

Aus der Klinik und Poliklinik für  
Frauenheilkunde und Geburtshilfe – Innenstadt  
Klinikum der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Friese

**Mikrozirkulatorisches Monitoring mittels  
Orthogonal Polarisation Spektral (OPS) Imaging  
bei Frühgeborenen während der ersten 30 Lebenstage**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Julia Isabel Gabriele Kroth  
aus München

2006

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Orsolya Genzel-Boroviczény

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Chr. J. Bruns  
Priv. Doz. Dr. med. M. Stöckelhuber

Mitbetreuung durch die  
Promovierten Mitarbeiter: –

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 09.11.2006

***Widmung***

***Meiner geliebten Großmutter***

# Gliederung

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>7</b>
1.1	Allgemeine Aspekte zur Frühgeburt	7
1.2	Aufbau und Entwicklung der Haut	8
1.3	Schutzfunktion der Haut bei Frühgeborenen	10
1.4	Entwicklung der Hautdurchblutung	12
1.5	Hautdurchblutung bei Neugeborenen	13
1.6	Allgemeine Aspekte zur Mikrozirkulation	14
1.7	Methoden des mikrozirkulatorischen Monitorings	14
1.7.1	Intravitalmikroskopie mit Fluoreszenzfarbstoffen (IVM)	15
1.7.2	Laser-Doppler Fluxmetrie (LDF)	15
1.7.3	Nah-Infrarot Spektroskopie (NIRS)	16
1.7.4	OPS (Orthogonal Polarisation Spektral) Imaging	17
1.8	Fragestellung	18
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>20</b>
2.1	Einverständniserklärung	20
2.2	Patientenkollektiv	20
2.3	Patientendaten	20
2.3.1	Klinische Parameter	21
2.3.2	Laborparameter	22
2.3.3	Blutgasanalyse	23
2.4	Orthogonal polarisierte spektrale Bildgebung (OPS Imaging)	24
2.4.1	Aufbau des Cytoscan™ A/R Geräts	24
2.4.2	Funktionsprinzip des OPS Imaging	26
2.4.3	Durchführung der Messung mittels OPS Imaging	27
2.4.4	Mikrozirkulatorische Parameter	29
2.5	Videobildanalysesystem CapiScope	30
2.5.1	Hardware-Konfiguration	31
2.5.2	Software-Konfiguration	31
2.6	Statistik	32

<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>34</b>
3.1	Klinische Daten am ersten Lebenstag	34
3.2	Klinische Parameter im ersten Lebensmonat	36
3.3	Laborparameter	42
3.4	Erkrankungen und medikamentöse Therapie	44
3.5	Mikrozirkulatorische Parameter	44
3.5.1	Funktionelle Kapillardichte (FCD)	44
3.5.2	Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel)	50
3.5.3	Gefäßdurchmesser (Diam)	55
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>58</b>
4.1	Klinische Anwendbarkeit von OPS Imaging	58
4.1.1	Sicherheit der klinischen Anwendung	58
4.1.2	Bewegungsartefakte	59
4.1.3	Druckartefakte	60
4.1.4	Vergleichbarkeit der Daten	61
4.1.5	Qualität der mikrozirkulatorischen Bilder	61
4.1.6	Praktikabilität des Videobildanalyseystems CapiScope	63
4.2	Mikrozirkulatorische Parameter	63
4.2.1	Funktionelle Kapillardichte (FCD)	64
4.2.2	Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel)	65
4.2.3	Gefäßdurchmesser (Diam)	68
4.3	Limitationen für OPS Imaging	69
4.4	Diagnostische Möglichkeiten von OPS Imaging	70
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>72</b>
<b>6</b>	<b>Anhang</b>	<b>74</b>
6.1	Abbildungen	74
6.2	Tabellen	77
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>80</b>
<b>8</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>90</b>
<b>9</b>	<b>Danksagung</b>	<b>92</b>

## Abkürzungsverzeichnis

BE	base excess
°C	Grad Celsius
cmH <sub>2</sub> O	Zentimeter Wassersäule
Diam	Gefäßdurchmesser
DIC	disseminierte intravasale Gerinnung
FCD	funktionelle Kapillardichte
g	Gramm
Hb	Hämoglobinkonzentration
Hf	Herzfrequenz
Hk	Hämatokrit
IVM	Intravitalmikroskopie
kg	Kilogramm
LDF	Laser-Doppler-Fluxmetrie
LGA	hypertrophes Kind („large for gestational age“)
LT	Lebenstag
MAD	mittlerer arterieller Druck
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MW	Mittelwert
n	Anzahl
NIRS	Nah-Infrarot-Spektroskopie
OPS Imaging	orthogonal polarisierte spektrale Bildgebung
PEEP	positiv endexpiratorischer Druck
pH	-log[H <sup>+</sup> ]
PIP	Inspirationsdruck
r	Korrelationskoeffizient
ROI	Region of Interest (Beobachtungsareal)
RBC vel	Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit
RRdia	diastolischer Blutdruck
RRsys	systolischer Blutdruck
SGA	hypotrophes Kind („small for gestational age“)
SSW	Schwangerschaftswoche

# 1 Einleitung

## 1.1 Allgemeine Aspekte zur Frühgeburt

Im Jahre 2004 wurden in Deutschland 712 000 lebendgeborene Kinder registriert. Neugeborene, die vor der 37. Schwangerschaftswoche geboren werden und ein Geburtsgewicht unter 2500 g aufweisen, werden als Frühgeborene bezeichnet. Der Anteil der Neugeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 2500 g (bezogen auf Lebend- und Totgeborene) stieg in Deutschland von 5,8 % (1990) auf 6,8 % (1999) an. In Deutschland kommt es bei ungefähr 8 - 10 % aller Schwangerschaften zu einer Frühgeburt (zwischen der 32. und 37. Woche, 2001).<sup>60, 67</sup>

Eine Studie zur Frühgeburtlichkeit innerhalb einer bestimmten Region in Nordrhein-Westfalen in den Jahren 1990 bis 1996 hatte folgende prozentuale Rate an Frühgeborenen ergeben: der Median lag bei 12,9 %, die 10. Perzentile bei 9,4 % und die 90. Perzentile bei 18,5 %. Mit zunehmendem Geburtsvolumen nahm diese Rate nicht linear zu.<sup>59</sup>

Die Säuglingssterblichkeit in Deutschland im Jahr 2000 (4,4 Sterbefälle je 1000 Lebendgeborenen) konnte ebenso wie die perinatale Mortalitätsziffer (6,1 je 1000 Lebend- und Totgeburten) in den letzten Jahren gesenkt werden. Ein geringes Geburtsgewicht ist vor allem innerhalb der ersten sieben Lebensstage ein hoher Risikofaktor für die Sterblichkeit (siehe **Tabelle 1**). Etwa drei Viertel der Sterbefälle bei Neugeborenen mit einem Gewicht unter 1000 g und etwa die Hälfte mit einem Gewicht zwischen 1000 g und 2500 g ereignen sich innerhalb der ersten sechs Lebensstagen (1999).<sup>67</sup>

	<b>Verstorbene je 1000 Lebendgeborene (im Alter &lt; 1 Jahr)</b>		
Geburtsgewicht	1997	1999	Veränderung 1999 gegenüber 1997
Unter 1 000 g	360,3	353,3	- 1,9 %
1 000 g – 2 000 g	37,4	30,5	- 18,4 %
2 000 g – 3 000 g	9,9	8,4	- 15,2 %
Alle Gewichtsklassen	4,8	4,5	- 6,3 %

**Tabelle 1: Säuglingssterblichkeit nach Geburtsgewicht und Alter 1997/1999**<sup>67</sup>

Quelle: Bundesministerium für Gesundheit 2001:188

Knapp die Hälfte aller Todesfälle im Säuglingsalter ist auf bestimmte Zustände, die ihren Ursprung in der Perinatalzeit haben, zurückzuführen (siehe **Tabelle 2**). Häufigste Einzeldiagnosen sind z. B. Störungen im Zusammenhang mit kurzer Schwangerschaftsdauer und niedrigem Geburtsgewicht, Atemnot und bakterielle Infektion beim Neugeborenen.

<b>Todesursache Kapitel ICD 10 – HG</b>		<b>Jungen</b>		<b>Mädchen</b>	
<b>Altersgruppe unter 1 Jahr</b>		N	Anteil	N	Anteil
XVI (P00-P96)	Bestimmte Zustände, die ihren Ursprung in der Perinatalzeit haben	834	46 %	605	45 %
XVII (Q00-Q99)	Angeborene Fehlbildungen, Deformitäten und Chromosomenanomalien	459	25 %	394	29 %
XVIII (R00-R99)	Symptome und abnorme klinische und Laborbefunde, die anderenorts nicht klassifiziert sind	343	19 %	201	15 %
	<b>Summe</b>	<b>1 636</b>	90 %	<b>1 200</b>	89 %
	Andere Ursachen	179	10 %	148	11 %
(A00-T98)	<b>Insgesamt</b>	<b>1 815</b>	100 %	<b>1 348</b>	100 %

**Tabelle 2: Häufigste Todesursachen bei Kindern unter 1 Jahr, 2001** <sup>67</sup>

Quelle: Statistisches Bundesamt 2003a: Todesursachen in Deutschland 2001 Fachserie 12, R 4

Die Diagnostik und das klinische Monitoring bei Frühgeborenen stellen sich als ausgesprochen schwierig dar. Ein zentrales Problem in der Neonatologie ist das frühzeitige Erkennen und Diagnostizieren von Infektionen. Entzündungsparameter steigen bei Frühgeborenen oft verspätet an, so dass sie eine Infektion nicht frühzeitig identifizieren können. Invasive Maßnahmen wie z. B. venöse Blutabnahmen sind aufgrund von einem zirkulierenden Blutvolumen von weniger als 100 ml bei Frühgeborenen <sup>9</sup> nur in begrenztem Umfang möglich. Die Entwicklung von nicht



invasiven Verfahren zum Monitoring von Frühgeborenen ist daher von großer Bedeutung.

## 1.2 Aufbau und Entwicklung der Haut

Die Haut ist ein komplexes Organ, das den menschlichen Körper vor chemischen, mechanischen und thermischen Schäden sowie vor zahlreichen Krankheitserregern schützt. Sie hält Funktionen wie die Regulierung des Wasserhaushalts, die Temperaturregulation und das Empfindungsvermögen aufrecht. Die Zellen der Haut stammen sowohl vom embryonalen Mesoderm als auch vom Ektoderm ab.<sup>11</sup>

Alle Strukturen der Haut sind beim Neugeborenen weniger gut ausgebildet als beim Säugling oder Kleinkind. Schwitzen als Antwort auf einen thermalen Reiz tritt bei Reifgeborenen mit der Geburt und bei Frühgeborenen ab der zweiten Lebenswoche auf. Die Schweißsekretion ist bei Frühgeborenen allerdings schlecht entwickelt. Das emotionale Schwitzen ist nur bei reifgeborenen Kindern von Geburt an vorhanden. Die Regulation der Hautdurchblutung ist sowohl bei früh- als auch bei reifgeborenen Säuglingen möglich, und wird oft indirekt durch den Gradienten der Körperkerntemperatur zur peripheren Hauttemperatur bestimmt. Dieser Gradient ist auf der einen Seite abhängig von der Temperatur und auf der anderen Seite auch von Krankheit.<sup>62</sup>

Die Epidermis entstammt aus dem Ektoderm und die Oberfläche des Ektoderm besitzt mit 6 Gestationswochen zwei Schichten: die Basalzellen und die oberflächlichen peridermalen Zellen. Die peridermale Schicht gehört nicht zur späteren Epidermis, sie ist eine vorübergehende Hülle des Embryos. Diese Schicht löst sich später ab und trägt zur Bildung der Vernix caseosa, die das Neugeborene umgibt, bei. Mit 8 Gestationswochen beginnt die Stratifizierung. Es bildet sich eine intermediäre Schicht zwischen der Basalschicht und der peridermalen Schicht. Diese intermediäre proliferative Schicht bildet in den nächsten Wochen weitere Schichten. Die Reifung der Epidermis geht außerdem mit einer Verhornung der Zellen einher, welche das erste Mal mit 11 bis 15 Gestationswochen auftritt. Es kommt zu einer Differenzierung der Zellen und zur Bildung einer wasserundurchlässigen Barriere. Strukturell gesehen ist das Stratum corneum der Epidermis im dritten Trimenon mit

dem eines Erwachsenen zu vergleichen. Allerdings ergaben Studien, die die Funktion der Haut von Frühgeborenen untersuchten, dass die unreife Haut weitaus weniger Schutz vor Flüssigkeitsverlust aufweist und die Haut sehr viel permeabler ist als reife Haut. Erst ab der 3. Lebenswoche eines Neugeborenen lässt sich die Schutzfunktion der Haut mit der eines Erwachsenen vergleichen.<sup>11</sup>

Die Dermis geht vom Mesoderm und vom Ektoderm aus.<sup>11</sup> Die embryonale Dermis eines 5 – 6 Wochen alten Fetus ist eine Anordnung von mesenchymalen Zellen, die noch keine Unterscheidung verschiedener Ebenen oder eine Trennung von Dermis und Subkutis möglich macht.<sup>69</sup> Sie ist zellreicher und hat wenig Ähnlichkeit mit der des Erwachsenen. Sie entwickelt sich, indem aus mesenchymale Zellen Fibroblasten entstehen.<sup>62</sup> Ab der 12. bis 15. Gestationswoche können die verschiedenen Charakteristika der Dermis beobachtet werden – das schmale oberflächliche Stratum papillare und das tiefer gelegene, dickere Stratum reticulare.<sup>11</sup> Ab der 13. Gestationswoche existiert die Grundstruktur eines kollagenen Netzwerks, das durch Zunahme des Durchmessers der Fibrillen wächst.<sup>69</sup> Alle Kollagentypen, die beim Erwachsenen vorkommen, sind auch schon bei der fetalen Dermis vorhanden.<sup>62</sup> Das Bindegewebe vermehrt sich stetig während des zweiten und dritten Trimenons und setzt sich auch im Säuglingsalter fort. Elastische Fibrillen treten erstmalig in der 20. Gestationswoche auf und nehmen bis zur Geburt zu. Allerdings ereignet sich der größte Teil der Entwicklung und der Reifung von elastischen Fibrillen nach der Geburt.<sup>62</sup>

### **1.3 Schutzfunktion der Haut bei Frühgeborenen**

Histologische Analysen weisen darauf hin, dass die Entwicklung der Epidermis in utero in der 34. Gestationswoche abgeschlossen ist.<sup>29</sup> Das Stratum corneum wird ab der 23. bis 24. Gestationswoche gebildet. Die Entwicklung einer Barriere, um den Verlust von Wasser und Infektionen zu verhindern ist notwendig für das Überleben außerhalb des Mutterleibes.<sup>25</sup> Das Stratum corneum von Frühgeborenen ist im Vergleich zu dem von Erwachsenen oder reifen Neugeborenen sehr viel dünner. Frühgeborene mit einem niedrigen Geburtsgewicht haben eine noch schlechter entwickelte Epidermis und Dermis als Frühgeborene mit einem bezüglich des

Gestationsalters normalen Geburtsgewicht. Die Haut kann den Körper mit ihrer Funktion als Barriere noch nicht schützen. Das Risiko eines transdermalen Wasserverlusts und eines transkutanen Wärmeverlusts bei Frühgeborenen ist hoch. Die Dysfunktion der Haut führt zu Dehydratation und zu Elektrolytstörungen.<sup>29</sup> Durch vermehrte Absorption von toxischen Stoffen über die Haut und die verminderte Schutzfunktion der Haut vor Infektionen kann es zu Krankheiten oder zum Tod kommen. Die Haut von Frühgeborenen ist zudem sehr leicht zu verletzen. Schon geringe Traumen können die Haut so stark schädigen, dass sie eine Eintrittspforte für Erreger darstellen.<sup>19</sup>

Die Dauer der Entwicklung der Haut beruht auf einer Kombination von postnatalem Alter und Gestationsalter. Frühgeborene mit einem Gestationsalter von 23 bis 25 Wochen und einem sehr niedrigen Geburtsgewicht benötigen für ein vollständig entwickeltes und funktionstüchtiges Stratum corneum mindestens 4 Wochen. Im Gegensatz dazu wurde festgestellt, dass Frühgeborene zwischen der 30. und 32. SSW eine Schutzfunktion der Haut aufweisen können, die der von Erwachsenen ähnlich ist.<sup>29</sup>

Durch die Geburt wird bei Frühgeborenen mit einem sehr geringen Geburtsgewicht eine sofortige Synthese von Lipiden und DNA ausgelöst, die eine Verhornung der epidermalen Keratinozyten folgt. Man kann bei Frühgeborenen mit sehr niedrigem Geburtsgewicht einen schnellen Wechsel von einer feuchten, klebrigen Hautoberfläche zu einem trockenen Stratum corneum beobachten. Diese rasante Entwicklung des Stratum corneum führt oft zu einer exzessiven Desquamation und Schuppung in den folgenden Wochen nach einer Frühgeburt.<sup>25</sup>

Der Schutz vor Wärmeverlust hat eine besondere Bedeutung bei Frühgeborenen. Frühgeborene produzieren Wärme nur in geringem Umfang durch Lipolyse von braunem Fettgewebe. Es entsteht ein innerer Wärmestrom, in dem die gebildete Wärme vom Blutstrom aufgenommen wird und zur Körperoberfläche geleitet wird. Der Wärmeverlust ist abhängig von dem Verhältnis der Körperoberfläche zur Körpermasse, dem subkutanen Fettgewebe und der Hautreife, die durch die Konsistenz der Epidermis, die Struktur und die Kapillarisation der Kutis widerspiegelt wird. Der Hauptverlust von Wärme entsteht durch die Abstrahlung von der wärmeren Haut zu kälteren Oberflächen, wie z.B. zu Wänden, Inkubatorhauben oder großen Fensterflächen. Sehr unreife Frühgeborene benötigen einen sicheren Schutz vor Wärmeverlust, da sie ein großes Verhältnis von

Körperoberfläche zu Körpervolumen, wenig bis fehlendes subkutanes Fettgewebe und einen hohen reifeabhängigen transepidermalen Wasserverlust aufweisen. Braunes Fettgewebe ist ab 25 bis 26 Gestationswochen vorhanden, dennoch ist die Menge für eine effektive Wärmeproduktion nicht ausreichend.<sup>60</sup>

Die Thermoregulation wird über die Veränderung des Gefäßtonus in der Körperperipherie und die Schweißsekretion geregelt. Frühgeborene bis 37 Gestationswochen zeigen keine Schweißsekretion in der Neugeborenenperiode. Die Mechanismen der Vasokonstriktion und der Vasodilatation sind bei Frühgeborenen zwar entwickelt, ermöglichen aber keine ausreichende Thermoregulation, da sie bei dünner Fettschicht und fehlender Schweißsekretion ineffizient sind.<sup>60, 62</sup>

#### **1.4 Entwicklung der Hautdurchblutung**

Frühere Studien nahmen an, dass die Haut bis zur 8. Gestationswoche keine Blutgefäße enthält. In späteren Studien wurde gezeigt, dass der größte Teil der vaskulären Organisation der Dermis im ersten Trimenon stattfindet.<sup>28</sup>

Die Gefäße sind zuerst in einer und später in zwei Schichten organisiert, die parallel zur Epidermis verlaufen. Ab 6 Gestationswochen weisen die Gefäße der zwei Schichten eine größere Heterogenität im Durchmesser und in der Struktur der Gefäßwand auf. Einfache Gefäße der embryonalen Periode, die den Kapillaren ähnlich sind, entwickeln sich zu Gefäßen, die von einer Matrix und perivaskulären Zellen umgeben sind. Die frühe fetale Gefäßstruktur ist in Aufbau und Morphologie der von Erwachsenen ziemlich ähnlich. Die Gefäße sind größtenteils intakt, durchgängig und funktionstüchtig. Am Ende des ersten Trimenon hat die Dicke der Basalmembran zugenommen und die Gefäße sind teilweise von perivaskulären Zellen umgeben. Allerdings erlaubt die ungenügende Organisation der Gefäße genau wie bei der embryonalen Gefäßstruktur keine segmentale Differenzierung.<sup>28</sup>

In der 13. Woche Gestationsalter lassen sich die Blutgefäße überall in der Dermis sicher nachweisen.<sup>63</sup> Im dritten und vierten Monat entwickelt sich eine geordnete Struktur der Gefäße, vor allem in der oberflächlichen Dermis und in der Nähe der wachsenden Hautanhangsorganen.<sup>68</sup> Subkutane Gefäße beginnen sich in Venen und Arterien zu differenzieren. Am Ende des vierten Monats kann ein oberflächliches

Kapillarnetz, das die Epidermis versorgt, von einem tiefen Gefäßsystem deutlich unterschieden werden. In der nachfolgenden Zeit verbleiben die Gefäße in der oberflächlichen Schicht dicht beieinander, während die tief liegenden Gefäße ein großmaschiges Netz bilden. Die Verbindung beider Schichten schaffen die Kapillaren.<sup>63</sup> In den letzten zwei Monaten entwickelt sich ein Gefäßnetzwerk, das mit dem eines Erwachsenen verglichen werden kann.<sup>68</sup>

### **1.5 Allgemeine Aspekte zur Mikrozirkulation**

Der Blutfluss durch die kleinsten Äste des kardiovaskulären Systems - bestehend aus den Arteriolen, den Kapillaren und den Venolen – wird als Mikrozirkulation bezeichnet. Die Kapillaren haben einen Innendurchmesser von 5 – 8 µm und eine durchschnittliche Länge von 0,01 – 0,1 cm. Der Widerstand ist wegen ihres kleinen Durchmessers trotz ihrer kurzen Länge groß und beträgt etwa 27 % des Gesamtwiderstandes des Blutflusses im zirkulatorischen System. Das bedeutet, dass ca. ein Viertel des Blutdrucks von 120 mmHg in den Kapillargebieten abgebaut wird. Die Kapillaren zweigen von den Arteriolen (Länge ca. 0,2 cm, Durchmesser ca. 0,002 cm) ab und münden in die Venolen (Länge ca. 0,2 cm, Durchmesser ca. 0,003 cm).

