

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im
Dr. von Haunerschen Kinderspital
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. Dr. sci. nat. C. Klein

Vergleich der Mikrozirkulation von Haut und Schleimhaut ehemals sehr
frühgeborener und reifgeborener Kinder im Alter von 7 bis 10 Jahren

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

vorgelegt von
Kathrin Mattheß
aus Darmstadt
2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

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

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Hans Theiss

Priv. Doz. Dr. med. Maximilian Lühr

Mitbetreuung durch die

promovierte Mitarbeiterin: Dr. med. Alexandra Puchwein-Schwepcke

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 26.11.2020

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Frühgeburtlichkeit	1
1.1.1	Definition	1
1.1.2	Epidemiologie der Frühgeburtlichkeit.....	2
1.1.3	Probleme und Komplikationen durch Frühgeburtlichkeit	4
1.2	Mikrozirkulation	6
1.2.1	Aufbau und Funktion.....	6
1.2.2	Organisation und Entwicklung der kutanen Mikrozirkulation	8
1.2.3	Pathophysiologie der Mikrozirkulation	9
1.2.4	Messprinzipien der Mikrozirkulation	11
1.3	Fragestellungen der Studie.....	14
2	Material und Methoden.....	14
2.1	Studiendesign	14
2.1.1	Einverständniserklärung.....	14
2.1.2	Studiengruppen und -protokoll.....	15
2.2	Patientenkollektiv	15
2.2.1	Rekrutierung.....	15
2.2.2	Datenerhebung	16
2.3	Untersuchung der Mikrozirkulation	16
2.3.1	Intravitalmikroskopie	16
2.3.2	Funktionsprinzip der SDF Bildgebung	16
2.3.3	Auswertung der SDF Bilder	18
2.4	Messprotokoll.....	18
2.4.1	Messung der Mikrozirkulation an verschiedenen Körperstellen.....	18
2.4.2	Messung der Mikrozirkulation während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss	20
2.5	Auswertungsprotokoll	20
2.5.1	Anonymisierung und Verblindung der Aufzeichnungen	20
2.5.2	Auswertung anhand des Bildanalyse-Systems Automated Vascular Analysis (AVA 3.2)	21
2.5.3	Auswertung der Mikrozirkulation während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss am Arm.....	23

2.6	Statistische Auswertung	24
3	Ergebnisse	25
3.1	Patientendaten	25
3.1.1	Rekrutierung und Rücklaufquoten	25
3.1.2	Erhobene Daten	25
3.2	Reliabilitätsprüfung des Untersuchers	26
3.3	Besonderheiten der Messungen und Auswertungen an den verschiedenen Körperstellen	27
3.3.1	Innenseite des Unterarms	27
3.3.2	Rückseite der Ohrmuschel	28
3.3.3	Unterseite der Zunge	29
3.3.4	Innenseite der Unterlippe	30
3.4	Mikrozirkulation an den verschiedenen Körperstellen	31
3.4.1	Mikrozirkulation am Arm	31
3.4.2	Mikrozirkulation am Ohr	33
3.4.3	Mikrozirkulation an der Lippe	34
3.4.4	Mikrozirkulation an der Zunge	37
3.4.5	Unterschiede der funktionellen Gefäßdichte an den verschiedenen Messorten innerhalb der Gruppen	38
3.5	Mikrozirkulation während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss am Arm	40
3.5.1	Funktionelle Gefäßdichte innerhalb der Gruppen	40
3.5.2	Entwicklung der Gefäßverteilung bezüglich des Durchmessers	41
3.5.3	Funktionelle Gefäßdichte im Vergleich zwischen den Gruppen	45
3.5.4	Veränderungen des MFI (mittlerer Flow Index) während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss.....	48
4	Diskussion	49
4.1	Beurteilung der klinischen Daten	49
4.2	Besteht eine Beeinträchtigung der Mikrozirkulation bei den ehemals frühgeborenen Kindern in Ruhe? Korreliert diese mit dem Geburtsgewicht?.....	50
4.3	Frühgeburtlichkeit und Einschränkungen der Mikrozirkulation im Zusammenhang mit arterieller Hypertonie.....	52
4.4	Evaluation der Messungen an den verschiedenen Messorten	54
4.5	Reaktion der Mikrozirkulation auf einen kurzfristigen arteriellen Verschluss.....	56
4.6	Reaktion der Mikrozirkulation im Anschluss an einen kurzfristigen arteriellen Verschluss	58
4.7	Reliabilität des Untersuchers.....	61

4.8	Limitationen der Studie	61
5	Zusammenfassung	63
6	Anhang	64
7	Literaturverzeichnis	71

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1:	Schematische Darstellung der Mikrozirkulation [2].....	7
Abbildung 1-2:	Entwicklung der Kapillarstruktur beim Neugeborenen [3].....	8
Abbildung 1-3:	Funktionsprinzip der OPS-Bildgebung [5].....	13
Abbildung 2-1:	Funktion der SDF-Bildgebung [4].....	17
Abbildung 2-2:	Messfühler mit integrierter Kamera.....	18
Abbildung 2-3:	Durchführung der Messungen am Beispiel von Ohrmuschel und Zungenunterseite.....	19
Abbildung 2-4:	Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Aufzeichnung.....	20
Abbildung 2-5:	Funktionen der AVA-Software, Messung und Analyse, entnommen aus dem AVA 3.1 user manual [1].....	21
Abbildung 2-6:	Videoanalyse mittels AVA, Beispielfoto entnommen aus dem AVA 3.1 user manual [1].....	23
Abbildung 2-7:	Übersicht über die ausgewerteten Zeitpunkte während und nach arteriellem Verschluss.....	24
Abbildung 3-1:	Beispiel für eine stabilisierte Videosequenz einer Aufnahme an der Unterarminnenseite.....	27
Abbildung 3-2:	Gefäßerkennung und -markierung durch die Software.....	27
Abbildung 3-3:	Beispiel für eine stabilisierte Videosequenz einer Aufnahme am Ohr.....	28
Abbildung 3-4:	Gefäßerkennung und -markierung durch die Software.....	28
Abbildung 3-5:	Beispiel für eine stabilisierte Videosequenz einer Aufnahme an der Zungenunterseite.....	29
Abbildung 3-6:	Gefäßerkennung und -markierung durch die Software.....	29
Abbildung 3-7:	Beispiel für eine stabilisierte Videosequenz einer Aufnahme an der Innenseite der Unterlippe.....	30
Abbildung 3-8:	Gefäßerkennung und -markierung durch die Software.....	30
Abbildung 3-9:	Funktionelle Gefäßdichte (a) und -fläche (b) am Arm, Vergleich zwischen Frühgeborenenengruppe (FG) und Kontrollgruppe (KG).....	31

Abbildung 3-10: Funktionelle Gefäßdichte (a) und -fläche (b) am Ohr, Vergleich zwischen FG und KG.....	33
Abbildung 3-11: Funktionelle Gefäßdichte (a) und -fläche (b) an der Lippe, Vergleich zwischen FG und KG.....	35
Abbildung 3-12: Prozentuale Verteilung der Gefäßdurchmesser (Vessel Diameter) an der Lippe, Vergleich zwischen FG und KG.....	36
Abbildung 3-13: Funktionelle Gefäßdichte (a) und -fläche (b) an der Zunge, Vergleich zwischen FG und KG.....	37
Abbildung 3-14: Funktionelle Gefäßdichte an den verschiedenen Messorten der Frühgeborenenengruppe (a) und der Kontrollgruppe (b).....	39
Abbildung 3-15: Funktionelle Gefäßdichte während (t1-3) und nach (t4-t8) arteriellem Verschluss in der Frühgeborenenengruppe.....	40
Abbildung 3-16: Funktionelle Gefäßdichte während (t1-3) und nach (t4-t8) arteriellem Verschluss in der Kontrollgruppe.....	41
Abbildung 3-17: Prozentuale Anteile der Gefäße mit einem Durchmesser von 0-10 μm zu den verschiedenen Messzeitpunkten innerhalb der Frühgeborenenengruppe.....	42
Abbildung 3-18: Prozentuale Anteile der Gefäße mit einem Durchmesser von 0-10 μm zu den verschiedenen Messzeitpunkten innerhalb der Kontrollgruppe.....	43
Abbildung 3-19: Prozentuale Anteile der Gefäße mit einem Durchmesser von 10-20 μm zu den verschiedenen Messzeitpunkten innerhalb der Frühgeborenenengruppe.....	44
Abbildung 3-20: Prozentuale Anteile der Gefäße mit einem Durchmesser von 10-20 μm zu den verschiedenen Messzeitpunkten innerhalb der Kontrollgruppe.....	44
Abbildung 3-21: Funktionelle Gefäßdichte im Verlauf für beide Gruppen (Mittelwerte mit SD).....	45
Abbildung 1-3: Anschreiben an die Eltern der ehemals Frühgeborenen (Einladung zur Studienteilnahme).....	65
Abbildung 1-2: Information zur Studie für die Eltern der ehemals Frühgeborenen (Studieninformation).....	66
Abbildung 1-3: Anschreiben und Information zur Studie für die ehemals frühgeborenen Kinder (Einladung zur Studienteilnahme)	68
Abbildung 1-4: Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie.....	69
Abbildung 1-5: Fragebogen zu den Daten des Kindes und Dokumentation der gemessenen Werte.....	70

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1-1: Akute Probleme und Komplikationen durch Frühgeburtlichkeit [7].....	4
Tabelle 1-2: Chronische Probleme nach Frühgeburtlichkeit [7]	5
Tabelle 3-1: Patientendaten (Mittelwert \pm Standardabweichung (SD), statistischer Test: unpaired t-test und Mann-Whitney-U-Test).....	25
Tabelle 3-2: Reliabilitätsprüfung des Untersuchers bezüglich ausgewählter Parameter (FVD in mm/mm ² , Vessel Surface in (mm ² /mm ²) x 100%, MFI (Boerma-Methode)), mittels paired t- test.....	26
Tabelle 3-3: Parameter der Mikrozirkulation am Arm (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test und Mann-Whitney-U-Test).....	32
Tabelle 3-4: Vergleich der funktionellen Gefäßdichte am Arm zwischen Frühgeborenen mit einem Gestationsalter zwischen 28 und 32 vollendeten Schwangerschaftswochen einerseits und unter 28 vollendeten Schwangerschaftswochen andererseits (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test).....	32
Tabelle 3-5: Vergleich der funktionelle Gefäßdichte am Arm innerhalb der Frühgeborenenengruppe, zwischen Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht zwischen 1000 g und 1500 g einerseits und unter 1000 g andererseits (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test).	33
Tabelle 3-6: Parameter der Mikrozirkulation am Ohr (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test und Mann-Whitney-U-Test).....	34
Tabelle 3-7: Parameter der Mikrozirkulation an der Lippe (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test und Mann-Whitney-U-Test).....	36
Tabelle 3-8: Parameter der Mikrozirkulation an der Zunge (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test und Mann-Whitney-U-Test).....	38
Tabelle 3-9: Funktionelle Gefäßdichte während und nach arteriellem Verschluss im Vergleich zwischen Frühgeborenenengruppe und Kontrollgruppe (Mittelwerte in mm/mm ² \pm SD, Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p-Wertes und Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test).....	46
Tabelle 3-10: Prozentuale Veränderung der funktionellen Gefäßdichte zwischen den Messzeitpunkten, Vergleich zwischen beiden Gruppen (Mittelwerte in Prozent \pm SD, Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p-Wertes und Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test).....	47
Tabelle 3-11: MFI zu den verschiedenen Messzeitpunkten, Vergleich zwischen beiden Gruppen (Mittelwerte in Prozent \pm SD, Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p- Wertes und Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test)	49

Abkürzungsverzeichnis

µm	Mikrometer
AGA	appropriate for gestational age, angemessen für das Gestationsalter
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, extrem niedriges Geburtsgewicht
FG	Frühgeborenen-Gruppe
FVD	functional vessel density, funktionelle Gefäßdichte
HQBW	highest quartile birth weight, Geburtsgewicht über der 75. Perzentile
IVM	Intravitalmikroskopie
kgKG	Kilogramm Körpergewicht
KG	Kontrollgruppe
LBW	low birth weight, niedriges Geburtsgewicht
LQBW	lowest quartile birth weight, Geburtsgewicht unter der 25. Perzentile
LDF	Laser-Doppler-Flowmetrie
LED	Leuchtdiode
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
NIRS	Nah-Infrarot Spektroskopie
OPS	Orthogonal Polarization Spectral (imaging), orthogonale polarisations-spektrale (Bildgebung)
RR	systemischer Blutdruck
s	Sekunde
SD	Standard Deviation, Standardabweichung
SDF	Sidestream Dark Field (imaging)
SGA	small for gestational age, klein (leicht) für das Gestationsalter
VLBW	very low birth weight, sehr niedriges Geburtsgewicht

1 Einleitung

Der Fortschritt der modernen Medizin ermöglicht Behandlungen und Maßnahmen, besonders in der Intensivmedizin, die stark gefährdetes Leben aufrechterhalten oder gar erst ermöglichen können. So auch in der neonatologischen Intensivmedizin. Regelmäßig werden neue Erfolge verzeichnet, wobei es beispielsweise gelingt, Frühgeborenen jenseits der bisher angenommenen Lebensfähigkeit, ein Überleben zu ermöglichen. Das jüngste überlebende Frühgeborene, über welches bisher berichtet wurde, kam im Jahr 2014 nach 21+4 Schwangerschaftswochen zur Welt [6]. Dieser Fortschritt bringt jedoch neue Herausforderungen und medizinische, wie auch ethische Fragestellungen mit sich. Besonders extrem unreife Frühgeborene leiden häufig an akuten oder chronischen gesundheitlichen Folgen, die im Folgenden genauer beschrieben werden [7]. Um den Spätfolgen entgegenzutreten ist es zunächst erforderlich, Ursachen hierfür ausfindig zu machen, diese zu erkennen und sie letztendlich zu behandeln oder ihnen gar vorzubeugen.

So tragen ehemals sehr Frühgeborene auch ein erhöhtes Risiko für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen, wie beispielsweise der arteriellen Hypertonie [7]. Fraglich ist, worin die Ursache hierfür liegt, und ob diese eventuell schon frühzeitig entdeckt werden kann. Ein Zusammenhang zwischen Bluthochdruck und einer Beeinträchtigung der Mikrozirkulation wird bereits vermutet [8-10].

In der vorliegenden Studie wird der Frage nachgegangen, ob sich bei sehr frühgeborenen Kindern im Alter zwischen sieben und zehn Jahren Unterschiede in der Mikrozirkulation im Vergleich zu gleichaltrigen reifgeborenen Kindern zeigen. Hierfür wird SDF-Imaging (Beschreibung in Kapitel 2.3.2) zur nicht-invasiven intravitralen Messung der Mikrozirkulation verwendet. Zusätzlich soll diese Technik an verschiedenen Körperstellen (Haut und Schleimhaut) bezüglich Qualität, Praktikabilität und Messergebnissen evaluiert werden.

Dies könnte helfen, pathophysiologische Mechanismen der Krankheitsentstehung aufzudecken und möglicherweise sogar zur Verhinderung der Krankheitsentstehung führen.

1.1 Frühgeburtslichkeit

1.1.1 Definition

Ein reifes oder termingeborenes Neugeborenes (*term*) kommt definitionsgemäß zwischen 37 und 41 abgeschlossenen Schwangerschaftswochen zur Welt. Ein Neugeborenes wird als Frühgeborenes (*preterm*) bezeichnet, wenn bei der Geburt die 37. Schwangerschaftswoche noch nicht vollendet ist

[7, 11]. Unter den Frühgeborenen gibt es eine genauere Unterteilung, von moderat bis extrem, je nach Gestationsalter. Dieses bezeichnet die Dauer der Gestation und wird in vollendeten (Schwangerschafts-) Wochen plus Tagen angegeben: Bsp. 37+1.

- Mäßig früh (*moderate to late preterm*) 32 bis < 37 SSW
- Sehr früh (*very preterm*) 28 bis < 32 SSW
- Extrem früh (*extremely preterm*): < 28 SSW

Eine weitere Unterteilung Neugeborener wird bezüglich des Geburtsgewichtes vorgenommen:

- Niedriges Geburtsgewicht (*low birth weight, LBW*): < 2500 g
- Sehr niedriges Geburtsgewicht (*very low birth weight, VLBW*): < 1500 g
- Extrem niedriges Geburtsgewicht (*extremely low birth weight, ELBW*): < 1000 g [7, 11]

Bis 1960 galten alle Neugeborenen mit einem Geburtsgewicht von weniger als 2500 g als Frühgeborene. Heute wird das Geburtsgewicht getrennt vom Gestationsalter definiert. Man unterscheidet Frühgeborene, die durch eine verkürzte Gestation ein niedrigeres Geburtsgewicht erreichen, von Neugeborenen, die durch eine intrauterine Wachstumsverzögerung (unabhängig ihres Gestationsalters), ein niedrigeres Geburtsgewicht aufweisen. Zu dieser Zeit wurde der Begriff „Neonatalogie“ erstmals eingeführt und die Medizin der Neugeborenen entwickelte sich zu einem eigenen Fachgebiet. [12]

1.1.2 Epidemiologie der Frühgeburtlichkeit

Weltweit

Die WHO veröffentlichte 2012 einen Bericht („*Born Too Soon: the global action report on preterm birth*“) zum Thema Frühgeburtlichkeit, ihre Folgen und mögliche Maßnahmen weltweit. Demnach kommen weltweit jährlich etwa 15 Millionen Kinder zu früh zur Welt. Somit ist ca. jedes zehnte Neugeborene ein Frühgeborenes. Die Tendenz ist steigend und der größte Teil betrifft Entwicklungsländer. In westlichen Ländern ist die steigende Tendenz auch auf die Zunahme von Mehrlingsgeburten durch künstliche Befruchtungen, sowie späte Mutterschaft und Wohlstandskrankheiten (Bluthochdruck, Übergewicht) und Rauchen zurückzuführen. Etwa eine Million der Frühgeborenen stirbt jährlich an Komplikationen der Frühgeburt [13]. Diese Todesfälle haben den größten Anteil an der Säuglingssterblichkeit [13, 14]. So berichtet UNICEF im aktuellen Report zur Kindersterblichkeit („*Child-Mortality-Report 2018*“) von weltweit 2,5 Millionen Todesfällen

Neugeborener im ersten Lebensmonat, im Jahre 2017. Etwa 36 Prozent starben noch am Tag ihrer Geburt, beinahe zwei Drittel innerhalb der ersten Lebenswoche. Bezüglich der Kindersterblichkeit unter 5 Jahren ereignen sich etwa 46 Prozent im ersten Lebensmonat [14]. Betrachtet man die häufigsten Ursachen für Todesfälle von Kindern unter fünf Jahren weltweit, stellen auch hier Komplikationen infolge von Frühgeburtlichkeit mit ca. 18 Prozent die häufigste Ursache dar [15].

Laut der WHO könnten ca. 75% der Todesfälle infolge von Frühgeburtlichkeit, auch ohne Vorhandensein einer neonatologischen Intensivpflege, durch einfache Maßnahmen und Aufklärung verhindert werden. Dies betrifft in erster Linie die Entwicklungsländer. Es besteht ein extremer Überlebensunterschied abhängig vom Geburtsort der Frühgeborenen. Während in Entwicklungsländern über 90% aller extrem Frühgeborenen (< 28 SSW) in den ersten Lebenstagen sterben, sind es in Industrieländern nur 10%. Die WHO sieht hier Handlungsbedarf und veröffentlichte deshalb den großen „*born too soon report*“, der durch Fakten und Aufklärung auf die Problematik aufmerksam machen soll und Handlungsstrategien vorstellt [13].

Deutschland

In Deutschland werden laut des Bundesverbandes „Das frühgeborene Kind“ e.V. jährlich ca. 60.000 Kinder zu früh geboren. Damit handelt es sich etwa bei jedem 10. Neugeborenen um ein Frühgeborenes. Im Jahr 2016 waren es 66.851 Kinder und somit 8,64% aller Neugeborenen, die vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche zur Welt kamen. Wiederum rund 10% dieser Kinder wurden vor der 32. Schwangerschaftswoche geboren [16]. In den letzten Jahrzehnten hat sich die medizinische Versorgung der Schwangeren und der Neugeborenen in Deutschland deutlich verbessert: Lag die Säuglingssterblichkeit im Jahre 1990 noch bei 7,0 Sterbefällen pro 1000 Lebendgeburten, so lag sie im Jahre 2016 nur noch bei 3,4 Sterbefällen [17]. Mehr als 1/3 der Sterbefälle ereignen sich innerhalb der ersten 24 h (laut Bundesamt für Statistik 38% im Jahr 2015, weitere 18% zwischen 24h und 7 Tagen). Die Frühgeburtlichkeit ist für einen großen Anteil (Schätzungen zufolge ca. 2/3) der perinatalen Morbidität und der Sterbefälle im Säuglingsalter ursächlich. Die Senkung der Säuglingssterblichkeit ist primär auf Fortschritte in der Neonatologie und eine bessere perinatale Versorgung zurückzuführen [7]. In Deutschland existieren bei derzeit 830 Geburtskliniken rund 230 Perinatalzentren (Level 1 und 2) [6].

1.1.3 Probleme und Komplikationen durch Frühgeburtlichkeit

Akute Probleme und Komplikationen

Frühgeburtlichkeit bringt eine Vielzahl möglicher akuter Probleme mit sich, die meist auf die Unreife verschiedener Organsysteme und -funktionen zurückzuführen sind [7]. Frühgeborene müssen daher nach der Geburt häufig intensivmedizinisch behandelt werden, um ihnen ein Überleben zu ermöglichen. Die intensivmedizinische Behandlung kann jedoch wiederum zu Komplikationen führen, wie die bronchopulmonale Dysplasie durch bronchoalveoläres Trauma und Sauerstofftoxizität bei maschineller Beatmung, die Frühgeborenenretinopathie durch erhöhte Sauerstoffpartialdrücke bei künstlicher Beatmung, oder Hirnblutungen, welche zum Beispiel durch künstlich erzeugte Blutdruckschwankungen begünstigt werden können [18]. Häufige akute Probleme sowie Komplikationen durch intensivmedizinische Behandlung Frühgeborener sind in folgender Tabelle (Tab. 1-1) aufgeführt.

Tabelle 1-1: Akute Probleme und Komplikationen durch Frühgeburtlichkeit [7]

Organsystem	Akute Probleme/Komplikationen
Lunge	Atemnotsyndrom Pulmonale Hypertension Interstitielles Emphysem Bronchopulmonale Dysplasie
Herz-Kreislauf-System	Arterielle Hypotension Offener Ductus arteriosus
GI-Trakt/Ernährung	Nahrungstoleranz Nekrotisierende Enterokolitis Wachstumsverzögerung
Zentralnervensystem	Intrazerebrale Blutung Periventrikuläre Leukomalazie Zentrale Apnoen
Immunsystem/Hämatologie	Immundefizienz Anämie Hyperbilirubinämie Nosokomiale Infektionen
Augen	Frühgeborenenretinopathie
Renales System	Wasser-/Elektrolyt-/Säure-Basen-Ungleichgewicht
Endokrines System	Hypo-/Hyperglykämien
Thermoregulation	Hypothermie
Skelett	Osteopenie

Einleitung

Je geringer das Gestationsalter der Frühgeborenen und je niedriger das Geburtsgewicht, desto wahrscheinlicher und schwerwiegender sind die akuten Probleme und folglich auch die Komplikationen durch die intensivmedizinische Behandlung [1].

Selbst nach erfolgreicher Behandlung der akuten Probleme sind chronische Probleme im weiteren Verlauf keine Seltenheit.

Chronische Probleme

Auch die chronischen Probleme können alle Organsysteme betreffen und stellen meist eine Folge eines akuten Problems oder einer Komplikation dar. Die folgende Tabelle (Tab. 1-2) zeigt eine Übersicht.

Tabelle 1-2: Chronische Probleme nach Frühgeburtlichkeit [7]

Organsystem	Chronische Probleme
Lunge	Bronchopulmonale Dysplasie Infektionsanfälligkeit
Herz-Kreislauf-System	Pulmonale Hypertension Arterielle Hypertension
GI-Trakt/Ernährung	Kurzdarmsyndrom Metabolisches Syndrom Wachstumsverzögerung/Gedeihstörung
Zentralnervensystem	Zerebralparese Hydrozephalus Epilepsie Taubheit Sensomotorische Defizite Entwicklungsverzögerung
Immunsystem/Hämatologie	Infektionsanfälligkeit Chronische Lungenerkrankung
Augen	Blindheit Myopie Strabismus Refraktionsfehler Netzhautablösung
Renales System	Nephrokalzinose
Endokrines System	Insulinresistenz Metabolisches Syndrom

Insbesondere ein geringes Geburtsgewicht, welches zum einen durch intrauterine Wachstumsverzögerung und zum anderen durch Frühgeburtlichkeit bedingt sein kann, erhöht das Risiko für

kardiovaskuläre Erkrankungen [19-21], arterielle Hypertonie [22-29], koronare Herzkrankheit [30, 31], Schlaganfall [31] und Diabetes mellitus [32-35].

Einige Forschungsgruppen beschäftigen sich mit der Suche nach möglichen Ursachen für das erhöhte Risiko einer frühzeitigen Atherosklerose und Bluthochdruck. Hier konnte bereits eine Einschränkung der Endothelfunktion [36, 37] sowie der Mikrozirkulation [38-40], besonders bei Frühgeborenen mit einem niedrigen Geburtsgewicht (<2500g) gezeigt werden. Auch die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einem möglichen Zusammenhang zwischen Frühgeburtlichkeit und einer Beeinträchtigung der Mikrozirkulation, als mögliche Ursache besonders für späteren Bluthochdruck.

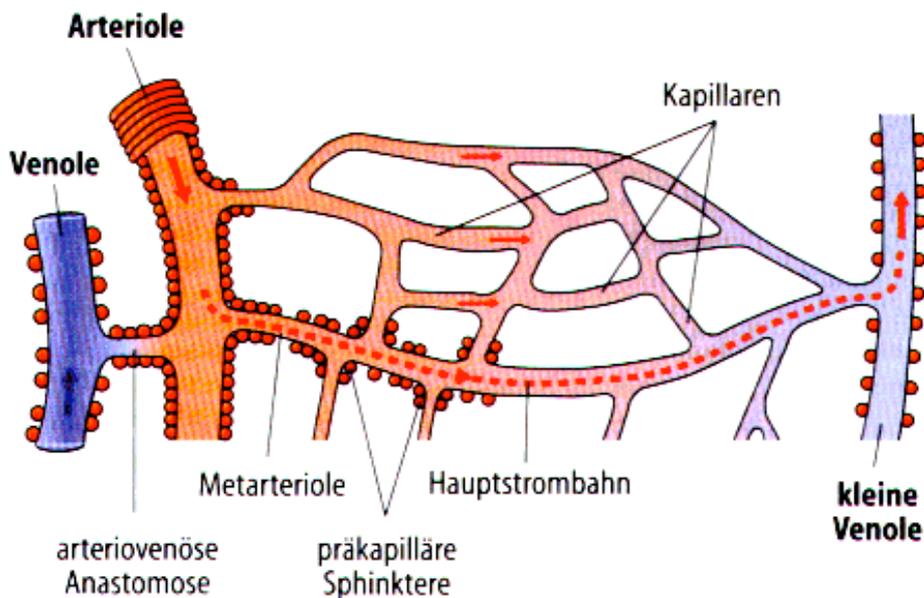
1.2 Mikrozirkulation

1.2.1 Aufbau und Funktion

Das Gefäßsystem kann in Makro- (Arterien und Venen) und Mikrozirkulation eingeteilt werden. Zum Gebiet der Mikrozirkulation oder der sogenannten Endstrombahn, werden die Arteriolen, die Kapillaren und die postkapillären Venolen gezählt (Abb. 1-1). Sie haben den größten Anteil an der Gesamtquerschnittsfläche des Gefäßsystems [41, 42].

- Arteriolen: Durchmesser < 100 µm, von 1-2 Schichten glatter Muskulatur umgeben, mit kleinsten Arterien zusammen verantwortlich für peripheren Widerstand im Gefäßsystem.
- Kapillaren: Durchmesser < 10 µm, durch Endothel (kontinuierlich, fenestriert, diskontinuierlich), Basallamina und Perizyten begrenzt, verantwortlich für Gas- und Stoffaustausch zwischen Blut und Interstitium.
- Postkapilläre Venolen: Durchmesser ca. 30 µm, von Endothel, Basallamina und Perizyten begrenzt, hohe Permeabilität des Endothels (Steigerung bei entzündlichen Vorgängen), Ort der Leukozytenemigration.
- Sammelvenolen: Durchmesser ca. 50 µm, besitzen zusätzlich einzelne glatte Muskelzellen, gehen in muskuläre Venolen und kleinste Venen über. [41]

Abbildung 1-1: Schematische Darstellung der Mikrozirkulation [2]



Die Gesamtoberfläche des Kapillarendothels wird auf 700 m^2 geschätzt (Die Oberfläche des gesamten Gefäßsystems beträgt ca. 1000 m^2). Hier findet der Gas- und Stoffaustausch statt, welcher durch die geringe Schichtdicke und die niedrige Strömungsgeschwindigkeit (ca. $0,5 \text{ mm/sec}$) begünstigt wird [41, 42].

