

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik
im Dr. von Haunerschen Kinderspital
Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. sci. nat. Christoph Klein

***„Veränderungen der sublingualen Mikrozirkulation und der
mikrovaskulären endothelialen Glykokalyx bei Kindern im
peri- und postoperativen Setting“***

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

vorgelegt von

Marie Christin Wagner
geb. Kreis

aus

Starnberg

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. med. Claudia Nußbaum

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Bernhard F. Becker
Prof. Dr. med. Bernhard Heindl

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 08.12.2022

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Zusammenfassung	5
Abbildungsverzeichnis	8
Tabellenverzeichnis	9
Abkürzungsverzeichnis	10
1. Einleitung	12
1.1. Volumetherapie	12
1.1.1. Blutvolumen und Zusammensetzung	12
1.1.2. Volumenersatz	13
1.1.3. Auswirkungen des Volumenhaushalts auf die Organe und hämodynamisches Monitoring	17
1.2. Glykokalyx	19
1.2.1. Aufbau der Glykokalyx	20
1.2.2. Funktionen der Glykokalyx	21
1.2.3. Pathophysiologie der Glykokalyx	22
1.3. Mikrozirkulation	24
1.3.1. Definition und Aufbau der Mikrozirkulation	24
1.3.2. Regulationsmechanismen	25
1.3.3. Bedeutung der Mikrozirkulation	28
1.4. Visualisierung von Glykokalyx und Mikrozirkulation	28
1.4.1. Technische Daten - Mikrozirkulation	28
1.4.2. Technische Daten - Glykokalyxmessung	30
2. Zielsetzung	32
3. Material und Methoden	33
3.1. Patientenrekrutierung	33
3.2. Einverständniserklärung	33
3.3. Materialien	34
3.3.1. Glykokalyxstudie	34
3.3.2. Mikrozirkulationsstudie	34
3.4. Methoden	35
3.4.1. Aufbau der Messgeräte	35
3.4.2. Ablauf der Studie	36
3.4.3. Methoden zur Auswertung der Daten	38
3.4.4. Parameter der Mikrozirkulation	41
3.4.5. Parameter der Glykokalyx	41
3.4.6. Nachweis der Glykokalyxabbauprodukte im Blut durch ELISA	42
3.4.7. Erhebung klinischer Daten	44
3.4.8. Statistische Methoden	45

Inhaltsverzeichnis

3.4.9.	Graphische Auswertung	45
4.	Ergebnisse	46
4.1.	Patientenkollektiv	46
4.2.	Auswertung der Daten unter Einbezug aller Studienteilnehmer (T ₀ vs. T ₁)	47
4.2.1.	Klinische Daten	47
4.2.2.	Mikrozirkulation	50
4.2.3.	Glykokalyx	53
4.3.	Auswertung der Daten der Subgruppe	54
4.3.1.	Mikrozirkulation	54
4.3.2.	Glykoklayx	55
5.	Diskussion	56
5.1.	MAD und Herzfrequenz	56
5.2.	Volumentherapie und Bilanzen	57
5.3.	Diameter Distribution	59
5.4.	Total vessel density	60
5.5.	Microvascular flow index	61
5.6.	PBR und Glykokalyxabbauprodukte	61
5.7.	Studienlimitation	63
5.8.	Ausblick	65
6.	Literaturverzeichnis	67
7.	Anhang	80
7.1.	Aufklärung der Eltern	80
7.2.	Aufklärung der Patienten (Kinder)	85
7.3.	Protokoll zur Erhebung der klinischen Daten	88
8.	Danksagung	91
9.	Affidavit	92
10.	Publikationsliste	93

Zusammenfassung

Einleitung:

Klassischerweise werden im perioperativen Setting bei Patienten makrozirkulatorische Parameter wie Blutdruck oder Herzfrequenz zur Beurteilung der Hämodynamik und Organperfusion erhoben. Diese spiegeln jedoch insbesondere bei Kindern nur unzureichend Veränderungen in der Mikrozirkulation sowie damit auch der Durchblutung wichtiger Organe wider. Die Sidestream Darkfield Imaging Technik bietet die Möglichkeit die Gefäße der Mikrozirkulation sowie die Glykokalyx in vivo direkt am Patientenbett zu beurteilen.

In dieser klinischen Beobachtungsstudie wurden Veränderungen der endothelialen Glykokalyx sowie der sublingualen Mikrozirkulation bei Kindern im perioperativen Setting analysiert und mit klinischen Parametern sowie der intraoperativen Volumentherapie korreliert.

Material und Methoden:

Einschlusskriterien waren das Patientenalter (<18 Jahre), eine Operationsdauer größer 2 Stunden, postoperative Überwachung auf der Kinderintensivstation sowie schriftliche Einwilligung zur Studienteilnahme nach ausführlicher Aufklärung. Ausgeschlossen wurden Kinder mit kürzerer Operationsdauer, septischem Schock, schwerem Schädelhirntrauma, nach kardiochirurgischem Eingriff oder aufgrund der Ablehnung der Teilnahme durch die Erziehungsberechtigten. Es konnten 11 Kinder in die Studie eingeschlossen werden.

Die Messzeitpunkte wurden auf unmittelbar präoperativ (T₀), unmittelbar postoperativ (T₁) sowie 6 Stunden postoperativ (T₂) und 24 Stunden postoperativ (T₃) festgelegt.

Die Beurteilung der sublingualen Mikrozirkulation sowie der mikrovaskulären Glykokalyx erfolgte nicht-invasiv durch Video-Imaging in Sidestream Dark Field Technik. Die Auswertung der Daten erfolgte mittels Software der Firma GlycoCheck bzw. MicroVision Medical (AVA 3.2). Zudem wurden klinische Routineparameter im Rahmen der anästhesiologischen Betreuung sowie Serumproben gewonnen. Der Nachweis von Glykokalyxabbauprodukten im Serum erfolgte mittels ELISA.

Zur Auswertung der Daten erfolgte eine Differenzierung zwischen dem Gesamtkollektiv, bei dem Daten zu den Messzeitpunkten T₀ und T₁ vorliegen (n = 11), und einer

Zusammenfassung

Subgruppe, die aus den Teilnehmern besteht, für die Daten zu allen drei Messzeitpunkten (T_0 , T_1 , T_2) vorliegen ($n = 6$). Der Zeitpunkt T_3 wurde aufgrund zu geringer Anzahl möglicher Messungen von der statistischen Auswertung ausgeschlossen.

Ergebnisse:

In der Analyse des Gesamtkollektivs konnten in der Studie eine signifikante Abnahme der Kapillardichte (Median TVD_{small} T_0 : 10,6 mm/mm² vs. T_1 : 8,1 mm/mm²; $p = 0,01$) eine signifikante Zunahme des Microcirculatory Flow Index (Median MFI_{small} T_0 : 3.0 vs. T_1 3.1; $p = 0,0098$) sowie eine statistisch signifikante Veränderung der Diameter Distribution im Sinne einer Umverteilung der kleinen zugunsten der mittleren Gefäße von Zeitpunkt T_0 zu T_1 dargestellt werden. Gleichzeitig ließ sich ein signifikanter Anstieg der Syndecan-1 und der Hyaluronan- Konzentration im Blut nachweisen (Median Syndecan-1 T_0 : 50,7 ng/ml vs. T_1 : 109,4 ng/ml; $p = 0,0059$, Median Hyaluronan T_0 : 109,9 ng/ml vs. T_1 : 173,2 ng/ml; $p = 0,001$). Die statistische Auswertung der Veränderungen der Mikrozirkulationsparameter sowie der Glykokalyxabbauprodukte zeigten keinen signifikanten Zusammenhang mit der intraoperativ verabreichten Menge an kristalloiden und kolloidalen Lösungen und Blutprodukten. Die TVD_{small} korrelierte invers mit der Katecholamintherapie ($r = -0,65$; $p = 0,04$).

In der Subgruppenanalyse zeigte sich ebenso wie im Gesamtkollektiv eine signifikante Abnahme der TVD_{small} von Zeitpunkt T_0 zu T_1 . Zu Zeitpunkt T_2 näherten sich die Messwerte wieder dem Ausgangswert an, sodass hier keine weitere signifikante Entwicklung zu detektieren war.

Die PBR veränderte sich sowohl im Gesamtkollektiv wie auch in der Subgruppe über die Messzeitpunkte hinweg in keinem signifikanten Ausmaß.

Diskussion:

Die Beschränkung der signifikanten Veränderungen auf den Zeitraum von T_0 bis T_1 lässt vermuten, dass es sich dabei um akute Phänomene handelt, wobei die geringe Anzahl an Messungen zum Zeitpunkt T_2 die Aussagekraft einschränkt. Diameter Distribution und TVD_{small} sind dabei insbesondere durch die medikamentöse Therapie mittels Katecholamine und Vasopressoren, die Autoregulation der Gefäße sowie die Volumentherapie beeinflusst. Die Konsequenzen dieser Veränderungen können jedoch in dieser rein als Beobachtungsstudie angelegten Arbeit nicht geklärt werden. Die

Stabilität der PBR spricht dabei gegen einen ausgeprägten Shedding Effekt beziehungsweise im Hinblick auf die vermehrten Glykokalyxabbauprodukte im Blut für eine ausreichende Regenerationsfähigkeit der Glykokalyx.

Aufgrund der geringen Patientenzahl und dem stark heterogenen Patientengut ist die Aussagekraft der Studie limitiert. Trotz der Studienlimitationen lässt sich festhalten, dass die nicht - invasive Observation der Mikrozirkulation und Glykokalyx in vivo eine große Chance darstellt, Defizite der Perfusion zu erkennen – insbesondere dann, wenn die klinischen Parameter wie Blutdruck, zentralvenöse Sättigung oder Laktatspiegel im Serum keinen oder noch keinen Anhalt für eine defizitäre Sauerstoffversorgung in den Organen liefern – und durch Therapieoptimierung eine Endorganschädigung abzuwenden.

Es besteht jedoch die Notwendigkeit im Rahmen eines multizentrischen Studiendesigns größere Patientenkollektive zu rekrutieren, um verlässliche Aussagen für intraoperative Veränderungen, Prävention und Therapie von Störungen der Mikrozirkulation und Glykokalyx ableiten zu können und diese Ergebnisse mit dem Patientenoutcome zu vergleichen.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schemazeichnung der endothelialen Glykokalyx.....	20
Abbildung 2: Elektronenmikroskopische Darstellung der Plasmamembran einer Epithelzelle des Ösophagus (Affe)	21
Abbildung 3: Elektronenmikroskopisches Bild der endothelialen Glykokalyx	21
Abbildung 4: „Schematische Darstellung der terminalen Strombahn“	24
Abbildung 5: Darstellung von Kapillaren im Elektronenmikroskop	25
Abbildung 6: Darstellung der Regulationsmechanismen des Gefäßstatus durch die NO-Synthase	27
Abbildung 7: Schematische Darstellung der Sidestream Darkfield Imaging Technik.....	29
Abbildung 8: Exemplarische Darstellung Glykokalyxmessung aus Patient Report Patient 012vl121017, 1. postoperative Messung	30
Abbildung 9: Schemazeichnung Gefäßlängsschnitt	31
Abbildung 10: Aufbau der Messgeräte.....	35
Abbildung 11: MicroScan Kamera in SDF Technik.....	36
Abbildung 12: Studienablauf.....	36
Abbildung 13: AVA 3.2 Zuschneiden der VideoLoops	38
Abbildung 14: AVA 3.2 Automatische Gefäßerkennung	39
Abbildung 15: AVA 3.2 Bestimmung des MFI	39
Abbildung 16: GlycoCheck Measurement Bildschirm	40
Abbildung 17: Graphische Darstellung von Dperf und PBR	40
Abbildung 18: Sandwich-ELISA zum Syndecan-1 Nachweis.....	43
Abbildung 19: Patientenzahlen nach Messzeitpunkt.....	47
Abbildung 20: TVD small vessels T ₀ vs. T ₁ dargestellt als Box-Plot (Median, Min/Max).....	51
Abbildung 21: Korrelation Norepinephrin - TVD small	51
Abbildung 22: Vessel diameter distribution T ₀ vs. T ₁	52
Abbildung 23: Diameter distribution T ₀ vs. T ₁ dargestellt als Box-Plot (Median, Min/Max).....	52
Abbildung 24: MFI small vessels dargestellt als Box-Plot (Median, Min/Max)	53
Abbildung 25: PBR 5-25 µm T ₀ vs. T ₁ dargestellt als Box-Plot (Median, Min/Max).....	53
Abbildung 26: Hyaluronan und Syndecan T ₀ vs. T ₁	54
Abbildung 27: TVD small Subgruppe T ₀ -T ₂ dargestellt als Box-Plot (Median, Min/Max).....	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Flüssigkeitsvolumen im Extrazellularraum aufgespalten nach Alter des Kindes	13
Tabelle 2: perioperatives Flüssigkeitsmanagement bei Kindern	16
Tabelle 3: Flüssigkeits-/ Volumenbedarf von Kindern im perioperativen Setting	17
Tabelle 4: Zeitlicher Ablauf der Maßnahmen	37
Tabelle 5: Patientenkollektiv	46
Tabelle 6: Volumen- und Flüssigkeitstherapie im Zeitraum T ₀ bis T ₁ in ml/kgKG/h	48
Tabelle 7: Volumentherapie Zeitraum T ₀ bis T ₁ in ml/kgKG	49
Tabelle 8: intraoperative Katecholamintherapie	50

Abkürzungsverzeichnis

AF	-	Atemfrequenz
ANP	-	atriales natriuretisches Peptid
AVA	-	automated vascular analysis ®
DGAI	-	Deutsche Gesellschaft für Anästhesie und Intensivmedizin
EK	-	Erythrozytenkonzentrat
ELISA	-	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FFP	-	Fresh Frozen Plasma
GAG	-	Glykosaminoglykan
GFP	-	gefrorenes Frischplasma
Hb	-	Hämoglobin
HF	-	Herzfrequenz
IDF	-	Incident Darkfield Imaging
KG	-	Körpergewicht
LED	-	Lichtemittierende Diode
LMU	-	Ludwig-Maximilians-Universität München
MAD	-	Mittlerer arterieller Druck
MFI	-	Microcirculatory flow index
NIRS	-	Nahinfrarotspektroskopie
NO	-	Stickstoffmonoxid
OP	-	Operation
OPS	-	Orthogonal Polarisation Spectral
PBR	-	Perfused Boundary Region
postOP	-	nach der Operation

Abkürzungsverzeichnis

präOP	-	vor der Operation
PPV	-	Portion of perfused vessels
PVD	-	Perfused vessel density
SDF	-	Sidestream Dark Field Imaging
SpO2	-	Sauerstoffsättigung
TK	-	Thrombozytenkonzentrat
TVD	-	Total vessel density

1. Einleitung

1.1. Volumentherapie

1.1.1. Blutvolumen und Zusammensetzung

Das Blutvolumen unterscheidet sich bei Erwachsenen und Kindern. Es korreliert mit dem Körpergewicht sowie vielen weiteren Einflussfaktoren, wie z.B. dem Hydratationsstatus. In Lehrbüchern der Physiologie findet man als grobe Angabe ein Blutvolumen bei Erwachsenen von 6-8% des Körpergewichts, bei Kindern von 8-9% des Körpergewichts (1). Dabei setzt es sich aus den zellulären Bestandteilen und dem Blutplasma zusammen. Bestimmt man durch Zentrifugieren einer Blutprobe den Hämatokrit-Wert, so trennt man die zellulären von den nicht-zellulären Bestandteilen ab und misst den Anteil der Erythrozyten (zelluläre Bestandteile) am Blutvolumen. Der Hämatokrit-Wert ändert sich mit dem Hydratationszustand des Patienten und lässt Schlüsse auf die Blutviskosität und den Volumenstatus zu. Bei der Verteilung des Flüssigkeitsvolumens im Körper gilt es zu beachten, dass es zwei große Kompartimente gibt: Intrazellulärraum und Extrazellulärraum. Letzterer wird unterteilt in den Intravasalraum, den transzellulären Raum und das Interstitium. Kleine Moleküle wie Wasser und Elektrolyte können den Intravasalraum durch Diffusion entlang des Konzentrationsgradienten verlassen, wohingegen Makromoleküle wie Albumin nur sehr langsam bis gar nicht ins Interstitium gelangen können. Durch diese Gegebenheit besteht ein kolloidosmotischer Druck im Intravasalraum durch die Plasmaproteine, der die Flüssigkeit intravasal hält (1). Dies ist entscheidend für die Volumentherapie und gibt die Grundlage zur Differenzierung zwischen kolloidalem oder kristallinem Volumenersatz. Die S1-Leitlinie "perioperative Infusionstherapie bei Kindern" (2) liefert eine Tabelle zur Veranschaulichung der Verteilung des Volumens in Abhängigkeit vom Alter des Kindes, wonach bei Neugeborenen (1.-28. Lebenstag) das extrazelluläre Flüssigkeitsvolumen bei 40%, bei Säuglingen (bis zum 1. Lebensjahr) bei 30% und ab dem 2. Lebensjahr bis zum Erwachsenenalter bei ca. 20% liegt (2) (Tabelle 1).