16, 24

Die Mikrozirkulation ist als Nahtstelle zwischen Blut und Gewebe die Grundlage für die Versorgung der Zellen und sichert damit ihr Überleben. Bei einem lokalen oder globalen Missverhältnis von Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf kann es zu einer ischämisch-toxischen Schädigung kommen. Viele Erkrankungen wie z. B. Diabetes mellitus, chronische Ulzera, Bluthochdruck, Schock oder Sepsis sind assoziiert mit strukturellen Veränderungen der kleinen Gefäße oder funktionellen Defekten wie z. B. Permeabilitätsstörungen der Endothelmembran.<sup>15, 41, 66</sup>

Die Analyse der Physiologie und der Pathophysiologie der Mikrozirkulation ermöglicht eine neue Perspektive in Bezug auf das Verständnis und die Diagnostik von Erkrankungen. Trotz der zentralen Bedeutung der Mikrozirkulation liegen den Therapiekonzepten vor allem makrozirkulatorische Parameter wie mittlerer arterieller Blutdruck, Herzindex, Sauerstoffverbrauch und –angebot zugrunde. Ziel

eines adäquaten Monitorings sollte es jedoch sein, die nutritive Versorgung vitaler Organe wie z. B. der Haut zu erfassen.<sup>15, 66</sup>

## **1.6 Hautdurchblutung bei Neugeborenen**

Bei der Geburt zeigt die Blutversorgung der Haut relativ geringe regionale Unterschiede. Die Haut ist gut von einem dichten subepidermalen Plexus versorgt und verschiedene untersuchte Stellen zeigten ein beinahe identisches Bild der Gefäßstruktur. In diesem Stadium sind sogar die mittlere und tiefe Dermis reich an Gefäßen. Allerdings verändert sich die Durchblutung der Haut in der frühen Kindheit. Die Ausmaße des tieferen Gewebes vergrößern sich ohne ein equivalentes Wachstum der Gefäße, wodurch die Abstände zwischen den Gefäßen deutlich zunehmen.<sup>63</sup>

Ein vollständiges, reifes Bild von Kapillarschlingen und des subpapillären venösen Plexus ist bei der Geburt noch nicht vorhanden. Kapillarschlingen kommen bei der Geburt an den Handflächen, Fußsohlen und im Nagelbett vor. In der ersten Woche proliferieren die Gefäße so schnell, dass sich eine ungeordnete Struktur entwickelt, die sich im Laufe der ersten Wochen zu einem geordneten Gefäßgeflecht wird. Klar definierte Kapillarschlingen sind ab der 4. bis 5. Lebenswoche sichtbar und können in allen Bereichen der Haut ab der 14. bis 17. Lebenswoche nachgewiesen werden. Die Mikrozirkulation entwickelt sich in den ersten drei Lebensmonaten so weit, dass sie mit der eines Erwachsenen verglichen werden kann.<sup>57, 63</sup>

## **1.7 Methoden des mikrozirkulatorischen Monitorings**

Jedes Gewebe ist abhängig von einer funktionierenden Mikrozirkulation, um das Blut zum Gewebe hinzuleiten und wieder abzutransportieren. Verschiedene Methoden ermöglichen die Untersuchung der Mikrozirkulation und tragen zu einem besseren Verständnis der mikrohämodynamischen Mechanismen bei.<sup>15</sup>

### **1.7.1 Intravitalmikroskopie mit Fluoreszenzfarbstoffen (IVM)**

Die IVM wird seit einigen Jahrzehnten in der Forschung eingesetzt, um lebendes Gewebe und im Besonderen die Mikrozirkulation darzustellen.<sup>26, 66</sup> Eine wichtige Voraussetzung für diese Technik ist die Belichtung des Gewebes während der Untersuchung. Dies erfolgt entweder mit Transillumination, Epiillumination oder phosphorylierenden Substanzen.<sup>26</sup> Insbesondere der Einsatz von Fluoreszenzfarbstoffen wie Rhodamin 6G oder Fluoresceinisothiocyanat- (FITC-) Dextran führt auf der einen Seite zu kontrastreichen Bildern, limitiert aber auf der anderen Seite die Anwendung, da die genannten Substanzen am Menschen nicht zugelassen sind.<sup>66</sup> Die Nagelfalzkapillaroskopie ermöglicht eine Beurteilung auch am wachen Patienten, ist aber auf diesen Bereich beschränkt und deswegen in seiner Aussagekraft begrenzt.<sup>44, 66</sup> Diese Methode findet Anwendung bei der Erforschung von Krankheiten wie z. B. Diabetes mellitus.<sup>15</sup> Experimentelle Studien haben in den vergangenen Jahren gezeigt, dass die mikrozirkulatorische Dysfunktion eine entscheidende Rolle bei Hautverletzungen spielt. Beispiele hierfür sind Studien am Hamstermodell nach Ischämie und Reperfusion und der osteomyokutane Lappentransfer der hinteren Gliedmaße der Ratte.<sup>20, 46</sup> Die IVM hat als mikrozirkulatorisches Monitoringverfahren keine Verwendung im klinischen Alltag gefunden.<sup>8</sup>

### **1.7.2 Laser-Doppler Fluxmetrie (LDF)**

Die LDF wird ebenfalls zur Erforschung des Blutflusses und der Hautdurchblutung verwendet. Der Laserstrahl hat in der Regel einen Durchmesser von 250 bis 800  $\mu\text{m}$ . Das Prinzip der LDF basiert auf der Gegebenheit, dass monochromatisches Licht auf die Haut gestrahlt wird. Ein Teil des Lichts wird an sich bewegenden Erythrozyten reflektiert, der andere Teil an den Gefäßwänden. Der Teil des Lichts, der an den Erythrozyten reflektiert wird, erhält durch den Dopplershift neu entstandene Frequenzen. Mittels Frequenzanalyse wird dann entsprechend dem Dopplergesetz die Blutzellgeschwindigkeit bestimmt.<sup>1, 8, 15</sup>

Die LDF hat ihren Ursprung in der Arbeit von Riva und Mitarbeitern, der 1972 die Technologie durch Messungen der Blutzellgeschwindigkeit an Gefäßen der Retina

anwendete. Weiterentwickelt wurde die LDF von Stern (1975), Holloway und Watkins (1977) und Nilsson und Mitarbeitern (1980).<sup>15, 30</sup> Noble und Mitarbeiter haben die LDF im Jahre 2003 eingesetzt, um vaskuläre Reaktionen, hervorgerufen durch transienten Druck auf das Os sacrum, von Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern zu untersuchen. Des Weiteren wurde die LDF verwendet, um Veränderungen der Mikrozirkulation bei Patienten mit chronisch venöser Insuffizienz (CVI) und chronisch venösen Ulzera darzustellen.<sup>8, 50</sup>

Die LDF ist eine einfache und leicht anzuwendende Technologie. Nachteilig sind die geringe Eindringtiefe von nur wenigen Millimetern und das Fehlen von Absolutwerten, wodurch ein interindividueller Vergleich erschwert wird. Außerdem entstammt das emittierte Licht größtenteils aus arterio-venösen Anastomosen und nicht aus dem subpapillären Plexus, der die nutritive Versorgung der Haut widerspiegelt. Die klinische Anwendung von LDF konnte sich aufgrund der großen Variabilität der Messwerte nicht durchsetzen.<sup>1, 8</sup>

### **1.7.3 Nah-Infrarot Spektroskopie (NIRS)**

NIRS ist ein nicht invasives Untersuchungsverfahren, das Wellenlängen zwischen 650 und 1000 nm verwendet. Aufgrund der unterschiedlichen Absorption des Gewebes durch die verschiedenen Wellenlängen, können Veränderungen von Oxy- und Desoxyhämoglobin und die Sauerstoffsättigung des Bluts dargestellt werden.<sup>4, 6, 45</sup>

Anfangs wurde NIRS in der fetalen und neonatalen Forschung verwendet. Später wurde sie in anderen klinischen Bereichen wie in der Anästhesie und der Notfallmedizin eingesetzt.<sup>8</sup> Diese Methode wurde als nicht invasives fetales Monitoring während der Geburt eingesetzt.<sup>33, 72</sup> Mit diesen Erkenntnissen über den cerebralen Oxygenierungsstatus und den cerebralen Blutfluss von Neugeborenen können cerebrale Schäden früher erkannt und gegebenenfalls verhindert werden.<sup>78</sup> Außerdem wird die NIRS bei der Messung der cerebralen Oxygenierung während Herzstillstand<sup>49</sup> und bei Herzoperationen<sup>12</sup> angewendet.

Diese Verfahren hat allerdings ebenfalls keine Verwendung im klinischen Alltag gefunden, da nur relative Veränderungen aufgrund der fehlenden Kalibrierung der Messwerte wiedergegeben werden können.<sup>8, 47</sup>



#### 1.7.4 OPS (Orthogonal Polarisation Spektral) Imaging

Eine Neuentwicklung der Intravitalmikroskopie ist die orthogonale polarisierte spektrale Bildgebung, auch OPS Imaging genannt. Sie ist von Groner und Mitarbeitern in der Zeitschrift „Nature Medicine“ im Oktober 1999 erstmalig vorgestellt worden. Mit der OPS Imaging kann die Hautperfusion durch reflektiertes Licht im Absorptionsspektrum des Hämoglobins ohne Kontrastmittel dargestellt werden. Es entsteht eine virtuelle Lichtquelle beim experimentellen Versuchsaufbau in einer Tiefe von 1 mm und in vivo in einer Tiefe von 0,2 mm. OPS Bildsequenzen werden kontinuierlich per Video aufgenommen und die Erythrozyten- Fließgeschwindigkeit (RBC vel), die funktionelle Kapillardichte (FCD) und der Gefäßdurchmesser (Diam) offline mit der Bildanalysesoftware CapiScope berechnet.<sup>9, 13, 18, 23, 34, 43, 44</sup>

Die Anwendbarkeit der OPS Imaging Technologie wurde zuerst in tierexperimentellen Versuchen gezeigt. Harris und Mitarbeiter verglichen OPS Imaging im Modell der Rückenhautkammer des syrischen Goldhamsters<sup>23</sup> mit der konventionellen Intravitalmikroskopie und bewiesen die Äquivalenz der beiden Untersuchungsverfahren.<sup>18</sup> Es folgten weitere Studien am Hamstermodell<sup>21, 22</sup>, an Ratten<sup>37</sup> und an Mäusen<sup>3</sup>. Eine andere Studiengruppe untersuchte den Nagelfalz des Menschen mit OPS Imaging und der Kapillarmikroskopie und erhielt vergleichbare Ergebnisse.<sup>44</sup> Es schlossen sich weitere Studien in vivo an, die die Mikrozirkulation intraoperativ am Kolon<sup>3, 43</sup>, an der Leber<sup>36</sup>, am Gehirn<sup>42, 74</sup> und am Herzen<sup>5</sup> erforschten. Zum Monitoring des Patienten kann die Hautdurchblutung mit OPS Imaging im Bereich der Mundschleimhaut, der Konjunktiva, der Zunge, den Lippen, periungual und in Wunden visualisiert werden.<sup>9, 10, 13, 18, 32, 34, 35, 43, 48</sup> Die Haut von Neugeborenen und Säuglingen eignet sich ebenfalls sehr gut zur Darstellung der Mikrozirkulation mittels OPS Imaging aufgrund ihrer geringen Verhornung.<sup>9, 16, 17</sup>

OPS Imaging wurde erstmals 2001 in der Neonatologie von Genzel-Boroviczény und Mitarbeitern angewendet. In der ersten Studie wurde die Anwendbarkeit von OPS Imaging als Untersuchungsmethode in der Neonatologie nachgewiesen.<sup>16</sup> Eine weitere Studie untersuchte mittels OPS Imaging die Auswirkungen von Transfusionen auf die Mikrozirkulation bei Frühgeborenen.<sup>17</sup>

In der medizinischen Diagnostik werden vor allem makrozirkulatorische Parameter erhoben. Die Überwachung der Mikrozirkulation durch OPS Imaging zeigt neue Perspektiven für das klinische Monitoring bei Frühgeborenen. In Zukunft könnte OPS

Imaging zum Nachweis von Therapieerfolgen z.B. bei Transfusionen oder zur Diagnostik z.B. von Infektionen eingesetzt werden. Bis heute stehen nur wenige Daten über die Mikrozirkulation von Frühgeborenen zur Verfügung. Diese Studie befasst sich mit dem generellen Verlauf der mikrozirkulatorischen Parameter, die mit OPS Imaging gemessen werden können. Sie soll eine Grundlage für weitere Studien zur Erfassung von Veränderungen der kutanen Mikrozirkulation bilden.

### **1.8 Fragestellung**

Der Einsatz von OPS Imaging in der Neonatologie kann in Zukunft als nicht invasive Untersuchungsmethode von großer Bedeutung sein. Die Überwachung der Mikrozirkulation von Frühgeborenen ermöglicht eine Beurteilung der Qualität der Hautdurchblutung, eine frühzeitige Intervention bei Störungen und eine Kontrolle der Therapie z. B. bei Bluttransfusionen.<sup>17</sup> In dieser Studie wurden Frühgeborene mit einem Gestationsalter < 30 Wochen während ihres ersten Lebensmonats untersucht, um den normalen Verlauf der mikrozirkulatorischen Parameter zu dokumentieren. Diese klinische Studie soll sowohl die Anwendbarkeit bei Frühgeborenen und die Praktikabilität für den Untersucher, als auch die Sicherheit und das diagnostische Potential von OPS Imaging überprüfen. Im Rahmen dieser Arbeit sollen folgende Fragen beantwortet werden:

1. Ist OPS Imaging in der Neonatologie einfach für den Untersucher anwendbar?
2. Wie verändern sich die Parameter der Mikrozirkulation – wie funktionelle Kapillardichte, Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit und Gefäßdurchmesser – im Verlauf des ersten Lebensmonats?
3. Besteht eine Korrelation zwischen dem Alter der Frühgeborenen und den mikrozirkulatorischen Parametern?

4. Besteht eine Korrelation zwischen Laborparametern, klinischen Parametern und den mikrozirkulatorischen Werten?
5. Besteht ein signifikanter Unterschied in der Mikrozirkulation von Frühgeborenen  $< 26 + 0$  und  $> 28 + 0$  Gestationswochen?
6. Welche Limitationen der OPS Imaging Technik hat diese Studie aufgezeigt und welche Verbesserungsvorschläge können in weiteren Studien beachtet werden?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Einverständniserklärung

Die Eltern der Patienten wurden ausführlich von einem der zuständigen Stationsärzte aufgeklärt, wobei auch das Cytoscan<sup>TM</sup> A/R Gerät zur Aufzeichnung der Mikrozirkulation am Oberarm in der Nähe der Axilla vorgeführt wurde. Voraussetzung zur Studienteilnahme war die schriftliche Einwilligung von Mutter und Vater.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt.

### 2.2 Patientenkollektiv

Die Studiengruppe umfasste 25 Frühgeborene der neonatologischen Intensivstation des Klinikums Großhadern in München im Zeitraum von 1. Januar 2003 bis 3. Juli 2003. Alle Patienten wurden während des gesamten Zeitraums der Untersuchung intensivmedizinisch versorgt. Es befanden sich 3 Drillingspaare und 2 Zwillingspaare unter den Patienten.

Das Einschlusskriterium war ein Gestationsalter von  $< 30 + 0$  Wochen. Die Messung begann am 3. Lebenstag, wurde jeden Tag zwischen 8 und 12 Uhr wiederholt und bis zum 30. Lebenstag fortgeführt.

Die Mikrozirkulation wurde nicht invasiv mittels Cytoscan<sup>TM</sup> A/R an der Innenseite des Oberarms in der Nähe der Axilla gemessen. Diese Stelle eignet sich besonders gut, da hier die Lanugobehaarung geringer ist als an anderen Stellen wie z.B. am Kopf und atemabhängige Bewegungen zu vernachlässigen sind.

### 2.3 Patientendaten

Vor Beginn der Messung wurde von jedem Patienten ein Deckblatt (**Abbildung 1**) angefertigt, welches folgende Daten enthielt: Patientenummer, Geschlecht, Geburtstag, Geburtsgewicht [g], Geburtskörperlänge [cm], Kopfumfang [cm], Gestationsalter [SSW], Apgar-Score und die Diagnosen zum Zeitpunkt der Geburt.

Zum Zeitpunkt der Messung wurde jeden Tag ein Tagesblatt (**Abbildung 2**) pro Patient ausgefüllt. Es enthielt folgende Daten:

Patientennummer

Datum

aktuelles Gewicht [g]

Lebenstag

Inkubator Temperatur [°C]

Körpertemperatur [°C]

Beatmungsparameter

systolischer und diastolischer Blutdruck [mmHg]

mittlerer arterieller Blutdruck [mmHg]

Herzfrequenz [/min]

blutdruckwirksame Medikamente

Laborparameter

Antibiotika

mikrozirkulatorische Parameter.

### **2.3.1 Klinische Parameter**

Die klinischen Parameter wurden jeden Tag um die gleiche Uhrzeit zwischen 8 und 12 Uhr vormittags zum Zeitpunkt der Messung erhoben und in das Tagesblatt eingetragen.

#### **Blutdruck**

Systolischer, diastolischer und mittlerer arterieller Blutdruck wurden jeden Tag mittels Oszillographie (Dinamap / Hp-Monitor) gemessen.

#### **Herzfrequenz**

Die Herzfrequenz wurde fortlaufend überwacht. Auf dem Tagesblatt wurde der aktuelle Wert mit oberer und unterer Grenze des jeweiligen Tages protokolliert.

### **Beatmung, Apnoen und Bradykardien**

Die Beatmung erfolgte tracheal oder pharyngeal mittels CPAP (Continuous positive airway pressure), HFOV (Hochfrequenz-Oszillationsbeatmung) oder SIMV (Synchronized intermittent mandatory ventilation). Es wurden die Respiratoren Infant-Star und Stephanie verwendet.

Apnoen wurden von den Schwestern in den Kurvenverlauf eingetragen und die Summe der Apnoen eines Tages wurde in das Tagesblatt übertragen. Eine Apnoe ist definiert als Atempause > 20 Sekunden mit oder ohne Bradykardie und Zyanose<sup>60</sup>, je nach Dauer ist oft eine Stimulation nötig.

Bradykardien wurde von den Schwestern in den Kurvenverlauf eingetragen und von uns wurde die Summe der Bradykardien eines Tages in das Tagesblatt übertragen. Eine Bradykardie ist definiert als Herzfrequenzabfall von < 100 /min und einer Dauer von > 10 Sekunden.<sup>60</sup>

### **Temperatur**

Die Inkubator- und die Körpertemperatur, die in Rückenlage interskapulär und in Bauchlage prähepatisch gemessen wurde, wurden kontinuierlich über den Tag aufgezeichnet und zum Zeitpunkt der Messung aufgeschrieben. Schwankungen der Inkubator- und der Körpertemperatur von 0,5 °C und mehr wurden jeden Tag notiert. Alle Patienten wurden während des ersten Lebensmonats in einem Inkubator versorgt, mit Ausnahme von Patient 22 (ab dem 24. Lebenstag) und von Patient 23 (ab dem 10. Lebenstag), die in einem ausgeschalteten Wärmebett untergebracht wurden. Außerdem wurde die Hauttemperatur an der Stelle der Messung jeden Tag mit der Temperaturmesssonde, mit der auch die Körpertemperatur gemessen wurde, bestimmt.

### **2.3.2 Laborparameter**

Venöse Blutabnahmen erfolgten zur Routine-Überwachung der Frühgeborenen. Abnahmen bei Kindern ohne Indikationen erfolgten in der Regel alle 3 Tage, um den Blutverlust so gering wie möglich zu halten.

Bei Infektionsverdacht wurden ein großes Blutbild und folgende Entzündungsparameter abgenommen: Il-6, CRP und Leukozyten. Ein kleines bzw. großes Blutbild wurde je nach Indikation alle 3-5 Tage bestimmt.

Folgende Parameter wurden auf dem Tagesblatt notiert:

Hämoglobinkonzentration [g/dl]

Hämatokrit [%]

Erythrozyten [Mio/ $\mu$ l]

Retikulozyten [%o Erys]

Leukozyten [ $10^3/\mu$ l]

korr. Leukozytenzahl [ $10^3/\mu$ l]

segmentkernige Granulozyten [ / $\mu$ l]

stabkernige Granulozyten [ / $\mu$ l]

neutrophile Granulozyten [ / $\mu$ l]

Interleukin-6 (Il-6) [ng/l]

C-reaktives Protein (CRP) [mg/dl]

### **2.3.3 Blutgasanalyse**

Kapillare Blutabnahmen erfolgten täglich bei Frühgeborenen in den ersten Lebenstagen, bei Beatmung oder einem schlechten Allgemeinzustand, ansonsten alle drei Tage. Die Werte wurden mit dem Blutgasanalysegerät (ABL-735, Radiometer GmbH, Kopenhagen) bestimmt. Indikationen waren außerdem die Überwachung einer Hypo- oder Hyperglykämie und die Überwachung einer respiratorischen Störung oder Beatmung.

Folgende Parameter wurden dokumentiert:

Blutzucker (BZ) [mg/dl]

pH-Wert (pH)

Standard Basenüberschuss

Hämoglobin [g/dl]

## 2.4 Orthogonale polarisierte spektrale Bildgebung (OPS Imaging)

Mit der orthogonalen polarisierten spektralen Bildgebung, auch OPS Imaging genannt, steht ein neues Untersuchungsverfahren zur Verfügung, das Veränderungen der Mikrozirkulation der Haut sichtbar macht. Diese neue Technik erlaubt eine nicht invasive Datenerhebung, da durch die Nutzung von reflektiertem Licht keine Farbstoffe zur Kontrastverstärkung benötigt werden. Die Grundlage des OPS Imaging ist die Lichtabsorption von Hämoglobin (Oxy- und Desoxyhämoglobin) zur Kontrastbildung.<sup>18, 23</sup>

Die Initialen „OPS“ geben die angegebenen Schritte der Technologie wieder: die Lichtquelle steht orthogonal (O) zur Abbildungsebene; sie erzeugt linear polarisiertes Licht (P), das von einer durch einen Spektralfilter (S) bestimmten Wellenlänge ist.<sup>66</sup>

### 2.4.1 Aufbau des Cytoscan™ A/R Geräts

Die OPS Imaging Technologie ist in einen kleinen und mobilen Apparat eingebaut, der sich mit einer Hand einfach bedienen lässt, wodurch die Messung in einem Inkubator problemlos durchzuführen ist. In **Abbildung 3** ist das Cytoscan™ A/R Gerät abgebildet.

Die Hauptbestandteile des Cytoscan™ A/R Geräts sind die OPS Imaging Sonde (Cytometrics, Inc., Philadelphia, PA, USA), eine externe Lichtquelle und die Basiseinheit. Die OPS Imaging Sonde ist mit der externen Lichtquelle über liquides Lichtleiterkabel (liquid light guide cable) verbunden. Die „Charge Coupled Device“ (CCD) Videokamera (Costar CV-M536 CCIR, JAI, Tokyo, Japan) steht über ein weiteres Kabel mit der Basisstation in Verbindung. Auf der Basis ist eine Halterung angebracht, in der die OPS Imaging Sonde sicher aufbewahrt werden kann.<sup>18, 36, 48</sup>





**Abbildung 3:** Aufbau des Cytoscan™ A/R Gerät: Das Cytoscan™ A/R besteht aus einer Basiseinheit (links) mit einer Haltevorrichtung für die OPS Imaging Sonde (Cytometrics, Inc., Philadelphia, PA, USA). Die Sonde ist mit einer externen Lichtquelle (rechts) verbunden. Diese Lichtquelle produziert weißes Licht, welches durch einen Polarisator in linear polarisiertes Licht einer Wellenlänge von 548 nm umgewandelt wird. Die Sondenspitze wird auf die Haut aufgesetzt und während der Messung durch eine sterile Schutzkappe geschützt.<sup>37</sup>

Die OPS Imaging Sonde ist mit einem x10 Objektiv ausgestattet. Zum Schutz der Sonde und um sterile Verhältnisse für den Patienten zu schaffen, wird eine sterile Plastikkappe (Cytolens™), die einmalig verwendet wird, über die OPS Imaging Sonde geschoben. Das Gerät und der Bildschirm (PVM-1442 QM, diagonal 33 cm, Sony, München, Deutschland) erreichen eine 450-fache Vergrößerung mit einer Auflösung von etwa 1 µm/Pixel. Die entstandenen Mikrozirkulationsbilder werden mit einem PAL-Videorecorder (Panasonic, Video Cassette Recorder AG-7350, Osaka, Japan) für die spätere offline Auswertung mit dem Computer auf S-VHS

Videokassetten (Fuji) aufgezeichnet. In **Abbildung 4** im Anhang ist der Aufbau des Cytoscan™ A/R Geräts mit Bildschirm und Videorecorder dargestellt.<sup>18, 36, 48</sup>

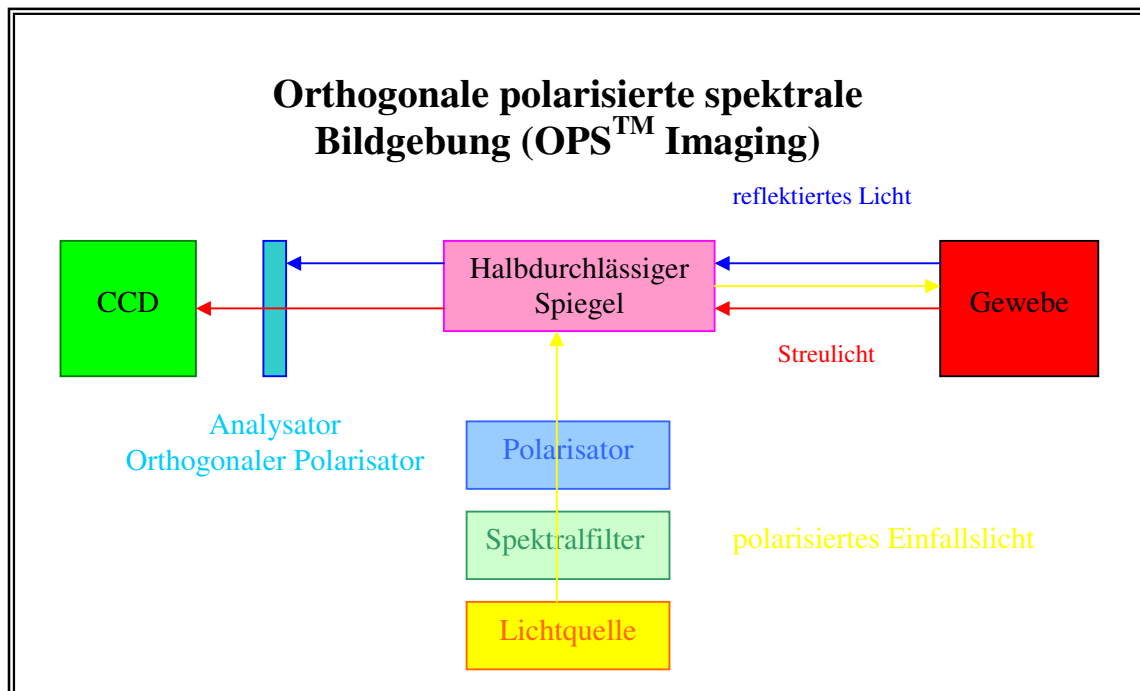
#### 2.4.2 Funktionsprinzip des OPS Imaging

Weißes Licht der externen Lichtquelle wird gesammelt und durch einen Spektralfilter geschickt, um Licht mit einer bestimmten Wellenlänge (548 nm) zu isolieren und linear zu polarisieren. Die Wellenlänge von 548 nm wurde als Kompromiss zwischen der maximalen Lichtabsorption des Hämoglobins bei 420 nm und der optimalen Eindringtiefe des Lichts in das Gewebe bei 810 nm ausgewählt.<sup>16, 18, 36, 48</sup>

Das polarisierte Licht wird nun über einen halbdurchlässigen Spiegel (= „beam splitter“) auf das zu untersuchende Gewebe projiziert. Eine Objektivlinse fokussiert das Licht auf eine Fläche von ungefähr 1 mm im Durchmesser. Das auf das Gewebe fallende Licht wird zum Teil an der Oberfläche reflektiert und zum Teil im Gewebe gestreut und depolarisiert. Das zur Bildgebung beitragende depolarisierte Licht wird dann von derselben Objektivlinse gesammelt und an die „Charge Coupled Device“ (CCD) Videokamera weitergeleitet. Die hämoglobintragenden Erythrozyten absorbieren das Licht und kontrastieren so die Gefäße der Mikrozirkulation.<sup>16, 18, 36, 48</sup> Das an der Oberfläche reflektierte Licht trägt nicht zur Bildgebung bei und wird von einem zweiten Polarisator (Analysator) abgefiltert. Dieser Analysator ist exakt orthogonal (im 90° Winkel) zum ersten Polarisator angeordnet und befindet sich direkt vor der Kamera. Er eliminiert direkt reflektiertes Licht, da es seine Polarisation nicht ändert.

Um eine Depolarisation zu erreichen, wird mindestens eine 10fache Streuung des Lichts benötigt. Es entsteht eine virtuelle Lichtquelle relativ tief im Gewebe (> als die 10fache Länge der einzelnen Streuungsereignisse), die eine Art Hintergrundbeleuchtung darstellt und so das Gewebe im Vordergrund von hinten beleuchtet. Die Eindringtiefe beträgt im Tierversuch ungefähr 1 mm und in vivo circa 0,2 mm.<sup>16, 18, 36, 48</sup>

In **Abbildung 5** ist das Funktionsprinzip von OPS Imaging dargestellt.