Die Hautdurchblutung

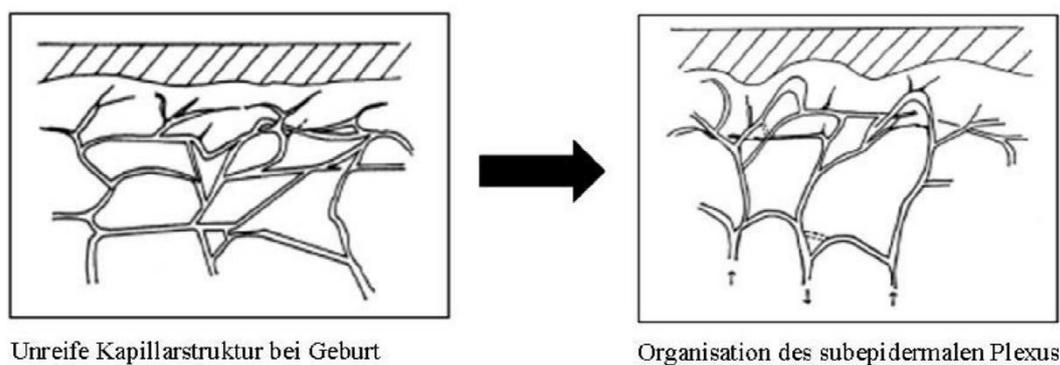
Die Durchblutung der Haut dient vor allem der Thermoregulation. Sie unterliegt, abhängig von der Umgebungstemperatur, großen Schwankungen. Bei indifferenter Temperatur beträgt sie etwa $0,3\text{-}0,6 \text{ l/min}$ (5-10% des Herzzeitvolumens), kann jedoch bei hohen Temperaturen auf bis zu 3 l/min ansteigen. In den Akren schwankt die Durchblutung besonders stark und wird hauptsächlich durch vasokonstriktorische sympathische Fasern und das Öffnen und Schließen arteriovenöser Anastomosen reguliert. Im Bereich des Körperstamms bestehen kaum arteriovenöse Anastomosen. Hier erfolgt die Regulation vorwiegend lokal-chemisch durch Kinine, welche bei Aktivierung cholinerg innervierter Schweißdrüsen ausgeschüttet werden [41, 43].

1.2.2 Organisation und Entwicklung der kutanen Mikrozirkulation

Beim Erwachsenen wird die Mikrozirkulation in der Haut durch zwei oberflächenparallele Gefäßgeflechte gebildet. Der oberflächliche Plexus (Plexus superficialis) liegt zwischen papillärer und retikulärer Dermis, der tiefe Plexus (Plexus profundus) zwischen Dermis und Subkutis. Vom Plexus superficialis ziehen zahlreiche Kapillarschlingen senkrecht zur Hautoberfläche in die Papillen. Die großen hautversorgenden Gefäße verlaufen in der Subcutis und speisen die Gefäßplexus [41].

Beim Neugeborenen findet sich eine noch unreife Struktur der Mikrozirkulation der Haut. Es zeigt sich ein dichter subepidermaler Plexus, welcher hauptsächlich horizontal angeordnet ist und ein sehr ungeordnetes kapilläres Netzwerk besitzt [3]. Bis zum Ende der ersten Lebenswoche nimmt das Netzwerk eine zunehmend geordnete Struktur an. In der zweiten Lebenswoche bilden sich papilläre Kapillarschlingen, welche zunächst als kleine oberflächliche Erweiterungen und Knospen sichtbar werden. Bereits nach 10 Tagen zeigt die Mikrozirkulation an Händen und Füßen eine reife Struktur. An den Unterarmen und Beinen dauert die Entwicklung einige Wochen länger. Nach ca. 17 Lebenswochen erlangt die Mikrozirkulation in allen Hautarealen einen adulten Aufbau [3].

Abbildung 1-2: Entwicklung der Kapillarstruktur beim Neugeborenen [3]



Bei Frühgeborenen, besonders mit niedrigem Geburtsgewicht, findet sich ein sehr viel unreiferer und zarterer Gefäßaufbau in der Haut [3, 44, 45]. Dieser wird durch einen möglicherweise resultierenden Sauerstoffmangel als mitursächlich für akute und chronische gesundheitliche Folgen durch Frühgeburt diskutiert [46].

1.2.3 Pathophysiologie der Mikrozirkulation

Sepsis und Multiorganversagen

Die Mikrozirkulation ist für die Versorgung der Gewebe und Organe mit Sauerstoff und Nährstoffen verantwortlich. Eine Einschränkung der Durchblutung im Endstromgebiet stellt somit ein großes Risiko für die Organfunktion und Gewebeversorgung dar. In Studien konnte solch eine Einschränkung bei Sepsis [4, 47-49], Multiorganversagen [50] und kardiogenem Schock [51] beobachtet werden. Eine Veränderung der Mikrozirkulation kann hier eventuell auch schon als Frühmanifestation der Erkrankung diagnostiziert werden [49]. Während einer Sepsis ist die Autoregulation der Gefäße der Mikrozirkulation entzündungsbedingt gestört, welche zu einer Minderdurchblutung und somit zu einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und -versorgung des Gewebes führt [4]. Aus dieser Erkenntnis könnten gleichzeitig auch neue Therapieansätze entstehen, mit dem Ziel, die Mikrozirkulation zu verbessern [52].

Essenzielle arterielle Hypertonie

Die Pathophysiologie der Mikrozirkulation wird auch in der aktuellen medizinischen Forschung als mögliche Ursache für essenzielle arterielle Hypertonie diskutiert [8-10, 53, 54]. Die Arteriolen sind als Widerstandsgefäße durch ihre Muskelschicht in der Lage, den Widerstand und somit den Blutfluss und -druck zu beeinflussen, oder auf diesen zu reagieren. Der Muskeltonus der glatten Muskulatur verändert sich zum Beispiel durch Dehnung, welche zu einer Kontraktion und somit zu Verkleinerung des Gefäßdurchmessers führt. Ein erhöhter Blutdruck kann eine Ursache dieser Dehnung darstellen [2, 54]. Durch die Muskelkontraktion in den Arteriolen sinkt der Druck distal ab, wodurch das Kapillarstromgebiet lokal vor zu hohem Druck geschützt werden kann. Gleichzeitig erhöht sich dabei jedoch der proximale Druck weiter. Ein erhöhter Druck im Bereich der Kapillaren kann zu einem interstitiellen Ödem, Ruptur des Endothels und durch Aktivierung des Endothels zur Auslösung einer Entzündungsreaktion (z.B. Ulkuserstehung) führen [54]. Bei der Entstehung der essenziellen arteriellen Hypertonie spielen strukturelle und funktionelle Fehlfunktionen der Mikrozirkulation eine Rolle [8]. Zum einen besteht ein Ungleichgewicht der vasomotorischen Einflüsse mit verstärkter Vasokonstriktion der Arteriolen, die bis zum Verschluss von distalen Gefäßabschnitten führen kann. In verschiedenen Studien konnte außerdem eine strukturelle Veränderung der Mikrozirkulation in Form einer Wandveränderung der Arteriolen mit Verringerung des Lumens [53] sowie eine Verminderung der Kapillardichte bei arterieller Hypertonie gezeigt werden [9, 10, 54]. Eine Verminderung der Kapillardichte in der Haut konnte bei normotensiven Patienten mit genetischer Prädisposition in Studien bereits vor klinischer Manifestation einer arteriellen Hypertonie gezeigt werden und eventuell eine frühe Manifestationsstufe kennzeichnen.

Somit könnte die Messung der kutanen Mikrozirkulation eine Früherkennung und frühzeitige Einleitung einer Therapie ermöglichen [9, 55]. Die Verminderung der Kapillardichte kann allerdings sowohl Ursache [9, 55, 56] als auch Folge [57-59] der arteriellen Hypertonie sein. Die Verminderung der kapillären Dichte kann wiederum zum einen durch eine Zerstörung der Gefäße [60], zum anderen durch eine insuffiziente Angiogenese [61, 62] zustande kommen. Auch bezüglich der essenziellen arteriellen Hypertonie könnte die gezielte Beeinflussung der Mikrozirkulation eine Grundlage neuer Behandlungsstrategien darstellen [56, 63], während die Wirkung der derzeit eingesetzten Antihypertensiva auf die Mikrozirkulation ebenfalls untersucht wird [64-66].

Diabetes mellitus

Im Verlauf der Erkrankung an Diabetes mellitus Typ 1 und 2 nehmen mikro- und makroangiopathische Gefäßalterationen graduell zu, welche bereits ausführlich untersucht sind [67]. Seit kürzerer Zeit liegen jedoch besonders die initialen Veränderungen der Mikrozirkulation im Fokus der medizinischen Forschung: Auch hier konnte eine verminderte Gefäßdichte, besonders der kleinen Gefäße, gezeigt werden [68]. Durch die Verminderung kleinerer Gefäße folgt eine Abnahme der Gas- und Stoffaustauschfläche und eine Einschränkung der Gewebeversorgung. Folgen der Veränderungen der Mikrozirkulation sind die diabetesbezogenen Komplikationen wie Neuropathie, Retinopathie und Wundheilungsstörungen [69-71]. Eine morphologische Veränderung der Gefäße konnte durch ALGENSTAEDT et al. schon in frühen Stadien im Rahmen hyperglykämischer Zustände bei Mäusen gefunden werden [68], während JAAP et al. jedoch keinerlei Einschränkungen der dermalen Mikrozirkulation bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 oder Glukoseintoleranz zeigen konnten [72]. Diese widersprüchlichen Resultate müssen noch weiter diskutiert werden. In einer Untersuchung von NUSSBAUM et al. konnten bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 bereits im Kindesalter Veränderungen der Mikrozirkulation gefunden werden. Hier fand sich unter anderem ebenfalls eine Verminderung kleiner Gefäße, zugunsten größerer Gefäße. Diese Veränderungen gehen mikro- und makrovaskulären Erkrankungen voran und können diese begünstigen. Die Untersuchung der Mikrozirkulation könnte somit zur Früherkennung und folglich zur Prävention von diabetesbezogenen vaskulären Komplikationen bereits im Kindesalter genutzt werden [73].

Kardiovaskuläres Risiko

Da gezeigt werden konnte, dass eine Einschränkung der Mikrozirkulation mit einer Vielzahl an Spätfolgen in Zusammenhang steht ist es naheliegend, dass diese auch ein insgesamt erhöhtes kardiovaskuläres Risiko birgt. DEBBABI et al konnten zeigen, dass der Framingham-Score für

kardiovaskuläres Risiko negativ mit der Kapillardichte korreliert [74]. Der Framingham-Risiko-Score berechnet für ein Individuum das Risiko, in den kommenden 10 Jahren einen Herzinfarkt zu erleiden und gibt dieses in Prozent an. Der Score beinhaltet das Alter, das Geschlecht, den systolischen Blutdruck, das Gesamtcholesterin und HDL-Cholesterin, Rauchen und Diabetes mellitus [75, 76].

1.2.4 Messprinzipien der Mikrozirkulation

Laser-Doppler-Flowmetrie (LDF)

Die Technik der Laser-Doppler-Flowmetrie basiert auf dem Prinzip der Dopplerverschiebung von Laserlicht durch sich bewegende Teilchen. Das Gewebe wird dabei mit monochromatischem, hochfrequentem Laserlicht mit einer Eindringtiefe von 1 bis 1,5 mm bestrahlt. Das Licht wird zum einen an den Gefäßwänden reflektiert und zum anderen an den sich bewegenden Erythrozyten, wodurch sich die Frequenz des Lichts ändert. Durch die Frequenzverschiebung kann mit Hilfe des Dopplergesetzes die Geschwindigkeit der Erythrozyten bestimmt werden [77]. Diese Methode dient somit der Messung der Fließgeschwindigkeit von Erythrozyten. Die Anwendung ist einfach und die Ergebnisse innerhalb weniger Minuten abrufbar. Allerdings ist die Methodik durch die geringe Eindringtiefe des Laserlichts und die hohe Anfälligkeit gegenüber Artefakten limitiert. Außerdem ist ein interindividueller Vergleich durch fehlende Absolutwerte kaum möglich. Der Einsatz in der klinischen Routine hat sich nicht bewährt, da das Gefäßkompartiment, welches für die Lichtreflexion verantwortlich ist, nicht eindeutig identifiziert werden kann. Somit besteht die Vermutung, dass das reflektierte Licht zum Großteil aus Gefäßen stammt, die nicht für die nutritive Versorgung der Haut verantwortlich sind [78].

Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS)

Die Nah-Infrarot-Spektroskopie ist eine nicht invasive Methode, die auf der Applikation von monochromatischem Licht beruht. Hier lässt sich die Gewebepfusion und in Folge der Status der Mikrozirkulation indirekt qualitativ beurteilen. Diese Methodik wurde erstmals 1977 in vivo angewandt [79]. Das verwendete Infrarotlicht dringt mit einer Wellenlänge von 650 bis 950 nm besonders tief in das Gewebe ein. Das Hämoglobin absorbiert das Licht unterschiedlich stark in Abhängigkeit des Oxygenierungszustands. Der nicht absorbierte Teil des Lichtes wird mehrfach gestreut und verlässt das Gewebe. Dieses Licht kann durch Lichtdetektoren erfasst werden. Eine spektrophotometrische Analyse ermöglicht, aus dem Verhältnis von ausgesandtem zu reflektiertem Licht Konzentrationsveränderungen von Oxy- und Desoxyhämoglobin zu bestimmen. Dieses Verfahren wurde zum Beispiel als nicht invasives fetales Monitoring während der Geburt eingesetzt, um bei

Neugeborenen den Oxygenierungsstatus und den zerebralen Blutfluss zu beurteilen [78]. Es kam jedoch nie routinemäßig zum Einsatz. Auch bei dieser Methodik fehlen Kalibrierungsverfahren der Messwerte, sodass keine absoluten Veränderungen ermittelt werden können. Außerdem können keine Aussagen über den Status einzelner Gefäße getroffen werden, sondern nur über den Gesamtzustand des Gewebes [79].

Intravitalmikroskopie (IVM)

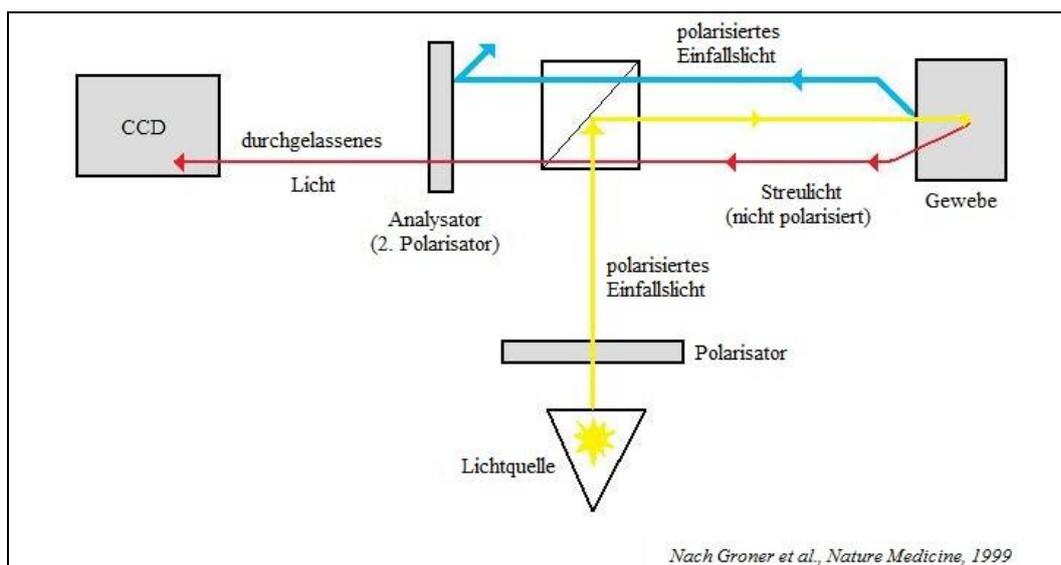
Bei der Intravitalmikroskopie beruht die Technik auf einer Darstellung des Gewebes durch Transillumination, Epiillumination oder phosphoreszierenden Substanzen. Bei der Transillumination wird das zu untersuchende Material zwischen der Lichtquelle und dem Mikroskop platziert. Durch die Absorption des Lichtes durch das Gewebe entsteht ein Kontrast und dadurch ein Bild. Die Mikroskopie mittels Epiillumination basiert auf der Anregung eines fluoreszierbaren Materials mit Licht der entsprechenden Wellenlänge, welches zuvor einen optischen Anregungsfilter passiert. Die Fluoreszenzemission gelangt anschließend über einen Emissionsfilter zu einem optischen Detektor [80]. Die Darstellung der Mikrozirkulation mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen kam ab den 1930er Jahren zum Einsatz: Bei dieser Technik werden die betreffenden Strukturen nach Applikation des Farbstoffes mittels eines Auflicht-Fluoreszenz-Mikroskops visualisiert [80]. Die Anwendung am Menschen beschränkt sich auf dünnes, lichtdurchlässiges Gewebe, wie beispielsweise den Nagelfalz. Die phototoxischen Fluoreszenzfarbstoffe sind außerdem für eine Anwendung am Menschen nicht zugelassen, wodurch dieses Verfahren keine Rolle in der klinischen Routine spielt.

Orthogonale polarisationsspektrale (OPS) und Sidestream Dark Field (SDF) Bildgebung

Die orthogonale polarisationsspektrale Bildgebung (Orthogonal Polarization Spectral imaging, OPS-Imaging) stellt eine Weiterentwicklung der Intravitalmikroskopie dar und wurde 1987 erstmals eingesetzt. Für diese Methodik wird kein Fluoreszenzfarbstoff benötigt, wodurch sie auch am Menschen anwendbar ist [5, 81]. Um diese neue Technik zu validieren, wurden daraus resultierende Parameter der Mikrozirkulation mit solchen der konventionellen Intravitalmikroskopie verglichen: Die Resultate zeigten sich äquivalent [5]. Besonders eignet sich die OPS Bildgebung zur Untersuchung der Mikrozirkulation innerer Organe, wie Gehirn, Leber und Herz [82-85]. Die Bewertung der kutanen Mikrozirkulation Erwachsener ist nur an wenig keratinisierten Bereichen wie beispielsweise der Schleimhaut des Mundes, dem periungualen Bereich, der Konjunktiva, oder Wunden möglich [86-91]. Dagegen ist die Haut von Früh- und Neugeborenen noch wenig keratinisiert und ermöglicht somit eine Abbildung der kutanen Mikrozirkulation an beliebiger Stelle. Für die Bildentstehung gelangt Licht einer externen Lichtquelle über einen Lichtleiter zur OPS-Einheit. Hier

wird es durch einen Polarisator oder Spektralfilter geleitet, wobei es isoliert und linear polarisiert wird. Die daraus resultierende Wellenlänge des Lichtes von 548 nm liegt zwischen der maximalen Lichtabsorption von Hämoglobin (420 nm) und der optimalen Eindringtiefe in das Gewebe (810 nm). Das polarisierte Licht trifft auf einen Spiegel und wird in einem 90-Grad-Winkel auf das zu untersuchende Gewebe geleitet. Der Teil des Lichtes, welcher an der Oberfläche reflektiert wird, bleibt polarisiert und wird von einem zweiten orthogonal stehenden Polarisator (Analysator) gefiltert. Dieser Teil trägt damit nicht zur Bildentstehung bei. Das nicht reflektierte Licht dringt in das Gewebe ein, wird gestreut, dabei depolarisiert und vom Hämoglobin der Erythrozyten absorbiert. Das gestreute, depolarisierte Licht wird vom Analysator weiter an eine CCD- (charge coupled device) Videokamera geleitet. Strukturen, die kein Hämoglobin enthalten (Leukozyten, Endothelzellen), werden somit nicht dargestellt. Das entstehende Bild kann simultan auf einem Bildschirm eingesehen werden [5, 92]. Für die anschließende Auswertung verschiedener Parameter der Mikrozirkulation stehen diverse Programme zur Verfügung. Diese Methodik ist stark anfällig gegenüber Bewegung, einerseits durch den Untersucher und die Kamera selbst, andererseits durch die sich bewegenden Strukturen (z.B. die Erythrozyten selbst) im Gewebe.

Abbildung 1-3: Funktionsprinzip der OPS-Bildgebung [5]



Die Sidestream Dark Field Bildgebung (SDF-Imaging) stellt eine Weiterentwicklung der OPS-Bildgebung dar. Diese Methodik kam in der vorliegenden Studie zum Einsatz und wird in Kapitel 2.3.2 ausführlich beschrieben.

1.3 Fragestellungen der Studie

Im Fokus dieser Studie stand die Untersuchung der Mikrozirkulation, um eventuelle Unterschiede zwischen ehemals frühgeborenen und ehemals reifgeborenen Kindern im Alter von sieben bis zehn Jahren zu zeigen. Hierfür wurden bei 67 Kindern Messungen mithilfe der SDF-Bildgebung an verschiedenen Körperstellen (Unterarm, Ohrmuschel, Innenseite der Lippe, Unterseite der Zunge) vorgenommen. Außerdem wurde die Mikrozirkulation während und im Anschluss an einen kurzfristigen arteriellen Verschluss am Arm untersucht. Folgende Fragestellungen wurden untersucht:

1. Unterscheiden sich die Parameter der Mikrozirkulation zwischen ehemals frühgeborenen und reifgeborenen Kindern im Ruhezustand?
2. Hat das Geburtsgewicht oder das Gestationsalter der ehemaligen Frühgeborenen einen Einfluss auf die Veränderungen der Mikrozirkulation?
3. Besteht ein Zusammenhang zwischen Frühgeburtlichkeit und erhöhten Blutdruckwerten im Kindesalter?
4. Wie unterscheiden sich Praktikabilität, Bildqualität und Messergebnisse an den verschiedenen Messorten?
5. Wie entwickeln sich die Parameter der Mikrozirkulation während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss? Gibt es Unterschiede zwischen den ehemals Frühgeborenen und der Kontrollgruppe?

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

2.1.1 Einverständniserklärung

Die Durchführung der vorliegenden Studie wurde von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt. Sowohl ein Elternteil als auch das Kind selbst bestätigten mit ihrer Unterschrift ihre Zustimmung zur Teilnahme an der Studie, sowie die Weiterverwendung der Daten in anonymisierter Form. Die Studie wurde in der Frauenklinik Maistraße, der Universität München, als auch in der Gemeinschaftspraxis für Kinder- und Jugendmedizin (Dres. Maier, Mattheß, Röhrenbach) in Tuttlingen durchgeführt.

2.1.2 Studiengruppen und -protokoll

Frühgeborenengruppe (FG)

Zur Untersuchung der Mikrozirkulation wurde eine Gruppe aus ehemals (sehr) frühgeborenen Kindern gebildet.

Einschlusskriterien:

- Gestationsalter < 32+0 SSW
- Lebensalter 7-10 Jahre

Ausschlusskriterien:

- Schwerwiegende angeborene Fehlbildungen oder Erkrankungen
- Krankheitszeichen zum Zeitpunkt der Untersuchung

Kontrollgruppe (KG)

Um Vergleichswerte zu erhalten, wurde zudem eine Kontrollgruppe aus ehemals reifgeborenen Kindern im gleichen Alter untersucht.

Einschlusskriterien:

- Gestationsalter > 37+0 SSW
- Lebensalter 7-10 Jahre

Ausschlusskriterien:

- Schwerwiegende angeborene Fehlbildungen oder Erkrankungen
- Krankheitszeichen zum Zeitpunkt der Untersuchung

2.2 Patientenkollektiv

2.2.1 Rekrutierung

Um die Frühgeborenengruppe zu rekrutieren, wurden im Voraus 48 Kinder (und ihre Eltern) erfolgreich angeschrieben (siehe Anhang: Abb. 6-1, 6-2, 6-3 und 6-4) und anschließend telefonisch kontaktiert, welche in der Frauenklinik München als (sehr) Frühgeborene zur Welt gekommen waren und die festgelegten Kriterien (s.o.) erfüllten.

Die Rekrutierung der Kontrollgruppe fand mit Unterstützung der Gemeinschaftspraxis für Kinder- und Jugendmedizin, Dres. Maier, Mattheß, Röhrenbach in Tuttingen statt. Hier wurden 30 Kinder (und ihre Eltern), die die Kriterien erfüllten, im Voraus angeschrieben und telefonisch kontaktiert. Außerdem wurden nochmals 30 Kinder und ihre Eltern im Praxisalltag angesprochen, ob

sie, nach ausführlicher schriftlicher und mündlicher Information, zu einer Teilnahme an der Studie bereit wären.

2.2.2 Datenerhebung

In beiden Gruppen wurden über einen Fragebogen (siehe Anhang: Abb. 6-5) Daten zur Geburt (Geburtsgewicht, Gestationsalter, Komplikationen) und zum gesundheitlichen Zustand (aktuelle Gesundheit, Einnahme von Medikamenten) erhoben. Dieser wurde durch die Eltern mit Hilfe des gelben U-Hefts ausgefüllt.

Vor Ort wurden außerdem durch den Untersucher die aktuelle Größe, Gewicht, Blutdruck, Herzfrequenz, Sauerstoffsättigung (Fingerclip) und Körpertemperatur (Ohrthermometer) gemessen. Anschließend erfolgte die Untersuchung der Mikrozirkulation.

2.3 Untersuchung der Mikrozirkulation

2.3.1 Intravitalmikroskopie

Zur Messung der Mikrozirkulation kommt eine intravitalmikroskopische Bildgebung zum Einsatz. In der vorliegenden Studie wurde die Sidestream Dark Field (SDF) Bildgebung verwendet. Hierbei handelt es sich um eine Weiterentwicklung der Orthogonal Polarization Spectral (OPS) Bildgebung, welche in Studien gegenüber dieser validiert wurde. Die SDF-Bildgebung weist teils eine vergleichbare Qualität, teils eine signifikant bessere Qualität bezüglich kapillärem Kontrast und Bildqualität, besonders der sich bewegenden Strukturen (Erythrozyten) auf [83, 92-95]. Sowohl OPS- als auch SDF-Bildgebung können durch die begrenzte Größe der benötigten Geräte und die handliche Kamera erstmals sowohl experimentell als auch klinisch zum Einsatz kommen [92]. Dies ermöglicht Untersuchungen in verschiedenen klinischen Szenarien. Zahlreiche Studien wurden in der Chirurgie, der Notfallmedizin und der Intensivmedizin durchgeführt: Untersuchungen fanden zum Beispiel perioperativ [96], bei Infektionskrankheiten und Sepsis [4, 47] statt.

2.3.2 Funktionsprinzip der SDF Bildgebung

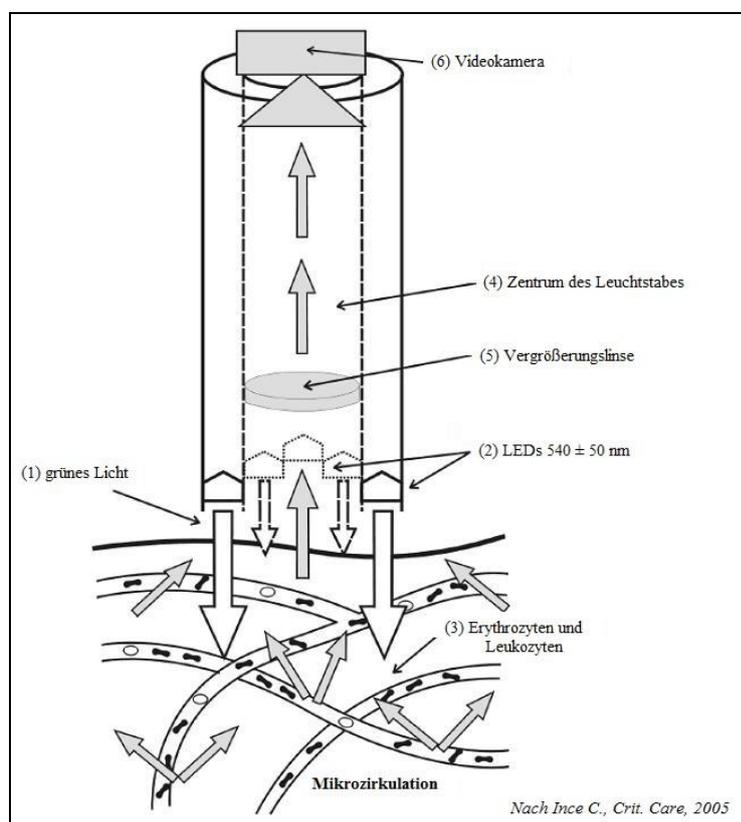
Die SDF-Technik ist in einem Messfühler integriert, welcher gleichzeitig eine Kamera zur Aufzeichnung anschließt. Die Beleuchtung an der Spitze des Messfühlers ist durch LEDs (light emitting diodes) gegeben, welche einen mittigen Lichtleiter konzentrisch umgeben. Dies ist Voraussetzung für die Sidestream Dark Field Beleuchtung. Das Linsensystem im Kern des Lichtleiters ist optisch von dem äußeren Lichtring isoliert. Dies schützt das Bild vor Kontamination durch Reflexionen der Gewebeoberfläche. Das Licht des äußeren Rings, welches das Gewebe durchdringt,

Material und Methoden

erleuchtet die ins Gewebe eingebettete Mikrozirkulation (auf einer Fläche von 1,08 x 0,81 mm und einer Tiefe von 0,9 mm), durch Streuung. Es erscheint grün, durch die bewusst gewählte Wellenlänge von 530 nm. Diese entspricht dem Absorptionsspektrum von Hämoglobin, unabhängig des Oxygenierungszustandes. Dadurch entsteht ein Bild, in dem die hämoglobinhaltigen Erythrozyten dunkelgrau gegenüber einem weißlich-grauen Hintergrund erkennbar sind. Um die Darstellung von beweglichen Strukturen wie den Erythrozyten zu verbessern, kommt der Effekt des Stroboskops zum Einsatz. Die LEDs geben getaktete Lichtsignale ab, welche auf die Bildfrequenz der Videokamera abgestimmt sind. Dadurch entsteht eine bessere Bildschärfe.

Das reflektierte Licht trifft auf eine 5-fach vergrößernde Linse und schließlich über den Leuchtstab auf die Videokamera [92, 97].

Abbildung 2-1: Funktion der SDF-Bildgebung [4]



Die Kamera ist über einen Analog-/Digital-Videokonverter (Canopus ADVC110, Kobe Japan) mit dem PC verbunden, an dem die aktuellen Aufnahmen direkt sichtbar sind und in digitaler Form gespeichert werden können.