Tabelle 1: Altersgruppen und extrazelluläres Flüssigkeitsvolumen (EZFV)		
Altersgruppe	Alter	EZFV
Neugeborene	1.- 28. Lebenstag	40%
Säuglinge	bis 1. Lebensjahr	30%
Kleinkinder	2.- 5. Lebensjahr	20%
Schulkinder	Ab 6. Lebensjahr	20%

Tabelle 1: Flüssigkeitsvolumen im Extrazellularraum aufgespalten nach Alter des Kindes (2)

1.1.2. Volumenersatz

Gibt es eine Indikation zur Volumensubstitution, so bieten sich zahlreiche Möglichkeiten mit unterschiedlichen Substanzen zu intervenieren. Dabei gilt es - je nach Ursache des Volumenmangels - zwischen kristalloiden und kolloidalen Lösungen oder Blutprodukten zu entscheiden.

Kristalloide Lösungen:

Kristalloide Lösungen setzen sich aus gelösten Elektrolyten unterschiedlicher Konzentration und ggf. metabolischen Komponenten wie beispielsweise Glucose oder Acetat zusammen. Bei sogenannten balancierten Vollelektrolytlösungen ähneln die Konzentrationen der Ionen der Plasmazusammensetzung, wodurch Elektrolytentgleisungen wie Hypo-, Hybernatriämie, Hypo-, Hyperkaliämie oder Hyperchlorämie mit pH-Wertverschiebungen vermieden werden sollen. Dennoch bedarf es engmaschiger Kontrollen des Elektrolytstatus durch Blutgasanalysen oder Laborkontrollen um Elektrolytstörungen rechtzeitig erkennen und behandeln zu können, da durch intra- oder perioperative Interventionen und Reaktionen des Körpers (Nierenfunktionsstörungen, Freisetzung von Ionen aus lysierten Zellen, enzymproduzierende Tumoren) die Ionen im Plasma aus dem Gleichgewicht gebracht werden können. Innerhalb der Kristalloide lassen sich isotone, hypotone und hypertone Lösungen unterscheiden. Zu den isotonen Lösungen gehören Vollelektrolytlösungen wie Ringer-Lactat®, Jonosteril® oder Sterofundin®, diese sind derzeit 1. Wahl zum Volumenersatz. Betrachtet man die S3 Leitlinie zur Intravasalen Volumentherapie bei Erwachsenen sowie die S1-Leitlinie zur Volumentherapie bei Kindern sind insbesondere balancierte Vollelektrolytlösungen zu bevorzugen (3). Zu den hypotonen Lösungen zählt die Glucose 5%, jedoch sollte man beachten, dass durch die schnelle

Verstoffwechslung der Glucose „freies Wasser“ entsteht, das im Extremfall zu einem Hirnödem führen kann (4). Im Gegensatz zu Kolloiden enthalten kristalline Lösungen keine Makromoleküle, was sich auf die Verteilung des Volumens im menschlichen Körper auswirkt. Nach intravasaler Gabe kommt es zunächst zu einem Anstieg des intravasalen Volumens, jedoch diffundiert nach kurzer Zeit ein Großteil der Elektrolytlösung in das Interstitium ab, da ohne Makromoleküle der intravasale kolloidosmotische Druck fehlt, der die Lösung in den Gefäßen hält. Pharmakologische Nachschlagwerke sprechen von einer Verteilung im Verhältnis 1:4. Daraus ergibt sich die Schlussfolgerung, dass bei Gabe kolloider Lösungen $\frac{1}{4}$ der Menge ausreicht im Vergleich zur kristallinen Lösung, um die gleiche Volumenexpansion zu erreichen (4).

Kolloidale Lösungen

Kolloidale Lösungen bestehen im Gegensatz zu den Kristallinen aus Makromolekülen, die die Gefäße bei intakter Glykokalyx und endothelialer Barriere nicht so schnell oder gar nicht per Diffusion verlassen können, wodurch ein kolloidosmotischer Druck entsteht, der dem Austritt des Wassers ins Interstitium entgegenwirkt. Durch diese Eigenschaft ergibt sich eine höhere Volumenexpansion, jedoch nicht ohne Nebenwirkungen in Kauf nehmen zu müssen. Unter den Kolloiden stehen derzeit Hydroxyäthylstärke (HAES), Gelatine und Humanalbumin im klinischen Alltag zur Verfügung. Als Nebenwirkungen zeigen sich je nach Präparat insbesondere Nierenfunktionsstörungen, anaphylaktische Reaktionen sowie Störungen der Blutgerinnung, die sich auf das Outcome der Patienten wie auch deren Mortalität auswirken (4). Einige Studien haben gezeigt, dass der Einsatz von HAES bei kritisch kranken Patienten – insbesondere Sepsis-Patienten – zu signifikant erhöhtem Auftreten renaler Ereignisse, wie Nierenfunktionsstörungen bis hin zum Nierenversagen, führt (2, 5). In der „European prospective multicenter observational postauthorization safety study“ von Sümpelmann et al. wurde der Einsatz von Hydroxyäthylstärke und deren Auswirkungen auf Mortalität und Nierenfunktion bei 1130 Kindern bis zum 12. Lebensjahr beobachtet (6). Dabei stellte sich HAES in moderater Dosierung als relativ sicheres Plasmaersatzmittel bei Neugeborenen und Kindern heraus, mit einem geringen Risiko für Nierenfunktionsstörungen. Jedoch ist besondere Vorsicht geboten bei Patienten mit Sepsis, bestehenden Nierenfunktionsstörungen oder Gerinnungsstörungen (6). Es besteht kein signifikanter Unterschied in der hämodynamischen Wirksamkeit zwischen Humanalbumin und HAES als kolloidalem

Volumenersatz, wodurch die Präparate als funktionell gleichwertig zu betrachten sind (7).

Blutprodukte

Zu den am meisten verwendeten Blutprodukten zählen Erythrozytenkonzentrate (EK), Thrombozytenkonzentrate (TK) und Fresh Frozen Plasma (FFP). Dabei ist je nach Ausgangslage zu entscheiden, welches Produkt eingesetzt wird. Eine Transfusion von Erythrozytenkonzentraten ist in der Regel ab einem Hb $\leq 6-7$ g/dl indiziert, kann aber im Einzelfall, z.B. im Vorfeld von Operationen mit großem erwartetem Blutverlust, bei anämischer Hypoxie oder eingeschränkter Kompensationsmöglichkeiten auch bei einem Hb zwischen 8 und 10 g/dl erfolgen. Bei einem Hb > 10 g/dl wird nur in sehr seltenen Ausnahmefällen transfundiert (4). Insbesondere Operationen, die die Leberfunktion beeinträchtigen, wie z.B. Resektionen von Tumoren der Leber, aber auch schwerer akuter Blutverlust oder Verbrauchskoagulopathien erfordern die Gabe von Fresh Frozen Plasma. Hierbei ist nicht allein der Volumeneffekt entscheidend, vielmehr die enthaltenen Gerinnungsfaktoren, die einen weiteren unkontrollierten Blutverlust verhindern und die Blutgerinnung stabilisieren. Einige Patienten entwickeln neben Leberfunktionsstörungen auch Thrombozytopenien, die ab einem Wert von $\leq 50000/\mu\text{l}$ bei bevorstehenden Operationen mit Blutungsrisiko mittels Thrombozytenkonzentraten substituiert werden sollten (4).

Dabei gilt zu beachten, dass nach Blutverlust sich eine Transfusion positiv auf die Mortalität auswirken kann, jedoch je nach Art und Menge des Präparats die Mortalität auch steigern kann.

Bei pädiatrischen Patienten gibt es ebenso wie bei Erwachsenen zahlreiche mögliche Komplikationen im Rahmen der Transfusion von Blutprodukten. Hierbei wären vor allem hämolytische Transfusionsreaktionen, allergische Transfusionsreaktionen sowie Transfusionszwischenfälle durch Fehltransfusionen oder bakterielle Kontamination zu nennen (8). Weitere gefürchtete Komplikationen stellen die transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (TRALI = Transfusion-related acute lung injury) und die akute transfusionsassoziierte zirkulatorische Volumenüberladung (TACO = transfusion-associated circulatory overload) dar (8). Eine heutzutage eher selten auftretende Komplikation ist hingegen die Übertragung von Infektionskrankheiten wie Hepatitis oder HIV (8).

Einleitung

Aktuelle Studien weisen auch daraufhin, dass das „age-mismatch“ (9) eine große Rolle bei Komplikationen von pädiatrischen Transfusionen spielt, da die Blutprodukte aus adultem Blut gewonnen werden und somit Blutzellen mit der Reife und Funktion – wie sie im erwachsenen Organismus physiologisch vorkommen – in einen kindlichen Organismus transfundiert werden und dadurch das kindliche hämostaseologische Gleichgewicht durch diesen unterschiedlichen Reifegrad verändern (9). Insgesamt sollte aufgrund der Nebenwirkungen sowie dem Einfluss auf die Mortalität und das Outcome des Patienten eine strenge Indikationsstellung erfolgen (4, 10).

Leitlinienempfehlungen

Betrachtet man die S1 – Leitlinie zur Perioperativen Infusionstherapie bei Kindern, so gilt es die verschiedenen Angriffsstellen der Volumentherapie abzudecken. Zum einen sollte die präoperative Nüchternheit so gering wie möglich gehalten werden und etwaiger Volumenbedarf durch balancierte Vollelektrolytlösung - anhand des Grundumsatzes berechnet – substituiert werden. Zur Volumentherapie stehen zusätzlich bei nicht ausreichendem Effekt der Vollelektrolytlösung Kolloide zur Verfügung. Bei Eingriffen mit erhöhtem Blutverlust können nach strenger Indikationsstellung Blutprodukte wie EK, TK oder FFP eingesetzt werden. Die Verabreichung der Volumentherapie sollte je nach Alter des Kindes entweder durch eine Spritzenpumpe oder normale Schwerkraftinfusionen durchgeführt werden (2). Eine Übersicht über die Empfehlungen gibt folgende Tabelle, die sich an die Vorschläge der S1- Leitlinie anlehnt:

	Grundinfusion	Flüssigkeitstherapie	Volumentherapie	Transfusion
Lösung	Balancierte Vollelektrolytlösung mit 1-2% Glucose	Balancierte Vollelektrolytlösung	Albumin Gelantine Hydroxyäthylstärke	EK FFP TK
Dosierung	10 ml /kg/h	10-20 ml/kg	5-10 ml/kg	10 ml/kg
Therapieansatz nach Größe des Eingriffs				
	Grundinfusion	Flüssigkeitstherapie	Volumentherapie	Transfusion
Kleine Eingriffe	+	-	-	-
Mittlere Eingriffe	+(Dosis ggf. erhöhen)	Bei Bedarf	Bei Bedarf	-
Große Eingriffe	+(Dosis ggf. erhöhen)	Bei Bedarf	Bei Bedarf	Bei Blutverlust oder kritischem Hb

Tabelle 2: perioperatives Flüssigkeitsmanagement bei Kindern, modifiziert nach (2)

Ergänzend zur S1- Leitlinie gab der Wissenschaftliche Arbeitskreis Kinderanästhesie der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin (DGAI) 2006 Empfehlungen zur perioperativen Infusionstherapie bei Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern heraus. Dabei stellen sie den Flüssigkeitsbedarf der Kinder differenzierter dar und geben eine genauere Formel zur Berechnung des Erhaltungsbedarfs nach Alter und Gewichtsklasse zur Hand (Tabelle 3).

	Präoperatives Defizit	Erhaltungsbedarf	Korrekturbedarf	Blutverlust
Volumen	Erhaltungsbedarf x Nüchternzeit (h)	4 ml/kg/h (0-10kg) 2 ml/kg/h (10-20kg) 1 ml/kg/h (20-30kg)	2-4-6-10-30 ml/kg/h	nach Bedarf
Infusionslösung für Flüssigkeits-/ Volumenersatz	Vollelektrolytlösung (ggf. mit Glucosezusatz)	Vollelektrolytlösung (ggf. mit Glucosezusatz)	Vollelektrolytlösung (ggf. mit Glucosezusatz)	Vollelektrolytlösung, HAES, Gelatine, Blutprodukte

Tabelle 3: Flüssigkeits-/ Volumenbedarf von Kindern im perioperativen Setting, modifiziert nach (11)

Der intraoperative Flüssigkeitsbedarf liegt je nach Größe und Art des Eingriffes sehr unterschiedlich, sodass eine Abschätzung des Korrekturbedarfs anhand der hämodynamischen Parameter und Erfahrung des Anästhesisten erfolgen muss. Als groben Richtwert gibt die DGAI für Operationen mit geringem Gewebetrauma 2 ml/kg/h und für Operationen mit mittlerem bis hohem Gewebetrauma 4 bzw. 6 ml/kg/h an (11).

1.1.3. Auswirkungen des Volumenhaushalts auf die Organe und hämodynamisches Monitoring

Die Auswirkungen des Volumenhaushaltes auf die verschiedenen Organe sind vielfältig. Jedes Organ benötigt einen spezifischen Grad an Perfusion, der sich mit dem Volumenstatus ändert. Betrachtet man das Gehirn, so ist es selbstverständlich, dass die Perfusion hier stets ausreichend aufrechterhalten werden muss, jedoch bewerkstelligt dies der Körper bei Volumenmangel durch Kompensationsmechanismen auf Kosten anderer Organe. Durch Zentralisation des Blutvolumens stellt er eine Perfusion der lebenswichtigen Organe wie unter anderem von Gehirn, Herz und Lunge sicher. Ein hypovolämer Kreislaufzustand ist jedoch insbesondere für die Niere ein weitreichendes Problem, wodurch aufgrund der renalen Minderperfusion Nierenfunktionsstörungen bis hin zum akuten Nierenversagen auftreten können. Um dies zu verhindern, stehen im perioperativen, wie auch im operativen Setting verschiedene Möglichkeiten zur Überwachung hämodynamischer Parameter zur Verfügung. Nicht-

invasive Maßnahmen wie Elektrokardiographie, oszillometrische Blutdruckmessung, Rekapillarierungszeit, Pulsoxymetrie und Kapnographie stellen das Basismonitoring im OP und auf Intensivstation im klinischen Alltag dar. Jedoch ist gerade bei diesen Parametern die Aussagekraft teilweise sehr umstritten.

Einige Studien belegen, dass beispielsweise der Blutdruck wie auch andere hämodynamische Parameter bei Säuglingen und Kindern keine adäquate Aussage über die Perfusion wichtiger Organe zulässt, sodass auch ein normwertiger Blutdruck eine ausreichende Sauerstoffversorgung und Perfusion der Organe nicht garantiert (12, 13). Zahlreiche Studien auf der ganzen Welt beschäftigen sich mit Referenzwerten für Blutdruckmessungen bei Kindern von 0 bis 18 Jahren, die eine möglichst allgemeine Gültigkeit, sowie wenig Beeinflussung durch epidemiologische Faktoren wie das regional oder national gehäufte Auftreten von Adipositas und damit veränderter Blutdruckwerte, bieten (14, 15). Das Robert-Koch-Institut hat mit der KiGGs Studie eine graphische Darstellung der Blutdruckwerte nach Alter und Körpergröße anhand der Perzentilen veröffentlicht. Diese Werte können jedoch lediglich einen Anhaltspunkt zur Abschätzung des Volumenstatus geben, da Kinder aufgrund ihrer ausgeprägten Kompensationsmechanismen den Blutdruck auch bei Volumenverlusten noch relativ lange aufrechterhalten können (14). Weitere Parameter wie das Herzzeitvolumen können über eine Echokardiographie bestimmt werden.