**Abbildung 5:** Funktionsprinzip von OPS Imaging.<sup>18</sup>

### 2.4.3 Durchführung der Messung mittels OPS Imaging

Als Messort wurde die Haut der Oberarminnenseite in der Nähe der Axilla ausgewählt, da hier die besten Aufnahmen entstanden. Bei Frühgeborenen sind viele Bereiche der Haut, besonders die Stirn und die Schläfen, mit Lanugobehaarung bedeckt, wodurch die Aufzeichnung von geeigneten Bildern deutlich erschwert wurde. Andere Stellen wie zum Beispiel das Abdomen oder der Thorax waren aufgrund der Bewegungsartefakte, die durch die Atmung entstanden, und der stärkeren Berührungsempfindlichkeit ungeeignet.<sup>9, 16</sup> Mit der Messung wurde begonnen, wenn das Kind zur Ruhe gekommen oder eingeschlafen war. Die Messdauer variierte zwischen 5 und 30 Minuten, abhängig von der Qualität der Bilder. Die Messdauer entsprach hierbei der Aufzeichnungsdauer, wobei die auszuwertenden Sequenzen später offline herausgesucht wurden. Die Auswertung des Bildmaterials erfolgte unter Verblindung.

Die Messsonde, welche die Größe eines Kugelschreibers aufweist, wurde mit möglichst wenig Druck auf der Haut platziert. Durch zuviel Druck auf die Haut kann es zur Verlangsamung der Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten bis hin zur

Blutstase kommen. Mit Hilfe von Übung und Erfahrung im Umgang mit der Messsonde kann der Druck minimiert und druckbedingte Artefakte erkannt werden. Der Kontakt zwischen der Sonde und der Haut konnte des Weiteren durch 0,9prozentige Natriumchloridlösung verbessert werden, wodurch die Qualität der Bilder optimiert wurde.<sup>9, 16</sup>

Um keimfreies Arbeiten zu ermöglichen und die Übertragung von Erregern von einem auf den anderen Patienten zu vermeiden, ist die Sonde durch eine sterile Plastikhülle (Cytolens™) geschützt. Das Gerät und die Verbindungskabel wurden vor und nach jeder Untersuchung mit einer Alkohol-Lösung desinfiziert. Bei Auftreten von Keimen wie z. B. Adenoviren wurde die Kamera zusätzlich in einen Handschuh verpackt und die Untersucher trugen während der gesamten Messung Handschuhe.

**Abbildung 6** zeigt den typischen Aufbau einer Messung mit OPS Imaging bei einem 14 Tage alten Frühgeborenen.



**Abbildung 6:** Darstellung eines typischen Aufbaus einer Messung mit OPS Imaging bei einem 14 Tage alten Frühgeborenen mit einem Gewicht von 948 g (Gestationsalter: 28 + 6. SSW, Geburtsgewicht: 780 g)

#### **2.4.4 Mikrozirkulatorische Parameter**

In unserer Studie wurden 3 Parameter gemessen, um den Zustand und die Veränderung der Mikrozirkulation zu dokumentieren: die Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel), die funktionelle Kapillardichte (FCD) und der Gefäßdurchmesser (Diam).

##### **Funktionelle Kapillardichte (FCD)**

Die funktionelle Kapillardichte ist definiert als die Gesamtlänge der perfundierten Kapillaren pro Beobachtungsareal und hat die Einheit cm/cm<sup>2</sup>. Sie wurde von jedem Patienten einmal am Tag erhoben. Zur Bestimmung der FCD wurde bei jeder Messung ein gleich großes Fenster (= ROI) ausgewählt, um das Beobachtungsareal immer in der gleichen Größe zu erhalten und so eine Standardisierung zu erreichen.

31, 51, 73

Der Begriff funktionelle Kapillardichte (FCD) bezieht sich hier auf die Gesamtheit aller Gefäße in einem bestimmten Beobachtungsareal, da die Gefäße bei Frühgeborenen sehr klein sind. Arteriolen, Kapillaren und Venolen können bei Frühgeborenen nicht exakt voneinander abgegrenzt werden.<sup>16, 17</sup>

##### **Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel)**

Die Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit ist definiert als die Geschwindigkeit, mit der Erythrozyten ein Gefäß durchfließen. Die Fliessgeschwindigkeit des Blutes zeigt eine parabolische Verteilung. Der zentrale Gefäßstrom weist höhere Fliessgeschwindigkeiten auf, als endothelnah. Um hier Fehlerquellen zu vermeiden wurde die Fliessgeschwindigkeit zentral im Gefäß gemessen und der Mittelwert in µm/s berechnet.<sup>72</sup>

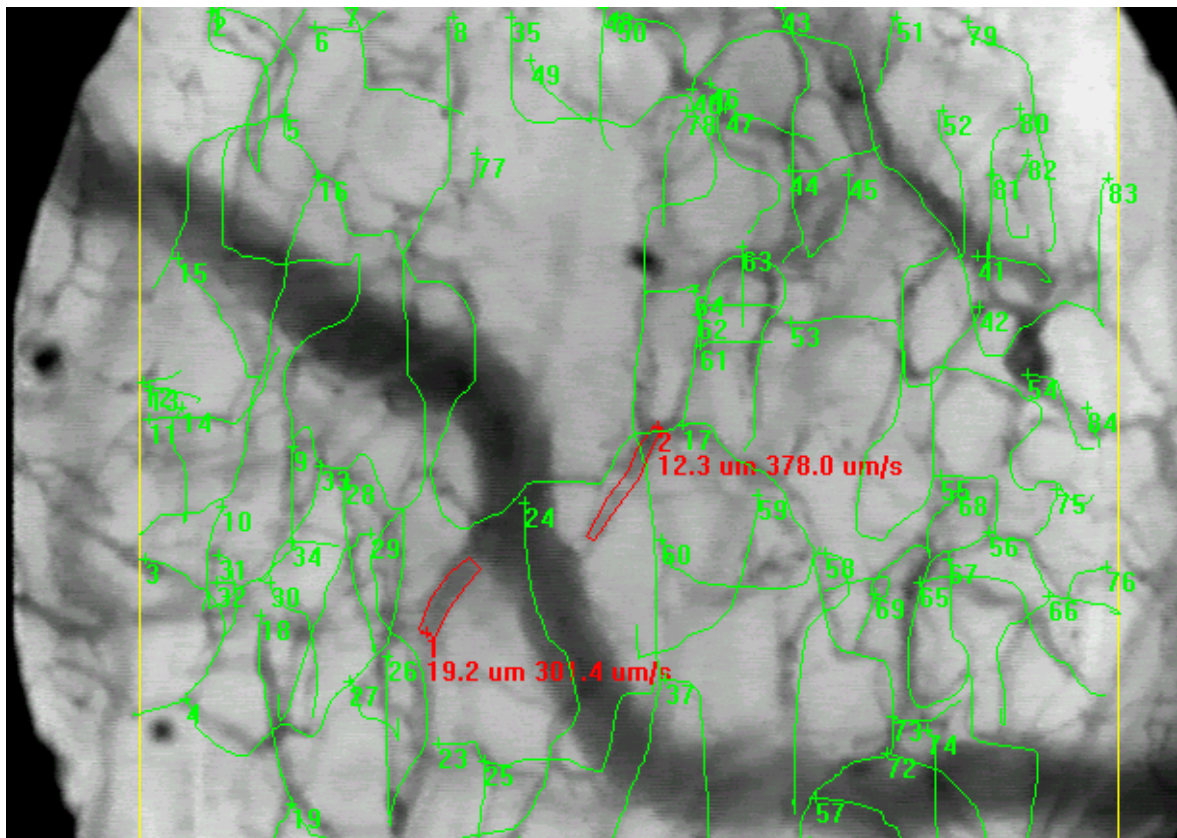
Die RBC vel wurde in Gefäßen mit einem Durchmesser zwischen 7 und 24 µm bestimmt. Es wurden mindestens drei Gefäße ausgewählt, in denen die RBC vel bestimmt und aus den Ergebnissen dann ein Mittelwert errechnet wurde.

##### **Gefäßdurchmesser (Diam)**

Der Gefäßdurchmesser ist definiert als der Abstand zwischen den zwei Endothelwänden, die das Gefäß begrenzen. Wir bestimmten den Gefäßdurchmesser von postkapillären Venolen und Kapillaren, weil Arteriolen kaum darstellbar waren.

Es wurden Gefäßdurchmesser zwischen 6 und 24  $\mu\text{m}$  berechnet. Die Gefäßdurchmesser sind Mittelwerte, die sich aus den Gefäßen ergaben, in denen die RBC vel bestimmt wurde.<sup>16, 18, 23</sup>

**Abbildung 7** zeigt ein typisches OPS Imaging Bild der Mikrozirkulation eines Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von 28 Wochen am 5. Lebenstag. Die Messung erfolgte an der rechten Oberarminnenseite in der Nähe der Axilla.



**Abbildung 7:** Messung der Mikrozirkulation bei einem Frühgeborenen. Darstellung von Diam (rot), RBC vel (rot), FCD (grün) und ROI (gelb).

## 2.5 Videobildanalyseesystem CapiScope

Zur Auswertung der Mikrozirkulationssequenzen wurde das Videobildanalyseesystem CapiScope verwendet.

### **2.5.1 Hardware-Konfiguration**

Das CapiScope Bildanalyse-System setzt sich zusammen aus einem IBM-kompatiblen Computer, der mit einer Bildverarbeitungskarte ausgestattet ist, einem PAL-Videorecorder (Panasonic, Video Cassette Recorder AG-7350, Osaka, Japan) als Bildquelle und einem Monitor (PVM-1442 QM, diagonal 33 cm, Sony, München, Deutschland) zur Anzeige der zu bearbeitenden Videobilder. Die Sequenzen werden in Echtzeit digitalisiert und können mit der Tastatur und der Mouse des Computers bearbeitet werden.<sup>33</sup>

### **2.5.2 Software-Konfiguration**

Das CapiScope Bildanalyse-System macht eine einfache und unkomplizierte Auswertung kapillarmikroskopischer Befunde möglich. Bilder können eingefroren und abgespeichert werden. Zuerst werden geeignete Bildsequenzen, die arm an Bewegungsartefakten und Störfaktoren, wie zum Beispiel Lanugohaare, Hautfalten und Luftblasen, sind, ausgewählt und auf den Computer überspielt. Diese Sequenzen müssen eine von CapiScope vorgegebene Dauer von 10 Sekunden haben. Der Kontrast und die Helligkeit des Eingabebildes können mittels einer Kontrollleiste (Video Input) optimiert werden.<sup>31</sup>

#### **Funktionelle Kapillardichte (FCD)**

In einem von uns vorher definiertem Fenster (ROI) werden die perfundierten Kapillaren am Standbild mit der Mouse nachgezeichnet. Um alle Kapillaren zu erfassen, wird die Videosequenz mehrmals abgespielt, wodurch die Fehler minimiert werden, nicht perfundierte Kapillaren nachzuzeichnen und perfundierte Kapillaren zu übersehen. Die Gesamtlänge der Kapillaren, dividiert durch die Fensterfläche, ergibt die funktionelle Kapillardichte in  $\text{cm}/\text{cm}^2$ .<sup>31, 51</sup>

#### **Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel)**

Zur Messung der Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit wird die Spatial-Korrelation-Methode verwendet. Mit der Mouse wird eine gerade oder beliebig gekrümmte Messlinie entlang dem Blutgefäß in Flussrichtung gezeichnet. Es besteht die



Möglichkeit, mehrere Messlinien zu zeichnen und somit an mehreren Stellen gleichzeitig die Geschwindigkeit zu messen. Die Messung wird bei geraden Gefäßen und längeren Messlinien genauer. Das Grauwertprofil (grey level profil) wird für jedes Feld jede 1/50 Sekunde entlang der Messlinie bestimmt. Das Bitmuster des Grauwertprofils eines Feldes wird mit dem Grauwertprofil des darauf folgenden Feldes verglichen. Dieser Vergleich wird mit dem Korrelationskoeffizienten für jede mögliche Veränderung des vorangegangenen Grauwertprofils in Relation zum nächsten Profil berechnet. CapiScope stellt die Korrelation in einer farbigen Grafik (linescan) dar. Die Farbskala reicht von rot bis blau, wobei rot für eine hohe Korrelation und blau für eine niedrige Korrelation steht. Die Geschwindigkeit wird in  $\mu\text{m/s}$  angegeben. Bewegungsartefakte wurden ausgeschaltet, indem wir ruhige Aufnahmen für die Auswertung auswählten und zusätzlich mit der automatischen Bewegungskorrektur (Automatic Movement Correction) jegliche Bewegung der gesamten Sequenz überarbeiteten. Die maximale Geschwindigkeit ist durch die Standardvideoausrüstung auf 2 mm/s beschränkt.<sup>23, 31, 33, 43</sup>

### **Gefäßdurchmesser (Diam)**

In der Bildsequenz werden Gefäße ausgewählt und mit der Mouse eine perpendikuläre Linie zwischen den zwei begrenzenden Endothelwänden gezogen. CapiScope bestimmt das Grauwertprofil und berechnet den Durchmesser des Gefäßes.<sup>31</sup>

## **2.6 Statistik**

Die statistische Auswertung erfolgte mit „GraphPad Prism“ (Version 4, GraphPad Software Inc. San Diego CA, 2003). Die Daten wurden jeden Tag erhoben. Für alle Daten wurden Mittelwert und Standardabweichung berechnet und es wurde überprüft, ob die Daten normalverteilt waren oder nicht.

Für jeden Patient wurde pro Tag die funktionelle Kapillardichte (FCD) einmal bestimmt und aus dieser Sequenz die Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel) und der Gefäßdurchmesser (Diam) dreimal bestimmt. Signifikante Unterschiede wurden bei mehrfach ausgeführten t-Tests bei  $p < 0,01$ , ansonsten bei  $p < 0,05$



angenommen. Als hoch signifikant wurde ein Signifikanzniveau von  $p < 0,001$  gewertet.

Bei Normalverteilung wurde der abhängige t-Test eingesetzt, hier wurden die Daten des siebten, vierzehnten, einundzwanzigsten und achtundzwanzigsten Lebensstages miteinander verglichen. Aufgrund der großen intra- und interindividuellen Varianz bei der funktionellen Kapillardichte (FCD) und der Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel) wurde, um den siebten Lebensstag darzustellen, Mittelwerte vom sechsten, siebten und achten Lebensstag berechnet. Mit dem vierzehnten, einundzwanzigsten und achtundzwanzigsten Lebensstag wurde gleichermaßen verfahren. Bei fehlender Normalverteilung wurde für die vergleichende Statistik der Vorzeichenrangtest von Wilcoxon verwendet.

Des Weiteren wurden sehr früh geborene Kinder (< 26. Woche Gestationsalter, Gruppe 1) und später geborene Frühgeborene (> 28. Woche Gestationsalter, Gruppe 2) unterschieden. Diese zwei Gruppen wurden mit dem unabhängigen t-Test verglichen.

Außerdem wurden die Daten auf Korrelationen untersucht. Bei einer linearen Beziehung wurde die Stärke des Zusammenhangs durch den Korrelationskoeffizienten  $r$  nach Pearson quantifiziert. Wenn das beobachtete Verhältnis nicht linear war, wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman verwendet.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Klinische Daten am ersten Lebenstag

Die Studiengruppe umfasst 25 Patienten mit einem mittleren Gestationsalter von 28 Wochen, von denen alle den ersten Lebensmonat überlebt haben. Das Geburtsgewicht betrug im Mittel 900 g. In **Tabelle 3** sind Geschlecht, Gestationsalter, Geburtsgewicht, Geburtslänge, Kopfumfang bei der Geburt und Erstdiagnose aufgeführt. Am häufigsten traten die Diagnosen Atemnotsyndrom (ANS), Amnioninfektionssyndrom (AIS) und respiratorische Adaptationsstörung auf.

	Einheit	Patienten (n = 25)	Minimum	Maximum
<b>Geschlecht weiblich</b>	n	12		
<b>männlich</b>	n	13		
<b>Gestationsalter</b>	Wochen	28	23,9	29,6
<b>Geburtsgewicht</b>	g	900 ± 223	570	1488
<b>Geburtslänge</b>	cm	34,1 ± 2,9	28,5	40
<b>Kopfumfang</b>	cm	24,6 ± 0,4	20	28,5
<b>Erstdiagnose:</b>	n			
Amnioninfektionssyndrom		11		
Atemnotsyndrom		10		
Extreme Unreife		6		
Respiratorische Adaptationsstörung		6		
SGA		3		
LGA		1		
Arterielle Hypotonie		2		
Fetofetales Transfusionssyndrom		1		
V.a. Schädigung durch vorzeitigen				
Blasensprung		1		
Sepsis durch E.coli		1		
Neugeborenenensepsis		1		
DIC		1		

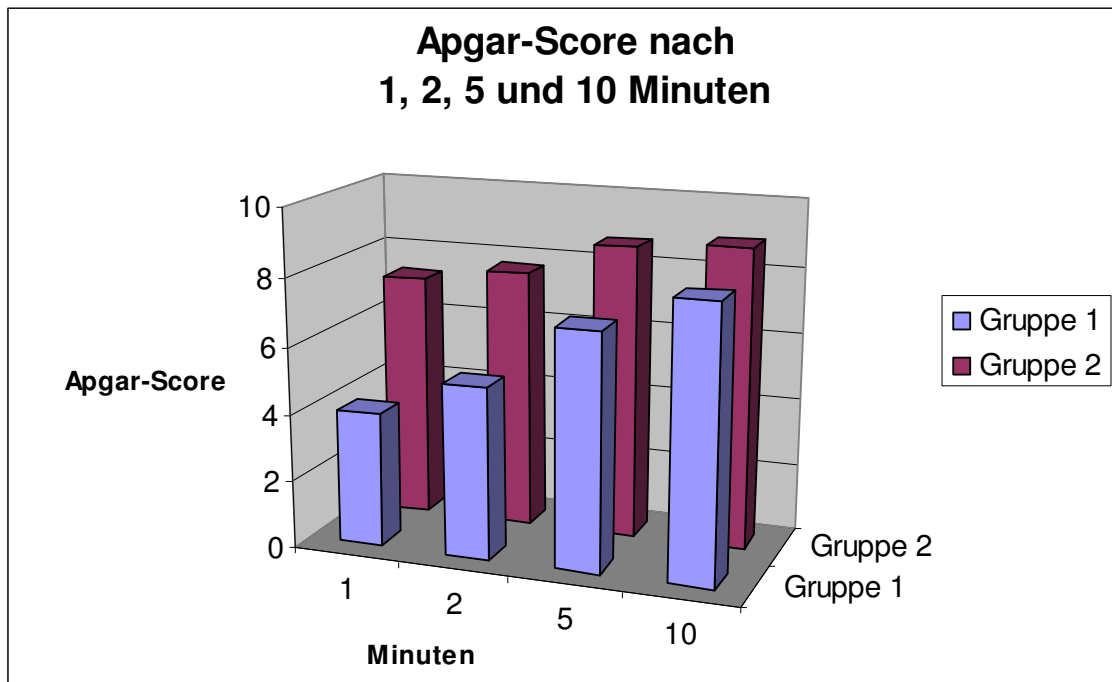
Glanduläre Hypospadie		1		
Atelektase		1		

**Tabelle 3: Klinische Daten der 25 Patienten nach der Geburt.** Angaben in Mittelwerten  $\pm$  Standardabweichung (bei Normalverteilung) oder Median (bei fehlender Normalverteilung), Minimum und Maximum.

Wir unterschieden Frühgeborenen mit einem Gestationsalter  $< 26+0$ . SSW (= Gruppe 1,  $n = 7$ ) von Frühgeborenen mit einem Gestationsalter  $> 28+2$ . SSW und  $< 30+0$ . SSW (= Gruppe 2,  $n = 7$ ) (siehe auch **Tabelle 4** im Anhang). Diese zwei Gruppen wurden innerhalb unseres Patientenkollektiv gewählt, um innerhalb der Studie zwischen sehr früh geborenen Neugeborenen und Frühgeborenen zu unterscheiden. Die Gruppe der Frühgeborenen zwischen der 26. SSW und der 28. SSW wurde bei diesem Vergleich außer Acht gelassen.

Für jedes Kind ist der Apgar-Score nach 1, 2, 5 und 10 Minuten nach der Geburt erhoben und dokumentiert worden. In **Tabelle 4** im Anhang ist der Apgar-Score jedes Frühgeborenen mit dem Gestationsalter aufgeführt. Der niedrigste Apgar-Score betrug nach einer Minute 0, der höchste 9, nach 10 Minuten hatten alle Patienten einen Score zwischen 6 und 10.

Gruppe 1 wurde mit Gruppe 2 verglichen (**Diagramm 1**). Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen dem Apgar-Score nach 1 Minute von Gruppe 1 und Gruppe 2 ( $p = 0,0016$ ) und zwischen dem Apgar-Score nach 2 Minuten von Gruppe 1 und Gruppe 2 ( $p = 0,0086$ ) nachgewiesen werden. Der Vergleich des Apgar-Scores nach 5 und 10 Minuten von Gruppe 1 und 2 hat keine signifikanten Unterschiede ergeben.



**Diagramm 1:** Darstellung des Apgar-Scores von Gruppe 1 (blau) und Gruppe 2 (lila) nach 1, 2, 5 und 10 Minuten.

### 3.2 Klinische Parameter im ersten Lebensmonat

Um den Verlauf des ersten Lebensmonats der 25 Patienten zu beschreiben, wurden die klinischen Daten von Lebenstag 7, 14, 21 und 28 ausgewählt und in **Tabelle 5** im Anhang aufgeführt. Das Körpergewicht der 25 Patienten war im Durchschnitt  $971,8 \pm 122,8$  g und bewegte sich im ersten Lebensmonat zwischen 503 und 1990 g.

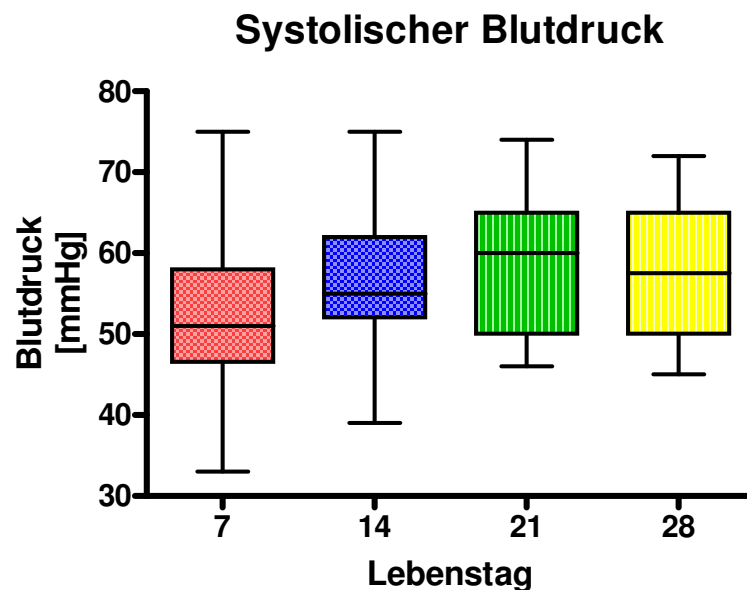
19 Patienten wurden beatmet. Der maximale Beatmungsdruck (PIP) hatte einen Median von  $14,6 \pm 2,4$  cmH<sub>2</sub>O und bewegte sich zwischen 7 und 23 cmH<sub>2</sub>O, der Druck im Tubus am Ende der Expiration (PEEP) hatte einen Median von  $4,2 \pm 0,4$  cmH<sub>2</sub>O und bewegte sich zwischen 2,4 und 7 cmH<sub>2</sub>O.

#### Blutdruck

Der systolische Blutdruck betrug im Durchschnitt  $57,7 \pm 2,8$  mmHg und reichte von 33 bis 90 mmHg, der diastolische Blutdruck  $34,2 \pm 2,0$  mmHg und reichte von 16 bis 62 mmHg und der mittlere arterielle Blutdruck  $42,8 \pm 2,5$  und reichte von 26 bis 69

mmHg. Der Blutdruck zeigte keine signifikanten Veränderungen im Verlauf des ersten Lebensmonats.

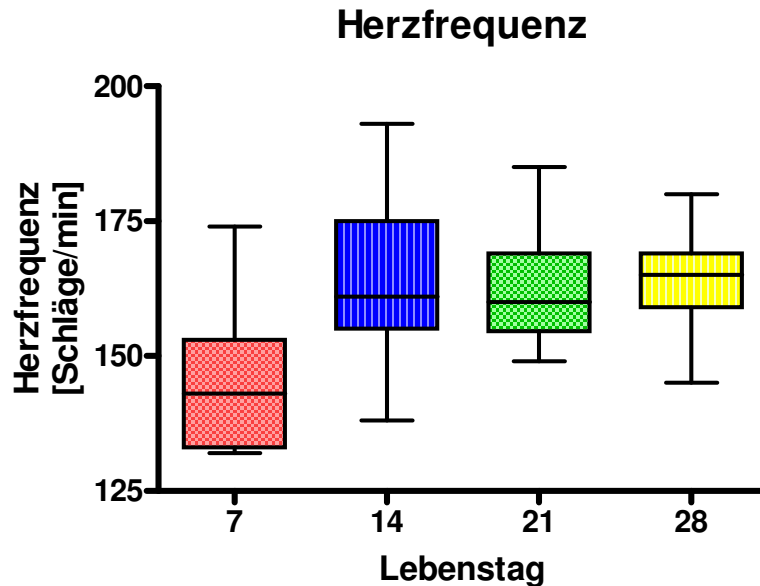
Der systolische Blutdruck nahm über den ersten Lebensmonat zu und korrelierte positiv mit dem Lebensalter mit  $r = 0,5528$ ,  $r^2 = 0,3056$  und  $p = 0,0028$ . Der diastolische Blutdruck und der mittlere arterielle Blutdruck zeigten keine signifikante Korrelation (**Diagramm 2**).



**Diagramm 2:** Darstellung des systolischen Blutdrucks an Lebenstag 7, 14, 21 und 28, Angaben in Mittelwerten.

### Herzfrequenz

Die Herzfrequenz lag durchschnittlich bei  $160 \pm 5,5$  Schläge/min und erstreckte sich von 126 bis 198 Schläge/min. Sie nahm während des ersten Lebensmonats zu und zeigte eine positive Korrelation mit  $r = 0,6971$ ,  $r^2 = 0,4860$  und  $p < 0,0001$  (**Diagramm 3**).