Abbildung 2-2: Messfühler mit integrierter Kamera



2.3.3 Auswertung der SDF Bilder

Es wurden Softwareprogramme entwickelt, um die Mikrozirkulation anhand der SDF-Videos halb-automatisch zu evaluieren. Die Software entdeckt auf einem stabilisierten und gemittelten Bild einer ausgewählten Videosequenz Gefäße und markiert diese. Falsch markierte Gefäße können anschließend ausgeschnitten, und unentdeckte Gefäße per Hand nachgezeichnet werden. Außerdem kann der *Focus threshold* verändert werden, sodass das Bildrauschen verkleinert wird und somit fehlerhaft als Gefäß erkannte Artefakte ausgeschlossen werden. Gefäßlänge, -dicke und -durchmesser werden für die markierten Gefäße automatisch bestimmt. Flusseigenschaften können noch nicht automatisch beurteilt werden. Dazu stehen zwei semi-quantitative Methoden zur Verfügung: Die *per vessel* Methode, bei welcher der Fluss in jedem Gefäß einzeln klassifiziert wird, und die ‚Boerma‘ Methode, bei der das Bild in vier Quadranten aufgeteilt wird und der dominante Flusstyp für jeden Quadranten bestimmt wird. Der Fluss wird dabei in fünf Kategorien eingeteilt: Hyperdynam, Continuous, Sluggish, Intermittent, No flow. Beide Methoden sind rein subjektiv. Tatsächlich zeigt die ‚Boerma‘ Methode einige Nachteile gegenüber der *per vessel* Methode, bezüglich Genauigkeit und Reliabilität. Jedoch beansprucht die ‚Boerma‘ Methode deutlich weniger Zeit, was für eine Anwendung im klinischen Alltag von Vorteil ist. Die Beurteilung der Flusseigenschaften anhand der *per vessel* Methode dauert je nach Anzahl der Gefäße zwischen 10 und 45 min, dagegen kann die Beurteilung anhand der ‚Boerma‘ Methode innerhalb von 2 min durchgeführt werden [97, 98].

2.4 Messprotokoll

2.4.1 Messung der Mikrozirkulation an verschiedenen Körperstellen

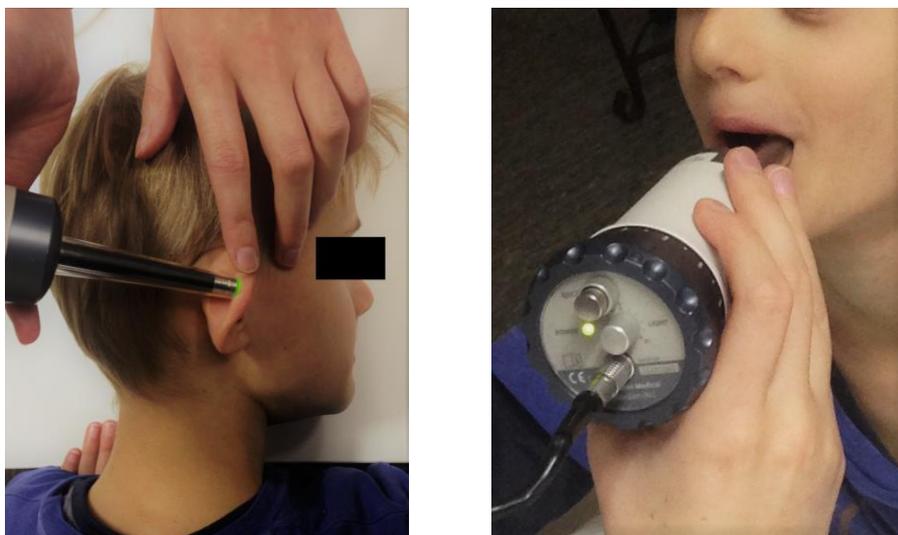
Nachdem das Messgerät (Microscan, MicroVision Medical Inc., Amsterdam, Niederlande) angeschlossen und AVA (Automated Vascular Analysis, Version 3.2, University of Amsterdam), das

Material und Methoden

Programm zur Aufnahme und Analyse der Videos, am PC gestartet wurde, können über die Option *Capture* Videosequenzen vorgegebener Länge (s) aufgezeichnet werden. Hierzu wird zunächst eine sterile Plastikcappe auf den MicroScan Messfühler gesetzt. Diese soll aus hygienischen Gründen einen direkten Kontakt zwischen der Haut des Patienten und dem Untersuchungsgerät verhindern. Außerdem kann dadurch ein stabiler Abstand von ca. 1 mm zwischen Messfühler und Hautoberfläche garantiert werden. Es wurden jeweils 3 bis 6 Messungen an verschiedenen Orten vorgenommen:

- Unteres Drittel der Innenseite des Unterarms
- Rückseite der Ohrmuschel
- Innenseite der Unterlippe
- Unterseite der Zunge

Abbildung 2-3: Durchführung der Messungen am Beispiel von Ohrmuschel und Zungenunterseite



Der Messfühler kann in der Hand gehalten, oder an einer eigens hierfür angefertigten Halteeinrichtung befestigt werden. Damit können Bewegungsartefakte, beispielsweise durch Zittern des Untersuchers, vermieden werden. Allerdings können dagegen Bewegungen durch das Kind nicht ausgeglichen werden, welche in diesem Setting (wache Kinder) meist größer ausfallen. Je nach Kooperation des Kindes wurde hier individuell entschieden. Außerdem wurde für die Messungen an Ohr und Arm ein Tropfen Wasser an der Messstelle auf die Haut aufgetragen, um die Bildqualität zu verbessern. An der feuchten Schleimhaut war dies nicht notwendig. Es sollte stets darauf geachtet werden, dass der Kontakt zwischen Messfühler und Haut nicht zu einem Druck auf das Gewebe führt, welcher die Durchblutung behindern könnte [98].

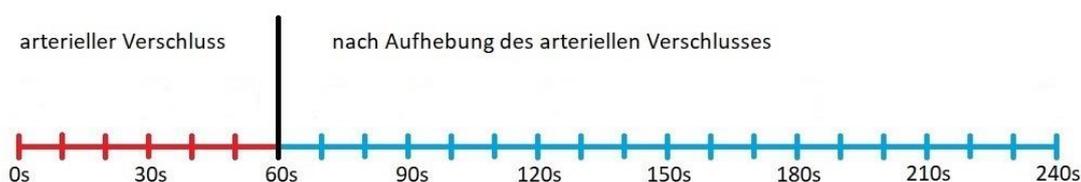
Material und Methoden

Die Länge der einzelnen Videosequenzen wurde auf 20 s festgelegt. Bei guter Bildqualität wurde die gleiche Position möglichst über mehrere Sekunden beibehalten. Bei den Messungen im Mund konnten Bewegungen durch das Kind (besonders der Zunge) unmöglich unterbunden werden. Deshalb war die Haltung der Position stark von der Kooperation des Kindes abhängig. Daraus ergeben sich bei den Messungen an Zunge und Lippe deutlich kürzere stabile Sequenzen für die Auswertung. An Arm und Ohr dagegen konnte der Untersucher selbst Einfluss darauf nehmen, wie lange dieselbe Position gehalten wurde, woraus längere stabile Sequenzen resultieren. Die aufgezeichneten Videosequenzen wurden im Anschluss auf dem PC als Videodatei gespeichert.

2.4.2 Messung der Mikrozirkulation während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss

Um die Mikrozirkulation während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss untersuchen zu können, wurde dem Kind eine Blutdruckmanschette am rechten Oberarm angelegt. Das Kind positionierte den Arm auf einem Tisch in Herzhöhe. Die Aufnahme wurde gestartet, sobald die Manschette über den systolischen Blutdruckwert aufgepumpt und somit der Blutfluss gestoppt war. Der Druck wurde für 60 s aufrechterhalten und dann abgelassen. Zur Beobachtung der Mikrozirkulation wurde ohne Unterbrechung ein Video von 240 s aufgenommen. Somit wurden die Veränderungen der Mikrozirkulation 60 s während des Verschlusses und 180 s nach Aufhebung des Verschlusses aufgezeichnet.

Abbildung 2-4: Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Aufzeichnung



Die aufgenommenen Videosequenzen wurden ebenfalls direkt nach der Messung gesichert.

2.5 Auswertungsprotokoll

2.5.1 Anonymisierung und Verblindung der Aufzeichnungen

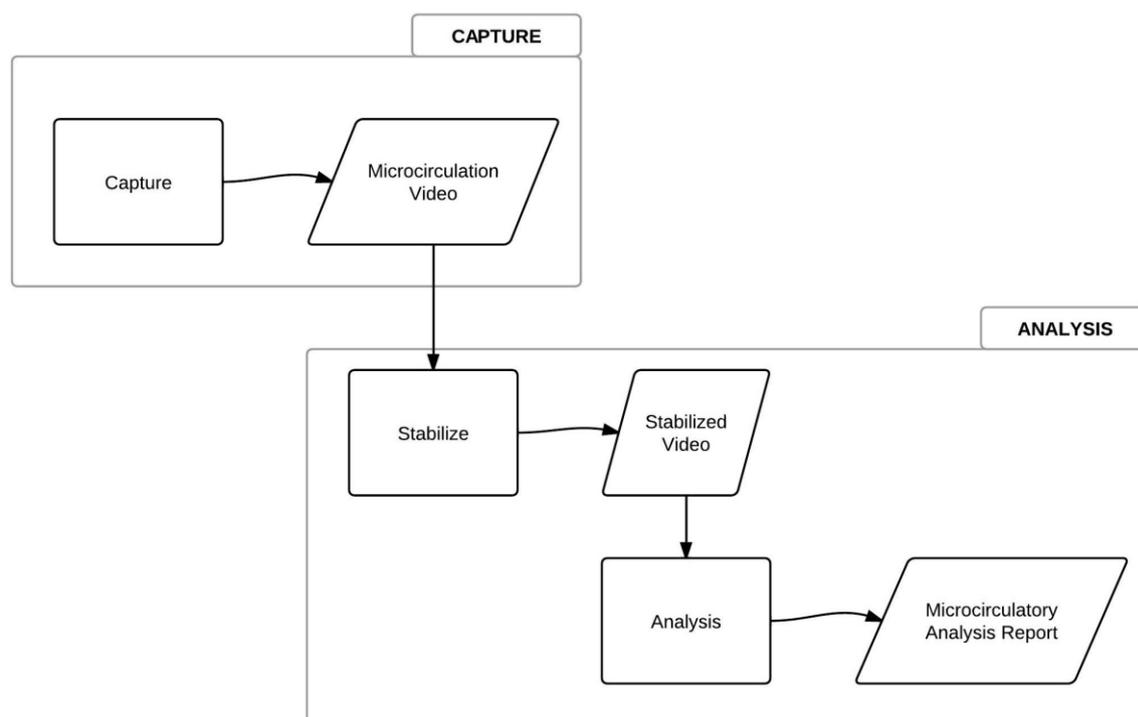
Zur Anonymisierung der Aufzeichnungen erhielten die Studienteilnehmer zu Beginn eine Nummer. Zur Auswertung wurden die Dateinamen der einzelnen Videosequenzen schließlich nach dem

Zufallsprinzip durch fünfstelligen Codes aus Zahlen und Buchstaben ersetzt. Eine Liste der jeweiligen Zuordnung von ursprünglichem Dateinamen und Code wurde in einem gesonderten Dokument gespeichert. Somit wurde sichergestellt, dass der Untersucher die Videos während der Auswertung weder einem konkreten Patienten, noch einer Studiengruppe zuordnen konnte.

2.5.2 Auswertung anhand des Bildanalyse-Systems Automated Vascular Analysis (AVA 3.2)

Die folgende Abbildung (Abb. 2-5) zeigt eine Übersicht über die Funktionen der AVA-Software, welche sowohl zur Aufzeichnung der Messungen als auch zur anschließenden Analyse der mikrozirkulatorischen Parameter verwendet wird. Diese wird im Folgenden genauer erörtert.

Abbildung 2-5: Funktionen der AVA-Software, Messung und Analyse, entnommen aus dem AVA 3.1 user manual [1]



Benötigte Software

Die Auswertung der Videosequenzen erfolgte mithilfe des Videoanalyse-Systems Automated Vascular Analysis (AVA) Version 3.2 (University of Amsterdam, Amsterdam, Niederlande). Die Software ermöglicht sowohl eine qualitative als auch eine quantitative Analyse der mikrozirkulatorischen Parameter. Nach vollendeter Auswertung einer Aufnahme werden diese Parameter in einem detaillierten Bericht dargestellt. Darin sind Informationen über die funktionelle Gefäßdichte oder

Material und Methoden

auch functional vessel density (FVD in mm/mm^2), die detektierte Gefäßlänge (mm) und die Gefäßfläche ($\text{mm}^2/\text{mm}^2 \times 100\%$) sowie über die prozentualen Anteile der verschiedenen Gefäßdurchmesser (%) und die Fließeigenschaften der Erythrozyten enthalten.

Obwohl inzwischen schon neuere Versionen der AVA-Software existieren, fiel die Entscheidung bewusst auf diese ältere Version. Die neueren Versionen bieten eine vollautomatisierte Analyse der Videos. Der Untersucher kann somit jedoch keinen Einfluss darauf nehmen, welcher Teil des Videos zur Auswertung herangezogen werden soll, er kann die eventuell durch Artefakte fehlerhaft gekennzeichneten Gefäße nicht ausschneiden und unerkannte Gefäße nicht nachzeichnen. Für die vollautomatische Auswertung werden artefaktfreie und durchgehend stabile Aufnahmen vorausgesetzt. Dies ist bei Untersuchungen an Kindern jedoch nicht zu gewährleisten.

Durch die manuelle Nachbearbeitung der durch das Programm erfassten Gefäße besteht die Gefahr der subjektiven Einflussnahme. Ziel sollte sein, die Nachbearbeitung auf ein Minimum zu beschränken, um den untersucherabhängigen Bias so gering als möglich zu halten. Dennoch stellt dies eine mögliche Limitation bezüglich der Objektivität und Reliabilität dar, welcher jedoch entgegengewirkt wurde, indem alle Sequenzen verblindet und durch denselben Untersucher ausgewertet wurden. Bei diesem fand außerdem eine Überprüfung seiner eigenen Reliabilität statt, indem einige Videos wiederholt ausgewertet und die Ergebnisse verglichen wurden.

Einzelne Schritte bei der Auswertung

Über das Programm können einzelne Videos aufgerufen und analysiert werden. Dazu wird zunächst eine Sequenz innerhalb des Videos aufgesucht, in der das Bild möglichst dieselbe Stelle zeigt. Diese Sequenz kann markiert werden und wird anschließend durch das Programm stabilisiert. Die einzelnen Bilder dieses Ausschnitts werden nun automatisch übereinandergelegt und ein Durchschnittsbild errechnet.

Auf diesem Bild markiert das Programm nun automatisch die als graue Linien sichtbaren Gefäße. Die verschiedenen Gefäßdurchmesser werden in zuvor festgelegten Farben markiert:

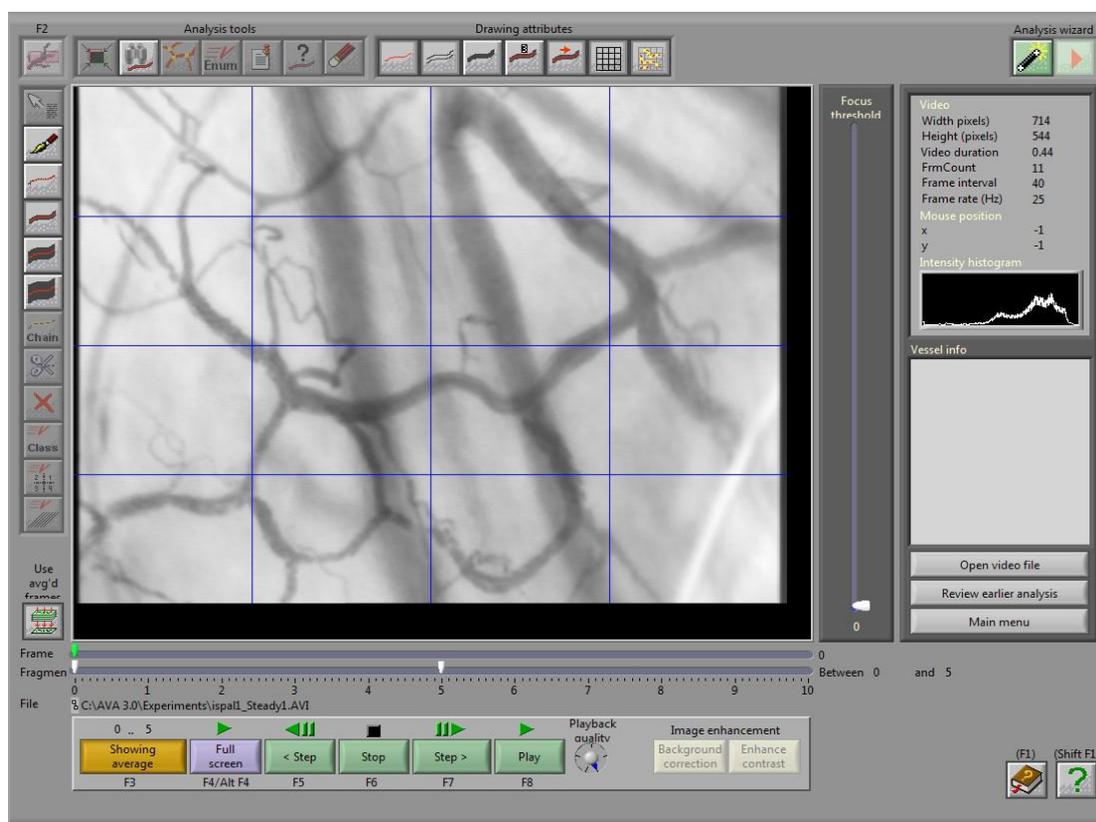
- *Small*: 0-25 μm (gelb)
- *Medium*: 25-50 μm (orange)
- *Large*: 50-100 μm (rot)
- *Very Large*: 100-10000 μm (rosa)

Gleichzeitig unterteilt das Programm die Gefäßdurchmesser in 10 μm -Schritten und zeigt diese Parameter im Report an, sodass die Farben in erster Linie der Übersichtlichkeit dienen.

Material und Methoden

Es wird ersichtlich, dass das Programm, besonders bei schlechterer Bildqualität, nicht zwischen Bildrauschen (Artefakte) und echten Gefäßen unterscheiden kann. Dieser Effekt kann durch Veränderung des *focus threshold* minimiert werden, der sich anhand eines Reglers einstellen lässt. Sollten weiterhin deutliche Fehler erkennbar sein (als Gefäß erkannte Härchen und Bläschen), wird das Ergebnis der automatischen Gefäßerkennung zurückhaltend per Hand korrigiert. Es können Markierungen entfernt oder neu eingezeichnet werden. Im letzten Schritt erfolgt die Beurteilung des Flusses nach der ‚Boerma‘ Methode, die bereits beschrieben wurde. In den vier Quadranten wird für die verschiedenen vorhandenen Gefäßgrößen (*small, medium, large, very large*) der jeweils vorherrschende Fluss-Typ ausgewählt. Nach Beendigung der Analyse können die Ergebnisse in Form eines Reports als Textdatei gespeichert werden.

Abbildung 2-6: Videoanalyse mittels AVA, Beispielfoto entnommen aus dem AVA 3.1 user manual [1]



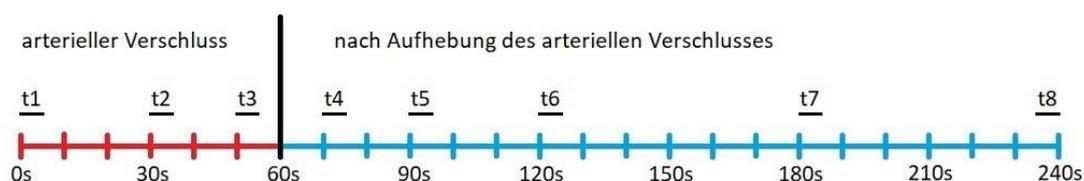
2.5.3 Auswertung der Mikrozirkulation während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss am Arm

Aus der 240 Sekunden andauernden Aufzeichnung der Mikrozirkulation am Unterarm während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss wurden einzelne Sequenzen von jeweils fünf Sekunden zu verschiedenen, festgelegten Zeitpunkten ausgewertet. So wurden drei Sequenzen während

Material und Methoden

des arteriellen Verschlusses ($t1:0s$; $t2:30s$; $t3:50s$), sowie fünf Sequenzen nach Beendigung des Verschlusses ($t4:70s$; $t5:90s$; $t6:120s$; $t7:180s$; $t8:235s$) ausgewertet. Die Auswertung der Aufnahmen mithilfe von AVA entspricht der Auswertung der einzelnen Messungen am Unterarm (s.o.).

Abbildung 2-7: Übersicht über die ausgewerteten Zeitpunkte während und nach arteriellem Verschluss



2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe des Statistikprogramms GraphPad Prism (Version 5.0). Vorerst wurden stets jeweils die Ergebnisse aus drei Messungen pro Studienteilnehmer und Messort gemittelt. Aus diesen Werten wurde innerhalb beider Gruppen der Mittelwert mit Standardabweichung berechnet, und diese zwischen den Gruppen verglichen. Zunächst wurden die Werte nach d'Agostino und Pearson bezüglich ihrer Normalverteilung überprüft. Entsprachen die Werte der Gauß'schen Normalverteilung, wurde der ungepaarte t -Test für parametrische Daten herangezogen. War dies nicht der Fall, kam der Mann-Whitney-U-Test für nicht-parametrische Daten zum Einsatz. Als Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ festgelegt.

Darstellung des Signifikanzniveaus:

- $p < 0,05$: *
- $p < 0,01$: **
- $p < 0,001$: ***

Die statistische Auswertung der Mikrozirkulation zu den verschiedenen Messzeitpunkten während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss am Arm erfolgte mittels one-way ANOVA. Für parametrische Daten kam die einfaktorielle Varianzanalyse für Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes zum Einsatz, für nicht-parametrische Daten der Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Comparison Test als Post-hoc Test.

3 Ergebnisse

3.1 Patientendaten

3.1.1 Rekrutierung und Rücklaufquoten

Frühgeborenengruppe:

24 Kinder und jeweils ein Elternteil, willigten in die Untersuchung ein und konnten somit in die Studie eingeschlossen werden (Rücklaufquote 50%).

Kontrollgruppe:

In die Kontrollgruppe konnten vorerst 47 Kinder eingeschlossen werden (Rücklaufquote 75%). Vier Kinder entsprachen jedoch nach Überprüfung der Daten nicht den Einschlusskriterien, sodass die Kontrollgruppe letztlich 43 Kinder zählte.

3.1.2 Erhobene Daten

Die bei der Untersuchung erhobenen Daten und gemessenen Werte sind in folgender Tabelle (Tab. 3-1) dargestellt. Die Gruppen unterschieden sich deutlich signifikant bezüglich des Gestationsalters, welches ein Kriterium für die Einteilung der Gruppen darstellte. Außerdem unterschied sich das Geburtsgewicht signifikant, wobei die ehemals Frühgeborenen mit durchschnittlich 1174 g bei Geburt nur circa ein Drittel der ehemals Reifgeborenen mit durchschnittlich 3414 g wogen.

Die Körpertemperatur und der diastolische Blutdruck zeigten in der Frühgeborenengruppe statistisch signifikant niedrigere Werte. Andere, hinsichtlich der Untersuchung der Mikrozirkulation wichtige Variablen, unterschieden sich jedoch nicht signifikant zwischen den Gruppen.

Tabelle 3-1: Patientendaten (Mittelwert \pm Standardabweichung (SD), statistischer Test: unpaired t-test und Mann-Whitney-U-Test)

Parameter	Frühgeborene (<i>n</i> =24)	Kontrollgruppe (<i>n</i> =43)	Signifikanzniveau
Geschlecht	12 männlich (50%)	20 männlich (46,5%)	
Gestationsalter (Wochen)	28,7 \pm 2,3	39,7 \pm 1,3	<i>p</i> < 0,0001
Geburtsgewicht (g)	1174 \pm 362	3414 \pm 457	<i>p</i> < 0,0001
Alter (Jahre)	8,7 \pm 1,3	8,3 \pm 0,9	n.s.
Gewicht (kg)	27,8 \pm 6,5	28,5 \pm 5,9	n.s.
Größe (cm)	132 \pm 10	131 \pm 8	n.s.
BMI (kg/m ²)	15,8 \pm 3,0	16,4 \pm 2,0	n.s.

Ergebnisse

Herzfrequenz (/min)	85 ± 13	83 ± 13	n.s.
Sauerstoffsättigung (%)	98 ± 1	98 ± 1	n.s.
RR systolisch (mmHg)	108 ± 8	107 ± 14	n.s.
RR diastolisch (mmHg)	58 ± 7	62 ± 7	p = 0,02
Temperatur aurikulär (°C)	36,6 ± 0,4	37,0 ± 0,4	p < 0,0001

3.2 Reliabilitätsprüfung des Untersuchers

Die Reliabilität wurde überprüft, indem einige Videos (insgesamt 12 Videos von den unterschiedlichen Messorten) wiederholt ausgewertet wurden, ohne dass der Untersucher diese der ersten Auswertung zuordnen konnte. Die aus den ersten Messungen resultierenden Parameter wurden mit den Parametern aus den entsprechenden wiederholten Messungen anhand des paired *t*-tests verglichen. Die Reliabilität kann als umso besser interpretiert werden, je geringer die Abweichung zwischen den gepaarten Werten ist. Die Ergebnisse des paired *t*-tests sind für die funktionelle Gefäßdichte (FVD), die Gefäßoberfläche (Vessel Surface) und den mittleren Flow Index (MFI) in folgender Tabelle (Tab. 3-2) dargestellt.

Tabelle 3-2: Reliabilitätsprüfung des Untersuchers bezüglich ausgewählter Parameter (FVD in mm/mm², Vessel Surface in (mm²/mm²) x 100%, MFI (Boerma-Methode)), mittels paired t-test

	Unterschiede der gepaarten Werte, Signifikanzniveau	Mittelwert der Differenzen zwischen den gepaarten Werten	Effektivität der Paarung, Signifikanzniveau	Korrelationskoeffizient
FVD	<i>p</i> = 0,20	0,078	<i>p</i> < 0,0001	0,9990
Vessel Surface	<i>p</i> = 0,15	0,12	<i>p</i> < 0,0001	0,9995
MFI	<i>p</i> = 0,795	0,0083	<i>p</i> = 0,0055	0,70

Die Unterschiede zwischen den gepaarten Werten sind nicht signifikant. Dagegen ist die Paarung selbst deutlich signifikant, was für eine gute Reliabilität spricht. Ein Korrelationskoeffizient von +1 entspricht einem vollständigen positiven linearen Zusammenhang [99]. Besonders die Koeffizienten der funktionellen Gefäßdichte und der Gefäßoberfläche reichen sehr nahe an dieses Optimum heran.

3.3 Besonderheiten der Messungen und Auswertungen an den verschiedenen Körperstellen

3.3.1 Innenseite des Unterarms

Am Arm ist die Bildqualität im Vergleich zu den anderen Messorten am schlechtesten. Die Haut ist hier am dicksten und es finden sich einzelne Härchen, wodurch hier viele Störartefakte und eine schlechtere Bildschärfe entstehen können. Einzelne Messungen wurden so stark durch Artefakte überlagert, dass sie mit dem Auswertungsprogramm AVA nicht auszuwerten waren. Dagegen ist die Bildstabilität sehr gut, wodurch lange Sequenzen ausgewertet werden können (ca. 5-6 Sekunden).

Abbildung 3-1: Beispiel für eine stabilisierte Videosequenz einer Aufnahme an der Unterarminnenseite

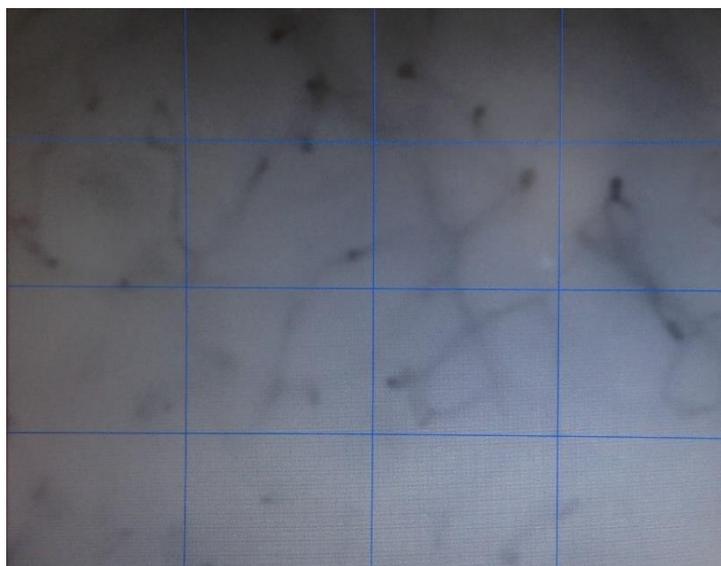


Abbildung 3-2: Gefäßerkennung und -markierung durch die Software



3.3.2 Rückseite der Ohrmuschel

Die Bildqualität ist bezüglich Schärfe und Kontrast etwas besser als am Unterarm, da die Haut etwas dünner ist. Jedoch finden sich auch hier feine Härchen, wodurch ebenfalls Störartefakte entstehen (Bildrauschen). Nach mehreren Versuchen stellte sich heraus, dass diese an der Rückseite der Ohrmuschel geringer ausfallen. Durch die Form der Ohrmuschel besteht auf der Rückseite zudem eine bessere Kontaktfläche zwischen Haut und Messfühler. Die Bildstabilität ist ebenfalls gut und es können recht lange Sequenzen ausgewertet werden (ca. 1-3 Sekunden).

