

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im
Dr. von Haunerschen Kinderspital
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Ehemaliger Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Dietrich Reinhardt
Jetziger Direktor: Prof. Dr. med. Dr. sci. nat. Christoph Klein

Mikrozirkulation der Haut und Intima-Media-Dicke bei ehemaligen extrem kleinen Frühgeborenen

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

vorgelegt von
Ha-Na Lee
aus
Augsburg
2012

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

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

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Eberhard Uhl
Prof. Dr. med. Marc Dellian

Mitbetreuung durch die
promovierten Mitarbeiter: -

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Maximilian Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 26. April 2012

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1 Einleitung..... | 1 |
| 1.1 Frühgeborene | 1 |
| 1.1.1 Epidemiologie | 1 |
| 1.1.2 Frühgeburtlichkeit und ihre Spätfolgen..... | 2 |
| 1.1.3 Ernährung..... | 2 |
| 1.2 Intima-Media-Dicke..... | 5 |
| 1.2.1 Historische Entwicklung..... | 5 |
| 1.2.2 Heutige klinische Bedeutung von Gefäßveränderungen | 6 |
| 1.2.3 Messmethoden: Angiographie vs. B-Mode Ultraschall | 7 |
| 1.2.4 Messung an der schallkopffernen Wand..... | 8 |
| 1.2.5 Aufbau der Arterienwand | 9 |
| 1.2.6 Entstehungsmechanismen der Arteriosklerose | 10 |
| 1.3 Grundlagen der Mikrozirkulation..... | 13 |
| 1.3.1 Entwicklung | 13 |
| 1.3.2 Aufbau und Funktion | 14 |
| 1.3.3 Bedeutung bei Krankheitsentstehung | 14 |
| 1.3.4 Messmethoden der Mikrozirkulation | 15 |
| 1.4 Fragestellung der Studie..... | 19 |
| 2 Patienten und Methoden..... | 20 |
| 2.1 Einverständniserklärung..... | 20 |
| 2.2 Studiengruppe und Studienprotokoll..... | 20 |
| 2.3 Messung der Intima-Media-Dicke der A. carotis communis..... | 21 |
| 2.4 Messung der Mikrozirkulation..... | 24 |
| 2.5 Auswertung der Videosequenzen der Mikrozirkulation..... | 28 |
| 2.6 Statistische Auswertung | 32 |
| 3 Ergebnisse | 33 |
| 3.1 Intima-Media-Dicke..... | 33 |
| 3.2 Mikrozirkulation unter Ruhebedingungen | 34 |
| 3.3 Mikrozirkulation während arteriellem Verschluss..... | 35 |
| 3.3.1 Gefäßdichte innerhalb der Gruppen..... | 36 |
| 3.3.2 Gefäßdichte im Vergleich | 36 |
| 3.3.3 Fläche innerhalb der Gruppen | 40 |
| 3.3.4 Fläche im Vergleich..... | 40 |

| | |
|---|-----------|
| 3.3.5 Prozentualer Anteil kleiner Gefäße..... | 43 |
| 3.3.6 Prozentualer Anteil mittlerer Gefäße..... | 43 |
| 3.4 Mikrozirkulation nach Öffnen des arteriellen Verschlusses..... | 43 |
| 4 Diskussion | 47 |
| 4.1 Intima-Media-Dicke..... | 47 |
| 4.2 IMT und das kardiovaskuläre Risiko | 49 |
| 4.3 Mikrozirkulation unter Ruhebedingungen | 51 |
| 4.4 Mikrozirkulation während arteriellem Verschluss..... | 53 |
| 4.5 Mikrozirkulation nach arteriellem Verschluss | 54 |
| 4.6. Mikrozirkulation und das kardiovaskuläre Risiko | 58 |
| 4.7 Limitationen der Studie | 62 |
| 4.7.1 IMT-Studie..... | 62 |
| 4.7.2 Mikrozirkulation-Studie | 63 |
| 5 Zusammenfassung..... | 66 |
| Literaturverzeichnis..... | 68 |
| Danksagung..... | 79 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 1-1: Entstehungsmechanismus der Atherosklerose..... | 12 |
| Abbildung 1-2: Entwicklung der Mikrozirkulation beim Neugeborenen | 14 |
| Abbildung 1-3: Funktionsprinzip der OPS-Imaging-Technik..... | 18 |
| Abbildung 2-1: Messung der IMT in der A. carotis communis | 24 |
| Abbildung 2-2: Prinzip der SDF-Mikroskopie..... | 25 |
| Abbildung 2-3: Aufbau des MikroScanSystems | 26 |
| Abbildung 2-4: Einstellung der Fokustiefe | 27 |
| Abbildung 2-5: Übersicht der Messzeitpunkte..... | 28 |
| Abbildung 2-6: Typische Aufnahme anhand der SDF-Methode | 31 |
| Abbildung 3-1: IMT der A. carotis communis im Vergleich..... | 33 |
| Abbildung 3-2: FVD und Fläche unter Ruhebedingungen im Vergleich..... | 34 |
| Abbildung 3-3: FVD während arteriellem Verschluss im Vergleich..... | 37 |
| Abbildung 3-4: Veränderungen der FVD während arteriellem Verschluss im Vergleich .. | 39 |
| Abbildung 3-5: FVD Δ zwischen Frühgeborenen (FG) und der Kontrollgruppe (KG). Summe aller negativen bzw. positiven Veränderungen und eine Bilanz. | 39 |
| Abbildung 3-6: Fläche während arteriellem Verschluss im Vergleich. | 41 |
| Abbildung 3-7: Gesamtverlauf der Veränderungen hinsichtlich der FVD..... | 44 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Tabelle 1-1: Bedarf der Frühgeborenen im Vergleich..... | 3 |
| Tabelle 1-2: Zusammensetzung drei verschiedener Formula-Typen | 4 |
| Tabelle 1-3: Validierungsstudien der OPS und SDF-Bildgebung..... | 18 |
| Tabelle 2-1: Daten der Studiengruppe..... | 20 |
| Tabelle 2-2: Gefäßeinteilung nach Durchmesser | 30 |
| Tabelle 3-1: FVD, Fläche, Anteil kleiner und mittlerer Gefäße in Ruhe. | 35 |
| Tabelle 3-2: Vergleich der FVD während arteriellem Verschluss | 37 |
| Tabelle 3-3: Vergleich der FVD Δ während arteriellem Verschluss..... | 38 |
| Tabelle 3-4: Vergleich der Fläche während arteriellem Verschluss..... | 41 |
| Tabelle 3-5: Vergleich der Fläche Δ während arteriellem Verschluss. | 42 |
| Tabelle 3-6: Fläche Δ - Summen im Vergleich. | 42 |
| Tabelle 3-7: Veränderungen der FVD und Fläche nach arteriellem Verschluss..... | 44 |
| Tabelle 3-8: FVD Δ und Fläche Δ zu definierten Zeitpunkten im Vergleich | 46 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------|--|
| µm | Mikrometer |
| ACC | Arteria carotis communis |
| CCD | charged couple device, Halbleiterdetektor mit der Fähigkeit, Licht in eine Punktmatrix umzuwandeln und die Helligkeitswerte jedes einzelnen Punktes als digitales Signal wiederzugeben |
| ELBW | extremely low birth weight (Geburtsgewicht < 1000 g) |
| FCD | Funktionelle Kapillardichte |
| FG | Frühgeborenes |
| FMD | flow-mediated dilation, flussinduzierte Vasodilatation |
| FVD | functional vessel density, funktionale Gefäßdichte |
| HDL | high density lipoprotein |
| IMT | intima-media thickness |
| IVM | Intravitalmikroskopie |
| kcal | Kilokalorien |
| kgKG | Kilogramm pro Körpergewicht |
| KG | Kontrollgruppe |
| LBW | low birth weight, niedriges Geburtsgewicht |
| LDF | Laser-Doppler-Fluxmetrie |
| LDL | low density lipoprotein |
| LED | Leuchtdiode |
| M-CSF | macrophage colony-stimulating factor |
| MHz | Megahertz |
| mmHg | Millimeter Quecksilbersäule |
| NaCl | Natriumchlorid |
| NIRS | Nah-Infrarot Spektroskopie |
| nm | Nanometer |
| OPS | orthogonal polarization spectral imaging, orthogonale polarisations-spektrale Bildgebung |
| RR | systemischer Blutdruck |
| s | Sekunde |
| SDF | sidestream dark field imaging |
| VEGF | Vascular endothelial growth factor |

1 Einleitung

1.1 Frühgeborene

Als Frühgeborene werden Neugeborene bezeichnet, die vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche zur Welt kommen. Welche Prognose diese Kinder haben, hängt insbesondere vom Entwicklungsstand und Geburtsgewicht ab. Es benötigt eine optimale medizinische Betreuung und perinatales Management, um mögliche Komplikationen frühzeitig zu erkennen und zu behandeln.

1.1.1 Epidemiologie

Jedes Jahr kommen ca. 50000 Kinder in Deutschland zu früh auf die Welt. Der Anteil von Frühgeborenen in der Bundesrepublik Deutschland liegt demnach bei rund 7 %. Bis zu 1,5 % erblicken das Licht der Welt vor der vollendeten 32. Schwangerschaftswoche und haben oft ein Gewicht von nicht einmal 1500 g, die sogenannten sehr kleinen Frühgeborenen (74). Die perinatale Mortalität der Lebendgeborenen mit einem Geburtsgewicht zwischen 500 g und 1500 g nahm im Verlauf der Jahre 1983 bis 1992 von 26,5 % auf 13,3 % mit absteigender Tendenz ab (112). Die Überlebensfähigkeit dieser sehr unreifen Kinder hat sich in den letzten Jahren deutlich verbessert. Überlebten in den 70er Jahren nur rund 15-40 % die Neonatalperiode, so waren es in den 80er Jahren bereits 60-75 %. Heute liegt die Überlebenschance etwa bei > 90 % bei einem Geburtsgewicht unter 1500 g und bei > 75 % der Neugeborenen mit einem Gewicht von 600-1000 g (74). Die Säuglingssterblichkeit im Allgemeinen zählt traditionell zu den wichtigsten Parametern, um die gesundheitliche Lage einer Bevölkerung und medizinische Betreuung von Schwangeren und Neugeborenen zu beurteilen. In den letzten Jahrzehnten ist sie in Deutschland erheblich gesunken. Lag die Säuglingssterblichkeit im Jahre 1990 noch bei 7,1 Säuglingssterbefällen (pro 1000 Lebendgeborenen), so waren es 2008 nur noch 3,5 (pro 1000 Lebendgeborenen). Dabei weisen Mädchen eine bessere Prognose auf als Jungen. Im Jahre 2009 ereigneten sich mehr als die Hälfte aller Säuglingssterbefälle in den ersten sieben Lebenstagen nach Geburt (Statistisches Bundesamt 2011). Im Vergleich zu verschiedenen Regionen Europas stellt Deutschland optimale Bedingungen zur Versorgung Frühgeborener bereit und zeigt exzellente Resultate (145).

1.1.2 Frühgeburtlichkeit und ihre Spätfolgen

Das Grundproblem all dieser kleinen Frühgeborenen ist ihre Unreife der Organsystemen und –funktionen. Bereits in den ersten Tagen und Wochen resultiert daraus ein höheres Risiko für bestimmte typische Komplikationen, wie nekrotisierende Enterokolitis, Atemnotsyndrom, bronchopulmonale Dysplasie, Retinopathia praematurorum etc. (91)

Seit geraumer Zeit ist bekannt, dass geringes Geburtsgewicht das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen, Schlaganfall (76;78), koronare Herzerkrankungen (5;78), arterielle Hypertonie (26;115) und Diabetes mellitus (5) erhöht. Auch die Endothelfunktion kann bei einem Geburtsgewicht unter 2500 g beeinträchtigt sein (45;88). Ursachen für ein niedriges Geburtsgewicht sind sowohl intrauterine Wachstumsretardierung als auch Frühgeburtlichkeit. Die Überlebensrate frühgeborener Kinder steigt aufgrund verbesserter medizinischer Maßnahmen stetig an. Nun stellt sich die Frage, ob Frühgeburtlichkeit per se als Risikofaktor für spätere kardiovaskuläre Erkrankungen angesehen werden kann. Insbesondere Kinder mit sehr niedrigem Geburtsgewicht < 1500 g wurden untersucht und die Ergebnisse mit besonderem Interesse verfolgt. Zahlreiche Studien belegten den Zusammenhang mit Frühgeburtlichkeit und erhöhtem Blutdruck (50;58;62;66), erhöhter Insulinresistenz (57;58;110) und Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems (61). Auch Einschränkungen in der Mikrozirkulation, die z. B. mit einer verminderten Gefäßdicke und steiferen Gefäßen einherging, konnten aufgezeigt werden (13;55). Hierzu herrschen allerdings widersprüchliche Meinungen (13;125).

1.1.3 Ernährung

Die Aktivität von Verdauungsenzymen im Gastrointestinaltrakt ist bereits ab 20 SSW gewährleistet. Auch unreife Frühgeborene besitzen schon die Fähigkeit, kurzkettige Kohlenhydrate und Proteine zu resorbieren. Allerdings können diese aufgrund geringer Lipaseaktivität und niedriger Gallensäuremenge nur unvollständig aufgenommen werden. Bereits nach 22 Gestationswochen sind intrauterin Saugbewegungen des Mundes zu erkennen, aber eine effektive Saug-Schluck-Koordination wird erst mit 32-34 Gestationswochen erlangt. Zu diesem Zeitpunkt sind auch koordinierte antegrade peristaltische Bewegungen im Magen-Darm-Trakt sichtbar. Aufgrund geringer körpereigener Reserven sind Frühgeborene daher auf eine optimale Zufuhr von außen angewiesen. Nahrungsempfehlungen v.a. extrem kleiner Frühgeborener basieren auf der Annahme, dass die Wachstumsrate, so wie sie intrauterin vorherrscht, auch für

Frühgeborene optimal sei. Somit streben Ärzte im Rahmen des perinatalen Managements eine postnatale Wachstumsrate an, die in etwa dem Wachstum *in utero* zum gleichen postkonzeptionalen Zeitpunkt entspricht. Am besten gewährleistet wird dies im Allgemeinen durch enterale Nahrungsweise. Der frühzeitige Einsatz enteraler Ernährung ist jedoch aufgrund des unreifen Gastrointestinaltrakts eingeschränkt. Um dennoch eine adäquate Menge an Kalorien (120-130 kcal/kg/d), Aminosäuren (3-3,5 g/kg/d), Fetten (3,54 g/kg/d), Vitaminen und Mineralien bereitzustellen, wird zunächst überwiegend parenteral ernährt. Indikationen für den Beginn einer parenteralen Ernährung sind ein Geburtsgewicht < 1000 g, ein Geburtsgewicht von 1000-1500 g plus eine eingeschränkte enterale Ernährung von mindestens 3 Tagen oder ein Geburtsgewicht > 1500 g plus Einschränkungen von mindestens 5 Tagen. Das optimale Mengenverhältnis im Rahmen der parenteralen Ernährung besteht zu 50-55 % Kohlenhydraten, 10-15 % Proteinen und 30-35 % Fett (23). Mit zunehmender Reife des frühgeborenen Kindes folgt der Einsatz einer enteralen Ernährung. Zu Beginn vertragen Frühgeborene nur sehr kleine Nahrungsmengen (3-5 ml pro Mahlzeit). Muttermilch stellt hierfür den „Goldstandard“ dar, die jedoch mit Kalorien, Proteinen, Mineralstoffen, wie Phosphat, Kalzium angereichert werden muss, da ein sehr hoher Nahrungsbedarf besteht. Die Vorteile der Muttermilch sind in der guten Verträglichkeit, dem Schutz vor Darminfektionen (IgA, Laktoferrin, Leukozyten) und der frühen Beteiligung der Mutter an der Versorgung ihres Kindes zu sehen. Als adäquate Alternative steht speziell industriell angefertigte Formelnahrung (Formula) zur Verfügung. Die folgende Tabelle 1-1 zeigt den Bedarf von extrem bzw. sehr kleinen Frühgeborenen in den ersten Lebenswochen im Vergleich.

Tabelle 1-1: Bedarf der Frühgeborenen im Vergleich (47;128)

| | ELBW < 1000 g | VLBW > 1000 g | Reifgeborene |
|-----------------------|---------------|---------------|--------------|
| Flüssigkeit [ml/kg/d] | 150 – 200 | 135 – 190 | 130 |
| Kalorien [kcal/kg/d] | 110 – 120 | 110 – 130 | 110 |
| Protein [g/kg/d] | 3,8 – 4,4 | 3,4 – 4,2 | 2 |

Zahlreiche Nahrungsstoffe, besonders Kohlenhydrate, und Wachstumsfaktoren regulieren hierbei die optimale Entwicklung des Gehirns während der Fetalzeit und frühen Postnatalzeit. Besonders während der 24.-42. SSW finden verschiedenste Prozesse auf neurologischer Ebene ab, wie z.B. Formierung von Synapsen, Myelinisierung, Synthese

und Aktivierung von Wachstumsfaktoren. Das Gehirn stellt ein sich äußerst rasch entwickelndes Organ dar und reagiert sensibel auf fehlende Nahrungsstoffe. Dies verdeutlicht sein immenses Maß an Plastizität. Dabei spielen eine ausreichende Menge an Proteinen, Kalorien, bestimmten Fetten, Eisen, Zink, Kupfer etc. eine wichtige Rolle. Besonders eine mangelnde Zufuhr an Proteinen und Kalorien führen sowohl zu globalen als auch zu lokalen Defiziten, z.B. am Hippocampus oder Kortex (41). Dies verdeutlicht, weshalb eine optimale Ernährung und ausreichende Zufuhr an Nährstoffen eine derart wichtige Rolle bei der Behandlung von Frühgeborenen spielt.

Auch nach Entlassung aus der Klinik ist ein kontinuierliches Monitoring von Größe, Kopfumfang und Gewicht ausgesprochen wichtig, um eine optimale Entwicklung des Kindes zu gewährleisten und Komplikationen zu vermeiden. Eine individuelle Betreuung und Beratung ist notwendig, um ein Über- bzw. Untergewicht des Kindes im Verlauf zu vermeiden. Es wird empfohlen, nach Klinikentlassung entweder angereicherte Muttermilch zu verabreichen oder spezielle *postdischarge formula*, die im Vergleich zur Frühgeborenen-Formelnahrung zwar weniger nährreich, im Gegensatz zur Standard-Formelnahrung jedoch reicher an Proteinen, Kalorien, Mineralien und Spurenelementen sind. Diese sollte mindestens bis zur 40. SSW p.c., besser bis zur 52. SSW p.c. gegeben werden. Tabelle 1-2 gibt eine kurze Übersicht hinsichtlich der Zusammensetzung in drei verschiedenen Formula-Typen.

Tabelle 1-2: Zusammensetzung drei verschiedener Formula-Typen (1)

| | Standard-F. | Postdischarge-F. | Frühgeborenen-F. |
|------------------------|-------------|------------------|------------------|
| Protein [g/100 ml] | 1,4 – 1,5 | 1,8 – 1,9 | 2,2 – 2,3 |
| Kalorien [kcal/100 ml] | 67 | 72 – 74 | 80 – 90 |
| Calcium [mg/100 ml] | 35 – 54 | 70 – 80 | 100 – 108 |
| Protein [g/100 kcal] | ± 2,2 | ± 2,5 | ± 2,8 |

Allerdings ist in der Ernährungsweise des Frühgeborenen Vorsicht geboten. Studien belegten, dass eine zu rasche Gewichtszunahme einen negativen Einfluss auf die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen im Erwachsenenalter nehmen könnte (35;36). Sowohl SINGHAL *et al.* als auch BEN-SHLOMO *et al.* postulierten, dass weniger der absolute Wert als vielmehr der Zeitpunkt der Gewichtszunahme von entscheidender Bedeutung ist. Als kritisches Zeitfenster für das Wachstum werden die ersten zwei Lebenswochen

angesehen. Frühgeborene mit langsamer Gewichtszunahme zeigten eine bessere FMD (*flow-mediated endothelium-dependent dilatation*) als Frühgeborene raschen Wachstums oder Reifgeborene. Dadurch lag die Vermutung nahe, dass sich rasches Wachstum negativ auf das kardiovaskuläre System auswirkt (7;123). Eine weitere Studiengruppe zeigte jedoch, dass eine Gewichtszunahme auch erst in der Kindheit mit der Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen als auch des Diabetes Typ 2 assoziiert ist (31). Was jedoch einem optimalen Größenwachstum entspricht, ist bis heute noch nicht geklärt.

1.2 Intima-Media-Dicke

Seit mehreren Jahrzehnten steht kaum eine Krankheit so im Blickfeld der medizinischen und biochemischen Forschung wie die Arteriosklerose. Sie gilt heute als Ausgangspunkt für die häufigsten Todesursachen in Deutschland, denn an der Spitze hierfür stehen laut Angaben des Statistischen Bundesamts für Deutschland (Daten vom 23.11.2009) die chronische ischämische Herzkrankheit und der akute Myokardinfarkt. Zu den klassischen zerebrovaskulären Risikofaktoren zählen Hypercholesterinämie, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Nikotin, Alter, Bewegungsmangel etc. (143) Die Entstehung von arteriosklerotischen Plaques kann in Industrieländern mit „westlichem“ Ernährungsstil bereits im Kindesalter beginnen (130). Demnach sind Präventions- und Früherkennungsmaßnahmen von besonderer Bedeutung.

1.2.1 Historische Entwicklung

Bereits im Jahre 1982 zeigten JAMES *et al.*, dass im Rahmen von Ultraschalluntersuchungen die Arterienwand durch zwei parallele echoreiche und eine echoarme Struktur sichtbar wird, dem sog. Doppellinienmuster (*double line pattern*). Mithilfe eines hochauflösenden Ultraschallgerätes konnten zuverlässig atheromatöse Plaques entdeckt werden. Die Studie zeigte, dass die Ergebnisse der sonographischen Darstellung sehr gut mit denen der Angiographie korrelierten und sogar besser frühe oder milde Plaques aufspüren konnten.

Erstmals seit Ende der 80er Jahre ist es möglich, die Dicke der Arterienwand mithilfe hochauflösenden Ultraschalls direkt zu messen (103;104). Die Arterienwand besteht aus drei verschiedenartigen, voneinander getrennten Schichten, nämlich der Intima, Media und

Adventitia. Atherosklerose greift die Intima an und führt letztlich zu einer Verdickung dieser Schicht. (142). Zahlreiche Studien zeigten Korrelationen zwischen klassischen zerebrovaskulären Risikofaktoren und der IMT (= *intima-media thickness*) der A. carotis communis (ACC). Daher kann eine nachweisbare Verdickung als frühes Stadium der Arteriosklerose angesehen werden (16;46;54;98).

Die Validierung der IMT-Messung stützt sich auf die Ergebnisse von PIGNOLI *et al.* 1986, die die Grundlagen zur sonographischen Darstellung (B-Mode) der IMT legten. Sie verglichen als erste *in vitro* und *in vivo* Messungen der IMT der ACC. Messwerte der IMT, die über ein Ultraschallgerät aufgenommen und ausgewertet wurden und im analogen histologischen Präparat auf Übereinstimmung hin überprüft wurden, zeigten keine signifikanten Unterschiede (103). Einige Jahre später bewiesen auch WONG *et al.* eine sehr gute Korrelation mit den pathophysiologischen Messungen (144). Allerdings konnten nur bei Messungen in der schallkopffernen Wand präzise Ergebnisse erzielt werden (141;144).

Die sonographische Darstellung der IMT gilt als gut reproduzierbar und dient als zuverlässige Methode, um das Ausmaß der Atherosklerose und das kardiovaskuläre Risiko zu bestimmen (17;27;83;99;113).

1.2.2 Heutige klinische Bedeutung von Gefäßveränderungen

Ab dem mittleren Lebensalter nimmt die Menge an Kollagen und Proteoglykanen in den größeren Arterien stetig zu. In der Intima vermehrt sich v.a. der Gehalt an extrazellulären Matrixkomponenten und auch die Zahl glatter Muskelzellen steigt (140). Diese physiologischen Vorgänge führen dazu, dass die Dicke des Intima-Media-Komplexes mit dem Alter zunehmen (37;114). Außerdem weisen Männer eine dickere Intima-Media auf als Frauen gleichen Alters (16;87). Dieser physiologische Prozess leitet zu pathologischen Vorgängen über, die letztlich zur Arteriosklerose (Verhärtung der Arterienwand) führen. Die Progression bleibt jedoch so lange klinisch stumm, bis die Läsion einen irreversiblen Zustand erreicht, sodass es sich lohnt, frühe Manifestationen durch eine erhöhte IMT rechtzeitig zu erkennen.

Zahlreiche Studien befassten sich mit den Themen, welche Auswirkungen Gefäßveränderungen auf das Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen haben und ob die IMT zur Einschätzung des atherosklerotischen Risikos prognostisch genutzt werden

kann. Diese Studien zeigten, dass die Dicke der Intima-Media positiv assoziiert ist sowohl mit der Prävalenz (19) und Inzidenz (15;21) von koronaren Herzerkrankungen als auch mit der Inzidenz von Schlaganfall (15;20;71). Die IMT gilt als starker Indikator und Risikofaktor für die Entstehung von Arteriosklerose und damit von kardiovaskulären Erkrankungen (46). Eine erhöhte IMT der A. carotis ist direkt assoziiert mit einem erhöhten Risiko für Myokardinfarkt und Schlaganfall auch bei älteren Patienten, die keine positive Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen besitzen (97). Selbst bei Jüngeren (< 50 Jahren) konnte die IMT-Messung einen guten Vorhersagewert für zukünftige vaskuläre Ereignisse erzielen (85).

Die Entstehung von Arteriosklerose kann in Industrieländern bereits im Kindesalter beginnen und ist beschleunigt, sofern Risikofaktoren vorhanden sind (130;143). Maternale Hypercholesterinämie während der Schwangerschaft führt vermutlich zu einer anatomischen Umstrukturierung der fetalen Arterienwand, sodass bei diesen Kindern schon im Alter von drei Jahren oder jünger *fatty streaks* nachgewiesen werden konnten (92). Kinder mit Diabetes mellitus Typ 1 und familiärer Hypercholesterinämie wiesen ebenfalls eine erhöhte IMT auf. IMT-Werte korrelierten dabei deutlich mit systolischen Blutdruckwerten, dem Gesamtcholesterin, der Insulindosis und dem Erkrankungsbeginn (25;64;65;109). Auch bei gesunden Kindern konnte eine positive Assoziation zwischen systolischem Blutdruck und der Intima-Media-Dicke der Karotiden festgestellt werden (81). SKILTON und Mitarbeiter wiesen nach, dass Neugeborene mit intrauteriner Wachstumsretardierung, sog. SGAs (= *small for gestational age*), ebenfalls eine signifikant erhöhte Dicke der Aorta besitzen (126).

1.2.3 Messmethoden: Angiographie vs. B-Mode Ultraschall

Die Angiographie gilt als Goldstandard zur Beurteilung der Intima-Media Dicke. Sie stellt eine sehr genaue Untersuchungsmethode dar, um die Morphologie der Karotiden zu beschreiben. Ein Schwachpunkt liegt zwar in der Erkennung nicht-stenotischer ulzerativer arteriosklerotischer Veränderungen im Gefäß, jedoch zeigt sie mit höchster Genauigkeit intraluminal Thromben, Stenosen, extra- und intrakranielle Gefäßverschlüsse an (63).