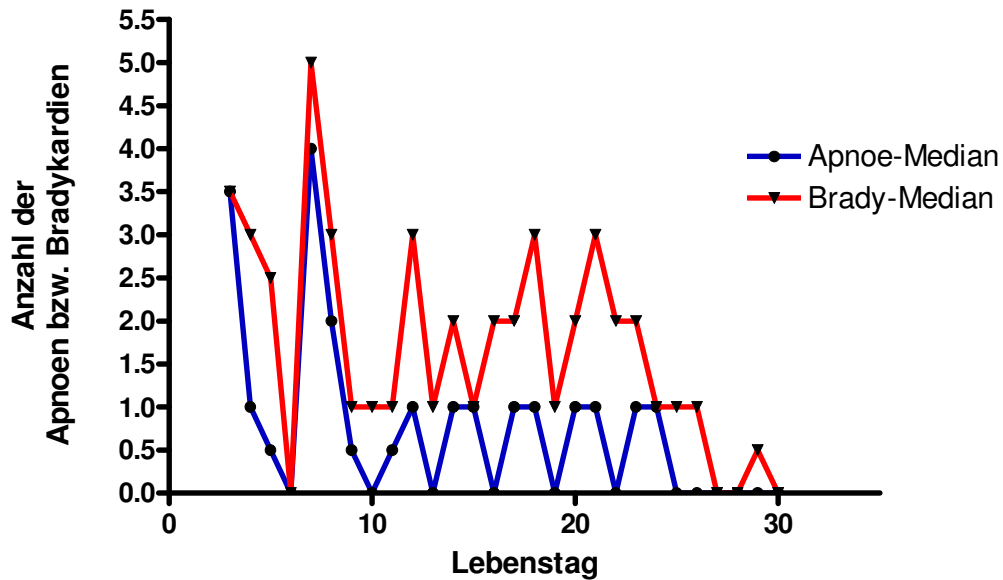
**Diagramm 3:** Darstellung der Herzfrequenz an Lebenstag 7, 14, 21 und 28, Angaben in Mittelwerten.

### Apnoen und Bradykardien

Bei den Frühgeborenen traten im Mittel  $0,75 \pm 1,0$  **Apnoen** und  $1,7 \pm 1,2$  **Bradykardien** pro Tag auf mit jeweils einem Minimum von 0 und einem Maximum von 22. Von insgesamt 25 Patienten wurden 19 beatmet. Bei dem Vergleich von Lebenstag 21 und 28 zeigte sich eine signifikante Abnahme der Bradykardien von  $3 \pm 4,5$  auf  $0 \pm 2,6$  mit  $p = 0,0068$ .

Apnoen und Bradykardien korrelierten jeweils negativ mit dem Lebensalter. Die Apnoen haben ein Korrelation mit  $r = -0,46$  und  $p = 0,0135$ , die Bradykardien mit  $r = -0,54$  und  $p = 0,0033$ . In **Diagramm 4** ist die Korrelation von Apnoen und Bradykardien in Bezug auf die Lebenstage graphisch dargestellt.

### Korrelation: Apnoen bzw. Bradykardien zu Lebensstag



**Diagramm 4:** Darstellung der Anzahl von Apnoen (blau) und Bradykardien (rot) pro Tag bezogen auf das Lebensalter in Tagen, Angaben im Median.

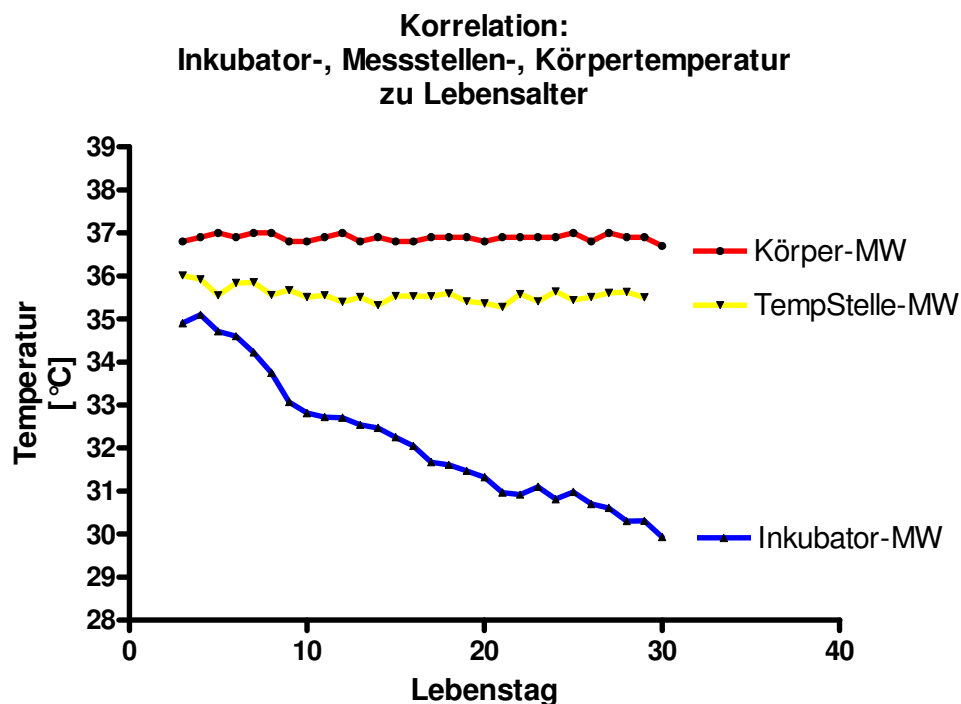
### Temperatur

Die Körpertemperatur der Frühgeborenen betrug im Mittel  $36,9 \pm 0,1$  °C bei einer Inkubortemperatur von  $32,2 \pm 1,5$  °C und reichte von 36,1 bis 37,9 °C. Die Inkubortemperatur hatte ein Minimum von 28,6 °C und ein Maximum von 37,5 °C. Die Inkubortemperatur wurde im Verlauf des ersten Lebensmonats signifikant von  $34,2 \pm 1,8$  °C (7. Lebensstag) auf  $30,3 \pm 0,9$  °C (28. Lebensstag) mit  $p = 0,0002$  reduziert.

Die Körpertemperatur der Frühgeborenen zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen Lebensstag 7, 14, 21 und 28. Es bestand keine Korrelation mit dem Lebensalter (**Diagramm 5**). Ein signifikanter Unterschied mit  $p = 0,0001$  kann zwischen den Gruppen 1 und 2 nachgewiesen werden. Die Körpertemperatur der Frühgeborenen der Gruppe 2 lag signifikant über der Körpertemperatur von Frühgeborenen der Gruppe 1 (**Diagramm 6**).

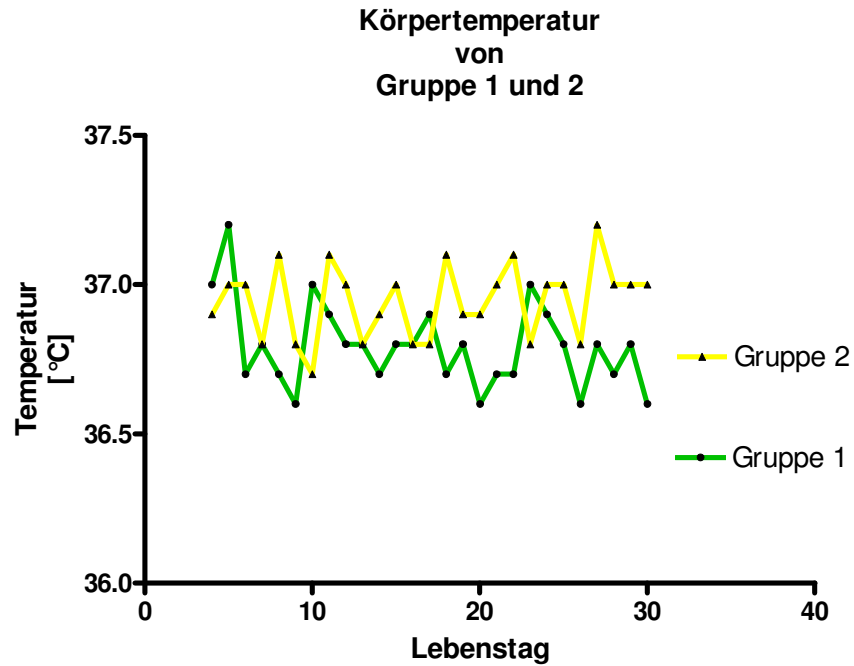
Die Inkubator-temperatur zeigte signifikante Unterschiede im Vergleich von Lebenstag 7 mit Lebenstag 14 ( $p = 0,0066$ ), 21 ( $p = 0,0002$ ) und 28 ( $p = 0,0002$ ). Außerdem korrelierte sie negativ mit dem Lebensalter mit  $r = -0,9742$ ,  $r^2 = 0,9491$  und  $p < 0,0001$  (**Diagramm 5**). Sie wurde pro Tag im Durchschnitt um  $0,2 \text{ } ^\circ\text{C}$  reduziert. Die Inkubator-temperatur von Gruppe 1 liegt signifikant mit  $p = 0,0111$  höher als die von Gruppe 2 und ist in **Diagramm 7** graphisch dargestellt.

Der Verlauf der Temperatur des Messortes ist in **Diagramm 5** dargestellt. Die Temperatur der Messstelle der Frühgeborenen betrug im Mittel  $35,7 \pm 0,2 \text{ } ^\circ\text{C}$  mit einem Minimum von  $35,3 \text{ } ^\circ\text{C}$  und einem Maximum von  $36,0 \text{ } ^\circ\text{C}$ . Sie korrelierte mit dem Lebensalter mit  $r = -0,5119$ ,  $r^2 = 0,2620$  und  $p = 0,0063$ . Die Temperatur an der Stelle der Messung sank im Verlauf des ersten Lebensmonats im Mittel von  $36,0 \text{ } ^\circ\text{C}$  auf  $35,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ , d. h. um ungefähr  $0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ .

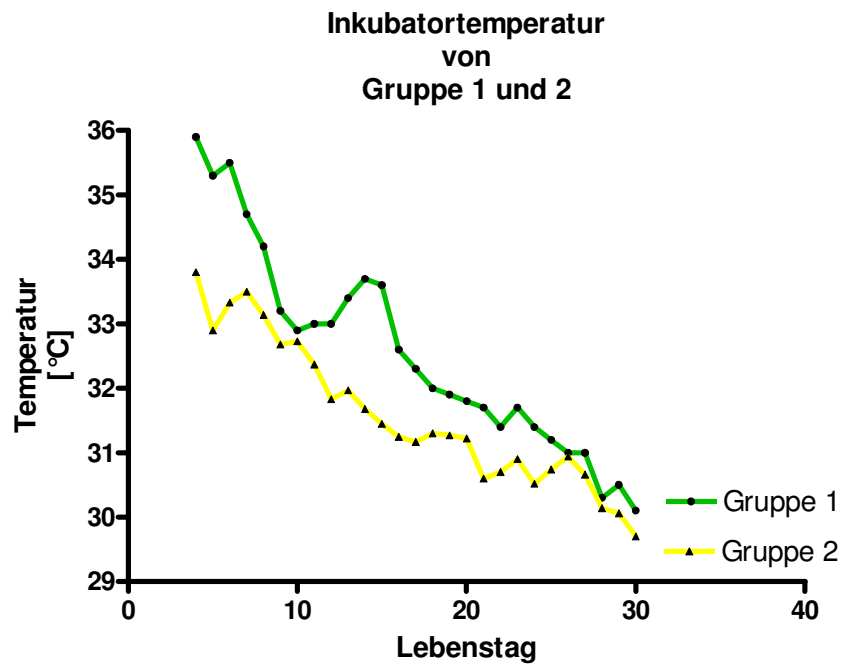


**Diagramm 5:** Darstellung der Korrelation von Inkubator- (blau), Messstellen- (gelb) und Körpertemperatur (rot) zu Lebensalter, Angaben in Mittelwerten.





**Diagramm 6:** Darstellung der Körpertemperatur von Gruppe 1 (grün) und Gruppe 2 (gelb), Angaben in Mittelwerten,  $p = 0,0001$ .



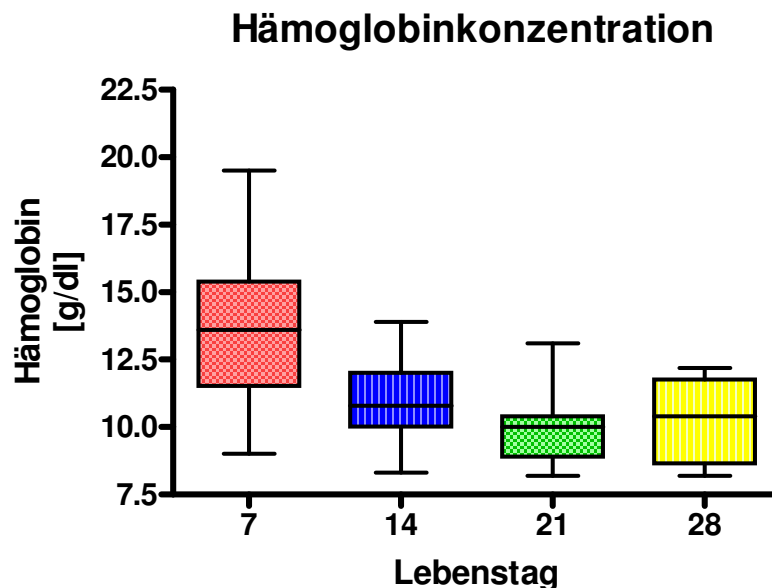
**Diagramm 7:** Darstellung der Inkubator Temperatur von Gruppe 1 (grün) und 2 (gelb) in Bezug auf das Lebensalter, Angaben in Mittelwerten.

### 3.3 Laborparameter

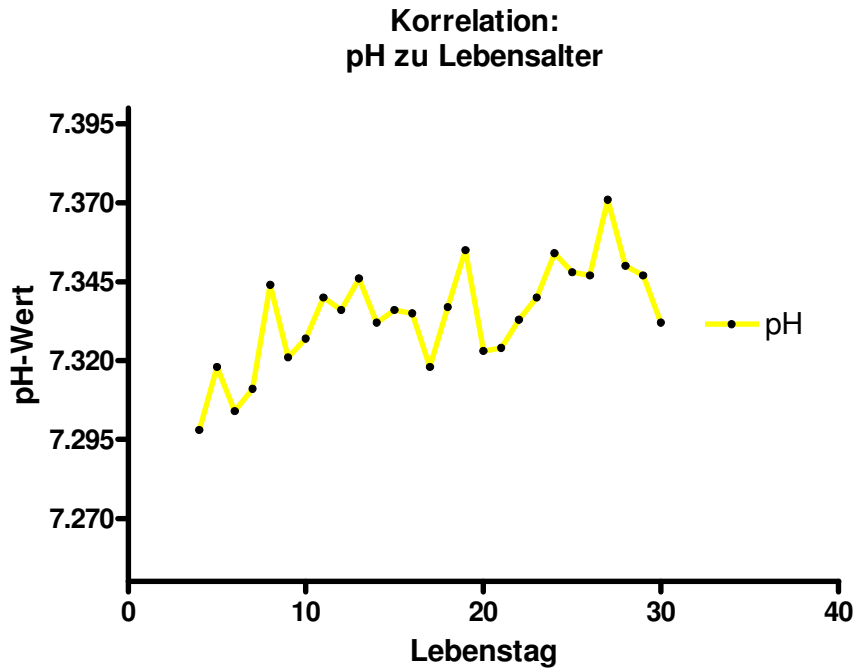
Die Hämoglobinkonzentration hatte einen Mittelwert von  $11,3 \pm 1,3$  g/dl mit einem Minimum von 7,8 g/dl und einem Maximum von 19,5 g/dl. Der Vergleich der Hämoglobinkonzentrationen von Tag 7 ( $13,55 \pm 2,99$  g/dl) und Tag 14 ( $10,98 \pm 1,46$  g/dl) ergab einen signifikanten Unterschied mit  $p = 0,0039$ . Die Hämoglobinkonzentration fiel somit um 19 % von Tag 7 auf Tag 14. In **Diagramm 8** ist die negative Korrelation von der Hämoglobinkonzentration zum Lebensalter mit  $r = -0,8183$ ,  $r^2 = 0,6697$  und  $p < 0,0001$  dargestellt.

Der pH-Wert lag zwischen 7,08 und 7,58 mit einem Mittelwert von  $7,33 \pm 0,02$ . Der pH-Wert und das Lebensalter korrelieren positiv miteinander mit  $r = 0,6602$ ,  $r^2 = 0,4358$  und  $p = 0,0002$  (**Diagramm 9**). Der Blutzucker betrug durchschnittlich  $108,4 \pm 11,3$  mit einem Intervall von 47 bis 286. **Diagramm 10** stellt die Korrelation von Blutzuckerkonzentration und Lebensalter dar. Sie korrelierten negativ mit  $r = -0,7028$ ,  $r^2 = 0,4939$  und  $p < 0,0001$ .

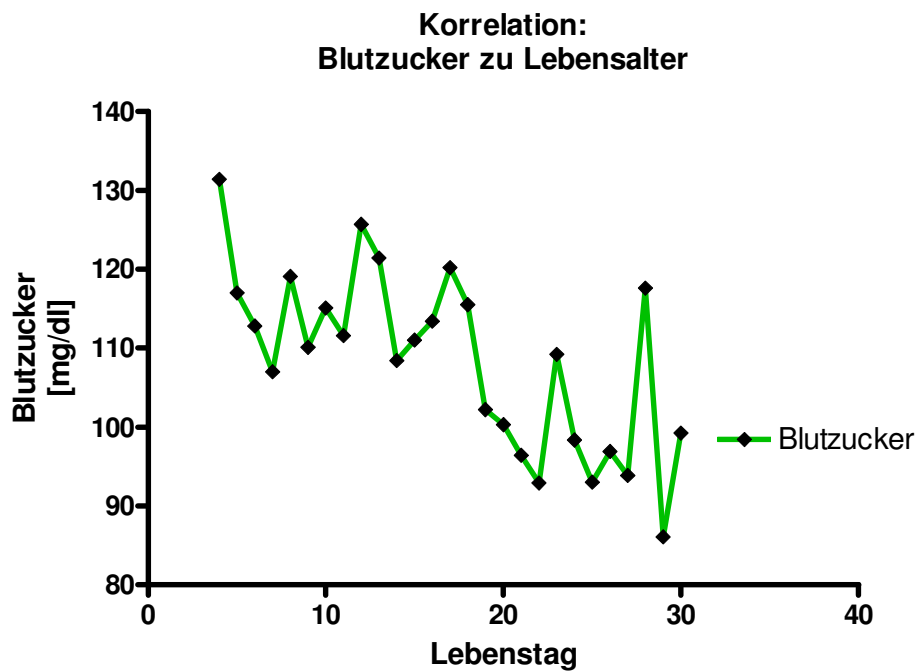
In **Tabelle 6** im Anhang sind die Laborparameter Hämoglobinkonzentration, pH-Wert und Blutzucker an Tag 7, 14, 21 und 28 dargestellt.



**Diagramm 8:** Darstellung der Hämoglobinkonzentration an Lebenstag 7, 14, 21 und 28, Angaben in Mittelwerten.



**Diagramm 9:** Korrelation von pH-Wert und Lebensalter mit  $r = 0,6602$ ,  $r^2 = 0,4358$  und  $p = 0,0002$ , Angaben in Mittelwerten.



**Diagramm 10:** Korrelation von Blutzucker und Lebensalter mit  $r = -0,7028$ ,  $r^2 = 0,4939$  und  $p < 0,0001$ , Angaben in Mittelwerten.

### 3.4 Erkrankungen und medikamentöse Therapie

Im Zeitraum der Studie traten 26 Infektionen auf, wovon 17 Infektionen als echte Infektionen bezeichnet wurden, da sie mit einem erhöhtem C-reaktivem Protein (CRP) oder Interleukin-6 (Il-6) einhergingen, und 9 als unechte, da nur das klinische Bild des Patienten und nicht die Entzündungsparameter auf eine Infektion hinwiesen. 19 Patienten wurden einmal mit Antibiotika therapiert, drei Patienten zweimal und bei einem Patienten dreimal. Drei Patienten erhielten keine Antibiotikatherapie im ersten Lebensmonat. Die am häufigsten verabreichten Antibiotika waren Vancomycin, Ceftazidim und Ampicillin.

7 Patienten wurden aufgrund eines persistierenden Ductus arteriosus (PDA) mit Indomethacin behandelt. 6 Patienten erhielten Erythrozytenkonzentrate. 2 Patienten wurden aufgrund von Hypotension mit Dopamin und/oder Dobutamin behandelt. 4 Patienten erhielten Lasix. 18 Patienten wurden mit Koffein behandelt.

### 3.5 Mikrozirkulatorische Parameter

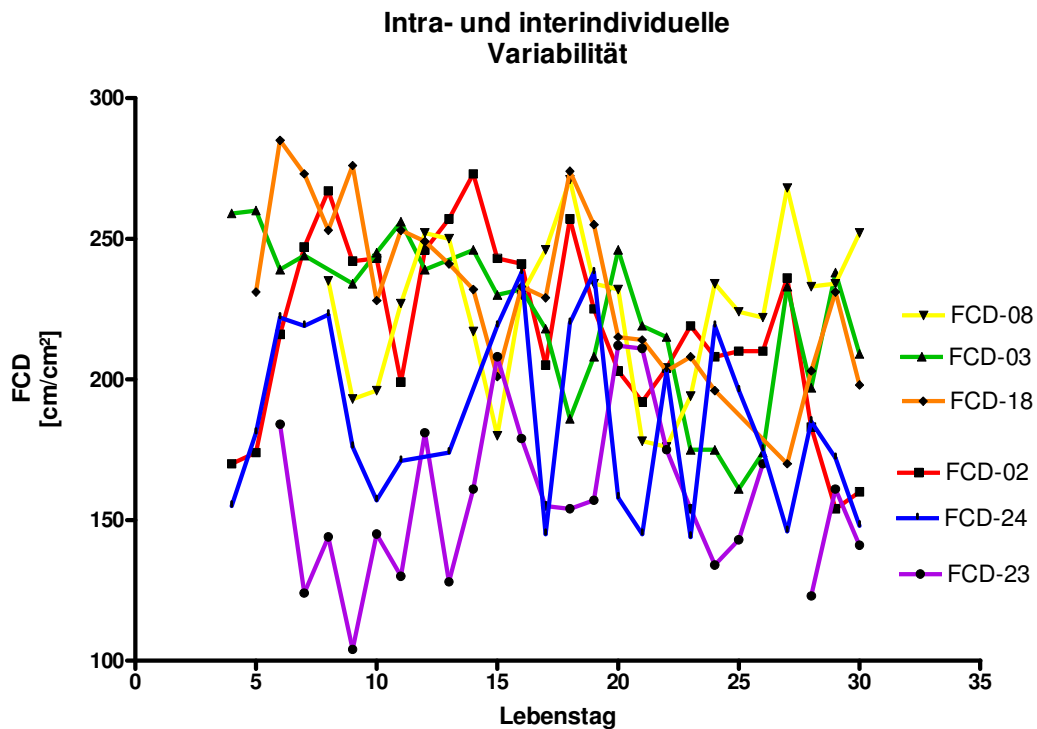
Die mikrozirkulatorischen Parameter unterlagen in unserer Studie großen Schwankungen, die als intra- und interindividuelle Variabilität bezeichnet wurden. Um eine zufällig bedingte statistische Signifikanz des Verlaufs der Mikrozirkulation zu vermeiden, wurden für die Tage 7, 14, 21 und 28 Mittelwerte gebildet. Tag 7 setzt sich aus den Mittelwerten der Lebenstage 6, 7 und 8 zusammen, Tag 14 aus den Mittelwerten der Lebenstage 13, 14 und 15, Tag 21 aus den Mittelwerten der Lebenstage 20, 21 und 22, und Tag 28 aus den Mittelwerten der Lebenstagen 27, 28 und 29.

#### 3.5.1 Funktionelle Kapillardichte (FCD)

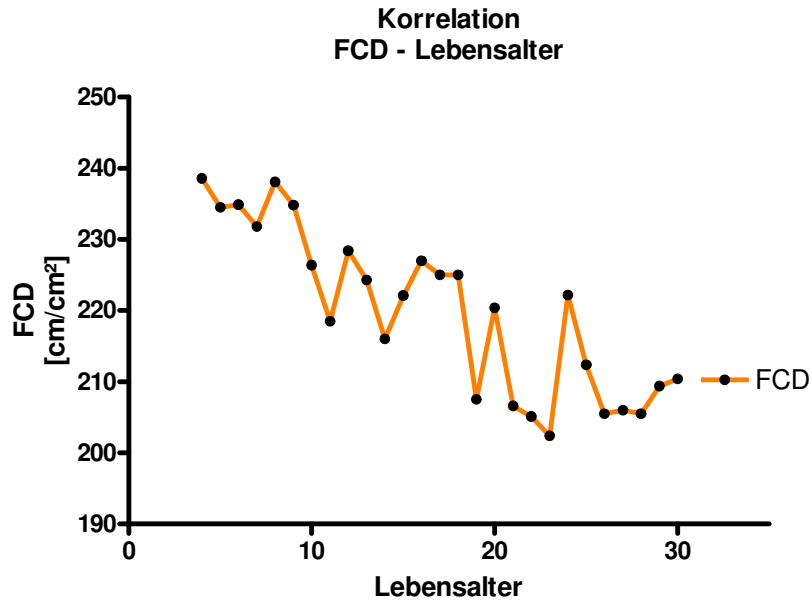
Die funktionelle Kapillardichte (FCD) bewegte sich zwischen 88 und 308  $\text{cm/cm}^2$ , mit einem Mittelwert von **220,0  $\text{cm/cm}^2$**  und einer Standardabweichung von  $\pm$  **11,6  $\text{cm/cm}^2$** . In **Diagramm 11** ist die große intra- und interindividuelle Variabilität der

FCD an Hand von den Patienten 2, 3, 8, 18, 23 und 24 während des ersten Lebensmonats dargestellt. In **Diagramm 12** ist die Kurve der Mittelwerte der FCD von Patient 1-25 während des ersten Lebensmonats abgebildet.