Abbildung 3-3: Beispiel für eine stabilisierte Videosequenz einer Aufnahme am Ohr

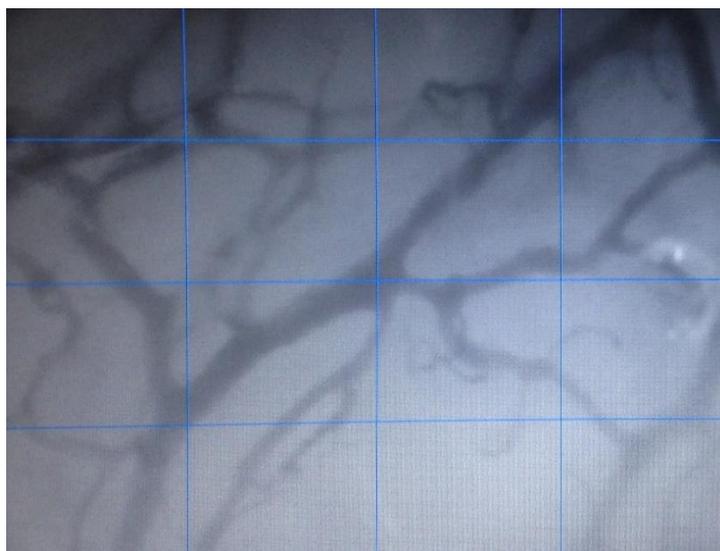


Abbildung 3-4: Gefäßerkennung und -markierung durch die Software



3.3.3 Unterseite der Zunge

Die Bildqualität ist bezüglich Schärfe und Kontrast ausgesprochen gut und im Vergleich deutlich besser als bei den Messungen an der Haut. Problematisch ist dagegen die Bildstabilität. Durch extreme Bewegungsartefakte können nur sehr kurze stabile Sequenzen erreicht werden. (ca. 0,1-0,6 Sekunden)

Abbildung 3-5: Beispiel für eine stabilisierte Videosequenz einer Aufnahme an der Zungenunterseite

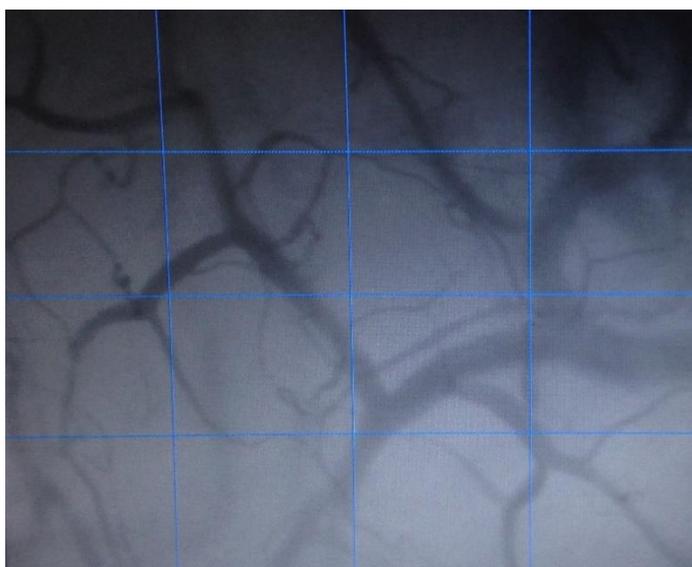
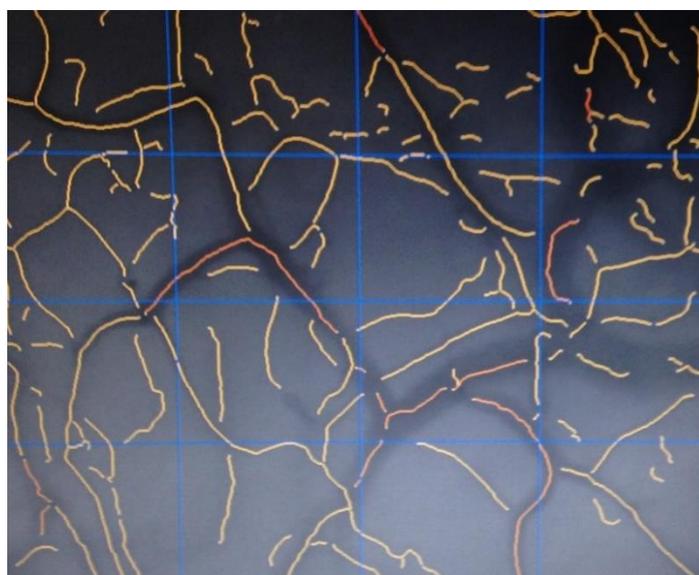


Abbildung 3-6: Gefäßerkennung und -markierung durch die Software



3.3.4 Innenseite der Unterlippe

Die Bildqualität ist mit den Messungen an der Zunge vergleichbar. Auch hier besteht das Problem in der Bildstabilität. Die Bewegungsartefakte können jedoch während der Aufnahme durch den Untersucher besser begrenzt werden, woraus etwas längere stabile Sequenzen entstehen. (ca. 0,2-1 Sekunden)

Abbildung 3-7: Beispiel für eine stabilisierte Videosequenz einer Aufnahme an der Innenseite der Unterlippe

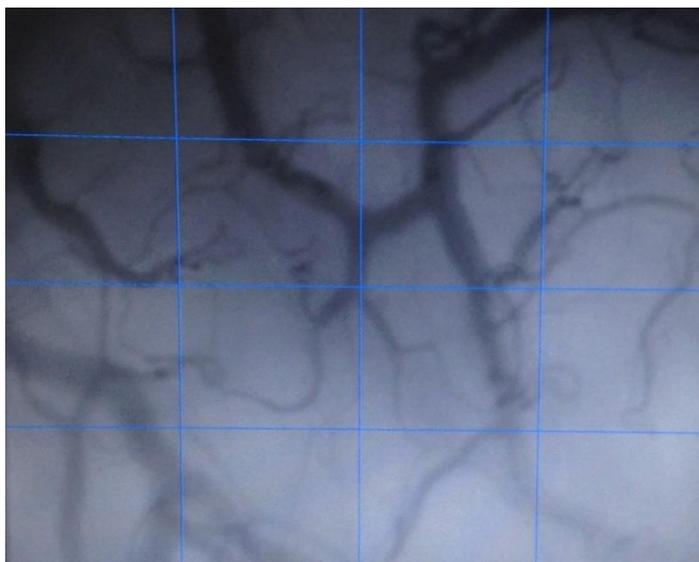
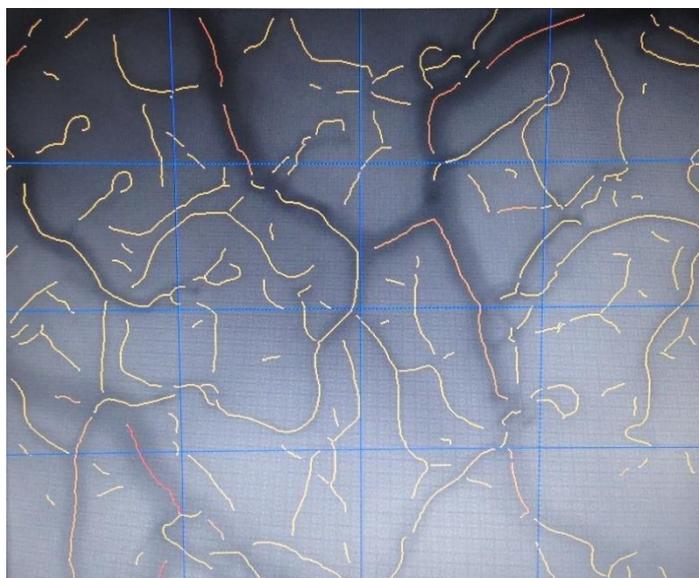


Abbildung 3-8: Gefäßerkennung und -markierung durch die Software

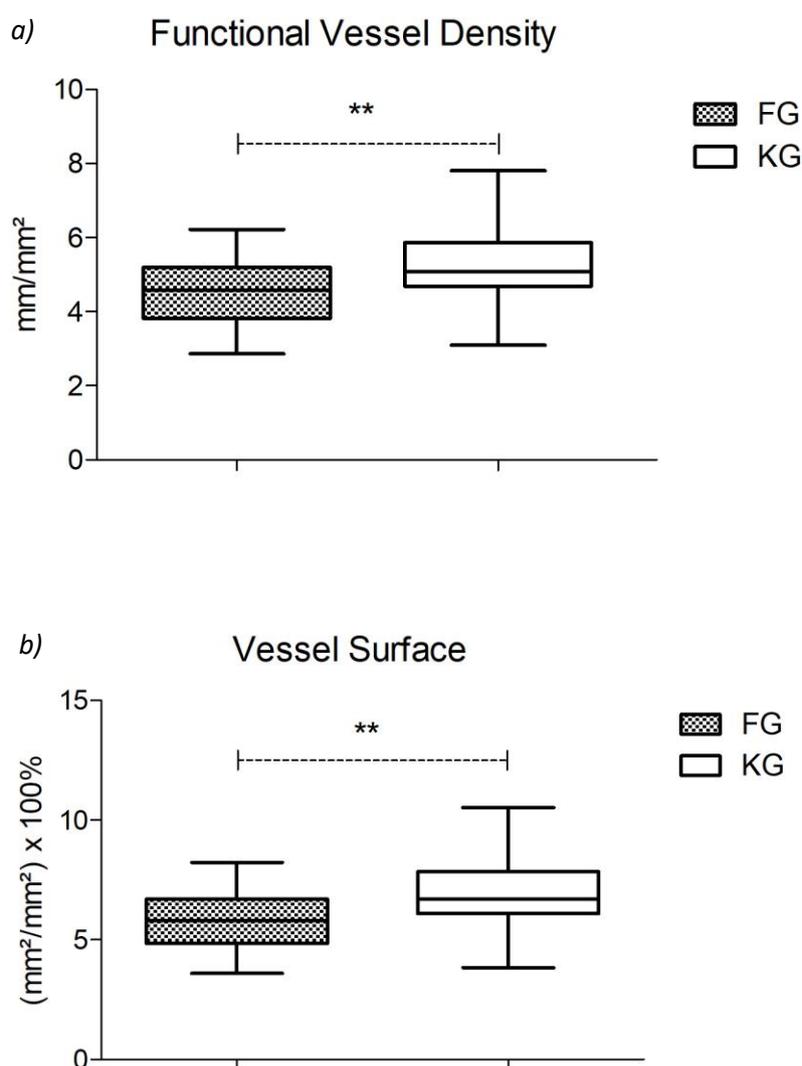


3.4 Mikrozirkulation an den verschiedenen Körperstellen

3.4.1 Mikrozirkulation am Arm

Im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigten die ehemals frühgeborenen Kinder signifikant erniedrigte Werte bezüglich der funktionellen Gefäßdichte (functional Vessel Density (FVD) in mm/mm^2), der Gefäßlänge (Vessel Length in mm) und -fläche (Vessel Surface in $\text{mm}^2/\text{mm}^2 \times 100\%$) am Unterarm (unpaired t -test, $p < 0,01$, Mittelwerte und Standardabweichung siehe Tabelle 3-3).

Abbildung 3-9: Funktionelle Gefäßdichte (a) und -fläche (b) am Arm, Vergleich zwischen Frühgeborenenengruppe (FG) und Kontrollgruppe (KG)



Ergebnisse

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede innerhalb der prozentualen Verteilung der Gefäßdurchmesser. Der mittlere Flow Index (MFI nach der ‚Boerma‘ Methode) ist ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich. Dieser ist hier nur für die kleinen (*small*) Gefäße mit einem Durchmesser von 0-25 µm dargestellt, da diese mit durchschnittlich über 99 (Length) % den deutlich größten Anteil darstellen. Detaillierte Informationen können Tabelle 3-3 entnommen werden.

Tabelle 3-3: Parameter der Mikrozirkulation am Arm (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test und Mann-Whitney-U-Test)

Parameter	Frühgeborenen- gruppe ($n=23$)	Kontrollgruppe ($n=41$)	Signifikanz- niveau
FVD (mm/mm ²)	4,5 \pm 0,9	5,3 \pm 1,0	$p = 0,005$
Vessel Length (mm)	3,6 \pm 0,7	4,1 \pm 0,7	$p = 0,006$
Vessel Surface (mm ² /mm ² x 100%)	5,9 \pm 1,3	6,9 \pm 1,4	$p = 0,004$
Anteil Gefäße mit $d = 0-10$ µm (%)	27,4 \pm 6,8	25,5 \pm 6,6	n.s.
Anteil Gefäße mit $d = 10-20$ µm (%)	65,7 \pm 6,0	66,9 \pm 5,6	n.s.
Anteil Gefäße mit $d = 20-30$ µm (%)	6,2 \pm 2,4	6,8 \pm 2,1	n.s.
Anteil Gefäße mit $d = 30-40$ µm (%)	0,5 \pm 0,5	0,7 \pm 0,5	n.s.
MFI (‚Boerma‘ Methode) kleine Gefäße	2,8 \pm 0,2	2,9 \pm 0,1	n.s.

Innerhalb der Frühgeborenenengruppe fanden sich keine weiteren signifikanten Unterschiede der funktionellen Gefäßdichte im Zusammenhang mit dem Gestationsalter (28 bis 32 SSW gegenüber < 28 SSW) oder dem Geburtsgewicht (1000 g bis 1500 g gegenüber < 1000 g). Dies ist in den Tabellen 3-4 und 3-5 nachvollziehbar.

Tabelle 3-4: Vergleich der funktionellen Gefäßdichte am Arm zwischen Frühgeborenen mit einem Gestationsalter zwischen 28 und 32 vollendeten Schwangerschaftswochen einerseits und unter 28 vollendeten Schwangerschaftswochen andererseits (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test).

Frühgeborenenengruppe	28 - 32 SSW ($n = 14$)	< 28 SSW ($n = 9$)	Signifikanz- niveau
FVD (mm/mm ²)	4,6 \pm 1,0	4,4 \pm 0,9	n.s.

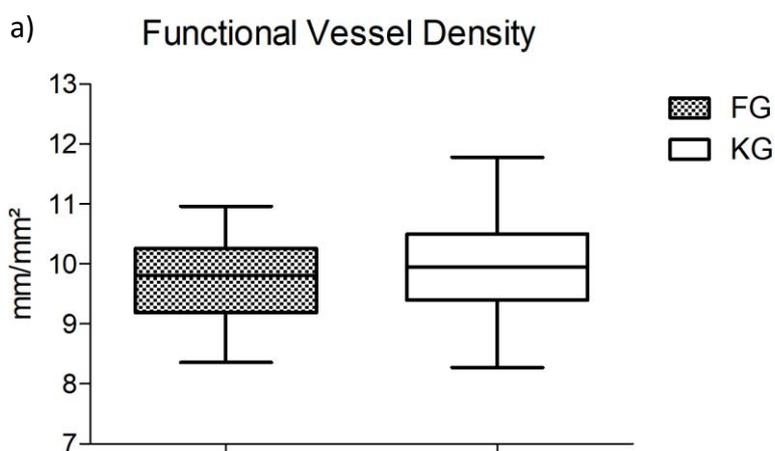
Tabelle 3-5: Vergleich der funktionelle Gefäßdichte am Arm innerhalb der Frühgeborenenengruppe, zwischen Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht zwischen 1000 g und 1500 g einerseits und unter 1000 g andererseits (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test).

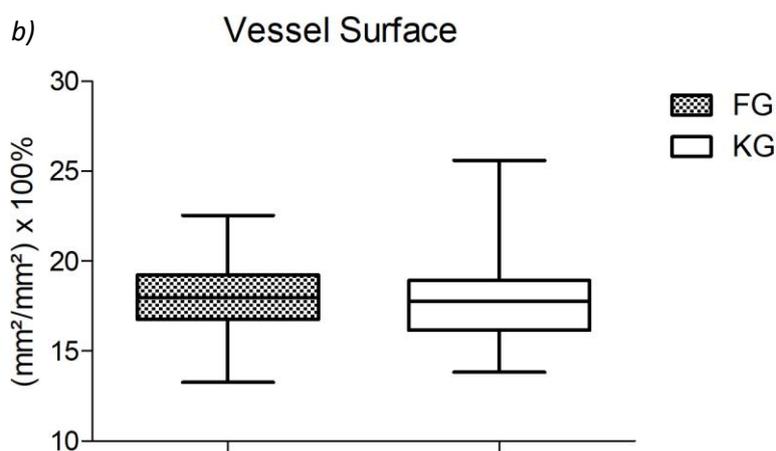
Frühgeborenenengruppe	1000 - 1500 g (n = 10)	< 1000 g (n = 8)	Signifikanz- niveau
FVD (mm/mm ²)	4,7 \pm 0,8	4,6 \pm 1,0	n.s.

3.4.2 Mikrozirkulation am Ohr

Am Ohr ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den ehemals frühgeborenen Kindern (Frühgeborenenengruppe) und den ehemals reifgeborenen Kindern (Kontrollgruppe). Die Werte für die funktionelle Gefäßdichte (FVD in mm/mm²), -länge (Vessel Length in mm) und -fläche (Vessel Surface in mm²/mm² x 100%) innerhalb der Frühgeborenenengruppe waren jedoch tendenziell ebenfalls niedriger, als innerhalb der Kontrollgruppe.

Abbildung 3-10: Funktionelle Gefäßdichte (a) und -fläche (b) am Ohr, Vergleich zwischen FG und KG





Bezüglich der prozentualen Anteile der verschiedenen Gefäßdurchmesser zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Details sind in Tabelle 3-6 dargestellt.

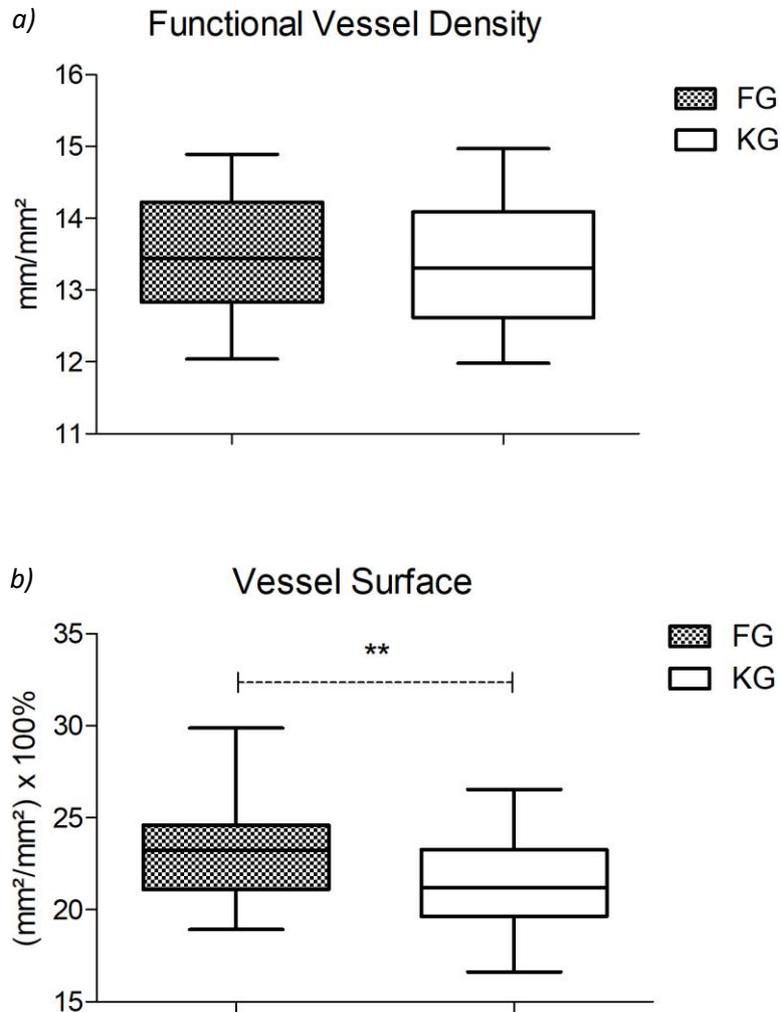
Tabelle 3-6: Parameter der Mikrozirkulation am Ohr (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test und Mann-Whitney-U-Test)

Parameter	Frühgeborenen- gruppe ($n=24$)	Kontrollgruppe ($n=38$)	Signifikanz- niveau
FVD (mm/mm^2)	$9,7 \pm 0,7$	$9,9 \pm 0,8$	n.s.
Vessel Length (mm)	$7,3 \pm 0,6$	$7,5 \pm 0,6$	n.s.
Vessel Surface ($\text{mm}^2/\text{mm}^2 \times 100\%$)	$18,1 \pm 2,1$	$18,1 \pm 2,8$	n.s.
Anteil Gefäße mit $d = 0-10 \mu\text{m}$ (%)	$8,6 \pm 5,1$	$10 \pm 4,6$	n.s.
Anteil Gefäße mit $d = 10-20 \mu\text{m}$ (%)	$56,7 \pm 7,8$	$56,7 \pm 9,1$	n.s.
Anteil Gefäße mit $d = 20-30 \mu\text{m}$ (%)	$25,5 \pm 6,8$	$24,3 \pm 7,0$	n.s.
Anteil Gefäße mit $d = 30-40 \mu\text{m}$ (%)	$7,0 \pm 3,8$	$6,8 \pm 4,2$	n.s.

3.4.3 Mikrozirkulation an der Lippe

An der Lippe ergaben sich für die Frühgeborenen-Gruppe signifikant ($p < 0,01$, unpaired t-test) höhere Werte bezüglich der Gefäßoberfläche (Vessel Surface in $\text{mm}^2/\text{mm}^2 \times 100\%$). Die Werte für die funktionelle Gefäßdichte (FVD in mm/mm^2) und -länge (Vessel Length in mm) unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen.

Abbildung 3-11: Funktionelle Gefäßdichte (a) und -fläche (b) an der Lippe, Vergleich zwischen FG und KG



An der Lippe zeigten sich außerdem signifikante Unterschiede bezüglich der Größenverteilung der Gefäße. So fanden sich innerhalb der Frühgeborenenengruppe signifikant niedrigere Werte für den Anteil kleiner Gefäße unter 20 μm Durchmesser, sowie signifikant höhere Werte für den Anteil der Gefäße über 20 μm bis 40 μm Durchmesser, im Vergleich zur Kontrollgruppe (siehe Abb. 3-12). Details bezüglich aller Parameter sind in Tabelle 3-7 dargestellt.

Abbildung 3-12: Prozentuale Verteilung der Gefäßdurchmesser (Vessel Diameter) an der Lippe, Vergleich zwischen FG und KG

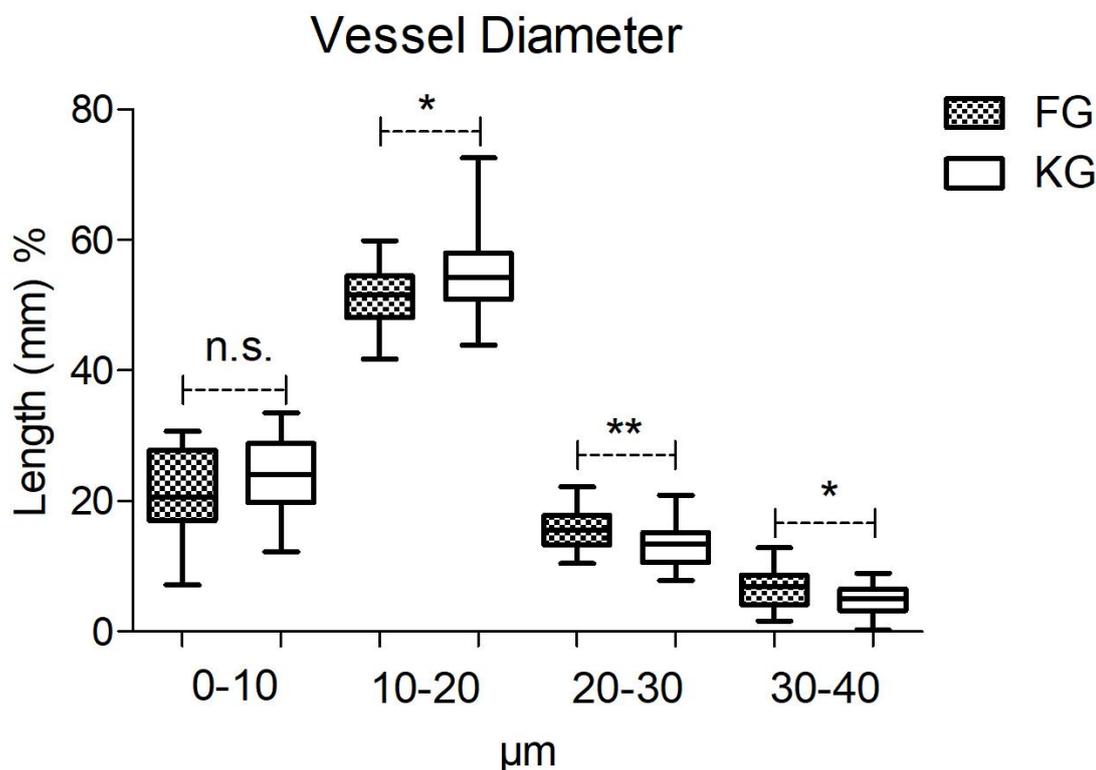


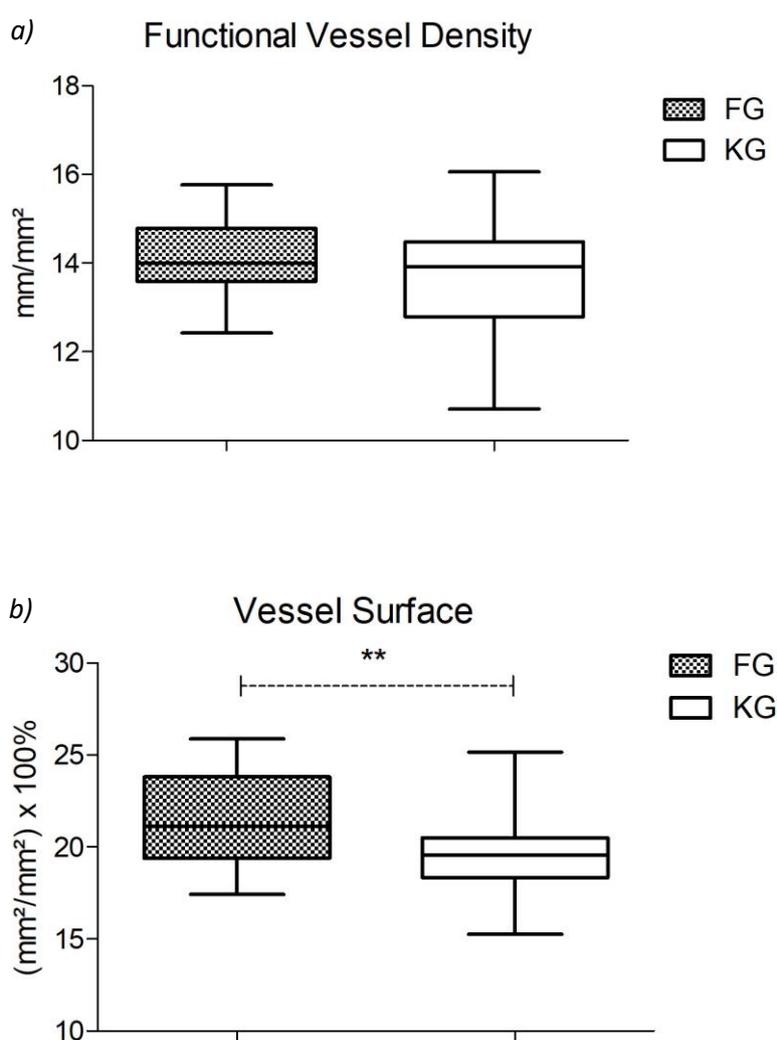
Tabelle 3-7: Parameter der Mikrozirkulation an der Lippe (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test und Mann-Whitney-U-Test)

Parameter	Frühgeborenen- gruppe ($n=22$)	Kontrollgruppe ($n=43$)	Signifikanz- niveau
FVD (mm/mm^2)	$13,6 \pm 0,8$	$13,4 \pm 0,8$	n.s.
Vessel Length (mm)	$10,2 \pm 0,7$	$10,1 \pm 0,7$	n.s.
Vessel Surface ($\text{mm}^2/\text{mm}^2 \times 100\%$)	$23,4 \pm 2,8$	$21,3 \pm 2,2$	$p = 0,002$
Anteil Gefäße mit $d = 0-10 \mu\text{m}$ (%)	$21,6 \pm 6,2$	$24,3 \pm 5,2$	n.s.
Anteil Gefäße mit $d = 10-20 \mu\text{m}$ (%)	$51,7 \pm 4,3$	$54,5 \pm 5,6$	$p = 0,05$
Anteil Gefäße mit $d = 20-30 \mu\text{m}$ (%)	$15,8 \pm 3,4$	$13,1 \pm 3,1$	$p = 0,002$
Anteil Gefäße mit $d = 30-40 \mu\text{m}$ (%)	$6,8 \pm 3,1$	$5,0 \pm 1,9$	$p = 0,007$

3.4.4 Mikrozirkulation an der Zunge

An der Zunge ergaben sich für die Frühgeborenenengruppe ebenfalls signifikant ($p < 0,001$, unpaired t -test) höhere Werte bezüglich der Gefäßoberfläche (Vessel Surface in $\text{mm}^2/\text{mm}^2 \times 100\%$). Innerhalb der Werte der funktionellen Gefäßdichte (FVD in mm/mm^2) und -länge (Vessel Length in mm) unterschieden sich die Gruppen nicht signifikant.

Abbildung 3-13: Funktionelle Gefäßdichte (a) und -fläche (b) an der Zunge, Vergleich zwischen FG und KG



Bezüglich der prozentualen Verteilung der verschiedenen Gefäßgrößen fanden sich an der Zunge keine signifikanten Unterschiede. Die Parameter sind nochmals detailliert in Tabelle 3-8 aufgeführt.