Für die invasive Messung hämodynamischer Parameter stehen zentralvenöse Druckmessung, arterielle Druckmessung, Pulskonturanalyse mittels PiCCO (Pulse Contour Cardiac Output) sowie die Auswertung arterieller und zentralvenöser Blutgasanalysen zur Verfügung.

Die Auswahl der Methoden erfolgt je nach Art und Schwere des Eingriffs, die multimodale Volumentherapie kann dementsprechend anhand der Zusammenschau der gelieferten Parameter erfolgen.

All diese makrozirkulatorischen Parameter haben, wie bereits oben angedeutet, die Schwierigkeit keine genaue Information über die Mikrozirkulation und damit auch nicht über die Organperfusion oder das Outcome der Patienten geben zu können. Diese Problematik wird in der Literatur als „loss of hemodynamic coherence“ diskutiert (16-20).

Dabei spielen nach Ince et al. vier Mechanismen in der Pathologie eine besondere Rolle (16):

- (1) Heterogenität der Durchblutung
- (2) Hämodilution
- (3) Stase durch Erhöhung des Flusswiderstands oder Kompression des Gefäßes
- (4) Ödembildung durch vermehrte Permeabilität der Kapillarwand

Diese vier Punkte treten bei unterschiedlichen Erkrankungen in der Mikrozirkulation auf, können aber auch iatrogen induziert sein im Rahmen von Operationen oder einer medikamentösen Therapie, wobei sich die makrozirkulatorischen Messparameter nur wenig bis gar nicht verändern. Insbesondere die bei Schock, Sepsis oder großen Gewebstraumata freigesetzten Entzündungsmediatoren beeinflussen diese Faktoren (17, 21, 22). Studien, die sich die Optimierung (bis in supranormale Bereiche) der makrozirkulatorischen Parameter wie beispielsweise dem Cardiac Index zum Ziel gesetzt haben, um die Auswirkungen auf das Outcome und die Mortalität der Patienten zu beobachten, konnten keine Verbesserung des Outcomes und keine Reduktion der Mortalität feststellen (19). Dies spricht ebenso für eine Divergenz der makrozirkulatorischen Parameter und der Organperfusion und für die Bedeutung der mikrozirkulatorischen Observation im klinischen Setting.

Im Bereich des nicht-invasiven hämodynamischen Monitorings stehen die sublinguale Mikrozirkulationsmessung mittels Sidestream Darkfield Imaging Technik (SDF) oder mittels Incident Darkfield Imaging (IDF) sowie die Messung der zerebralen und renalen Perfusion mittels Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) zur Verfügung, die als Methoden zur Observation der Mikrozirkulation verwendet werden können. Diese Methoden sind jedoch bis jetzt nicht im klinischen Alltag etabliert. Näheres hierzu in den beiden Abschnitten 1.3. und 1.4.

1.2. Glykokalyx

Die sogenannte Glykokalyx bezeichnet eine Struktur, die der Oberfläche von Zellen, wie beispielsweise Endothel- oder Epithelzellen, aufgelagert ist. Sie kommt am Endothel der Blutgefäße aller Organe vor. Im Darm findet man sie zudem in Bindung an das Darmepithel.

1.2.1. Aufbau der Glykokalyx

Die Glykokalyx besteht aus unterschiedlichen Proteoglykanen (z.B. Syndecan), sowie Glykoproteinen, die an den Zellen der Gefäßwand verankert sind und in das Gefäßlumen hineinragen (23, 24) (siehe Abbildung 1). Betrachtet man die Proteoglykane genauer, so zeigt sich, dass diese sich aus einem sogenannten „core-Protein“ und daran befestigten Glykosaminoglykanen (GAG) zusammensetzen (25). Chemisch gesehen handelt es sich demnach um eine Verbindung aus einem Verankerungsmolekül, dem Protein, und zahlreichen sich wiederholenden Zuckerketten (GAG), die eine dreidimensionale Struktur – vergleichbar mit Eiskristallen – bilden.

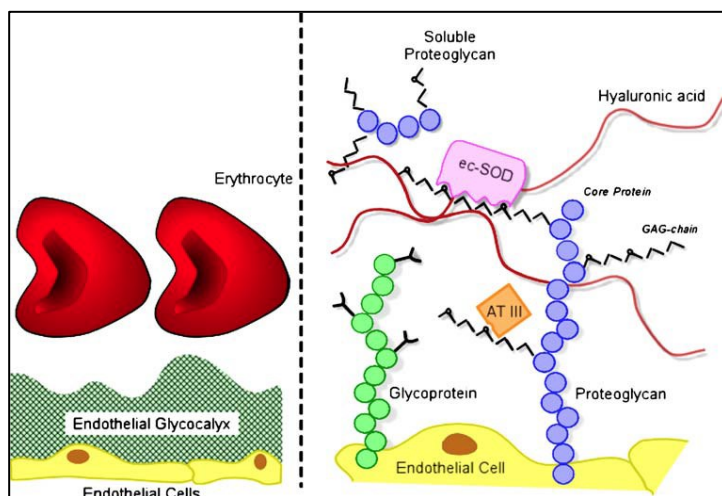


Abbildung 1: Schemazeichnung der endothelialen Glykokalyx (23)

Unter den Glykosaminoglykanen unterscheidet man Heparansulfat, Chondroitinsulfat, Dermatan sulfat sowie Hyaluronsäure und Keratansulfat, die je nach Art des Gewebes eine andere Häufigkeitsverteilung besitzen (23). Dabei ist Heparansulfat – mit mehr als 50% aller GAGs – das wohl am häufigsten vorkommende und damit wichtigste Glykosaminoglykan an Gefäßendothelien (26, 27). Produktionsort der verschiedenen Glykosaminoglykane stellt das endoplasmatische Retikulum, sowie der Golgi-Apparat im Inneren der Zelle dar. Nach vollendeter Faltung des Core-Proteins am Ribosom werden die beiden Anteile am Golgi-Apparat miteinander verbunden und an der Zellmembran befestigt (23). Einen weiteren Bestandteil stellen die Glykoproteine dar. Sie bestehen ebenfalls aus Protein- und Zuckeranteilen, jedoch in anderer Zusammensetzung. Sie können verschiedene Funktionen erfüllen - als Vermittler der Zellinteraktion, als Strukturproteine in Zellmembranen oder als Teil der Immunglobuline (23, 28, 29).

Darstellen lässt sich die Glykokalyx im Detail nur unter dem Elektronenmikroskop (Abbildung 2 & 3), wodurch eine direkte Analyse *in vivo* unmöglich ist. In dieser Studie wird daher auf eine indirekte Methode der Darstellung mittels Sidestream Dark-Field Imaging und der Software GlycoCheck zurückgegriffen, um *in vivo* einen Eindruck über Physiologie und Pathophysiologie der Glykokalyx zu erhalten. Zur genauen Technik wird auf das Kapitel 1.4. verwiesen.

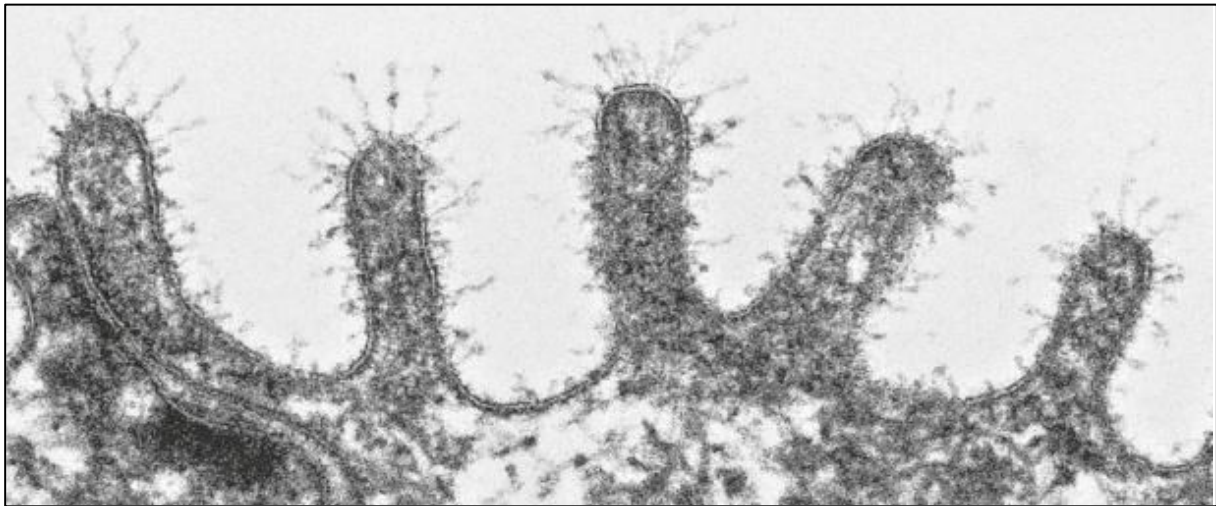


Abbildung 2: Elektronenmikroskopische Darstellung der Plasmamembran einer Epithelzelle des Ösophagus (Affe) (Bildausschnitt aus (30))

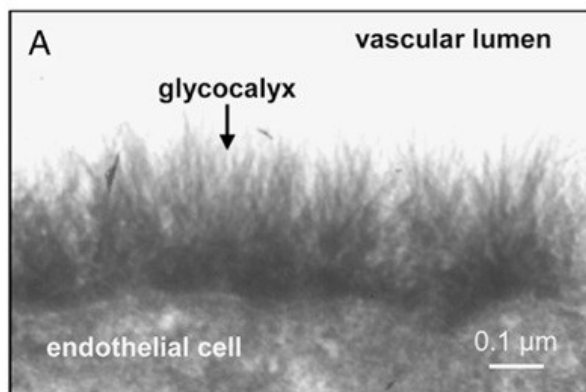


Abbildung 3: Elektronenmikroskopisches Bild der endothelialen Glykokalyx (Bildausschnitt aus (31))

1.2.2. Funktionen der Glykokalyx

Bereits 1896 wurde unter anderem von E. H. Starling an den Mechanismen der Absorption von Flüssigkeiten aus dem Bindegewebe geforscht. Dabei untersuchte Starling die Resorption verschiedener Flüssigkeiten wie Natriumchloridlösung oder Serum aus dem interstitiellen Raum an Tieren (32, 33). Er postulierte die Existenz einer semipermeablen Membran in Kapillaren. Dabei konnte er als treibende Kräfte der

Flüssigkeitsverschiebung einerseits den osmotischen Druck – erzeugt durch die Plasmaproteine – sowie andererseits den hydrostatischen Druck identifizieren. Zudem fand er durch seine Experimente heraus, dass die semipermeable Membran, die nach seiner Theorie durch die Endothelzellen gebildet wurden, in ihrer Barrierefunktion keine absolute Dichtigkeit für Plasmaproteine zeigt – wie zunächst angenommen – sondern ein gewisser Anteil der Plasmaproteine ins Interstitium übertreten kann (32, 33). Starling's Theorie wurde in den darauffolgenden Jahren von vielen Wissenschaftlern zur Grundlage ihrer Experimente gemacht und so kamen mehr und mehr Zweifel an der Theorie durch Abweichung der anhand Starling's Berechnung ermittelten von den experimentell gemessenen Ergebnissen auf (34, 35). Es entstand eine Weiterentwicklung der Starling-Hypothese, die zu einem anderen Verständnis der Konzentrations- und Druckgradienten führte. Eine Struktur an der Oberfläche der Endothelzellen – und nicht die Endothelzellen selbst – dient als Filter für Proteine sowie anderer Moleküle und der Gradient an dieser Struktur ist von größerer Bedeutung als der Gradient von Intravasalraum zu Interstitium. Damit wurde der Glykokalyx erstmals in diesem Modell eine Schlüsselfunktion zugerechnet (33, 36-39).

Nach aktuellem Stand der Forschung kann man der Glykokalyx weit mehr Funktionen zuordnen. Sie verhindert durch ihre dreidimensionale Struktur und ihre negativ geladenen Seitenketten den Durchtritt großer Moleküle durch die Gefäßwand. Zugleich reguliert sie Anheftung und Durchtrittsmöglichkeiten von Blutzellen durch die Gefäßwand, da sie Adhäsionsmoleküle des Endothels abschirmt (23, 29, 40). Dabei unterliegt die Glykokalyx einem ständigen Auf- und Abbau. Entzündungsmediatoren, Scherkräfte, Enzyme – all diese Faktoren können die Glykokalyx verschmälern oder gar zerstören. Der Körper versucht durch Regeneration stetig eine funktionstüchtige Glykokalyx aufrecht zu erhalten, um das System im Gleichgewicht zu halten (40). Bei enzymatischer Zerstörung der Glykokalyx in den Blutgefäßen kommt es dementsprechend zum Freiliegen verschiedenster Zelladhäsionsmoleküle, wie ICAM sowie von Enzymen (41, 42). Dies hat zur Folge, dass es zur Migration von Zellen durch die Gefäßwand kommen kann, ebenso wie zur Aktivierung von Blutplättchen und damit zur Bildung von Plaques (42-44).

1.2.3. Pathophysiologie der Glykokalyx

Betrachtet man die zahlreichen Funktionen der Glykokalyx, so wird klar, dass Defekte der Glykokalyx weitreichende Folgen haben können. Die Destruktion der Glykokalyx

kann auf verschiedenen Mechanismen beruhen. Zum einen können bakterielle Endotoxine im Rahmen einer Sepsis die Glykokalyx schädigen. Zahlreiche Studien haben diesen Vorgang untersucht. In der Studie von Schmidt et al. 2012 (41), die den Zusammenhang von Glykokalyx-Schädigung und Lungenerkrankung während der Sepsis untersucht, konnte gezeigt werden, dass es durch bakterielle Endotoxine zu einer Freisetzung und Aktivierung von Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) kommt, was wiederum zu einer Zerstörung der Glykokalyx führt. Dies geschieht insbesondere in Zellen der Lunge, die durch die Invasion von Leukozyten durch die geschädigte Glykokalyx hindurch einer ausgeprägten Entzündungsreaktion ausgesetzt wird, was eine erhöhte Rate an pulmonalen Komplikationen und eine erhöhte Mortalität bedingt (41).

C. Desjardins und B.R. Duling haben bereits 1990 durch Experimente an Kapillaren des Musculus Cremaster einen Einfluss der Glykokalyx auf die Flusseigenschaften des Blutes in den Kapillaren festgestellt. Dabei testeten sie und mit Ihnen zahlreiche Wissenschaftler die Auswirkung verschiedener Enzyme wie unter anderem Chondroitinase, Hyaluronidase, Heparinase und Neuraminidase auf die Kapillaren. Es zeigte sich, dass insbesondere das Enzym Heparinase den kapillären Hämatokrit mehr als verdoppelt (45). Zudem führte die enzymatische Behandlung in weiterführenden Studien zu signifikanten Veränderungen des Flusswiderstands im Vergleich zu einer Behandlung mit Kochsalzlösung (46, 47).

Auch in der Vermittlung der durch Scherkräfte gesteuerten Regulierung des Vasotonus spielt die Glykokalyx eine Rolle. Dabei führen Scherkräfte über Kontakt mit der Glykokalyx zu einer Aktivierung der NO Produktion. Bei enzymatischer Zerstörung der Glykokalyx bleibt dieser Mechanismus aus (48).