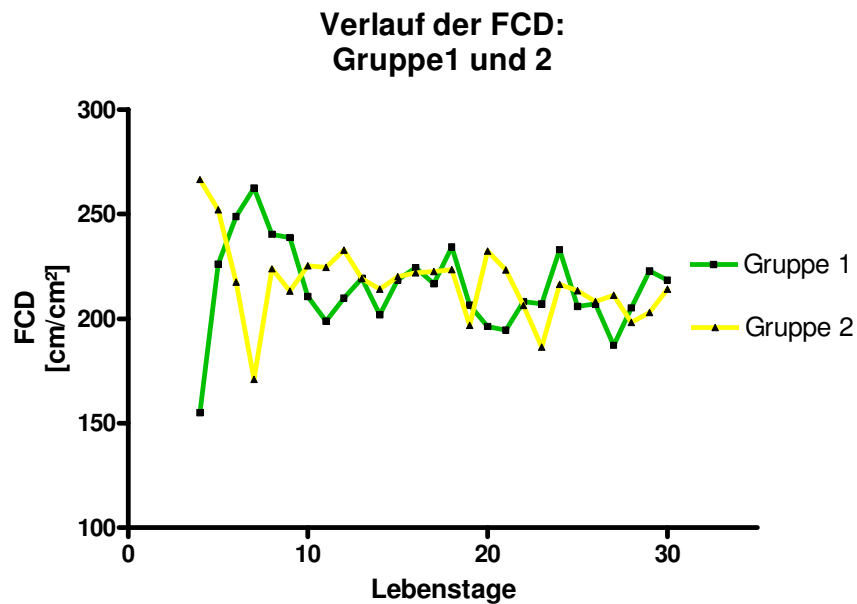
Der Verlauf der FCD unterscheidet sich im ersten Lebensmonat nicht signifikant im Vergleich von Gruppe 1 mit Gruppe 2 (**Diagramm 13**).



**Diagramm 11:** Darstellung der großen intra- und interindividuellen Variabilität der FCD an Hand von den Patienten 2, 3, 8, 18, 23 und 24 während des ersten Lebensmonats.



**Diagramm 12:** Darstellung der Korrelation der FCD (orange) zum Lebensalter mit  $r = -0,8615$ ,  $r^2 = 0,7422$  und  $p < 0,0001$ , Angaben in Mittelwerten.



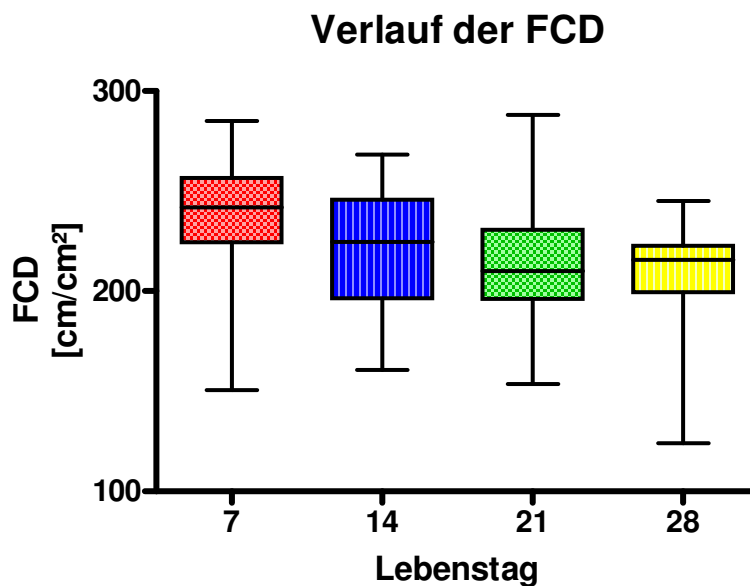
**Diagramm 13:** Verlauf der FCD während des ersten Lebensmonats von Gruppe 1 (grün) und Gruppe 2 (gelb)

In **Tabelle 7** sind die Tage 7, 14, 21 und 28 in Mittelwerten dargestellt und beschreiben den Verlauf der FCD im ersten Lebensmonat. Ein signifikanter Unterschied mit  $p = 0,0028$  hat sich zwischen Lebenstag 7 und 28 gezeigt. Die FCD sank im Mittel von  $236,4 \text{ cm/cm}^2$  auf  $206,9 \text{ cm/cm}^2$ . In **Diagramm 14** sind die Werte aus **Tabelle 7** graphisch abgebildet.

FCD [ $\text{cm/cm}^2$ ]	Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Mittelwert	236,4	219,2	211,6	<b>206,9 *</b>
$\pm$ Standardabweichung	$\pm 33,4$	$\pm 33,2$	$\pm 30,2$	$\pm 29,6$
95% Konfidenzintervall	218,5- 254,2	204,8- 233,5	197,9-225,4	190,5-223,3

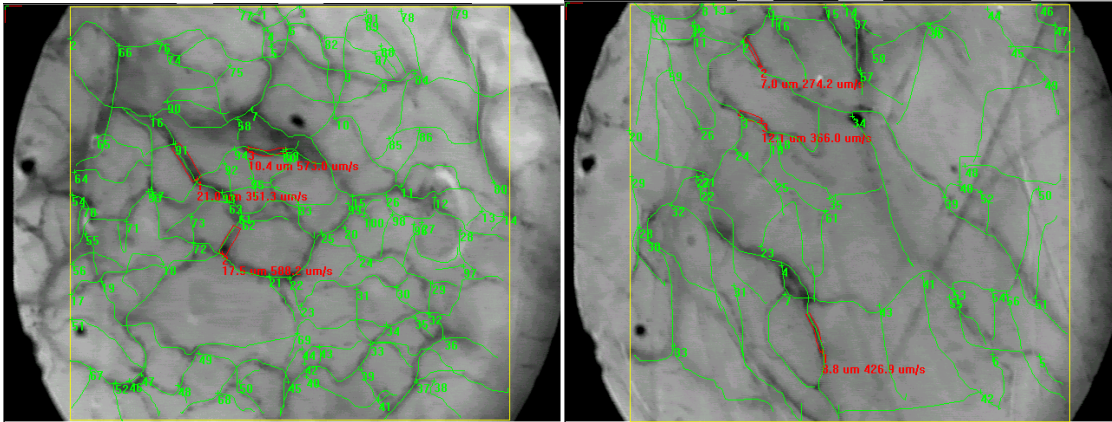
\*  $p = 0,0028$ , vs Tag 7

**Tabelle 7:** Darstellung der FCD von Tag 7 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 6, 7, 8), 14 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 13, 14, 15), 21 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 20, 21, 22) und 28 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 27, 28, 29).



**Diagramm 14:** Darstellung der FCD von Tag 7, 14, 21 und 28.

**Abbildung 10** zeigt die Mikrozirkulation an Tag 7 und **Abbildung 11** an Tag 28 eines Frühgeborenen.



**Abbildung 10:** Darstellung der Mikrozirkulation an Tag 7, FCD: 247 cm/cm<sup>2</sup>.

**Abbildung 11:** Darstellung der Mikrozirkulation an Tag 28, FCD: 183 cm/cm<sup>2</sup>.

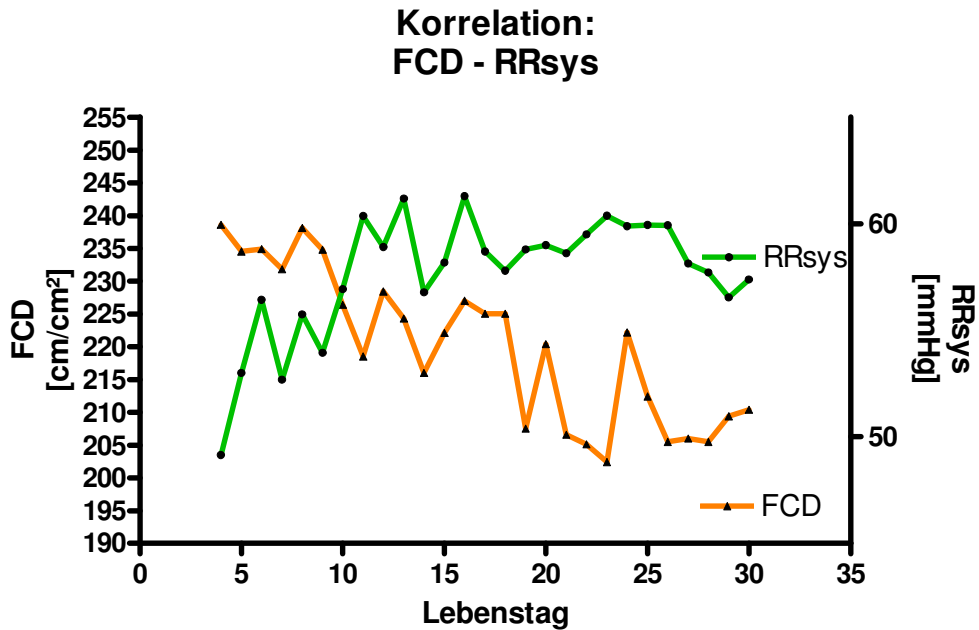
Das Frühgeborene kam mit einem Gestationsalter von 28 Wochen und einem Geburtsgewicht von 1110 g (41. Perzentile) zur Welt. Die Geburtskörperlänge betrug 36,0 cm (31. Perzentile) und der Kopfumfang 26,0 cm (45. Perzentile). Die Erstdiagnose war ein Atemnotsyndrom.

Die FCD sank bei diesem Patienten von 243,3 cm/cm<sup>2</sup> auf 191 cm/cm<sup>2</sup>. Die Angaben der FCD beziehen sich aufgrund der hohen intraindividuellen Variabilität auf die Mittelwerte von Lebenstag 6, 7 und 8 und von Lebenstag 27, 28 und 29. Der Absolutwert der FCD betrug 247 cm/cm<sup>2</sup> an Tag 7 und 183 cm/cm<sup>2</sup> an Tag 28.

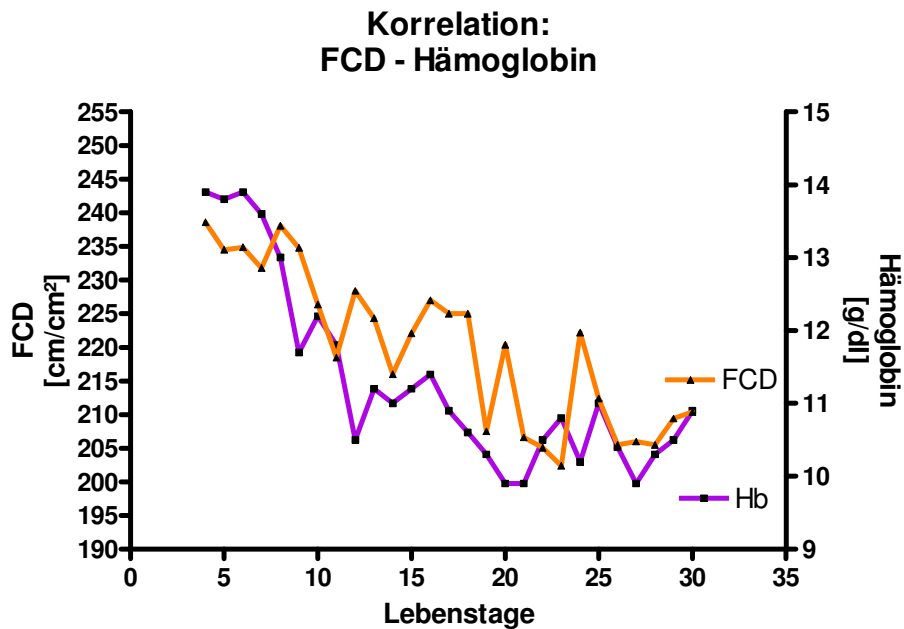
Das gelbe Fenster in den Abbildungen zeigt einen definierten und damit gleich großen Bereich (= ROI), in dem die FCD bestimmt wurde. Die grün markierten Gefäße stellen die FCD dar. Die rot markierten Gefäße zeigen die Messung des Diam und der RBC vel.

Die FCD korrelierte negativ mit dem systolischen Blutdruck mit  $r = -0,5668$ ,  $r^2 = 0,3213$  und  $p = 0,0021$  (**Diagramm 15**). Sie wies eine positive Korrelation mit der Hämoglobinkonzentration mit  $r = 0,7628$ ,  $r^2 = 0,5819$  und  $p < 0,0001$  (**Diagramm 16**) und mit der Temperatur, die an der Stelle der Messung gemessen wurde, mit  $r = 0,5409$ ,  $r^2 = 0,2926$  und  $p = 0,0036$  (**Diagramm 17**), auf.



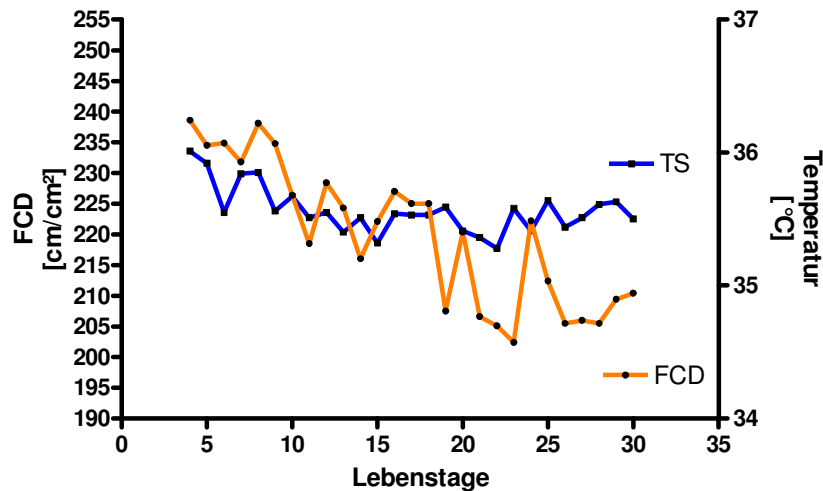


**Diagramm 15:** Darstellung der Korrelation der FCD (orange) mit dem systolischen Blutdruck (RRsys, grün) in Bezug auf das Lebensalter in Tagen mit  $r = -0,5668$ ,  $r^2 = 0,3213$  und  $p = 0,0021$ .



**Diagramm 16:** Darstellung der Korrelation der FCD (orange) und der Hämoglobinkonzentration (Hb, lila) mit  $r = 0,7628$ ,  $r^2 = 0,5819$  und  $p < 0,0001$ .

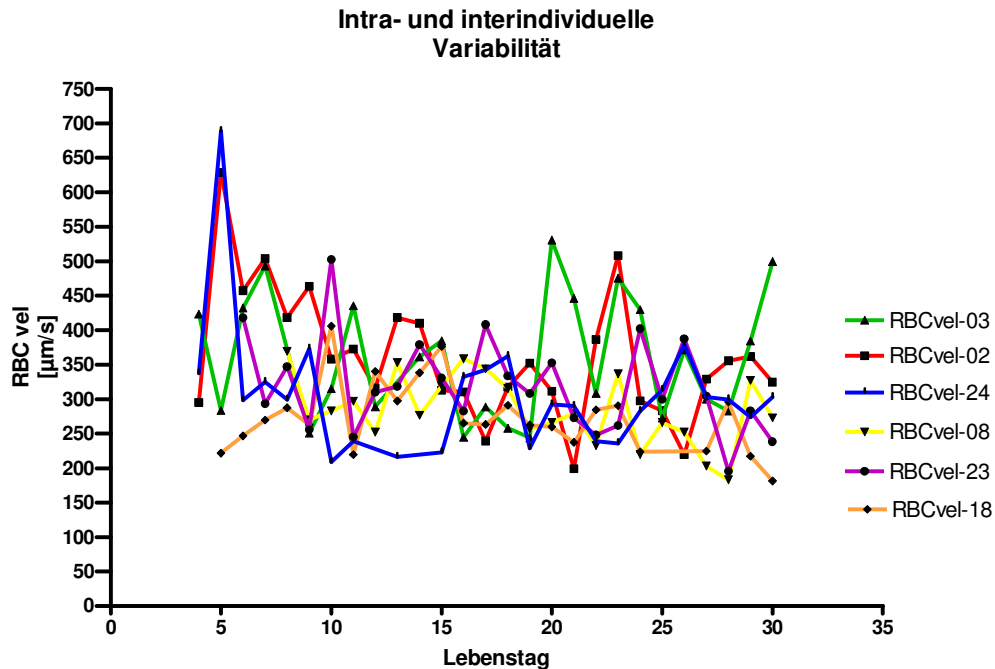
### Korrelation: Temperatur-FCD



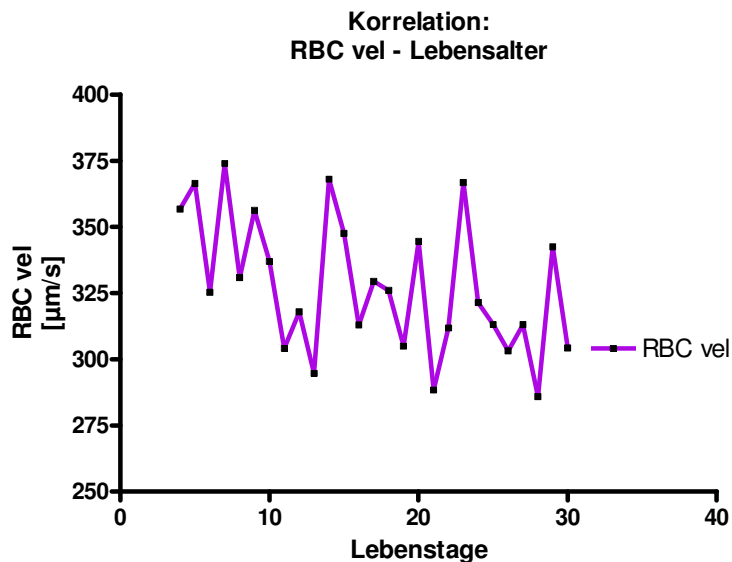
**Diagramm 17:** Darstellung der FCD (orange) und der Temperatur, die an der Stelle der Messung gemessen wurde (TS, blau) mit einer Korrelation von  $r = 0,5409$ ,  $r^2 = 0,2926$  und  $p = 0,0036$ .

### 3.5.2 Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel)

Die Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel) bewegte sich zwischen  $171,8 \mu\text{m/s}$  und  $726,3 \mu\text{m/s}$ , mit einem Mittelwert von  **$322,8 \mu\text{m/s}$**  und einer Standardabweichung von  $\pm 22,0 \mu\text{m/s}$ . In **Diagramm 18** ist die große intra- und interindividuelle Variabilität der RBC vel an Hand von den Patienten 2, 3, 8, 18, 23 und 24 während des ersten Lebensmonats dargestellt. In **Diagramm 19** ist die Kurve der Mittelwerte der RBC vel von Patient 1-25 während des ersten Lebensmonats abgebildet.



**Diagramm 18:** Darstellung der großen intra- und interindividuellen Variabilität der RBC vel an Hand von den Patienten 2, 3, 8, 18, 23 und 24 während des ersten Lebensmonats, Angaben in Mittelwerten.

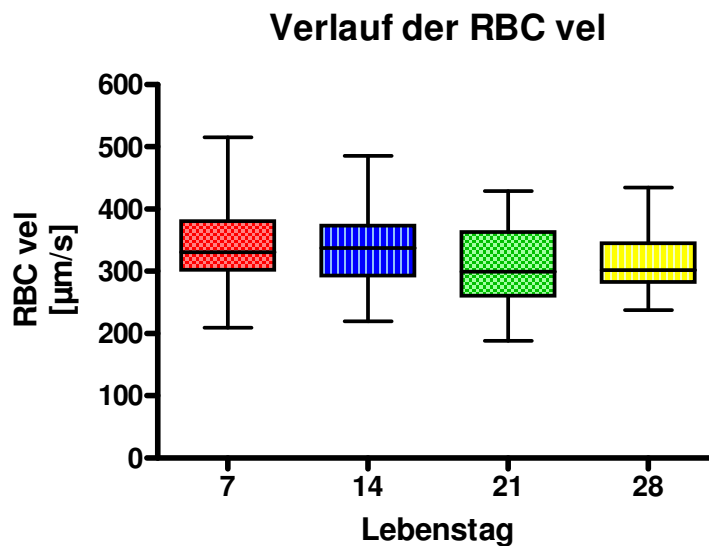


**Diagramm 19:** Darstellung der Mittelwerte der RBC vel (lila) von Patient 1-25 während des ersten Lebensmonats. Korrelation mit dem Lebensalter mit  $r = -0,4793$ ,  $r^2 = 0,2298$ ,  $p = 0,0114$ .

In **Tabelle 8** sind die Tage 7, 14, 21 und 28 in Mittelwerten dargestellt und beschreiben den Verlauf der RBC vel im ersten Lebensmonat. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Tag 7, 14, 21 und 28. In **Diagramm 20** sind die Werte aus **Tabelle 8** graphisch abgebildet.

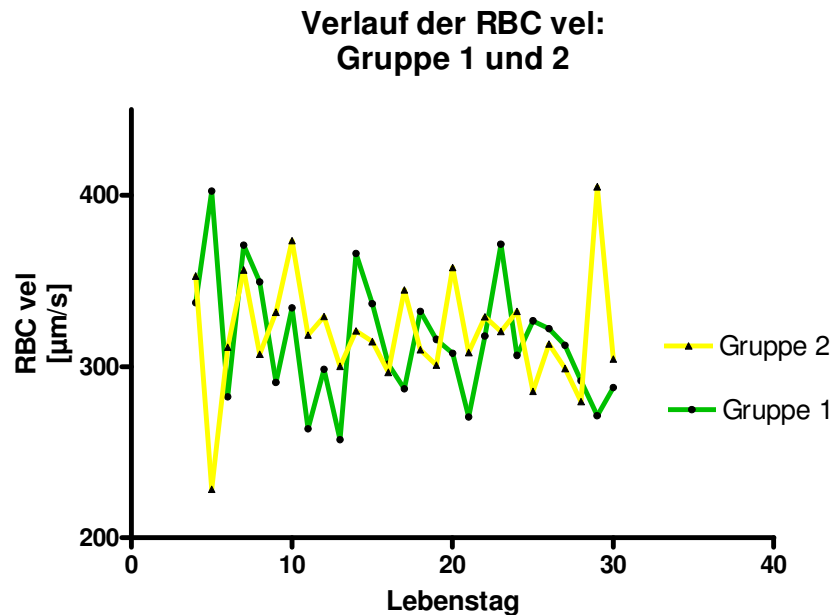
RBC vel [ $\mu\text{m/s}$ ]	Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Mittelwert	343,8	337,9	313,5	313,8
$\pm$ Standardabweichung	$\pm 83,8$	$\pm 59,7$	$\pm 64,8$	$\pm 54,2$
95% Konfidenzintervall	299,1- 388,4	312,1-363,7	284,0-343,0	283,8-343,8

**Tabelle 8:** Darstellung der RBC vel von Tag 7 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 6, 7, 8), 14 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 13, 14, 15), 21 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 20, 21, 22) und 28 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 27, 28, 29).



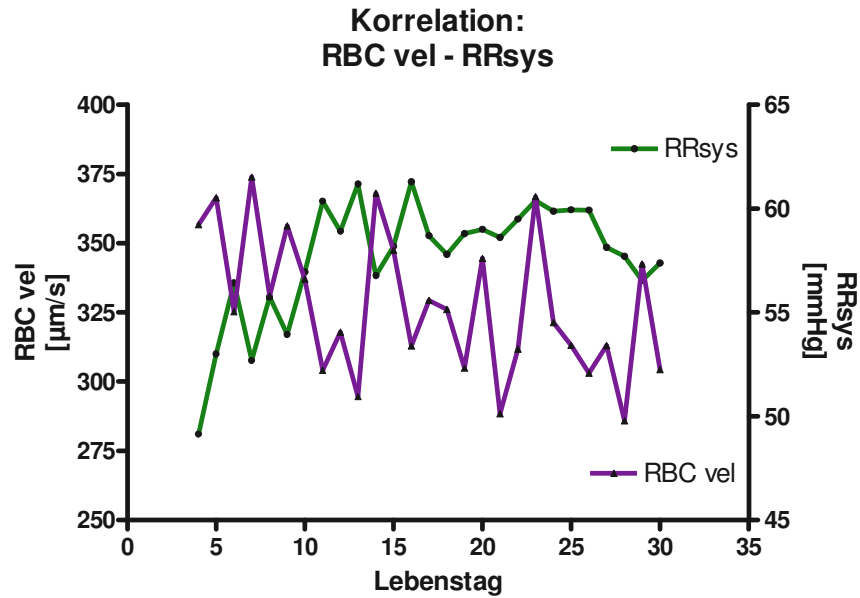
**Diagramm 20:** Darstellung der RBC vel von Tag 7, 14, 21 und 28.

Die RBC vel von Gruppe 1 unterscheidet sich nicht signifikant von der RBC vel von Gruppe 2 (**Diagramm 21**).