Aufgrund des hohen Risikos als invasive Messmethode und den hohen Kosten, die damit verbunden sind, wurden neue nicht-invasive Techniken entwickelt, um so auch Karotiden von asymptomatischen Risikopatienten beurteilen zu können. Der hochauflösende

Ultraschall im B-Mode (= *brightness*, Helligkeitsmodus) ist hierfür am besten geeignet. Anhand von Sonden im Bereich von 7 bis 12 MHz werden strukturelle Veränderungen, wie z.B. atheromatöse Plaques, direkt visualisiert. JAMES und Mitarbeiter führten 1982 die erste prospektive Studie durch, in der der hochauflösende Ultraschall erstmals zur Beurteilung der IMT eingesetzt wurde. Dieses Ultraschallgerät entdeckte zuverlässig atheromatöse Plaques, wobei seine Ergebnisse sehr gut mit denen der Angiographie korrelierten, und zeigte sogar einen kleinen Vorsprung im Aufspüren von frühen oder milden Plaques. Allerdings entdeckte man damals nur unzuverlässig Stenosen, Ulzerationen, intraluminale Thromben und Gefäßverschlüsse (63). In den darauffolgenden Jahren gelang es PIGNOLI *et al.* als auch WONG *et al.*, Korrelationen zwischen histologischen Auswertungen der IMT und Ultraschallmessdaten vorzuzeigen und etablierten damit die sonographische Messung als zuverlässige Beurteilung der Gefäßdicke (103;144). In den 90er Jahren wurde die Gefäßwandverdickung durch Messung der IMT mehrfach quantifiziert, v.a. in den beiden breit angelegten epidemiologischen, longitudinalen Bevölkerungsstudien, der *Atherosclerosis Risk in Communities Study* und der *Cardiovascular Health Study*. Zahlreiche Studien, die sich mit Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren befassten, folgten. Sie zeigten, dass der hochauflösende Ultraschall eine zuverlässige, genaue Methode mit hohem Vorhersagewert für koronare Ereignisse und Myokardinfarkt darstellt (56;138). Zudem gilt er als präziser und sensitiver Marker, um das Risiko für Atherosklerose bereits im Kindesalter einzuschätzen (64). Weiterhin zeigt der hochauflösende Ultraschall zahlreiche Vorteile gegenüber der Angiographie. Er ist schmerzlos, nicht-invasiv, günstig, ohne Strahlenbelastung, schnell durchführbar und leicht erlernbar.

1.2.4 Messung an der schallkopffernen Wand

Die Dicke einer anatomischen Struktur, wie der Intima-Media-Komplex, ist definiert als der Abstand zwischen den Vorderkanten (*leading edges*) von zwei verschiedenen echoreichen Schalls (103;144). Auch wenn sich die Bilder des Intima-Media-Komplexes sowohl der schallkopfnahen als auch der schallkopffernen Wand ähnlich sind, kann die Dicke nur in der schallkopffernen Wand der A. carotis communis und im Bulbus valide und präzise gemessen werden (142). WONG *et al.* beurteilten 1993 die Korrelation zwischen histologischen und Ultraschallmessungen der IMT mithilfe eines 7-MHz Schallkopfes. Während einer Autopsie wurden 36 Männern Abschnitte der A. carotis communis und der A. femoralis entfernt. In der schallkopfnahen Wand zeigte die

sonographisch aufgenommene IMT eine um 20 % dünnere Schicht als die korrespondierenden histologischen Abschnitte. Dahingegen war in der schallkopffernen Wand kein signifikanter Unterschied sichtbar, sodass hier Ultraschallaufnahmen mit großer Genauigkeit aufgenommen werden können (144). Eine Voraussetzung, um die Grenze zwischen Adventitia und Media in der schallkopfnahen Wand definieren zu können, ist, dass das Schallbild der Adventitia das Echo der Adventitia-Media-Grenzfläche nicht überlappt. Da die Adventitia-Schicht höher gelegen und sehr echoreich ist, gehen mögliche Schallwellen der Grenzfläche verloren und können somit nicht sichtbar gemacht werden (142). Auch aus diesem Grund wird empfohlen, die IMT stets anhand der schallkopffernen Wand zu beurteilen.

1.2.5 Aufbau der Arterienwand

Zur Beurteilung der IMT und zum Verständnis der Auswertungen ist es sinnvoll, den Aufbau der Arterienwand einmal genauer zu betrachten. Die Wand der Arterie besteht grundsätzlich aus drei konzentrisch angeordneten Schichten.

a) Tunica intima (*Intima*):

Alle Gefäße sind mit einem einschichtigen Plattenepithel, dem Gefäßendothel, ausgekleidet. Sie stellt die innerste Schicht und damit die entscheidende Barriere zwischen Blut und Interstitium dar. Durch ihre antithrombogene Oberfläche verhindert sie eine spontanen Blutgerinnung. Außerdem kontrolliert sie den Gefäßtonus und damit die Blutgefäßweite durch Abgabe von Vasokinen. Am Endothel liegt eine Bindegewebsschicht an, die aus dem zarten Subendothel und der Membrana elastica interna zusammengesetzt ist.

b) Tunica media (*Media*):

Die Media bildet meist die breiteste Wandschicht. Durch ihre muskuläre Wandung, die aus mehreren Lagen glatter Muskelzellen und Bindegewebsfasern aufgebaut ist, ist sie in der Lage, die Gefäßwand gegen die Dehnungskräfte des Blutdrucks zu stabilisieren. Nach außen hin ist sie durch die Membrana elastica externa begrenzt.

c) Tunica externa (*Adventitia*):

Die Adventitia besteht vorwiegend aus Kollagenfibrillen, zahlreichen elastischen Fasern sowie Fibroblasten. Sie verankert das Gefäß in der Umgebung und enthält alle versorgenden Nerven und Blutgefäße (*Nervi et Vasa vasorum*).

Zudem kann man im Aufbau der Arterien zwischen einem elastischen Typ und einem muskulären Typ unterscheiden. Zu den Arterien elastischen Typs zählen alle herznahen Gefäße (Aorta, Anfangsabschnitt der A. pulmonalis, A. brachiocephalica, A. subclavia, A. iliaca communis). Der Hauptunterschied liegt im Aufbau der Media. Der elastische Typ weist viele konzentrisch angeordnete Elastinlamellen auf mit dazwischen gelegener glatter Muskulatur. Das Elastin wird während der Systole des Herzens gedehnt. In der Diastole kann durch deren Rückstellkräfte das Blut gleichmäßig weiterbefördert werden, sodass ein kontinuierlicher Blutfluss gewährleistet wird (Windkesselfunktion). Ohne diesen würden daraus während der Diastole Unregelmäßigkeiten im Blutfluss resultieren, die u.a. die Bildung von Blutgerinnseln fördern können. In Arterien muskulären Typs hingegen stehen glatte Muskelzellen im Vordergrund. Diese sind überwiegend dicht gepackt und mehr oder weniger zirkulär angeordnet. Zu ihnen zählen alle mittelgroßen und kleinen Arterien (8;140).

1.2.6 Entstehungsmechanismen der Arteriosklerose

Unter Arteriosklerose zählen alle Veränderungen, die zu Verhärtung, Elastizitätsverlust und Lumeneinengung führen. Im Rahmen der Arteriosklerose ist die Atherosklerose die häufigste Ausprägungsform und ist v.a. an den zerebralen, koronaren und peripheren Arterien vorzufinden. Entsprechende Äquivalente hierfür stellen folgende Erkrankungen dar: Transitorische ischämische Attacke, Apoplex, Angina pectoris, Myokardinfarkt, Claudicatio intermittens, Gangrän etc. Somit stellt die Arteriosklerose den Ausgangspunkt für den Hauptanteil der zum Tode führenden Krankheiten dar.

Der Entstehungsvorgang ist geprägt von Fettablagerungen (v.a. Cholesterol) in der Intima der Gefäßwand (*fatty streaks*). Dieses Protein stammt aus LDL-Partikeln (= *low density lipoprotein*). Aufgrund Mikroverletzungen und hämodynamischer Fehlbeanspruchung des Endothels passiert der Lipoprotein-Komplex durch Prädilektionsstellen die Endothelbarriere. Aus diesem Grund findet die Ausbildung bevorzugt an Stellen mit turbulenter Strömung statt und ist verstärkt bei erhöhtem Blutdruck und Diabetes mellitus. Über interzelluläre Lücken und vermehrte clathrin-vermittelte Transzytose gelangt das LDL in das Subendothel, wo es durch reaktive Sauerstoffverbindungen oxidiert wird. Dies gilt als wichtigster Trigger für das Eindringen von Leukozyten in den subendothelialen Raum. Das OX-LDL (oxidiertes LDL) stimuliert nun Endothelzellen zur Expression von leukozytären Adhäsionsmolekülen und zur Abgabe von Zytokinen und M-CSF (=

macrophage colony-stimulating factor). Makrophagen und T-Lymphozyten wandern daraufhin aus der Blutbahn in die Intima ein. Diese Makrophagen phagozytieren das OX-LDL mit ihrem sog. *Scavenger*-Rezeptor. Aufgrund fehlender negativer Rückkopplung überladen sich die Makrophagen mit Lipiden und wandeln sich in Schaumzellen um. Diese Schaumzellen häufen sich an und wölben sich zu atheromatöse Plaques vor. Dieser Zustand gilt als noch reversibel, da das Cholesterin durch ATP-getriebenen Transport aus den Schaumzellen exportiert werden kann. Voraussetzung hierfür ist jedoch die Veresterung des Cholesterins mit Fettsäuren. Es wird an Apo-Lipoprotein E gebunden, an HDL-Cholesterin (= *high density lipoprotein*) transferiert und kann schließlich ins Blut abtransportiert werden. Somit wird deutlich, dass das HDL-Cholesterin als Schutzfaktor eine wichtige Rolle einnimmt. Versagt dieser Mechanismus allerdings, so führt dies zur Apoptose der Schaumzellen. Sie platzen und hinterlassen extrazelluläres Cholesterin in der Intima (Abbildung 1-1). Das Cholesterin bildet die kristalline Masse der Plaques, in die sich allmählich Calciumsalze einlagern und Bindegewebszellen einsprossen (Atherosklerose). Das Fibrose- und Intimawachstum wird stimuliert durch Wachstumsfaktoren und Zytokine der Makrophagen (PDGF, TGF- α/β , FGF-1/2) und eingewanderten T-Lymphozyten (Interferon- γ). Glatte Muskelzellen wandern in die Intima ein, wandeln sich in metabolisch aktive Zellen um und bilden viel extrazelluläre Matrix (Matrixproteoglykane und -kollagen). Die Plaques bestehen nun aus einem lipidreichen Kern, eingebettet in einer Bindegewebsmatrix und glatten Muskelzellen. Häufig entstehen auch Verkalkungen. Auf diese Weise entsteht langsam eine fibröse Bindegewebskapsel, die die Plaque stabilisiert und sie zum Lumen hin abgrenzt. Auch das OX-LDL selbst stimuliert die Einwanderung glatter Muskelzellen. Dieser Vorgang unterliegt dem Prozess des „positiven Remodelling“. Das Plaqueswachstum geht zunächst mit einer Zunahme des Gefäßdurchmessers einher, sodass relativ große Plaques ohne Stenose vorkommen können. Übersteigt die Plaquelast jedoch > 40 % des Gefäßquerschnitts, so führt dies bei weiterer Progression zur Stenosierung des Gefäßes und letztlich zur Minderversorgung des abhängigen Gewebes (8;121).

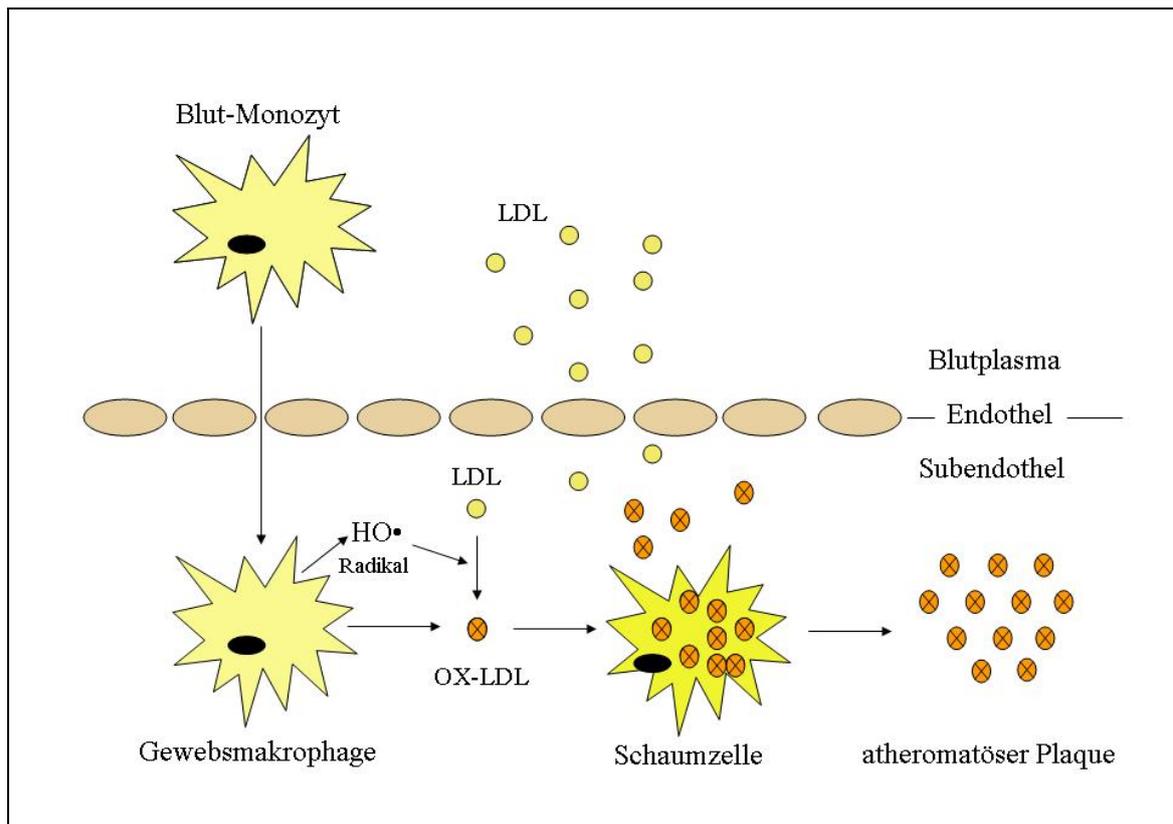


Abbildung 1-1: Entstehungsmechanismus der Atherosklerose

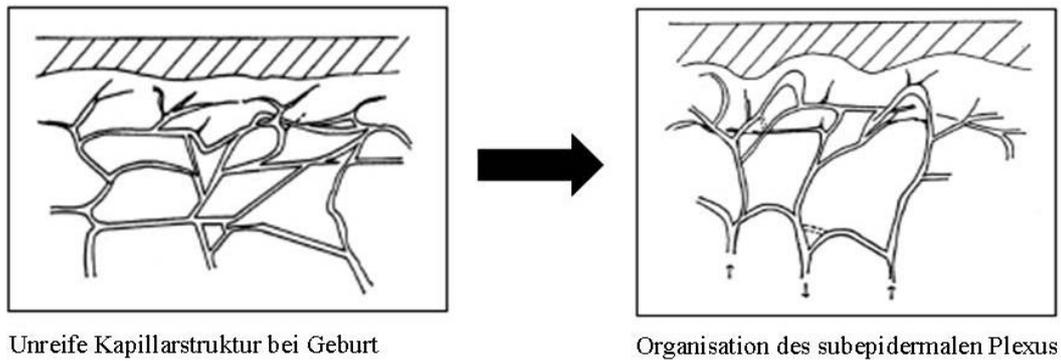
1.3 Grundlagen der Mikrozirkulation

Das Blutgefäßsystem sticht durch beeindruckende Zahlen hervor. Mit einer Gesamtlänge von 20000-40000 km (Erdumfang!) und einer inneren Oberfläche von ca. 1000 m² wird sie in die sog. Makro- (Arterien, Venen) und Mikrozirkulation (Arteriolen, Kapillaren, Venulen) unterteilt (8). Die Mikrozirkulation ist definiert als Blutzirkulation mit Austauschvorgängen zwischen Blut und Interstitium im Bereich der Endstrombahn (108). Zum einen stellt sie die kleinste funktionelle Einheit des kardiovaskulären Systems dar, zum anderen wechseln in ihr bis zu 80000 l Flüssigkeit pro Tag (111). Durch Interaktion zwischen Blut und Gewebe dient sie als Voraussetzung für das Überleben der Zellen. Der Fluss in den Widerstandsgefäßen, Arteriolen, Kapillaren und Venulen sowie die Dichte dieses Gefäßnetzwerks nehmen hierbei Einfluss auf die Entwicklung der Mikrozirkulation.

1.3.1 Entwicklung

Die Mikrozirkulation der Haut beim Erwachsenen zeichnet sich durch einen superfizialen Gefäßplexus ab, der parallel zur Haut orientiert ist. Zahlreiche Kapillarschlingen gehen davon ab, verlaufen vertikal zur Hautoberfläche und ziehen in die Papillen der epidermalen Grenze. Alle großen hautversorgenden Gefäße ziehen durch die Unterhaut, nur die kleinsten Gefäßäste steigen in die Dermis auf.

Die Mikrozirkulation des Neugeborenen ist durch seine noch unreife Struktur und seine hauptsächlich horizontale Anordnung charakterisiert. Bereits bei Geburt zeigt sich ein dichter subepidermaler Plexus, der nur geringe regionale Unterschiede aufweist, jedoch noch ein sehr ungeordnetes, kapilläres Netzwerk besitzt. Ausnahmen hierfür stellen lediglich Handinnenfläche, Fußsohle und Nagelfalz dar, wo noch keine papillären Kapillarschlingen sichtbar sind. Beim Neugeborenen wird Haut von dichten subepidermal gelegenen Gefäßplexus versorgt, hier ist also die mittlere und tiefe Lederhaut reich vaskularisiert. Gegen Ende der ersten Lebenswoche nimmt das Netzwerk eine zunehmend geordnetere Struktur an (Abb. 1-2). In der zweiten Woche erscheinen kleine papilläre Schlingen als diskrete oberflächliche Erweiterungen und Knospen. Bereits nach 10 Tagen nimmt die Mikrozirkulation an Hand und Fuß die Struktur derer eines Erwachsenen an. Die Entwicklung an Unterarmen und Beinen benötigt hierfür noch einige Wochen länger. Bis zur 17. Lebenswoche erlangt die Mikrozirkulation in allen Hautarealen einen adulten Aufbau.



Unreife Kapillarstruktur bei Geburt

Organisation des subepidermalen Plexus

Abbildung 1-2: Entwicklung der Mikrozirkulation beim Neugeborenen (101)

Beobachtungen der Mikrozirkulation bei Frühgeborenen haben gezeigt, dass die Entwicklung von Kapillaren nicht mit dem Alter nach Geburt, sondern stets mit dem Gewicht korreliert. Dies resultiert in einem sehr viel unreiferen und zarteren Gefäßaufbau in der Haut des Frühgeborenen (90;101;119).

1.3.2 Aufbau und Funktion

Im eigentlichen Sinn umfasst die Mikrozirkulation alle Blutgefäße (Arteriolen, Kapillaren, Venulen) bis zu einem Durchmesser von max. 150 μm . Sie bewerkstelligt die vielfältigsten Aufgaben, hierunter zählen der Gasaustausch, die Verteilung von Nährstoffen, gleichzeitig der Abtransport von Stoffwechselendprodukten, der Wärmetransport, die Regulation der Leukozytenadhäsion und z. T. die Kontrolle der Gerinnungshomöostase. Somit nimmt sie eine wichtige Rolle in der Gewebsernährung und Sauerstoffversorgung ein (80;137). Um all diese Funktionen gewährleisten zu können, sind in den verschiedenen Geweben und Organen die Gefäße durch einen unterschiedlichen histologischen Aufbau charakterisiert. Funktionelle Unterschiede insbesondere des Gefäßendothels sind von enormer Bedeutung. So lassen sich im Bereich der Kapillaren je nach Organ- und Gewebeart morphologisch kontinuierliche, gefensterte und diskontinuierliche Endothelzellmonolayer voneinander differenzieren. Diese Heterogenität resultiert in unterschiedlichen interzellulären Signalwegen, sodass dieselben externen Stimuli zu verschiedenen Antwortreaktionen der Mikrozirkulation führen können (72).

1.3.3 Bedeutung bei Krankheitsentstehung

Eine intakte Mikrozirkulation ist von großer Bedeutsamkeit für eine adäquate nutritive Versorgung des Gewebes, die letztlich die Organfunktion gewährt. Sind diese

Mechanismen nicht mehr gewährleistet, so treten Veränderungen sowohl im Rahmen akuter als auch chronischer Erkrankungen auf. Dabei nimmt die Mikrozirkulation eine Schlüsselrolle in der Entstehung des septischen Schocks ein. So zeigten DE BACKER *et al.*, dass bei Sepsis-Patienten häufig Veränderungen des Blutflusses vorzufinden sind, die mit einer Verminderung der Gefäßdichte und reduzierter Anzahl perfundierter kleiner Gefäße ($< 20 \mu\text{m}$) einhergehen, wobei Patienten mit schlechtem Outcome eine wesentlich deutlichere Minderperfusion und Verminderung der Dichte vorwiesen (29). Zahlreiche weitere Studien bestätigten dies (60;129). Eine bedeutende Anzahl weiterer Erkrankungen existiert, darunter Multiorganversagen (117) schweres Herzversagen (28) oder Diabetes (133), die durch Dysfunktion der Mikrozirkulation charakterisiert sind. Zudem haben Änderungen der Mikrozirkulation eine entscheidende Bedeutung in der Entwicklung chronischer Krankheiten, so z.B. in der Pathophysiologie des Bluthochdrucks. Viele Studien zeigten, dass arterielle Hypertonie mit einer verminderten Gefäßdichte und einem höheren Anteil kleiner Gefäße einhergeht (4;38;105;120). Dies ist klinisch von derartiger Bedeutung, dass durch Messungen der kutanen Mikrozirkulation frühe Manifestationsstufen essentieller Hypertonie bei normotensive Patienten mit genetischer Prädisposition frühzeitig erkannt und somit adäquat behandelt werden könnten (2;94).

1.3.4 Messmethoden der Mikrozirkulation

Die Messung der Mikrozirkulation ist zunehmend in das Interesse der Forschung gerückt, da hierdurch Veränderungen der Gewebepfusion frühzeitig sichtbar werden. Die Analyse der Mikrozirkulation bietet die Möglichkeit, sowohl Physiologie als auch Pathophysiologie bei der Entwicklung von Krankheiten genauer nachzuvollziehen. Wegen ihrer leichten Zugänglichkeit wird sie v.a. an der Haut gemessen. Einige wichtige Methoden, die Aussagen über die Gefäße in der Haut zulassen, werden im Folgenden beschrieben (32).

Laser-Doppler-Fluxmetrie (LDF)

Diese Methode basiert auf Frequenzverschiebungen von Laser-Licht, das durch sich bewegende Partikel, wie Erythrozyten, gestreut wird. Sie misst temporäre Variationen des Blutflusses innerhalb kleinvolumiger Bereiche ($0,5 \text{ mm}^3$) von Organoberflächen und berechnet somit die mittlere Geschwindigkeit in allen untersuchten Gefäßen. Gerade dies führt jedoch zu bedeutenden Einschränkungen im Messverfahren, da Durchschnittsangaben bzgl. des Blutflusses in der Mikrozirkulation keine Auskünfte über

die Heterogenität des Flusses geben können, welche im Grunde ein charakteristisches Merkmal der Mikrozirkulation darstellt.

Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS)

Absolutwerte des Gewebe-Oxygenations-Index und des Gewebe-Hämoglobin-Index sowie Veränderungen des oxygenierten und desoxygenierten Hämoglobins können anhand der Nah-Infrarot-Spektroskopie non-invasiv gemessen werden. Nah-Infrarotlicht durchdringt ohne Probleme biologisches Gewebe. Hämoglobin besitzt ein genau definiertes Absorptionsspektrum, das durch die Bindung an Sauerstoff beeinflusst wird. Anhand der Analyse des verminderten Pigmentspektrums kann der Oxygenierungsstatus des Gewebes genau beurteilt werden. Allerdings lassen sich mit dieser Methode nur relative Veränderungen des Hämoglobins darstellen. Auch die Vielzahl an NIRS-Geräten, die zu unterschiedlichen Werten führt und somit nur auf den jeweiligen Patienten zutrifft, lässt keinen Vergleich mit anderen Patienten zu.

Intravitalmikroskopie (IVM)

Die Beurteilung der Mikrozirkulation in vivo anhand der Intravitalmikroskopie gilt als Goldstandard. Durch Transillumination kann dünnes Gewebe leicht untersucht werden, dickere Oberflächen von Organen benötigen aber den Einsatz von kontrastverstärkenden Fluoreszenzfarbstoffen. Die fluoreszierende Strahlung kann jedoch toxische Effekte hervorrufen und bewirkt im menschlichen Körper phototoxische Reaktionen (116;131). Aus diesem Grund findet diese Untersuchungsmethode hauptsächlich in Tiermodellen ihre Anwendung, was uns zahlreiche wissenschaftliche Erkenntnisse bzgl. der Funktion der Mikrozirkulation und ihrer Bedeutung bei der Krankheitsentstehung erbrachte. Durch den Einsatz von Kontrastmittel und der unhandlichen Größe der herkömmlichen Geräte fasst die Intravitalmikroskopie im klinischen Alltag und in der Forschung nur schwer Fuß. IVM-Studien beschränken sich daher meist auf Messungen im Nagelfalz, da hier keine Fluoreszenzfarbstoffe nötig sind (132). Allerdings ist die klinische Bedeutung hierbei sehr fraglich, da die Mikrozirkulation sehr empfindlich auf äußere Temperaturveränderungen reagiert und somit die Reproduzierfähigkeit immens eingeschränkt ist. Zu den alternativen Messorten zählt Gewebe, in denen die Gefäße einen sehr oberflächlichen Verlauf einnehmen, wie z.B. Haut, Lippe, Zunge, Auge (32).

Orthogonale polarisationsspektrale Bildgebung (OPS)

Im Jahre 1987 beschrieben SLAAF *et al.* und Mitarbeiter erstmals eine neu entwickelte Technik zur Messung der Mikrozirkulation durch den Einsatz von grünem polarisiertem Licht (127). Dieses Konzept wurde in den darauffolgenden Jahren ausgearbeitet (11;48;60;118). GRONER *et al.* entwickelten schließlich ein handliches Gerät zur Messung der Mikrozirkulation, sodass erstmals Veränderungen *in vivo* ohne dem Einsatz von Kontrastmittel mithilfe der sog. orthogonalen polarisationsspektralen (OPS)-Bildgebung wahrgenommen werden konnten. Diese erlaubte eine direkte visuelle Darstellung der Mikrozirkulation von Geweboberflächen und Organen sowohl in klinischen als auch experimentellen Studien.

Mithilfe spezieller Optiken werden Bilder im Auflichtverfahren generiert (= Epiillumination), wodurch Erythrozyten in Echtzeitaufnahme direkt sichtbar gemacht werden können. Das Prinzip der orthogonalen polarisationsspektralen Bildgebung beruht auf den Absorptionseigenschaften des Hämoglobins in den Erythrozyten. Hierfür wird weißes Licht gebündelt, gelangt durch einen Spektralfilter, um die erforderliche Wellenlänge von 548 nm zu isolieren, und wird linear polarisiert. Bei dieser Wellenlänge werden sowohl Oxy- als auch Desoxyhämoglobin gleichermaßen absorbiert, da sich diese am isobestischen Punkt (Wellenlänge, bei der zwei chemische Substanzen gleichermaßen absorbieren) befindet. Das polarisierte Licht gelangt über einen Strahlteiler (*beam splitter*) im 90°-Winkel auf das zu untersuchende Gewebe. Eine Objektivlinse fokussiert nun das Licht auf einem Bereich von ca. 1 mm Durchmesser. Das reflektierte depolarisierte Licht durchdringt erneut den Strahlteiler, passiert einen zweiten Polarisator (Analysator), der orthogonal zum ersten Polarisator steht, und dient nun als virtuelle Lichtquelle in der Tiefe des Gewebes. Die Lichtstrahlen, die vom Gewebe zurückgeschickt wurden, werden von derselben Objektivlinse eingefangen und gebündelt, sodass das durchgelassene Licht schließlich die „*charge-coupled device*“ (CCD) Videokamera erreicht. Der zweite Polarisator hat außerdem die Funktion, das reflektierte polarisierte Licht zu eliminieren, sodass dieses nicht mehr zur Bildgebung beitragen kann (siehe Abb. 1-3).