Für die Entstehung von Scherkräften spielt der Volumenhaushalt eine große Rolle. Volumenüberladung durch zu aggressive Volumentherapie oder renale Insuffizienz führt zu einer partiellen Zerstörung der Glykokalyx. Es kommt zur Freisetzung von atrialem natriuretischen Peptid (ANP), welches zu einer Destruktion der Glykokalyx und einer Permeabilitätssteigerung der Gefäßwand führt (49-51). Dies ist ursächlich für Flüssigkeitsverluste ins Interstitium und trägt entscheidend mit zum Outcome der Patienten bei. Volumentherapie versus Volumenüberladung stellt mitunter einen entscheidenden Faktor für perioperative Veränderungen der Glykokalyx dar, die in dieser Studie näher untersucht werden sollen.

1.3. Mikrozirkulation

1.3.1. Definition und Aufbau der Mikrozirkulation

Historisch betrachtet steht der Blutkreislauf bereits seit den frühen Anfängen der Medizingeschichte im Interesse der Wissenschaft. Bedeutende Wissenschaftler, wie Galen oder Leonardo da Vinci beschäftigten sich mit dem Blutfluss durch den Körper. Marcello Malpighi und Anthoni van Leeuwenhoek machten mit ihren Beobachtungen am Mikroskop - das System eines Kapillarnetzes als Verbindung zwischen dem arteriellen und dem venösen Kreislauf sowie den Transport von Partikeln in diesem Komplex – die Grundlagen zur Mikrozirkulation komplett (52, 53).

Der aktuellen medizinischen Lehrmeinung folgend umfasst der Begriff Mikrozirkulation das Gebilde aus zuführenden Arteriolen, Kapillaren und darauffolgende Venolen, sowie die Endstrombahn der Lymphgefäße (1, 54) (Abbildung 4).

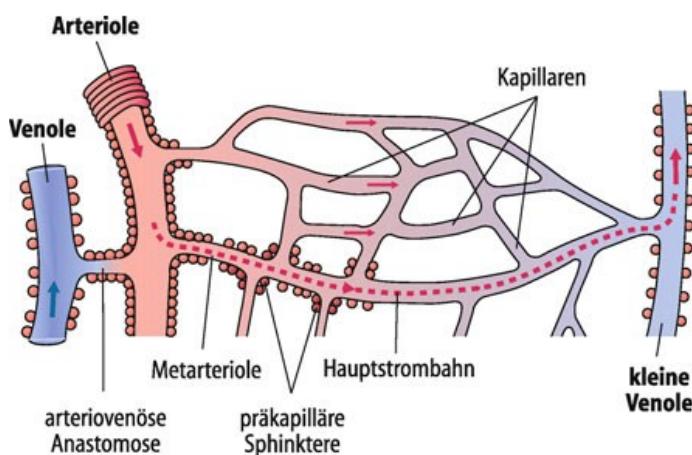


Abbildung 4: „Schematische Darstellung der terminalen Strombahn“ (1)

Kapillaren besitzen einen Durchmesser kleiner 10-20 μm und bilden eine Austauschfläche von mehr als 300 m^2 , welche bei Belastung um ein Vielfaches gesteigert werden kann (1, 55). Sie unterscheiden sich dabei in Aufbau und Funktion deutlich von den anderen Blutgefäßen im menschlichen Körper. Im Gegensatz zu Arterien und Venen findet sich bei Kapillaren lediglich eine einzelne Endothelzellschicht als Gefäßwand, wodurch ein Stofftransport ermöglicht wird. Je nach Organ finden sich verschiedene Typen – kontinuierliche, fenestrierte oder diskontinuierliche Kapillaren – und verschiedene Kapillardichten. Abbildung 5 zeigt ein elektronenmikroskopisches Bild einer Kapillaren (54, 56).

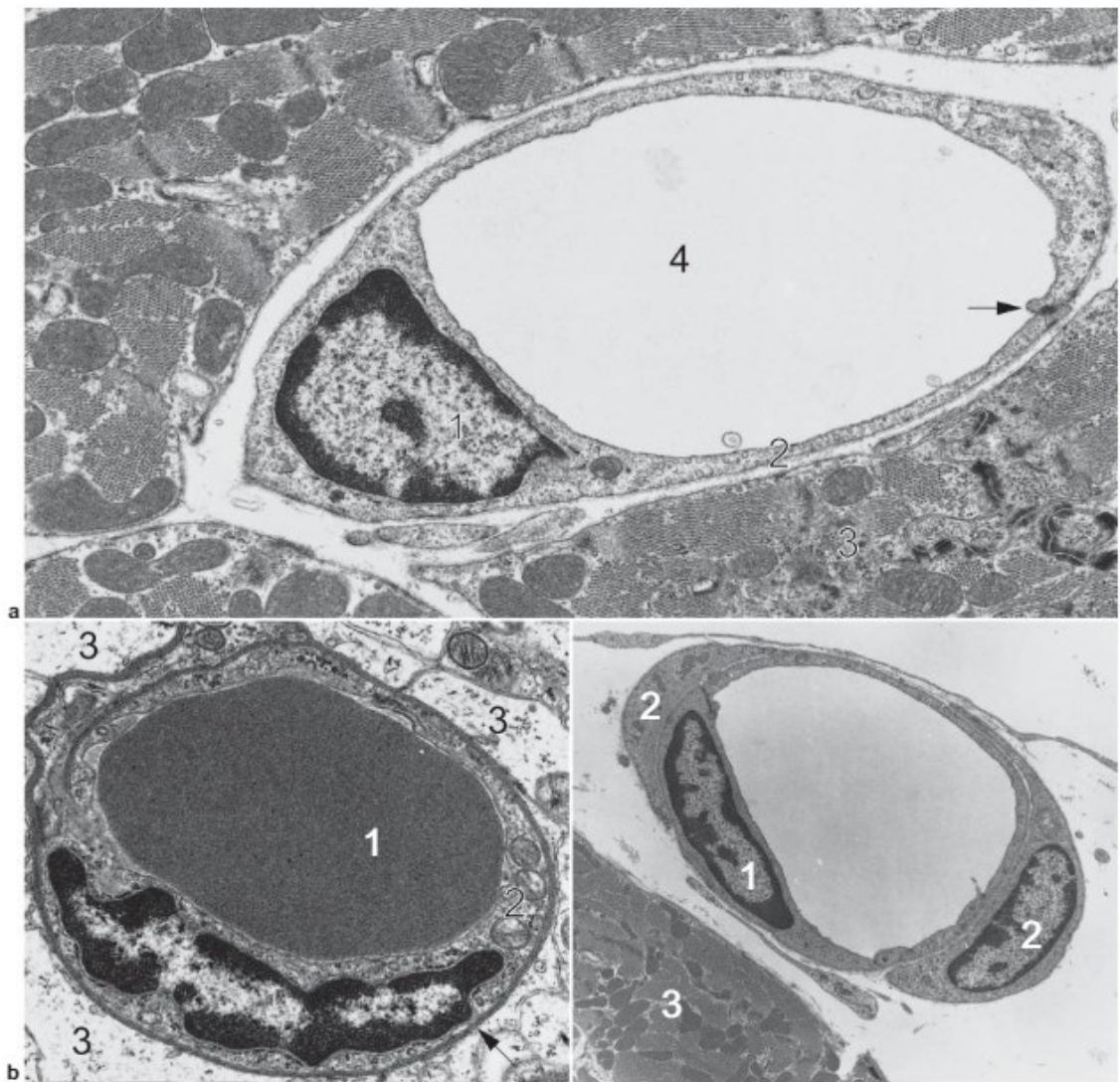


Abb. 5.16 Kapillaren vom kontinuierlichen Typ. a: Kapillare in der Herzmuskulatur. 1 Zellkern der Endothelzelle; 2 Zytoplasma der Endothelzelle mit vielen Caveolae; → Zellkontakt der Endothelzelle; 3 Herzmuskelzellen; 4 Kapillarlumen. Meerschweinchen. Vergr. 15.300-fach. b: Kapillare der Großhirnrinde. 1 Erythrozyt im Kapillarlumen; 2 Zytoplasma der Endothelzelle mit Mitochondrien; 3 Astrozytenfortsätze an der kräftigen Basallamina →. Ratte. Vergr. 20.000-fach. c: Kapillare in der Herzmuskulatur. 1 Endothel mit Perizyten (2); 3 Herzmuskelzelle. Meerschweinchen. Vergr. 5.200-fach.

Abbildung 5: Darstellung von Kapillaren im Elektronenmikroskop (56)

1.3.2. Regulationsmechanismen

Für die Gefäßregulation spielen verschiedene Faktoren eine Rolle (57):

- Vegetatives Nervensystem
- Hormonelle Substanzen
- Endotheliale Mechanismen
- Lokal freigesetzte Substanzen

Vegetatives Nervensystem

Das vegetative Nervensystem besteht aus zwei verschiedenen Bestandteilen – dem Sympathikus und dem Parasympathikus. In der Regulation der peripheren Blutgefäße spielt vor allem der Sympathikus eine entscheidende Rolle. Die sympathischen Nervenfasern stimulieren durch die Freisetzung von Noradrenalin insbesondere die α_1 - und α_2 - Rezeptoren der kleinen Arterien und präkapillären Arteriolen. Durch die Bindung des Noradrenalins an den α_1 - Rezeptor kommt es über die Aktivierung der Phospholipase C zur Abspaltung von Inositoltriphosphat, welches durch Bindung am sarkoplasmatischen Retikulum zur Ca^{2+} getriggerten Konstriktion des Gefäßes führt. Über die Bindung an die α_2 - Rezeptoren kommt es zu einer Feedback-Hemmung der Noradrenalin-Freisetzung (57, 58). Dieser Angriffspunkt an den α_1 - Rezeptoren kann in der medikamentösen Therapie bei Hypo- und Hypertension genutzt werden.

Hormonelle Substanzen

Zu den hormonellen Substanzen gehören unter anderem Adrenalin, Noradrenalin, Angiotensin II und Vasopressin.

Alle diese Substanzen haben gemeinsam, dass sie im Kreislauf den peripheren Widerstand erhöhen und den Blutdruck steigern. Während Adrenalin und Noradrenalin überwiegend direkt vasokonstriktorisch auf die α - Rezeptoren wirken, entfalten Angiotensin II und Vasopressin ihre Wirkung neben einer vasokonstriktorischen auch über eine antidiuretische Komponente. Beide Hormone werden bei Blutdruckabfällen oder Volumenmangel vermehrt synthetisiert und freigesetzt (57).

Endotheliale Mechanismen

Bereits Anfang des 20. Jahrhunderts beschäftigte man sich mit den Regulationsmechanismen des menschlichen Gefäßsystems. Man untersuchte die Auswirkung von Scherkräften an der Gefäßwand und die darauffolgende - durch Freisetzung von Mediatoren im Gefäßendothel verursachte - Vasodilatation (59, 60). Dabei spielt Stickstoffmonoxid eine wichtige Rolle bei der endothel-gesteuerten Vasodilatation der Gefäße (59, 61, 62). Abbildung 6 zeigt den Mechanismus der NO vermittelten Vasodilatation.

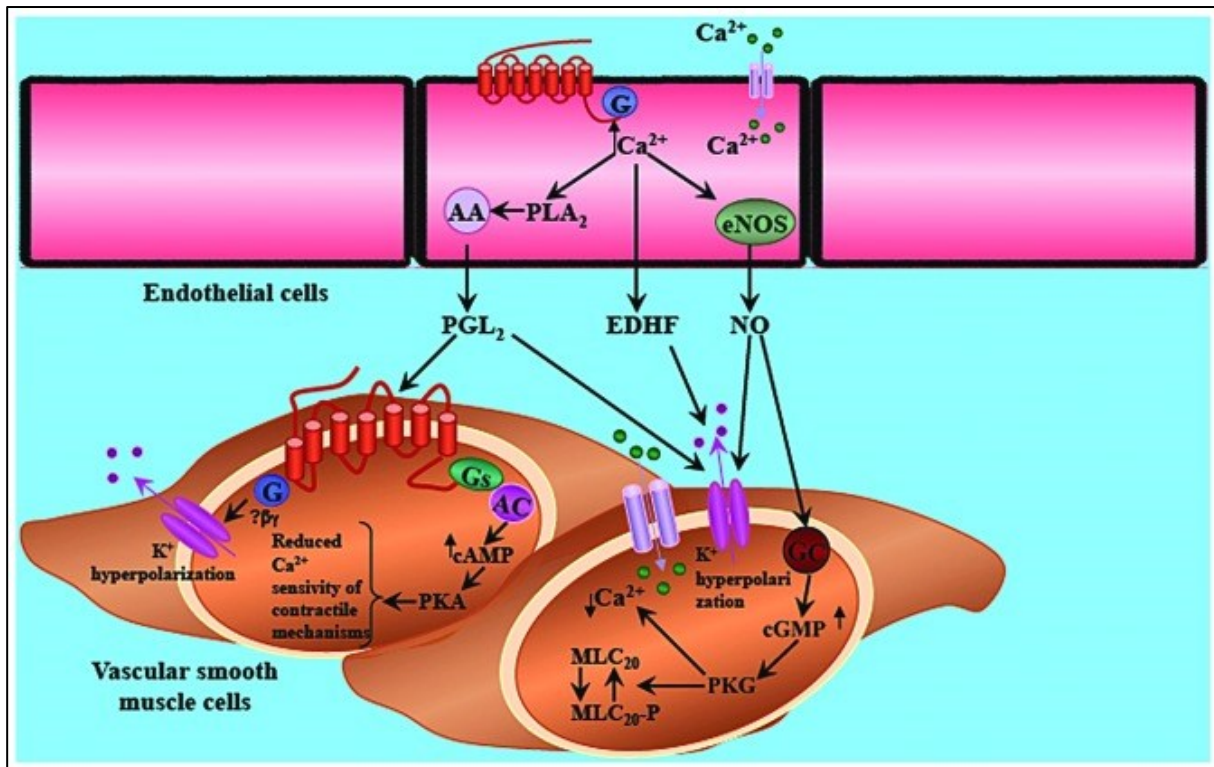


Abbildung 6: Darstellung der Regulationsmechanismen des Gefäßstatus durch die NO-Synthese (63)

NOS: nitric oxide synthase; NO: nitric oxide; PLA₂: phospholipase A₂; MLC: myosin light chain; EDHF: endothelium derived hyperpolarizing factor; GC: guanylate cyclase; AC: adenylate cyclase; PKG: protein kinase G (63)

Durch die Bildung von Stickstoffmonoxid von der endothelialen NO-Synthase (eNOS) (63) und dessen Freisetzung aus dem Endothel kommt es zu NO vermittelten Signalkaskaden. NO bindet einerseits an Rezeptoren mit Guanylatcyclase - Aktivität und führt dadurch zur Bildung von cGMP (62). Über die Aktivierung der Proteinkinase G kommt es darauffolgend zum einen zu einer Phosphorylierung der Myosin-Leichtketten-Phosphatase, welche dadurch aktiviert wird und zu einer Abnahme der Calcium-Sensitivität der Muskulatur führt (64). Zum anderen wird die Aktivität der Ca²⁺-Kanäle herabgesetzt (65) sowie die ATP-abhängige Ca²⁺ - Pumpe am sarkoplasmatischen Retikulum – dem Calciumspeicher des Muskels – aktiviert (66), wodurch die Calcium-Konzentration abnimmt und so die Calcium-vermittelte Kontraktion ausbleibt und es zu einer Relaxation der Muskulatur kommt (67, 68). Zudem kommt es über die Aktivierung von Kalium-Kanälen zu einer Hyperpolarisation der Zellmembran, was den weiteren Calcium Einstrom vermindert und so die intrazelluläre Calcium-Konzentration senkt (63).

Neben Stickstoffmonoxid spielen aber auch viele weitere freigesetzte Mediatoren eine Rolle bei der Regulation der Mikro- und Makrozirkulation im menschlichen Körper. Zum

Teil können diese Mechanismen als Ansatzpunkt der Pharmakotherapie genutzt werden. Die Funktion der Mikro- und Makrozirkulation ist jedoch durch die zahlreichen ineinandergreifenden Autoregulationsmechanismen – wie sie in Studien an cerebralen Gefäßen innerhalb bestimmter Blutdruckgrenzen festgestellt werden konnte (69) – sehr komplex. Zudem spielt die Größe der Gefäße und ihre unterschiedliche Sensitivität für Mediatoren eine entscheidende Rolle. So wurden in einigen Studien der Einfluss endogener Substanzen sowie von Medikamenten auf Gefäße $<100\ \mu\text{m}$ im Gegensatz zu Gefäßen $> 100\ \mu\text{m}$ und die Auswirkungen auf den gesamten peripheren Widerstand betrachtet (70). Dabei ließ sich zeigen, dass Substanzen wie Vasopressin oder Angiotensin je nach Größe des Gefäßes unterschiedliche oder sogar gegensätzliche Wirkung erzeugen können (70-72), was die Komplexität der Mikrozirkulation noch einmal verdeutlicht.