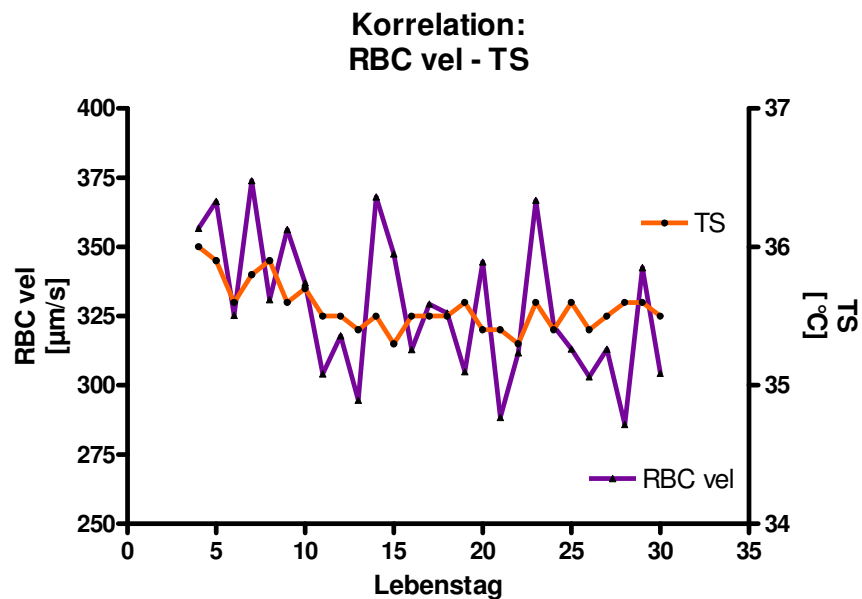


**Diagramm 21:** Verlauf der RBC vel während des ersten Lebensmonats von Gruppe 1 (grün) und Gruppe 2 (gelb).

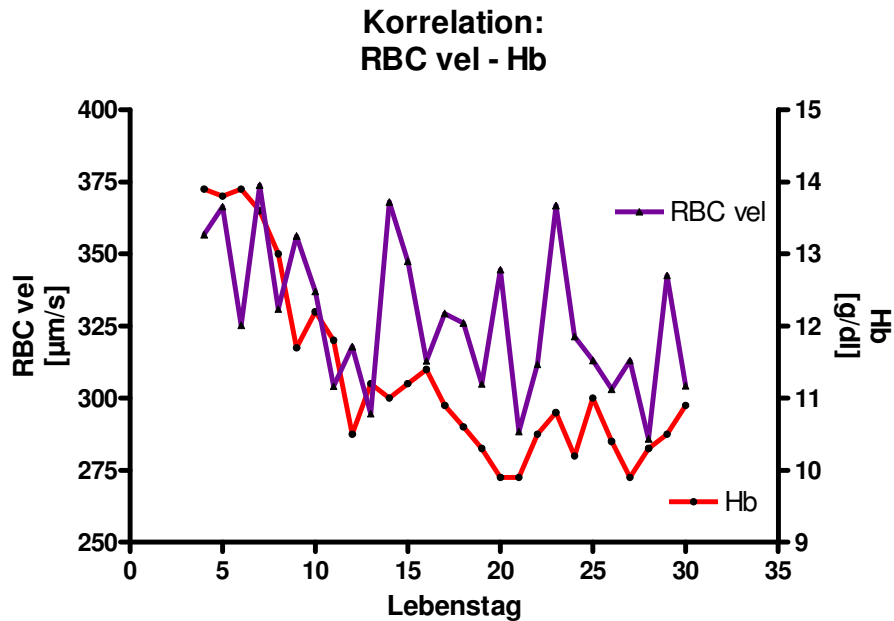
Die RBC vel korrelierte negativ mit dem systolischen Blutdruck (**Diagramm 22**). Es fand sich außerdem eine positive Korrelation mit der Temperatur, die an der Stelle der Messung gemessen wurde (**Diagramm 23**) und mit der Hämoglobinkonzentration (**Diagramm 24**).



**Diagramm 22:** Darstellung der Korrelation der RBC vel (lila) mit dem systolischen Blutdruck (RRsys, grün) mit  $r = -0,6005$ ,  $r^2 = 0,3607$  und  $p = 0,0009$ .



**Diagramm 23:** Darstellung der RBC vel (lila) und der Temperatur, die an der Stelle der Messung gemessen wurde (TS, orange) mit einer Korrelation von  $r = 0,4689$ ,  $r^2 = 0,2199$  und  $p = 0,0136$ .

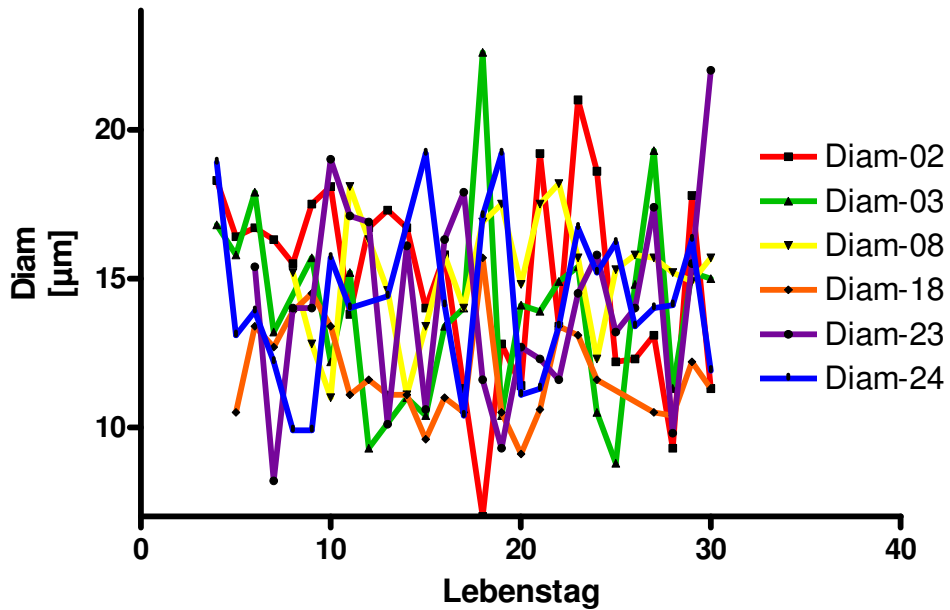


**Diagramm 24:** Darstellung der Korrelation von RBC vel (lila) und Hämoglobinkonzentration (Hb, rot) mit  $r = 0,4971$ ,  $r^2 = 0,2471$  und  $p = 0,0083$ .

### 3.5.3 Gefäßdurchmesser (Diam)

Der Diam betrug zwischen 7 und 24 µm, mit einem Mittelwert von **14,2 µm** und einer Standardabweichung von  $\pm 0,7 \mu\text{m}$ . In **Diagramm 25** ist die intra- und interindividuelle Variabilität des Diam an Hand von den Patienten 2, 3, 8, 18, 23 und 24 während des ersten Lebensmonats dargestellt. In **Diagramm 26** ist die Kurve der Mittelwerte des Diam von Patient 1-25 während des ersten Lebensmonats abgebildet.

### Intra- und interindividuelle Variabilität



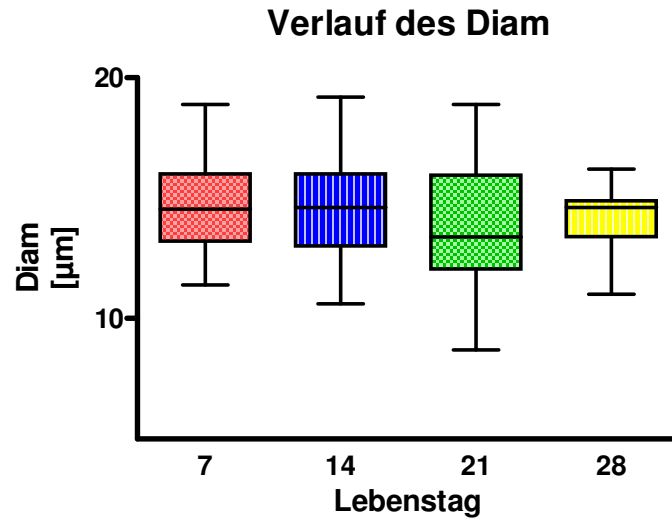
**Diagramm 25:** Darstellung der intra- und interindividuellen Variabilität des Diam an Hand von den Patienten 2, 3, 8, 18, 23 und 24 während des ersten Lebensmonats.

In **Tabelle 9** sind die Tage 7, 14, 21 und 28 in Mittelwerten dargestellt und beschreiben den Verlauf des Diam im ersten Lebensmonat. Der Diam veränderte sich nicht signifikant im Verlauf des ersten Lebensmonats. In **Diagramm 26** sind die Werte aus **Tabelle 9** graphisch abgebildet.

Gefäßdurchmesser [µm]	Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Mittelwert	14,6	14,4	13,8	14,2
± Standardabweichung	± 2,0	± 2,4	± 2,7	± 1,3
95 % Konfidenzintervall	13,5-15,6	13,4-15,5	12,6-15,0	13,5-14,9

**Tabelle 9:** Darstellung des Diam von Tag 7 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 6, 7, 8), 14 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 13, 14, 15), 21 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 20, 21, 22) und 28 (berechnet aus den Mittelwerten von LT 27, 28, 29).





**Diagramm 26:** Darstellung des Diam von Tag 7, 14, 21 und 28.

Es zeigte sich keine Korrelation mit der Temperatur des Messorts, dem systolischen und diastolischen Blutdruck, der Hämoglobinkonzentration, dem Lebensalter, der Körpertemperatur und der Temperatur des Inkubators. Der Verlauf des Diam unterscheidet sich im ersten Lebensmonat nicht signifikant im Vergleich von Gruppe 1 mit Gruppe 2.

## **4 Diskussion**

### **4.1 Klinische Anwendbarkeit von OPS Imaging**

In dieser Studie stand die klinische Anwendbarkeit von OPS Imaging bei Frühgeborenen, das diagnostische Potential und die Aussagekraft der mikrozirkulatorischen Bilder, sowie die Funktionalität, die Sicherheit und die Praktikabilität von OPS Imaging im Mittelpunkt des Interesses. Limitationen und Grenzen von OPS Imaging wurden aufgezeigt und untersucht.

Die Messung der Mikrozirkulation erfolgte transdermal. Dieser Zugangsweg ist bei Frühgeborenen aufgrund der noch geringen Verhornung der Epidermis möglich. Beim Erwachsenen ist im Gegensatz dazu die sublinguale Mundschleimhaut der häufigste Messort für die OPS Imaging Technik.<sup>9</sup>

#### **4.1.1 Sicherheit der Anwendung**

OPS Imaging bietet zur Untersuchung der Mikrozirkulation einige Vorteile in der Anwendung bei Frühgeborenen. Blutabnahmen sind für diese Untersuchungstechnik nicht notwendig, wodurch ein zusätzlicher Blutverlust und somit eine größere Belastung des Frühgeborenen vermieden wird. Fluoreszenz-Farbstoffe werden zur Kontrastverbesserung wie z. B. in der Intravitalmikroskopie<sup>26, 48</sup> nicht benötigt, weshalb OPS Imaging in der Neonatologie angewendet werden kann. Die OPS Imaging Technik beruht auf der Absorption des Hämoglobins von linear polarisiertem Licht und ist daher für den Patienten und den Untersucher nebenwirkungsfrei.<sup>18, 22</sup>

Das orthogonal polarisierte Licht des Cytoscan<sup>TM</sup> A/R ist kaltes Licht und daher unbedenklich bei der Anwendung bei Frühgeborenen, da es nicht zu einer Erwärmung der Haut an der Stelle der Messung führt. Während und nach einer Messung konnten weder Rötungen noch Irritationen an der Haut der Frühgeborenen festgestellt werden.<sup>44</sup>

Das Cytoscan<sup>TM</sup> A/R Gerät ist durch seine geringe Größe gut geeignet für die Untersuchung im Inkubator. Es lässt sich durch die eine der zwei Öffnungen für die Hände einfach im Innenraum des Inkubators platzieren. Die OPS Imaging Sonde, welche die Größe eines Kugelschreibers aufweist (Durchmesser der Sondenspitze: 8

mm), ist im klinischen Alltag leicht anwendbar. Die Handhabung war ohne spezielle Einarbeitung mit ein wenig Übung möglich.<sup>16</sup> OPS Imaging konnte bei allen Patienten problemlos angewendet werden.

#### **4.1.2 Bewegungsartefakte**

OPS Imaging ist eine Untersuchungsmethode, die einfach durchzuführen ist, trotzdem aber einige Schwierigkeiten in der Anwendung in sich birgt. Es ist schwierig, stabile Bildfolgen über 10 Sekunden ohne größere Bewegungsartefakte sicher herzustellen. Diese stabilen Bilder der Mikrozirkulation von mindestens zehn Sekunden sind eine Grundvoraussetzung für die offline Auswertung mit der Videobildanalysesoftware CapiScope. Bei Frühgeborenen wurde deshalb der Oberarm in der Nähe der Axilla als Messort ausgewählt, da andere Stellen des Körpers wie z. B. die Brust oder das Abdomen durch die Atmung in ständiger Bewegung oder empfindlicher gegenüber leichter Berührung sind. Des Weiteren konnten an Kopf und Schläfen keine Messungen vorgenommen werden, da diese Teile des Körpers meist sehr stark mit Lanugobehaarung bedeckt sind und diese die Qualität der Bilder beeinträchtigt.<sup>16, 66</sup>

Die Untersuchung von unruhigen und besonders berührungsempfindlichen Frühgeborenen stellte sich als besonders schwierig heraus. Um gute Messergebnisse zu erzielen wurde abgewartet bis die Kinder ruhig waren oder schliefen, wodurch die Messung in einigen Fällen durch die Wartezeit sehr in die Länge gezogen wurde (bis zu 1,5 Stunden). In einer Studie von Dollberg und Mitarbeitern wurde gezeigt, dass Weinen bei Frühgeborenen die Hautdurchblutung steigert. Das ist neben der Qualität der Bilder ein weiterer Grund darauf zu achten, dass Messungen nur an ruhigen bzw. schlafenden Frühgeborenen vorgenommen werden sollten.<sup>14</sup>

Auch Bewegungen von Seiten des Untersuchers spielten eine große Rolle. Diese Bewegungsartefakte von Seiten des Anwenders wurden minimiert, in dem die Kamera neben dem Kind in den Inkubator abgelegt wurde, wodurch der Untersucher das Gewicht der Kamera nicht halten musste. Eigenbewegungen des Untersuchers wie z. B. Zittern der Hände wurde so ebenfalls reduziert, da die Hand während der Untersuchung abgestützt bzw. abgelegt werden konnte.

Bewegungsartefakte nachträglich zu eliminieren ist mit dem Videobildanalyse-System CapiScope möglich. Die eine Möglichkeit besteht darin, die markierte Linie mit der Maus in dem zu messenden Gefäß zu halten. Die andere Möglichkeit ist eine automatische Korrektur der Bewegung (Automatic Movement Correction). Diese Funktion korrigiert automatisch jede Bewegung der Videosequenz. Auch wenn durch die letzt genannte Funktion sehr gute Ergebnisse erzielt werden können, sollte doch an erster Stelle darauf geachtet werden, dass die Sequenz keine Bewegungen aufweist. Die besten und zuverlässigsten Ergebnisse entstehen auf der Grundlage einer ruhigen Ausgangssequenz.<sup>31</sup>

### **4.1.3 Druckartefakte**

Ein weiteres Problem zeigte sich, wenn die Sonde mit zu hohem Druck auf der Haut aufgesetzt wurde, da dies eine Verlangsamung der Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel) zur Folge hat. Der hohe Sondendruck komprimierte die Gefäße und behinderte die Erythrozyten in ihrem Fluss.<sup>44</sup>

Ein zu hoher Sondendruck machte sich ebenfalls durch zu geringe Werte der funktionellen Kapillardichte (FCD) bemerkbar. Die FCD ist definiert als die Länge der perfundierten Kapillaren pro Beobachtungsareal ( $\text{cm}/\text{cm}^2$ ).<sup>23</sup> Durch zu viel Druck wurden bestimmte Gebiete weniger oder gar nicht durchblutet und verringerten so fälschlicherweise den Wert der FCD.

Durch das Ablegen der Kamera neben dem Kind wurden sowohl Bewegungsartefakte als auch der Sondendruck reduziert.<sup>17</sup> Um den Druck so gering wie möglich zu halten und trotzdem eine große Kontaktfläche zwischen Sonde und Haut herzustellen, wurden ein bis zwei Tropfen einer 0,9prozentigen Natriumchloridlösung auf die Sonde aufgetragen. Außerdem konnten druckbedingte Verlangsamungen der RBC vel oder nicht perfundierte Areale durch genaues Betrachten der Mikrozirkulationsbilder offline erkannt werden und gegebenenfalls markiert werden.<sup>51</sup> Eine objektive Kontrolle des Sondendrucks stand in unserer Studie nicht zur Verfügung und ist sicherlich ein Punkt, der verbessert werden muss. Lindert und Mitarbeiter entwickelten 2002 eine Vorrichtung für das Cytoscan™ Mikroskop, die aus Edelstahl ist und direkt auf der sterilen, abnehmbaren Plastikhülle der Sonde (Cytolens™) angebracht wird. Dieses Hilfsmittel verhindert den direkten

Kontakt der Sonde mit dem zu untersuchenden Gewebe und dadurch die Ausübung von Druck bei der Applikation. Diese neue Technik funktioniert allerdings mit Vakuum und ist daher bei Frühgeborenen nicht anwendbar.<sup>41</sup>

#### **4.1.4 Vergleichbarkeit der Daten**

Eine wichtige Grundlage der neuen Untersuchungsmethodik OPS Imaging ist die Vergleichbarkeit der mikrozirkulatorischen Daten mit der etablierten Intravitalmikroskopie. Die Übereinstimmung von funktioneller Kapillardichte (FCD), Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel) und Gefäßdurchmesser (Diam) wurde in vielen vorangehenden Studien bewiesen. Im Tiermodell wurden identische Gefäße zu unterschiedlichen Messzeitpunkten untersucht. Die Korrelation der Daten beider Methoden zeigte, dass die mit OPS Imaging erhobenen Daten vergleichbar mit den Daten der Intravitalmikroskopie sind.<sup>3, 21, 22, 23, 34, 36, 37, 44</sup>

Ein Problem zeigt sich bei der klinischen Verwendung von OPS Imaging im Gegensatz zum Tierversuch. Im Vergleich zum Tiermodell (z.B. der Rückenhautkammer des Hamsters<sup>23</sup>) oder der Kapillarmikroskopie des Nagelbetts<sup>44</sup> ist es bei der Untersuchung von Frühgeborenen nicht möglich, das identische Gefäß oder Gefäßbett zu verschiedenen Messzeitpunkten zu untersuchen. Das zu untersuchende Gefäßbett kann nicht markiert oder gekennzeichnet werden. Eine gezielte Verlaufskontrolle oder Beobachtung von identischen Gefäßen ist derzeit mit OPS Imaging aufgrund der Komplexität der Gefäßstruktur, des auf einen Millimeter beschränkten Beobachtungsfeldes und der Unmöglichkeit einer Wiedererkennung eines Gefäßes ohne Markierung nicht realisierbar.<sup>17, 66</sup>

#### **4.1.5 Qualität der mikrozirkulatorischen Bilder**

Der Vergleich von OPS Imaging mit der konventionellen Kapillarmikroskopie zeigt, dass OPS Imaging Sequenzen einen besseren Kontrast aufweisen als Bildern, die durch die konventionelle Kapillarmikroskopie entstehen. Dieser erhöhte Kontrast verbessert die Qualität der mikrozirkulatorischen Videosequenzen und dadurch die computergesteuerte Auswertung. Fehlerquellen, die durch das Korrigieren von

Bewegungsartefakten entstehen, können ebenfalls durch die bessere Qualität der Aufnahmen minimiert werden.<sup>44</sup>

OPS Imaging kontrastiert die Gefäße auf der Grundlage der Lichtabsorption des Hämoglobins. Erythrozytenhaltige Gefäße heben sich dadurch dunkel vom angrenzenden Gewebe ab. Diese Methode kann somit aufgrund einer gravierenden Reduktion der Hämoglobinkonzentration versagen und die Qualität der Bilder kann durch Hämodilution und Gewebeödem eingeschränkt sein. Infolge von Hämodilution wird der Hell-Dunkelkontrast vermindert und die Auswertung erschwert. Diese Veränderungen konnten von Schaudig und Mitarbeitern bei herzchirurgischen Eingriffen unter extrakorporaler Zirkulation veranschaulicht werden.<sup>9, 65</sup>

Harris und Mitarbeiter haben im Tiermodell gezeigt, dass die Qualität der Bilder bei allen untersuchten Hämatokritwerten konstant gehalten wurde. Erst bei einem Hämatokritwert von 25 % des Ausgangswerts, der hier einer Hämoglobinkonzentration von  $3,8 \text{ g/dl} \pm 0,2$  entsprechen würde, konnte ein Qualitätsverlust der Bilder nachgewiesen werden. Eine Messung und Auswertung der mikrozirkulatorischen Parameter war allerdings immer noch möglich. Die Veränderungen der Hämoglobinkonzentration wurden sowohl mit OPS Imaging als auch mit der Intravitalmikroskopie untersucht und die Ergebnisse beider Methoden stimmten sehr gut überein.<sup>21</sup> In unserer Studie fiel die Hämoglobinkonzentration signifikant von Tag 7 auf Tag 14 und reduzierte sich hier um 19 %. Bei dem Vergleich der minimalen Hämoglobinkonzentration von  $7,8 \text{ g/dl} \pm 1,9$  mit der maximalen Hämoglobinkonzentration von  $19,5 \text{ g/dl} \pm 3,0$  betrug der minimale Hämoglobinwert 40 % des maximalen Hämoglobinwerts. Ein systematischer Fehler aufgrund einer erniedrigten Hämoglobinkonzentration und eine daraus resultierende Minderung der Qualität der Bilder kann hier vernachlässigt werden, da die Hämoglobinwerte unserer Studie außerhalb des Bereichs lagen, der von Harris und Mitarbeitern<sup>21</sup> als kritischer Bereich identifiziert worden war. Allerdings liegen keine vergleichbaren Daten in Bezug auf Frühgeborene in der Literatur vor.

Die Qualität der Mikrozirkulationsbilder kann außerdem durch die Verwendung von 0,9prozentiger Natriumchloridlösung gesteigert werden, da sie den Kontakt zwischen der Sonde und der Haut des Patienten verbessert. Hierbei ist darauf zu achten, dass sich in der 0,9prozentigen Natriumchloridlösung keine Luftblasen bilden, die zu Artefakten auf den Bildern führen und die Auswertung einschränken können. Weitere Faktoren bei Frühgeborenen, die die Qualität der Mikrozirkulationssequenzen

einschränken, sind Hautfalten und Lanugobehaarung. Diese Artefakte können Gefäße bedecken und so die Auswertung stören.

#### **4.1.6 Praktikabilität des Videobildanalyse-Systems CapiScope**

Zur Analyse der mikrozirkulatorischen Bilder wurde das Videobildanalyse-System CapiScope benutzt. Diese neue Methode ist zeitsparender und leichter zu bedienen als das ältere Videobildanalyse-System CaplImage. Die Validierung der mikrozirkulatorischen Parameter funktionelle Kapillardichte (FCD), Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel) und Gefäßdurchmesser (Diam) zeigte vergleichbare Werte bei der Auswertung mit CapiScope im Vergleich zu CaplImage.<sup>64</sup>

Obwohl die Auswertung mit CapiScope im Gegensatz zu CaplImage weniger Zeit in Anspruch nimmt, ist CapiScope immer noch sehr zeitaufwendig. Die Auswertung der Mikrozirkulation ist nur offline, also nach einer Untersuchung, möglich. Die Videobildsequenzen müssen zuerst auf den Computer übertragen werden und die zu untersuchenden Gefäße ausgewählt werden. Die Gefäße werden per Hand mit der Mouse markiert und anschließend von dem Programm berechnet. Die Berechnung des Diam und der RBC vel erfolgen automatisch und dauert ca. fünf Sekunden. Zur Bestimmung der FCD müssen die Gefäße einzeln nachgezeichnet werden, wodurch die Messung der FCD abhängig von der Anzahl der Gefäße deutlich mehr Zeit in Anspruch nimmt. Die aufgezeichneten Bilder zur Berechnung der FCD müssen mehrmals abgespielt werden, um perfundierte Kapillaren nicht zu übersehen und somit die FCD nicht fälschlicherweise zu niedrig zu berechnen.<sup>31</sup> OPS Imaging erlaubt daher keine direkte Beurteilung der Mikrozirkulation während der Untersuchung und eignet sich nicht für eine schnelle Diagnostik.

## **4.2 Mikrozirkulatorische Parameter**

OPS Imaging ermöglicht die transdermale Visualisierung der Mikrozirkulation bei Frühgeborenen und bietet eine nicht invasive Technologie für das Monitoring von Frühgeborenen. Durch OPS Imaging können die mikrozirkulatorischen Parameter

funktionelle Kapillardichte (FCD), Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel) und Gefäßdurchmesser (Diam) erfasst werden. Mit diesen Parametern kann die Qualität der Hautperfusion beschrieben und an Hand von absoluten Werten dargestellt werden.

#### **4.2.1 Funktionelle Kapillardichte (FCD)**

Die funktionelle Kapillardichte (FCD) ist ein Maß für die Hautdurchblutung und indirekt ein Größenwert für die Sauerstoffversorgung, da nur perfundierte Gefäße bei der Messung gezählt werden. In einer vorausgegangenen Studie analysierten De Backer und Mitarbeiter<sup>13</sup> die sublinguale FCD und RBC vel bei gesunden Probanden und bei Patienten mit septischem und kardiogenem Schock. Sie fanden eine Veränderung der Durchblutung, die FCD war bei Patienten mit septischem und kardiogenem Schock reduziert. Schaudig und Mitarbeiter<sup>65</sup> untersuchten die sublinguale Mikrozirkulation während Operationen mit kardiopulmonalem Bypass und berichteten über einen Abfall der FCD mit einem gleichzeitigen Absinken der RBC vel.

Die funktionelle Kapillardichte (FCD) bewegte sich zwischen 88 und 308 cm/cm<sup>2</sup>, mit einem Mittelwert von 220,0 cm/cm<sup>2</sup> und einer Standardabweichung von  $\pm 11,6$  cm/cm<sup>2</sup>. Diese Werte sind vergleichbar mit den Messungen der Studien von Genzel-Boroviczény<sup>16, 17</sup>.