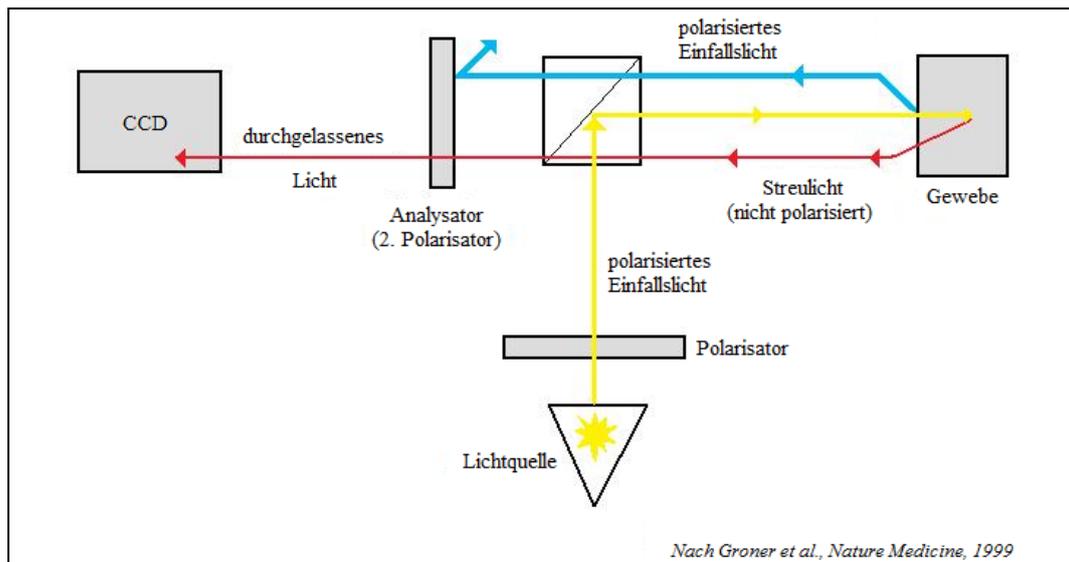


Abbildung 1-3: Funktionsprinzip der OPS-Imaging-Technik

Dieses Verfahren wurde bereits mehrfach gegen die Intravitalmikroskopie sowohl an Tiermodellen als auch am Menschen erprobt und validiert (Tab. 1-3).

Tabelle 1-3: Validierungsstudien der OPS und SDF-Bildgebung (32)

| Autor | Technik | Versuchsobjekt | Gewebe | Bedingung | Ergebnis |
|---------------|----------------|---|-----------------------------|--|--|
| Harris (51) | IVM vs. OPS | 10 Hamster | Rückenfalte | Ischämie/ Reperfusion | gute Übereinstimmung: Fließgeschwindigkeit RBC, Gefäßdurchmesser |
| Mathura (89) | IVM vs. OPS | 10 gesunde Probanden | Nagelfalz | Ruhezustand, nach venösem Verschluss | gute Übereinstimmung: Fließgeschwindigkeit RBC, Kapillardurchmesser; bessere Kontrast mit OPS |
| Langer (77) | IVM vs. OPS | 9 Ratten | Leber | Ischämie/ Reperfusion | gute Übereinstimmung: Fließgeschwindigkeit RBC, Gefäßdurchmesser |
| Harris (52) | IVM vs. OPS | 9 Hamster | Rückenfalte | standardisierte Hämodilution | gute Übereinstimmung: Gefäßdurchmesser, FCD (abhängig vom Hämatokrit) |
| Goedhart (42) | OPS vs. SDF | 10 gesunde Probanden 2 gesunde Probanden | Nagelfalz sublingual | Ruhezustand, Ischämie | gute Übereinstimmung: Fließgeschwindigkeit RBC, Kapillardurchmesser; höherer Kontrast und bessere Qualität mit SDF |

1.4 Fragestellung der Studie

Im Mittelpunkt unseres Interesses stand die Frage, ob sich eine protein- und kalorienreichere Ernährung postnatal positiv auf die körperliche Verfassung ehemaliger Frühgeborener im Kindesalter hinsichtlich der Dicke des Intima-Media-Komplexes in der A. carotis communis und dermalen Mikrozirkulation auswirkt.

Ein Teil dieser Arbeit war es, die Dicke und Flexibilität der Intima-Media an der A. carotis communis sonographisch zu bestimmen. Hierbei sollten folgende Fragen beantwortet werden:

1. Lassen sich signifikante Unterschiede der IMT-Werte im Vergleich zu altersabhängigen Normalwerten feststellen?
2. Besteht ein Zusammenhang zwischen Veränderungen der IMT und einem erhöhten kardiovaskulären Risiko frühgeborener Kinder trotz besserer Ernährung?

Ehemalige frühgeborene Kinder besitzen häufig zudem eine eingeschränkte Mikrozirkulation mit herabgesetzter Kapillardichte und erhöhtem Blutdruck. Ziel im Rahmen der non-invasiven Darstellung der kutanen Mikrozirkulation war die Auseinandersetzung mit folgenden Fragen:

1. Gibt es Unterschiede im Ruhezustand?
2. Wie verändern sich die Parameter der Mikrozirkulation – Kapillardichte, Kapillarfläche und Gefäßdurchmesser – während und nach einem kurzfristigen arteriellen Verschluss?
3. Lassen sich hierbei Unterschiede bei Frühgeborenen und gesunden Probanden finden?
4. Inwiefern gibt es einen Zusammenhang zwischen Veränderungen der Mikrozirkulation und erhöhtem kardiovaskulären Risiko frühgeborener Kinder trotz besserer Ernährung?

2 Patienten und Methoden

2.1 Einverständniserklärung

Die vorliegende Studie wurde in der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital durchgeführt. Die Datenerhebung und die Durchführung der Untersuchungen wurden von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt. Sowohl mindestens ein Elternteil als auch das Kind selbst erteilten uns schriftlich die Genehmigung zur Teilnahme an der Studie und Veröffentlichung der Daten in anonymisierter Form.

2.2 Studiengruppe und Studienprotokoll

79 extrem kleine Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht < 1000 g, die in der Zeit von Januar 1995 bis Dezember 1999 im Universitätsklinikum Großhadern geboren wurden und bereits Teil einer vorangegangenen Studie nach DIEKMANN *et al.* 2005 waren, wurden zur Teilnahme an einer Nachuntersuchung ehemaliger Frühgeborener nach ca. 10 Jahren eingeladen (33). Ausschlusskriterien der Originalstudie waren Kinder mit schwerwiegenden angeborenen Fehlbildungen sowie mit nekrotisierender Enterokolitis. Unsere Studiengruppe umfasste letztlich 54 ehemalige Frühgeborene (29 Mädchen und 25 Knaben) mit einem Gestationsalter von 23+5 bis 30+4 SSW und einem Geburtsgewicht < 1000 g. Die Datenerhebung erfolgte im Alter von 9–14 Jahren. Detailliertere Angaben können der Tabelle 2-1 entnommen werden.

Tabelle 2-1: Daten der Studiengruppe (Mittelwert \pm SD)

| | Frühgeborene (n = 54) | Kontrollgruppe (n = 12) | p - Wert |
|--------------------------|-----------------------|-------------------------|----------|
| Mädchen (%) | 30 (56) | 5 (42) | |
| Gestationsalter (Wochen) | 26,4 \pm 1,8 | 39,4 \pm 1,2 | < 0,0001 |
| Geburtsgewicht (g) | 753 \pm 152 | 3361 \pm 564 | < 0,0001 |
| Alter (Jahre) | 11,8 \pm 1,5 | 10,4 \pm 1,0 | 0,005 |
| Größe (cm) | 147 \pm 12 | 146 \pm 9 | 0,74 |
| Gewicht (kg) | 37,3 \pm 10,6 | 36,8 \pm 8,2 | 0,97 |

Den Termin zur Messung der Intima-Media-Dicke konnten 7 Familien nicht wahrnehmen, sodass hier nur 47 Kinder, darunter 28 Mädchen und 19 Jungen, statistisch ausgewertet werden konnten.

Um Vergleichswerte für die Mikrozirkulation zu erhalten, wurden 16 gesunde Kinder im Alter von 10-13 Jahren untersucht. Angaben zur Schwangerschaft als auch anthropometrische Daten zum Zeitpunkt der Untersuchung beruhen auf schriftlichen Angaben der Eltern. Genaue Daten lagen nur für 12 Kontrollkinder vor.

2.3 Messung der Intima-Media-Dicke der A. carotis communis

Die Messung der Intima-Media-Dicke an der A. carotis communis erfolgte anhand eines hochauflösenden Ultraschalls im B-Mode. Für eine präzise Messung und genaue Auswertung muss jedoch eine Vielzahl an Punkten beachtet werden, die im Folgenden genauer erörtert werden.

2.3.1 Messprinzip

Auflösung

Ein Bildpunkt (Pixel) in einem Ultraschallbild (7-MHz Schallkopf) entspricht ca. 0,08 mm (abhängig vom Gerät). Jeder einzelne Messpunkt weist eine max. Abweichung vom wahren Wert auf, die max. der Hälfte eines Pixels entspricht, also 0,04 mm. Bei Messung der IMT wird jedoch der Abstand zwischen zwei echoreichen Grenzen gemessen, sodass jeweils zwei Messpunkte markiert werden. Hierfür liegt die max. Abweichung bei 0,08 mm und unterscheidet sich vom wahren Wert mit einer Standardabweichung von 0,03 mm.

Messungen innerhalb eines Abschnittes von 10 mm enthalten somit max. 125 Messpunkte ($10/0,08 = 125$). Vorausgesetzt sind mindestens zehn verschiedene unabhängige Messorte. Unser System berechnet 64 Messorte. Dies bedeutet, dass der Messfehler in einem 10 mm-Abschnitt nur $0,03/\sqrt{64} \approx 0,004$ mm beträgt; zum Vergleich liegt dieser für einen einzigen Maximalwert bei $0,03/\sqrt{1} \approx 0,03$ mm.

Je mehr Bilder von einem Abschnitt aufgenommen werden und daraus der Durchschnittswert berechnet wird, desto genauer ist das Ergebnis. Je zwei Aufnahmen eines 10 mm-Bereiches auf der rechten und linken Seite ergeben durchschnittlich vier Bilder und weisen eine Genauigkeit von $0,03/\sqrt{(64 \times 4)} \approx 0,002$ mm auf (142).

Geeignete Messorte

Jeweils die Vorderkante der echoreichen Grenzfläche zwischen Lumen und Intima bzw. Media und Adventitia können aufgenommen werden. Folgende Messorte werden empfohlen: 1. an einem plaquefreien Abschnitt, an dem das sog. Doppellinienmuster (*double line pattern*) sichtbar ist: Dadurch sind Messungen leichter durchzuführen, reproduzierbar, präziser und können im Rahmen von computergesteuerten Analysen standardisiert werden. 2. in der A. carotis communis, am Bulbus und am Ursprung der A. carotis interna. Aufnahmen an der A. carotis interna sind aus anatomischen Gründen aufgrund ihres gekrümmten Verlaufes und ihrer tiefen Lage im Gewebe weniger geeignet (135;142).

Standardisiertes Aufnahmeprotokoll nach TOUBOUL *et al.*

Es sind standardisierte Aufnahmeprotokolle notwendig, um ein homogenes Datenkollektiv und eine einheitliche Analyse der Werte zu gewährleisten. Dies verbessert die Power von Studien erheblich und ermöglicht einen Vergleich großer Datenbanken für Meta-Analysen. Empfehlungen für ein standardisiertes Aufnahme- und Analyseprotokoll der IMT an der Karotis wurden von TOUBOUL *et al.* erstellt (134).

1. Die Beurteilung der Arterienwände erfolgt im Longitudinalschnitt. Aufzeichnungen im lateralen Winkel sind empfehlenswert, da die Auflösung im mittleren Sichtfeld am besten ist. Es ist zudem notwendig, einen Horizontalschnitt des Bildes anzufertigen, um Grenzflächen zwischen Blut und Gefäßstrukturen optimal darstellen zu können. Zur besseren Orientierung im Follow-up ist es von Nutzen, das Endstück der CCA genau zu lokalisieren.
2. Die IMT wird vorzugsweise an der schallkopffernen Wand gemessen, da Werte der schallkopfnahen Wand zum Teil abhängig von Verstärkungseinstellungen und weniger zuverlässig sind. Sind Aufnahmen der schallkopfnahen Wand vorhanden, so sollten diese separat beurteilt werden.
3. Ein Abschnitt von mind. 10 mm Länge in einer Aufnahme hoher Qualität ist erforderlich, um aufeinanderfolgende, reproduzierbare Messungen durchzuführen. Aufgrund des gewundenen Verlaufs der Gefäße sind Messungen meist jedoch nur in einem kürzeren Segment durchführbar, v.a. im Bereich der Karotisbifurkation und dem Bulbus der A. carotis interna.

4. Software-Programme zur Auswertung der Aufnahmen liefern genaue Messdaten der IMT. Manuelle Auswertungen können gleichwertig valide sein, benötigen jedoch strenge Qualitätskontrollen. Zudem sind sie extrem zeitaufwändig. Im Vergleich können computergesteuerte Programme den durchschnittlichen Maximalwert von 150 Messungen innerhalb eines 10 mm langen Segments der ACC innerhalb kürzester Zeit ($< 0,1$ s) liefern.

2.3.2 Untersuchungsablauf

Die Intima-Media-Dicke wurde nach der Methode von Touboul in liegender Position in einem ruhigen, licht- und geräuscharmen Raum bei ca. 22 °C aufgenommen. Das Ultraschallgerät Philips iE33 (Philips Medizin Systeme GmbH, Hamburg, Deutschland) ist mit einem 11,0 MHz Linear-Schallkopf ausgestattet.

Die IMT der A. carotis communis wurde zuerst auf der rechten, dann auf der linken Seite je zweimal ca. einen bis zwei Zentimeter proximal der Bifurkation im B-Mode-Bild gemessen (Abb. 2-1). Hierfür wurde der Hals des Probanden nach hinten rechts bzw. links überstreckt. Die IMT wurde jeweils in zwei Ebenen aufgenommen: lateral und anterior-oblique. KANTERS *et al.* zeigten nämlich, dass die beste Reproduzierbarkeit dann gegeben war, wenn die IMT in mehr als einer Ebene gemessen wurde (69). Die Computer Software (QLAB; Philips Medizin Systeme) analysierte automatisch die Intima-Media-Dicke an 64 Punkten innerhalb dem ausgewählten Segment von 10 mm. Letztlich ergab sich die durchschnittliche IMT jedes Kindes aus dem Mittelwert der vier Einzelmessungen. Die Daten wurden auf Festplatte des Ultraschallgerätes gespeichert, ausgewertet und anschließend auf DVD gesichert. Die Messung der IMT erfolgte in Zusammenarbeit mit Ärzten der Kinderklinik und Poliklinik im Dr. v. Haunerschen Kinderspital, Abteilung für Kinderkardiologie.

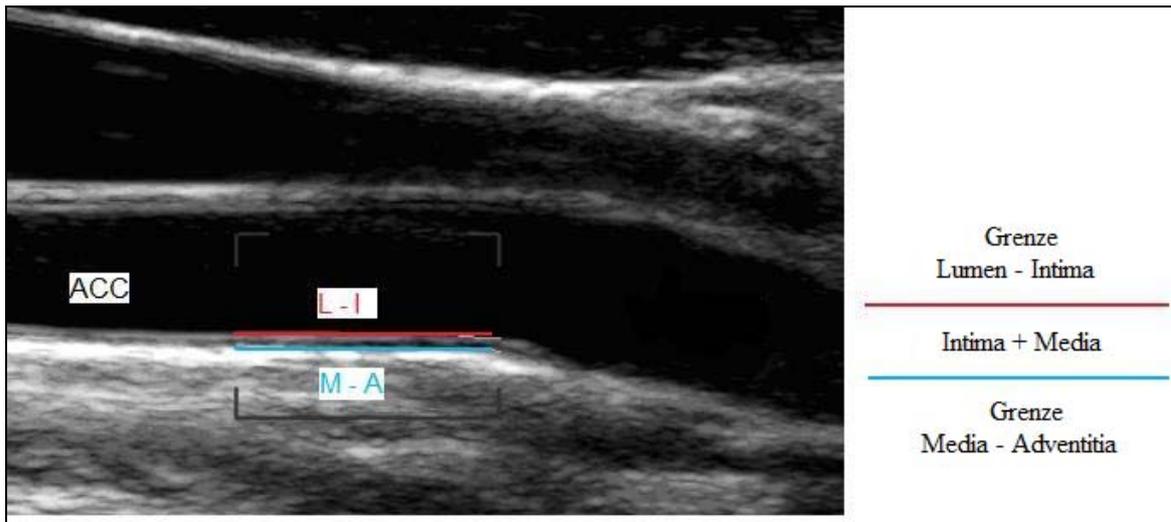


Abbildung 2-1: Messung der IMT in der A. carotis communis (ACC). L-I = Grenzschrift Lumen-Intima, M-A = Grenzschrift Media-Adventitia

2.4 Messung der Mikrozirkulation

Bei unseren Untersuchungen kam das Nachfolgeverfahren der OPS-Bildgebung zum Einsatz, die sog. Sidestream Dark Field (SDF)-Intravitalmikroskopie. Eine neue, etablierte Methode, die auf einem ähnlichen Prinzip beruht, jedoch schärfere Bilder und eine bessere Bildqualität liefert.

2.4.1 Prinzip der SDF-Imaging-Technik

An der Spitze des Messfühlers, die von einer sterilen Schutzkappe (MicroScan B.V., Amsterdam, Niederlande) umhüllt ist, sind grüne (530 nm) Leuchtdioden (LEDs) ringförmig angeordnet (siehe Abb. 2-2). Die Linse im Zentrum des Stabes ist somit optimal von der außen befindlichen Lichtquelle abgegrenzt. Dadurch wird verhindert, dass die Bildqualität durch Reflexionen der Geweboberfläche vermindert wird. Das Licht, das vom Außenteil des Gerätes ausgestrahlt wird, durchdringt das Gewebe und stellt durch Streuung der Lichtbündel die kleinsten Gefäße des Körpers dar. Die LEDs senden Licht mit einer Wellenlänge von 530 nm aus. Dadurch wird das optimale Absorptionsspektrum des Hämoglobins in den Erythrozyten unabhängig vom Oxygenierungsstatus gewährleistet. Das Signal wird über den Lichtstab an eine 5fach vergrößernde Linse geschickt, welche die Aufnahmen an eine Videokamera weitersendet. Auf diese Weise können am PC, das über einen Umwandler (Canopus ADVC110, Kobe Japan) mit dem Aufnahmegerät verbunden ist, direkt die Sequenzen betrachtet und auf Festplatte zur weiteren off-line Analyse

gespeichert werden (60). Um die Bildqualität der Strukturen, die sich ständig in Bewegung halten, wie z.B. Erythrozyten oder Leukozyten, zu verbessern, nutzt man den Effekt des Stroboskops. Die LEDs geben pulsierende Lichtsignale ab, die der Bildfrequenz der CCD-Videokamera entsprechen. Auf diese Weise können zumindest teilweise verschwommene Aufnahmen der fließenden Blutzellen und verwackelte Bilder der Kapillaren aufgrund des kurzen Beleuchtungsintervalls verhindert werden (42).

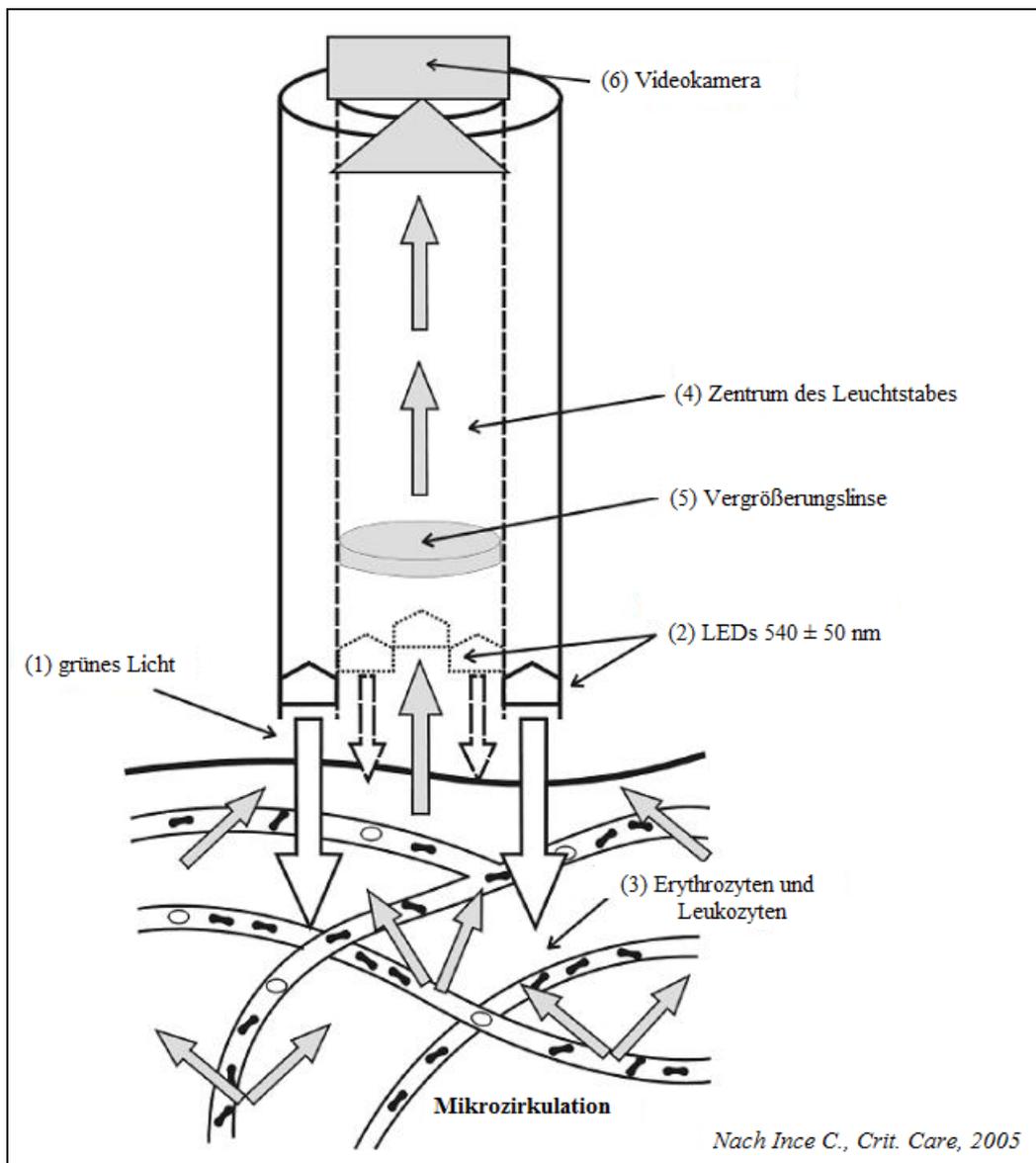


Abbildung 2-2: Prinzip der SDF-Mikroskopie

2.4.2 Messgeräte

Abbildung 2-3 zeigt den Aufbau des MikroScan Systems.

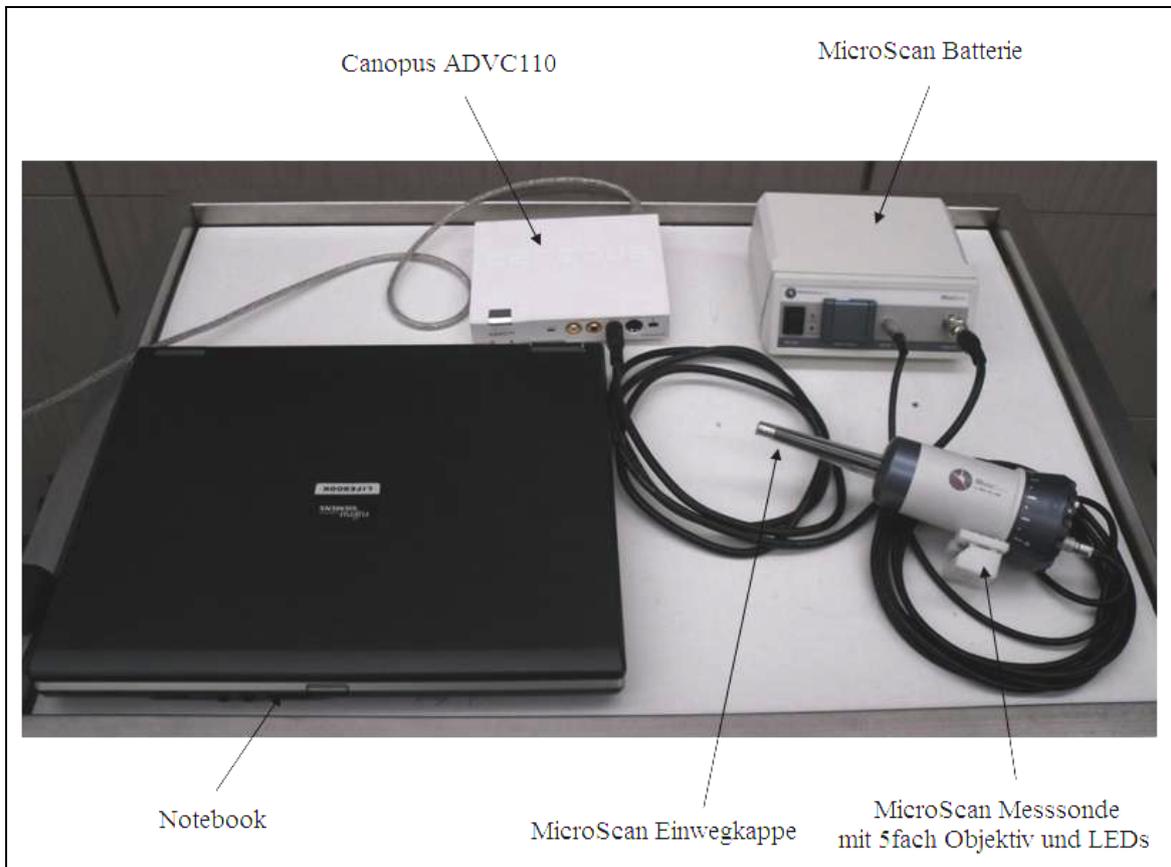


Abbildung 2-3: Aufbau des MikroScanSystems

Mithilfe des 5fach-Objektivs kann ein Sichtfeld mit einer Größe von ca. 0.94 mm x 0.75 mm hergestellt werden. Auf dem Bildschirm des Notebooks (Fujitsu Lifebook, Modell E-8310, Fujitsu Siemens GmbH) erscheint eine Auflösung von ca. 1 Pixel \approx 1 μ m. Kapillaren mit einem Durchmesser von ca. 4 μ m erscheinen somit auf Standard SDF-Bildern mit einer Größe von ungefähr 3 Pixel (34). Um die Bildschärfe zu regulieren, kann der CCD Chip gegen das fixierte Linsensystem an der Spitze der Messsonde verschoben werden. Auf diese Weise kann die Fokussierebene nach Belieben eingestellt werden (Abb. 2-4) (42).