Tabelle 3-8: Parameter der Mikrozirkulation an der Zunge (Mittelwert \pm SD, statistischer Test: unpaired t-test und Mann-Whitney-U-Test)

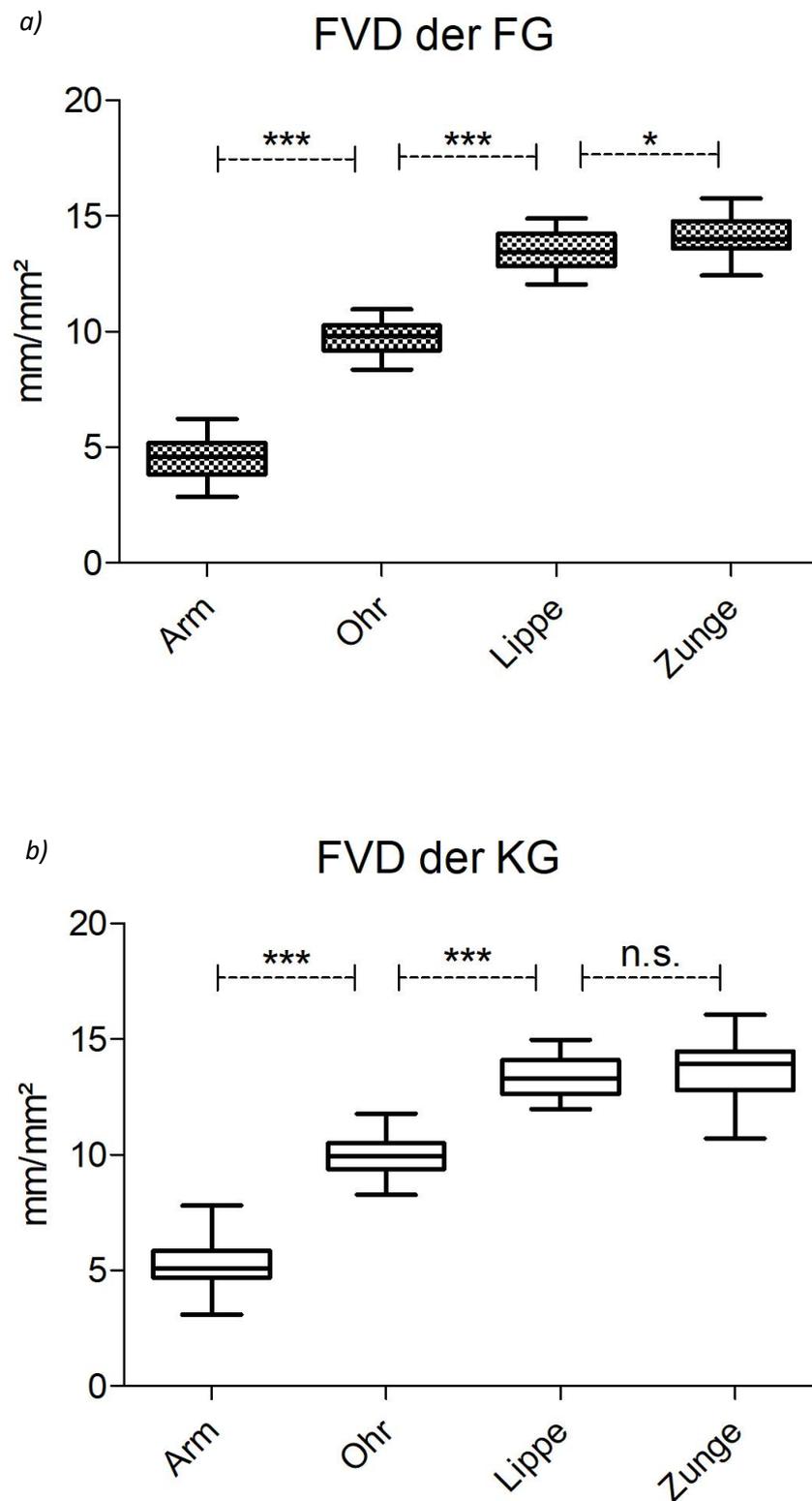
Parameter	Frühgeborenen- gruppe ($n=24$)	Kontrollgruppe ($n=42$)	Signifikanz- niveau
FVD (mm/mm^2)	14,1 \pm 0,9	13,7 \pm 1,2	n.s.
Vessel Length (mm)	10,9 \pm 0,8	10,6 \pm 0,9	n.s.
Vessel Surface ($\text{mm}^2/\text{mm}^2 \times 100\%$)	21,4 \pm 2,4	19,5 \pm 1,9	$p = 0,0007$
Anteil GefäÙe mit $d = 0-10 \mu\text{m}$ (%)	31,1 \pm 8,1	33,1 \pm 8,1	n.s.
Anteil GefäÙe mit $d = 10-20 \mu\text{m}$ (%)	49,2 \pm 6,7	50,0 \pm 6,8	n.s.
Anteil GefäÙe mit $d = 20-30 \mu\text{m}$ (%)	12,5 \pm 3,6	11,6 \pm 3,5	n.s.
Anteil GefäÙe mit $d = 30-40 \mu\text{m}$ (%)	4,6 \pm 2,1	3,8 \pm 1,9	n.s.

3.4.5 Unterschiede der funktionellen GefäÙdichte an den verschiedenen Messorten innerhalb der Gruppen

Es fanden sich teilweise deutliche Unterschiede bezüglich der funktionellen GefäÙdichte zwischen den einzelnen Messorten innerhalb der Gruppen. Abgesehen von den Messungen der FVD an der Mundschleimhaut (Lippe und Zunge), unterschieden sich alle anderen Werte deutlich signifikant (jeweils $p < 0,001$, unpaired t -test) im Vergleich zwischen den einzelnen Messorten. Am Unterarm war die funktionelle GefäÙdichte in beiden Gruppen am niedrigsten, gefolgt von der FVD am Ohr, welche signifikant höher lag. In der Mundschleimhaut war die funktionelle GefäÙdichte nochmals signifikant ($p < 0,001$, unpaired t -test im Vergleich zur FVD an Arm und Ohr) größer.

Bezüglich der Mundschleimhaut unterschied sie sich in der Kontrollgruppe nicht weiter signifikant ($p = 0,14$, unpaired t -test) zwischen Lippe und Zunge. In der Frühgeborenenengruppe war dieser Unterschied der FVD zwischen Lippe und Zunge dagegen weiterhin signifikant ($p < 0,05$, unpaired t -test). Diese Ergebnisse sind in Abbildung 3-14 dargestellt.

Abbildung 3-14: Funktionelle Gefäßdichte an den verschiedenen Messorten der Frühgeborengruppe (a) und der Kontrollgruppe (b)



3.5 Mikrozirkulation während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss am Arm

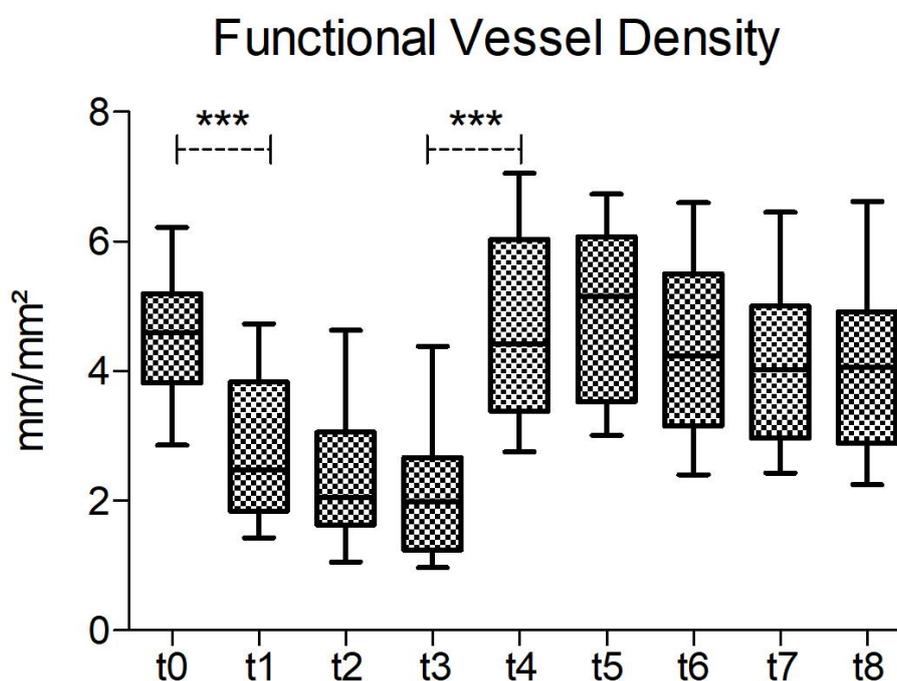
3.5.1 Funktionelle Gefäßdichte innerhalb der Gruppen

Frühgeborenengruppe

Während des arteriellen Verschlusses über 60 Sekunden nahm die funktionelle Gefäßdichte sofort nach Verschluss von t_0 (Ruhezustand) zu t_1 deutlich signifikant ($p < 0,001$, Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes) ab. Das Minimum wurde erst nach 50 Sekunden (t_3) erreicht, diese weitere Abnahme der funktionellen Gefäßdichte war jedoch nur noch gering und nicht mehr signifikant.

Mit Öffnung des Verschlusses stieg die funktionelle Gefäßdichte innerhalb von 10 Sekunden (von t_3 zu t_4) durch eine physiologische reaktive Hyperämie wiederum deutlich signifikant ($p < 0,001$, Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes) an. Das Maximum wurde allerdings erst 30 Sekunden (t_5) nach Öffnung des Verschlusses erreicht. Dieser weitere Anstieg war jedoch nicht signifikant. Im Anschluss sank die funktionelle Gefäßdichte zwischen t_5 und t_6 wieder sichtbar ab (nicht signifikant) und blieb dann recht stabil auf einem Niveau, welches schließlich etwas niedriger lag, als in der Ausgangslage (t_0). Dieser Verlauf ist in Abbildung 3-15 ersichtlich.

Abbildung 3-15: Funktionelle Gefäßdichte während (t_1 -3) und nach (t_4 -8) arteriellem Verschluss in der Frühgeborenengruppe

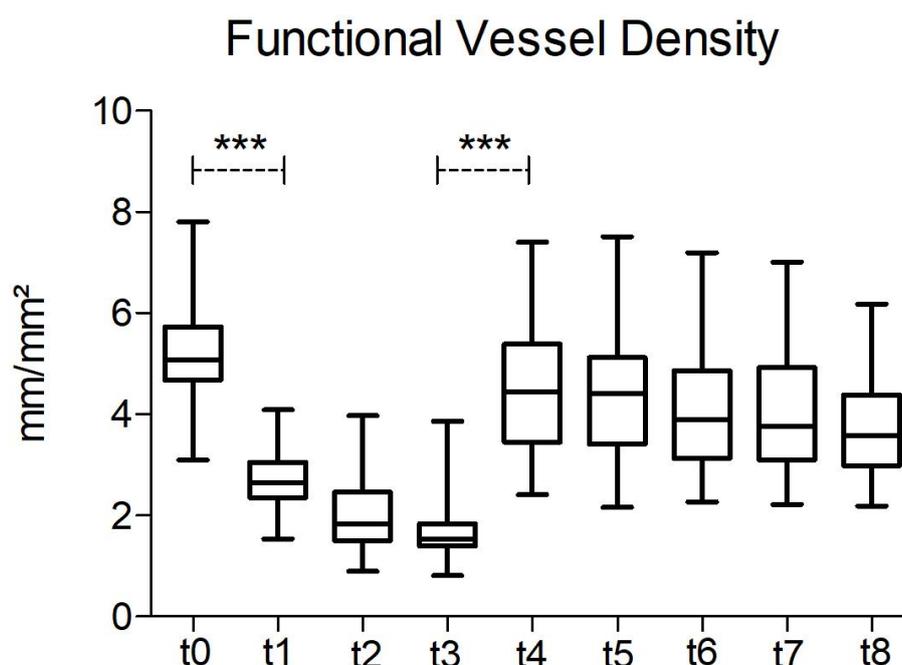


Kontrollgruppe

Auch in der Kontrollgruppe sank die funktionelle Gefäßdichte direkt zu Beginn des arteriellen Verschlusses (zwischen $t0$ und $t1$) am stärksten ($p < 0,001$, Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes). In der Kontrollgruppe nahm die funktionelle Gefäßdichte während des arteriellen Verschlusses auch im Verlauf noch weiterhin etwas deutlicher ab, jedoch nicht signifikant (Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test). Das Minimum wurde auch hier zum Zeitpunkt $t3$, nach 50 Sekunden, erreicht.

Nach Öffnung des Verschlusses stieg die funktionelle Gefäßdichte innerhalb der ersten 10 Sekunden (von $t3$ zu $t4$) sehr stark an ($p < 0,001$, Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test) und erreichte in der Kontrollgruppe nach 10 Sekunden schon ihr Maximum im Rahmen der reaktiven Hyperämie. Im Anschluss sank die funktionelle Gefäßdichte langsam wieder ab. Es ergab sich keine weitere signifikante Veränderung im Verlauf (zwischen $t4$ und $t8$). Zum letzten Messzeitpunkt ($t8$) lag die funktionelle Gefäßdichte deutlich signifikant unter dem Ausgangsniveau ($t0$) ($p < 0,001$, Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes).

Abbildung 3-16: Funktionelle Gefäßdichte während ($t1-3$) und nach ($t4-t8$) arteriellem Verschluss in der Kontrollgruppe



3.5.2 Entwicklung der Gefäßverteilung bezüglich des Durchmessers

In beiden Gruppen nahm der prozentuale Anteil sehr kleiner Gefäße mit einem Durchmesser von 0-10 μm während des kurzfristigen arteriellen Verschlusses zu. Diese Zunahme war in beiden

Gruppen zwischen dem Anteil im Ruhezustand (t_0) und dem maximalen Anteil während des Verschlusses (t_3) signifikant mit $p < 0,01$ in der Frühgeborenenengruppe (Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test) und $p < 0,001$ in der Kontrollgruppe (Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes).

Nach Beendigung des Verschlusses sank der Anteil der kleinsten Gefäße wieder ab. In der Frühgeborenenengruppe wurde das Minimum dieses Anteils 30 Sekunden nach Öffnung des Verschlusses (t_5) erreicht. Die Abnahme zwischen Maximum (t_3) und Minimum (t_5) war signifikant mit $p < 0,01$ (Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes). In der Kontrollgruppe nahm der Anteil der kleinsten Gefäße bis zehn Sekunden nach Öffnung des Verschlusses (t_4) tendenziell stärker ab, als in der Frühgeborenenengruppe, sank dann jedoch leicht weiter ab und erreichte sein Minimum erst nach 60 Sekunden (t_6). Hier ist der Unterschied zwischen Maximum (t_3) und Minimum (t_6) ebenfalls signifikant mit $p < 0,01$ (Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes). Im Anschluss stieg der Anteil in beiden Gruppen wieder an und blieb dann etwa auf einem Niveau.

Im direkten Vergleich zwischen beiden Gruppen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Anteile der kleinsten Gefäße zu den verschiedenen Zeitpunkten (unpaired t -test und Mann-Whitney-U-Test).

Abbildung 3-17: Prozentuale Anteile der Gefäße mit einem Durchmesser von 0-10 μm zu den verschiedenen Messzeitpunkten innerhalb der **Frühgeborenenengruppe**

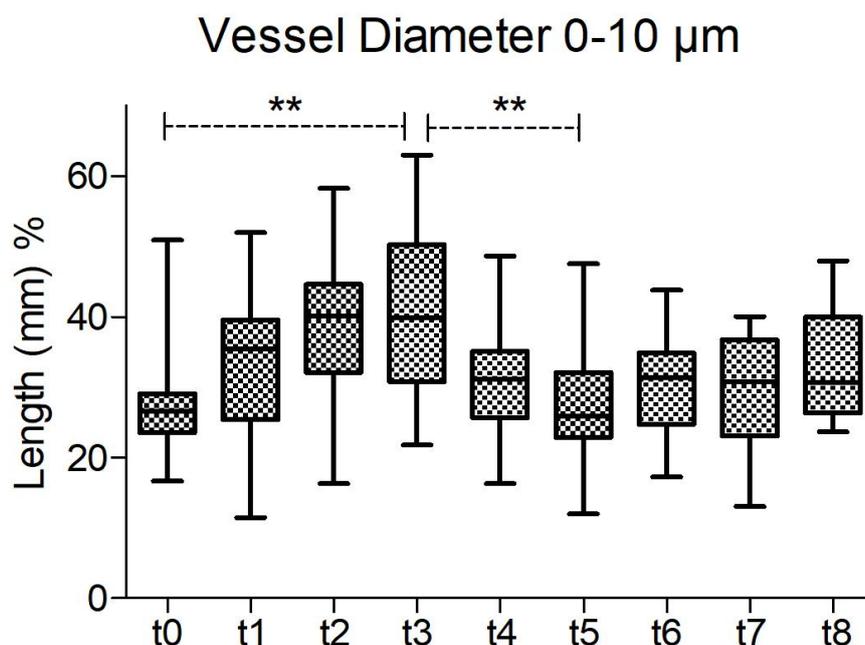
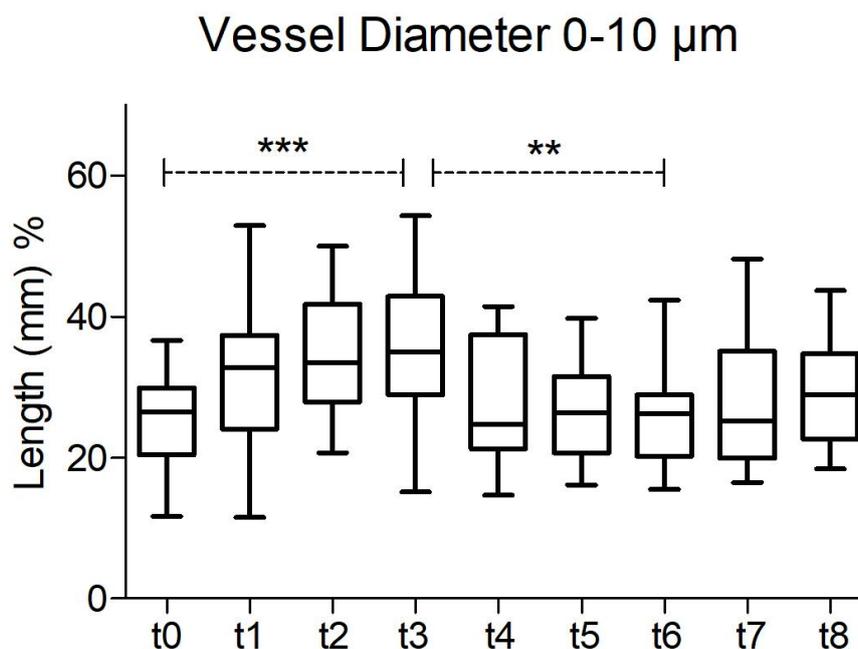


Abbildung 3-18: Prozentuale Anteile der Gefäße mit einem Durchmesser von 0-10 μm zu den verschiedenen Messzeitpunkten innerhalb der **Kontrollgruppe**



Der prozentuale Anteil der Gefäße mit einem Durchmesser zwischen 10-20 μm und 20-30 μm verhielt sich gegensätzlich. Hier fand sich in beiden Gruppen während des arteriellen Verschlusses eine Abnahme des prozentualen Anteils. In der Frühgeborenenengruppe zeigte sich eine signifikante ($p < 0,05$, Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test) Abnahme des Anteils der Gefäße zwischen 10 und 20 μm zwischen dem Ruhezustand ($t0$) und dem Minimum ($t3$) während des Verschlusses. In der Kontrollgruppe war diese Abnahme ebenfalls erkennbar (Minimum zum Zeitpunkt $t2$), jedoch nicht signifikant.

Nach Beendigung des Verschlusses stieg der prozentuale Anteil wieder an. Die Zunahme zwischen dem Minimum des prozentualen Anteils der Gefäße zwischen 10 und 20 μm während des Verschlusses (Frühgeborenenengruppe: $t3$, Kontrollgruppe: $t2$) und dem Maximum nach Beendigung des Verschlusses (Frühgeborenenengruppe: $t5$, Kontrollgruppe: $t6$) war in beiden Gruppen signifikant. In der Frühgeborenenengruppe deutlicher mit $p < 0,001$ (Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes), in der Kontrollgruppe mit $p < 0,01$ (Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test). Die Veränderung bezüglich des prozentualen Anteils der Gefäße mit einem Durchmesser zwischen 20 und 30 μm verhielt sich ähnlich, hier waren diese Veränderungen jedoch nicht signifikant.

Abbildung 3-19: Prozentuale Anteile der Gefäße mit einem Durchmesser von 10-20 μm zu den verschiedenen Messzeitpunkten innerhalb der **Frühgeborenenengruppe**

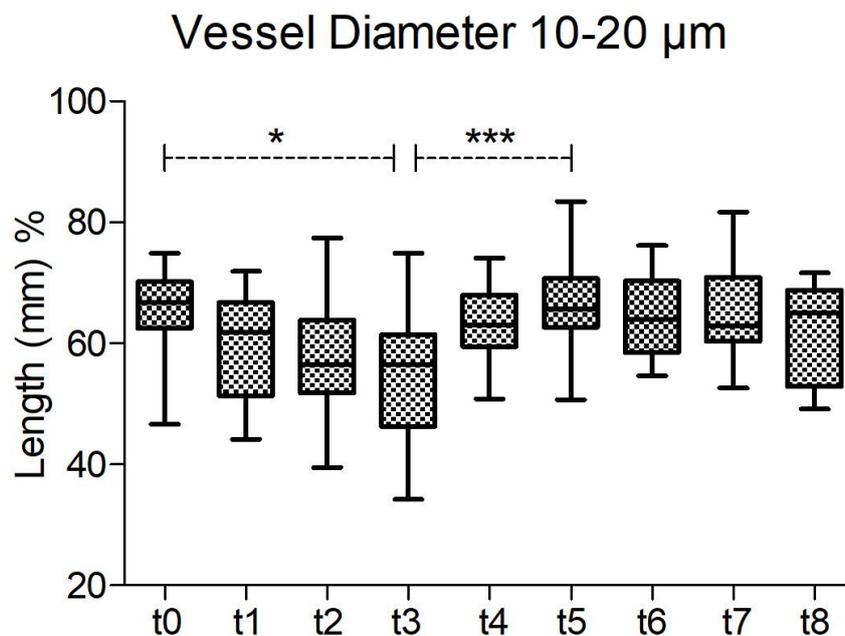
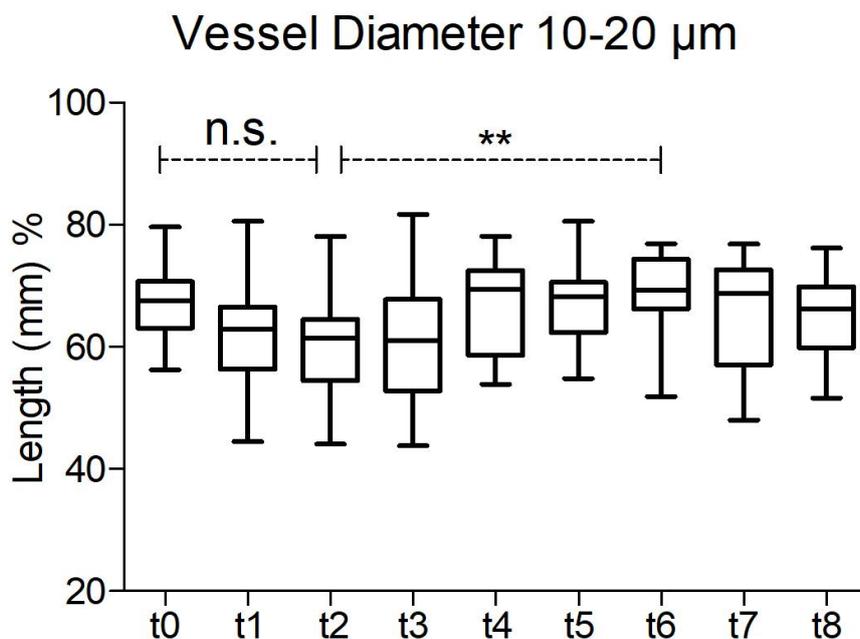


Abbildung 3-20: Prozentuale Anteile der Gefäße mit einem Durchmesser von 10-20 μm zu den verschiedenen Messzeitpunkten innerhalb der **Kontrollgruppe**



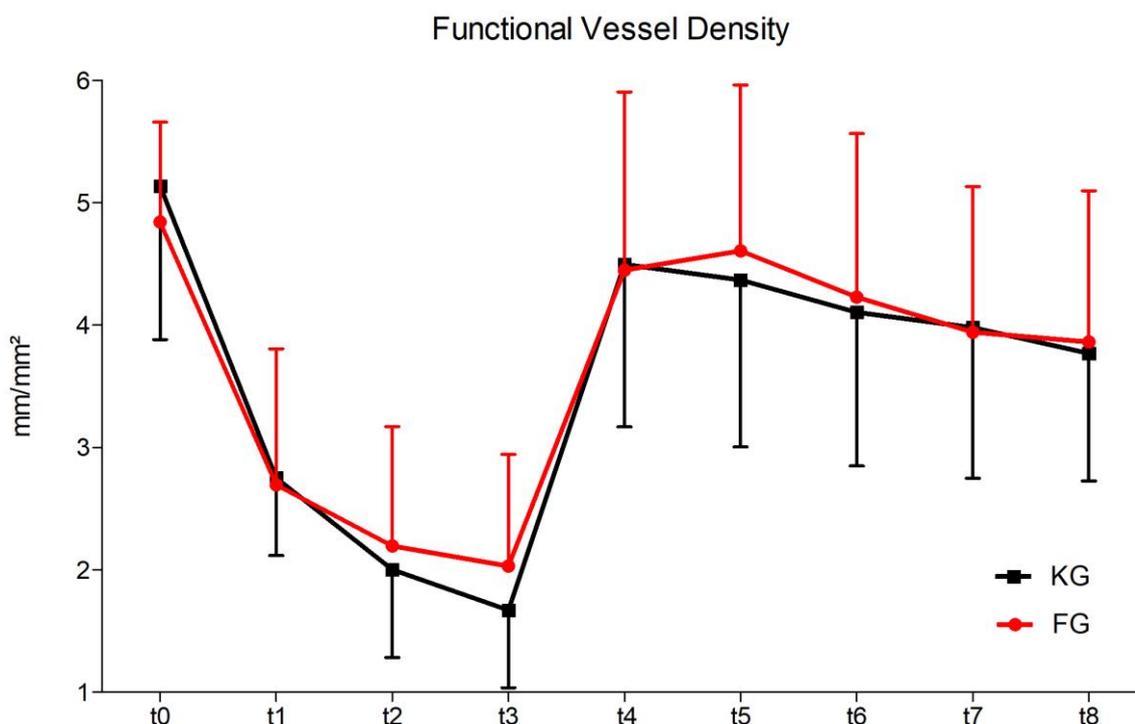
Der direkte Vergleich der prozentualen Anteile der unterschiedlichen Gefäßdurchmesser zu den verschiedenen Zeitpunkten zeigte zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede (unpaired t -test und Mann-Whitney-U-Test).

3.5.3 Funktionelle Gefäßdichte im Vergleich zwischen den Gruppen

Funktionelle Gefäßdichte zu den einzelnen Messzeitpunkten im Vergleich

Bezüglich der absoluten Werte der funktionellen Gefäßdichte zu den einzelnen Messzeitpunkten während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes und Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test). In Abbildung 3-21 ist der Verlauf der funktionellen Gefäßdichte für beide Gruppen graphisch dargestellt.

Abbildung 3-21: Funktionelle Gefäßdichte im Verlauf für beide Gruppen (Mittelwerte mit SD)



Im Ruhezustand (t_0) war die funktionelle Gefäßdichte der Kontrollgruppe tendenziell größer als diese der Frühgeborenengruppe, während die minimale funktionelle Gefäßdichte während des arteriellen Verschlusses (t_3) in der Kontrollgruppe niedriger war.

Zehn Sekunden nach Öffnung des arteriellen Verschlusses (t_4) lag die funktionelle Gefäßdichte in beiden Gruppen sehr nah beieinander. In der Kontrollgruppe sank die funktionelle Gefäßdichte bis zum nächsten Messzeitpunkt, 30 Sekunden nach Beendigung des Verschlusses (t_5), wieder ab. In der Frühgeborenengruppe hatte der Wert bis zu diesem Zeitpunkt nochmals zugenommen, bis die funktionelle Gefäßdichte danach ebenfalls wieder abnahm (t_6). Zum letzten Messzeitpunkt (t_8),

Ergebnisse

180 Sekunden nach Öffnung des Verschlusses, lag die funktionelle Gefäßdichte in beiden Gruppen wiederum sehr nah beieinander, die Frühgeborenengruppe zeigte hier jedoch tendenziell eine etwas größere funktionelle Gefäßdichte (im Gegensatz zum Ruhezustand (t_0)). Detaillierte Werte sind in Tabelle 3-9 dargestellt.

Tabelle 3-9: Funktionelle Gefäßdichte während und nach arteriellem Verschluss im Vergleich zwischen Frühgeborenengruppe und Kontrollgruppe (Mittelwerte in $\text{mm}/\text{mm}^2 \pm \text{SD}$, Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes und Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test)

Messzeitpunkt	FVD Frühgeborene ($n = 14$)	FVD Kontrollgruppe ($n = 21$)	Signifikanz- niveau
Ruhezustand: t_0	$4,5 \pm 0,9$	$5,3 \pm 1,0$	n.s.
	($n = 23$)	($n = 41$)	
Verschluss: t_1	$2,8 \pm 1,1$	$2,8 \pm 0,6$	n.s.
t_2	$2,3 \pm 1,0$	$2,0 \pm 0,7$	n.s.
t_3	$2,1 \pm 1,0$	$1,7 \pm 0,6$	n.s.
nach Verschluss: t_4	$4,8 \pm 1,4$	$4,5 \pm 1,3$	n.s.
t_5	$4,9 \pm 1,3$	$4,4 \pm 1,3$	n.s.
t_6	$4,3 \pm 1,3$	$4,1 \pm 1,3$	n.s.
t_7	$4,0 \pm 1,2$	$4,0 \pm 1,2$	n.s.
t_8	$4,0 \pm 1,2$	$3,8 \pm 1,0$	n.s.

Prozentuale Veränderung der funktionellen Gefäßdichte zwischen den Messzeitpunkten im Vergleich

Im Folgenden soll nun das Augenmerk weg von den absoluten Werten zu den einzelnen Messzeitpunkten, hin zu den relativen Veränderungen (in Prozent) zwischen den Messzeitpunkten gerichtet und diese zwischen den Gruppen (mittels Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes und Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test) verglichen werden.