Genzel-Boroviczény und Mitarbeiter<sup>16</sup> haben in einer früheren Studie die Mikrozirkulation von Frühgeborenen und Reifgeborenen am Oberarm untersucht. Sie haben keine signifikanten Veränderungen der FCD von Lebenstag 1 zu Lebenstag 5 oder beim Vergleich von Frühgeborenen mit Reifgeborenen gefunden.

In unserer Studie haben wir einen signifikanten Abfall der FCD im Verlauf des ersten Lebensmonats beobachtet. Wir verwendeten aufgrund der hohen intra- und interindividuellen Variabilität die Mittelwerte von Tag 6, 7 und 8 im Vergleich zu Tag 27, 28 und 29, um den Verlauf des ersten Lebensmonats der FCD zu beschreiben. Die FCD sank im Durchschnitt von 236,4 cm/cm<sup>2</sup> (Mittelwert aus Tag 6, 7 und 8) auf 206,9 cm/cm<sup>2</sup> (Mittelwert aus Tag 27, 28 und 29) mit  $p = 0,0028$ . Sie korrelierte invers mit dem Lebensalter ( $p < 0,0001$ ). Dieses Absinken der FCD kann mit dem Absinken der Hämoglobinkonzentration bzw. des Hämatokrits in den ersten



Lebensmonaten<sup>60</sup> von Frühgeborenen in Verbindung gebracht werden. Ab dem Zeitpunkt der Geburt fällt die Hämoglobinkonzentration bei Frühgeborenen stark ab, teilweise aufgrund der physiologischen Reduktion der Erythrozyten, hauptsächlich aber wegen des iatrogenen Blutverlusts.<sup>76</sup> Die FCD korrelierte direkt mit dem Abfall der Hämoglobinkonzentration mit  $p < 0,0001$ .

In unserer Studie haben wir sehr frühgeborene Kinder (Gestationsalter < 26. SSW, Gruppe 1) mit frühgeborenen Kindern (Gestationsalter 28. - 30. SSW, Gruppe 2) verglichen. Die FCD beider Gruppen zeigte keine signifikanten Unterschiede.

Die FCD korrelierte invers mit dem systolischen Blutdruck mit  $p = 0,0021$  und direkt mit der Temperatur an der Stelle der Messung mit  $p = 0,0036$ . Ein kausaler Zusammenhang lässt sich mit unserer Studie nicht beweisen, aber ein Zusammenspiel der Faktoren Blutdruck, Hauttemperatur und FCD kann vermutet werden.

Genzel-Boroviczény und Mitarbeiter<sup>17</sup> haben in einer weiteren Studie gezeigt, dass die FCD nach einer Bluttransfusion signifikant ansteigt. Bei einem Anstieg der Hämoglobinkonzentration von 8,3 g/dl vor der Transfusion auf 11,8 g/dl nach 24 Stunden erhöhte sich die FCD von 142 cm/cm<sup>2</sup> auf 206 cm/cm<sup>2</sup>.

#### **4.2.2 Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel)**

Die Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel) bewegte sich zwischen 171,8 µm/s und 726,3 µm/s, mit einem Mittelwert von 322,8 µm/s und einer Standardabweichung von  $\pm 22,02$  µm/s. Diese Werte sind vergleichbar mit den Messungen der Studien von Genzel-Boroviczény<sup>16</sup> und Norman<sup>54, 55</sup>.

Die RBC vel zeigte im Verlauf des ersten Lebensmonats der 25 untersuchten Patienten eine signifikante Veränderung von Lebenstag 7 (373,9 µm/s) zu Lebenstag 28 (285,9 µm/s) mit  $p = 0,04$ . Bei dieser Veränderung wird davon ausgegangen, dass sie aufgrund der hohen intra- und interindividuellen Variabilität entstanden ist. Aus diesem Grund wurden Mittelwerte aus dem 6., 7. und 8. Lebenstag und aus dem 27., 28. und 29. Tag gebildet und miteinander verglichen. Bei dem Vergleich der Mittelwerte ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Lebenstagen 6, 7

und 8 und den Lebenstagen 27, 28 und 29. Die signifikante Veränderung zwischen Tag 7 und 28 kann daher als zufällig bezeichnet werden.

Genzel-Boroviczény und Mitarbeiter hatten in einer früheren Studie nachgewiesen, dass die RBC vel von Frühgeborenen am 5. Lebenstag im Vergleich zum 1. Lebenstag signifikant höher ist.<sup>16</sup> In unserer Studie zeigte sich keine signifikante Veränderung der RBC vel zwischen dem 3. und 30. Lebenstag.

Die Erythrozyten von Frühgeborenen besitzen ein größeres Volumen und eine größere Oberfläche als die Erythrozyten von Reifgeborenen und Erwachsenen.<sup>61, 70</sup>

Die geringe Viskosität des Blutes bei einem konstanten Hämatokrit bei Frühgeborenen resultiert aus einer geringeren Plasmaviskosität und einer geringeren Aggregation von roten Blutkörperchen im Vergleich zu Reifgeborenen und Erwachsenen.<sup>40, 80</sup> Die Blutviskosität nimmt mit dem Gestationsalter zu und erreichte die höchsten Werte beim Erwachsenen.<sup>38, 40</sup> Die Blutfließgeschwindigkeit hängt von Faktoren ab wie Gefäßdurchmesser, Viskosität des Blutes, Oberfläche und Volumen der Erythrozyten.<sup>70</sup> In unserer Studie korrelierte die RBC vel invers mit dem Lebensalter, d.h. die RBC vel nahm im Verlauf des ersten Lebensmonats ab. Dieser Abfall der RBC vel könnte durch eine Zunahme der Viskosität und eine strukturelle Veränderung der Erythrozyten zu Stande kommen. Linderkamp und Mitarbeiter konnten allerdings keinen direkten Zusammenhang zwischen peripherem Blutfluss und Viskosität des Blutes nachweisen.<sup>39</sup> Norman und Mitarbeiter haben eine inverse Beziehung zwischen hohen Hämatokritwerten bei polycythemischen Säuglingen und sehr geringer kapillaren RBC vel (110  $\mu\text{m/s}$ ) gefunden.<sup>52, 53</sup>

Ein weiterer Einflußfaktor für die Abnahme der RBC vel im ersten Lebensmonat könnte der Abfall des totalen peripheren Blutflusses sein. Wu und Mitarbeiter haben gezeigt, dass der totale periphere Blutfluss signifikant von der ersten zur vierten Lebenswoche bei Neugeborenen abnimmt. Mit zunehmendem Gestationsalter kommt es zu einer Zunahme des peripheren Gefäßwiderstandes und zu einer Abnahme des peripheren Blutflusses.<sup>79</sup>

In unserer Studie haben wir sehr frühgeborene Kinder (Gestationsalter < 26. SSW, Gruppe 1) mit frühgeborenen Kindern (Gestationsalter 28. - 30. SSW, Gruppe 2) verglichen. Die RBC vel beider Gruppen zeigte keine signifikanten Unterschiede.

Der systolische Blutdruck nahm im ersten Lebensmonat ohne eine signifikante Veränderung zu. Er korrelierte direkt mit dem Lebensalter mit  $p = 0,0028$  und invers mit der RBC vel mit  $p = 0,0009$ . Der systolische Blutdruck nimmt in den ersten zehn

Lebenstagen von Frühgeborenen stetig zu, danach steigt er langsamer an und stabilisiert sich nach 44 bis 48 Wochen.<sup>56</sup>

Die Hämoglobinkonzentration fiel im Verlauf des ersten Lebensmonats signifikant mit  $p < 0,0001$  ab. Eine Erklärung hierfür sind iatrogene Blutverluste und der Abbau des fetalen Hämoglobins.<sup>5, 25, 77</sup> Die RBC vel und die Hämoglobinkonzentration korrelierten direkt mit  $p = 0,0083$ . Ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Abfall der Hämoglobinkonzentration und der Abnahme der RBC vel ist eher nicht in Betracht zu ziehen. Genzel-Boroviczény und Mitarbeiter<sup>17</sup> haben keine Änderung der RBC vel bei Zunahme des Hämatokrits aufgrund von Transfusionen bei Frühgeborenen festgestellt. Norman und Mitarbeiter<sup>55</sup> zeigten einen direkten Zusammenhang zwischen dem Anstieg der Viskosität hauptsächlich verursacht durch Anstieg des Hämatokrits und dem Abfall der kapillären Blutfließgeschwindigkeit.

Die RBC vel und die Temperatur an der Stelle der Messung zeigten eine direkte Korrelation mit  $p = 0,0136$ . Die Temperatur der Messstelle wurde auch als periphere Körpertemperatur bezeichnet, da sie am Oberarm gemessen wurde. Die Temperatur an der Stelle der Messung veränderte sich signifikant im Bezug auf das Lebensalter ( $p = 0,0063$ ), sie sank im Verlauf des ersten Lebensmonats im Mittel von 36,0 °C auf 35,5 °C, d. h. um 0,5 °C. Dieser Abfall der peripheren Körpertemperatur lässt sich durch einen Abfall der Inkubator Temperatur von im Mittel 35,1 °C auf 29,9 °C oder durch eine bessere Thermoregulation erklären. Ein Rückgang der RBC vel aufgrund des Abfalls der peripheren Körpertemperatur wäre durchaus denkbar. Brück und Mitarbeiter<sup>7</sup> beobachteten eine direkte Korrelation der Hauttemperatur mit dem Blutfuß. Beinder und Mitarbeiter<sup>2</sup> bewirkten durch lokales Anwärmen einer Hautregion durch eine Heizspirale eine Zunahme der RBC vel in diesem Areal. Jahnukainen und Mitarbeiter<sup>27</sup> wiesen die Zunahme von Oszillationen des Blutflusses der Haut durch eine thermale Stimulation bei Frühgeborenen nach. Wahrscheinlicher aber ist es, dass der Abfall der RBC vel nicht auf die geringfügige Temperaturveränderung von 0,5 °C im Verlauf des ersten Lebensmonats, sondern auf eine Veränderung der Viskosität zurückzuführen ist. Studien von Norman und Pöschel haben gezeigt, dass geringe Veränderungen der Hauttemperatur nicht zu signifikanten Veränderungen der RBC vel führen.<sup>55, 58</sup> Eine Studie von Dollberg untersuchte die Hautdurchblutung des distalen Beines bei Frühgeborenen nach

Anwärmen der kontralateralen Seite bis auf 40,5 °C, wobei keine signifikanten Veränderungen der Hautdurchblutung gefunden wurden.<sup>14</sup>

#### **4.2.3 Gefäßdurchmesser (Diam)**

Die gemessenen Durchmesser der Gefäße (Diam) betragen 7 bis 24 µm, mit einem Mittelwert von 14,2 µm und einer Standardabweichung von  $\pm 0,7$  µm. Der Gefäßdurchmesser veränderte sich nicht signifikant im Verlauf des ersten Lebensmonats und wies keine Korrelation mit klinischen Parametern wie z.B. mit dem systolischen Blutdruck, dem Gestationsalter, der Temperatur des Messorts oder der Hämoglobinkonzentration auf. Diese Werte und Ergebnisse sind vergleichbar mit den Messungen der Studien von Genzel-Boroviczény und Mitarbeitern.<sup>16, 17</sup>

Bei Erwachsenen, bei denen OPS Imaging sublingual angewendet wird, können größere Gefäße visualisiert werden und Arteriolen und Venolen können voneinander unterschieden werden.<sup>10, 63</sup> Beim Frühgeborenen liegen Gefäße, die größer als 25 µm sind, in tieferen Schichten, somit können nur die kleineren Gefäße gemessen werden, bevor sie in der tieferen Schicht verschwinden, da die Messtiefe maximal 1 mm beträgt.<sup>16</sup>

Eine 0,4 bis 0,5 µm dicke Oberflächenendothel reduziert das funktionelle kapilläre Volumen. Eine Plasmaschicht von 0,4 – 0,6 µm Dicke liegt zusätzlich zwischen den Erythrozyten und den Endothelzellen und ist abhängig von der Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit. Diese Schicht kann nicht mit OPS Imaging dargestellt werden, da hier der Einsatz von Kontrastmittel nötig wäre.<sup>75</sup> Der Diam, der mit dem Cytoscan™ A/R gemessen wird, stellt die Breite der Erythrozytensäule in einem Gefäß dar. Bei einem Vergleich von OPS Imaging mit der Intravitalmikroskopie kommt es zu einem systematischen Messfehler aufgrund der unterschiedlichen Techniken zur Ermittlung des Gefäßdurchmessers. Daher besitzen die Gefäße einen zu niedrigen Diam im Vergleich zum wahren anatomischen Gefäßdurchmesser. Harris und Mitarbeiter haben gezeigt dass identische Gefäße bei der Messung mit OPS Imaging 4-5 µm kleiner waren als bei der Messung mit der Intravitalmikroskopie.<sup>22</sup>

### 4.3 Limitationen für OPS Imaging

Druck- und Bewegungsartefakte sind, wie bereits in den Punkten 4.1.2 und 4.1.3 erläutert, ein limitierender Faktor bei der Anwendung von OPS Imaging. Diese Artefakte müssen identifiziert und kontrolliert werden. Vorrichtungen, die Druck- und Bewegungsartefakte verhindern, sind bis jetzt noch nicht entwickelt oder in der Neonatologie nicht anwendbar. Eine Automatisierung oder objektive Kontrolle würde die Reliabilität steigern und den Zeitaufwand minimieren.

Des Weiteren ist ein Vergleich von identischen Gefäßbereichen mit OPS Imaging zu unterschiedlichen Messzeitpunkten derzeit beim Menschen noch nicht ausführbar. Es fehlt die Möglichkeit Gefäße in vivo zu markieren und so die Wiedererkennung zu sichern.

Die Auswertung von OPS Imaging Sequenzen erfordert qualitativ hochwertige Bilder. Um die Qualität der Mikrozirkulationsbilder möglichst hoch zu halten, müssen äußere Faktoren wie z.B. Luftblasen zwischen der Sonde und der Haut, Hautfalten und Lanugobehaarung bedacht und gegebenenfalls beseitigt werden.

Das Videobildanalyse-System CapiScope Image ist, wie schon in Punkt 4.1.6 erwähnt, sehr zeitaufwendig und nur offline möglich. Eine Verbesserung und Beschleunigung der Auswertung würde der OPS Imaging Technologie von großem Nutzen sein. OPS Imaging wäre so für eine schnelle Diagnostik geeignet und könnte im klinischen Alltag besser verwendet werden.

Ein weiterer limitierender Faktor ist die maximale Eindringtiefe des polarisierten Lichts in die Haut von 0,5 – 1 mm. Die Darstellung der menschlichen Mikrozirkulation durch OPS Imaging ist somit auf Gefäßschichten limitiert, bei denen die Gefäße sichtbar oder oberflächlich gelegen sind.<sup>18, 48</sup>

Die Messungen und Auswertungen unserer Studie wurden unter Beachtung der limitierenden Faktoren und Sicherung von Qualität durchgeführt. Die mikrozirkulatorischen Parameter wiesen eine hohe intra- und interindividuelle Variabilität auf. Diese hohe Streuung der Ergebnisse kann nicht durch Artefakte oder geringfügige Qualität der Bilder bedingt sein. Norman und Mitarbeiter untersuchten die Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit bei Neugeborenen mit der Nagelfalzkapillaroskopie und fanden ebenfalls eine große Streuung der Ergebnisse. Die RBC vel betrug im Mittel  $380 \pm 210 \mu\text{m/s}$  mit einem Intervall von  $40 \mu\text{m/s}$  bis  $1200 \mu\text{m/s}$ .<sup>55</sup>

#### 4.4 Diagnostische Möglichkeiten von OPS Imaging

Veränderungen der Mikrozirkulation spielen eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von Organversagen. Bis jetzt werden in der medizinischen Diagnostik vor allem makrozirkulatorische Parameter wie z. B. Blutdruck, Herzzeitvolumen und Sauerstoffsättigung verwendet.

Die Rekapillarierungszeit (CRT) ist eine einfache Methode zur Kontrolle der Mikrozirkulation, indem durch moderaten Druck für ein bis zwei Sekunden auf die Haut – bei Neugeborenen meist auf das Sternum – die Zeit, die die Haut benötigt, um wieder ihre ursprüngliche Farbe anzunehmen, gemessen wird. Die CRT ist jedoch eine sehr subjektive Untersuchung, die nicht eindeutig definiert ist und signifikant von Faktoren wie z. B. Alter, Geschlecht, Hydratationsstatus etc. beeinflusst wird. OPS Imaging kann neue Perspektiven beim klinischen Monitoring von Frühgeborenen bieten.<sup>16, 71</sup>

OPS Imaging kann genutzt werden, um die Mikrozirkulation der Frühgeborenen zu messen und zu beurteilen. Die funktionelle Kapillardichte (FCD) ist ein Maß für die Hautdurchblutung und indirekt ein Größenwert für die Sauerstoffversorgung. Die Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel) und der Gefäßdurchmesser (Diam) ermöglichen eine quantitative Beurteilung.

Mit OPS Imaging steht eine neue, nicht invasive Untersuchungsmethode zur Verfügung, mit der es z. B. möglich ist, den Therapieerfolg nach Transfusionen zu messen.<sup>17</sup> In Zukunft könnte OPS Imaging nach methodischer Verbesserung die Möglichkeit einer Beurteilung des Gesundheitszustandes aufgrund von Veränderungen der Mikrozirkulation bieten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass durch die erhobenen Messwerte der Mikrozirkulation nicht direkt auf den Zustand des Kindes geschlossen werden kann. Um Rückschlüsse von der Mikrozirkulation auf den Gesundheitszustand des Frühgeborenen abzuleiten, müssen immer das klinische Bild und die individuellen Werte der Hautdurchblutung betrachtet werden. Diese Studie gibt einen Überblick über die mikrozirkulatorischen Parameter im Verlauf des ersten Lebensmonats von Frühgeborenen und hat gezeigt, dass die Ergebnisse eine große Spannweite aufweisen. Die mikrozirkulatorischen Parameter besitzen eine große intra- und

interindividuelle Variabilität, aufgrund derer keine Normalwerte für die mikrozirkulatorischen Parameter gefunden werden konnten. Die Mikrozirkulation muss daher immer individuell und im Verlauf betrachtet werden.

Das diagnostische Potential von OPS Imaging ist noch lange nicht ausgeschöpft, um es jedoch in der klinischen Diagnostik zu etablieren, bedarf es weiterer Entwicklungen. Von großer Bedeutung für den klinischen Alltag ist die Entwicklung einer neuen Software, die eine sofortige Auswertung der Mikrozirkulation ermöglicht und somit unmittelbar Rückschlüsse auf die Hautdurchblutung, ihre Veränderung und mikrozirkulatorische Störungen erlaubt.

Außerdem ist ein Aufsatz für die OPS Imaging Sonde zur Objektivierbarkeit des Auflagedrucks sehr wichtig für die Qualität und die Durchführung der Messung. Diese Technologie würde die Handhabung von OPS Imaging und die Auswertung der Ergebnisse deutlich vereinfachen und eine Untersucher unabhängige Messung der mikrozirkulatorischen Parameter ermöglichen.

## 5 Zusammenfassung

Veränderungen der Mikrozirkulation spielen eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von Organversagen. Bis jetzt werden in der medizinischen Diagnostik vor allem makrozirkulatorische Parameter wie z.B. Blutdruck, Herzzeitvolumen und Sauerstoffsättigung verwendet. Die orthogonale polarisierte spektrale Bildgebung, auch OPS Imaging genannt, ermöglicht eine transdermale Visualisierung der Mikrozirkulation. Diese Studie soll die Mikrozirkulation von Frühgeborenen mit ihren Veränderungen im Verlauf des ersten Lebensmonats beschreiben und eine Grundlage für weitere Studien bilden.

Mit OPS Imaging kann die Hautperfusion durch reflektiertes Licht im Absorptionsspektrum des Hämoglobins ohne Kontrastmittel dargestellt werden. Sie bietet daher eine einfache und sichere Möglichkeit für ein nicht invasives Monitoring von Frühgeborenen. Durch OPS Imaging können die mikrozirkulatorischen Parameter funktionelle Kapillardichte (FCD), Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel) und Gefäßdurchmesser (Diam) erfasst werden. OPS Bildsequenzen werden kontinuierlich per Video aufgenommen und offline mit der Bildanalysesoftware CapiScope ausgewertet. Diese Parameter wurden täglich vom 3. bis zum 30. Lebenstag bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von kleiner 30. Schwangerschaftswoche am Oberarm in der Nähe der Axilla gemessen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Anwendbarkeit von OPS Imaging im klinischen Alltag und Praktikabilität für den Untersucher betrachtet. Im Mittelpunkt standen die Beurteilbarkeit der Bildsequenzen von OPS Imaging und der Verlauf der mikrozirkulatorischen Parameter.

Bis jetzt ist wenig bekannt über die Veränderungen und die Entwicklung der Hautdurchblutung bei Frühgeborenen. Uns ist es gelungen die Mikrozirkulation von Frühgeborenen während des ersten Lebensmonats darzustellen, auszuwerten und zu beurteilen. Es wurden 25 Frühgeborenen untersucht mit einem durchschnittlichen Gestationsalter von 28 Schwangerschaftswochen und einem durchschnittlichen Geburtsgewicht von 900 g. Die mikrozirkulatorischen Parameter funktionelle Kapillardichte (FCD) und die Erythrozyten-Fliessgeschwindigkeit (RBC vel) wiesen eine hohe intra- und interindividuelle Variabilität auf. Bei der RBC vel, die sich im Messbereich von 171,8 bis 726,3



$\mu\text{m/s}$  befand, konnten keine signifikanten Unterschiede im Verlauf des ersten Lebensmonats aufgezeigt werden. Die FCD bewegte sich zwischen 88 und 308  $\text{cm/cm}^2$ , mit einem Mittelwert von 220,0  $\text{cm/cm}^2$  und einer Standardabweichung von  $\pm 11,6 \text{ cm/cm}^2$ . Sie fiel signifikant von 236  $\text{cm/cm}^2$  an Lebenstag 7 auf 207  $\text{cm/cm}^2$  an Lebenstag 28 ab ( $p = 0,003$ ).

Beide Parameter korrelierten direkt mit der Hämoglobinkonzentration (FCD:  $r = 0,76$ ,  $p < 0,0001$ ; RBC vel:  $r = 0,5$ ,  $p = 0,008$ ) und invers mit dem systolischen Blutdruck (FCD:  $r = -0,57$ ,  $p = 0,002$ ; RBC vel:  $r = -0,6$ ,  $p = 0,0009$ ). Die FCD zeigte zusätzlich eine Korrelation mit der Herzfrequenz ( $r = -0,62$ ,  $p = 0,0005$ ). Der Diam, der von 7 bis 24  $\mu\text{m}$  reichte, und die klinischen Parametern, wie zum Beispiel Blutdruck, Herzfrequenz und Körpertemperatur zeigten keine signifikanten Veränderungen.

Des Weiteren wurden die mikrozirkulatorischen Parameter von Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von 23 bis 26 Wochen (= Gruppe 1,  $n = 7$ ) und Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von 28 bis 30 Wochen (= Gruppe 2,  $n = 7$ ) verglichen. Es konnten keine signifikanten Unterschiede dargestellt werden.

OPS Imaging war bei allen Patienten problemlos zu verwenden. Es konnten qualitativ hochwertige Bilder der Hautdurchblutung von Frühgeborenen erhoben werden. Probleme zeigten sich bei der Anwendung durch Bewegungs- und Druckartefakte, die mehr Zeit bei der Auswahl von geeigneten Sequenzen in Anspruch nahmen und die Auswertung einiger Bildsequenzen einschränkten. Die Weiterentwicklung von OPS Imaging und die Vermeidung von systematischen Fehlern macht OPS Imaging zu einer zukunftssträchtigen Technologie, deren diagnostisches Potential von großer Bedeutung sein könnte.

OPS Imaging kann genutzt werden, um die Mikrozirkulation der Frühgeborenen zu messen und die Qualität der Hautdurchblutung zu beurteilen. Mit OPS Imaging steht eine neue, nicht invasive Untersuchungsmethode zur Verfügung, mit der es z.B. möglich ist den Therapieerfolg nach Transfusionen<sup>17</sup> zu messen. In Zukunft könnte OPS Imaging die Beurteilung des Gesundheitszustandes von Frühgeborenen ermöglichen, wie z.B. bei der Diagnostik einer Sepsis, hierbei könnte eine Infektion aufgrund von Veränderungen der Mikrozirkulation frühzeitig erkannt werden.<sup>76</sup>

## 6 Anhang

### 6.1 Abbildungen

**Abbildung 1:** Deckblatt

Patientennummer	_____		
Geschlecht	_____	Geburtstag	_____
Geburtsgewicht	_____ g	_____	Perzentile
Geburtskörperlänge	_____ cm	_____	Perzentile
Kopfumfang	_____ cm	_____	Perzentile
Gestationsalter	_____ SSW		
Apgar-Score	_____		
	( nach 1 / 2 / 5 / 10 Minuten)		
Diagnosen:	_____		
	_____		
	_____		
	_____		
	_____		
	_____		
	_____		

## Abbildung 2: Tagesblatt

<b>Patientennummer</b>	_____	<b>Datum</b>	_____ 2003
Aktuelles Gewicht	_____ g	Lebenstag	_____
Inkubatororttemperatur	_____ °C	sig. Veränderung	_____
Temperatur Kind	_____ °C	Instabilität	_____
<b>Beatmung</b>	SIMV / HFOV		
MAD [cm H <sub>2</sub> O]	_____	FiO <sub>2</sub>	_____
Flow [l/min]	_____	Frequenz [/min]	_____
PEEP [cm H <sub>2</sub> O]	_____	PIP [cm H <sub>2</sub> O]	_____
Anzahl d. Apnoen	_____	d. Bradykardien	_____
<b>Blutdruck</b>	NAK / periphere Arterie / Dinamap / HP-Monitor		
Syst./diast. [mmHg]	_____	MAD [mmHg]	_____
Hf [/min]	_____	obere Grenze	_____
		untere Grenze	_____
Volumen-Boli	_____		
Blutdruckwirksame Medikamente:	_____		
<b>Labor</b>		Abnahmezeit	_____ h
Erythrozyten	_____ Mio/ $\mu$ l	Retikulozyten	_____ ‰ Erys
Hb	_____ g/dl	Hk	_____ %
Leukozyten	_____ 10 <sup>3</sup> / $\mu$ l	korr. Leukozahl	_____
BE	_____ mmol/l	pH	_____
Blutzucker	_____ mg/dl	Il-6	_____
I/T	_____	CRP	_____ mg/dl
stab. Granulozyt.	_____ / $\mu$ l	seg. Granulozyt.	_____ / $\mu$ l
		neutr. Granulozyt.	_____ / $\mu$ l
<b>Infektion</b>	Ohrenabstrich _____		
Blutkultur	_____		
Urin	_____		
Liquor	_____		
<b>Antibiotika</b>	_____		
<b>Messung</b>		Zeit	_____ h
Stelle	_____	Temp. d. Stelle	_____ °C
Video	von _____ bis _____	Video-Nr.	_____
FCD	_____ cm/cm <sup>2</sup>	RBC velocity	_____ $\mu$ m/s
Diameter	_____ $\mu$ m	RBC flow	_____

**Abbildung 4:** Aufbau des Cytoscan™ A/R Geräts mit Bildschirm und Videorecorder



**Abbildung 4:** Die OPS Imaging Sonde ist mit der externen Lichtquelle und dem Bildschirm verbunden. Der Bildschirm steht mit dem Videorecorder in Verbindung. Die Mikrozirkulationsbilder können während der Messung auf dem Bildschirm betrachtet werden und mit dem Videorecorder aufgezeichnet werden.