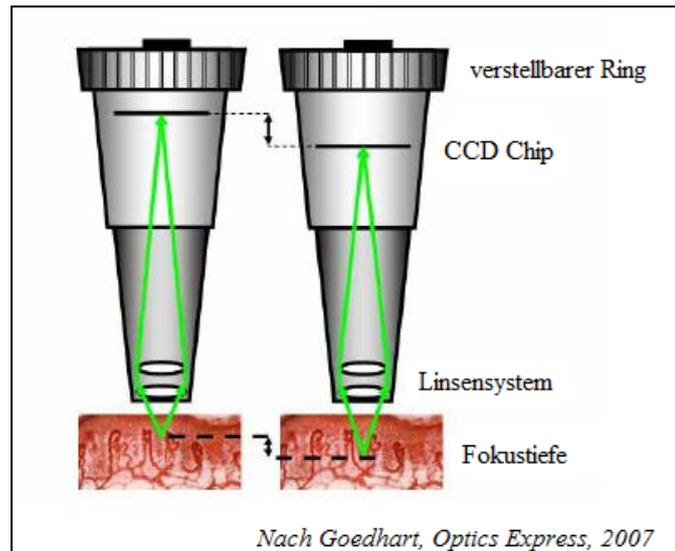


Abbildung 2-4: Einstellung der Fokustiefe

Alle Sequenzen, die von der Messsonde aufgenommen werden, können über ein Konvertiergerät (Canopus ADV C110, Thomson Inc dba Grass Valley, Kobe, Japan), das die Aufnahmen in ein digitales Signal (DV-AVI) umwandelt, direkt auf dem PC betrachtet und auf Festplatte zur späteren Analyse gespeichert werden.

2.4.3 Messprotokoll

Auf die Spitze des MicroScan Messfühlers wird, für jeden Patienten neu, eine sterile Plastikkappe aufgesetzt, um den direkten Kontakt zwischen Haut und Untersuchungsgerät zu vermeiden und einen festgelegten Abstand von ca. 1 mm zu garantieren (34). Um während den Messungen einen arteriellen Verschluss zu gewährleisten, wurde dem Kind anschließend am rechten Oberarm eine Blutdruckmanschette der Firma bosco (Bosch + Sohn, Jungingen, Deutschland) angelegt. Das Messgerät wurde an einer extra angefertigten Halteinrichtung befestigt. Dadurch konnten Bewegungsartefakte durch Zittern oder Bewegungen des Untersuchers minimiert werden. Der sitzende Patient platzierte nun seinen rechten Arm auf den Untersuchungstisch auf Höhe des Herzens. Die Messungen wurden transdermal im unteren Viertel der Unterarm-Innenseite durchgeführt. Wir befeuchteten die Messstelle mit einem Tropfen 0,9%iger Natriumchlorid-Lösung, um die Bildqualität deutlich zu verbessern. Anschließend konnte in Ruhe die erste Messung stattfinden. Die Aufnahmedauer betrug stets 15 s. Um nun den Blutfluss zu stoppen, wurde die Blutdruckmanschette über den systolischen Blutdruckwert gepumpt. Nach 10, 30 und 60 s wurden die nächsten drei Aufzeichnungen aufgenommen. Anschließend ließen wir die Luft aus der Blutdruckmanschette ab und die nächsten Videosequenzen konnten nach 10,

30, 60, 120, 180, 240 und 300 s aufgezeichnet werden. Eine Übersicht der Messzeiten ist in Abb. 2-5 zu sehen.

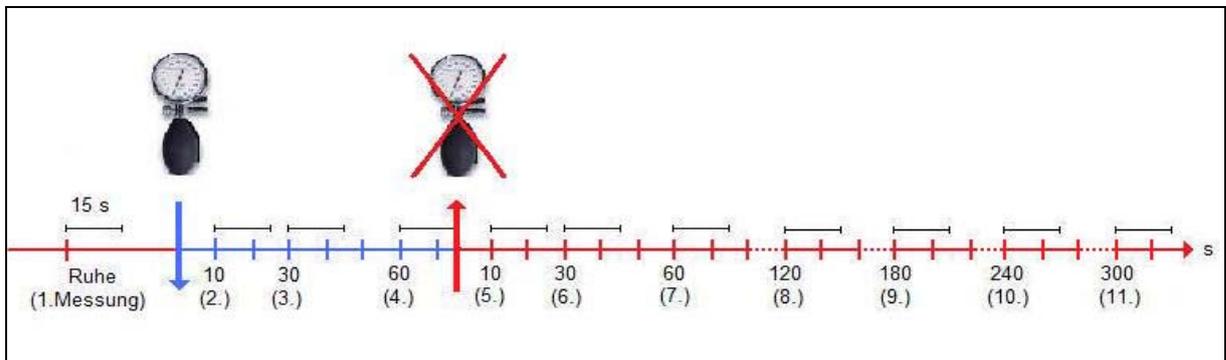


Abbildung 2-5: Übersicht der Messzeitpunkte

Somit wurden für jeden Patienten 11 Sequenzen mit einer Aufnahmedauer von je 15 s digital aufgezeichnet

2.5 Auswertung der Videosequenzen der Mikrozirkulation

Alle Sequenzen der dermalen Mikrozirkulation wurden direkt nach den Messungen auf Festplatte gespeichert. Die Auswertung der Parameter der Mikrozirkulation erfolgte offline anhand des Videobildanalyse-Systems Automated Vascular Analysis (AVA) Version 3.0 (University of Amsterdam, Amsterdam, Niederlande).

2.5.1 Anonymisierung und Verblindung der Aufzeichnungen

Während den Aufnahmen teilten wir jedem Patienten der Reihenfolge nach eine Zahl von 101-154 zu. Der Kontrollgruppe wurden Zahlen von 201-217 zugeordnet. Alle Messungen in Ruhe bezeichneten wir mit dem Buchstaben „a“ (*ante*). Die Videosequenzen während Blutstopp wurden mit „d“ (*during*), die nach Blutstopp mit „p“ (*post*) gekennzeichnet. Um die zeitlichen Abschnitte darzustellen, fügten wir dem Code jeweils die Zahlen 10 (s), 30, 60 etc. hinzu. Somit ergaben sich für den ersten Patienten folgende Codierungen: Kind 101a, 101d10, 101d30, 101d60, 101p10, ..., 101p300. Anschließend wurden jeweils 10 Kinder nochmals verblindet, sodass auch eine zeitliche Zuordnung der Sequenzen nicht mehr möglich war.

2.5.2 Auswertung mittels Automated Vascular Analysis

Hardware

Die notwendige Hardware-Konfiguration besteht aus einem IBM-kompatiblen PC und einem Farbmonitor, der die auf Festplatte abgespeicherten Videosequenzen anzeigt. Das Bildanalyse-System wird über die Tastatur des PC und die Maus bedient.

Software

Die Auswertung der Aufnahmen erfolgte anhand des Videoanalyse-System Automated Vascular Analysis (AVA) 3.0 (University of Amsterdam, Amsterdam, Niederlande). Das von DOBBE *et al.* neu entwickelte Analyse-System wurde validiert gegen die Software CapiScope Version 3.6.4.0 (KK-Technologie, Bridleways Holyford, Devon, England), die bereits mehrfach beschrieben, erprobt und validiert wurde. Man führte dies anhand von Videobildsimulationen und sublingual aufgenommenen Sequenzen eines gesunden Probanden und eines Patienten während einer Herzoperation durch (34). Die Software erlaubt sowohl eine qualitative als auch quantitative Analyse der mikrozirkulatorischen Parameter mithilfe computerassistierter Technik. Sie stellt einen detaillierten Bericht mit Graphiken dar, der Informationen über die Verteilung von Gefäßlänge, -durchmesser, funktioneller Gefäßdichte und mikrozirkulatorische Parameter, wie z.B. Flussgeschwindigkeiten der Erythrozyten, zur Verfügung stellt.

AVA 3.0 unterstützt die Auswertung von Videosequenzen im MPG oder AVI Format.

Folgende Schritte sind zur Auswertung nötig:

1. **Bilddoptimierung:** Um die Bildqualität erheblich verbessern zu können, werden Abweichungen im Hintergrund korrigiert und der Kontrast verbessert. Hierfür lassen sich Helligkeit und Kontrast der Abbildung individuell einstellen.
2. **Bildstabilisierung:** Wählt man nun den gewünschten Videoabschnitt aus, so lassen sich durch Betätigen der Stabilisierungstaste Bewegungsartefakte des Bildes minimieren.
3. **Durchschnittsbild:** Das Programm berechnet ein Durchschnittsbild mit verbessertem Kontrast und korrigiert Unterbrechungen in den Kapillaren, die durch Leukozyten oder Lücken im Plasma entstanden sind. An dieser Stelle wurden alle Maßnahmen getroffen, um eine optimale Bildauswertung zu ermöglichen.

-
4. Gefäßmarkierung: Nun werden alle Gefäße automatisch markiert, die vom Programm erfasst werden können. Je nach Größe werden die Segmente andersfarbig kenntlich gemacht, wie in Tab. 2-2 zu sehen ist:

Tabelle 2-2: Gefäßeinteilung nach Durchmesser

| Gefäßgröße | Gefäßdurchmesser (μm) | Farbe |
|------------|------------------------------------|-------|
| Klein | 01 bis 10 | Gelb |
| Mittel | 10 bis 20 | Blau |
| Groß | 20 bis 50 | Rot |
| Sehr groß | 50 bis 10000 | Rosa |

5. Manuelle Bearbeitung: Man kann anschließend überflüssig markierte Gefäße entfernen bzw. unentdeckte Abschnitte selbst nachzeichnen.
6. Analyse: Letztendlich wird ein Analysebericht erstellt, der alle notwendigen Informationen und Daten zur Verfügung stellt (34).

Abb. 2-6 zeigt eine typische Aufnahme am Unterarm, die anhand der SDF-Methode aufgenommen und bearbeitet wurde.

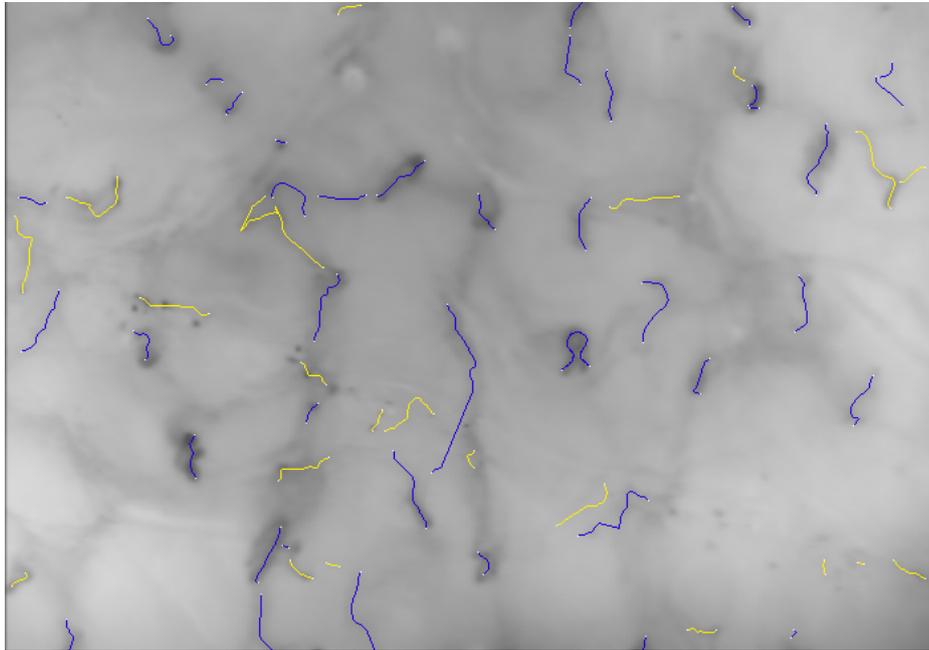


Abbildung 2-6: Typische Aufnahme anhand der SDF-Methode

Folgende Parameter wurden zur Beurteilung der Mikrozirkulation ausgewertet:

- Dichte (FVD, *functional vessel density*): Die Gesamtlänge aller sichtbaren Gefäße wird hierfür ins Verhältnis zum Gesamtbild gesetzt. Die Einheit entspricht cm/cm^2 .
- Fläche (*surface*): Die Fläche stellt den Bereich, der mit Gefäßen bedeckt ist, ins Verhältnis zum analysierten Bildabschnitt und wird in $(\text{cm}^2/\text{cm}^2) \times 100 \%$ angezeigt.
- Durchmesser (*diameter*): Der Gefäßdurchmesser wird berechnet aus der Entfernung zwischen den gefäßbegrenzenden Endothelwänden und wird in μm angegeben.

2.6 Statistische Auswertung

Alle Berechnungen wurden mithilfe des Statistikprogramms GraphPad Prism 5.0 für Windows Vista (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) erstellt.

Die Daten wurden als Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben. Alle Angaben wurden zunächst hinsichtlich ihrer Normalverteilung nach d'Agostino und Pearson überprüft. Da als Vergleichswert für die Berechnung der IMT der altersabhängige Normalwert aus der Literatur entnommen wurden und somit keine Rohdaten zur Verfügung standen, wurde hier der „one-sample-t-test“ durchgeführt. Um Unterschiede innerhalb der Gruppen (Frühgeborene bzw. Kontrollgruppe) im Rahmen der Mikrozirkulation herauszuarbeiten, fand die einfaktorielle Varianzanalyse ihre Anwendung. Da es sich hierbei um mehr als zwei Zeitpunkte handelte, die gegeneinander verglichen werden sollten, nutzten wir zum einen die Varianzanalyse für wiederholte Messungen (repeated measures ANOVA) für normalverteilte, abhängige Daten, zum anderen den Friedman-Test für nicht-parametrische, abhängige Daten. Bestätigte die Varianzanalyse nun signifikante Unterschiede innerhalb dieser Gruppe bei einem Signifikanzniveau von 5%, so wurde im Anschluss der Post-Hoc-Test nach Tukey für parametrische Daten bzw. nach Dunn für nicht-parametrische Werte durchgeführt. Anhand dieser Tests konnte man genau feststellen, zwischen welchen Zeitpunkten Unterschiede zu finden waren. Zu diesem Zweck wurde zudem vereinzelt der Wilcoxon-Rangsummen-Test für nicht-parametrische Daten durchgeführt. Vergleiche zwischen den Gruppen wurde mittels des Mann-Whitney-U-Test auf signifikante Unterschiede geprüft. Als Signifikanzniveau wurde stets $p < 0,05$ festgelegt. Um die Alphafehler-Kumulierung bei multiplen Paarvergleichen zu minimieren, wurde der α -Wert mithilfe der Bonferroni-Korrektur adjustiert. Einige Ausreißerwerte, die offensichtlich durch Mess- bzw. Analysefehler entstanden sind, wurden bei den Berechnungen nicht berücksichtigt.

3 Ergebnisse

3.1 Intima-Media-Dicke

Die ehemaligen Frühgeborenen wurden hinsichtlich ihrer Dicke des Intima-Media-Komplexes in der A. carotis communis (ACC) im Vergleich zum alters- und geschlechtsabhängigen Normalwert von 0,38 mm, der der Literatur entnommen wurde, untersucht. Im Vergleich zeigen sowohl die männlichen als auch weiblichen Patienten (beide $0,45 \pm 0,03$ mm) eine hoch signifikant verdickte Intima-Media (one-sample-t-test, $p < 0,0001$), was aus Abbildung 3-1 ersichtlich wird.

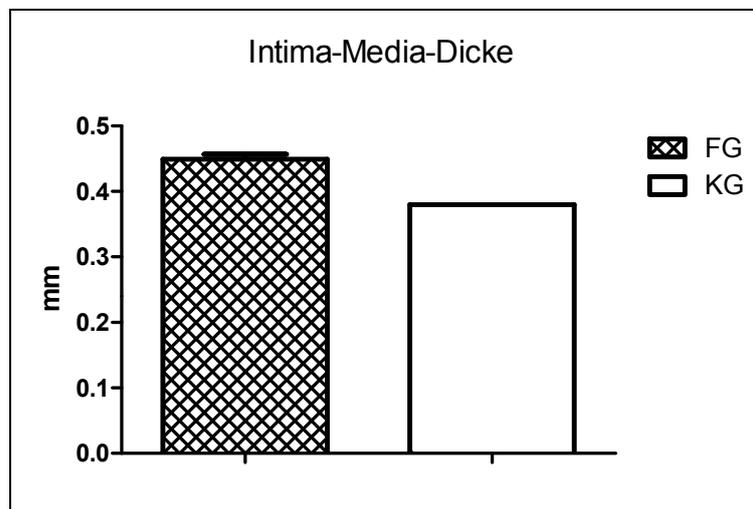


Abbildung 3-1: Intima-Media-Thickness (IMT) der A. carotis communis (ACC) in mm – Vergleich zwischen Frühgeborenen (FG) und der Kontrollgruppe (KG).

3.2 Mikrozirkulation unter Ruhebedingungen

Im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigen die ehemaligen Frühgeborenen im Ruhezustand sehr signifikant erhöhte Werte hinsichtlich der funktionalen Gefäßdicke (FVD) und Fläche aller analysierten Gefäße (Mann-Whitney-U-Test) (Abb. 3-2, vgl. Tab. 3-1).

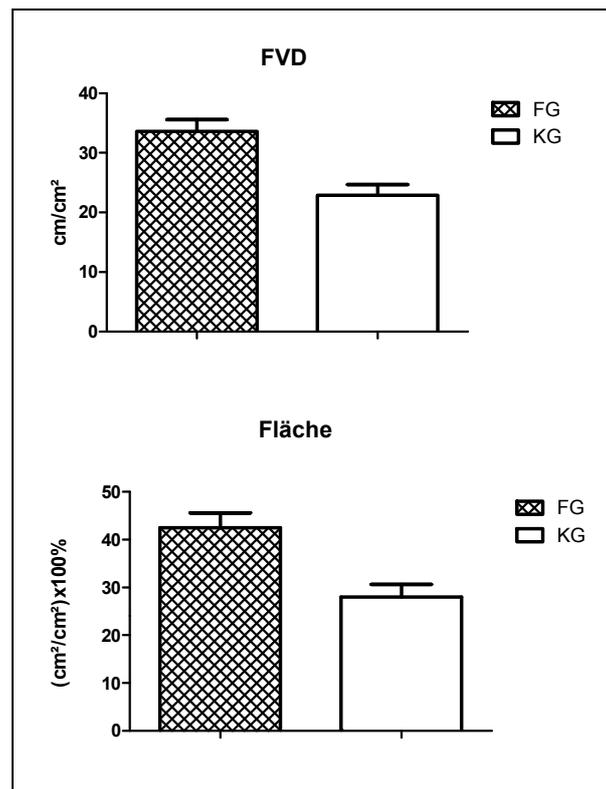


Abbildung 3-2: FVD und Fläche unter Ruhebedingungen – Vergleich zwischen Frühgeborenen (FG) und der Kontrollgruppe (KG).

Es zeigen sich jedoch keine signifikanten Unterschiede im Bezug auf die prozentuale Verteilung der kleinen bzw. mittleren Gefäße (Tab. 3-1). Dies bedeutet, dass sich trotz der erhöhten Gesamtlänge der Gefäße auf Seiten der Frühgeborenen die prozentuale Verteilung unter Ruhebedingungen nicht verändert. Tendenziell besitzen die ehemaligen Frühgeborenen größere Gefäße als die Kontrollgruppe. Hier lässt sich jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied feststellen.

Tabelle 3-1: FVD, Fläche, Anteil kleiner und mittlerer Gefäße in Ruhe (Mittelwert \pm SD).

| | Frühgeborene (<i>n</i> = 54) | Kontrollgruppe (<i>n</i> = 16) | Niveau (2-seitig) |
|---|----------------------------------|------------------------------------|----------------------|
| FVD (cm/cm ²) | 33,6 \pm 14,5 | 23,0 \pm 7,1 | <i>p</i> = 0,002 |
| Fläche ((cm ² /cm ²)x100%) | 42,5 \pm 22,6 | 28,0 \pm 10,5 | <i>p</i> = 0,005 |
| Anteil kleiner Gefäße (%) | 71,7 \pm 16,3 | 75,1 \pm 11,9 | <i>p</i> = 0,56 |
| Anteil mittlerer Gefäße (%) | 28,0 \pm 15,9 | 24,5 \pm 11,3 | <i>p</i> = 0,56 |

Niveau = Signifikanzniveau, alle Angaben in Mittelwert \pm Standardabweichung.

3.3 Mikrozirkulation während arteriellem Verschluss

Zur Analyse des Gefäßverhaltens innerhalb der beiden Gruppen (Frühgeborene vs. Kontrollgruppe) führten wir eine einfaktorische Varianzanalyse für Messwiederholungen durch. Da die Werte zu den jeweiligen Zeitpunkten meist nicht normalverteilt waren, stellte der Friedman-Test hierfür die beste Variante dar. Für normalverteilte Werte fand die einfache Varianzanalyse mit Messwiederholung ihre Anwendung. Zur detaillierteren Bestimmung von Unterschieden lieferten Post hoc-Tests gute Ergebnisse. Zum einen der sog. „Dunn’s Multiple Comparison Test“ für nicht-parametrische Daten, zum anderen der Tukey-Test für normalverteilte Werte. Wurden einzelne Zeitpunkte mittels des t-Tests miteinander verglichen, so erfolgte eine Korrektur des *p*-Wertes nach Bonferroni zur Minimierung der Alphafehler-Kumulierung.

Um das unterschiedliche Gefäßverhalten zwischen beiden Gruppen zu beurteilen, nutzten wir den Mann-Whitney-U-Test für nicht-parametrische, unabhängige Daten. Der ungepaarte t-Test stand als Alternative für normalverteilte Parameter zur Verfügung, kam jedoch weit seltener zum Einsatz.

3.3.1 Gefäßdichte innerhalb der Gruppen

3.3.1.1 Frühgeborene

Der Friedman-Test ermittelte hoch signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Zeitpunkten ($p < 0,0001$). Während des arteriellen Verschlusses sinkt die FVD bereits nach 10 s ab. Nach 30 s vermindert sie sich erneut ($p = 0,007$), ist hoch signifikant erniedrigt im Vergleich zur Ruhelage ($p < 0,001$) und befindet sich nun an ihrem Minimum. In den folgenden 30 s steigt die FVD zwar um einen kleinen Betrag an, ist jedoch weiterhin bzgl. der Ausgangsposition vermindert ($p < 0,01$).

3.3.1.2 Kontrollgruppe

Die Varianzanalyse zeigt signifikante Unterschiede innerhalb dieser Gruppe auf ($p = 0,03$). Allerdings lassen sich diese nicht mehr im folgenden Post hoc-Test darstellen. Der Grund hierfür liegt vermutlich darin, dass die zugrunde liegenden Daten aufgrund der niedrigen Fallzahl nicht genügend Aussagekraft besitzen. Die Kontrollgruppe erreicht bereits nach 10 s ihr Minimum. Im folgenden Beobachtungszeitraum kommt es nur zu geringen Veränderungen hinsichtlich der FVD, wobei eine Tendenz zur Erhöhung der FVD erkennbar ist. Signifikante Unterschiede im Bezug zum Ruhezustand sind nicht vorhanden

3.3.2 Gefäßdichte im Vergleich

Die FVD der Frühgeborenen zeigt zu allen Zeitpunkten im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöhte Werte (Abb. 3-3, Tab. 3-2). Die Unterschiede zwischen beiden Gruppen werden jedoch geringer, je länger der arterielle Verschluss andauert. Nach 10 s vermindert sich die FVD in beiden Gruppen annähernd um denselben Betrag. Anschließend folgt bei den Frühgeborenen ein weiterer Sprung nach unten, wohingegen die FVD der Kontrollgruppe bereits minimal ansteigt. Somit erreichen Frühgeborene ihr Minimum nach 30 s, die Kontrollgruppe jedoch schon nach 10 s. Die mediane Zeitdauer, um die minimale Dichte während des arteriellen Verschlusses zu erreichen, fasste 45 s bei den Frühgeborenen, während die Kontrollgruppe hierfür nur 30 s benötigten (Chi square 7,14, $p = 0,008$, Ratio 1,5, CI = 0,9 bis 2,1). Dies bedeutet, dass 50 % der Frühgeborenen erst nach 45 s mit einer maximalen Reduktion der Gefäßdichte und somit langsamer auf die veränderte Situation reagierten. Ein weiterer Unterschied besteht darin, dass Frühgeborene ab 30 s nach Gefäßverschluss eine signifikant erniedrigte Dichte im Bezug

zur Ausgangslage vorweisen ($p < 0,001$), die Kontrollgruppe hingegen nicht (gepaarter t-Test).

Tabelle 3-2: Vergleich der FVD während arteriellem Verschluss. Angaben der FVD in cm/cm^2 (Mittelwert \pm SD).

| Zeitpunkt | Frühgeborene ($n = 54$) | Kontrollgruppe ($n = 16$) | Niveau (2-seitig) |
|----------------------|------------------------------|--------------------------------|----------------------|
| Ruhezustand | $34,2 \pm 14,7$ | $22,9 \pm 7,1$ | $p = 0,001$ |
| 10 s nach Verschluss | $30,9 \pm 16,8$ | $19,2 \pm 9,5$ | $p = 0,004$ |
| 30 s nach Verschluss | $27,9 \pm 17,4$ | $19,3 \pm 9,4$ | $p < 0,05$ |
| 60 s nach Verschluss | $28,8 \pm 14,8$ | $20,0 \pm 8,2$ | $p = 0,04$ |

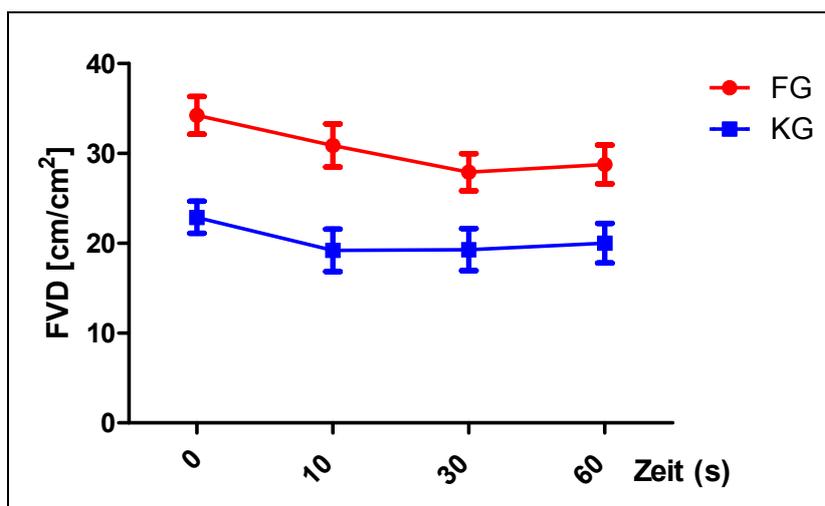


Abbildung 3-3: FVD während arteriellem Verschluss im Vergleich. FG = Frühgeborene, KG = Kontrollgruppe.

Das Verhalten der zwei Gruppen ähnelt sich sehr. Sie sinken um einen bestimmten Betrag ab, erreichen ihr Minimum und steigen letztlich gering wieder an. Allerdings fallen zum Teil Unterschiede im Gefäßverhalten zwischen den jeweiligen Zeitpunkten auf. Dies wird verdeutlicht, indem man den Betrag der Änderungen (FVD Δ) miteinander vergleicht. Während des arteriellen Verschlusses sinken beide innerhalb von 10 s um einen bestimmten Wert ab (FVD Δ a – d10). Signifikante Unterschiede zeigen sich hier noch nicht. Die Durchführung des Mann-Whitney-U-Test verdeutlicht jedoch, dass im folgenden Zeitabschnitt (FVD Δ d10 – d30) sich die FVD der Frühgeborenen weiterhin erniedrigt, wohingegen die der Kontrollgruppe bereits eine positive Tendenz zeigt ($p = 0,04$). Zwischen 30 und 60 s nach arteriellem Verschluss nimmt die FVD der Frühgeborenen erstmals tendenziell zu. Im Gegensatz hierzu steigt sie in der Kontrollgruppe signifikant an ($p = 0,04$). Eine Übersicht zeigt Tabelle 3-3 (vgl. Abb. 3-4).