Zu Beginn des Verschlusses (zwischen t_0 und t_1) nahm die funktionelle Gefäßdichte prozentual in beiden Gruppen fast identisch stark ab. In der Frühgeborenengruppe war die weitere prozentuale Abnahme (t_1 zu t_2 , t_2 zu t_3) jedoch deutlich geringer als in der Kontrollgruppe. Diese Unterschiede waren in der Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur nicht signifikant, die Tendenzen können jedoch durch die Werte in Tabelle 3-10 nachvollzogen werden.

Ergebnisse

Bei Öffnung des arteriellen Verschlusses (zwischen $t3$ und $t4$) fand sich in der Kontrollgruppe eine größere prozentuale Zunahme der funktionellen Gefäßdichte (nicht signifikant, Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test). Hier wurde das Maximum der funktionellen Gefäßdichte schon nach zehn Sekunden ($t4$) erreicht. In der Frühgeborenengruppe nahm die funktionelle Gefäßdichte ebenfalls direkt nach Öffnung des Verschlusses (zwischen $t3$ und $t4$) am stärksten zu, allerdings weniger stark als in der Kontrollgruppe. In dieser Gruppe war das Maximum nach zehn Sekunden ($t4$) noch nicht erreicht. Die funktionelle Gefäßdichte nahm weiter zu und erreichte ihr Maximum erst 30 Sekunden nach Öffnung des Verschlusses ($t5$). Die Gruppe der ehemals Frühgeborenen zeigte also eine langsamere Zunahme der funktionellen Gefäßdichte nach Öffnung des arteriellen Verschlusses. Die gesamte prozentuale Zunahme der funktionellen Gefäßdichte zwischen Minimum ($t3$) und Maximum (Frühgeborenengruppe: $t5$, Kontrollgruppe: $t4$) unterschied sich ebenfalls nicht signifikant (Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test), war jedoch in der Kontrollgruppe tendenziell größer. Details zur prozentualen Veränderung der funktionellen Gefäßdichte sind in Tabelle 3-10 dargestellt.

Tabelle 3-10: Prozentuale Veränderung der funktionellen Gefäßdichte zwischen den Messzeitpunkten, Vergleich zwischen beiden Gruppen (Mittelwerte in Prozent \pm SD, Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p-Wertes und Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test)

Messzeitpunkte	Frühgeborene FVD-Differenz in Prozent	Kontrollgruppe FVD-Differenz in Prozent	Signifikanz- niveau
$t0 - t1$	-44,0 \pm 21,0 ($n = 16$)	-43,6 \pm 11,2 ($n = 22$)	n.s.
$t1 - t2$	-19,0 \pm 11,9 ($n = 16$)	-26,9 \pm 17,3 ($n = 23$)	n.s.
$t2 - t3$	-7,3 \pm 9,4 ($n = 17$)	-16,4 \pm 12,6 ($n = 24$)	n.s.
$t3 - t4$	+145 \pm 122 ($n = 17$)	+187 \pm 90 ($n = 24$)	n.s.
$t4 - t5$	+5,9 \pm 17,9 ($n = 17$)	-2,3 \pm 12,5 ($n = 24$)	n.s.
$t5 - t6$	-11 \pm 11 ($n = 15$)	-6,5 \pm 11,2 ($n = 22$)	n.s.
$t6 - t7$	-6,0 \pm 6,9 ($n = 15$)	-2,7 \pm 7,8 ($n = 21$)	n.s.
$t7 - t8$	-2,4 \pm 5,7 ($n = 15$)	-4,3 \pm 7,0 ($n = 21$)	n.s.
Ruhe - Min	-57,7 \pm 4,0 ($n = 17$)	-66,3 \pm 9,8 ($n = 23$)	n.s.
Min - Max	+158 \pm 126 ($n = 17$)	+187 \pm 90 ($n = 24$)	n.s.

3.5.4 Veränderungen des MFI (mittlerer Flow Index) während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss

Entwicklung des MFI innerhalb der Gruppen

Innerhalb der Frühgeborenen-, als auch der Kontrollgruppe nimmt der MFI vom Ruhezustand bis zum Zeitpunkt $t1$, zehn Sekunden nach Beginn des arteriellen Verschlusses, deutlich signifikant ab, mit $p < 0,001$ (Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes). Die fortsetzende Abnahme bis zum nächsten Messzeitpunkt $t2$ ist ebenfalls in beiden Gruppen signifikant mit $p < 0,001$ (Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes), während die weitere Abnahme bis zum Messzeitpunkt $t3$, bei dem in beiden Gruppen das Minimum des MFI erreicht ist, nicht weiter signifikant ist (Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test). Nach Beendigung des arteriellen Verschlusses ($t4$) steigt der MFI sehr deutlich an, erneut signifikant mit $p < 0,001$ (Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test) in beiden Gruppen. Hier ist das Maximum des MFI erreicht, welcher höher liegt, als der MFI im Ruhezustand. In der Kontrollgruppe ist dieser Unterschied zwischen dem MFI nach Beendigung des arteriellen Verschlusses ($t4$) und dem MFI im Ruhezustand ($t0$) signifikant mit $p < 0,01$ (Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test). Im Anschluss nimmt der MFI langsam ab (nicht signifikant) und erreicht zum Zeitpunkt der letzten Messung ($t8$) in etwa wieder den Zustand in Ruhe. Die genauen Werte (mit Standardabweichung) des MFI zu den einzelnen Messzeitpunkten, können in Tabelle 3-11 nachvollzogen werden.

Vergleich des MFI zu den einzelnen Messzeitpunkten zwischen den Gruppen

Im Vergleich zwischen der Frühgeborenengruppe und der Kontrollgruppe, zeigt der MFI zu den einzelnen Messzeitpunkten keine signifikanten Unterschiede (Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p -Wertes und Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test). Tendenziell liegt der MFI in der Frühgeborenengruppe etwas niedriger als in der Kontrollgruppe. Eine detaillierte Darstellung der Werte, mit Standardabweichung und Signifikanzniveau, zu den einzelnen Messzeitpunkten ist in Tabelle 3-11 zu finden.

Tabelle 3-11: MFI zu den verschiedenen Messzeitpunkten, Vergleich zwischen beiden Gruppen (Mittelwerte in Prozent \pm SD, Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur des p-Wertes und Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Multiple Comparison Test)

Messzeitpunkt	Frühgeborene MFI	Kontrollgruppe MFI	Signifikanz- niveau
Ruhezustand: t_0	2,8 \pm 0,2 ($n = 23$)	2,9 \pm 0,1 ($n = 41$)	n.s.
Verschluss: t_1	0,7 \pm 0,4 ($n = 17$)	0,9 \pm 0,6 ($n = 24$)	n.s.
	0,2 \pm 0,2 ($n = 17$)	0,2 \pm 0,2 ($n = 24$)	n.s.
	0,03 \pm 0,08 ($n = 17$)	0,1 \pm 0,2 ($n = 24$)	n.s.
nach Verschluss: t_4	3,0 \pm 0,2 ($n = 17$)	3,1 \pm 0,2 ($n = 24$)	n.s.
t_5	3,0 \pm 0,1 ($n = 17$)	3,0 \pm 0,1 ($n = 24$)	n.s.
t_6	2,9 \pm 0,2 ($n = 15$)	3,0 \pm 0,1 ($n = 22$)	n.s.
t_7	2,8 \pm 0,3 ($n = 15$)	3,0 \pm 0,1 ($n = 21$)	n.s.
t_8	2,8 \pm 0,3 ($n = 15$)	3,0 \pm 0,1 ($n = 20$)	n.s.

4 Diskussion

4.1 Beurteilung der klinischen Daten

Die Patientendaten zeigen einen deutlich signifikanten Unterschied bezüglich des Gestationsalters, welches Voraussetzung für die Einteilung der beiden untersuchten Gruppen in ehemals sehr frühgeborene und ehemals reifgeborene Kinder war. Diese Einteilung der Gruppen bringt den ebenfalls signifikanten Unterschied des Geburtsgewichts mit sich, dessen Beeinflussung auf die Untersuchungsergebnisse ebenfalls untersucht und diskutiert wird.

Zum Messzeitpunkt unterschieden sich Größe, Gewicht, BMI, Herzfrequenz, Sauerstoffsättigung und systolischer Blutdruck nicht zwischen den beiden Gruppen.

Die aurikulär gemessene Körpertemperatur und der diastolische Blutdruck unterschieden sich signifikant. Bei den untersuchten ehemaligen Frühgeborenen fand sich eine niedrigere Körpertemperatur, sowie ein niedrigerer diastolischer Blutdruck.

4.2 Besteht eine Beeinträchtigung der Mikrozirkulation bei den ehemals frühgeborenen Kindern in Ruhe? Korreliert diese mit dem Geburtsgewicht?

In der Gruppe der ehemaligen Frühgeborenen, konnten wir eine signifikant niedrigere funktionelle Gefäßdichte am Unterarm finden. Auch am Ohr war diese tendenziell niedriger, jedoch nicht signifikant. Somit konnte hier eine Veränderung, in Form einer Rarefizierung der Gefäße, gezeigt werden. Eine weitere Korrelation zwischen dieser Veränderung und dem Gestationsgewicht der ehemals Frühgeborenen konnte nicht nachgewiesen werden. Es fand allerdings keine Untersuchung von reifgeborenen SGA-Kindern statt. Dadurch kann nur eine Aussage über frühgeborene Kinder mit niedrigem Geburtsgewicht getroffen werden.

Das Resultat steht im Einklang mit Untersuchungsergebnissen anderer Forschungsgruppen. So konnten beispielsweise BONAMY et al. eine erniedrigte funktionelle Dichte in der kutanen Mikrozirkulation sehr frühgeborener Kinder (< 30 SSW) zwischen 7 und 12 Jahren zeigen. Hier wurden die mikrozirkulatorischen Parameter mittels Intravitalmikroskopie vor und nach venösem Verschluss am Finger gemessen [100].

Dagegen konnten IRVING et al. in einer Untersuchung der Mikrozirkulation am Finger, ebenfalls mittels Intravitalmikroskopie, bei zum Untersuchungszeitpunkt 24-jährigen, keine Veränderung der funktionellen Gefäßdichte zeigen. Hier wurde jedoch eine Korrelation mit dem Geburtsgewicht untersucht. Ein niedriges Geburtsgewicht steht zwar häufig im Zusammenhang mit Frühgeburtlichkeit, jedoch wurden in dieser Studie nur ehemals Frühgeborene mit einem Gestationsalter über 30 SSW untersucht, deren Resultate sich nochmals deutlich von Frühgeborenen mit einem Gestationsalter unter 30 SSW unterscheiden könnten. Hier fiel dafür eine Erhöhung des Blutdrucks im Zusammenhang mit niedrigem Geburtsgewicht auf, unabhängig davon, ob dies durch Frühgeburtlichkeit oder durch intrauterine Wachstumsretardierung bedingt war [26]. Dieser mögliche Zusammenhang wird in Kapitel 4.3 diskutiert.

GOH et al. untersuchten die Mikrozirkulation bei reif geborenen Säuglingen im Alter von 3 Monaten. Auch in dieser Studie wurde die Mikrozirkulation im Zusammenhang mit dem Geburtsgewicht untersucht. Sie konnten ebenfalls keine verminderte funktionelle Gefäßdichte (Messung am Fuß) in Abhängigkeit vom Geburtsgewicht finden, wobei dieses Resultat von GOH et al. selbst kritisch diskutiert wird, da die Messbedingungen nicht ideal gewesen seien. In dieser Studie wurden Säuglinge mit LQBW (lowest quartile birth weight: Geburtsgewicht < 25. Perzentile) (hier im Mittel

3140 g) mit Säuglingen mit HQBW (highest quartile birth weight: Geburtsgewicht > 75. Perzentile) (hier im Mittel 3920 g) verglichen. Unsere Gruppe der ehemals Frühgeborenen weist im Mittel ein sehr viel niedrigeres Geburtsgewicht (1174 g) auf. Kinder mit einem solch niedrigen Geburtsgewicht, wurden somit von GOH et al. nicht untersucht. Sie konnten dennoch eine Einschränkung der Vasodilatation bei Säuglingen mit niedrigerem Geburtsgewicht zeigen [101].

Fraglich ist jedoch generell die Vergleichbarkeit der Ergebnisse der anderen Studiengruppen mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, aufgrund der unterschiedlichen Messmethoden und Messorte. Die verschiedenen Techniken haben jeweils andere Eindringtiefen und messen dadurch in unterschiedlich tiefen Gewebeschichten. Beispielsweise kam es bei Patienten mit systemischer Sklerodermie in Abhängigkeit der Technik, auf der einen Seite mittels Laser-Doppler-Bildgebung, auf der anderen Seite anhand Nagelfalz-Kapillarmikroskopie, zu unterschiedlichen Ergebnissen, da jeweils andere Schichten im Kapillarbett gemessen werden [102].

Die OPS-Bildgebung und die Nagelfalz-Mikroskopie sowie OPS- und SDF-Bildgebung wurden allerdings in verschiedenen Studien gegenübergestellt. Hier konnte in beiden Fällen eine Vergleichbarkeit bestätigt werden [92, 94].

Eine vergleichbare Untersuchung der kutanen Mikrozirkulation wurde von LEE et al. durchgeführt, bei welcher dieselbe Methodik (SDF-Imaging) verwendet wurde und ebenfalls Messungen am Unterarm vorgenommen wurden. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie stehen jedoch im Gegensatz zu den Resultaten von LEE et al.. LEE et al. konnte eine signifikant erhöhte funktionelle Gefäßdichte bei ehemals sehr frühgeborenen Kindern am Unterarm zeigen. Unterschiede zwischen den Studien sind zum einen eine deutlich kleinere Kontrollgruppe von nur 12 Kindern in der Studie von LEE et al., im Gegensatz zu einer Anzahl von 47 Kindern in unserer Studie. Außerdem wurde bei jedem Kind nur eine Messung in Ruhe durchgeführt, sodass jeweils nur ein Wert in die statistische Auswertung einging. In der vorliegenden Studie wurde dagegen ein Mittelwert aus jeweils drei Messungen gebildet und statistisch ausgewertet. Die Studie von LEE et al. kann dagegen eine deutlich größere Anzahl von 47 untersuchten ehemals sehr frühgeborenen Kindern vorweisen, in diese Gruppe konnten hier nur 24 Kinder eingeschlossen werden [103]. Eine eindeutige Erklärung für die abweichenden Resultate konnte jedoch bisher nicht gefunden werden.

Es wird weiterhin diskutiert, ob die gefundenen Veränderungen der kutanen Mikrozirkulation, als generelles vaskuläres Phänomen zu betrachten sind, und somit auch die Mikrozirkulation in anderen Geweben und Organen beeinträchtigt ist. So könnte eine verminderte Mikrozirkulation im Muskel zu einer Einschränkung des metabolischen Stoffwechsels und dadurch unter anderem zu

einer verminderten Insulinsensitivität führen. Ein Zusammenhang zwischen einem niedrigen Geburtsgewicht, sowie Frühgeburtlichkeit, und der Entstehung von Diabetes mellitus, konnte bereits gefunden werden [32-34, 104]. Dies könnte darauf hinweisen, dass es sich um eine generelle vasculäre Beeinträchtigung handelt.

Im Folgenden sollen nun mögliche Gründe für die gefundene erniedrigte funktionelle Gefäßdichte erörtert werden.

Das zweite Schwangerschafts-Trimenon ist gekennzeichnet durch ein schnelles fetales Wachstum und eine rasche Organentwicklung, welche einen ebenfalls zügigen Ausbau des kapillären Netzwerks erfordert. Viele der sehr frühgeborenen Kinder leiden in dieser empfindlichen Entwicklungsphase unter Infektionen, Hypoxie und Stress, welche diesen Ausbau beeinträchtigen könnten. Während reifgeborene Kinder diese empfindliche Phase der Entwicklung intrauterin in einem geschützten Rahmen unter weitgehend stabilen Bedingungen verbringen, müssen sich Frühgeborene schon zu diesem Zeitpunkt an die extrauterinen Bedingungen anpassen. So sind sie einer plötzlichen Änderung des Sauerstoffpartialdrucks von 40-45 mmHg intrauterin auf 100 mmHg extrauterin ausgesetzt, was ebenfalls die Gefäßentwicklung beeinflussen könnte. Viele Frühgeborene werden nach der Geburt beatmet und sind hohen Sauerstoffkonzentrationen und -schwankungen ausgesetzt. Aus einer chronischen Hyperoxygenierung könnte ebenfalls eine beeinträchtigte Gefäßentwicklung resultieren [105]. Eine weitere Hauptursache für Frühgeburtlichkeit stellt die mütterliche Präeklampsie dar, welche durch eine mikrovaskuläre Einschränkung und kapilläre Veränderungen der Plazenta gekennzeichnet ist. Somit könnte in diesen Fällen die Gefäßentwicklung schon bereits vor der Geburt eingeschränkt werden.

Fraglich ist weiterhin, ob die gezeigte Erniedrigung der funktionellen Gefäßdichte auch mit einer strukturellen Erniedrigung einhergeht. Diese Frage wird in Kapitel 4.3 nochmals aufgegriffen.

4.3 Frühgeburtlichkeit und Einschränkungen der Mikrozirkulation im Zusammenhang mit arterieller Hypertonie

Ein Zusammenhang zwischen essenzieller arterieller Hypertonie und einer Veränderung der Mikrozirkulation ist bereits mehrfach beschrieben. Viele Studien konnten eine verminderte funktionelle Gefäßdichte bei entsprechend erkrankten Patienten zeigen [9, 10, 55, 100, 106, 107]. ANTONIOS et al. fanden diese Veränderungen auch bereits in Frühstadien und sogar bei zum Untersuchungszeitpunkt gesunden Patienten mit genetischer Prädisposition [9, 55].

Zusätzlich konnte sowohl ein niedriges Geburtsgewicht als auch Frühgeburtlichkeit, in Zusammenhang mit einer Neigung zur Entwicklung einer essenziellen arteriellen Hypertonie gebracht werden [19, 23, 25-27, 29, 39, 100, 105].

Einen Zusammenhang zwischen niedrigem Geburtsgewicht und essenzieller arterieller Hypertonie konnten auch IRVING et al. zeigen, jedoch fanden sie keine Veränderung der Mikrozirkulation als möglichen zugrundeliegenden Mechanismus. Bei der Untersuchung von 6-16 jährigen Jungen mit niedrigem Geburtsgewicht und erhöhten Blutdruckwerten, wurde die Mikrozirkulation mittels Intravitalmikroskopie am rechten Zeigefinger gemessen [26].

In der vorliegenden Studie zeigten die ehemals frühgeborenen Kinder zum Zeitpunkt der Untersuchung keine signifikante Erhöhung des systolischen arteriellen Blutdrucks. Allerdings passt die gezeigte Erniedrigung der funktionellen Gefäßdichte zu der Theorie, dass diese mitverantwortlich für die Entstehung der essenziellen arteriellen Hypertonie sein könnte und die ehemals frühgeborenen Kinder somit ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung dieser Spätfolge tragen.

Eine Verminderung der Gefäßdichte könnte zu einem erhöhten Gefäßwiderstand und somit zu einer Erhöhung des Drucks führen.

Hier stellt sich weiterhin die Frage, ob es sich um eine funktionelle oder strukturelle Verminderung der Gefäßdichte handelt. Dies untersuchten SERNE et al. bei Patienten mit essenzieller Hypertonie. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die verminderte Gefäßdichte durch beides, zu ca. 38% funktionell und zu ca. 64% strukturell, bedingt ist [8].

Durch die vorliegende Studie kann diesbezüglich keine Aussage getroffen werden, da die SDF-Bildgebung nur perfundierte Gefäße visualisieren kann. Somit kann die absolute (strukturelle) Gefäßdichte nicht beurteilt werden. Aus diesem Grund ist stets nur die Rede von der funktionellen Gefäßdichte, welche aber eine strukturelle Beeinträchtigung nicht ausschließt.

Die Struktur und Funktion der Mikrozirkulation kann auf verschiedene Arten verändert sein. Zum einen kann die Mikrozirkulation durch eine verminderte Kapillardichte (kapilläre Rarefizierung) strukturell beeinträchtigt sein. Diese könnte sich laut Untersuchungen in zwei Phasen entwickeln. Durch eine funktionelle Veränderung kommt es in der ersten Phase zu einer Vasokonstriktion der Mikrogefäße, die bis zu einem Perfusionsstillstand führen kann. Es wird vermutet, dass dies Folge einer erhöhten Sensitivität auf vasokonstriktorische Stimuli sein könnte. In einer zweiten Phase verschwinden schließlich diese nicht-perfundierten Gefäße, es kommt also zu einer strukturellen Veränderung mit einer daraus resultierenden verminderten Kapillardichte. In dieser Phase kann selbst eine maximale Vasodilatation den Zustand nicht mehr kompensieren [60]. Zum anderen kann die Regulation der Vasomotorik beeinträchtigt sein, wodurch es zu vermehrter Vasokonstriktion und verminderter Vasodilatation kommen könnte. Außerdem könnten auf Ebene der

präkapillären Widerstandsgefäße anatomische Umstrukturierungen für eine Erhöhung des Verhältnisses zwischen Gefäßwand und Lumen verantwortlich sein [56].

Weiterhin ist fraglich, was in diesem Zusammenhang Ursache und Folge darstellt. In den Veränderungen der Mikrozirkulation könnte zum einen eine Ursache der essenziellen Hypertonie liegen, gleichzeitig könnten die Veränderungen jedoch auch Folge der Hypertonie sein. Vermutlich ist beides gleichermaßen zutreffend, da sich Blutdruck und Mikrozirkulation in beiden Richtungen beeinflussen können und somit ein Teufelskreis entsteht. Mikrovaskuläre Veränderungen können gering erhöhte Blutdruckwerte aufrechterhalten oder auch weiter erhöhen. So konnten bereits in Frühstadien der arteriellen Hypertonie mikrozirkulatorische Veränderungen gezeigt werden [9, 55]. Erhöhter Blutdruck führt wiederum dazu, dass der Kapillarwiderstand ansteigt, wodurch es zu einer weiteren Erhöhung des Blutdrucks kommt [56]. Diese gegenseitigen Einflüsse konnten anhand von Computersimulationen dargestellt werden. Diese zeigen, wie sich, bei einer zunächst geringfügigen Erhöhung des Blutdrucks, der Druck und Strömungswiderstand durch strukturelle Veränderungen weiter vergrößern. Durch die Dehnbarkeit der Gefäßwände, reagieren diese auf den erhöhten intraluminalen Druck mit einer Verringerung des Gefäßdurchmessers, woraus eine weitere Erhöhung des Gefäßdrucks folgt [108].

LEWANDOWSKI et al. untersuchten die Korrelation zwischen ehemals sehr frühgeborenen Erwachsenen mit arteriellem Bluthochdruck und einer Erhöhung antiangiogenetischer Faktoren im Blut (lösliches Endoglin, sFlt-1), welche eine Veränderung der Mikrozirkulation (Verminderung der Gefäßdichte) im Erwachsenenalter bedingen könnten. Es konnte eine Erhöhung dieser Faktoren in Abhängigkeit von der Frühgeburtlichkeit sowie eine Assoziation mit einer bestehenden essenziellen arteriellen Hypertonie gezeigt werden [109].

So könnten Frühgeburtlichkeit, die Verminderung der funktionellen und strukturellen Gefäßdichte und die Entstehung essentieller arterieller Hypertonie in einem direkten Zusammenhang stehen. Allerdings muss weiterhin die Möglichkeit berücksichtigt werden, dass andere Ursachen, wie renale Dysfunktion [110], eine Einschränkung der autonomen Regulation des kardiovaskulären Systems aufgrund von perinatalem Stress [111] oder frühzeitige Ernährung mit Muttermilchersatz, mit dem Ziel eines raschen postnatalen Wachstums [112, 113], für die Entwicklung eines Bluthochdruckes bei ehemals sehr Frühgeborenen mitverantwortlich sein könnten.

4.4 Evaluation der Messungen an den verschiedenen Messorten

In der vorliegenden Studie führten wir Messungen der Mikrozirkulation an verschiedenen Messorten durch, um diese hinsichtlich Praktikabilität, Qualität und Resultaten zu evaluieren. So wurden

jeweils mindestens drei Messungen an der Haut (Unterarminnenseite und Rückseite der Ohrmuschel) und der Schleimhaut (Innenseite der Unterlippe und Unterseite der Zunge) aufgezeichnet.

Bei Neugeborenen sind Messungen an der Haut Standard, da diese am besten zugänglich sind und die Epidermis noch dünn und kaum keratinisiert ist. Besonders bei Frühgeborenen kann jedoch die Lanugo-Behaarung die Bildqualität einschränken. In diesen Fällen konnten die besten Ergebnisse an der Innenseite des Oberarms erzielt werden [114]. Bei Erwachsenen dagegen ist die Epidermis verhornt und so werden Messungen an der unverhornten Mundschleimhaut, sublingual, empfohlen [86]. Auch bei Kindern im Alter unserer Probanden, ist die Epidermis je nach Messort mehr oder weniger verhornt. Dennoch lieferten Messungen an Unterarm und Ohr gut auswertbare Sequenzen. Hier ist der Vorteil ebenfalls die gute Zugänglichkeit und damit auch die bessere Kontrollierbarkeit durch den Untersucher. Dieser kann zum einen den Kopf oder den Arm fixieren, zum anderen kann er Bewegungen durch das Kind sofort ausgleichen. Somit entstehen hier längere stabile Sequenzen und auch der Druck durch die Messsonde auf das Gewebe kann gut kontrolliert werden. Nachteil an diesen Messorten sind die vielzähligen Störfaktoren durch Härchen und Bläschen. Diese müssen im Rahmen der Videoanalyse und -auswertung durch den Untersucher per Hand korrigiert werden, sollten sie durch das Programm fälschlicherweise als Gefäß erkannt worden sein. Zudem sind hier die Schärfe und der Kontrast im Vergleich zu den Ergebnissen an der Mundschleimhaut schlechter. Vergleicht man die Videosequenzen zwischen Unterarm und Ohr, fällt auch hier nochmals eine bessere Qualität am Ohr auf. Dies liegt wahrscheinlich an der etwas dünneren Hautschicht, im Vergleich zum Unterarm. Die peripheren Messungen sind zusätzlich störanfälliger durch lokale Temperaturschwankungen, welche die Durchblutung beeinflussen können [101].

An der Mundschleimhaut entstehen sehr kontrastreiche, scharfe Videos, die bezüglich ihrer Bildqualität optimal sind. Die Messorte sind dagegen schlechter erreichbar und durch den Untersucher weniger kontrollierbar. Besonders bei Kindern kann dies zu Schwierigkeiten führen, da sie häufig nicht in der Lage sind, Zunge oder Lippe selbst stillzuhalten und besonders die Zunge durch den Untersucher nicht festzuhalten ist. Auch der Druck durch die Messsonde auf das Gewebe ist schlecht kontrollierbar. Tatsächlich entstehen die besten und stabilsten Aufnahmen, wenn das Kind die Zunge oder die Lippe leicht gegen die Messsonde drückt. Hier muss dann darauf geachtet werden, dass der Blutfluss dadurch nicht beeinträchtigt wird [86]. Außerdem trägt es zur Stabilität bei, wenn das Kind leicht auf den Hals der Messsonde beißt. Da die Aufzeichnung in Echtzeit auf dem PC-Bildschirm sichtbar ist, können die Kinder so aktiv zur Mitarbeit motiviert werden,

möglichst ein Gefäß zu beobachten und dementsprechend stillzuhalten. Dies hängt jedoch stark von der Kooperations- und Konzentrationsfähigkeit der Kinder ab. Letztlich entstehen durch die aufgeführten Einflüsse nur sehr kurze stabile Sequenzen, was jedoch durch die gute Bildqualität bezüglich der Auswertung kein Problem darstellt. Außerdem ist die Mundschleimhaut weniger anfällig für Temperaturschwankungen.

Die Resultate nach der Videoanalyse zeigen deutliche lokale Unterschiede bezüglich der Parameter der Mikrozirkulation an allen Messorten, unabhängig des Gestationsalters. Wir haben die funktionelle Gefäßdichte genauer betrachtet. Diese unterscheidet sich signifikant zwischen den beiden peripheren Messorten (Arm und Ohr) und im Vergleich zu den Messungen an der Mundschleimhaut (Lippe und Zunge). Die funktionelle Gefäßdichte an Lippe und Zunge unterscheidet sich nicht signifikant. Es fällt auf, dass die funktionelle Gefäßdichte an den peripheren Messorten (Arm und Ohr) deutlich niedriger ist, als diese in der Mundschleimhaut. Dies kann zum einen an einer unterschiedlich starken Vaskularisierung liegen, zum anderen auch an der unterschiedlichen Dicke der Haut, wodurch mehr oder weniger Gefäße durch die SDF-Bildgebung erkannt werden können.

4.5 Reaktion der Mikrozirkulation auf einen kurzfristigen arteriellen Verschluss

Während der Unterbindung des Blutflusses über 60 Sekunden am rechten Arm, zeigten die ehemals Frühgeborenen eine tendenziell geringere Veränderung bezüglich der funktionellen Gefäßdichte. In der Frühgeborenenengruppe nahm die funktionelle Gefäßdichte um ca. 58% vom Ausgangswert ab, während die Abnahme in der Kontrollgruppe ca. 66% betrug. Dies wird auch in den Absolutwerten sichtbar, da die funktionelle Gefäßdichte in der Frühgeborenenengruppe im Ruhezustand niedriger ist, als diese der Kontrollgruppe. Während des arteriellen Verschlusses war die funktionelle Gefäßdichte dann jedoch am tiefsten Punkt in der Kontrollgruppe niedriger als in der Frühgeborenenengruppe. Das Veränderungspotential zeigte sich bei den ehemals Frühgeborenen somit als tendenziell vermindert. Somit könnte man diskutieren, ob die ehemals Frühgeborenen eine geringere Reaktivität und eventuell steifere Gefäße besitzen.