## 6.2 Tabellen

**Tabelle 4:** Darstellung des Apgar-Scores und des Gestationsalters der 25 Patienten.

Patienten	Apgar-Score				Gestationsalter [SSW]
	nach 1 min	nach 2 min	nach 5 min	nach 10 min	
1	4	4	6	7	28 + 0
2	6	6	8	8	28 + 0
3	6	6	8	8	27 + 6
4	6	8	9	9	27 + 6
5	5	6	9	9	28 + 4 •
6	6	7	8	8	28 + 4 •
7	6	6	9	9	28 + 1
8	7	8	8	9	28 + 3 •
9	9	8	9	9	28 + 3 •
10	8	8	9	9	28 + 3 •
11	3	5	9	10	25 + 0 ∇
12	3	3	8	8	24 + 5 ∇
13	7	8	9	9	24 + 6 ∇
14	7	7	8	7	27 + 5
15	9	9	10	10	28 + 2
16	8	10	10	10	28 + 2
17	6	7	9	9	28 + 2
18	4	7	5	8	25 + 1 ∇
19	5	6	8	8	25 + 1 ∇
20	7	8	9	9	27 + 0
21	9	9	10	10	29 + 3 •
22	0	1	6	9	27 + 6
23	7	8	8	8	29 + 4 •
24	3	4	6	6	25 + 5 ∇
25	3	3	4	8	23 + 6 ∇

∇ Gruppe 1, Gestationsalter < 26. SSW, n = 7

• Gruppe 2, Gestationsalter > 28+2. SSW, n = 7

**Tabelle 5:** Klinische Daten von 25 Frühgeborenen an Lebenstag 7, 14, 21 und 28: Angaben in Mittelwerten (bei Normalverteilung) oder Median° (bei fehlender Normalverteilung) ± Standardabweichung mit 95% Konfidenzintervall.

	<b>7. Lebenstag</b>	<b>14. Lebenstag</b>	<b>21. Lebenstag</b>	<b>28. Lebenstag</b>
Gewicht [g]	835,5 ± 232,9 (694,8-976,3)	941,8 ± 233,9 (843-1041)	1048 ± 273,9 (912,2-1185)	1140 ± 305,7 (963,7-1317)
Systolischer Blutdruck [mmHg]	53 ± 10,9 (46,1-59,3)	57 ± 8,6 (53,1-60,5)	59 ± 8,6 (54,4-62,9)	58 ± 8,2 (53,0-62,5)
Diastolischer Blutdruck [mmHg]	30 ± 8,7 (24,9-35,4)	35 ± 8,5 (31,7-39,0)	33 ± 5,1 (30,8-35,9)	34 ± 7,1 (29,4-37,6)
Mittlerer arterieller Blutdruck (mmHg)	39± (34,44-43,27)	43± (39,5-46,94)	41± (37,89-44,35)	42± (37,63-45,8)
Herzfrequenz [Schläge/min]	151 ± 16,2 (140,9-160,4)	163 ± 12,5 (157,7-168,5)	162 ± 9,5 (157,3-166,7)	165 ± 9,7 (159,4-170,1)
Apnoen°	4 ± 6,2 (1,7-9,2)	1 ± 4,0 (1,2-4,7)	1 ± 4,2 (1,4-5,4)	0 ± 2,4 (0-2,8)
Bradykardien°	5 ± 6,1 (2,2-9,5)	2 ± 4,2 (1,9-5,4)	3 ± 4,5 (1,9-6,2)	<b>0 ± 2,6</b> <b>(0,1-3,2)♣</b>
Körpertemperatur (C°)	37 ± 0,4 (36,8-37,2)	36,9 ± 0,2 (36,8-37,0)	36,9 ± 0,4 (36,7-37,0)	36,9 ± 0,3 (36,7-37,1)
Inkubator Temperatur [C°]	34,2 ± 1,8 (33,1-35,3)	<b>32,5 ± 1,6 ♦</b> <b>(31,8-33,2)</b>	<b>31 ± 1,1 ♦</b> <b>(30,4-31,5)</b>	<b>30,3 ± 0,9 ♦</b> <b>(29,8-30,8)</b>

\* 19 Kinder wurden beatmet.

♦ vs Lebenstag 7, p < 0,01, ♣ vs Lebenstag 21, p < 0,01

**Tabelle 6:** Darstellung von Hämoglobinkonzentration, pH und Blutzucker an Tag 7, 14, 21 und 28.

	Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Hb [g/dl]	13,55 ± 2,99 (11,75-15,36)	<b>10,98 ± 1,46</b> <b>(10,33-11,62) •</b>	9,91 ± 1,27 (9,21-10,62)	10,27 ± 1,49 (9,21-11,34)
pH	7,31 ± 0,08 (7,26-7,36)	7,33 ± 0,05 (7,31-7,35)	7,32 ± 0,05 (7,30-7,35)	7,35 ± 0,07 (7,30-7,40)
Blutzucker [mg/dl]	107 ± 26,0 (90,5-123,5)	108,4 ± 28,9 (95,2-121,5)	96,4 ± 22,6 (83,9-108,9)	117,6 ± 59,2 (80-155,2)

• p < 0,01, vs Tag 7

## 7 Literaturverzeichnis

1. Altmeyer P, Hoffmann K, Stücker M (1997): Laser Doppler Anemometrie. In: Kutane Mikrozirkulation, Springer, Berlin Heidelberg New York
2. Beinder E, Trojan A, Bucher HU, Huch A, Huch R (1994): Control of skin blood flow in pre- and full-term infants. *Biol Neonate* 65: 7–15
3. Biberthaler P, Langer S, Luchting B, Khandoga A, and Messmer K (2001): In Vivo Assessment of Colon Microcirculation: Comparison Of The New OPSimaging Technique With Intravital Microscopy. *Eur J Med Res* 6: 525-534
4. Boas DA, Gaudette T, Strangman G, Cheng X, Marota JJA, Mandeville JB (2001): The Accuracy of Near Infrared Spectroscopy and Imaging during Focal Changes in Cerebral Hemodynamics. *Neuro Image* 13: 76-90
5. Boehm DH, Christ F, Harris AG, Reichenspurner H, Reichart B, Messmer K (2000): First application of intravital microscopy on the beating heart using OPS imaging. *J Vasc Res* 37: 23
6. Boushel R, Langberg H, Olesen J, Gonzales-Alonzo J, Bulow J, Kjaer M (2001): Monitoring tissue oxygen availability with near infrared spectroscopy (NIRS) in health and disease. *Scand J Med Sci Sports* 11: 213-222
7. Brück K, Brück M, Lemtis H (1961): Temperature regulation in the newborn infant. *Biol Neonate* 3: 65-119
8. Christ F, Bauer A, Brügger D (2002): Different Optical Methods for Clinical Monitoring of the Microcirculation. *Eur Surg Res* 34: 145-151



9. Christ F, Genzel-Boroviczény O, Schaudig S, Niklas M, Schiessler C, Strötgen J, Eifert S, Reichenspurner H, Harris AG, Messmer K (2000): Monitoring of the Microcirculation in Cardiac Surgery and Neonates Using Orthogonal Polarization Spectral Imaging. *Prog Appl Microc. Basel, Karger* 24: 82-93
10. Christ F, Schaudig S, Schiessler C, Harris AG, Reichenspurner H, Seifert S, Thiel, M, and Messmer K (2000): First visualisation of microvessels and rolling leukocytes during cardiac surgery in man using OPS imaging. *Anesthesiology* 92: 632
11. Chu DH, Loomis CA (2004): Structure and Development of the Skin and Cutaneous Appendages. In: Polin RA, Fox WW, Abman SH (Hrsg.): *Fetal and Neonatal Physiology*. Saunders, Philadelphia, 589-596
12. Daubeney PEF, Pilkington SN, Janke E, Charlton GA, Smith DC, Webber SA (1996): Cerebral Oxygenation Measured by Near-Infrared Spectroscopy: Comparison With Jugular Bulb Oximetry. *Ann Thorac Surg* 61: 930-934
13. De Backer D, Creteur J, Vincent J-L (2000): Use of Orthogonal Polarization Spectral Imaging in Intensive Care. *Prog Appl Microcirc. Basel, Karger* 24: 104-109
14. Dollberg S, Atherton H, Hoath S (1998): Changes in skin blood flow over the foot with warming of the contralateral heel. *Acta Paediatr* 87: 416-418
15. Fagrell B, Intaglietta M (1997): Microcirculation: its significance in clinical and molecular medicine. *J Intern Med* 241: 349-362
16. Genzel-Boroviczény O, Strötgen J, Harris AG, Messmer K, Christ F (2002): Orthogonal Polarization Spectral Imaging (OPS): A Novel Method to Measure Microcirculation in Term and Preterm Infants Transcutaneously. *Pediatr Res* 51: 386-391

17. Genzel-Boroviczény O, Christ F, Glas V (2004): Blood transfusion increases Functional Capillary Density in the skin of anemic preterm infants. *Pediatr Res* 56: 751-755
18. Groner W, Winkelman JW, Harris AG, Ince C, Bouma GJ, Messmer K, Nadeau RG (2000): Orthogonal polarization spectral imaging: A new method for study of the microcirculation. *Nat Med* 5/10: 1209-1213
19. Harpin VA, Rutter N (1983): Barrier properties of the newborn infant's skin. *J Pediatr* 102: 419-425
20. Harris AG, Leiderer R, Peer F, Messmer K (1996): Skeletal muscle microvascular and tissue injury after varying durations of ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 40: 2388-2398
21. Harris AG, Sinitsina I, Messmer K (2002): Validation of OPS imaging for microvascular measurements during isovolumic hemodilution and low hematocrits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282: 1502-1509
22. Harris AG, Sinitsina I, Messmer K (2000): The Cytoscan Model E-II, a New Reflectance Microscope for Intravital Microscopy: Comparison with Standard Fluorescence Method. *J Vasc Res* 37: 469-476
23. Harris AG, Sinitsina I, Messmer K (2000): Quantitative Analysis of Orthogonal Polarization Spectral Images. Validation in the Hamster Dorsal Skinfold Chamber. *Prog Appl Microcirc.* Basel, Karger 24: 21-31
24. Hartung C (2003): Biomechanik-Übersicht. [www.ubicampus.mh-hannover.de/~bmt/bio\\_index\\_1.php](http://www.ubicampus.mh-hannover.de/~bmt/bio_index_1.php)
25. Hoath SB (2004): Physiologic Development of the Skin. In: Polin RA, Fox WW, Abman SH (Hrsg.): *Fetal and Neonatal Physiology*. Saunders, Philadelphia, 597-611

26. Intaglietta M (2000): Intravital Microscopy: State of Art. Prog Appl Microcirc. Basel, Karger 24: 1-8
27. Jahnukainen T, Lindqvist A, Jalonen J, Kero P, Välimäki I (1996): Reactivity of skin blood flow and heart rate to thermal stimulation in infants during the first postnatal days and after a two-month follow-up. Acta Paediatr 85: 733-738
28. Johnson CL, Hohlbrook KA (1989): Development of Human Embryonic and Fetal Dermal Vasculature. J Invest Dermatol 93: 10-17
29. Kalia YN, Nonato LB, Lund CH, Guy RH (1998): Development of Skin Barrier Function in Premature Infants. J Invest Dermatol 111: 320-326
30. Kellam K (1997): A Laser Doppler Anemometer for measuring blood cell velocities in perpendicular capillary loops. KK Technology
31. KK Technology: Cam1 and CapiScope User Manual version 3.0 Edition Published 03/07/2004 Copyright © 2004 by KK Technology
32. Klitzman B, Braun RD, Lockhart AC, Heller L, Dewhirst MW, Hurwitz HI (2000): Wound-Induced Angiogenesis: A Clinical Model. Prog Appl Microcirc Basel, Karger 24: 110-114
33. Klyszcz T, Jünger M, Jung F, Zeintl H (1997): Cap image - a newly developed computer-aided videoframe analysis system for dynamic capillaroscopy. Biomed Technik 42: 168-175
34. Laemmel E, Tadayoni R, Sinitsina I, Boczkowski J, Vicaut E (2000): Using Orthogonal Polarization Spectral Imaging for the Experimental Study of Microcirculation: Comparisons with Intravital Microscopy. Prog Appl Microcirc Basel, Karger 24: 50-60

35. Langer S, Born F, Hatz R, Biberthaler P, Messmer K (2002): Orthogonal Polarization Spectral Imaging versus Intravital Fluorescent Microscopy for Microvascular Studies in Wounds. *Ann Plast Surg* 48: 646-653
36. Langer S, Harris AG, Biberthaler P, von Dobschütz E, Messmer K (2001): OPS Imaging as a tool for the assessment of hepatic microcirculation. *Transplantation* 71: 1249-1256
37. Langer S, von Dobschütz E, Harris AG, Krombach F, Messmer K (2000): Validation of the Orthogonal Polarization Spectral Imaging Technique on Solid Organs. *Prog Appl Microcirc* 24: 32-46
38. Linderkamp O, Stadler AA, Zilow EP (1992): Blood Viscosity and Optimal Hematokrit in Preterm and Full-Term Neonates in 50- to 500 µm Tubes. *Pediatr Res* 32: 97-102
39. Linderkamp O, Strohhacker I, Versmold HT, Klose H, Riegel KP, Betke K (1978): Peripheral Circulation in the Newborn: Interaction of Peripheral Blood Flow, Blood Pressure, Blood Volume, and Blood Viscosity. *Eur J Pediatr* 129: 73-81
40. Linderkamp O, Versmold HT, Riegel KP, Betke K (1984): Contributions of red cells and plasma to blood viscosity in preterm and full term infants and adults. *Pediatrics* 74: 45-51
41. Lindert J, Werner J, Redlin M, Kuppe H, Habazettl H, Pries AR (2002): OPS Imaging of Human Microcirculation: A Short Technical Report. *J Vasc Res* 39: 368-372
42. Mathura KR, Bouma GJ, Ince C (2001): Abnormal microcirculation in brain tumors during surgery. *Lancet* 358: 1698-1699
43. Mathura KR, Ince C (2000): First clinical Use of Orthogonal Polarization Spectral Imaging. *Prog Appl Microcirc* 24: 94-101

44. Mathura KR, Vollebregt KC, Boer K, De Graaff JC, Ubbink DT, Ince C (2001): Comparison of OPS imaging and conventional capillary microscopy to study the human microcirculation. *J Appl Physiol* 91: 74-78
45. Meek J (2002): Basic principles of optical imaging and application to the study of infant development. *Dev Sci* 5: 371-380
46. Menger DM, Laschke MW, Amon M, Schramm R, Thorlaciuc H, Rück M, Vollmar B (2003): Experimental models to study microcirculatory dysfunction in muscle ischemia-reperfusion and osteomyocutaneous flap transfer. *Langenbecks Arch Surg. Springer, Heidelberg* 388: 281-290
47. Menke J, Voss U, Moller G, Jorch G (2003): Reproducibility of cerebral near infrared spectroscopy in neonates. *Biol Neonate* 83: 6-11
48. Nadeau RG, Groner W (2000): Orthogonal Polarization Spectral Imaging: State of Art. *Prog Appl Microcirc. Basel, Karger* 24: 9-20
49. Nagdyman N, Fleck TPK, Ewert P, Abdul-Khaliq H, Redlin M, Lange PE (2003): Cerebral oxygenation measured by near-infrared spectroscopy during circulatory arrest and cardiopulmonary resuscitation. *Br J Anaesth* 91
50. Noble M, Voegeli D, Clough GF (2003): A comparison of cutaneous vascular responses to transient pressure loading in smokers and nonsmokers. *JRRD* 40: 283-288
51. Nolte D, Zeintl H, Steinbauer M, Pickelmann S, Messmer K (1995): Functional capillary density: an indicator of tissue perfusion. *Int J Microcirc Clin Exp* 15: 244-249
52. Norman M, Fagrell B, Herin P (1992): Effects of neonatal polycythemia and hemodilution on capillary perfusion. *J Pediatr* 121: 103-108

53. Norman M, Fagrell B, Herin P (1993): Skin microcirculation in neonatal polycythaemia and effects of haemodilution. Interaction between haematocrit, vasomotor activity and perfusion. *Acta Pediatr* 82: 672-677
54. Norman M, Herin P, Fagrell B (1992): An evaluation of skin capillary blood flow determinations in neonates using a computerized videophotometric method. *Microvasc Res* 43: 276-284
55. Norman M, Herin P, Fagrell B, Zetterström R (1988): Capillary blood cell velocity in full-term infants as determined in skin by videophotometric microscopy. *Pediatr Res* 23: 585–588
56. Northern Neonatal Nursing Initiative (1999): Systolic blood pressure in babies of less than 32 weeks gestation in the first year of life. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 80: 38-42
57. Perera P, Kurban AK, Ryan TJ (1970): The development of the cutaneous microvascular system in the newborn. *Br J Dermatol* 82: 86–91
58. Pöschel J, Weiss T, Diehm C, Linderkamp O (1991): Periodic Variations in Skin Perfusion in Full-Term and Preterm Neonates Using Laser Doppler Technique. *Acta Pediatr Scand* 80: 999-1007
59. Roemer VM (1998): Gedanken und Beobachtungen zum Management der Frühgeburtlichkeit. *Gynäkologisch-geburtshilfliche Rundschau* 38: 131-142
60. Roos R, Proquitté H, Genzel-Boroviczény O (2000): *Neonatologie: Das Neo-ABC*. Georg Thieme Verlag
61. Ruef P, Linderkamp O (1999): Deformability and Geometry of Neonatal Erythrocytes with Irregular Shapes. *Pediatr Res* 45: 114-119
62. Rutter T (2000): The dermis. *Semin Neonatol* 5: 297-302

63. Ryan TJ (1998): Development of the cutaneous circulation. In: Polin RA, Fox WW (Hrsg.): Pathophysiology of the Fetus and Neonate. Saunders, Philadelphia, 752–761
64. Schaudig S, Dadasch B, Kellam K, Christ F (2001): Validation of an analysis software for OPS Imaging used in humans. Proceedings of the 7th World Congress for Microcirculation 2-59
65. Schaudig S, Schiessler C, Harris AG, Reichensperner H, Messmer K, Christ F (2001): Intravital microscopy in humans following circulatory arrest for surgery of the ascending aorta. J Vasc Res 38: 502
66. Schießler C, Schaudig S, Harris AG, Christ F (2002): Orthogonal polarization spectral imaging. Anaesthesist 51: 576-579
67. Schubert I, Horch K, Kahl H, Köster I, Meyer C, Reiter S (2004): Schwerpunktbericht der Gesundheitsberichterstattung des Bundes: Gesundheit von Kindern und Jugendlichen. Robert Koch Institut, Berlin ISBN 3-89606-149-6
68. Serri F, Montagna W, Huber WM (1963): Studies of Skin of Fetus and the Child. Arch Dermatol 87: 144-155
69. Smith LT, Holbrook KA (1986): Embryogenesis of the Dermis in Human Skin. Pediatr Dermatol 3: 271-280
70. Stadler A, Linderkamp O (1989): Flow Behaviour of Neonatal and Adult Erythrocytes in Narrow Capillaries. Microvasc Res 37: 267-279
71. Stozik KS, Pieper CH, Cools F (1998): Capillary refilling time in newborns—optimal pressing time, sites of testing and normal values. Acta Paediatr 87: 310–312

72. Thiel M, Zourelidis C, Peter K (1996): Die Rolle der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten in der Pathogenese des akuten Lungenversagens (ARDS). *Anaesthesist* 45: 113-130
73. Tsai AG, Friesenecker B, Intaglietta M (1995): Capillary Flow Impairment and Functional Capillary Density. *Int J Microcirc* 15: 238-243
74. Uhl E, Lehmborg J, Steiger HJ, Messmer K (2000): Intraoperative Observation of Human Cerebral Microcirculation. *Prog Appl Microcirc. Basel, Karger* 24: 72-81
75. Vink H, Duling BR (1996): Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leukocytes within mammalian capillaries. *Circ Res* 79: 581-589
76. Weidlich K, Kroth J, Hiedl S, Bauer A, Christ F, Genzel-Boroviczény (2005): Functional Capillary Density as an early marker of infection in preterm neonates. Pediatric Academic Societies' (PAS) 2005 Annual Meeting, Poster Session, Washington D.C., USA
77. Westkamp E, Soditt V, Adrian S, Bohnhorst B, Groneck P, Poets CF (2002): Blood transfusion in anemic infants with apnoea of prematurity. *Biol Neonate* 82: 228-232
78. Wolf M, Bucher HU, Dietz V, Keel M, von Siebenthal K, Duc G (1997): How to Evaluate Slow Oxygenation Changes to Estimate Absolute Cerebral Haemoglobin Concentration by Near Infrared Spectrophotometry. *Adv Exp Med Biol* 411: 495-501
79. Wu PYK, Wong WH, Guerra G, Miranda R, Godoy RR, Preston B, Schoentgen S, Levan NE (1980): Peripheral Blood Flow in the Neonate. 1. Changes in Total, Skin, and Muscle Blood Flow with Gestational and Postnatal Age. *Pediatr Res* 14: 1374-1378



80. Zilow EP, Linderkamp O (1989): Viscosity Reduction of Red Blood Cells from Preterm and Full-Term Neonates and Adults in Narrow Tube (Fahraeus-Lindqvist Effect). *Pediatr Res* 25: 595-597

## 8 Lebenslauf

Julia Isabel Gabriele Kroth, geb. am 14.08.1979 in München.

### Schulbildung

1986 – 1988	Meisenburgschule (Grundschule), Essen
1988 – 1990	Grandlschule (Grundschule), München
1990 – 1999	Karls-gymnasium, München
	Allgemeine Hochschulreife

### Studium

1999 – 2006	Studium der Humanmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität, München
09/2002	1. Staatsexamen
09/2004	2. Staatsexamen
04/2006	3. Staatsexamen

### Famulaturen

02 – 03/2002	Kardiologie und Pulmologie (Leitung: Prof. Dr. med. Harald Mudra), Krankenhaus Neuperlach, München
09 – 10/2002	Nephrologie (Leitung: Sharon Adler, M.D.), Harbor UCLA Research & Education Institute, Los Angeles, USA
08/2003	Anästhesie (Leitung: Juan Pablo Ilic), Clinica Alemana, Santiago de Chile Chirurgie (Leitung: James Hamilton), Hospital Padre Hurtado, Santiago de Chile
09 – 10/2003	Plastische Chirurgie, Praxis Prof. Dr. med. Christian J. Gabka, München

## **Praktisches Jahr**

- 04 – 07/2005 Chirurgie, UniversitätsSpital Zürich, Schweiz  
Unfallchirurgie (Leitung: Prof. Dr. med. O. Trentz)  
Viszeralchirurgie (Leitung: Prof. Dr. med. Pierre-Alain Clavien)
- 08 – 09/2005 Innere Medizin, Hornsby Hospital, Northern Clinical School,  
University of Sydney, Australien  
Gastroenterologie (Leitung: Robert Read MD)
- 10 – 11/2005 Innere Medizin, Krankenhaus München Schwabing  
Hämatologie/Onkologie (Leitung: Prof. Dr. med. Christoph Nerl)
- 12/2005 – 03/2006 Wahlfach, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Dermatologie (Leitung: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Gerd Plewig)

## **Dissertation**

- 2002 – 2006 Klinische Doktorarbeit bei Frau Prof. Dr. O. Genzel-Boroviczény  
in der Neonatologie am Klinikum Großhadern und an der  
Frauenklinik, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-  
Universität, München

## 9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Orsolya Genzel-Boroviczény für die Vergabe des Themas und die hervorragende Betreuung der Doktorarbeit.

Mein herzlicher Dank gilt auch Herrn Dr. med. Lars Kellner für die Rekrutierung der Patienten und die Betreuung auf der neonatologischen Intensivstation in Großhadern. Ich möchte mich ebenfalls sehr herzlich bei dem Pflegepersonal für die gute Zusammenarbeit und die fachliche Anleitung bedanken. Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Stephan Hiedl für die Zusammenarbeit und die Betreuung am Klinikum Innenstadt bedanken.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Prof. Dr. med. Frank Christ für die Bereitstellung des Cytoscan<sup>TM</sup> A/R Geräts und bei Herrn Dr. med. Andreas Bauer für die Betreuung und die Hilfe mit dem Bildanalyse-System CapiScope.

Last but not least möchte ich mich bei meiner Familie für ihre uneingeschränkte Unterstützung, ihre Geduld und ihr Vertrauen bedanken. ∞