Tabelle 3-3: Vergleich der FVD Δ während arteriellem Verschluss. Angaben der FVD in cm/cm^2 (Mittelwert \pm SD).

| Zeitintervall | Frühgeborene ($n = 47$) | Kontrollgruppe ($n = 15$) | Signifikanzniveau (2-seitig) |
|---------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| a – d10 | $-3,4 \pm 11,4$ | $-4,2 \pm 6,4$ | $p = 0,90$ |
| d10 – d30 | $-4,0 \pm 8,3$ | $0,9 \pm 4,6$ | $p = 0,04$ |
| d30 – d60 | $0,5 \pm 13,7$ | $3,9 \pm 5,4$ | $p = 0,04$ |

Die Summe aller negativen Veränderungen unterscheidet sich nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,22$). Der Betrag der Veränderung bis zum jeweiligen Minimum ist zwar nicht unterschiedlich, die Kontrollgruppe erreicht diesen jedoch rascher als die Frühgeborenen, nämlich bereits nach 10 s. Ab dem Zeitpunkt des Minimums zeigt die Kontrollgruppe eine signifikante Zunahme ($p = 0,04$) der FVD gegenüber den Frühgeborenen, die sich annähernd auf konstantem Niveau befinden. Für diesen Vergleich wurden alle Veränderungen in positiver Richtung summiert und miteinander verglichen (Mann-Whitney-U-Test). Erstellt man nun eine Bilanz aller Veränderungen, so wird deutlich, dass die FVD der Frühgeborenen im Rahmen des arteriellen Gefäßverschlusses insgesamt mehr abnimmt als in der Kontrollgruppe ($p = 0,03$, vgl. Abb. 3-5).

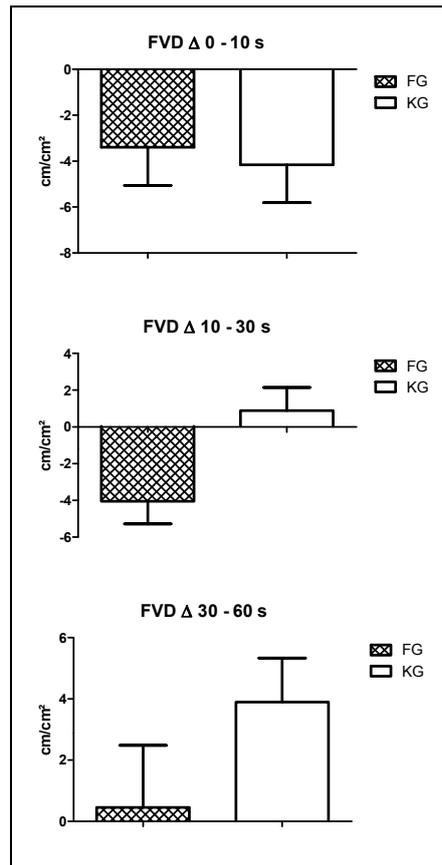


Abbildung 3-4: Veränderungen der FVD zwischen verschiedenen Zeitpunkten während arteriellem Verschluss im Vergleich. FG = Frühgeborene, KG = Kontrollgruppe.

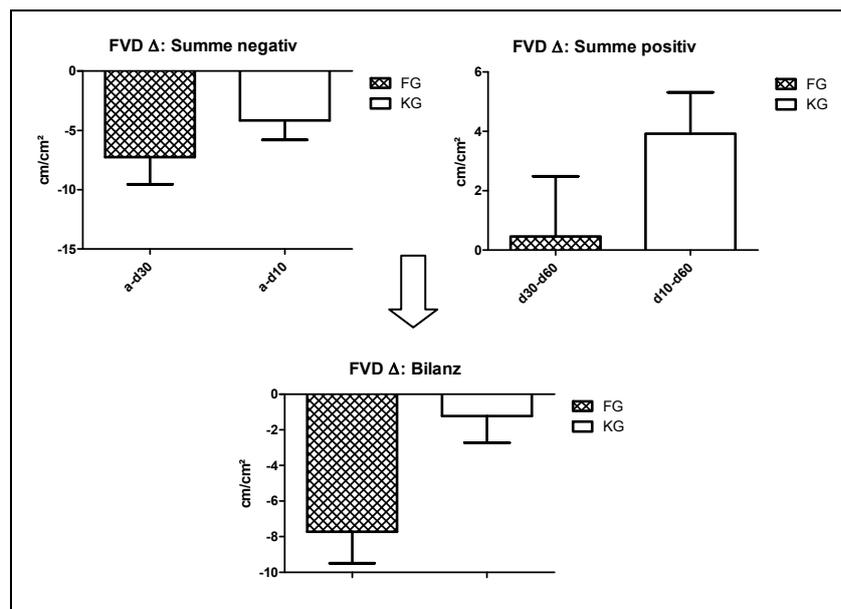


Abbildung 3-5: FVD Δ zwischen Frühgeborenen (FG) und der Kontrollgruppe (KG). Summe aller negativen bzw. positiven Veränderungen und eine Bilanz.

3.3.3 Fläche innerhalb der Gruppen

3.3.3.1 Frühgeborene

Die Fläche berechnet sich aus der Summe der funktionalen Gefäßdichte. Daher verhalten sich die folgenden Daten analog den Ergebnissen, so wie sie bzgl. der FVD bereits aufgezeigt wurden. Innerhalb der Gruppe der Frühgeborenen lassen sich anhand des Friedman-Tests sehr signifikante Unterschiede bzgl. der Fläche ermitteln ($p = 0,002$). Im Ruhezustand besitzt diese Gruppe eine Fläche von $4,3 \pm 2,3$ (SD) (cm^2/cm^2)x100%. 10 s nach Gefäßverschluss erniedrigt sich die Fläche auf $3,9 \pm 2,4$, um dann erneut nach 30 s auf $3,5 \pm 2,5$ (cm^2/cm^2)x100% herabzusinken. Im Vergleich zur Ausgangsposition ergibt sich nun ein signifikanter Unterschied (Dunn's Multiple Comparison Test, $p < 0,05$). 60 s nach Gefäßverschluss erhöht sich die Fläche und steigt letztlich auf $3,6 \pm 2,2$ (cm^2/cm^2)x100% an.

3.3.3.2 Kontrollgruppe

Innerhalb der Kontrollgruppe zeigen sich signifikante Ergebnisse hinsichtlich der Flächenveränderungen (Friedman-Test, $p = 0,03$). Die Durchführung des Dunn's Multiple Comparison Tests bestätigt, dass bereits 10 s nach Gefäßverschluss eine signifikante Erniedrigung der Fläche stattfindet, nämlich von $2,8 \pm 1,1$ auf $2,2 \pm 1,1$ (cm^2/cm^2)x100%. Bereits nach 10 s befindet sich die Fläche an ihrem Minimum. In den darauffolgenden 50 s (Messungen 30 bzw. 60 s nach Gefäßverschluss) erhöht sich die Fläche kontinuierlich; auf $2,3 \pm 1,4$ nach 30 s bzw. auf $2,4 \pm 1,0$ (cm^2/cm^2)x100% nach 60 s. Sie nähert sich wieder der Ausgangslage, sodass sich nun signifikante Unterschiede nicht mehr aufzeigen lassen.

3.3.4 Fläche im Vergleich

Aus Abbildung 3-6 geht deutlich hervor, dass sich die Fläche der Kontrollgruppe stets auf konstant niedrigerem Niveau befindet als die der Frühgeborenen und sich somit entsprechend der Veränderungen hinsichtlich der Dichte verhält. Zu allen Messzeitpunkten zeigen sich signifikante Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test, Tab. 3-4).

Die Frühgeborenen zeigen hinsichtlich der Flächenveränderungen zwar geringere Schwankungen im Vergleich zur FVD ($p < 0,01$ statt $p < 0,001$), dennoch sind sie größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,01$ vs. $p < 0,05$).

Tabelle 3-4: Vergleich der Fläche während arteriellem Verschluss. Angaben der Fläche in (cm^2/cm^2) x 100 % (Mittelwert \pm SD).

| Zeitpunkt | Frühgeborene ($n = 49$) | Kontrollgruppe ($n = 16$) | Signifikanzniveau (2-seitig) |
|----------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Ruhezustand | $4,3 \pm 2,3$ | $2,8 \pm 1,1$ | $p = 0,004$ |
| 10 s nach Verschluss | $3,9 \pm 2,4$ | $2,2 \pm 1,1$ | $p = 0,004$ |
| 30 s nach Verschluss | $3,5 \pm 2,5$ | $2,3 \pm 1,4$ | $p = 0,04$ |
| 60 s nach Verschluss | $3,6 \pm 2,2$ | $2,4 \pm 1,0$ | $p < 0,05$ |

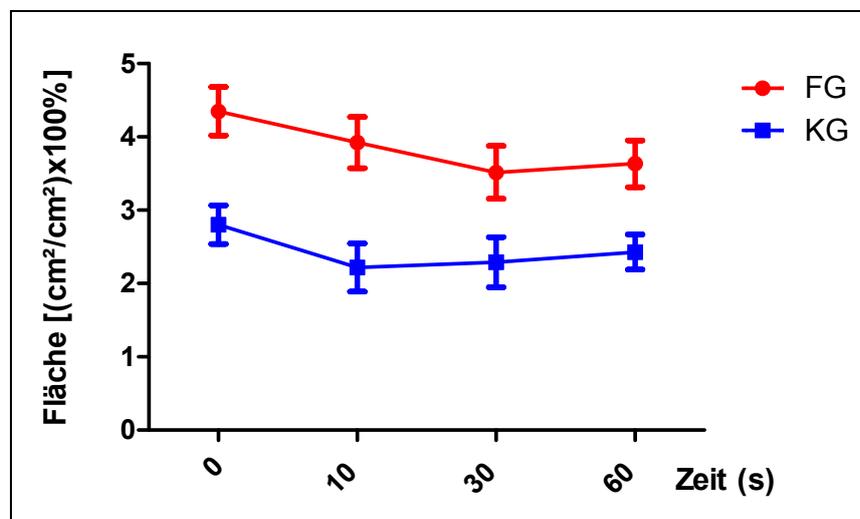


Abbildung 3-6: Fläche während arteriellem Verschluss im Vergleich. FG = Frühgeborene, KG = Kontrollgruppe.

Signifikante Unterschiede im Vergleich zur Ausgangsposition erlangen beide Gruppen mit Erreichen des Minimums, an dem die Frühgeborenen nach 30 s, die Kontrollgruppe bereits nach 10 s gelangt. Anschließend zeigen beide eine geringe Zunahme der Fläche. Die zwei Gruppen zeigen somit ein ähnliches Verhaltensmuster während des Gefäßverschlusses entsprechend der Veränderungen in der FVD.

Der Vergleich der Oberflächenveränderung zwischen Ruhezustand und 10 s nach Gefäßverschluss ($\Delta a - d_{10}$) ergibt noch keinen signifikanten Unterschied (Mann-Whitney-U-Test). Beide Gruppen nehmen in den ersten 10 s nach Blutstopp etwa um denselben Betrag ab. In der darauffolgenden Messeinheit ($\Delta d_{10} - d_{30}$) nehmen die Frühgeborenen weiterhin an Fläche ab und befinden sich nun an ihrem Minimum. Die Fläche der Kontrollgruppe hingegen steigt bereits gering an. Das Gefäßverhalten ist

signifikant unterschiedlich ($p < 0,05$). Zwischen 30 und 60 s nach Gefäßverschluss ($\Delta d30 - d60$) erfolgt eine Zunahme in beiden Gruppen. Im statistischen Vergleich lässt sich jedoch keine statistische Signifikanz ermitteln. Details können aus Tabelle 3-5 entnommen werden.

Tabelle 3-5: Vergleich der Fläche Δ während arteriellem Verschluss. Angaben der Fläche in (cm^2/cm^2) x 100 % (Mittelwert \pm SD).

| Zeitintervall | Frühgeborene ($n = 47$) | Kontrollgruppe ($n = 15$) | Signifikanzniveau (2-seitig) |
|---------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| a – d10 | -0,6 \pm 1,4 | -0,6 \pm 0,9 | $p = 0,85$ |
| d10 – d30 | -0,6 \pm 1,3 | 0,1 \pm 0,5 | $p < 0,05$ |
| d30 – d60 | 0,1 \pm 1,8 | 0,4 \pm 0,7 | $p = 0,08$ |

Beide Gruppen nehmen bis zum Erreichen des Minimums um einen Betrag ab, der sich nicht signifikant voneinander unterscheidet. Die Fläche der Kontrollgruppe wächst signifikant mehr an ($p = 0,04$) als die der Frühgeborenen (Mann-Whitney-U-Test). Allerdings stand der Kontrollgruppe auch mehr Zeit zur Verfügung, da sie ihr Minimum bereits nach 10 s erreicht haben. Um schließlich den gesamten Beobachtungszeitraum zu berücksichtigen, zeigt nun die Bilanz, dass während des arteriellen Gefäßverschlusses die Fläche der Frühgeborenen weit mehr absinkt als die der Kontrollgruppe (Mann-Whitney-U-Test, Tab. 3-6).

Tabelle 3-6: Fläche Δ - Summen im Vergleich. Angaben der Fläche in (cm^2/cm^2)x100% (Mittelwert \pm SD).

| | Frühgeborene ($n = 47$) | Kontrollgruppe ($n = 15$) | Signifikanzniveau (2-seitig) |
|---------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Summe negativ | -1,0 \pm 2,1 | -0,6 \pm 0,9 | $p = 0,31$ |
| Summe positiv | 0,1 \pm 1,8 | 0,5 \pm 0,5 | $p = 0,04$ |
| Bilanz | -1,0 \pm 1,9 | -0,2 \pm 0,8 | $p < 0,05$ |

3.3.5 Prozentualer Anteil kleiner Gefäße

Der prozentuale Anteil an kleinen Gefäßen bleibt während des Gefäßverschlusses im Gegensatz zur FVD, Oberfläche und gesamten Gefäßlänge in beiden Gruppen annähernd gleich und befinden sich auf konstantem Niveau (FG mit $p = 0,43$, KG mit $p = 0,32$). Unterschiede zwischen beiden lassen sich hierbei nur sehr schwierig feststellen, wobei Frühgeborene tendenziell weniger kleine Gefäße aufweisen als die Kontrollgruppe.

3.3.6 Prozentualer Anteil mittlerer Gefäße

Beide Gruppen vermindern den Anteil mittlerer Gefäße nach arteriellem Verschluss sprunghaft, jedoch nicht signifikant. Während des Blutstopps lassen sich keine unterschiedliche Veränderungen aufzeigen (FG mit $p = 0,40$, KG mit $p = 0,32$). Frühgeborene besitzen tendenziell größere Gefäße (M%) und zeigen geringere Schwankungen. Dies bedeutet, dass sich Gesamtlänge aller Gefäße zwar verändert, die prozentuale Verteilung der Gefäßgrößen jedoch stets identisch ist.

3.4 Mikrozirkulation nach Öffnen des arteriellen Verschlusses

Nachdem wir nun den arteriellen Blutfluss über eine Beobachtungszeitraum von insgesamt 75 s (60 s Blutstopp + 15 Aufnahmedauer) angehalten haben, ließen wir die Luft aus der Blutdruckmanschette ab und nahmen das Verhalten der Gefäße über einen Zeitraum von 300 s auf. Da Veränderungen hinsichtlich der FVD und Fläche sich während der gesamten Aufnahmedauer ähnlich zeigten, werden die Ergebnisse dieser beiden Parameter im Folgenden zusammengefasst dargestellt.

Wie bereits in der Ruheaufnahme zu sehen war, liegen alle Werte der Kontrollgruppe weiterhin auf konstant niedrigerem Niveau. Als Reaktion auf den wiedererlangten Blutfluss folgte in beiden Gruppen eine physiologische reaktive Hyperämie. Während die Frühgeborenen ihr Maximum bereits nach 30 s (p30) erreichten, so trat dieses in der Kontrollgruppe erst nach 60 s (p60) auf. Die Werte in der Gruppe der Frühgeborenen sanken innerhalb von 90 s (p30 – p120) auf ihr Minimum, um anschließend bis zum Ende der Beobachtungseinheit (p300) kontinuierlich zu steigen. Auch in der Kontrollgruppe nahmen die Werte ab und fielen bis auf ihr Minimum zurück. Dies dauerte jedoch 120 s

(p60 – p180). Wie auch bei den Frühgeborenen nahmen anschließend die Werte bis zur letzten Aufnahme stetig zu.

Um Gefäßveränderungen innerhalb der Gruppe aufzuspüren, führten wir zum einen den Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für abhängige, nicht-parametrische Daten durch. Zum anderen fand der Mann-Whitney-U-Test seine Anwendung. Er diente zum Vergleich zwischen beiden Gruppen.

Sowohl die FVD als auch die Fläche stiegen im Rahmen der reaktiven Hyperämie in beiden Gruppen signifikant bis an ihr jeweiliges Maximum (d60-Max.) an. Der anschließende Abfall bis auf das jeweilige Minimum (Max.-Min.) zeigte nur in der Gruppe der Frühgeborenen signifikante Veränderungen. Anschließend stiegen die Werte zwar in beiden Gruppen bis zum Ende der Beobachtungsdauer (Min.-p300) wieder erneut an, jedoch zeigten sich hier keine signifikanten Unterschiede. Im Vergleich der Werte mit dem Ruhe- und dem Endzustand (a-p300) waren keine Unterschiede zu beobachten, sodass beide Gruppen innerhalb dieser Zeit den Anfangszustand wieder erlangen konnten. Stellvertretend für beide Parameter steht Abbildung 3-7, die eine Übersicht über den gesamten Zeitraum darstellt. Detaillierte Informationen können der Tabelle 3-7 entnommen werden.

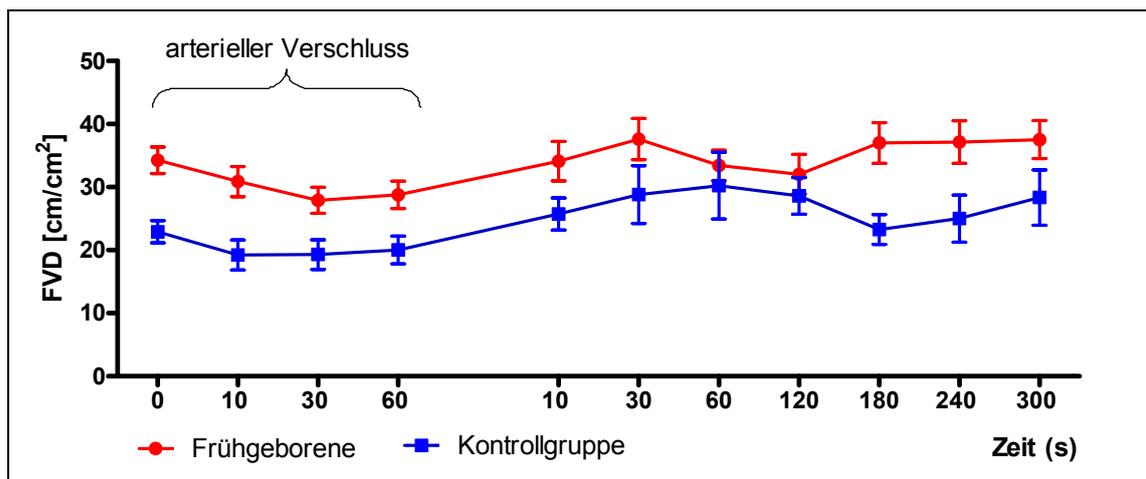


Abbildung 3-7: Gesamtverlauf der Veränderungen hinsichtlich der FVD.

Tabelle 3-7: Veränderungen der FVD und Fläche nach arteriellem Gefäßverschluss im Vergleich. Angaben der FVD in cm/cm^2 , Fläche in $(\text{cm}^2/\text{cm}^2) \times 100 \%$, Mittelwert \pm SD.

| | | Frühgeborene (n = 44) | Niveau (2-seitig) | Kontrollgruppe (n = 14) | Niveau (2-seitig) |
|------------------|----------|--------------------------|----------------------|----------------------------|----------------------|
| FVD | d60 bis | 29,0 ± 15,6 | | 18,0 ± 5,5 | |
| | Max. | 37,6 ± 21,6 | <i>p</i> = 0,002 | 29,8 ± 17,7 | <i>p</i> = 0,04 |
| | Max. bis | 37,6 ± 21,6 | | 28,5 ± 17,6 | |
| | Min. | 32,0 ± 20,8 | <i>p</i> = 0,03 | 24,0 ± 7,9 | <i>p</i> = 0,43 |
| Min. bis p300 | | 32,0 ± 20,8 | | 24,0 ± 7,9 | |
| | | 37,5 ± 20,0 | <i>p</i> = 0,14 | 27,4 ± 14,3 | <i>p</i> = 0,63 |
| a bis p300 | | 34,7 ± 15,2 | | 21,8 ± 6,1 | |
| | | 37,5 ± 20,0 | <i>p</i> = 0,74 | 27,4 ± 14,3 | <i>p</i> = 0,23 |
| Oberfläche | d60 bis | 3,7 ± 2,3 | | 2,1 ± 0,7 | |
| | Max. | 5,0 ± 3,3 | <i>p</i> = 0,001 | 3,8 ± 3,0 | <i>p</i> = 0,04 |
| | Max. bis | 5,0 ± 3,3 | | 3,8 ± 3,0 | |
| | Min. | 4,2 ± 3,0 | <i>p</i> = 0,04 | 3,1 ± 1,2 | <i>p</i> = 0,33 |
| Min. bis p300 | | 4,2 ± 3,0 | | 3,1 ± 1,2 | |
| | | 4,9 ± 2,8 | <i>p</i> = 0,27 | 3,4 ± 2,0 | <i>p</i> = 0,90 |
| a bis p300 | | 4,4 ± 2,4 | | 2,7 ± 0,9 | |
| | | 4,9 ± 2,8 | <i>p</i> = 0,55 | 3,4 ± 2,0 | <i>p</i> = 0,33 |

Nachdem wir bereits Veränderungen innerhalb der Gruppe auf signifikante Unterschiede hin überprüft haben, führten wir im Anschluss den Mann-Whitney-U-Test durch, um Unterschiede im Betrag der Veränderungen (Δ) zu ermitteln. Hierfür dienten definierte Zeitpunkte. In den Zeitabschnitten wurden alle dazugehörigen Beträge addiert und zwischen beiden Gruppen verglichen.

Im Rahmen der reaktiven Hyperämie nahmen die Frühgeborenen tendenziell weniger an FVD und Fläche zu als die Kontrollgruppe, wofür jedoch keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden konnten. Allerdings gelangten sie bereits nach 30 s an ihr Maximum, wohingegen die Kontrollgruppe 60 s benötigte.

Bis zum folgenden Minimum nehmen beide Gruppen um annähernd denselben Betrag ab, der statistisch keinen signifikanten Unterschied aufweist. Trotzdem fällt auch hier ein

unterschiedlicher zeitlicher Verlauf ins Auge. Während Frühgeborene 90 s benötigen, um an ihr Minimum zu gelangen, erfordert die Kontrollgruppe hierfür 120 s. Dies bedeutet, dass Frühgeborene aufgrund ihres größeren Veränderungspotenzials sowohl rascher am Maximum als auch am Minimum sind, obwohl der Betrag der Veränderungen in beiden Gruppen ähnlich ist (Tab. 3-8).

Tabelle 3-8: FVD Δ und Fläche Δ zwischen definierten Zeitpunkten im Vergleich. Angaben der FVD in cm/cm², Fläche in (cm²/cm²) x 100 %, Mittelwert \pm SD.

| | | Frühgeborene (n = 44) | Kontrollgruppe (n = 14) | Signifikanzniveau (2-seitig) |
|--------|--------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| FVD | Δ d60-Max. | 8,5 \pm 18,5 | 9,2 \pm 22,4 | $p = 0,29$ |
| | Δ Max.-Min. | -5,0 \pm 15,5 | -4,5 \pm 17,4 | $p = 0,91$ |
| Fläche | Δ d60-Max. | 12,8 \pm 28,1 | 15,3 \pm 35,6 | $p = 0,36$ |
| | Δ Max.-Min. | -7,0 \pm 23,4 | -7,2 \pm 27,5 | $p = 0,75$ |

4 Diskussion

4.1 Intima-Media-Dicke

Die ehemaligen Frühgeborenen zeigen mit $0,45 \pm 0,03$ mm schon in der Kindheit eine hoch signifikant verdickte Intima-Media in der A. carotis communis im Vergleich zu alters- und geschlechtsabhängigen Normalwerten aus der Literatur. Dies ist die erste Studie, die explizit die Intima-Media-Dicke im Rahmen einer Nachuntersuchung von extrem kleinen Frühgeborenen noch in der Kindheit analysiert hat. Bislang wurde diese nur bei jungen Erwachsenen nachuntersucht. Die Einschlusskriterien waren ähnlich mit einer Schwangerschaftsdauer von weniger als 32 Gestationswochen und/oder ein Geburtsgewicht < 1500 g. Die Autoren hielten nicht die Frühgeburt an sich als Ursache für eine Verdickung des Intima-Media-Komplexes, sondern vielmehr den aktuellen Körperzustand zum Messzeitpunkt. Ein überdurchschnittlicher Body-Mass-Index (BMI) führe zu einer Erhöhung der Blutfette und somit zu erhöhten IMT-Werten (39). Die Kinder der vorliegenden Studie haben einerseits einen normalen BMI, andererseits weisen sie eine erhöhte waist-to-hip Ratio und somit eine anormale Fettverteilung mit vermehrtem abdominalen Fettanteil vor (79). Diese untypische Verteilung des Körperfettes nimmt Einfluss auf den Fettstoffwechsel, da abdominales Fett Substanzen, wie freie Fettsäuren und Zytokine, sezerniert (120). Durch Plaqueansammlung und Atheromentstehung resultiert letztlich eine Intima-Media-Verdickung und stünde so in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von FINKEN *et al.* (39). Eine weitere Ursache für eine erhöhte IMT kann zudem im erhöhten Blutdruck gesehen werden. Da frühgeborene Kinder bereits im jungen Alter erhöhte Blutdruckwerte vorweisen (14) und auch unsere Studienkinder bereits erhöhte Werte zeigen (79), besteht die Möglichkeit, dass durch den erhöhten Pulsdruck in den unreifen Gefäßen der Frühgeborenen bereits frühzeitig strukturelle Veränderungen stattfinden, die in einer Verdickung der IMT sonographisch sichtbar werden. Ein weiterer Aspekt hinsichtlich der Pathophysiologie stellt die postnatale Ernährung dar. Frühgeborene Kinder erhalten nach Geburt eine spezielle Ernährung, um alle nötigen Nährstoffe zu erhalten, somit den Energieverbrauch zu decken und rasch an Größe zuzunehmen. Hierbei handelt es sich um das sog. postnatale Wachstum. Allerdings ist bis heute nicht klar, inwiefern diese meist doch sehr reichhaltige Ernährung Einfluss auf das kindliche, noch unreife Gefäßsystem nimmt. Angereicherte Muttermilch oder speziell angefertigte Frühgeborenen-Formulanahrung, die vermehrt Proteine und Kalorien als konventionelle Säuglingsnahrung enthält, werden den Neugeborenen verabreicht. Im Vergleich zu

8 g/kgKG/Tag wird hierdurch eine rasche Gewichtszunahme der Frühgeborenen von 15 g/kgKG/Tag angestrebt (128). Dieser Wert ergibt sich aus der Gewichtszunahme von 20 g/kgKG/Tag, die ein Fötus *in utero* aufweist. Jedoch war es bislang noch nicht möglich, *in utero*-Wachstumsraten bei Frühgeborenen trotz vermehrter Proteinzufuhr zu erlangen. Die Frühgeborenen des Projekts, auf dem unsere Studie basiert, zeigten zwar ein rascheres Größenwachstum, dennoch lagen sie weiterhin unterhalb der 10. Perzentile (33). Wir wissen heute, dass eine Proteinzufuhr von 3 g/kgKG/Tag nicht ausreicht und eine Erhöhung auf 4 g/kgKG/Tag baldmöglichst nach Geburt erreicht werden sollte (53). Bislang liegen keine Daten vor, die sich mit den Langzeitauswirkungen verschiedener Proteinmengen beschäftigen. Eine zu geringe Zufuhr an Proteinen, Kalorien und anderen Nährstoffen scheint zu kognitiven Einschränkungen zu führen (86). Andererseits zeigten Neugeborene, die mit Formula höherer Proteinmengen zugefüttert wurden, ein höheres Risiko für Adipositas (75). Kombiniert mit dem noch unreifen Gefäßnetz könnte die erhöhte Protein- und Kalorienzufuhr reaktiv zu einer strukturellen Umformung und letztlich erhöhten IMT-Werten führen. Im Rahmen des postnatalen Aufholwachstums werden gerade die ersten beiden Wochen nach Geburt als kritisches Zeitfenster postuliert. Rasches Wachstum besonders in diesem Zeitraum ist assoziiert mit endothelialer Dysfunktion bereits 16 Jahre später und ist dadurch vermutlich mit erhöhtem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen verbunden (123).