1.3.3. Bedeutung der Mikrozirkulation

Die Mikrozirkulation ist ein zentraler Faktor im Versorgungssystem des menschlichen Körpers. Sie dient der Versorgung des Körpers mit Sauerstoff und Nährstoffen, sowie dem Abtransport von Abfallprodukten der Stoffwechselprozesse aus der Peripherie (13, 55). Bei einer Schädigung der Endothelzellen durch endogene oder exogene Faktoren und Mediatoren, kommt es zu Beeinträchtigungen der Mikrozirkulation und damit auch der Organversorgung. Studien konnten bereits zeigen, dass Beeinträchtigungen der Mikrozirkulation – verursacht durch unterschiedliche Faktoren wie Hypervolämie oder Infektion – mit einem schlechteren Outcome der Patienten, Organversagen oder gar Tod assoziiert sein können (73, 74).

1.4. Visualisierung von Glykokalyx und Mikrozirkulation

1.4.1. Technische Daten - Mikrozirkulation

Die Visualisierung der Mikrozirkulation mittels Sidestream Dark Field Imaging (SDF) entstand 2004, als neue Technik und Nachfolger der Orthogonal Polarization Spectral Imaging (OPS) Technik (75, 76). Im direkten Vergleich betrachtet, bietet die SDF Technik eine besser Bildqualität – Schärfe, Kontrast und Auflösung – als die Mikrozirkulationsmessungen mit der OPS Technik (77).

Das SDF Imaging Messsystem (Abbildung 7) besteht aus verschiedenen Komponenten. Zum einen der SDF-Kamera selbst, einem Konverter, der die Information von analogen in digitale Daten umwandelt, einer Batterie - Einheit und einem Computer mit der

Software zur Analyse der Mikrozirkulation. Die Kamera Sonde enthält Lichtquelle, Video-Kamera und verschiedene Linsensysteme zugleich.

MICROSCAN – SDF (Sidestream Dark-Field Imaging)

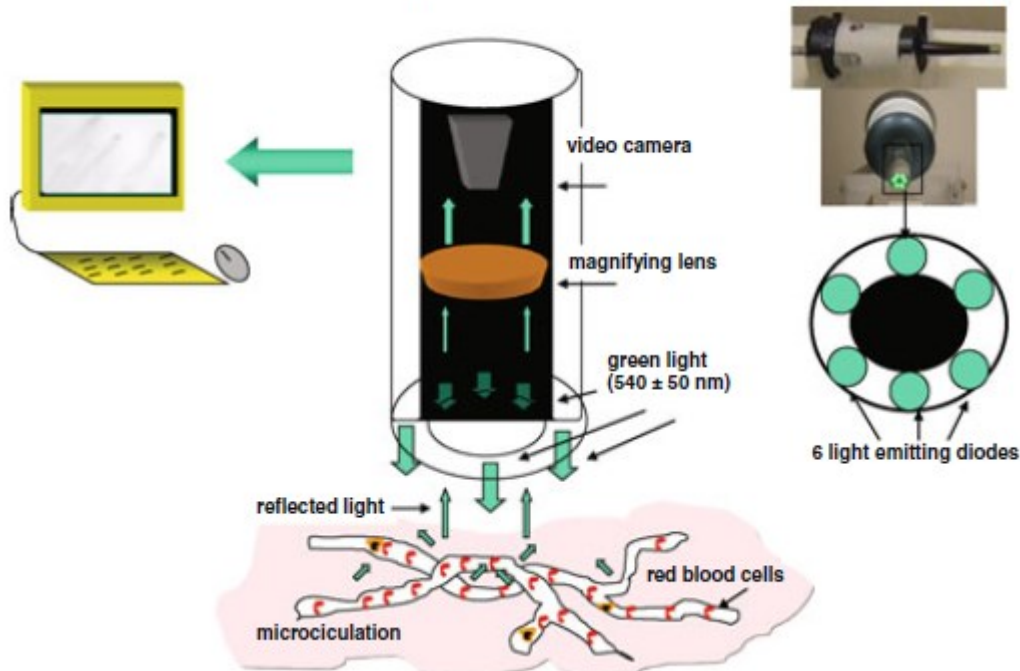


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Sidestream Darkfield Imaging Technik (75)

Die LEDs sind ringförmig um den zentralen optischen Kanal mit Linsenapparat und nachgeschalteter Kamera angeordnet und – um Reflexionsartefakte zu vermeiden – abgeschottet. Sie erzeugen grünes Licht einer Wellenlänge von ca. 530 nm. Die Eindringtiefe des Lichts beträgt ca. 0,5 mm. Das grüne Licht wird durch das Hämoglobin der roten Blutkörperchen absorbiert, während es von der Umgebung gestreut wird. Die zentrale optische Einheit detektiert das gestreute Licht und sorgt damit für die Darstellung der Gefäße. Durch die Pulsation des LEDs wird die Schärfe des Bildes bei bewegtem Objekt – Blutzellen im Blutstrom – gewährleistet. Die Mikrozirkulation (Abbildung 8) stellt sich als dunkle Gefäße auf hellerem Hintergrund dar. Dabei hängen Helligkeit und Kontrast des Bildes einerseits von der Stärke der Lichtquelle der Kamera ab, die dort individuell zu regeln ist und andererseits von dem Untersuchungsgebiet. Das im Gewebe gestreute und zurückreflektierte Licht gelangt dann über das System einer 5 - fachen Vergrößerungslinse zur Kamera und wird dort in ein Video-Loop mit einem Gesamtvergrößerungsfaktor von 380x verarbeitet. Diese analogen Daten gelangen über einen AV/DC Converter mit Umwandlung von analoger zu digitaler

Information zu einer speziellen Software an einem Computer (75, 77). Die Auflösung beträgt ca. 1 μm /pixel.

1.4.2. Technische Daten - Glykokalyxmessung

Für die Bestimmung der Glykokalyxdicke wird ebenfalls mit der Sidestream Dark Field Imaging Methode gearbeitet. Dabei wird jedoch die Information der Kamera von einer anderen Software namens GlycoCheck verarbeitet. Diese Software dient einerseits der Auswertung der Daten, aber auch der Qualitätskontrolle. Lichtintensität, Fokus und Bewegung des Bildes werden von der Software erfasst und direkt während der Messung rückgemeldet, sodass nur Video-Loops ausreichender Qualität aufgenommen und ausgewertet werden. Die Messung wird von der Software automatisch gestoppt, wenn ausreichend Gefäßabschnitte aufgenommen wurden (>3000) (78). Abbildung 8 zeigt exemplarisch eine Aufnahme aus einer Glykokalyxmessung.

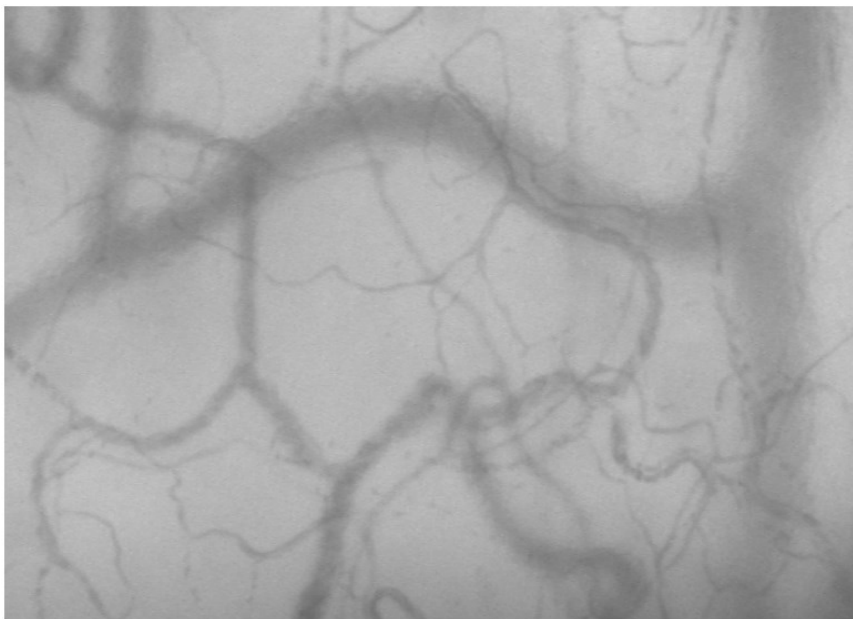


Abbildung 8: Exemplarische Darstellung Glykokalyxmessung aus Patient Report Patient 012v121017, 1. postoperative Messung

Die GlycoCheck Software nutzt die Fließeigenschaften der Erythrozyten um Rückschlüsse auf die Glykokalyxdicke zu ziehen. Im Blutstrom innerhalb der Gefäße trennen sich die Phasen des Blutes, dabei befindet sich das Blutplasma weitgehend nahe der Gefäßwand, während die Erythrozyten und auch anderen Blutzellen eher mittig im Gefäßlumen treiben. Anhand dieser Grundlage kann der Gefäßlängsschnitt in verschiedene Bereiche eingeteilt werden, die zur Berechnung verschiedener Parameter herangezogen werden können. Abbildung 9 zeigt eine Schemazeichnung, die von van Teeffelen und Vink in dem Paper „Clinical Assessment of vascular health with

GlycoCheck Glycocalyx Measurement Software – A Glycocheck Withepaper“ (78) veröffentlicht wurde.

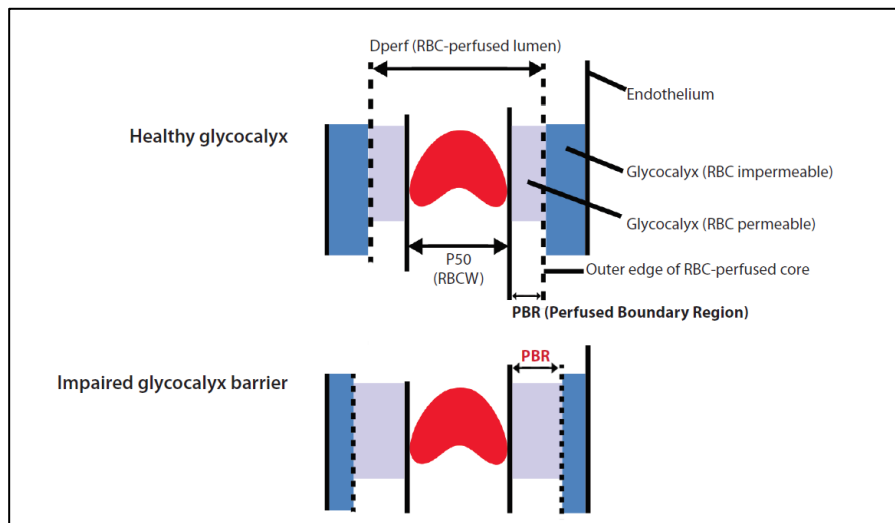


Abbildung 9: Schemazeichnung Gefäßlängsschnitt (78)

Diese Schemazeichnung stellt noch einmal den Aufbau eines Gefäßes im Längsschnitt betrachtet dar. Die äußere Begrenzung des Gefäßlumens wird durch das Endothel gebildet. Im Anschluss daran folgt der erste Teil der Glykokalyx, welche in diesem Bereich weitestgehend undurchlässig für Erythrozyten ist (dunkel-blaue Fläche), angrenzend an den inneren Anteil der Glykokalyx, der für Erythrozyten permeabel ist (graue Fläche), welcher der PBR (Perfused Boundary Region) entspricht. Der mittlere Abschnitt des Gefäßes, der hier mit einem roten Erythrozyten gekennzeichnet ist, stellt die Fläche dar, auf dem sich der größte Anteil der Erythrozyten im Blutstrom bewegt. Die Software berechnet aus den aufgenommenen Bildern durch Übereinanderlegen der Bilder einen P50 Wert für den Erythrozyten-Strom (RBCW (median RBC width)), ebenso wie den Wert für Dperf (RBC-perfused lumen), welcher die maximale Breite des von Erythrozyten durchströmten Gefäßanteils darstellt. Aus diesen Parametern wird anschließend der Wert der PBR berechnet und somit indirekt die (Teil-) Dicke der Glykokalyx (78). Bei Schädigung oder Abbau der Glykokalyx können sich die Erythrozyten weiter in Richtung Gefäßwand ausbreiten, was zu einer Zunahme des Dperf und damit auch der PBR führt. Dementsprechend gehen hohe PBR-Werte mit einer schmalen (evtl. geschädigten) Glykokalyx einher und niedrige Werte sprechen eher für eine hohe Glykokalyxdicke.

2. Zielsetzung

Glykokalyx und Mikrozirkulation sind entscheidend für die Organperfusion. Die Pathophysiologie der Glykokalyx spielt dabei eine große Rolle für das Outcome der Patienten. Diese klinische Beobachtungsstudie zielt darauf ab, Veränderungen der mikrovaskulären endothelialen Glykokalyx und verschiedener Parameter der Mikrozirkulation von Kindern im peri- und postoperativen Setting in Abhängigkeit vom Volumenstatus zu analysieren.

Dabei stellten sich folgende Fragen:

- (1) Welche Veränderungen zeigen die durch nicht-invasive sublinguale Messungen der Mikrozirkulation gewonnen Parameter?
- (2) Welche Veränderungen zeigen die durch nicht-invasive sublinguale Messungen der Glykokalyx gewonnen Parameter?
- (3) Lassen sich die Ergebnisse mit der intraoperativen Volumentherapie in Verbindung bringen?
- (4) Inwiefern lassen sich Veränderungen der Konzentrationen der Abbauprodukte der Glykokalyx (Syndecan-1 und Hyaluronan) im Blut nachweisen und inwieweit korrelieren diese mit den Daten der Messung der sublingualen Glykokalyx?
- (5) Inwieweit korrelieren klinische Daten mit den von der Mikrozirkulation und Glykokalyx erhobenen Daten?

3. Material und Methoden

3.1. Patientenrekrutierung

Diese Studie war eingebettet in ein Pilotprojekt zum „Endorgan-fokussierten Volumenmanagement in der pädiatrischen Intensivmedizin (EFVI)“ der Kinderintensivstation und der Abteilung für Anästhesiologie am Dr. von Haunerschen Kinderspital. Die Patientenrekrutierung fand von Dezember 2016 bis November 2017 in Absprache mit der anästhesiologischen Abteilung, der Abteilung für Kinderchirurgie und der Kinderintensivstation am Dr. von Haunerschen Kinderspital der LMU München statt.

Einschlusskriterien:

- Säuglinge und Kinder < 18 Jahre
- Operationsdauer > 2h
- anschließende postoperative intensivmedizinische Überwachung
- ausdrückliche Zustimmung zur Teilnahme ist schriftlich erfolgt

Ausschlusskriterien:

- Septischer Schock
- Schweres Schädelhirntrauma
- kardiochirurgische Eingriffe
- Herzrhythmusstörung

3.2. Einverständniserklärung

Diese nicht-invasive Beobachtungsstudie wurde von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der LMU genehmigt und in Einklang mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Die Projektnummer des Ethikantrags lautete 319-16.

Die Patientenaufklärung wurde durch eine/n approbierte/n Mitarbeiter/in des Dr. von Haunerschen Kinderspitals der LMU München durchgeführt. Es erfolgte eine Aufklärung der Erziehungsberechtigten sowie angepasst an das Patientenalter auch der Patienten.

Aufgrund des zum Teil jungen Patientenalters wurde im Vorfeld die schriftliche Einwilligung eines Erziehungsberechtigten eingeholt und bei Einsichtsfähigkeit der Patienten auch die Einwilligung des Patienten selbst.

