichtinvasives Monitoring mit Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie bei fasziokutanen Radialislappen und osteokutanen Fibulatransplantaten. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie : MKG* 2005; 9: 290–9.
112. Müller-Graf F, Wrede D, Bork L, et al. Quantification of Video Sequences of the Microcirculation: A Comparison Between Automated Analysis Using Analysis Manager and Manual Analysis Using Capillary Mapper. *Microcirculation (New York, N.Y. : 1994)* 2024; 31: e12890.
113. Beckert S, Witte MB, Königsrainer A, Coerper S. The impact of the Micro-Lightguide O2C for the quantification of tissue ischemia in diabetic foot ulcers. *Diabetes care* 2004; 27: 2863–7.
114. Truse R, Hinterberg J, Schulz J, et al. Effect of Topical Iloprost and Nitroglycerin on Gastric Microcirculation and Barrier Function during Hemorrhagic Shock in Dogs. *J Vasc Res* 2017; 54: 109–21.
115. Backer D de. Detailing the cardiovascular profile in shock patients. *Critical care (London, England)* 2017; 21: 311.
116. Ospina-Tascón GA, García Marin AF, Echeverri GJ, et al. Effects of dobutamine on intestinal microvascular blood flow heterogeneity and O2 extraction during septic shock. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 2017; 122: 1406–17.