Zahlreiche Studiengruppen erforschten den Zusammenhang zwischen der IMT und Kindern mit geringem Geburtsgewicht. Allerdings handelte es sich bei dieser Studienpopulation meist um Kinder, die zwar reif, jedoch mit niedrigem Geburtsgewicht (SGA, *small for gestational age*) aufgrund intrauteriner Wachstumsretardierung auf die Welt gekommen sind. Die Ergebnisse lassen sich somit nur zum Teil auf die unseren beziehen. So herrschen kontroverse Meinungen darüber, ob ausschließlich Frühgeborene mit intrauteriner Wachstumshemmung zum Vergleich hinzugezogen werden können, da sämtliche frühgeborenen Kinder physiologischerweise ein erniedrigtes Geburtsgewicht aufzeigen.

So wiesen zahlreiche Studien eine erhöhte IMT der Aorta bei Neugeborenen mit intrauteriner Wachstumseinschränkung nach. Gründe für diese Wachstumsretardierung waren u.a. ein Nikotinabusus der Mutter (49) und ein eingeschränkter Fettstoffwechsel (73) während der Schwangerschaft. Eine weitere Studiengruppe ermittelte erhöhte IMT-

Werte bei neunjährigen Kindern mit geringer Nahrungsaufnahme der Mutter während der Schwangerschaft (40).

Bei SGA-Neugeborenen, die postnatal innerhalb von 30 Tagen verstarben, konnte keine Korrelation von Geburtsgewicht und IMT koronarer Arterien gefunden werden (102). Auch bei drei- bis fünfjährigen Kindern ermittelten TREVISANUTO *et al.* keinen Unterschied hinsichtlich der karotiden und aortalen IMT im Vergleich zwischen SGA (*small for gestational age*) und AGA (*appropriate for gestational age*) Kindern (136). Demzufolge kann ein erniedrigtes Geburtsgewicht *per se* nicht die einzige Ursache für das Intima-Media-Wachstum sein. Vielmehr tragen andere noch unbekannte Faktoren dazu bei, dass Kinder mit niedrigem Geburtsgewicht ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen besitzen.

Nichtsdestotrotz geht eine Verdickung der Intima-Media nicht unbedingt mit einem erhöhten Atherosklerose-Risiko und somit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen einher. Nicht immer stellt sie zwangsläufig den Beginn eines Krankheitsprozesses dar. So zeigte eine Studiengruppe, dass auch eine physiologische Anpassungsreaktion eine Erhöhung des Intima-Media-Komplexes zur Folge haben kann. Diese resultiert aus der strukturellen Anpassung an den verminderten aortalen Blutfluss, der sich nach der Geburt aufgrund der Einstellung des umbilikalen und plazentalen Kreislaufes ergibt (95).

4.2 IMT und das kardiovaskuläre Risiko

Die Studiengruppe weist eine signifikant erhöhte Intima-Media vor. Welche Auswirkungen hat dies nun auf das kardiovaskuläre Risiko im späteren Leben? Als Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen gilt die arterielle Hypertonie. Eine Studie untersuchte in diesem Zusammenhang die IMT der Arteria carotis communis bei hypertensiven Jugendlichen im Vergleich zu gesunden Probanden im Alter von 15-18 Jahren. Diese wies eine signifikante Erhöhung der IMT-Werte auf Seiten der Jugendlichen mit Bluthochdruck auf, wobei Korrelationen mit dem Alter, Gewicht, systolischen und diastolischen Blutdruck festgestellt werden konnten. Dies zeigt, dass deutliche Gefäßveränderungen bereits frühzeitig vor Manifestation der Krankheit vorzufinden sind (100). In Übereinstimmung damit zeigten LIM *et al.* 2009, dass eine erhöhte IMT der Karotis bereits

bei gesunden Jugendlichen gesehen werden kann. Sie wiesen zwar erhöhte Blutdruckwerte auf, diese lagen jedoch noch im Normalbereich und waren somit eigentlich ohne Krankheitswert. Hierfür wurden 285 Schüler im Alter von 15,2 Jahren untersucht. Es zeigte sich eine Korrelation zwischen der IMT und dem systolischen Blutdruckwert, sodass dieser Wert als entscheidender Faktor für die IMT im Jugendalter angesehen wird (81). Allerdings haben Patienten, die seit ihrer Kindheit einen erhöhten Blutdruck besitzen, häufig Übergewicht. Einige Studien kamen zu dem Ergebnis, dass die IMT weit mehr mit Fettleibigkeit oder Dyslipidämien korreliert als mit systolischen Blutdruckwerten (39;64). So beobachteten FINKEN *et al.* in einer Kohorte ehemaliger Frühgeborener mit sehr geringem Geburtsgewicht, dass Patienten mit erhöhtem BMI, erhöhtem Hüftumfang und vermehrtem absoluten Fettanteil ein ungünstigeres Blutfettprofil vorzuweisen haben. Gleichzeitig wiesen sie Korrelationen zwischen dem Lipidprofil und der IMT nach, woraus sie den Schluss fassten, dass Fettleibigkeit den größten Einfluss auf die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen nimmt (39). JÄRVISALO *et al.* ermittelten ebenfalls erhöhte IMT-Werte bei präpubertären Kindern im Alter von 11 Jahren, die eine Hypercholesterolämie aufweisen. Gleichzeitig zeigten auch Kinder mit Diabetes mellitus Typ 1, ein weiterer wichtiger Risikofaktor, eine Verdickung der Intima-Media (65). In Übereinstimmung hierzu ermittelten DALLA-POZZA *et al.* gesteigerte IMT-Werte bei 14-jährigen Diabetes-Patienten. Die Ergebnisse korrelierten stark mit Alter zu Krankheitsbeginn, der Insulindosis, dem systolischen Blutdruck und dem Gesamtcholesterinwert. Patienten mit einer Verdickung der Intima-Media waren älter, erkrankten jedoch früher (25).

Die Intima-Media-Dicke der A. carotis communis gilt als Indikator für die generalisierte Atherosklerose (46) und ist zudem mit den meisten traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren verbunden (22;25;81). Aus diesem Grund ist die IMT stark mit dem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert und besitzt somit einen guten Vorhersagewert für vaskuläre Ereignisse (15;84;97). Zahlreiche Studien belegen, dass bereits bei jüngeren Patienten die Dicke des Intima-Media-Komplexes mit verschiedenen Risikofaktoren, wie Hypertonie (81;100), Diabetes mellitus Typ 1 (25;65) oder familiärer Hypercholesterinämie (64), assoziiert ist. Zudem konnte gezeigt werden, dass im jungen Erwachsenenalter im oberen Bereich liegende Blutdruckwerte mit der Manifestation einer arteriellen Hypertonie einhergehen und zu einer Erhöhung des kardiovaskulären Risikos führen (9;10;93). Auch unsere Studiengruppe zeigte signifikant erhöhte systolische

Blutdruckwerte im Vergleich zur Kontrollgruppe, gleichzeitig eine Verdickung der Intima-Media. Da bereits bei nicht manifester Hypertonie erhöhte IMT-Werte zu messen sind (81) und diese als Marker für Atherosklerose von großer Bedeutung sind (46), sollten bereits im jungen Alter bei Vorliegen von Risikofaktoren regelmäßige Kontrollen durchgeführt werden. Sind Risikofaktoren vorhanden, so könnte die IMT anhand einfacher Ultraschalluntersuchungen in regelmäßigen Abständen bestimmt werden, um Diagnosen frühzeitig stellen und rechtzeitig mit einer Therapie beginnen zu können, bevor sich schwerwiegende Folgeerkrankungen manifestieren.

4.3 Mikrozirkulation unter Ruhebedingungen

Unsere ehemaligen Frühgeborenen mit extrem geringem Geburtsgewicht weisen eine erhöhte kapilläre Dichte im Ruhezustand auf.

Dieses Ergebnis steht allerdings im Gegensatz zu Resultaten anderer Forschungsgruppen. BONAMY *et al.* zeigten, dass sehr frühgeborene Kinder eine erniedrigte funktionelle Dichte in der Hautmikrozirkulation besitzen, indem sie anhand der Intravitalmikroskopie Veränderungen mikrozirkulatorischer Parameter am Finger vor und nach venösem Verschluss aufnahmen. Dieses unterschiedliche Ergebnis resultiert vermutlich aus dem unterschiedlichen Messort. Während unsere Messungen am Unterarm des Kindes aufgenommen wurden, wurde bei dieser Studiengruppe die Mikrozirkulation am Finger untersucht (14).

IRVING *et al.* hingegen konnten keineswegs eine erniedrigte kapilläre Dichte feststellen und folgerten hieraus, dass ein geringes Geburtsgewicht nur in geringem Maße Einfluss auf die Entwicklung der Gefäßdichte nimmt. Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und Kindern mit geringem Geburtsgewicht sowohl angemessen für ihr Gestationsalter als auch aufgrund intrauteriner Wachstumsstörung konnten keine festgestellt werden. Auch hier wurde die kapilläre Dichte am Finger mittels Intravitalmikroskopie im Untersuchungsalter von 24 Jahren beurteilt (62). Dies stimmt durchaus mit den Ergebnissen anderer Studiengruppen überein, die ähnliche Beobachtungen in der Hautmikrozirkulation von Kleinkindern (43) und Kindern vor der Pubertät (59) machten. Einen Vergleich zwischen all diesen Studien anzustellen, ist jedoch dadurch erschwert, dass Frühgeborenen unterschiedlichen Alters, unterschiedliche Messorte und verschiedene Messmethoden angewandt wurden.

Mögliche Gründe für die erhöhte Dichte unserer Studiengruppe sollen nun im Folgenden erörtert werden. Das zweite Trimester einer Schwangerschaft ist gekennzeichnet von einer raschen fetalen Wachstumsrate und Organentwicklung, die somit ein sich schnell entwickelndes kapilläres Netzwerk erforderlich macht. Da einerseits sehr frühgeborene Kinder nach Geburt häufig an Infektionen, Stress und auch Hypoxie leiden, könnte dadurch die kapilläre Entwicklung während einer derartig sensiblen Phase beeinträchtigt werden. Studien an Hühnerembryos zeigten demnach, dass chronisch hypoxische Zustände in einem dichteren kapillären Netzwerk mit erhöhter maximaler Blutflusskapazität resultieren, sodass Hypoxie durchaus Einfluss auf die frühe Entwicklung der Hautmikrozirkulation nehmen kann (14). Andererseits jedoch müssen frühgeborene Kinder sich rasch an die drastisch veränderte Umgebungssituation anpassen, welches große funktionelle und auch metabolische Anforderungen an das Kind stellt. Insbesondere die Anpassung vom intrauterinen Sauerstoffpartialdruck von 40-45 mmHg auf einen extrauterinen Druck von 100 mmHg ist hierbei hervorzuheben. Diese Umstellung des kindlichen Kreislaufes könnte Einfluss auf die Entwicklung des vaskulären Systems nehmen (70). Inwiefern der wechselnde Sauerstoffpartialdruck die Entwicklung des Gefäßnetzes prägen kann, wird besonders an der Frühgeborenenenerkrankung Retinopathia praematurorum deutlich. Bei frühgeborenen Kindern ist die Retina noch nicht vollständig ausgereift. Nach der Geburt steigt aufgrund der Atmung der Sauerstoffpartialdruck im Blut, wird durch Beatmung mit hoher Sauerstoffkonzentration erhöht und kann somit die natürliche Gefäßreifung beeinträchtigen. Aufgrund dieses hyperoxidativen Zustands werden Wachstumsfaktoren, wie VEGF (*vascular endothelial growth factor*), herunterreguliert. Dadurch wird die weitere Ausreifung des Gefäßnetzes blockiert. Steigen nun mit der Zeit die metabolischen Anforderungen der Retina oder wird die erhöhte Sauerstoffzufuhr abgestellt, so werden die unreifen, nicht-perfundierten Gebiete in der Retina hypoxisch und führen somit zu einer reaktiven Überproduktion von Wachstumsfaktoren aufgrund des relativen Sauerstoffmangels. Zahlreiche Gefäßneubildungen am Rand der nicht durchbluteten Netzhaut entstehen und entwickeln sich im schlimmsten Fall zum Vollbild der Retinopathia praematurorum, der retrolentalen Fibroplasie mit Ablösung der gesamten Retina. Auch in der Hautmikrozirkulation könnte die Überproduktion an Wachstumsfaktoren die übermäßige Gefäßneubildung in der Haut im Rahmen der Nachreifung stimulieren und somit zu einer erhöhten Kapillardichte führen (139).

Weitere Gründe könnten auf Seiten der jeweiligen Messtechniken liegen, die sich hinsichtlich ihrer unterschiedlichen Eindringtiefe in das Gewebe unterscheiden. So führten Messungen der funktionalen und morphologischen Gefäßveränderungen mittels Laser-Doppler bzw. Nagelfalz-Kapillarmikroskopie bei Patienten mit systemischer Sklerodermie zu verschiedenen Ergebnissen, weil sie unterschiedliche Schichten im Kapillarbett messen (24). Da die SDF-Bildgebung ein sehr neuartiges Gerät mit hohem Kontrast und hoher Auflösung darstellt, Messungen am Unterarm erlaubt und vermutlich mikrozirkulatorische Bilder in einer anderen Schicht als konventionelle Messmethoden, wie die Intravitalmikroskopie oder der Laser-Doppler, aufnimmt, bereitet dies große Schwierigkeiten, Ergebnisse anderer Studien mit unseren zu vergleichen.

4.4 Mikrozirkulation während arteriellem Verschluss

Während des arteriellen Verschlusses besaßen die Gefäße der Frühgeborenen ein geringeres Veränderungspotenzial. Frühgeborene besitzen eine erhöhte Anzahl an Gefäßen, benötigen demnach länger, um an ihr Minimum zu gelangen, und zeigen demzufolge insgesamt eine geringere Reaktivität im Vergleich zur Kontrollgruppe. Da das Delta bis zum Minimum in beiden Gruppen annähernd gleich ist, die Frühgeborenen hierfür jedoch mehr Zeit benötigen, gehen wir davon aus, dass diese eine geringere Aktivität mit steiferen Gefäßen vorweisen. Im Gegensatz hierzu war die Dichte in der Kontrollgruppe geringer, gelangten dennoch rascher an ihr Minimum. Vermutlich besitzen diese Kinder Gefäße mit besserer Reaktivität, sodass das Gefäßnetz rasch auf den äußeren Reiz, nämlich den Gefäßverschluss, reagieren und sich somit an die neue Situation anpassen kann. Die Kontrollgruppe zeigt hierbei keine signifikanten Unterschiede zur Ausgangslage. Es resultiert eine flachere Reaktionskurve. Dies weist auf einen besseren Adaptationsmechanismus hin, da das Gefäßnetz rascher auf den arteriellen Verschluss reagiert und bereits nach kurzer Zeit den Ausgangszustand trotz andauernden Verschluss anstrebt. Auch Messungen bzgl. der Oberfläche und Gesamtlänge stimmen mit diesen Ergebnissen überein.

Eine Studie, deren Ergebnis mit unserem in Übereinstimmung steht, wurde von MARTIN *et al.* im Jahre 2000 durchgeführt. Sie gingen davon aus, dass eine endotheliale Dysfunktion und verminderte Elastizität in den Arterien frühe Zeichen in der Entwicklung von

Bluthochdruck und Atherosklerose sind. Um dieser Hypothese nachzugehen, untersuchten sie 44 gesunde, präpubertierende Kinder und 22 mit niedrigem Geburtsgewicht im Alter von 9 Jahren. Nach lokaler Applikation von Acetylcholin bzw. Nitroglycerin wurde die Endothelfunktion mittels Laser-Doppler gemessen. Eine verminderte Vasodilatation als Reaktion auf Acetylcholin konnte bei Kindern mit niedrigem Gewicht gezeigt werden. Messungen der Elastizität in der Aorta bzw. A. carotis communis mittels *ultrasonic vessel-wall tracking system* führten zu keinem unterschiedlichen Ergebnis. Es zeigte sich jedoch eine Tendenz zu einer steiferen Gefäßwand in der A. carotis. Diese Studie ergab, dass geringes Geburtsgewicht eng mit frühzeitiger Versteifung und einem eingeschränkten Gefäßregulationsmechanismus bereits im Schulkindalter korreliert, der sich in einem verminderten vasodilatatorischen Potenzial äußert. Diese verminderte Kapazität und auch der Verlust an Elastizität können Ursachen für die Manifestation von arterieller Hypertonie, Diabetes und Atherosklerose im Erwachsenenalter darstellen (88).

In diesem Zusammenhang kam jedoch eine weitere Studiengruppe zu einem gegensätzlichen Ergebnis. Da eine Versteifung der A. carotis communis, als ein Marker frühen atherosklerotischen Prozesses, häufig in reif geborenen Kindern mit niedrigem Geburtsgewicht vorzufinden ist, überprüften BONAMY *et al.* die Hypothese, dass das arterielle Größenwachstum in der Karotis als auch dynamische Eigenschaften durch Frühgeburtlichkeit beeinflusst werden. Hierfür untersuchten sie 56 Schulkinder, darunter 39 Frühgeborene (29 Gestationswochen) und 17 Kontrollkinder, im Alter von 7-12 Jahren mittels B-Mode Ultraschall und beurteilten somit die pulsatilen Bewegungen der Gefäßwand in der A. carotis communis. Sie kamen zu dem Schluss, dass weder die Elastizität der Arterienwand noch die Struktur durch Frühgeburtlichkeit beeinträchtigt wird. Somit sind Ursachen für ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko bei Frühgeborenen vielmehr im mikrozirkulatorischen Gefäßbett zu finden (12).

4.5 Mikrozirkulation nach arteriellem Verschluss

Im Gegensatz zu den Ergebnissen während des arteriellen Verschlusses zeigen die Frühgeborenen post-okklusiv eine erhöhte reaktive Gefäßveränderung. Sie gelangen rascher an ihr Maximum, anschließend an ihr Minimum und weisen hierbei größere Veränderungssprünge auf als die Kontrollgruppe, die jedoch nicht statistisch signifikant sind. Das Gefäßverhalten bzgl. Dichte, Oberfläche und Gefäßlänge in beiden Gruppen ist

hingegen ähnlich. Im Rahmen der reaktiven Hyperämie steigen die mikrozirkulatorischen Parameter rasch an, um daraufhin wieder zu sinken. Innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 300 s pendeln sich alle Parameter ein und weisen am Ende dieses Zeitraumes keine signifikanten Unterschiede zur Ausgangssituation auf. Beide Gruppen reagieren rasch auf den wiedererlangten Blutfluss, jedoch vermutlich auf unterschiedliche Art. Während die Frühgeborenen durch Erhöhung der Kapillarzahl, somit der Dichte, auf den vermehrten Blutfluss reagieren, so bewältigt die Kontrollgruppe diesen durch Beschleunigung des Blutflusses, ohne die Dichte zu erhöhen oder Kapillaren zu erweitern.

Diese Untersuchung wurde in Anlehnung an zahlreiche Studien durchgeführt, die die Gefäßreaktivität und Endothelfunktion im Rahmen einer post-okklusiven reaktiven Hyperämie beurteilt haben. Doch auch hier sind die Ergebnisse widersprüchlich. So untersuchten BONAMY *et al.* mikrozirkulatorische Parameter, Endothelfunktion als auch Blutdruckwerte in einer Kohorte von Frühgeborenen. Hierbei handelt es sich um eine klinische Follow-up Studie von 60 gesunden Schulkindern im Alter von 7-12 Jahren, 39 Kinder mit einem durchschnittlichen Gestationsalter von 29 Wochen und 21 reife Kinder als Kontrollgruppe. Mittels Intravitalmikroskopie wurde die kapilläre Dichte in der Haut am Finger vor und nach venöser Okklusion gemessen. Hierbei wiesen die frühgeborenen Kinder eine signifikant niedrigere funktionelle kapilläre Dichte auf, welche jedoch während Okklusion nicht mehr zu sehen war. Für die Beurteilung der Endothelfunktion wurde mit einem Laser-Doppler Gerät die Hautdurchblutung vor und nach transdermaler Applikation von Acetylcholin bestimmt. Die Endothelfunktion veränderte sich weder im Ruhezustand noch im Rahmen der reaktiven Hyperämie. Dies stimmt somit mit unseren Ergebnissen überein (14). Ergänzend hierzu führte eine weitere Studiengruppe Untersuchungen zur Beurteilung der Endothelfunktion durch. Untersucht wurden insgesamt 277 Kinder im Alter von 13-16 Jahren, die entweder reif oder bereits nach 31 Gestationswochen (mittleres Geburtsgewicht von 1,4 kg) zu früh auf die Welt gekommen waren. Die Endothelfunktion wurde mittels Ultrasonographie an der Arteria brachialis beurteilt. Eine Blutdruckmanschette wurde am Unterarm für 5 min über einen Druck von 300 mmHg aufgepumpt. Mithilfe eines Doppler-Gerätes konnte der Blutflussanstieg im Rahmen der reaktiven Hyperämie deutlich erfasst werden. Es fanden sich keine Unterschiede bzgl. der FMD (*flow-mediated vasodilatation*) zwischen beiden Gruppen. Diese Beobachtungen führen zu dem Schluss, dass Kinder kein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen im Erwachsenenalter nur aufgrund ihrer Frühgeburtlichkeit

haben (125). In diesem Zusammenhang gingen NORMAN *et al.* der Frage nach, ob verschiedene Wachstums- und Umweltfaktoren bereits während des dritten Schwangerschaftstrimesters zu Beeinträchtigungen der Gefäßfunktion in früher Kindheit führen. Hierfür beurteilten sie die endothelabhängige Vasodilatation bei drei Monate alten Säuglingen, die entweder früh unter 30 Gestationswochen oder reif, AGA (*appropriate for gestational age*) oder SGA (*small for gestational age*) geboren wurden. 35 Frühgeborene und 19 Kontrollkinder nahmen an der Studie teil. Messungen der Gefäßfunktion wurden mithilfe eines Laser-Doppler Gerätes vor und nach transdermaler Applikation von Acetylcholin, einem endothelabhängigen Vasodilatator, durchgeführt. Hierbei ließen sich keine Unterschiede in der basalen Hautdurchblutung zwischen Frühgeborenen und Reifgeborenen bzw. SGA oder AGA feststellen. Allerdings zeigten die SGA-Kinder unter den Reifgeborenen eine verlangsamte Antwortreaktion auf Acetylcholin und auch das Reaktionsausmaß fiel geringer aus. Der Vergleich zwischen SGA- und AGA-Kindern in der Gruppe der Frühgeborenen ergab keine Unterschiede. So zeigte diese Studie, dass nur gesunde SGA-Kinder, die reif geboren sind, bereits im frühen Kindesalter Einschränkungen in ihrer vaskulären Endothelfunktion aufweisen. Dies deutet auf einen Zusammenhang zwischen intrauteriner Wachstumsretardierung und endothelialer Dysfunktion. Eine Geburt vor dem dritten Trimester scheint diese Assoziation vermutlich aufgrund unterschiedlichen Zusammenspiels zwischen Genen und Umwelt im Vergleich zur Situation *in utero* zu mindern. Dies wirft neue Fragen auf im Bezug auf den optimalen Zeitpunkt für die Geburt eines wachstumsretardierten Föten (96).

Im Gegensatz zu diesen Studien stehen Ergebnisse weiterer Gruppen, die die Endothelfunktion post-okklusiv untersucht haben. Allerdings beziehen sie sich auf Kinder mit niedrigem Geburtsgewicht, die jedoch reif geboren sind. In einer Studie von SERNE *et al.* standen 30 reif geborene, gesunde Studienteilnehmer im Alter von 35 Jahren zur Verfügung. Die durchbluteten Kapillaren am Nagelfalz wurden am Mittelfinger mittels Kapillarmikroskopie visualisiert. Zwei unterschiedliche Bereiche wurden vor und nach vierminütigem arteriellem Verschluss mit einer Fingermanschette aufgenommen. Hierbei beurteilten sie die mikrovaskuläre Funktion anhand kapillärer Zunahme während post-okklusiver reaktiver Hyperämie mittels Videomikroskopie am Nagelfalz und (un-)abhängiger Vasodilatation des Endothels in der Haut anhand der Laser Doppler Fluxmetrie kombiniert mit der Iontophorese von Acetylcholin und Natrium-Nitropussiden. Sie beobachteten eine Assoziation zwischen Geburtsgewicht und post-okklusiver

Kapillarzunahme. Je geringer das Gewicht, desto weniger der Anstieg der Kapillaranzahl nach Ischämie. Sie gehen nun davon aus, dass Kinder mit geringem Geburtsgewicht mit einer geringeren Anzahl an Kapillaren und Arteriolen ausgestattet sind. Dies führe zu einem erhöhten Gefäßwiderstand und fördere somit die Manifestation erhöhten Blutdrucks im höheren Alter (120). Im Bezug auf kardiovaskuläre Risikofaktoren überprüften GOODFELLOW *et al.* die Hypothese, ob endotheliale Dysfunktion die Entwicklung von Diabetes mellitus, Hypertonie oder ischämischen Herzerkrankungen bei Erwachsenen mit geringem Geburtsgewicht zu beschleunigen vermag. Sie untersuchte 19-20jährige gesunde Probanden mit niedrigem (< 2,5 kg) und normalem (3,0-3,8 kg) Geburtsgewicht. Die Endothelfunktion wurde anhand Messungen der flussabhängigen Vasodilatation (FMD, *flow-mediated vasodilatation*) an der Arteria brachialis mittels Ultraschall beurteilt, der Blutfluss mittels eines Doppler-Gerätes. Eine Blutdruckmanschette am Handgelenk des Probanden wurde für 5 Minuten über den systolischen Blutdruckwert aufgepumpt. Der Blutfluss wurde durchgehend 15 s vor bis 5 min nach arterieller Okklusion aufgezeichnet. Im Rahmen der hyperämischen Reaktion stieg der Blutfluss der A. brachialis auf das 5 bis 6fache in beiden Gruppen gleichmäßig an. Allerdings zeigte die flussabhängige Vasodilatation, die anhand des Durchmessers beurteilt wurde, erhebliche Einschränkungen bei Probanden mit geringem Geburtsgewicht. Sie folgerten hieraus, dass eine endotheliale Dysfunktion aufgrund fötaler Malnutrition dieser SGA-Kinder resultiert (45). GOH *et al.* untersuchten die vasodilatatorische Funktion von Mikrogefäßen und die kapilläre Dichte von drei Monate alten Säuglingen mit einem Geburtsgewicht im höchsten bzw. niedrigsten Quartil, um die Hypothese zu testen, dass Einschränkungen der Mikrozirkulation hinsichtlich Struktur oder Funktion bei Kindern mit niedrigem Geburtsgewicht bereits im frühen Alter existieren. Eine maximale hyperämische Reaktion wurde durch Erwärmung der Haut auf 42-44 °C erreicht und mittels Laser-Doppler Bildgebung beurteilt. Zur Untersuchung der endothelabhängigen Vasodilatation beobachtete man zudem Reaktionen der Hautmikrozirkulation am Abdomen nach Applikation von Acetylcholin durch Iontophorese. Die Untersuchungen am Fuß des Kindes ergaben eine erniedrigte maximale vasodilatatorische Reaktion im Rahmen der Hyperämie bei Kindern mit niedrigem Geburtsgewicht, jedoch zeigten Messungen der kapillären Dichte und vasodilatatorische Reaktionen auf Acetylcholin keine Unterschiede (43). So zeigte auch diese Studie, dass reif geborene SGA-Kinder durchaus Einschränkungen hinsichtlich ihrer vaskulären Funktion zeigen.