Das Formular der Einverständniserklärung für Eltern/Erziehungsberechtigte sowie für Kinder/Jugendliche befindet sich im Anhang.

3.3. Materialien

3.3.1. Glykokalyxstudie

Die Messung der Glykokalyx wurde mittels Sidestream Dark Field Technik sublingual durchgeführt.

Die MicroScan Kamera inklusive BatteryUnit stammte von der Firma MicroVision-Medical, Amsterdam, Niederlande.

Für jeden Patienten wurde aus hygienischen Gründen eine eigene Schutzkappe für die Kamera verwendet. Typ: MircoScan Lens, Niederlande.

Es wurde für die Messungen ein Computer der Firma Mena Computers, Ede, Niederlande sowie ein Monitor der Firma Philips, Amsterdam, Niederlande verwendet.

Die automatische Berechnung der Messwerte erfolgte durch die Software der Firma GlykoCheck, Maastricht, Niederlande.

Für die Sammlung von Blutproben wurden Monovette®, Sarstedt, 2,7ml, Blutröhrchen verwendet, im Anschluss erfolgte das Zentrifugieren mit der Zentrifuge des Typs Rotina 380R, Hettich, Tuttlingen, Deutschland. Die Serumproben wurden für eine Dauer von 10 min bei 10°C und einer relativen Zentrifugalbeschleunigung von 1000 g zentrifugiert.

Der Überstand wurde abpipettiert und die Proben wurden bei -80°C gelagert.

3.3.2. Mikrozirkulationsstudie

Für die Durchführung der Mikrozirkulationsmessungen wurde ebenfalls die SDF-Kamera der Firma MicroVisionMedical inklusive dazugehöriger Schutzkappen verwendet.

Zur Verarbeitung der Daten wurde ein analog/digital Converter ADVC110 der Firma Canopus, seit 2006 von Grass Valley mit Hauptsitz in Montreal übernommen, verwendet.

Die Messungen wurden mit dem Laptop (Typ Celsius H Series, Fujitsu Siemens GmbH) der Arbeitsgruppe durchgeführt und alle Daten dort auch gespeichert.

Die Berechnung der Messwerte und Auswertung der Videosequenzen erfolgte mit der Software „automated vascular analysis ®“ (AVA) 3.2 der Firma Microvision Medical, Amsterdam, Niederlande. Hierbei handelt es sich um eine speziell zur Auswertung der

Videsequenzen entwickelte Software, die eine semiautomatische offline Analyse ermöglicht.

3.4. Methoden

3.4.1. Aufbau der Messgeräte

Alle Geräte wurden auf einem Rollwagen aus Edelstahl mit zwei Etagen platziert. Ein Rollwagen wurde benötigt um einen flexibleren Einsatz der Messgeräte an den unterschiedlichen Messorten – Anästhesie - Einleitungsraum und Patientenzimmer der Kinderintensivstation – zu gewährleisten. Auf der obersten Etage des Wagens befand sich ein Bildschirm für die Durchführung der Glykokalyx-Messung, der Laptop zur Durchführung der Mikrozirkulationsmessungen, die SDF-Kamera sowie die dazugehörige Schutzkappe. In der unteren Etage wurde der Desktop-PC mit der Software Glykocheck – verbunden mit dem Bildschirm – untergebracht, sowie der AC-Converter und die Battery Unit – verbunden mit dem Laptop – für die Mikrozirkulationsmessung (vgl. Abb. 10 und 11).



Abbildung 10: Aufbau der Messgeräte

Die Kamera musste nach Durchführung der Mikrozirkulationsmessung umgesteckt und mit der Hardware der GlycoCheck-Messung verbunden werden.



Abbildung 11: MicroScan Kamera in SDF Technik

3.4.2. Ablauf der Studie

Die Messung von Glykokalyx und Mikrozirkulation fanden in einer gemeinsamen Sitzung – beginnend mit der Mikrozirkulation und darauffolgender Glykokalyx-Messung – statt. Vor den Messungen wurde die SDF - Kamera mittels Software von GlycoCheck kalibriert. Die Gesamtdauer der Messungen belief sich auf 5-7 Minuten, je nach Alter des Kindes und Umstände des Settings. Die Messungen wurden sublingual durchgeführt. Zu jedem Messzeitpunkt waren 3 Sequenzen für die Mikrozirkulation und 3 Sequenzen für die Glykokalyx-Messung vorgesehen. Aus verschiedenen Gründen, auf die diesem Abschnitt sowie Abschnitt 5.7 näher eingegangen wird, war es nicht immer möglich 3 Sequenzen aufzunehmen oder zu verwerten. Neben den beiden Messungen erfolgte die Entnahme einer Serumprobe im Rahmen der standardmäßig durch den Anästhesisten durchgeführten Blutentnahme. Die Messungen erfolgten unmittelbar präoperativ, unmittelbar postoperativ, sowie 6 und 24 Stunden postoperativ. Die folgende Abbildung stellt den Ablauf der Studie noch einmal graphisch dar.

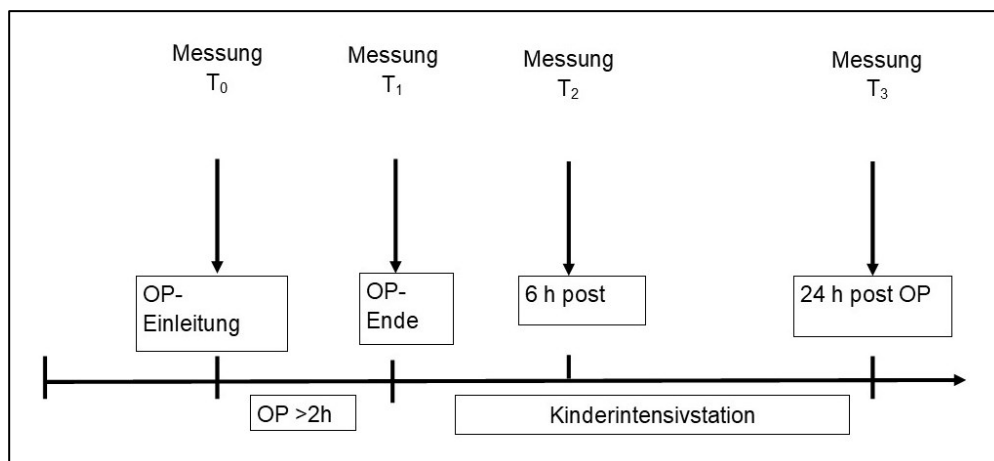


Abbildung 12: Studienablauf

Material und Methoden

Nicht bei allen Patienten war die vollständige Messung zu allen Follow-Up Zeitpunkten möglich, da respiratorische Probleme, aber auch frühzeitige Extubation nach < 24h mit postoperativem Durchgangssyndrom die Messungen nicht durchführbar machten. Zudem machten das teilweise junge Patientenalter eine Messung am bereits wachen Patienten mangels Compliance unmöglich.

Eine detaillierte Darstellung über den zeitlichen Ablauf und alle durchgeführten Maßnahmen der Studie und das gewonnene Probenmaterial findet sich in der Tabelle 4:

Zeitpunkt	Maßnahme	Material
24-48h vor OP	Aufklärung der Patienten bzw. Sorgeberechtigten und Einwilligung zur Studienteilnahme in schriftlicher Form	
24-0h vor OP	Blutentnahme im Rahmen der routinemäßigen Blutabnahme	Serum-Probe: 500µl
Nach anästhesiologischer Einleitung = T ₀	Messung der sublingualen Mikrozirkulation und Glykokalyx	Mikrozirkulation: 3 Sequenzen a 10 sec Glykocheck: 3 Messungen
0h postoperativ (vor Narkoseausleitung im OP) = T ₁	Messung der sublingualen Mikrozirkulation und Glykokalyx	Mikrozirkulation: 3 Sequenzen a 10 sec Glykocheck: 3 Messungen
	Blutentnahme im Rahmen der routinemäßigen Blutabnahme	Serum-Probe: 500µl
6h postoperativ = T ₂	Messung der sublingualen Mikrozirkulation und Glykokalyx	Mikrozirkulation: 3 Sequenzen a 10 sec Glykocheck: 3 Messungen
	Blutentnahme im Rahmen der routinemäßigen Blutabnahme	Serum-Probe: 500µl
24h postoperativ = T ₃	Messung der sublingualen Mikrozirkulation und Glykokalyx	Mikrozirkulation: 3 Sequenzen a 10 sec Glykocheck: 3 Messungen
	Blutentnahme im Rahmen der routinemäßigen Blutabnahme	Serum-Probe: 500µl

Tabelle 4: Zeitlicher Ablauf der Maßnahmen

3.4.3. Methoden zur Auswertung der Daten

Zur Auswertung der Daten in der Mikrozirkulationsstudie wurde das Programm AVA 3.2 verwendet. Im ersten Schritt wurden die Video-Loops auf ihre Qualität (Bildstabilität, Bildanzahl und Schärfe) überprüft und bei Mängeln manuell aussortiert. Innerhalb der Video-Loops wurde ein Zeitraum mit ungefähr 100 Bildern gesetzt und zugeschnitten.

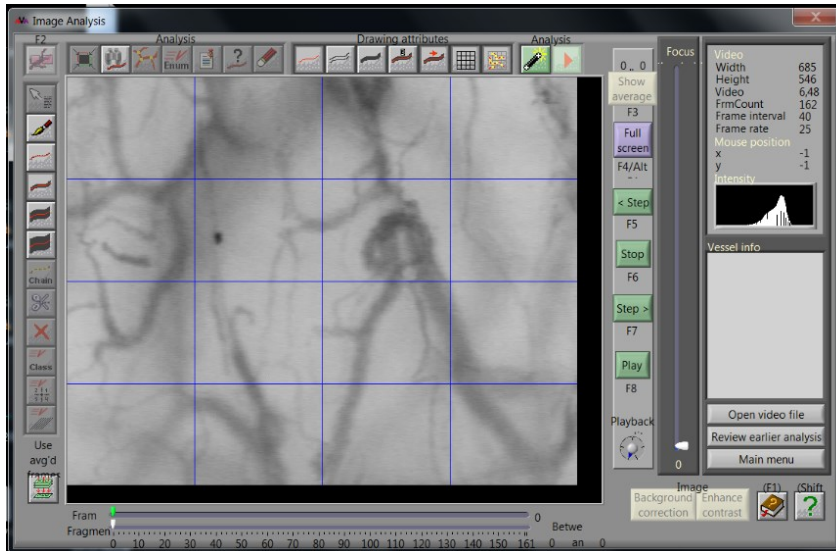


Abbildung 13: AVA 3.2 Zuschneiden der VideoLoops

Alle weiteren Analysen fanden an der zugeschnittenen Sequenz statt. Die automatische Gefäßerkennung der Software kodiert die Gefäße durch farbliche Markierung ihrer Größe nach in small vessels < 10 μm , medium vessels 10 - 25 μm , large vessels 25 – 100 μm und very large vessels > 100 μm . Dabei konnten die Gefäßkategorien selbst definiert werden, hier erfolgte dies in Anlehnung an die Kategorien der GlycoCheck-Software.

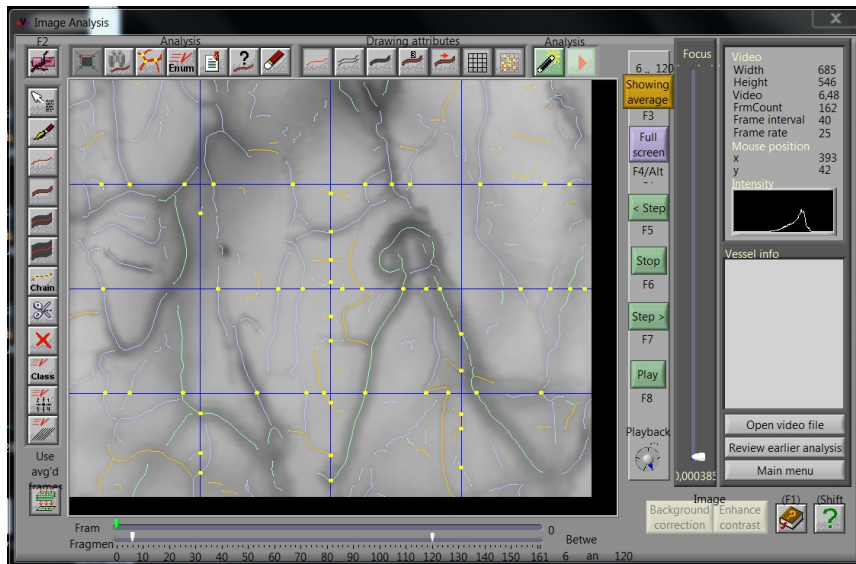


Abbildung 14: AVA 3.2 Automatische Gefäßerkennung

Diese automatische Kennzeichnung der Gefäße wurde in dieser Studie nicht manuell korrigiert außer bei offensichtlichen Artefakten, wie Haaren oder Speichelblasen im Bild, um eine Beeinflussung durch die auswertende Person zu vermeiden.

Im nächsten Schritt wurde der Bildausschnitt in 4 Quadranten unterteilt und pro Quadrant und Gefäßkategorie ein sogenannter Microvascular Flow Index zugeteilt. Hierbei wird der Blutfluss in den Gefäßen anhand der optischen Flusseigenschaften der Erythrozyten in (0) no flow, (1) intermittend, (2) sluggish, (3) continuous und (4) hyperdynamic flow eingeteilt (79-81).

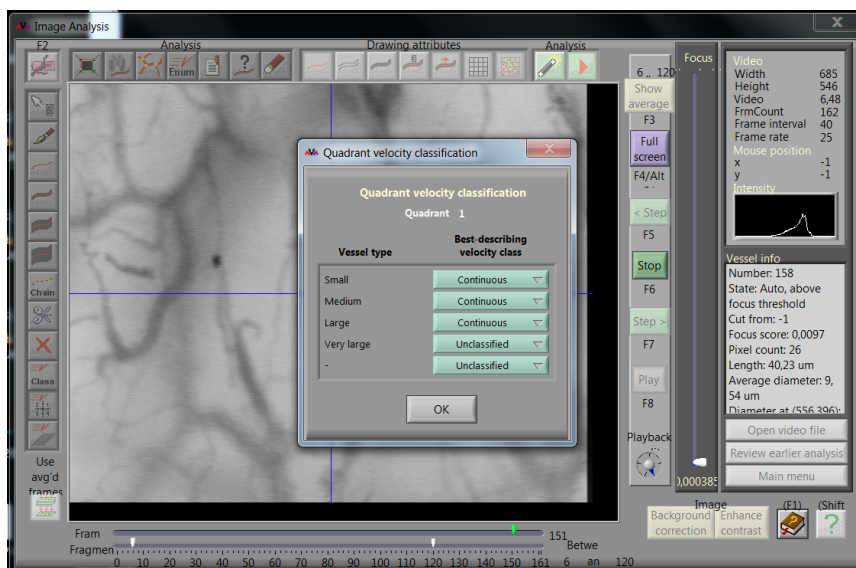


Abbildung 15: AVA 3.2 Bestimmung des MFI

Im Anschluss kann innerhalb des Programms ein Report exportiert werden, der die semiautomatisch ausgewerteten Daten liefert.

Die Datenauswertung der Glykokalyxstudie erfolgte mittels GlycoCheck Software. Durch die direkt während der Messung erfolgten Qualitätskontrollen der Software in den drei Qualitäten Bewegung also Bildstabilität, Lichtintensität sowie Bildfokus war hierbei keine vorherige Selektion geeigneter Videosequenzen notwendig.