Der Hypothese, dass eine endotheliale Dysfunktion unter Patienten mit geringem Geburtsgewicht der Entstehung von Diabetes, arterieller Hypertonie und Koronarischämie vorausgehen könnte, gingen GOODFELLOW et al. nach. Sie untersuchten bei gesunden 19- bis 20-Jährigen den Zusammenhang zwischen der flussbedingten Dilatation der Brachialarterie (mittels Ultraschall -,wall

tracking⁶) und dem Geburtsgewicht. Sie konnten zeigen, dass die flussbedingte Dilatation bei den Probanden mit niedrigem Geburtsgewicht beeinträchtigt war und somit eine endotheliale Dysfunktion vorliegen könnte.

Auch MARTIN et al. verfolgten eine ähnliche Hypothese, die besagt, dass eine endotheliale Dysfunktion und eine eingeschränkte Elastizität in den Arterien, bei Patienten mit niedrigem Geburtsgewicht, frühe Anzeichen im Rahmen der Entwicklung von arterieller Hypertonie und Atherosklerose sind. In ihrer Studie wurden ca. 9-jährige Kinder mit normalem und niedrigem Geburtsgewicht untersucht. Dabei fand eine Messung der Endothelfunktion in der Haut nach lokaler Applikation von Acetylcholin, bzw. Nitroglycerin, welche zu einer örtlichen Vasodilatation führen, mittels Laser-Doppler-Methodik statt. Hier konnte eine eingeschränkte Vasodilatation bei Kindern mit niedrigem Geburtsgewicht gefunden werden.

Außerdem wurden Messungen der Elastizität der abdominalen Aorta und der A. carotis communis mittels Ultraschalls (vessel-wall-tracking) durchgeführt. Hier fand sich kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen, jedoch eine negative Korrelation zwischen Geburtsgewicht und steiferen Gefäßwänden in der A. carotis. Es konnte somit gezeigt werden, dass Schulkinder mit niedrigem Geburtsgewicht bereits eine eingeschränkte Endothelfunktion, sowie eine Tendenz zu steiferen Gefäßen aufweisen, was zu einer erhöhten Anfälligkeit, gegenüber der Entstehung von arterieller Hypertonie und Atherosklerose im Erwachsenenalter, beitragen könnte [37].

BONAMY et al. kamen in einer ähnlichen Studie jedoch zu gegensätzlichen Resultaten. Eine Versteifung der Karotis als früher Risikofaktor für Atherosklerose konnte in Zusammenhang mit niedrigem Geburtsgewicht bei reifgeborenen Kindern gebracht werden. In ihrer Studie überprüften sie nun die Hypothese, dass Frühgeburtlichkeit einen Einfluss auf das arterielle Größenwachstum der Karotis, sowie deren dynamische Eigenschaften hat. Mittels B-Mode Ultraschall wurde bei 56 Schulkindern (39 ehemals frühgeborene, 17 ehemals reifgeborene Kinder) im Alter von 7-12 Jahren die A. carotis communis bezüglich ihrer pulsatilen Bewegungen der Gefäßwand untersucht. Hier konnten keinerlei Unterschiede zwischen den beiden Gruppen gefunden werden. BONAMY et al. folgerten daraus, dass die Elastizität und Struktur der A. carotis communis nicht durch Frühgeburtlichkeit beeinträchtigt wird. Die Ursache für ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko bei Frühgeborenen wird somit vielmehr in der Mikrozirkulation vermutet [115].

In diesen Studien wurden Struktur und Funktion großer Gefäße untersucht, wobei auch hier meist eine Einschränkung in Verbindung mit niedrigem Geburtsgewicht gebracht werden konnte. Dennoch lässt dies keine direkte Aussage über die Beschaffenheit des mikrozirkulatorischen Gefäßbettes zu.

LEE et al. untersuchten ebenfalls die Reaktion der Mikrozirkulation am Unterarm während eines kurzfristigen arteriellen Verschlusses mittels SDF-Bildgebung bei 54 ehemals sehr frühgeborenen und 12 reifgeborenen Kindern zwischen 9 und 14 Jahren. Hier konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die ehemals sehr frühgeborenen Kinder ein geringeres Veränderungspotential bezüglich der funktionellen Gefäßdichte sowie eine verminderte Reaktivität mit vermutlich steiferen Gefäßen vorweisen [103]. Diese Resultate sind mit den hier gezeigten vergleichbar und stimmen überein.

4.6 Reaktion der Mikrozirkulation im Anschluss an einen kurzfristigen arteriellen Verschluss

Post-okklusiv zeigten die ehemals frühgeborenen Kinder eine tendenziell erniedrigte reaktive Gefäßveränderung. Zwischen dem Minimum der funktionellen Gefäßdichte während des arteriellen Verschlusses und dem Maximum nach Beendigung des Verschlusses, stieg die funktionelle Gefäßdichte unter den ehemals frühgeborenen Kindern im Mittel um lediglich 157,6 % an, während dieser Anstieg bei den ehemals reifgeborenen Kindern im Mittel 186,6 % betrug. Zudem wurde der Maximalwert der funktionellen Gefäßdichte in der Kontrollgruppe bereits 10 Sekunden post-okklusiv erreicht, während dieser bei den ehemals frühgeborenen Kindern erst nach 30 Sekunden erreicht wurde. Somit war das reaktive Gefäßverhalten unter den ehemals frühgeborenen Kindern tendenziell schwächer ausgeprägt und träger. Nach Erreichen des Maximalwertes pendelten sich die Werte in beiden Gruppen auf ähnlichem Niveau ein. Somit kann diskutiert werden, ob ein Zusammenhang zwischen Frühgeburtlichkeit und einer Einschränkung der Endothelfunktion besteht.

Es existieren zahlreiche Studien, die die Gefäßreaktivität und Endothelfunktion im Zusammenhang mit niedrigem Geburtsgewicht oder Frühgeburtlichkeit durch eine provozierte reaktive Hyperämie nach Okklusion, oder durch andere Techniken zur Gefäßerweiterung, untersuchen.

LEE et al. kamen in ihrer bereits beschriebenen vergleichbaren Studie zu ähnlichen Resultaten. Hier zeigten die ehemals frühgeborenen Kinder post-okklusiv eine tendenziell schwächer ausgeprägte reaktive Gefäßveränderung. Sie zeigten einen geringeren prozentualen Anstieg zwischen dem Minimum der funktionellen Gefäßdichte während des Verschlusses und dem Maximum der funktionellen Gefäßdichte nach Beendigung des Verschlusses. Auch in dieser Studie erreichten die ehemals Frühgeborenen den Maximalwert 30 Sekunden nach Beendigung des Verschlusses. Allerdings erreicht die Kontrollgruppe im Gegensatz zu unserer Studie, das Maximum erst nach 60

Sekunden, somit ist die reaktive Gefäßveränderung hier innerhalb der Kontrollgruppe im Vergleich langsamer. Auch in dieser Studie ordnen sich die Werte noch innerhalb des Beobachtungszeitraums auf etwa gleichbleibendem Niveau ein und weisen keine signifikanten Unterschiede auf.

In vielzähligen Studien konnte kein Zusammenhang zwischen Frühgeburtlichkeit und einer eingeschränkten Endothelfunktion gefunden werden. Eine solche Einschränkung konnte dagegen mehrfach in Verbindung mit niedrigem Geburtsgewicht gebracht werden.

BONAMY et al. untersuchten die Kapillardichte und die Endothelfunktion bei ehemals frühgeborenen Kindern zwischen 7 und 12 Jahren. Sie gingen der Hypothese nach, dass bei ehemals frühgeborenen Kindern bereits eine Beeinträchtigung der Mikrozirkulation zu finden ist. Bezüglich der Endothelfunktion untersuchten sie die Hautdurchblutung vor und nach transdermaler Gabe von Acetylcholin mittels Laser-Doppler Technik. Sie konnten jedoch keinen Unterschied bezüglich der Endothelfunktion zwischen den ehemals frühgeborenen Kindern und der Kontrollgruppe aus ehemals reifgeborenen Kindern mit normalem Geburtsgewicht zeigen [100].

SERNE et al. untersuchten die Endothelfunktion post-okklusiv bei gesunden, ehemals reifgeborenen Erwachsenen im Alter von 35 Jahren mit niedrigem Geburtsgewicht. Hier wurden die Kapillaren am Nagelfalz des Mittelfingers, mittels Kapillarmikroskopie, vor und nach vierminütigem arteriellem Verschluss visualisiert. Es wurde schließlich die Zunahme der durchbluteten Kapillaren während der post-okklusiven reaktiven Hyperämie beobachtet, wobei eine Korrelation zwischen Geburtsgewicht und post-okklusiver Zunahme auffiel. Je niedriger das Geburtsgewicht, desto geringer war der Anstieg der durchbluteten Kapillaren nach dem arteriellen Verschluss. Somit konnte eine Einschränkung der Endothelfunktion in Zusammenhang mit niedrigem Geburtsgewicht gezeigt werden. Außerdem fanden sie eine Assoziation zwischen niedrigem Geburtsgewicht und erhöhten Blutdruckwerten. Die Studiengruppe vermutet eine geringere absolute Anzahl an Kapillaren im Zusammenhang mit niedrigem Geburtsgewicht, was für einen erhöhten Widerstand im Gefäßsystem verantwortlich sein könnte. Dies könnte das Risiko der späteren Entwicklung einer arteriellen Hypertonie fördern, wie bereits in Kapitel 4.2 diskutiert [116].

SINGHAL et al. untersuchten bei 277 Kindern, mit niedrigem Geburtsgewicht, im Alter von 13-16 Jahren die FMD (flow-mediated vasodilatation) post-okklusiv an der Arteria brachialis. Eine Erniedrigung der FMD ist ein Frühzeichen für Atherosklerose und somit für ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko. Sie unterschieden zwischen reifgeborenen Kindern und frühgeborenen Kindern, in beiden Fällen mit niedrigem Geburtsgewicht. Auch in dieser Studie konnte kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen gefunden werden. SINGHAL et al. folgern daraus, dass ein niedriges Geburtsgewicht aufgrund von Frühgeburtlichkeit an sich keinen Risikofaktor für spätere vaskuläre Erkrankungen darstellt [117].

Auch GOODFELLOW et al. untersuchten die FMD (flow-mediated vasodilatation) der Arteria brachialis bei gesunden 19 bis 20-Jährigen mit niedrigem (<2500) und normalem Geburtsgewicht. Sie konnten eine beeinträchtigte Vasodilatation, nach arterieller Okklusion, in der Gruppe mit niedrigem Geburtsgewicht zeigen. Somit vermuten sie die Ursache in einer fetalen Malnutrition im Zusammenhang mit niedrigem Geburtsgewicht [36].

Eine weitere Studie konnte sogar einen mildernden Effekt auf die Einschränkung der Endothelfunktion durch niedriges Geburtsgewicht aufgrund von Frühgeburtlichkeit im Vergleich zu niedrigem Geburtsgewicht bei Reifgeborenen zeigen. NORMAN et al. untersuchten dazu die endothelabhängige Vasodilatation bei drei Monate alten Säuglingen, mittels Laser-Doppler-Technik, vor und nach transdermaler Applikation von Acetylcholin. Es wurde eine Gruppe aus 35 Frühgeborenen, die vor dem dritten Trimenon geboren wurden, mit einer Kontrollgruppe aus 19 reifgeborenen Säuglingen, sowohl SGA als auch AGA, verglichen. Es konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden werden. Allerdings fand sich innerhalb der Kontrollgruppe bei den SGA-Kindern eine langsamere Antwortreaktion auf Acetylcholin, als auch ein geringeres Reaktionsausmaß, als bei den AGA-Kindern. Hier weisen also nur reifgeborene SGA-Säuglinge eine Einschränkung der vaskulären Endothelfunktion auf. Somit wird ein Zusammenhang zwischen intrauteriner Wachstumsverzögerung und endothelialer Dysfunktion vermutet. Außerdem nehmen NORMAN et al. an, dass die Beeinträchtigung der Endothelfunktion erst in der späten Schwangerschaft auftritt. Durch Frühgeburtlichkeit (vor dem dritten Trimenon) kann dieser Effekt eventuell durch ein verändertes Zusammenspiel aus Genen und Umwelt, durch die Situation ex utero, gemindert werden, sodass hier keine Assoziation mit einer eingeschränkten Endothelfunktion gefunden werden konnte [118].

GOH et al. untersuchten ebenfalls, ob eine Beeinträchtigung der Mikrozirkulation bezüglich Struktur und Funktion im Zusammenhang mit niedrigem Geburtsgewicht bereits bei Kindern im frühen Alter zu finden ist. In ihrer Studie untersuchten sie die Vasodilatation von Mikrogefäßen sowie die kapilläre Dichte drei Monate alter Säuglinge. Hier wurde ein Vergleich zwischen Kindern mit einem Geburtsgewicht im niedrigsten und im höchsten Quartil unternommen. Die Vasodilatation im Rahmen einer hyperämischen Reaktion wurde durch Erwärmung der Haut auf 42-44 °C provoziert und mittels Laser-Doppler-Technik erfasst. Die Untersuchung der endothelabhängigen Vasodilatation erfolgte nach transdermaler Applikation von Acetylcholin am Abdomen. Die Reaktion der Hautmikrozirkulation wurde ebenfalls mittels Laser-Doppler-Technik aufgezeichnet. GOH et al. konnten eine verminderte maximale hyperämische Reaktion unter den Säuglingen mit niedrigem Geburtsgewicht zeigen, während die beiden Gruppen bezüglich Kapillardichte und Vasodilatation durch Acetylcholin keine Unterschiede aufwiesen [101].

Mehrere Studien kommen zu dem Ergebnis, dass eine eingeschränkte Endothelfunktion in Zusammenhang mit niedrigem Geburtsgewicht, nicht jedoch mit Frühgeburtlichkeit und daraus resultierendem niedrigem Geburtsgewicht steht.

Eine mögliche Erklärung wird darin vermutet, dass das dritte Trimenon der Schwangerschaft einen sehr sensiblen Zeitraum für die Entwicklung des Gefäßsystems und daraus resultierende kardiovaskuläre Risikofaktoren darstellt. Diese Zeit verbringen sehr früh geborene Kinder bereits ex utero und können schon von diesem Zeitpunkt an Nahrungsergänzungsmittel erhalten. Folsäure beispielsweise wirkt sich protektiv auf das kardiovaskuläre System aus. Dies konnte in Tierstudien gezeigt werden. Wachstumsretardierte, reifgeborene Kinder verbringen diesen Abschnitt dagegen in utero und sind möglicherweise einem Proteinmangel ausgesetzt, welcher einen negativen Einfluss darstellen könnte [115].

4.7 Reliabilität des Untersuchers

Die Prüfung der Reliabilität des Untersuchers zeigt einen sehr guten Korrelationskoeffizient und eine gute Effektivität der Paarung, so dass die Untersuchungen als reliabel und in sich wiederholbar gewertet werden können. Ein Korrelationskoeffizient von +1 entspricht einem vollständig positiven linearen Zusammenhang. Bezüglich der funktionellen Gefäßdichte und der Gefäßoberfläche war dieser ideale Wert etwa erreicht. Hinsichtlich des MFI lag der Korrelationskoeffizient mit 0,7 etwas niedriger, womit die Reliabilität auch hier gewährleistet, jedoch als nicht ideal zu werten ist.

4.8 Limitationen der Studie

Trotz größtmöglicher Sorgfalt unterliegt die Studie einzelnen Limitationen oder Fehlerquellen, welche im Folgenden erörtert werden sollen. Zunächst konnten teils keine signifikanten Ergebnisse generiert werden, sondern nur Tendenzen festgestellt werden. Dies lag zum einen an der begrenzten Fallzahl, zum anderen an den intraindividuellen Schwankungen.

Ein Zusammenhang zwischen einer Beeinträchtigung der Mikrozirkulation und niedrigem Geburtsgewicht, unabhängig von Frühgeburtlichkeit, wird ebenfalls viel diskutiert, wurde jedoch hier nicht untersucht. Dafür hätte die Kontrollgruppe nochmals in SGA und AGA aufgeteilt werden müssen, wofür die Anzahl der SGA zu gering war.

Bezüglich des Settings ist festzuhalten, dass keine lokale Temperaturmessung an der Messstelle vorgenommen wurde. Unterschiede bezüglich der lokalen Hauttemperatur können ebenfalls die

Durchblutung beeinflussen, welche nicht auszuschließen sind. Allerdings fanden die Messungen jeweils bei Raumtemperatur statt, nachdem die Kinder sich schon einige Minuten in den jeweiligen Räumlichkeiten aufgehalten hatten.

Weiterhin handelte es sich in diesem Setting um wache Kinder, die je nach Verständnis- und Kooperationsfähigkeit mehr oder weniger große Bewegungsartefakte während der Messungen verursachten. Besonders die Messungen im Mund waren hiervon betroffen und Bewegungen hier schwer zu unterbinden. Zur Minimierung der Bewegungsartefakte von Seiten des Untersuchers, wurde die Kamera teils an einer Halteeinrichtung befestigt. Nachteil dabei war jedoch wiederum die fehlende Flexibilität, um die Bewegungen des Kindes auszugleichen. Dies ist wichtig, um den Kontakt zwischen Messsonde und Haut aufrechtzuerhalten, aber auch um den Druck zu kontrollieren. Zu starker Druck durch die Messsonde auf das Gewebe, kann ebenfalls die Durchblutung beeinträchtigen.

Die unterschiedlichen Messorte wiesen Unterschiede bezüglich des Bildrauschens durch Störfaktoren wie Härchen und Bläschen auf. Hier fanden sich bei den Messungen im Mund deutlich weniger Artefakte, wodurch von vornherein qualitativ bessere Aufnahmen entstanden und somit auch sehr kurze Sequenzen zur Auswertung ausreichten. Die Messungen an Arm und Ohr waren weniger von den Bewegungsartefakten, dafür viel stärker durch Störfaktoren wie Härchen, Fussel und Bläschen beeinträchtigt. Diese Artefakte werden häufig durch das Programm als Gefäße erkannt, wodurch hier ein recht starkes manuelles Nachbearbeiten durch den Untersucher notwendig wurde. Die Auswertung der Videosequenzen fand stets durch dieselbe, geübte Person statt, um hier Unterschiede in der Nachbearbeitung zu minimieren. Außerdem wurden die Sequenzen verblindet, sodass kein Einfluss auf das Ergebnis durch den Untersucher zu befürchten war.

Fraglich bei Kindern ist außerdem die Wahl eines geeigneten Messortes. Bei Neugeborenen sind transdermale Messungen sehr gut möglich, da die Verhornung der Epidermis nur gering ausgeprägt ist. Bei Erwachsenen werden dagegen Messungen sublingual empfohlen [86]. In der vorliegenden Studie wurden Messungen an verschiedenen Orten durchgeführt, um unter anderem die Bildqualität zu evaluieren. Tatsächlich wiesen die transdermalen Messungen am Ohr und besonders am Unterarm eine schlechtere Bildqualität auf, als die Messungen an der unverhornten Mundschleimhaut. Eine Beobachtung der Reaktion auf einen kurzfristigen arteriellen Verschluss ist jedoch im Bereich der Mundschleimhaut nicht realisierbar, sodass hier auf die Messung am Unterarm zurückgegriffen werden musste. Doch obwohl die Qualität bei den transdermalen Messungen im Vergleich schlechter ist, entstehen auch hier gut auswertbare Sequenzen.

Zuletzt ist die intraindividuelle Varianz der Gefäße, selbst an dicht beieinander liegenden Messpunkten, recht groß, weshalb jeweils mehrere Messungen durchgeführt wurden, um bei der Auswertung Mittelwerte zu bilden. Die Messungen während und nach arteriellem Verschluss wurden dagegen nur einmalig aufgezeichnet. Hier wurde jedoch genau darauf geachtet, dass während der gesamten Untersuchung dieselbe Stelle abgebildet wurde, sodass die lokalen Veränderungen an exakt dieser Stelle sichtbar gemacht werden konnten.

Die SDF-Bildgebung stellt trotz weniger Einschränkungen eine sehr gut verfügbare und händelbare Technik dar, die nicht-invasiv die Mikrozirkulation in Echtzeit darstellen kann und zudem qualitativ sehr hochwertige Ergebnisse liefert. Sicherlich gibt es geeignetere Settings, in denen noch bessere Ergebnisse erzielt werden können, jedoch reichte die erzielte Qualität für die hiesigen Anforderungen sehr gut aus.

5 Zusammenfassung

Frühgeborene Kinder tragen ein erhöhtes Risiko für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen, wie beispielsweise arterielle Hypertonie. Fraglich ist, worin die Ursache hierfür liegt, und ob diese eventuell schon frühzeitig entdeckt werden kann. Ein möglicher Zusammenhang zwischen Bluthochdruck und einer Beeinträchtigung der Mikrozirkulation wird bereits vermutet. In der vorliegenden Studie wurde der Frage nachgegangen, ob sich bereits im Kindesalter bei ehemals sehr frühgeborenen Kindern eine Einschränkung der Mikrozirkulation zeigen lässt.

Es wurden 24 ehemals sehr frühgeborene Kinder (<32. SSW) und 47 ehemals reifgeborene Kinder (>37. SSW) als Kontrollgruppe im Alter von 7-10 Jahren untersucht. An vier verschiedenen Messorten wurde mittels SDF-Bildgebung die dermale Mikrozirkulation aufgezeichnet und bezüglich funktioneller Gefäßdichte, -oberfläche und -länge, sowie der Flusseigenschaften analysiert. Außerdem wurde die Mikrozirkulation während und nach kurzfristigem arteriellem Verschluss am Unterarm aufgezeichnet, um die Gefäßreaktion zu beurteilen.

Bezüglich der Analyse der Mikrozirkulation an den verschiedenen Messorten in Ruhe, konnte am Unterarm eine signifikant niedrigere funktionelle Gefäßdichte unter den ehemals frühgeborenen Kindern gezeigt werden ($4,53 \pm 0,93$ vs. $5,27 \pm 0,97$ (mm/mm² \pm SD), $p = 0,0047$, unpaired t -test). Dies passt zu den gefundenen Einschränkungen in der Mikrozirkulation bei Patienten mit arterieller Hypertonie, sodass hier ein kausaler Zusammenhang zwischen Frühgeburtlichkeit, beeinträchtigter Mikrozirkulation und arteriellem Bluthochdruck diskutiert werden kann. Allerdings

gibt es auch Studien, die bei ehemals frühgeborenen Kindern keine Einschränkung der Mikrozirkulation bezüglich der funktionellen Gefäßdichte nachweisen konnten, sodass hier noch weitere Untersuchungen notwendig sind.

Die Untersuchung der Reaktion der dermalen Mikrozirkulation am Unterarm auf kurzfristige arterielle Okklusion ergab unter den ehemals Frühgeborenen eine tendenziell geringere prozentuale Abnahme der funktionellen Gefäßdichte während des Verschlusses, sowie einen langsameren und prozentual geringeren Anstieg nach Beendigung der Okklusion. Somit kann eine Einschränkung der Reaktivität und der Vasodilatation der dermalen Mikrozirkulation unter den ehemals Frühgeborenen vermutet werden.

Durch die in dieser Studie durchgeführten Untersuchungen konnte eine strukturelle und funktionelle Beeinträchtigung der dermalen Mikrozirkulation bei ehemals frühgeborenen Kindern gezeigt werden. Möglicherweise sind diese veränderten Parameter mitverantwortlich für das erhöhte Risiko für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen und somit schon vor Krankheitsentstehung, bereits im Kindesalter feststellbar. So könnte durch frühzeitige Untersuchungen ein mögliches bestehendes Risiko schon vor einer Manifestation erkannt und diese eventuell verhindert oder gemindert werden, sofern der Zusammenhang tatsächlich kausal ist.

6 Anhang

Abbildung 6-1: Anschreiben an die Eltern der ehemals Frühgeborenen (Einladung zur Studienteilnahme)

Klinikum der Universität München · Klinik und Poliklinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe –
Neonatalogie - Innenstadt · Maistraße 11 · 80337 München

Prof. Dr. med Orsolya Genzel-Boroviczény
genzel@med.uni-muenchen.de

Anschrift

Telefon +49 (0)89 4400 – 5 4535
Telefax +49 (0)89 4400 – 5 4689

www.klinikum.uni-muenchen.de

Postanschrift:
Maistraße 11
80337 München

München, Datum

Einladung zur Studienteilnahme: Untersuchung der Mikrozirkulation (Hautdurchblutung) bei ehemals Frühgeborenen

Liebe Eltern,

Die Medizin ist eine dynamische Wissenschaft, die sich ständig selbst überprüft und weiterentwickelt. Im Labor und in Form von klinischen Studien wird für neue Erkenntnisse und Verbesserungen gearbeitet, um den Patienten eine bestmögliche Versorgung anbieten zu können. Gerade die Neonatologie hat dadurch in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht.

Die Neonatologie in der Frauenklinik Maistraße untersucht seit einigen Jahren nicht-invasiv die Hautdurchblutung bei extrem frühgeborenen Kindern. In der Zwischenzeit konnten viele interessante Beobachtungen gemacht werden. So konnte man zum Beispiel Infektionen früher erkennen und Unterschiede zwischen Früh- und Reifgeborenen finden.

Aktuell planen wir eine neue Studie, in der eine Untersuchung der Hautdurchblutung von ehemals frühgeborenen Kindern zwischen 7 und 10 Jahren erfolgen soll. Es handelt sich um eine einmalige, ca. zwanzigminütige, völlig schmerzlose Untersuchung, die ab August bei uns im Zentrum durchgeführt werden kann. Die Durchführung erfolgt durch Kathrin Matthes, Doktorandin und Medizinstudentin der Universität München. Genaue Informationen zur Studie finden Sie im beigefügten Informationsschreiben.

Sehr gerne würden wir Ihr Kind zu dieser Untersuchung in die Frauenklinik einladen. Einen Termin können wir individuell vereinbaren, sofern Sie sich für eine Teilnahme entscheiden. Hierzu können Sie sich gerne per Mail an k.matthes@campus.lmu.de mit uns in Verbindung setzen, oder wir würden unsererseits versuchen, Sie telefonisch zu erreichen.

Wir würden uns sehr freuen, wenn Sie und besonders Ihr Kind, Interesse an einer Teilnahme hätten.

Professor Dr.
O. Genzel-Boroviczény

Dr. A. Puchwein-Schwepcke

K. Mattheß

Abbildung 6-2: Information zur Studie für die Eltern der ehemals Frühgeborenen (Studieninformation)

Klinikum der Universität München · Klinik und Poliklinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe –
Neonatologie – Innenstadt · Maistraße 11 · 80337 München

Prof. Dr. med Orsolya Genzel-Boroviczény
genzel@med.uni-muenchen.de

Telefon +49 (0)89 4400 – 5 4535
Telefax +49 (0)89 4400 – 5 4689

www.klinikum.uni-muenchen.de

Postanschrift:
Maistraße 11
80337 München

Anschrift

München, Datum

**Studieninformation: Untersuchung der Mikrozirkulation (Hautdurchblutung)
bei ehemals Frühgeborenen**

Liebe Eltern,

wir dürfen uns ganz herzlich für Ihr Interesse an unserer Studie bedanken.
Im Folgenden stellen wir Ihnen wichtige Informationen zur Verfügung, die Ihnen bei der Entscheidung über die Teilnahme Ihres Kindes helfen sollen.

Hintergründe:

Ihr Kind kam, als eines von jährlich etwa 60.000 Kindern in Deutschland, zu früh zur Welt. Glücklicherweise überleben heute, Dank der hierzulande weit entwickelten medizinischen Versorgung, ca. 90% dieser Frühchen. Bei einer kleinen Zahl von Frühgeborenen, der Frauenklinik Maistraße der Universität München, wurde nach der Geburt die Hautdurchblutung (Mikrozirkulation) im Vergleich zu Reifgeborenen untersucht. Hierbei wurden Unterschiede bezüglich der Dichte und Qualität des Gefäßsystems gefunden. Im Rahmen dieser Studie planen wir eine Nachuntersuchung von ehemals frühgeborenen Kindern zwischen 7 und 10 Jahren, um die Entwicklung der Mikrozirkulation zu beurteilen. Fraglich ist, ob auch in diesem Alter Unterschiede zu finden sind und ob diese, eventuell bestimmte erhöhte gesundheitliche Risiken bei ehemals Frühgeborenen erklären könnten.

Ihr Kind kam in unserer Klinik als Frühgeborenes zur Welt und hat die nötigen Voraussetzungen, um an dieser Nachuntersuchung teilzunehmen.

Methode, Ablauf und Dauer der Untersuchung:

Wir legen Ihrem Kind einen kleinen Messfühler auf den Unterarm, das Ohr, die Lippeninnenseite und unter die Zunge. In dem Messfühler befindet sich eine Lichtquelle, die normales Licht mit einer Wellenlänge von 550 nm aussendet und daher grün leuchtet. Die Lichtquelle ist so konzipiert, dass es zu keiner Erwärmung oder anderen Auswirkungen auf die Haut kommt. Das grüne Licht ermöglicht die Darstellung von Blutgefäßen direkt unter der Haut, indem das reflektierte Licht durch eine kleine Videokamera erfasst und in einem Computer analysiert wird. Dadurch kann die Hautdurchblutung beurteilt werden. In *Abbildung 1* auf der nächsten Seite, sehen Sie unser Messgerät.

Die Messung ist für Ihr Kind schmerzlos und dauert ca. 20 min.

Die Messergebnisse dienen allein dem wissenschaftlichen Zweck und haben für Ihr Kind weder Vor- noch Nachteile. Es entstehen keine medizinischen Konsequenzen daraus.

Abbildung 6-3: Anschreiben und Information zur Studie für die ehemals frühgeborenen Kinder (Einladung zur Studienteilnahme)

Nur die Ärzte der Studie haben im Rahmen der gesetzlichen Vorschriften Zugang zu den vertraulichen Daten, in denen Ihr Kind namentlich genannt wird. Diese Personen unterliegen der Schweigepflicht und sind zur Beachtung des Datenschutzes verpflichtet. Die Weitergabe der Daten im In- und Ausland erfolgt zu statistischen und wissenschaftlichen Zwecken, und Ihr Kind wird darin nicht namentlich genannt. Die Daten werden zur Auswertung verschlüsselt (d.h. die Daten werden ohne Namensnennung mit einer Nummer versehen).

Die Durchführung der Studie wurde durch die Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München bewilligt.