Eine mögliche Erklärung, weshalb reife SGA-Kinder im Gegensatz zu unseren Frühgeborenen eine verminderte Endothelfunktion und steifere Arterien aufweisen, liefert die Studiengruppe um BONAMY *et al.*, die in dieser Hinsicht ebenfalls keine Unterschiede in der Gruppe der Frühgeborenen aufzeigen konnte. So wird vermutet, dass das dritte Schwangerschaftstrimester ein sehr sensibler Zeitabschnitt für die Entwicklung kardiovaskulärer Risikofaktoren darstellt. Sehr früh geborene Kinder verbringen diese Zeit *ex utero* und erhalten aufgrund dessen Nahrungsergänzungsmittel, wie Folsäure. Tierstudien haben hierbei gezeigt, dass sich Folsäure protektiv auf das kardiovaskuläre System auswirkt. Demnach zeigt ein möglicher Proteinmangel einen negativen Einfluss auf das wachstumsretardierte Fötus, dem dieser *in utero* ausgesetzt ist. Der Einsatz von Nahrungszusätzen stellt somit eine mögliche Erklärung dafür dar, warum unterschiedliche Ergebnisse im Vergleich zwischen früh- und reifgeborenen SGA-Kindern erscheinen (12).

4.6. Mikrozirkulation und das kardiovaskuläre Risiko

Frühgeborene Kinder weisen Veränderungen der Mikrozirkulation auf, jedoch ist bis heute nicht geklärt, auf welche Weise dies mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko im Erwachsenenalter assoziiert ist. Zahlreiche Studien wurden durchgeführt, da die kapilläre Dichte vermutlich auch in anderen Organen und Geweben je nach Geburtsgewicht verändert ist. Während Untersuchungen der Hautmikrozirkulation aufgrund gegensätzlicher Meinungen noch offene Fragen stehen lässt, so ist man sich nach heutigen Erkenntnissen darüber im Klaren, dass die retinale Mikrozirkulation bei frühgeborenen Kindern eingeschränkt ist. Studien zeigten Assoziationen zwischen einem geringen Geburtsgewicht und einem eingeschränkten mikrovaskulären System. Einige sind sogar der Meinung, dieses als Teil eines generellen vaskulären Problems anzusehen (55). Zudem könnten Veränderungen der Mikrozirkulation im Muskel zu einem eingeschränkten metabolischen Stoffwechsel und somit zu einer verminderten Insulinsensitivität führen. Dieser Mechanismus könnte folglich Frühgeburtlichkeit mit Insulinresistenz im Erwachsenenalter miteinander verbinden (58).

Desweiteren rückt der Zusammenhang zwischen Frühgeburt, eingeschränkter Mikrozirkulation und arterieller Hypertonie zunehmend in den Vordergrund der Forschung. Frühgeburtlichkeit geht mit Hypertonie im Erwachsenenalter einher und auch unsere Studiengruppe weist erhöhte systolische Blutdruckwerte im Vergleich zur

Normalpopulation auf (14;50;58;62;66;79). Besteht ein Zusammenhang zwischen einer veränderten Mikrozirkulation und erhöhtem Blutdruck oder sind diese unabhängig voneinander? Bei Patienten, die an arterieller Hypertonie leiden, können Struktur und Funktion der Mikrozirkulation auf mindestens drei verschiedenen Wegen verändert sein. Zum einen können Mechanismen zur Regulation des vasomotorischen Tonus beeinträchtigt sein, welches vermehrte vasokonstriktorische bzw. verminderte vasodilatatorische Reaktionen zur Folge hat. Zum anderen können einzelne präkapilläre Widerstandsgefäße anatomischen Umstrukturierungen unterlegen sein, die sich beispielsweise in einer Erhöhung des Verhältnisses zwischen Gefäßwand und Lumen auswirken. Außerdem können auf Ebene des mikrovaskulären Netzwerkes Veränderungen auftreten, die mit einer verminderten Kapillardichte (*capillary rarefaction*) innerhalb des Gefäßbettes einhergehen (80). Untersuchungen deuten darauf hin, dass eine Verminderung der Kapillardichte in zwei Stufen stattfindet. Während der ersten Phase führten funktionelle Veränderungen zur Vasokonstriktion zahlreicher Mikrogefäße bis hin zur Nonperfusion. Vermutlich ist dies das Ergebnis auf eine erhöhte Sensitivität auf vasokonstriktorische Stimuli. Im Anschluss daran verschwinden all diese nicht-perfundierten Gefäße und leiten somit die zweite Phase ein. Im Rahmen struktureller bzw. anatomischer Veränderungen ist nur noch eine verminderte Kapillardichte vorzuweisen. Dieser Zustand kann nun durch maximale Vasodilatation nicht mehr kompensiert werden (106). In diesem Zusammenhang kommt die Frage auf, welche Rolle die Mikrozirkulation in der Entwicklung essentieller Hypertonie übernimmt. Vermutlich können Veränderungen der Mikrozirkulation Bluthochdruck sowohl verursachen als auch als Folge daraus entstehen. Es bildet sich ein Teufelskreis, in dem mikrovaskuläre Veränderungen leicht erhöhte Blutdruckwerte, die jedoch noch keinen Krankheitswert erreichen, aufrechterhalten oder sogar weiter erhöhen. Folglich führen erhöhte Werte dazu, dass der Kapillarwiderstand in der Mikrozirkulation ansteigt und daraus somit eine weitere Erhöhung des Blutdrucks resultiert (80). Anhand von Computersimulationen wurden Langzeitauswirkungen erhöhten Blutflusses und Drucks auf den Gefäßwiderstand und strukturellen Anpassungsmechanismen des vaskulären Netzwerkes untersucht. Diese verdeutlichten, wie eine zunächst geringe Blutdruckerhöhung durch strukturelle Veränderungen Druck und Strömungswiderstand weiterhin vergrößerten. Aufgrund der Gefäßdehnbarkeit reagierten die Kapillaren auf erhöhten intraluminalen Druck mit einer Verringerung des Gefäßdurchmessers, was zu einer weiteren Erhöhung des Gefäßdrucks führte (107).

In zahlreichen Studien wurde die Mikrozirkulation bei Bluthochdruck-Patienten bewertet. So zeigten Patienten mit unbehandelter essentieller Hypertonie im Vergleich zu gesunden Probanden in der Kapillaroskopie Einschränkungen in der Mikrozirkulation mit signifikant erniedrigter Gefäßdichte im Nagelfalz (120), am Fingerrücken (4) und Unterarm (105). Untersuchungen deuten darauf hin, dass eine verminderte Gefäßdichte in der Haut bereits vor Manifestation des Bluthochdrucks nachgewiesen werden kann. ANTONIOS *et al.* wiesen bei borderline hypertensiven Patienten (3) und sogar bei gesunden Patienten mit nur genetischer Prädisposition (2) eine verminderte Kapillardichte mittels Kapillaroskopie am Fingerrücken nach.

Jedoch zeigen Studien über Kinder mit geringem Geburtsgewicht bzw. Frühgeborene mit erhöhten Blutdruckwerten gegensätzliche Ergebnisse. Eine Nachuntersuchung 7 bis 12-jähriger Schulkinder, die mit einem durchschnittlichen Gestationsalter von 29 Wochen auf die Welt gekommen sind, ergab für diese sowohl signifikant erhöhte systolische Blutdruckwerte als auch eine geringere dermale Kapillardichte im Ruhezustand im Vergleich zur Kontrollgruppe. Diese wurde anhand der Intravitalmikroskopie an drei Fingern der linken Hand ermittelt und jeweils vor bzw. während venösem Verschluss aufgenommen. Erzielt wurde der Verschluss der Fingervenen mittels einer Fingermanschette, die auf einen Druck von 40 mmHg für zwei Minuten aufgeblasen wurde (14). Auch Einschränkungen der retinalen Vaskularisierung zusammen mit erhöhten Blutdruckwerten konnten bei Frauen in einem Alter von 26 Jahren und einem mittleren Gestationsalter von 30 Wochen ermittelt werden (70).

Im Gegensatz hierzu ermittelten IRVING *et al.* keinerlei Hinweise darauf, dass Jungen im Alter von 6-16 Jahren mit geringem Geburtsgewicht und erhöhten Blutdruckwerten gleichzeitig Veränderungen der Mikrozirkulation vorweisen. Weder vor noch während venösem Verschluss konnte mittels Kapillaroskopie am Finger eine Erniedrigung der kapillären Gefäßdichte gemessen werden (62).

Die frühgeborenen Kinder unserer Studiengruppe jedoch, die mit einem Geburtsgewicht < 1000 g geboren sind und im Alter von 9-14 Jahren nachuntersucht wurden, zeigten erhöhte systolische Blutdruckwerte, gleichzeitig eine erhöhte dermale Kapillardichte. Wir gehen davon aus, dass eine erhöhte kapilläre Dichte zusammen mit geringer Reaktivität

den Gefäßwiderstand im weit dichteren Gefäßnetz vergrößern und somit erhöhte Blutdruckwerte verursachen. Anpassungsmechanismen können letztlich im Erwachsenenalter dazu führen, dass aufgrund des erhöhten Blutdrucks die dermale Kapillardichte vermindert wird und dadurch Veränderungen in der Mikrozirkulation zum Vorschein kommen. Folglich gehen wir davon aus, dass Einschränkungen in der Mikrozirkulation vermutlich primär und somit als Ursache für erhöhte Blutdruckwerte angesehen werden können. Weitere Studien sind derselben Ansicht und bestätigen diese Hypothese. So zeigten ANTONIOS *et al.*, dass strukturelle Veränderungen der Gefäße bereits bei Patienten, die an essentieller borderline Hypertonie mit nur geringen Symptomen leiden, nachgewiesen werden können. So besaß diese Studiengruppe bereits dieselbe Gefäßdichte wie Patienten mit manifester Hypertonie. Allerdings war hierbei die Kapillardichte vermindert (3). In diesem Zusammenhang gingen IJZERMAN *et al.* der Frage nach, inwiefern mikrovaskuläre Dysfunktionen als Ursache oder Resultat eines erhöhten Blutdrucks bzw. einer Insulinresistenz beobachtet werden können. Im Rahmen einer Kohortenstudie untersuchten sie 21 gesunde, präpubertierende Kinder unterschiedlichen Geburtsgewichts im Alter von 8,6 Jahren, die reif geboren sind. Hierbei beurteilten sie die mikrovaskuläre Funktion anhand kapillärer Zunahme während post-okklusiver reaktiver Hyperämie mittels Videomikroskopie am Nagelfalz und (un-) abhängiger Vasodilatation des Endothels in der Haut anhand der Laser Doppler Fluxmetrie kombiniert mit der Iontophorese von Acetylcholin und Natrium-Nitropussiden. Mittels Kapillarmikroskopie nahmen sie vor und nach vierminütiger arterieller Okklusion durch eine Fingermanschette Bilder an zwei verschiedenen Bereichen auf 1 mm² auf. Dabei notierten sie die Anzahl der Kapillaren im Ruhezustand als auch direkt nach Ablassen der Manschette für eine Dauer von 15 und 30 s. Hinsichtlich der Beurteilung mikrovaskulärer Funktion beobachtete die Studiengruppe einen signifikanten Anstieg der Kapillardichte im Vergleich zum Ausgangszustand, so wie er auch bei unseren Studienkindern zu sehen war. Dabei war eine Geburtsgewichtszunahme von 1 kg assoziiert mit einer Erhöhung des kapillären Recruitments um 22 %. Sie kamen somit zu dem Ergebnis, dass Geburtsgewicht und kapilläres Recruitment positiv assoziiert sind, jedoch das Gewicht in keinem Zusammenhang mit einer Insulinsensitivität und systolischen Blutdruckwerten steht. Hieraus folgerten sie, dass ein vermindertes kapilläres Recruitment bei Individuen mit geringem Geburtsgewicht eine primäre Funktionsstörung darstellt und weniger sekundär als Resultat erhöhten Blutdrucks und/oder Insulinresistenz entsteht und somit eine

bedeutende Rolle im Erwachsenenalter einnimmt, versucht man, Geburtsgewicht und Blutdruck bzw. Insulinresistenz in einen Zusammenhang zu bringen (59).

Nichtsdestotrotz muss die Möglichkeit berücksichtigt werden, dass die Manifestation einer Hypertonie im Erwachsenenalter unabhängig von Einschränkungen der Hautmikrozirkulation sein kann. Weitere Ursachen für Bluthochdruck finden sich in renaler Dysfunktion (18), eingeschränkter autonomer Regulation des kardiovaskulären Systems aufgrund perinatalen Stresses (erhöhte Katecholamine) (67) oder frühzeitiger Ernährung mit Muttermilchersatz für ein rasches postnatales Wachstum (122;124). Weitere longitudinale epidemiologische Studien sind notwendig, um den zeitlichen Zusammenhang zwischen Mikrozirkulation und Bluthochdruck bei Frühgeborenen zu ermitteln.

4.7 Limitationen der Studie

Trotz großer Sorgfalt und Mühe sind auch in unserer Studie einige Fehlerquellen und Limitationen zu verzeichnen. Diese werden im Folgenden ausführlich erörtert.

4.7.1 IMT-Studie

Der erste Teil unserer Studie bestand darin, anhand einer kurzen sonographischen Untersuchung die Dicke des Intima-Media-Komplexes bei ehemaligen Frühgeborenen festzustellen. Leider stand uns hierfür keine eigene Kontrollgruppe zur Verfügung, sodass alters- und geschlechtsabhängige Normalwerte der Literatur entnommen wurden (68). Eine Studiengruppe im selben Institut, die gesunde Kinder maß, errechnete zwar leicht erhöhte Werte im Vergleich zu den Normalwerten aus der Literatur, jedoch waren diese Unterschiede nur sehr gering, sodass die Kontrollwerte als durchaus geeignet eingestuft werden konnten. Man führte dies auf unterschiedliche Messverfahren zurück (25).

Unterschiedliche Messverfahren sind es auch, die einen Vergleich zwischen verschiedenen IMT-Studien erschweren. Während die einen IMT-Werte rein manuell ermittelten, nutzen die anderen automatisierte Analyseprogramme, die zu präziseren Aussagen führten. Zudem waren Ultraschallgeräte mit unterschiedlich hoher Auflösung, von 8 MHz bis zu 12 MHz, im Einsatz, sodass auch aufgrund dessen ein Vergleich erschwert wurde (25).

Ein weiterer Schwachpunkt dieser Studie ist, dass Messungen von drei verschiedenen Untersuchern durchgeführt wurden. Hierbei wurde die intra- und interindividuelle Variation nicht neu ermittelt. Wir beriefen uns auf Untersuchungsprotokolle in von ihnen bereits durchgeführten Studien (25). Diese Variation wurde zudem weitestgehend dadurch minimiert, dass Messungen dem Standardprotokoll nach Touboul folgten und Bilder beider Arterien aufgenommen wurden (44).

Dadurch dass keine eigene Kontrollgruppe gemessen wurde, konnte auch keine Verblindung unserer Studiengruppe durchgeführt werden. Dies war jedoch nicht zwingend erforderlich, da alle Auswertungen von einer computergesteuerten Software übernommen wurden.

4.7.2 Mikrozirkulation-Studie

Auch im zweiten Teil unserer Studie können einige Limitationen aufgezeigt werden. Hierfür stand uns zwar eine Kontrollgruppe von insgesamt 17 Kindern zur Verfügung. Dennoch konnten während der Auswertung signifikante Unterschiede, die graphisch vermutet wurden, statistisch zum Teil nicht belegt werden. Dies ist auf die geringe Datenmenge mit großer Streuung zurückzuführen. Zudem erfolgte keine Einteilung der Kinder in SGA und AGA, die sicherlich zu detaillierteren Ergebnissen geführt hätte. Allerdings ist unsere Gruppe eher zu klein für diese Einteilung.

Ein Schwachpunkt liegt in der Entstehung von Bewegungsartefakten während der Aufnahmedauer. Sowohl aufgrund von Bewegungen des Patienten als auch des Untersuchers können stabile Bildfolgen über 15 s nur relativ schwierig aufgenommen werden. Um Artefakte zu minimieren, wurde der Unterarm des Patienten auf die Untersuchungsfläche mit der Handfläche nach oben platziert, sodass der Patient eine gemütliche, stabile Sitzposition einnehmen konnte. Zudem wurde das Gerät an ein Halteapparat befestigt. Nur durch Stabilisierung der Sonde konnten somit Artefakte durch Zittern oder Eigenbewegungen vermindert und somit ruhige Sequenzen gewährleistet werden.

Neben Bewegungsartefakten lassen sich außerdem Druckartefakte nicht vermeiden, da auch der Druck sich nur schwer regulieren lässt. Die Kapillardichte ist definiert als Länge der Kapillaren (perfundiert und nicht perfundiert) pro Beobachtungsareal (cm/cm^2). Hoher

Sondendruck kann daher zu einer verminderten Kapillardichte führen, da Gebiete geringer durchblutet werden. Dadurch werden Werte fälschlicherweise erniedrigt. Um Druckartefakte aus diesem Grund möglichst gering zu halten, befeuchteten wir die Hautoberfläche initial mit einem Tropfen Natriumchlorid, um die Oberfläche zu vergrößern und somit den Kontakt zum Gewebe zu verbessern. Auch eine sterile Kappe, die auf die Sonde gesetzt wurde, verminderte den Applikationsdruck, da sie einen konstanten Abstand von 0,5 mm zwischen Messsonde und Gewebe gewährleistete. Anhand des Halteapparates konnte der Druck besser reguliert werden. Eine verbesserte Variante, die sich die Eigenschaften des Vakuums zunutze macht, wurde von LINDERT *et al.* (2002) entwickelt. Hierfür wird eine ringförmige Vorrichtung aus Edelstahl direkt auf die sterile Plastikkappe angebracht und durch den Sog (30 mmHg) eine Fixierung im Ringbereich bewirkt. So wird ein direkter Kontakt zwischen Sonde und dem zu untersuchenden Gewebe verhindert und dadurch die Entstehung von Applikationsdruck (82). Es stellt sich jedoch die Frage, inwiefern das umgebende Vakuum Einfluss auf Veränderungen in der Mikrozirkulation nehmen könnte.

Neben diesen beiden Punkten stellt auch der geeignete Messort ein Problem dar. Eine Studiengruppe zeigte, dass transdermale Messungen bei Neugeborenen aufgrund der noch geringen Verhornung der Epidermis problemlos durchgeführt werden können. Bei Erwachsenen jedoch werden Messungen sublingual als geeigneten Messort empfohlen (6). In unserer Studiengruppe, die im Alter von 10-14 Jahren bereits ein ausgereiftes Gefäßnetz besitzen, wären sublinguale Messungen sicherlich ideal gewesen. Um jedoch Veränderungen der Mikrozirkulation während und nach arteriellem Verschluss beobachten zu können, beschränkten wir unsere Messungen auf das untere Drittel des rechten Unterarms und erhielten auch in diesem Bereich gut auswertbare Sequenzen. Zwar konnte gelegentlich nicht durchgehend die identische Stelle aufgrund von Bewegungsartefakten aufgenommen werden, dennoch spiegeln unsere Werte funktionelle Veränderungen im stets gleichen anatomischen Gebiet wider.

Auch während der Auswertung erschienen einige Schwachpunkte. So führte das im Rahmen der automatischen Bildstabilisierung gelegentlich verminderte Beobachtungsareal zu einer verminderten Gesamtlänge (30). Zudem könnten Werte des Gefäßdurchmessers, v.a. in kleinen Gefäßen und unscharfen Abbildungen, teilweise überschätzt sein (34). Außerdem sind Auswertungen nur off-line möglich. Nach Übertragung auf den PC sind meist zudem manuelle Korrekturen möglich, sodass eine schnelle Diagnostik am

Krankenbett letztlich nicht gewährleistet werden kann. Die Weiterentwicklung von Programmen zur on-line Analyse wäre hierfür von großem Nutzen.

Trotz aller Kritik handelt es sich bei der SDF-Bildgebung um eine viel versprechende Messmethode, die den Einsatz von Fluoreszenz-Farbstoffen meidet, keine Nebenwirkungen und Auswirkungen auf den Patienten hat und ohne spezielle Einarbeitung als kleines, handliches Gerät problemlos angewandt werden und zudem Aufnahmen der Mikrozirkulation mit höchster Bildqualität liefern kann.

5 Zusammenfassung

Frühgeborene Kinder mit extrem niedrigem Geburtsgewicht (< 1000 g) besitzen ein erhöhtes Risiko für die Ausbildung von Atherosklerose und folglich kardiovaskulärer Erkrankungen. Es stellte sich die Frage, ob sich eine protein- und kalorienreichere Ernährung postnatal positiv auf die körperliche Verfassung ehemaliger Frühgeborener im Kindesalter hinsichtlich der Dicke des Intima-Media-Komplexes in der A. carotis communis und dermalen Mikrozirkulation auswirkt.

Hierfür wurden 54 Frühgeborene (753 ± 152 g) und 16 Reifgeborene (3395 ± 558 g) als Kontrollgruppe im Durchschnittsalter von 11.8 ± 1.5 Jahren nachuntersucht. Die Dicke des Intima-Media-Komplexes wurde mittels eines hochauflösenden Ultraschallgerätes im B-Modus, das mit einem 11,0-MHz Schallkopf ausgestattet war, ermittelt. Zur Aufnahme der dermalen Mikrozirkulation kam die sog. Sidestream Dark Field (SDF)-Intravitalmikroskopie zum Einsatz. Die Sequenzen der Mikrozirkulation wurden vor, während und nach arteriellem Verschluss am Unterarm des Kindes aufgenommen. Somit konnten Veränderungen hinsichtlich der Gefäßdicke, -oberfläche und -länge off-line analysiert werden.

Die Auswertung der IMT-Untersuchung ergab signifikant erhöhte Werte in der Gruppe der Frühgeborenen ($0,45 \pm 0,03$ vs. $0,38 \pm 0,04$ mm $p < 0,001$)

Bei der Analyse der Hautmikrozirkulation am Unterarm zeigten die Frühgeborenen im Ruhezustand eine erhöhte Gefäßdicke im Vergleich zur Kontrollgruppe ($33,6 \pm 14,5$ (SD) vs. $23,0 \pm 7,1$ cm/cm², $p = 0,002$) mit geringerer Reaktivität während arterieller Okklusion (Chi square 7,4, $p = 0,008$). Sowohl die Oberfläche als auch die gesamte Gefäßlänge wiesen analoge Ergebnisse auf.

Als frühe Gefäßveränderung im Rahmen der Atheromentwicklung stellt eine erhöhte Intima-Media-Dicke dar. Unsere Frühgeborenen zeigen erhöhte IMT-Werte. Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit denen zahlreicher Studien. Allerdings ist immer noch unklar, ob Frühgeburtlichkeit an sich als Ursache dieser Verdickung angesehen werden kann oder ob andere Faktoren, wie Hypertonie, Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie etc., eine mögliche Rolle bei der Entstehung atherosklerotischer Veränderungen spielen.

Zudem weist unsere Studiengruppe eine erhöhte kapilläre Dichte in der Hautmikrozirkulation auf. Dies steht im Gegensatz zu bisherigen Studien, die Frühgeburtlichkeit mit einer erniedrigten Zahl an Kapillaren assoziierten bzw. keine Unterschiede zu Reifgeborenen aufzeigen konnten. Ein Grund für diese konträren Ergebnisse liegt vermutlich in der unterschiedlichen Messmethode. Während die meisten Studien die Mikrozirkulation mittels Intravitalmikroskopie und der Laser-Doppler Methode beurteilten, nutzten wir die Eigenschaften der SDF-Bildgebung, die die Mikrozirkulation in einer höheren Hautschicht misst als die üblichen Geräte. Im Zusammenhang mit erhöhtem Blutdruck kann die erhöhte kapilläre Dichte kombiniert mit den Gefäßen geringerer Reaktivität zu einem vergrößerten Widerstand in dem weit dichteren Gefäßnetz führen und dadurch erhöhte Blutdruckwerte verursachen. Dieser vergrößerte Druck kann im Erwachsenenalter in einer Verminderung der kapillären Dichte und folglich zu Einschränkungen der Hautmikrozirkulation im Rahmen der Anpassungsreaktion führen.

Aus dieser Studie geht hervor, dass frühgeborene Kinder mit extrem geringem Geburtsgewicht trotz besserer Ernährung eine erhöhte Intima-Media-Dicke in der A. carotis communis und signifikante Veränderungen in der dermalen Mikrozirkulation aufweisen. Da Frühgeburtlichkeit zudem mit einem erhöhten Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen assoziiert ist, besteht durchaus die Möglichkeit, dass diese Parameter Einfluss auf die Entstehung kardiovaskulärer Risikofaktoren bereits im frühen Kindesalter nehmen. Daher ist es von besonderer Bedeutung, dass Frühgeborene schon in jungen Jahren an regelmäßigen Untersuchungen teilnehmen, um die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen frühzeitig zu erkennen, um somit anhand geeigneter Therapie eine Manifestation zu verhindern.

Literaturverzeichnis

- (1) Aggett PJ, Agostoni C, Axelsson I, De CM, Goulet O, Hernell O, et al. Feeding preterm infants after hospital discharge: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006;42(5):596-603.
- (2) Antonios TF, Rattray FM, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Rarefaction of skin capillaries in normotensive offspring of individuals with essential hypertension. *Heart* 2003;89(2):175-8.
- (3) Antonios TF, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Rarefaction of skin capillaries in borderline essential hypertension suggests an early structural abnormality. *Hypertension* 1999;34(4 Pt 1):655-8.
- (4) Antonios TF, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Structural skin capillary rarefaction in essential hypertension. *Hypertension* 1999;33(4):998-1001.
- (5) Barker DJ, Bagby SP. Developmental antecedents of cardiovascular disease: a historical perspective. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(9):2537-44.
- (6) Bauer A, Kofler S, Thiel M, Eifert S, Christ F. Monitoring of the sublingual microcirculation in cardiac surgery using orthogonal polarization spectral imaging: preliminary results. *Anesthesiology* 2007;107(6):939-45.
- (7) Ben-Shlomo Y, McCarthy A, Hughes R, Tilling K, Davies D, Smith GD. Immediate postnatal growth is associated with blood pressure in young adulthood: the Barry Caerphilly Growth Study. *Hypertension* 2008;52(4):638-44.
- (8) Benninghoff A, Drenckhahn D. Anatomie. Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie (Band 2). 16. Auflage ed. Urban & Fischer in Elsevier GmbH; 2004. p. 71-82.
- (9) Berenson GS. Childhood risk factors predict adult risk associated with subclinical cardiovascular disease. The Bogalusa Heart Study. *Am J Cardiol* 2002;90(10C):3L-7L.
- (10) Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP, III, Tracy RE, Wattigney WA. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med* 1998;338(23):1650-6.
- (11) Boerma EC, Mathura KR, van d, V, Spronk PE, Ince C. Quantifying bedside-derived imaging of microcirculatory abnormalities in septic patients: a prospective validation study. *Crit Care* 2005;9(6):R601-R606.
- (12) Bonamy AK, Andolf E, Martin H, Norman M. Preterm birth and carotid diameter and stiffness in childhood. *Acta Paediatr* 2008;97(4):434-7.