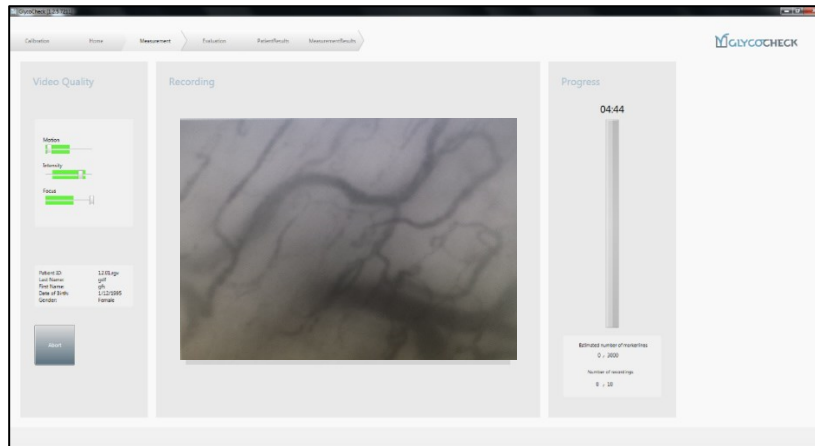


Abbildung 16: GlycoCheck Measurement Bildschirm

Die GlycoCheck Software erkennt die Gefäße anhand des Kontrastes automatisch. Dabei werden valide vaskuläre Segmente in Teilsegmente einer Länge von 10 μm unterteilt, um dann durch sogenannte „Line markers“ in 0,5 μm Abschnitte aufgeteilt zu werden, für die dann Intensitätsprofile erstellt werden. Dabei werden nur diejenigen Segmente, in denen mehr als 60% der 21 „Line markers“ einen ausreichenden Kontrast aufweisen für gültig erklärt. Dies findet in insgesamt 40 aufeinanderfolgenden Frames statt, sodass insgesamt 840 Intensitätsprofile pro vaskulärem Segment entstehen. Aus den Intensitätsprofilen wird die mittlere Position der Erythrozyten (P50), der Prozentsatz der Füllung mit Erythrozyten (RBC-Filling) während der 40 Frames sowie über Extrapolation das perfundierte Lumen D_{perf} ermittelt (Abbildung 9 und 17) (74, 78).

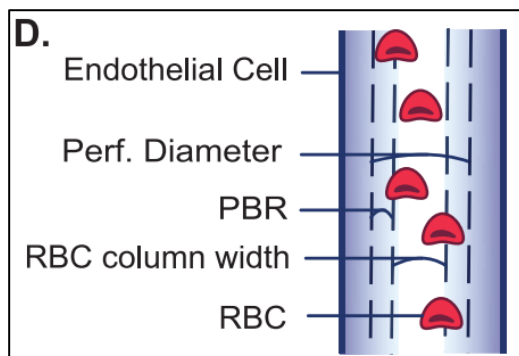


Abbildung 17: Graphische Darstellung von D_{perf} und PBR (Bildausschnitt aus (74))

Es konnten die Patient Reports und Measurement Reports direkt exportiert werden.

3.4.4. Parameter der Mikrozirkulation

Diameter Distribution

Die Gefäße der sublingualen Mikrozirkulation wurden anhand ihres Durchmessers klassifiziert. Als small vessels wurden Gefäße mit einem Durchmesser von 0 – 10 µm definiert, medium vessels von 10 – 25 µm, large vessels von 25 – 100 µm und very large vessels > 100 µm. Es wurde die prozentuale Verteilung der verschiedenen Gefäßklassen an der Gesamtlänge der Gefäße zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten T₀, T₁, T₂ und T₃ betrachtet.

Total vessel density (TVD)

Automatisch berechnet wird von der Software AVA 3.2 die sogenannte „Total vessel density“ (TVD). Diese ergibt sich aus der gesamten Länge der Gefäße pro Bildausschnitt. Sie trifft Aussage über die Gefäßdichte verschiedener Gefäßtypen unterschiedlicher Größe. Demnach erhält man die Werte TVD_{all vessels}, TVD_{small vessels} und TVD_{other}. Diese Werte lassen Rückschlüsse auf die mikrozirkulatorische Durchblutung und somit auf die Hämodynamik der Patienten zu.

Microcirculatory Flow Index (MFI)

Zur Bestimmung des MFI wird der Video-Ausschnitt in 4 Quadranten (Q) eingeteilt. Nach Zuteilung eines MFI pro Quadrant (siehe Abschnitt 3.4.3.) wird im Anschluss vom Programm automatisch der MFI je Gefäßtyp sowie der gesamte MFI aller Gefäße berechnet. Dazu werden folgende Formeln verwendet:

$$MFI_x = \frac{(Q_1^x + Q_2^x + Q_3^x + Q_4^x)}{4} = \frac{1}{4} \times \sum_{i=1}^4 Q_i^x$$
$$MFI_{all\ vessels} = \frac{1}{16} \times \left[\sum_{i=1}^4 Q_i^s + \sum_{i=1}^4 Q_i^m + \sum_{i=1}^4 Q_i^l + \sum_{i=1}^4 Q_i^{xl} \right]$$

4.

$x = vessel\ type\ (small\ [s],\ medium\ [m],\ large\ [l],\ very\ large\ [xl])$
 $Q = Quadrant, i = index\ (Nummer\ des\ Quadranten\ [i \in \{1; 2; 3; 4\}])$

3.4.5. Parameter der Glykokalyx

RBC Filling

RBC Filling gibt den Anteil der vaskulären Segmente an, die während der Messung eine kontinuierliche Füllung mit Erythrozyten hatten. Berechnet wird dieser Wert automatisch

durch die Software GlycoCheck. Dabei wurde wiederum die Einteilung der Gefäße anhand ihres Durchmessers beachtet.

Perfused Boundary Region (PBR)

Das Gefäßlumen wird in vier Abschnitte eingeteilt:

Erythrozytenhauptstrom (P50 RBCW), gesamter von Erythrozyten durchströmter Gefäßabschnitt (Dperf), für Erythrozyten permeabler Anteil der Glykokalyx „Perfused Boundary Region“ (PBR) und den für Erythrozyten nicht permeablen Anteil der Glykokalyx. Dperf wird durch lineare Regression als „X-Achsenabschnitt der extrapolierten Regressionslinie“ ermittelt (74). PBR wird wie folgt berechnet (74, 78):

$$PBR = \frac{D_{perf} - RBCW}{2}$$

$$D_{perf} = RBC \text{ perfused lumen}, RBCW = \text{median RBC width}$$

Diese Werte werden für die unterschiedlichen Gefäßgrößen bestimmt (PBR 5-25, PBR 5-9, PBR 10-19, PBR 20-25).

Abbauprodukte der Glykokalyx im Blut

Es erfolgte die Messung der Konzentrationen von Hyaluronsäure und Syndecan-1 im Serum als Hinweis auf den Abbau (Shedding) der Glykokalyx.

3.4.6. Nachweis der Glykokalyxabbauprodukte im Blut durch ELISA

Die Messungen von Glykokalyxabbauprodukten im Serum erfolgte mittels Enzyme-Linked Immunsorbent Assays entsprechend den Angaben des Herstellers.

Hyaluronsäure

Zum Nachweis von Hyaluronsäure im Serum wurde das Hyaluronan Enzyme-Linked Immunsorbent Assay Kit der Firma Echelon Biosciences Inc., Salt Lake City, USA verwendet. Es handelt sich hierbei um einen indirekten kompetitiven ELISA, der nach Herstellerprotokoll durchgeführt wurde. Zunächst wird der Serumprobe eine definierte Menge Hyaluronsäure-Antikörper zugesetzt, nach Inkubation wird das Antikörper-Antigengemisch auf eine mit Hyaluronsäure beschichtete Mikrotiterplatte gegeben. Die überschüssigen Antikörper, die nicht an die Hyaluronsäure im Patientenserum gebunden haben, binden nun an die Platte. Nach einem Waschvorgang wird ein Detektor-Antikörper mit Koppelung an das Enzym Alkalische Phosphatase der Probe zugesetzt, der an die Hyaluronsäure-Antikörper bindet. Nach Zusetzen des Substrates p-Nitrophenylphosphat entsteht ein Farbumschlag der photometrisch detektiert werden

kann. Dies lässt über indirekte Proportionalität eine Berechnung der Konzentration von Hyaluronsäure im Patientenserum zu.

Der Intra-Assay Variationskoeffizient beträgt laut Herstellerangaben 11,8%, der Inter-Assay-Koeffizient 8,2%.

Syndecan-1

Es wurde das Human CD-138 ELISA Kit der Firma Diaclone SAS, Besancon, France verwendet. Es handelt sich hierbei um einen Sandwich-ELISA, der nach Standardprotokoll des Herstellers durchgeführt wurde (82). Die Mikrotiterplatten sind mit Anti-Syndecan-1-Antikörpern beschichtet [1], an die nach Zugabe der Patientenprobe Syndecan-1 aus dem Serum bindet [2]. Überschüssiges Material wird durch die Waschvorgänge entfernt. Es wird ein zweiter Biotin-gekoppelter Syndecan-1-Antikörper zugesetzt, der das Syndecan-1 bindet [3]. Nach Waschen erfolgt das Zusetzen des an Streptavidin gekoppelten Enzyms Horseradishperoxidase [4]. Dies bindet an das Biotin der Antikörper und durch die Zugabe des Substrates Tetramethylbenzidin (TMB) wird eine Redoxreaktion in Gang gesetzt, die zu einem Farbumschlag (blau) [5] führt. Mittels Schwefelsäure wird die Reaktion gestoppt, es kommt zu einem erneuten Farbumschlag (gelb) [6]. Mittels Photometrie wird die Absorption zur Berechnung der Syndecan-1 Konzentration gemessen.

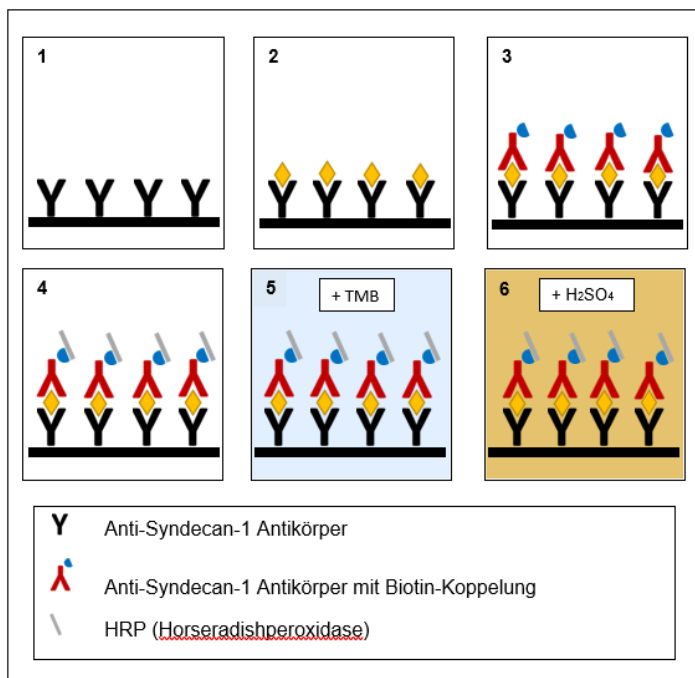


Abbildung 18: Sandwich-ELISA zum Syndecan-1 Nachweis

Laut Herstellerangaben zur Sensitivität des Tests beträgt die niedrigste messbare Syndecan-1 Konzentration 4,94 ng/ml.

Hinsichtlich der Spezifität wurde keine Kreuzreaktivität zu anderen Proteinen detektiert. Der Intra-Assay Variationskoeffizient beträgt laut Hersteller 6,2% der Inter-Assay Variationskoeffizient 10,2%. Alle Angaben sind den „Instruktionen for use“ des Test Kits von Diaclone SAS entnommen (82).

Diese Methoden zur Bestimmung der Glykokalyxabbauprodukte Hyaluronsäure und Syndecan-1 wurden auch in anderen Studien verwendet (49, 83).

Alle Messungen wurden in Duplikaten durchgeführt und für jeden Patienten der Mittelwert ermittelt.

Zur Korrektur der Hämodilution wurde die Konzentration des Gesamteiweißes im Blut der Patienten herangezogen. Hierbei wurde das Gesamteiweiß vor Operation (Zeitpunkt T_0) als 100% definiert und die relative Veränderung von Zeitpunkt T_0 zu T_1 berechnet. Der resultierende Faktor wurde zur Korrektur der gemessenen Konzentration der Glykokalyxabbauprodukte postoperativ herangezogen.

3.4.7. Erhebung klinischer Daten

Mittlerer Arterieller Blutdruck (MAD)

Zu den jeweiligen Messzeitpunkten wurde der bei der Messung entweder über invasive arterielle Druckmessung oder nicht-invasive Blutdruckmessung nach Riva-Rocci ermittelte Blutdruckwert schriftlich im Messprotokoll festgehalten. Insbesondere zu den Messzeitpunkten T_0 und T_1 war meist noch eine invasive arterielle Druckmessung installiert. Es wurden für die Auswertung der Daten der systolische und diastolische Blutdruckwert sowie der ermittelte mittlere arterielle Druck (MAD) verwendet.

Herzfrequenz

Auch die Herzfrequenz zum Messzeitpunkt wurde protokolliert. Als Einheit wurde Herzschläge pro Minute gewählt.

Bilanz des Volumen- und Wasserhaushaltes

Intraoperativ wurden die Einfuhr von Flüssigkeiten sowie die Ausscheidung und der Verlust von Blut oder Sekret über die Drainagen im Anästhesie-Protokoll dokumentiert. In der postoperativen Phase wurde die Bilanzierung in den Protokollen der Kinderintensivstation fortgesetzt. Es wurde dabei unterschieden zwischen Volumenbilanz, die die Einfuhr von Volumentherapeutika wie Blutprodukten und kolloidalen Flüssigkeiten sowie den Verlust von Blut oder Drainagenflüssigkeit

berücksichtigt und der Wasserbilanz, die die Zufuhr kristalloider Flüssigkeiten und die Ausscheidung von Urin und Magensaft beinhaltet.

3.4.8. Statistische Methoden

Pseudonymisierung

Es erfolgte eine pseudonymisierte Datenerfassung und -verarbeitung.

Statistische Tests

Zur Durchführung der statistischen Tests wurden jeweils die Mittelwerte der Einzelmesswerte aus den aufgenommenen Videosequenzen des jeweiligen Patienten zu dem jeweiligen Messzeitpunkt gebildet. Anschließend wurde analysiert, ob eine Normalverteilung vorliegt und auf Grundlage dessen das entsprechende Testverfahren gewählt.

Als statistische Tests wurde bei Normalverteilung der t-test für verbundene Stichproben (2 Zeitpunkte), die repeated-measures ANOVA (3 Zeitpunkte) sowie als nichtparametrischer Test für gepaarte Datensätze der Wilcoxon matched – pairs signed rank Test (2 Zeitpunkte) bzw. der Friedman-Test (3 Zeitpunkte) angewendet. Um den Zusammenhang zwischen 2 Variablen zu untersuchen, wurde in dieser Studie eine einfache Pearson Korrelation durchgeführt. Eine multivariate Analyse wurde aufgrund der geringen n-Zahl für nicht sinnvoll erachtet.

3.4.9. Graphische Auswertung

Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit der Software GraphPad Prism, Version 8, San Diego, USA.

4. Ergebnisse

4.1. Patientenkollektiv

Die Rekrutierung der Patienten sowie die Messungen wurden über den Zeitraum eines Jahres durchgeführt. Wir begannen mit der ersten Messung im Januar 2017.

Insgesamt konnten 11 Patienten in die Studie aufgenommen werden.

Aus den zuvor genannten Einschlusskriterien ergab es sich, dass hauptsächlich pädiatrische Patienten, die aufgrund onkologischer Erkrankungen operiert werden mussten, in der Studie erfasst wurden.

Eine genaue Auflistung der Patienten nach Alter, Geschlecht, Erkrankung und Operationsart bietet Tabelle 5:

Patient	Alter (Monate)	Gewicht (kg)	Geschlecht	Diagnose	durchgeführte Operation
1	34	11,5	männlich	Neuroblastom	Tumorresektion
2	118	34	weiblich	Fokal noduläre Hyperplasie	Segmentresektion (Leber)
3	120	29	weiblich	Fokal noduläre Hyperplasie	Segmentresektion (Leber)
4	39	15	weiblich	Nephroblastom	Tumorresektion
5	114	22	weiblich	Ösophagusstenose bei Z.n. Laugenverätzung	Magenhochzug
6	119	38	männlich	Phäochromozytom	Nephrektomie
7	78	16,5	weiblich	Embryonales Rhabdomyosarkom	Tumorresektion
8	104	39	weiblich	Phakomatose	Hemihepatektomie
9	34	8,8	männlich	Inflammatorisch myofibroblastischer Tumor	Tumorteilresektion
10	35	10	männlich	Inflammatorisch myofibroblastischer Tumor	Tumorteilresektion
11	19	8	männlich	Neuroblastom	Tumorresektion

Tabelle 5: Patientenkollektiv

Da die sublinguale Mikrozirkulationsmessung in diesem Patientenalter fast ausschließlich in narkotisiertem oder sediertem Zustand erfolgen kann, konnten nur bei wenigen Patienten die gesamten Follow-up-Messungen durchgeführt werden.