Die Teilnahme an der Untersuchung ist freiwillig und Sie können jederzeit die Teilnahme Ihres Kindes ohne Angabe von Gründen zurückziehen.

Falls Sie weitere Fragen zu dieser Studie haben, wenden Sie sich bitte an uns.

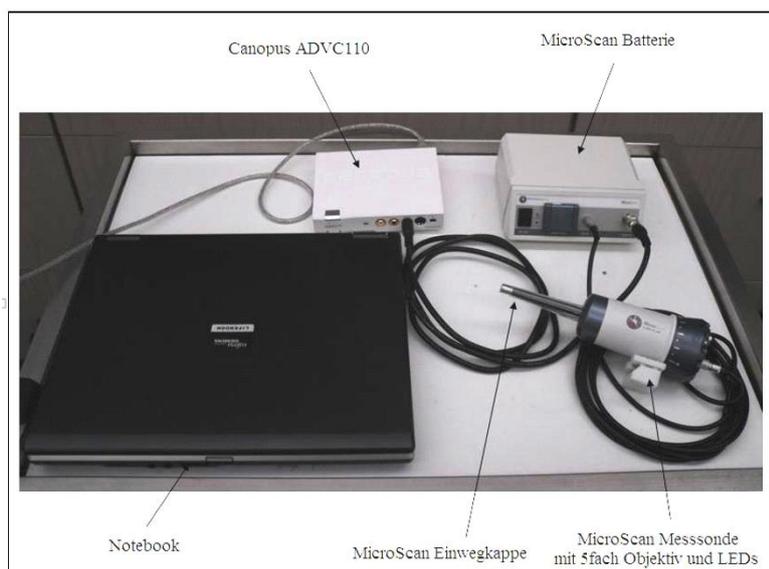
Wir bedanken uns für Ihr Interesse und wünschen Ihnen und Ihrem Kind alles Gute!

Prof. Dr. med. O. Genzel-Boroviczény
Leiterin der Neonatologie des Perinatalzentrums des Klinikums Innenstadt - München
Tel.: 089 - 4400 - 54535
Email: genzel@med.uni-muenchen.de

Dr. med. A. Puchwein-Schwepcke
Fachärztin für Pädiatrie am Dr. von Haunerschen Kinderspital - München
Tel.: 089 - 4400 - 55110
Email: alexandra.schwepcke@med.uni-muenchen.de

Kathrin Mattheß
Doktorandin und Studentin der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
Email: k.matthess@campus.lmu.de

Abbildung 1 : MicroScan



Klinikum der Universität München · Klinik und Poliklinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe –
Neonatalogie · Innenstadt · Maistraße 11 · 80337 München

Prof. Dr. med Orsolya Genzel-Boroviczény
genzel@med.uni-muenchen.de

Telefon +49 (0)89 4400 – 5 4535
Telefax +49 (0)89 4400 – 5 4689

www.klinikum.uni-muenchen.de

Postanschrift:
Maistraße 11
80337 München

Anschrift

München, Datum

Einladung zur Studienteilnahme: Untersuchung der Mikrozirkulation (Hautdurchblutung)

Liebe/r Name des Kindes

es ist schon einige Jahre her, als du bei uns in der Frauenklinik in München geboren wurdest. Vielleicht weißt du, dass du es ein wenig eilig hattest und damals zu früh auf die Welt gekommen bist. Du musstest noch etwas länger im Krankenhaus bleiben und viele Ärzte haben sich um dich gekümmert, damit du gut ins Leben starten konntest.

So früh auf die Welt zu kommen ist eine große Herausforderung für den Körper und er steckt diese Belastung nicht ganz einfach weg. So wissen wir, dass sich zum Beispiel die kleinen Blutgefäße anders entwickeln als bei später geborenen Kindern. Nun wollen wir untersuchen, ob man auch noch bei Kindern in deinem Alter diesen Unterschied finden kann, und ob dieser Auswirkungen auf die Gesundheit haben könnte.

Um das herauszufinden, können wir deine Hilfe sehr gut gebrauchen. Wir würden dich sehr gerne zu dieser Untersuchung zu uns in die Frauenklinik der Universität München einladen.

Wenn du bei der Untersuchung mitmachen möchtest, legen wir dir einen Messfühler auf den Unterarm, das Ohr, die Backeninnenseite und unter die Zunge. In der Spitze des Messfühlers befindet sich ein Licht, das grün leuchtet. Das grüne Licht ermöglicht uns, die Blutgefäße unter deiner Haut mithilfe eines Videogerätes direkt auf einem Bildschirm sichtbar zu machen. Dadurch können wir uns deine Hautdurchblutung anschauen. Wir brauchen kein Blut von dir und machen auch sonst nichts, wovor du Angst haben müsstest.

Die Untersuchung tut nicht weh und dauert ungefähr 15 min.

Die Teilnahme an der Untersuchung ist freiwillig und du kannst jederzeit sagen, dass du nicht mehr mitmachen möchtest.

Datenschutz:

Nur wir Ärzte/Doktoranden von der Studie dürfen deine Daten sehen. Wir dürfen nur darüber reden und sie anderen zeigen, wenn wir deinen Namen nicht erwähnen.

Im Namen der Forschungsgruppe danken wir dir sehr herzlich für deine Mithilfe.

Abbildung 6-4: Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie

Einwilligungserklärung

Name des Kindes
(in Druckbuchstaben):.....

Geb. Datum:-.....-.....

Ich erkläre mich freiwillig bereit, dass mein Kind an der klinischen Untersuchung mit dem Titel:

Untersuchung der Mikrozirkulation bei ehemals Frühgeborenen

teilnimmt.

- Ich habe den Text des Informationsblattes für Eltern/Erziehungsberechtigte und diese Einwilligung gelesen und verstanden.
- Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden.
- Ich habe das Recht, jederzeit und ohne Angabe von Gründen meine Einwilligung zur Teilnahme meines Kindes an der Studie zurückzuziehen.
- Ich bin damit einverstanden, dass im Rahmen dieser klinischen Untersuchung erhobene Daten meines Kindes anonymisiert (d.h. ohne Nennung des Namens) aufgezeichnet werden, zur wissenschaftlichen Auswertung der klinischen Prüfung und zur Verwendung für weitere mit der Prüfung dieser Untersuchungen im Zusammenhang stehende wissenschaftlichen Fragestellungen weitergegeben werden, sowie zur Überprüfung an die zuständigen Überwachungsbehörden oder an die Ethikkommission übermittelt werden.
- Ferner erkläre ich mein Einverständnis, dass die Studienleitung und vorgenannte Fachleute und Beauftragte in personenbezogene Daten meines Kindes Einsicht nehmen. Dies dient einer vollständigen Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der klinischen Untersuchung. Beim Umgang mit personenbezogenen Daten werden die Grundsätze des Datenschutzrechtes beachtet.

Ort, Datum, Unterschrift des Erziehungsberechtigten

Unterschrift des Kindes

Unterschrift des Prüfers

Abbildung 6-5: Fragebogen zu den Daten des Kindes und Dokumentation der gemessenen Werte

Fragebogen

Vor- und Zuname des Kindes: -----

Geburtsdatum: -----

Gewicht: -----

Größe: -----

BMI: (wird berechnet) -----

Herzfrequenz: (wird gemessen) -----

Blutdruck: (wird gemessen) -----

Temperatur: (wird gemessen) -----

Gestationsalter (SSW): -----

Gestationsgewicht: -----

Gab es Komplikationen bei oder nach der Geburt?

Ja (welche?)/Nein -----

Ist Ihr Kind derzeit gesund?

Ja/Nein (welche Beschwerden?) -----

Leidet Ihr Kind an einer chronischen Erkrankung?

Ja (welche?)/Nein -----

Nimmt Ihr Kind regelmäßig Medikamente ein?

Ja (welche?)/Nein -----

Alle Angaben sind freiwillig und werden von den Verantwortlichen vertraulich behandelt.

7 Literaturverzeichnis

1. MicroScan BV, A., the Netherlands *AVA 3.1 user manual*. 2012.
2. Schmidt, R.F., F. Lang, and M. Heckmann, *Physiologie des Menschen - mit Pathophysiologie*. 31st ed. 2010, Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
3. P., P., K.A. K., and R.T. J., *THE DEVELOPMENT OF THE CUTANEOUS MICROVASCULAR SYSTEM IN THE NEWBORN*. *British Journal of Dermatology*, 1970. **82**(s5): p. 86-91.
4. Ince, C., *The microcirculation is the motor of sepsis*. *Crit Care*, 2005. **9 Suppl 4**: p. S13-9.
5. Groner, W., et al., *Orthogonal polarization spectral imaging: a new method for study of the microcirculation*. *Nat Med*, 1999. **5**(10): p. 1209-12.
6. Ahmad, K.A., et al., *Two-Year Neurodevelopmental Outcome of an Infant Born at 21 Weeks' 4 Days' Gestation*. *Pediatrics*, 2017.
7. Jorch, G. and A. Hübler, *Neonatologie: Die Medizin des Früh- und Reifgeborenen*. 1st ed. 2010, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
8. Serne, E.H., et al., *Impaired skin capillary recruitment in essential hypertension is caused by both functional and structural capillary rarefaction*. *Hypertension*, 2001. **38**(2): p. 238-42.
9. Antonios, T.F., et al., *Rarefaction of skin capillaries in normotensive offspring of individuals with essential hypertension*. *Heart*, 2003. **89**(2): p. 175-8.
10. Antonios, T.F., et al., *Structural skin capillary rarefaction in essential hypertension*. *Hypertension*, 1999. **33**(4): p. 998-1001.
11. Speer, C.P. and M. Gahr, *Pädiatrie*. 4th ed. 2012, Berlin: Springer-Verlag.
12. Philip, A.G., *The evolution of neonatology*. *Pediatr Res*, 2005. **58**(4): p. 799-815.
13. Howson, C.P., M.V. Kinney, and J.E. Lawn, *Born Too Soon: The Global Action Report on Preterm Birth*. 2012, March of Dimes, PMNCH, Save the Children, WHO: Genf.
14. UNICEF, W., World Bank Group and United Nations, *Levels and Trends in Child Mortality Report 2018*. 2018. p. 44.
15. UNICEF, W., World Bank Group and United Nations *Faktenblatt - Kindersterblichkeit, in Fakten und Trends zur weltweiten Kindersterblichkeit 2017*. 2018, UNICEF.
16. e.V., B.D.f.K., *Pressemappe - Bundesverband "Das frühgeborene Kind" e.V.* 2018: Frankfurt am Main.
17. *Säuglingssterbefälle, Säuglingssterbefälle je 1.000 Lebendgeborene und durchschnittliches Sterbealter. 1990-2016, Deutschland*. 2018; Available from: http://www.gbe-bund.de/oowa921-install/servlet/oowa/aw92/dboowasys921.xwdevkit/xwd_init?gbe.isgbetol/xs_start_neu/&p_aid=i&p_aid=88686388&nummer=525&p_sprache=D&p_indsp=-&p_aid=17776034.
18. Muntau, A.C., *Intensivkurs Pädiatrie*. 6th ed. 2011, München: Elsevier GmbH. 574.
19. Bensley, J.G., et al., *The effects of preterm birth and its antecedents on the cardiovascular system*. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2016. **95**(6): p. 652-63.

20. Gidding, S.S., *Is Premature Birth Associated with Future Cardiovascular Disease?* The Journal of Pediatrics, 2012. **161**(3): p. 381-382.
21. Ramirez-Velez, R., et al., *Effects of preterm birth and fetal growth retardation on life-course cardiovascular risk factors among schoolchildren from Colombia: The FUPRECOL study.* Early Hum Dev, 2017. **106-107**: p. 53-58.
22. Mamun, A.A., et al., *Associations of gestational weight gain with offspring body mass index and blood pressure at 21 years of age: evidence from a birth cohort study.* Circulation, 2009. **119**(13): p. 1720-7.
23. Davies, A.A., et al., *Association between birth weight and blood pressure is robust, amplifies with age, and may be underestimated.* Hypertension, 2006. **48**(3): p. 431-6.
24. Edstedt Bonamy, A.K., et al., *Blood Pressure in 6-Year-Old Children Born Extremely Preterm.* J Am Heart Assoc, 2017. **6**(8).
25. Hack, M., et al., *Blood pressure among very low birth weight (<1.5 kg) young adults.* Pediatr Res, 2005. **58**(4): p. 677-84.
26. Irving, R.J., et al., *Low birth weight predicts higher blood pressure but not dermal capillary density in two populations.* Hypertension, 2004. **43**(3): p. 610-3.
27. Johansson, S., et al., *Risk of high blood pressure among young men increases with the degree of immaturity at birth.* Circulation, 2005. **112**(22): p. 3430-6.
28. Koupil, I., D.A. Leon, and L. Byberg, *Birth weight, hypertension and "white coat" hypertension: size at birth in relation to office and 24-h ambulatory blood pressure.* J Hum Hypertens, 2005. **19**(8): p. 635-42.
29. Rossi, P., et al., *[Arterial blood pressure and arterial stiffness in adolescents are related to gestational age].* Arch Mal Coeur Vaiss, 2006. **99**(7-8): p. 748-51.
30. Lane-Cordova, A.D., et al., *Pre-pregnancy endothelial dysfunction and birth outcomes: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study.* Hypertens Res, 2018. **41**(4): p. 282-289.
31. Lawlor, D.A., et al., *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): p. 1414-8.
32. Hofman, P.L., et al., *Premature birth and later insulin resistance.* N Engl J Med, 2004. **351**(21): p. 2179-86.
33. Hovi, P., et al., *Glucose regulation in young adults with very low birth weight.* N Engl J Med, 2007. **356**(20): p. 2053-63.
34. Lawlor, D.A., G. Davey Smith, and S. Ebrahim, *Birth weight of offspring and insulin resistance in late adulthood: cross sectional survey.* BMJ, 2002. **325**(7360): p. 359.
35. Lawlor, D.A., et al., *The association of birthweight and contemporary size with insulin resistance among children from Estonia and Denmark: findings from the European Youth Heart Study.* Diabet Med, 2005. **22**(7): p. 921-30.
36. Goodfellow, J., et al., *Endothelial function is impaired in fit young adults of low birth weight.* Cardiovasc Res, 1998. **40**(3): p. 600-6.
37. Martin, H., et al., *Impaired endothelial function and increased carotid stiffness in 9-year-old children with low birthweight.* Circulation, 2000. **102**(22): p. 2739-44.

38. Hiedl, S., et al., *Microcirculation in preterm infants: profound effects of patent ductus arteriosus*. J Pediatr, 2010. **156**(2): p. 191-6.
39. Bonamy, A.K., et al., *Preterm birth contributes to increased vascular resistance and higher blood pressure in adolescent girls*. Pediatr Res, 2005. **58**(5): p. 845-9.
40. Hellstrom, A., et al., *Abnormal retinal vascularisation in preterm children as a general vascular phenomenon*. Lancet, 1998. **352**(9143): p. 1827.
41. Lüllmann-Rauch, R., *Histologie*. 5th ed. 2015, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
42. Drenckhahn, D., *Anatomie Band 2 - Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie*. 16th ed. 2004, München: Elsevier GmbH.
43. Huppelsberg, J. and K. Walter, *Kurzlehrbuch - Physiologie*. 3rd ed. 2009, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
44. Mayer, K.M., *Observations on the capillaries of the normal infant*. American Journal of Diseases of Children, 1921. **22**(4): p. 381-387.
45. Schwalm, H., *Die Hautkapillaren bei Neugeborenen*. Arch Kinderheilkunde, 1934. **103**: p. 129-137.
46. M., M.A. and R. C.-E., *Vergleich zwischen dem Kapillarnetz des frühgeborenen und dem des reifen Kindes und Über die Bedeutung des unentwickelten Kapillarnetzes bei der Entstehung gewisser bei Frühgeburten vorkommender Eigenschaften*. Acta Paediatrica, 1935. **18**(1-2): p. 118-141.
47. De Backer, D., et al., *Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis*. Am J Respir Crit Care Med, 2002. **166**(1): p. 98-104.
48. Spronk, P.E., D.F. Zandstra, and C. Ince, *Bench-to-bedside review: sepsis is a disease of the microcirculation*. Crit Care, 2004. **8**(6): p. 462-8.
49. Spanos, A., et al., *Early microvascular changes in sepsis and severe sepsis*. Shock, 2010. **33**(4): p. 387-91.
50. Sakr, Y., et al., *Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock*. Crit Care Med, 2004. **32**(9): p. 1825-31.
51. De Backer, D., et al., *Microvascular alterations in patients with acute severe heart failure and cardiogenic shock*. Am Heart J, 2004. **147**(1): p. 91-9.
52. Knotzer, H. and W. Hasibeder, *[Microcirculation of intensive care patients. From the physiology to the bedside]*. Anaesthesist, 2008. **57**(2): p. 151-64.
53. Mulvany, M.J., et al., *Vascular remodeling*. Hypertension, 1996. **28**(3): p. 505-6.
54. Feihl, F., et al., *Hypertension: a disease of the microcirculation?* Hypertension, 2006. **48**(6): p. 1012-7.
55. Antonios, T.F., et al., *Rarefaction of skin capillaries in borderline essential hypertension suggests an early structural abnormality*. Hypertension, 1999. **34**(4 Pt 1): p. 655-8.
56. Levy, B.I., et al., *Microcirculation in hypertension: a new target for treatment?* Circulation, 2001. **104**(6): p. 735-40.
57. Levy, B.I., M. Duriez, and J.L. Samuel, *Coronary microvasculature alteration in hypertensive rats. Effect of treatment with a diuretic and an ACE inhibitor*. Am J Hypertens, 2001. **14**(1): p. 7-13.

58. Sabri, A., et al., *Microvasculature in angiotensin II-dependent cardiac hypertrophy in the rat*. Hypertension, 1998. **32**(2): p. 371-5.
59. Kobayashi, N., et al., *Benidipine stimulates nitric oxide synthase and improves coronary circulation in hypertensive rats*. Am J Hypertens, 1999. **12**(5): p. 483-91.
60. Prewitt, R.L., Chen, H., and R. Dowell, *Development of microvascular rarefaction in the spontaneously hypertensive rat*. Am J Physiol, 1982. **243**(2): p. H243-51.
61. le Noble, F.A., et al., *Angiogenesis and hypertension*. J Hypertens, 1998. **16**(11): p. 1563-72.
62. Kiefer, F.N., et al., *Hypertension and angiogenesis*. Curr Pharm Des, 2003. **9**(21): p. 1733-44.
63. Boudier, H.A., *[Hypertension and microcirculation]*. Arch Mal Coeur Vaiss, 2002. **95 Spec No 6**: p. 17-22.
64. Battagay, E.J., et al., *Effects of anti-hypertensive drugs on vessel rarefaction*. Curr Opin Pharmacol, 2007. **7**(2): p. 151-7.
65. Belenkov Iu, N., et al., *[Remodeling of vascular bed in patients with arterial hypertension: possibilities of diagnostics and correction]*. Kardiologija, 2012. **52**(6): p. 67-72.
66. Versari, D., et al., *Effect of verapamil, trandolapril and their combination on vascular function and structure in essential hypertensive patients*. Atherosclerosis, 2009. **205**(1): p. 214-20.
67. Braun, B., et al., *NETTERS Innere Medizin*. 2nd ed. 2014, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG. 841.
68. Algenstaedt, P., et al., *Microvascular alterations in diabetic mice correlate with level of hyperglycemia*. Diabetes, 2003. **52**(2): p. 542-9.
69. Popescu, R.M., et al., *Vascular and nerve lesions of the diabetic foot--a morphological study*. Rom J Morphol Embryol, 2010. **51**(3): p. 483-8.
70. Fong, D.S., et al., *Retinopathy in diabetes*. Diabetes Care, 2004. **27 Suppl 1**: p. S84-7.
71. Flynn, M.D. and J.E. Tooke, *Diabetic neuropathy and the microcirculation*. Diabet Med, 1995. **12**(4): p. 298-301.
72. Jaap, A.J., et al., *Skin capillary density in subjects with impaired glucose tolerance and patients with type 2 diabetes*. Diabet Med, 1996. **13**(2): p. 160-4.
73. Nussbaum, C., et al., *Early microvascular changes with loss of the glycocalyx in children with type 1 diabetes*. J Pediatr, 2014. **164**(3): p. 584-9.e1.
74. Debbabi, H., et al., *Increased skin capillary density in treated essential hypertensive patients*. Am J Hypertens, 2006. **19**(5): p. 477-83.
75. Artigao-Rodenas, L.M., et al., *Framingham risk score for prediction of cardiovascular diseases: a population-based study from southern Europe*. PLoS One, 2013. **8**(9): p. e73529.
76. Rodondi, N., et al., *Framingham risk score and alternatives for prediction of coronary heart disease in older adults*. PLoS One, 2012. **7**(3): p. e34287.
77. Holloway, G.A., Jr. and D.W. Watkins, *Laser Doppler measurement of cutaneous blood flow*. J Invest Dermatol, 1977. **69**(3): p. 306-9.
78. Christ, F., A. Bauer, and D. Brugger, *Different optical methods for clinical monitoring of the microcirculation*. Eur Surg Res, 2002. **34**(1-2): p. 145-51.

79. Jobsis, F.F., *Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters*. Science, 1977. **198**(4323): p. 1264-7.
80. Teichmann, K., *Beobachtungen über Stoffaustausch im Capillargebiet mit Hilfe der intravitalem Fluoreszenzmikroskopie*. Z ges exp Med, 1942. **110**: p. 732-745.
81. Slaaf, D.W., et al., *A versatile incident illuminator for intravital microscopy*. Int J Microcirc Clin Exp, 1987. **6**(4): p. 391-7.
82. Boehm, D.H., et al., *First application of intravital microscopy on the beating heart using OPS imaging*. J Vasc Res, 2000. **37**: p. 23.
83. Langer, S., et al., *Orthogonal polarization spectral imaging as a tool for the assessment of hepatic microcirculation: a validation study*. Transplantation, 2001. **71**(9): p. 1249-56.
84. Mathura, K.R., G.J. Bouma, and C. Ince, *Abnormal microcirculation in brain tumours during surgery*. Lancet, 2001. **358**(9294): p. 1698-9.
85. Uhl, E., et al., *Intraoperative Observation of Human Cerebral Microcirculation*. Prog Appl Microcirc. Basel, Karger, 2000. **24**: p. 72-81.
86. Bauer, A., et al., *Monitoring of the sublingual microcirculation in cardiac surgery using orthogonal polarization spectral imaging: preliminary results*. Anesthesiology, 2007. **107**(6): p. 939-45.
87. De Backer, D., et al., *Monitoring the microcirculation in the critically ill patient: current methods and future approaches*. Intensive Care Med, 2010. **36**(11): p. 1813-25.
88. Klijn, E., et al., *The heterogeneity of the microcirculation in critical illness*. Clin Chest Med, 2008. **29**(4): p. 643-54, viii.
89. Klitzman, B., et al., *Wound-Induced Angiogenesis: A Clinical Model*. Prog Appl Microcirc Basel, Karger, 2000. **24**: p. 110-114.
90. Langer, S., et al., *[Direct visualization of microcirculation in burn wounds with OPS imaging--is determination of depth of burns possible?]*. Kongressbd Dtsch Ges Chir Kongr, 2002. **119**: p. 756-8.
91. Langer, S., et al., *Orthogonal polarization spectral imaging versus intravital fluorescent microscopy for microvascular studies in wounds*. Ann Plast Surg, 2002. **48**(6): p. 646-53.
92. Goedhart, P.T., et al., *Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation*. Optics Express, 2007. **15**(23): p. 15101-15114.
93. Harris, A.G., I. Sinitsina, and K. Messmer, *The Cytoscan Model E-II, a new reflectance microscope for intravital microscopy: comparison with the standard fluorescence method*. J Vasc Res, 2000. **37**(6): p. 469-76.
94. Mathura, K.R., et al., *Comparison of OPS imaging and conventional capillary microscopy to study the human microcirculation*. J Appl Physiol (1985), 2001. **91**(1): p. 74-8.
95. Harris, A.G., I. Sinitsina, and K. Messmer, *Validation of OPS imaging for microvascular measurements during isovolumic hemodilution and low hematocrits*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002. **282**(4): p. H1502-9.
96. Vellinga, N.A., C. Ince, and E.C. Boerma, *Microvascular dysfunction in the surgical patient*. Curr Opin Crit Care, 2010. **16**(4): p. 377-83.

97. Petersen, S.M., et al., *Sidestream dark field images of the microcirculation: intra-observer reliability and correlation between two semi-quantitative methods for determining flow*. BMC Med Imaging, 2014. **14**: p. 14.
98. De Backer, D., et al., *How to evaluate the microcirculation: report of a round table conference*. Crit Care, 2007. **11**(5): p. R101.
99. Held, L., K. Rufibach, and B. Seifert, *Medizinische Statistik - Konzepte, Methoden, Anwendungen*. 2013, Hallbergmoos: Pearson Deutschland GmbH.
100. Bonamy, A.K., et al., *Lower skin capillary density, normal endothelial function and higher blood pressure in children born preterm*. J Intern Med, 2007. **262**(6): p. 635-42.
101. Goh, K.L., et al., *Impaired microvascular vasodilatory function in 3-month-old infants of low birth weight*. Diabetes Care, 2001. **24**(6): p. 1102-7.
102. Correa, M.J., L.E. Andrade, and C. Kayser, *Comparison of laser Doppler imaging, fingertip lacticemetry test, and nailfold capillaroscopy for assessment of digital microcirculation in systemic sclerosis*. Arthritis Res Ther, 2010. **12**(4): p. R157.
103. Lee, H., et al., *In adolescence, extreme prematurity is associated with significant changes in the microvasculature, elevated blood pressure and increased carotid intima-media thickness*. Arch Dis Child, 2014. **99**(10): p. 907-11.
104. Whincup, P.H., et al., *Birth weight and risk of type 2 diabetes: a systematic review*. JAMA, 2008. **300**(24): p. 2886-97.
105. Kistner, A., et al., *Low gestational age associated with abnormal retinal vascularization and increased blood pressure in adult women*. Pediatr Res, 2002. **51**(6): p. 675-80.
106. Noon, J.P., et al., *Impaired microvascular dilatation and capillary rarefaction in young adults with a predisposition to high blood pressure*. J Clin Invest, 1997. **99**(8): p. 1873-9.
107. Prasad, A., et al., *Capillary rarefaction in the forearm skin in essential hypertension*. J Hypertens, 1995. **13**(2): p. 265-8.
108. Pries, A.R., T.W. Secomb, and P. Gaetgens, *Structural autoregulation of terminal vascular beds: vascular adaptation and development of hypertension*. Hypertension, 1999. **33**(1): p. 153-61.
109. Lewandowski, A.J., et al., *Elevated blood pressure in preterm-born offspring associates with a distinct antiangiogenic state and microvascular abnormalities in adult life*. Hypertension, 2015. **65**(3): p. 607-14.
110. Brenner, B.M., *The etiology of adult hypertension and progressive renal injury: an hypothesis*. Bull Mem Acad R Med Belg, 1994. **149**(1-2): p. 121-5; discussion 125-7.
111. Johansson, S., et al., *Increased catecholamines and heart rate in children with low birth weight: perinatal contributions to sympathoadrenal overactivity*. J Intern Med, 2007. **261**(5): p. 480-7.
112. Singhal, A., *Early nutrition and long-term cardiovascular health*. Nutr Rev, 2006. **64**(5 Pt 2): p. S44-9; discussion S72-91.
113. Singhal, A., T.J. Cole, and A. Lucas, *Early nutrition in preterm infants and later blood pressure: two cohorts after randomised trials*. Lancet, 2001. **357**(9254): p. 413-9.
114. Genzel-Boroviczeny, O., et al., *Orthogonal polarization spectral imaging (OPS): a novel method to measure the microcirculation in term and preterm infants transcutaneously*. Pediatr Res, 2002. **51**(3): p. 386-91.

115. Bonamy, A.K., et al., *Preterm birth and carotid diameter and stiffness in childhood*. Acta Paediatr, 2008. **97**(4): p. 434-7.
116. Serne, E.H., et al., *Birth weight relates to blood pressure and microvascular function in normal subjects*. J Hypertens, 2000. **18**(10): p. 1421-7.
117. Singhal, A., et al., *Preterm birth, vascular function, and risk factors for atherosclerosis*. Lancet, 2001. **358**(9288): p. 1159-60.
118. Norman, M. and H. Martin, *Preterm birth attenuates association between low birth weight and endothelial dysfunction*. Circulation, 2003. **108**(8): p. 996-1001.

Danksagung

Danken möchte ich zunächst meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Genzel-Boroviczény, für die Ermöglichung dieser Arbeit, für die Unterstützung und die Begleitung über diese Zeit. Meine wichtigste Ansprechpartnerin, die stets ein offenes Ohr für meine Fragen hatte und mir immer weiterhelfen konnte, und das obwohl es privat so viele Veränderungen und Ereignisse gab, war meine Betreuerin Dr. Alexandra Puchwein-Schweppcke. Vielen Dank, dass ich mich immer an dich wenden konnte. Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch bei meinem Papa und seinen Kollegen aus der Gemeinschaftspraxis für Kinder- und Jugendmedizin in Tuttlingen für die tatkräftige Unterstützung bei der Rekrutierung und Untersuchung der Kinder für die Kontrollgruppe.

Die Arbeit an der Doktorarbeit beinhaltet viele Höhen und Tiefen, da ist es schön, wenn man damit nicht allein ist. Um sich gegenseitig Mut zuzusprechen, sich gemeinsam zu ärgern, sich über Erfolge zu freuen oder das alles einfach mal zu vergessen. Ich bin sehr dankbar, so tolle Freunde zu haben. Und natürlich danke ich meiner wunderbaren Familie, die mich durch mein ganzes Studium jederzeit mit voller Kraft unterstützt hat und immer für mich da war.

Vielen herzlichen Dank an euch alle.

Eidesstattliche Versicherung

Kathrin Mattheß

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Vergleich der Mikrozirkulation von Haut und Schleimhaut ehemals sehr frühgeborener und reifgeborener Kinder im Alter von 7 bis 10 Jahren

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Traunstein, 02.12.2020

Ort, Datum

Kathrin Mattheß

Unterschrift Doktorandin