- (13) Bonamy AK, Bendito A, Martin H, Andolf E, Sedin G, Norman M. Preterm birth contributes to increased vascular resistance and higher blood pressure in adolescent girls. *Pediatr Res* 2005;58(5):845-9.
- (14) Bonamy AK, Martin H, Jorreskog G, Norman M. Lower skin capillary density, normal endothelial function and higher blood pressure in children born preterm. *J Intern Med* 2007;262(6):635-42.
- (15) Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* 1997;96(5):1432-7.
- (16) Bots ML, Hofman A, Grobbee DE. Increased common carotid intima-media thickness. Adaptive response or a reflection of atherosclerosis? Findings from the Rotterdam Study. *Stroke* 1997;28(12):2442-7.
- (17) Bots ML, Mulder PG, Hofman A, van Es GA, Grobbee DE. Reproducibility of carotid vessel wall thickness measurements. The Rotterdam Study. *J Clin Epidemiol* 1994;47(8):921-30.
- (18) Brenner BM. The etiology of adult hypertension and progressive renal injury: an hypothesis. *Bull Mem Acad R Med Belg* 1994;149(1-2):121-5.
- (19) Burke GL, Evans GW, Riley WA, Sharrett AR, Howard G, Barnes RW, et al. Arterial wall thickness is associated with prevalent cardiovascular disease in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Stroke* 1995;26(3):386-91.
- (20) Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, Sharrett AR, Shahar E, Nieto FJ, et al. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol* 2000;151(5):478-87.
- (21) Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* 1997;146(6):483-94.
- (22) Chang HS, Kim HC, Ahn SV, Hur NW, Suh I. Impact of multiple cardiovascular risk factors on the carotid intima-media thickness in young adults: the Kangwha Study. *J Prev Med Public Health* 2007 Sep;40(5):411-7.
- (23) Chawla D, Thukral A, Agarwal R, Deorari AK, Paul VK. Parenteral nutrition. *Indian J Pediatr* 2008;75(4):377-83.
- (24) Correa MJ, Andrade LE, Kayser C. Comparison of laser Doppler imaging, fingertip lacticemy test, and nailfold capillaroscopy for assessment of digital microcirculation in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2010;12(4):R157.
- (25) Dalla PR, Bechtold S, Bonfig W, Putzker S, Kozlik-Feldmann R, Netz H, et al. Age of onset of type 1 diabetes in children and carotid intima medial thickness. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(6):2053-7.

-
- (26) Davies AA, Smith GD, May MT, Ben-Shlomo Y. Association between birth weight and blood pressure is robust, amplifies with age, and may be underestimated. *Hypertension* 2006;48(3):431-6.
 - (27) de Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart JC, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation* 2004;109(23 Suppl 1):III33-III38.
 - (28) De BD, Creteur J, Dubois MJ, Sakr Y, Vincent JL. Microvascular alterations in patients with acute severe heart failure and cardiogenic shock. *Am Heart J* 2004;147(1):91-9.
 - (29) De BD, Creteur J, Preiser JC, Dubois MJ, Vincent JL. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166(1):98-104.
 - (30) De BD, Hollenberg S, Boerma C, Goedhart P, Buchele G, Ospina-Tascon G, et al. How to evaluate the microcirculation: report of a round table conference. *Crit Care* 2007;11(5):R101.
 - (31) de BM, van EM, Vrijkotte TG, Gemke RJ. Early growth patterns and cardiometabolic function at the age of 5 in a multiethnic birth cohort: the ABCD study. *BMC Pediatr* 2009;9:23.
 - (32) den Uil CA, Klijn E, Lagrand WK, Brugts JJ, Ince C, Spronk PE, et al. The microcirculation in health and critical disease. *Prog Cardiovasc Dis* 2008;51(2):161-70.
 - (33) Diekmann M, Genzel-Boroviczeny O, Zoppelli L, von PM. Postnatal growth curves for extremely low birth weight infants with early enteral nutrition. *Eur J Pediatr* 2005;164(12):714-23.
 - (34) Dobbe JG, Streekstra GJ, Atasever B, van ZR, Ince C. Measurement of functional microcirculatory geometry and velocity distributions using automated image analysis. *Med Biol Eng Comput* 2008;46(7):659-70.
 - (35) Eriksson J, Forsen T, Tuomilehto J, Osmond C, Barker D. Fetal and childhood growth and hypertension in adult life. *Hypertension* 2000;36(5):790-4.
 - (36) Eriksson JG, Forsen T, Tuomilehto J, Jaddoe VW, Osmond C, Barker DJ. Effects of size at birth and childhood growth on the insulin resistance syndrome in elderly individuals. *Diabetologia* 2002;45(3):342-8.
 - (37) Fabris F, Zanochi M, Bo M, Fonte G, Poli L, Bergoglio I, et al. Carotid plaque, aging, and risk factors. A study of 457 subjects. *Stroke* 1994;25(6):1133-40.
 - (38) Feihl F, Liaudet L, Waeber B, Levy BI. Hypertension: a disease of the microcirculation? *Hypertension* 2006;48(6):1012-7.
 - (39) Finken MJ, Inderson A, Van MN, Keijzer-Veen MG, van Weert AW, Carfil N, et al. Lipid profile and carotid intima-media thickness in a prospective cohort of very preterm subjects at age 19 years: effects of early growth and current body composition. *Pediatr Res* 2006;59(4 Pt 1):604-9.

-
- (40) Gale CR, Jiang B, Robinson SM, Godfrey KM, Law CM, Martyn CN. Maternal diet during pregnancy and carotid intima-media thickness in children. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26(8):1877-82.
 - (41) Georgieff MK. Nutrition and the developing brain: nutrient priorities and measurement. *Am J Clin Nutr* 2007;85(2):614S-20S.
 - (42) Goedhart PT, Khalilzada M, Bezemer R, Merza J, Ince C. Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation. *Opt Express* 2007;15(23):15101-14.
 - (43) Goh KL, Shore AC, Quinn M, Tooke JE. Impaired microvascular vasodilatory function in 3-month-old infants of low birth weight. *Diabetes Care* 2001;24(6):1102-7.
 - (44) Gonzalez J, Wood JC, Dorey FJ, Wren TA, Gilsanz V. Reproducibility of carotid intima-media thickness measurements in young adults. *Radiology* 2008;247(2):465-71.
 - (45) Goodfellow J, Bellamy MF, Gorman ST, Brownlee M, Ramsey MW, Lewis MJ, et al. Endothelial function is impaired in fit young adults of low birth weight. *Cardiovasc Res* 1998;40(3):600-6.
 - (46) Grobbee DE, Bots ML. Carotid artery intima-media thickness as an indicator of generalized atherosclerosis. *J Intern Med* 1994;236(5):567-73.
 - (47) Groh-Wargo S, Sapsford A. Enteral nutrition support of the preterm infant in the neonatal intensive care unit. *Nutr Clin Pract* 2009;24(3):363-76.
 - (48) Groner W, Winkelmann JW, Harris AG, Ince C, Bouma GJ, Messmer K, et al. Orthogonal polarization spectral imaging: a new method for study of the microcirculation. *Nat Med* 1999;5(10):1209-12.
 - (49) Gunes T, Koklu E, Yikilmaz A, Ozturk MA, Akcakus M, Kurtoglu S, et al. Influence of maternal smoking on neonatal aortic intima-media thickness, serum IGF-I and IGFBP-3 levels. *Eur J Pediatr* 2007;166(10):1039-44.
 - (50) Hack M, Schluchter M, Cartar L, Rahman M. Blood pressure among very low birth weight (<1.5 kg) young adults. *Pediatr Res* 2005;58(4):677-84.
 - (51) Harris AG, Sinitsina I, Messmer K. The Cytoscan Model E-II, a new reflectance microscope for intravital microscopy: comparison with the standard fluorescence method. *J Vasc Res* 2000;37(6):469-76.
 - (52) Harris AG, Sinitsina I, Messmer K. Validation of OPS imaging for microvascular measurements during isovolumic hemodilution and low hematocrits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282(4):H1502-H1509.
 - (53) Hay WW, Jr. Optimizing protein intake in preterm infants. *J Perinatol* 2009;29(7):465-6.

-
- (54) Heiss G, Sharrett AR, Barnes R, Chambless LE, Szklo M, Alzola C. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. *Am J Epidemiol* 1991;134(3):250-6.
- (55) Hellstrom A, Hard AL, Niklasson A, Svensson E, Jacobsson B. Abnormal retinal vascularisation in preterm children as a general vascular phenomenon. *Lancet* 1998;352(9143):1827.
- (56) Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, et al. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med* 1998;128(4):262-9.
- (57) Hofman PL, Regan F, Jackson WE, Jefferies C, Knight DB, Robinson EM, et al. Premature birth and later insulin resistance. *N Engl J Med* 2004;351(21):2179-86.
- (58) Hovi P, Andersson S, Eriksson JG, Jarvenpaa AL, Strang-Karlsson S, Maki-O, et al. Glucose regulation in young adults with very low birth weight. *N Engl J Med* 2007;356(20):2053-63.
- (59) IJzerman RG, Stehouwer CD, Boomsma DI. Evidence for genetic factors explaining the birth weight-blood pressure relation. Analysis in twins. *Hypertension* 2000;36(6):1008-12.
- (60) Ince C. The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit Care* 2005;9 Suppl 4:S13-S19.
- (61) Irving RJ, Belton NR, Elton RA, Walker BR. Adult cardiovascular risk factors in premature babies. *Lancet* 2000;355(9221):2135-6.
- (62) Irving RJ, Shore AC, Belton NR, Elton RA, Webb DJ, Walker BR. Low birth weight predicts higher blood pressure but not dermal capillary density in two populations. *Hypertension* 2004;43(3):610-3.
- (63) James EM, Earnest F, Forbes GS, Reese DF, Houser OW, Folger WN. High-resolution dynamic ultrasound imaging of the carotid bifurcation: a prospective evaluation. *Radiology* 1982;144(4):853-8.
- (64) Jarvisalo MJ, Jartti L, Nanto-Salonen K, Irjala K, Ronnema T, Hartiala JJ, et al. Increased aortic intima-media thickness: a marker of preclinical atherosclerosis in high-risk children. *Circulation* 2001;104(24):2943-7.
- (65) Jarvisalo MJ, Putto-Laurila A, Jartti L, Lehtimaki T, Solakivi T, Ronnema T, et al. Carotid artery intima-media thickness in children with type 1 diabetes. *Diabetes* 2002;51(2):493-8.
- (66) Johansson S, Iliadou A, Bergvall N, Tuvemo T, Norman M, Cnattingius S. Risk of high blood pressure among young men increases with the degree of immaturity at birth. *Circulation* 2005;112(22):3430-6.
- (67) Johansson S, Norman M, Legnevall L, Dalmaz Y, Lagercrantz H, Vanpee M. Increased catecholamines and heart rate in children with low birth weight: perinatal contributions to sympathoadrenal overactivity. *J Intern Med* 2007;261(5):480-7.

-
- (68) Jourdan C, Wuhl E, Litwin M, Fahr K, Trelewicz J, Jobs K, et al. Normative values for intima-media thickness and distensibility of large arteries in healthy adolescents. *J Hypertens* 2005;23(9):1707-15.
- (69) Kanters SD, Elgersma OE, Banga JD, van Leeuwen MS, Algra A. Reproducibility of measurements of intima-media thickness and distensibility in the common carotid artery. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1998;16(1):28-35.
- (70) Kistner A, Jacobson L, Jacobson SH, Svensson E, Hellstrom A. Low gestational age associated with abnormal retinal vascularization and increased blood pressure in adult women. *Pediatr Res* 2002;51(6):675-80.
- (71) Kitamura A, Iso H, Imano H, Ohira T, Okada T, Sato S, et al. Carotid intima-media thickness and plaque characteristics as a risk factor for stroke in Japanese elderly men. *Stroke* 2004;35(12):2788-94.
- (72) Knotzer H, Hasibeder W. [Microcirculation of intensive care patients. From the physiology to the bedside]. *Anaesthesist* 2008;57(2):151-64.
- (73) Koklu E, Kurtoglu S, Akcakus M, Koklu S, Buyukkayhan D, Gumus H, et al. Increased aortic intima-media thickness is related to lipid profile in newborns with intrauterine growth restriction. *Horm Res* 2006;65(6):269-75.
- (74) Koletzko B. *Kinder- und Jugendmedizin*. 13. Auflage ed. Berlin: Springer Verlag; 2007. p. 56.
- (75) Koletzko B, von KR, Monasterolo RC, Subias JE, Scaglioni S, Giovannini M, et al. Infant feeding and later obesity risk. *Adv Exp Med Biol* 2009;646:15-29.
- (76) Koupil I, Leon DA, Lithell HO. Length of gestation is associated with mortality from cerebrovascular disease. *J Epidemiol Community Health* 2005;59(6):473-4.
- (77) Langer S, Harris AG, Biberthaler P, von DE, Messmer K. Orthogonal polarization spectral imaging as a tool for the assessment of hepatic microcirculation: a validation study. *Transplantation* 2001;71(9):1249-56.
- (78) Lawlor DA, Ronalds G, Clark H, Smith GD, Leon DA. Birth weight is inversely associated with incident coronary heart disease and stroke among individuals born in the 1950s: findings from the Aberdeen Children of the 1950s prospective cohort study. *Circulation* 2005;112(10):1414-8.
- (79) Lee HN, Eicher S, Mormanova Z, Dalla Pozza R, Genzel-Boroviczeny O. Changes in skin microcirculation and intima thickness in former extremely low birth weight infants. Unpublished.
- (80) Levy BI, Ambrosio G, Pries AR, Struijker-Boudier HA. Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? *Circulation* 2001;104(6):735-40.
- (81) Lim SM, Kim HC, Lee HS, Lee JY, Suh M, Ahn SV. Association between blood pressure and carotid intima-media thickness. *J Pediatr* 2009;154(5):667-71.
- (82) Lindert J, Werner J, Redlin M, Kuppe H, Habazettl H, Pries AR. OPS imaging of human microcirculation: a short technical report. *J Vasc Res* 2002;39(4):368-72.

-
- (83) Lonn E. Carotid artery intima-media thickness--a new noninvasive gold standard for assessing the anatomic extent of atherosclerosis and cardiovascular risk? *Clin Invest Med* 1999;22(4):158-60.
- (84) Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation* 2007;115(4):459-67.
- (85) Lorenz MW, von KS, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke* 2006;37(1):87-92.
- (86) Lucas A, Morley R, Cole TJ. Randomised trial of early diet in preterm babies and later intelligence quotient. *BMJ* 1998;317(7171):1481-7.
- (87) Mannami T, Baba S, Ogata J. Potential of carotid enlargement as a useful indicator affected by high blood pressure in a large general population of a Japanese city: the Suita study. *Stroke* 2000;31(12):2958-65.
- (88) Martin H, Hu J, Gennser G, Norman M. Impaired endothelial function and increased carotid stiffness in 9-year-old children with low birthweight. *Circulation* 2000;102(22):2739-44.
- (89) Mathura KR, Vollebregt KC, Boer K, De Graaff JC, Ubbink DT, Ince C. Comparison of OPS imaging and conventional capillary microscopy to study the human microcirculation. *J Appl Physiol* 2001;91(1):74-8.
- (90) Mayer K. Observation on the capillaries of the normal infant. *Am J Dis Child* 1921;22:381-7.
- (91) Muntau AC. *Intensivkurs Pädiatrie*. 5. Auflage ed. München: Urban & Fischer Verlag bei Elsevier GmbH; 2009.
- (92) Napoli C, Palinski W. Maternal hypercholesterolemia during pregnancy influences the later development of atherosclerosis: clinical and pathogenic implications. *Eur Heart J* 2001;22(1):4-9.
- (93) Nelson MJ, Ragland DR, Syme SL. Longitudinal prediction of adult blood pressure from juvenile blood pressure levels. *Am J Epidemiol* 1992;136(6):633-45.
- (94) Noon JP, Walker BR, Webb DJ, Shore AC, Holton DW, Edwards HV, et al. Impaired microvascular dilatation and capillary rarefaction in young adults with a predisposition to high blood pressure. *J Clin Invest* 1997;99(8):1873-9.
- (95) Norman M. Low birth weight and the developing vascular tree: a systematic review. *Acta Paediatr* 2008;97(9):1165-72.
- (96) Norman M, Martin H. Preterm birth attenuates association between low birth weight and endothelial dysfunction. *Circulation* 2003;108(8):996-1001.
- (97) O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK, Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction

- and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999;340(1):14-22.
- (98) Oberseider J, Felten-Keil G, Schuler K, Goebels N, Hamann GF. [Intima media thickness in patients with vertebrobasilar and carotid stenosis/occlusions]. *Ultraschall Med* 1999;20(4):144-9.
- (99) Onbas O, Kantarci M, Okur A, Bayraktutan U, Edis A, Ceviz N. Carotid intima-media thickness: is it correlated with stroke side? *Acta Neurol Scand* 2005;111(3):169-71.
- (100) Pall D, Settakis G, Katona E, Csiba L, Kakuk G, Limburg M, et al. Increased common carotid artery intima media thickness in adolescent hypertension: results from the Debrecen Hypertension study. *Cerebrovasc Dis* 2003;15(3):167-72.
- (101) Perera P, Kurban A.K., Ryan T.J. The development of the cutaneous microvascular system in the newborn. *Br J Dermatol* 1970;82:86-91.
- (102) Pesonen E, Johnsson J, Berg A. Intimal thickness of the coronary arteries in low-birthweight infants. *Acta Paediatr* 2006;95(10):1234-8.
- (103) Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986;74(6):1399-406.
- (104) Poli A, Tremoli E, Colombo A, Sirtori M, Pignoli P, Paoletti R. Ultrasonographic measurement of the common carotid artery wall thickness in hypercholesterolemic patients. A new model for the quantitation and follow-up of preclinical atherosclerosis in living human subjects. *Atherosclerosis* 1988;70(3):253-61.
- (105) Prasad A, Dunnill GS, Mortimer PS, MacGregor GA. Capillary rarefaction in the forearm skin in essential hypertension. *J Hypertens* 1995;13(2):265-8.
- (106) Prewitt RL, Dowell RF. Structural vascular adaptations during the developmental stages of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. *Bibl Anat* 1979;(18):169-73.
- (107) Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P. Structural autoregulation of terminal vascular beds: vascular adaptation and development of hypertension. *Hypertension* 1999;33(1):153-61.
- (108) Pschyrembel. *Klinisches Wörterbuch*. 261. Auflage ed. Berlin: Walter de Gruyter GmbH & Co. KG; 2007.
- (109) Rabago RR, Gomez-Diaz RA, Tanus HJ, velar Garnica FJ, Ramirez SE, Nishimura ME, et al. Carotid intima-media thickness in pediatric type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* 2007;30(10):2599-602.
- (110) Regan FM, Cutfield WS, Jefferies C, Robinson E, Hofman PL. The impact of early nutrition in premature infants on later childhood insulin sensitivity and growth. *Pediatrics* 2006;118(5):1943-9.

-
- (111) Renz-Polster H, Krautzig S. Basislehrbuch Innere Medizin. 4. Auflage ed. Urban & Fischer Verlag bei Elsevier; 2008.
- (112) Rettwitz-Volk W. Epidemiologische Aspekte der Frühgeburtlichkeit. *Perinatalmedizin* 1996;8(1):15-8.
- (113) Riley WA, Barnes RW, Applegate WB, Dempsey R, Hartwell T, Davis VG, et al. Reproducibility of noninvasive ultrasonic measurement of carotid atherosclerosis. The Asymptomatic Carotid Artery Plaque Study. *Stroke* 1992;23(8):1062-8.
- (114) Rosfors S, Hallerstam S, Jensen-Urstad K, Zetterling M, Carlstrom C. Relationship between intima-media thickness in the common carotid artery and atherosclerosis in the carotid bifurcation. *Stroke* 1998;29(7):1378-82.
- (115) Rossi P, Tauzin L, Marchand E, Simeoni U, Frances Y. [Arterial blood pressure and arterial stiffness in adolescents are related to gestational age]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2006;99(7-8):748-51.
- (116) Saetzler RK, Jallo J, Lehr HA, Philips CM, Vasthare U, Arfors KE, et al. Intravital fluorescence microscopy: impact of light-induced phototoxicity on adhesion of fluorescently labeled leukocytes. *J Histochem Cytochem* 1997;45(4):505-13.
- (117) Sakr Y, Dubois MJ, De BD, Creteur J, Vincent JL. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2004;32(9):1825-31.
- (118) Schiessler C, Schaudig S, Harris AG, Christ F. [Orthogonal polarization spectral imaging--a new clinical method for monitoring of microcirculation]. *Anaesthesist* 2002;51(7):576-9.
- (119) Schwalm H. Die Hautkapillaren bei Neugeborenen. *Arch Kinderheilkunde* 1934;103:129-37.
- (120) Serne EH, Gans RO, ter Maaten JC, Tangelder GJ, Donker AJ, Stehouwer CD. Impaired skin capillary recruitment in essential hypertension is caused by both functional and structural capillary rarefaction. *Hypertension* 2001;38(2):238-42.
- (121) Siegenthaler W, Blum H. *Klinische Pathophysiologie*. 6. Auflage ed. Stuttgart: Thieme Verlag; 2006.
- (122) Singhal A. Early nutrition and long-term cardiovascular health. *Nutr Rev* 2006;64(5 Pt 2):S44-S49.
- (123) Singhal A, Cole TJ, Fewtrell M, Deanfield J, Lucas A. Is slower early growth beneficial for long-term cardiovascular health? *Circulation* 2004;109(9):1108-13.
- (124) Singhal A, Cole TJ, Lucas A. Early nutrition in preterm infants and later blood pressure: two cohorts after randomised trials. *Lancet* 2001;357(9254):413-9.
- (125) Singhal A, Kattenhorn M, Cole TJ, Deanfield J, Lucas A. Preterm birth, vascular function, and risk factors for atherosclerosis. *Lancet* 2001;358(9288):1159-60.

-
- (126) Skilton MR, Evans N, Griffiths KA, Harmer JA, Celermajer DS. Aortic wall thickness in newborns with intrauterine growth restriction. *Lancet* 2005;365(9469):1484-6.
- (127) Slaaf DW, Tangelder GJ, Reneman RS, Jager K, Bollinger A. A versatile incident illuminator for intravital microscopy. *Int J Microcirc Clin Exp* 1987;6(4):391-7.
- (128) Speer CP, Gahr M. Pädiatrie. 2. Auflage ed. Heidelberg: Springer Verlag GmbH; 2005.
- (129) Spronk PE, Zandstra DF, Ince C. Bench-to-bedside review: sepsis is a disease of the microcirculation. *Crit Care* 2004;8(6):462-8.
- (130) Stary HC. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. *Arteriosclerosis* 1989;9(1 Suppl):I19-I32.
- (131) Steinbauer M, Harris AG, Abels C, Messmer K. Characterization and prevention of phototoxic effects in intravital fluorescence microscopy in the hamster dorsal skinfold model. *Langenbecks Arch Surg* 2000;385(4):290-8.
- (132) Struijker-Boudier HA, Crijns FR, Stolte J, van EH. Assessment of the microcirculation in cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)* 1996;91(2):131-9.
- (133) Tooke JE. Microvasculature in diabetes. *Cardiovasc Res* 1996;32(4):764-71.
- (134) Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis* 2007;23(1):75-80.
- (135) Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Desvarieux M, et al. Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis* 2004;18(4):346-9.
- (136) Trevisanuto D, Avezzu F, Cavallin F, Doglioni N, Marzolo M, Verlato F, et al. Arterial wall thickness and blood pressure in children who were born small for gestational age: correlation with umbilical cord high-sensitivity C-reactive protein. *Arch Dis Child* 2009.
- (137) Tritto I, Ambrosio G. Spotlight on microcirculation: an update. *Cardiovasc Res* 1999;42(3):600-6.
- (138) van der Meer I, Bots ML, Hofman A, del Sol AI, van der Kuip DA, Witteman JC. Predictive value of noninvasive measures of atherosclerosis for incident myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* 2004;109(9):1089-94.
- (139) Walsh BK, Brooks TM, Grenier BM. Oxygen therapy in the neonatal care environment. *Respir Care* 2009;54(9):1193-202.
- (140) Welsch U. Lehrbuch Histologie. Zytologie, Histologie, Mikroskopische Anatomie. 1. Auflage ed. München: Urban & Fischer Verlag; 2003.

-
- (141) Wendelhag I, Gustavsson T, Suurkula M, Berglund G, Wikstrand J. Ultrasound measurement of wall thickness in the carotid artery: fundamental principles and description of a computerized analysing system. *Clin Physiol* 1991;11(6):565-77.
- (142) Wikstrand J. Methodological considerations of ultrasound measurement of carotid artery intima-media thickness and lumen diameter. *Clin Physiol Funct Imaging* 2007;27(6):341-5.
- (143) Wissler RW, Strong JP. Risk factors and progression of atherosclerosis in youth. PDAY Research Group. Pathological Determinants of Atherosclerosis in Youth. *Am J Pathol* 1998;153(4):1023-33.
- (144) Wong M, Edelstein J, Wollman J, Bond MG. Ultrasonic-pathological comparison of the human arterial wall. Verification of intima-media thickness. *Arterioscler Thromb* 1993;13(4):482-6.
- (145) Zeitlin J, Draper ES, Kollee L, Milligan D, Boerch K, Agostino R, et al. Differences in rates and short-term outcome of live births before 32 weeks of gestation in Europe in 2003: results from the MOSAIC cohort. *Pediatrics* 2008;121(4):e936-e944.

Danksagung

Sehr herzlich danke ich meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Orsolya Genzel-Boroviczény für die Überlassung dieses interessanten Themas, ihrer hervorragenden Betreuung und ihren kritischen Anmerkungen und Anregungen.

Außerdem möchte ich mich bei Frau Dr. Zuzana Mormanova bedanken, die mich in die Anwendung von SDF-Imaging einführte, mir zahlreiche, wertvolle Tipps gab und mir durch ihre unermüdliche Unterstützung stets zur Seite stand.

Darüber hinaus danke ich meiner Kommilitonin Sabrina Eicher für die angenehme Zusammenarbeit und dafür, dass sie stets ein offenes Ohr für mich hatte.

Den Ärzten Dr. Robert Dalla-Pozza, Dr. Florian Hoffmann und Dr. Alexander Staffler und auch den Schwestern aus der kardiologischen Abteilung des Dr. von Haunerschen Kinderspitals habe ich den reibungslosen Ablauf hinsichtlich der IMT-Untersuchung zu verdanken.

Herrn Prof. Dr. Berthold Koletzko danke ich für die Bereitstellung des Untersuchungsraumes.

Ein großer Dank gebührt auch den Eltern und frühgeborenen Kindern, die diese Arbeit erst ermöglicht haben. In diesem Zusammenhang bedanke ich mich auch sehr herzlich bei Frau Dr. Susanne Bechtold-Dalla Pozza und Frau Lehnert, mit deren Hilfe unsere Kontrollgruppe zusammengestellt werden konnte.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie und meinem Freund Hendrik, die mir während des ganzen Studiums stets uneingeschränkte, liebevolle Unterstützung und Geduld entgegenbrachten.