Abbildung 19 gibt einen Überblick über die Patientenzahlen (n) zu den verschiedenen Messzeitpunkten:

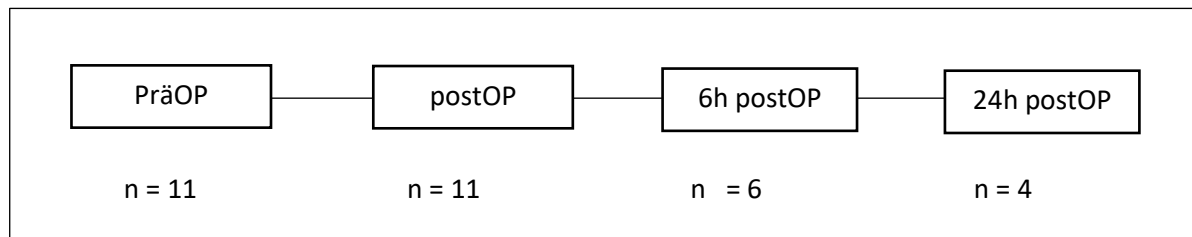


Abbildung 19: Patientenzahlen nach Messzeitpunkt

Aufgrund der geringen Patientenzahlen zum Messzeitpunkt 4 wurden die Messwerte in der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt.

Die Auswertung der Daten wurde durchgeführt wie folgt: Zum einen wurden die Daten der Zeitpunkte T_0 und T_1 unter Einbezug aller 11 Patienten ausgewertet, zum anderen erfolgte die Bildung einer Subgruppe, die alle Patienten einschließt, zu denen Daten für alle 3 Messzeitpunkte (T_0 , T_1 , T_2) existieren. Die Subgruppe enthält somit Daten von 6 Patienten. Diese Ergebnisse werden gesondert dargestellt. Aufgrund der niedrigen Anzahl an Studienteilnehmer wurde zur Analyse der experimentellen Daten bewusst der Wilcoxon matched – pairs signed rank Test ausgewählt, da nicht von einer Normalverteilung auszugehen ist.

4.2. Auswertung der Daten unter Einbezug aller Studienteilnehmer (T_0 vs. T_1)

4.2.1. Klinische Daten

Blutdruck und Herzfrequenz

Zum Zeitpunkt der Mikrozirkulations- und Glykokalyxmessungen wurden die Blutdruckwerte der Patienten dokumentiert. Präoperativ zum Zeitpunkt T_0 ergibt sich ein Mittelwert für den MAD von 65 mmHg mit einer Standardabweichung von 11 mmHg im Vergleich zu einem Mittelwert von 69 mmHg und einer Standardabweichung von 12 mmHg zum Zeitpunkt T_1 . Unter Testung mittels t-test für verbundene Stichproben fand sich bei einem p-Wert von 0,40 kein signifikanter Unterschied zwischen T_0 und T_1 .

Auch die Analyse der Herzfrequenz zeigte keine signifikanten Veränderungen ($p = 0,5$) von T_0 (MW = 107 Schläge/min, SD = 16 Schläge/min) zu T_1 (MW = 110 Schläge/min, SD = Schläge/min).

Serumlaktat

Es zeigt sich ein signifikanter Anstieg des Serumlaktatwerts unter Betrachtung aller Studienpatienten im Vergleich von T_0 (Median = 0,8 mmol/l) zu T_1 (Median = 1,4 mmol/l) bei einem p-Wert von $p = 0,02$.

Bilanzen und Volumentherapie

Unter Einbeziehung der Operationsdauer und des Körpergewichts der Kinder wurde die Volumengabe und Flüssigkeitsgabe für den intraoperativen Zeitraum – von T_0 bis T_1 – berechnet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

Patient	Gewicht (kg)	OP-Dauer (h:min)	Volumen in ml/kgKG/h	Kristalloide in ml/kgKG/h
1	11,5	10:25	20	35
2	34	09:21	5	8
3	29	09:16	4	12
4	15	06:29	8	18
5	22	09:33	13	14
6	38	06:37	2	16
7	16,5	03:59	4	27
8	39	05:45	2	13
9	8,8	06:35	17	25
10	10	06:25	0	17
11	8	08:12	6	33

Tabelle 6: Volumen- und Flüssigkeitstherapie im Zeitraum T_0 bis T_1 in ml/kgKG/h

Der für die Volumentherapie ermittelte Mittelwert – berechnet aus der mittleren Volumeneinfuhr, dem mittleren Gewicht und der mittleren OP-Dauer – beläuft sich auf 6 ml/kgKG/h. Im Falle der Flüssigkeitstherapie mittels kristalloider Lösungen beträgt der Mittelwert 16 ml/kgKG/h.

Führt man eine Korrelationsanalyse durch, so findet sich ein signifikanter inverser linearer Zusammenhang zwischen der Menge an Kristalloiden (ml/kgKG), die pro Stunde verabreicht wurden und dem Körpergewicht (Gewicht in kg) der Patienten bei einem Korrelationskoeffizienten (r) von $r = - 0,73$ und einem p -Wert von 0,01, jedoch kein Zusammenhang mit der OP-Dauer. Im Hinblick auf die Volumentherapie bestehend aus Erythrozytenkonzentraten, Fresh Frozen Plasma und Kolloiden bezogen auf das Körpergewicht (Volumen in ml/kgKG) und dem intraoperativen Blutverlust sowie der OP-Dauer zeigte sich ein signifikanter linearer Zusammenhang mit dem intraoperativen Blutverlust ($r = 0,85$, $p = 0,0009$), welcher wiederum mit der OP-Dauer korrelierte ($r = 0,67$, $p = 0,0235$), sodass auch eine positive Korrelation von Volumentherapie und OP-Dauer gegeben ist ($r = 0,64$, $p = 0,03$). Im Gegensatz zur Flüssigkeitstherapie findet sich jedoch keine Korrelation mit dem Gewicht.

Ergebnisse

In der Volumentherapie kann man bei genauerer Betrachtung zwischen Substitution mit Hilfe von Blutprodukten und kolloidaler Volumensubstitution differenzieren. Dabei lässt sich auch dies in Abhängigkeit vom Körpergewicht darstellen. Es handelt sich hierbei um den intraoperativen Zeitraum (Tabelle 7).

Patient	Kolloide ml / kg KG	Blutprodukte ml / kg KG	Blutverlust pro kgKG (ml/kg/KG)
1	44	165	96
2	7	38	18
3	9	26	16
4	30	20	10
5	23	105	105
6	13	0	11
7	0	15	9
8	13	0	9
9	34	77	17
10	0	0	6
11	33	14	19

Tabelle 7: Volumentherapie Zeitraum T_0 bis T_1 in ml/kgKG

Im Durchschnitt wurden hierbei 15 ml kolloidaler Volumenersatz pro Kilogramm Körpergewicht verabreicht und 33 ml Blutprodukte pro Kilogramm Körpergewicht. Der durchschnittliche Blutverlust betrug 28,5 ml/kgKG.

Katecholamintherapie

Adrenalin, Noradrenalin, Dopamin und Dobutamin sind der Definition nach Katecholamine. Die Gabe von Dobutamin und Dopamin wurden ebenso wie die Gabe von Adrenalin in dieser Studie nicht beobachtet. In der präoperativen Messung zum Zeitpunkt T_0 war keiner der Studienteilnehmer katecholaminpflichtig. In 100 % der Fälle wurde den Patienten jedoch Norepinephrin – der Abkömmling des Noradrenalins – im Verlauf der Operation verabreicht. Dabei wurde die Gesamtmenge des verabreichten Norepinephrins aus Bolus-Therapie und der Verabreichung per Perfusor berechnet.

Patient	Norepinephrin präoperativ	Norepinephrin (μg) gesamt intraoperativ T0-T1	Norepinephrin ($\mu\text{g}/\text{kgKG}/\text{h}$) intraoperativ T0-T1	Norepinephrin ($\mu\text{g}/\text{kgKG}/\text{min}$) intraoperative T0-T1
1	0	1160	9,7	0,16
2	0	105	0,3	0,01
3	0	488	1,8	0,03
4	0	116	1,2	0,02
5	0	476	2,3	0,04
6	0	2526	10,0	0,17
7	0	600	9,1	0,15
8	0	164	0,7	0,01
9	0	331	5,7	0,10
10	0	792	12,3	0,21
11	0	1402	21,4	0,36

Tabelle 8: intraoperative Katecholamintherapie

Die Analyse der Daten ergab eine signifikante direkte Korrelation der verabreichten Menge an Noradrenalin mit der Menge an verabreichten Kristalloiden bei einem Wert $r = 0,71$ und $p = 0,01$, nicht aber mit der Menge an verabreichtem Volumen.

Neben den klassischen Katecholaminen lassen sich noch Kombinationspräparate mit Katecholaminabkömmlingen beobachten. Bei vier der elf Studienteilnehmer wurde zum präoperativen Zeitpunkt Akrinor® zur Stabilisierung des Blutdrucks verabreicht. Bei Akrinor® handelt es sich um die Kombination aus Cafedrin und Theodrenalin.

4.2.2. Mikrozirkulation

TVD

Bei der Betrachtung der TVD_{all} zeigten sich über die Messzeitpunkte keine signifikanten Veränderungen.

Es erfolgte eine Analyse der TVD aufgeteilt in die verschiedenen Gefäßgrößen zu den Zeitpunkten T_0 bis T_2 . Dabei waren insbesondere die kleinen Gefäße (TVD small vessels) für die Fragestellung dieser Studie interessant.

Für die Messzeitpunkte T_0 und T_1 konnten bei allen Patienten Daten erhoben werden. Klammert man die Messzeitpunkte T_2 und T_3 aus und führt einen Wilcoxon matched - pairs signed rank Test der $\text{TVD}_{\text{small}}$ aller Patienten durch, so zeigt sich eine signifikante Verminderung der $\text{TVD}_{\text{small}}$ zum Zeitpunkt T_1 (Median $8,1 \text{ mm}/\text{mm}^2$) im Vergleich zu Zeitpunkt T_0 (Median $10,6 \text{ mm}/\text{mm}^2$). Die Abnahme der Gefäßdichte kleiner Gefäße

postoperativ zeigt sich in einem p-Wert = 0,01. Dies ist in Abbildung 20 graphisch dargestellt:

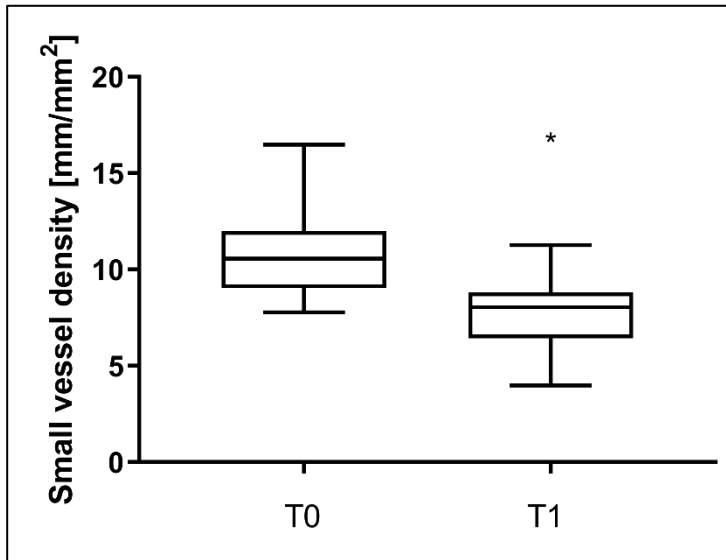


Abbildung 20: TVD small vessels T_0 vs. T_1 dargestellt als Box-Plot (Median, Min/Max)

Desweiteren korreliert die $TVD_{\text{small vessels}}$ invers mit der Menge an verabreichten Katecholaminen bei $r = -0,65$ und $p = 0,04$.

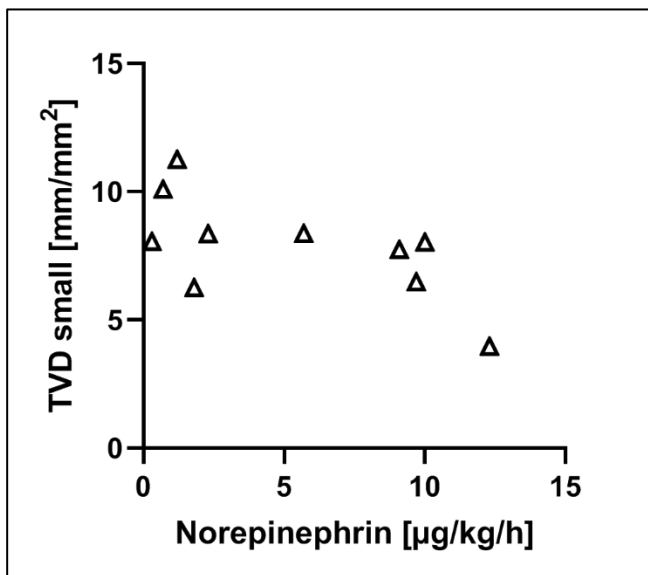


Abbildung 21: Korrelation Norepinephrin - TVD small

Diameter Distribution

Betrachtet man die Daten der AVA-Software zur Verteilung der Gefäßdurchmesser zu den Zeitpunkten T_0 (unmittelbar präoperativ) und T_1 (unmittelbar postoperativ), so lässt sich feststellen, dass sich die Gesamtzahl der Gefäße (TVD) nicht signifikant verändert. Jedoch findet sich eine statistisch signifikante Umverteilung der Gefäße zugunsten der

medium vessels auf Kosten der small vessels bei gleichbleibenden large vessels (Abbildung 22).

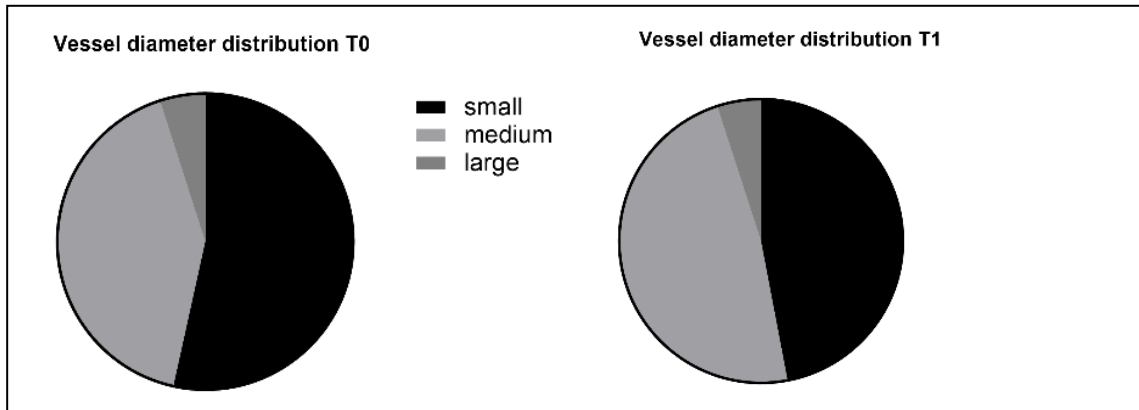


Abbildung 22: Vessel diameter distribution T_0 vs. T_1

Dabei reduziert sich der Anteil der kleinen Gefäße von 54 % auf 46 % ($p = 0,0098$). Der Anteil der mittleren Gefäße steigt von rund 41 % auf 50 % ($p = 0,0020$) (Abbildung 23).

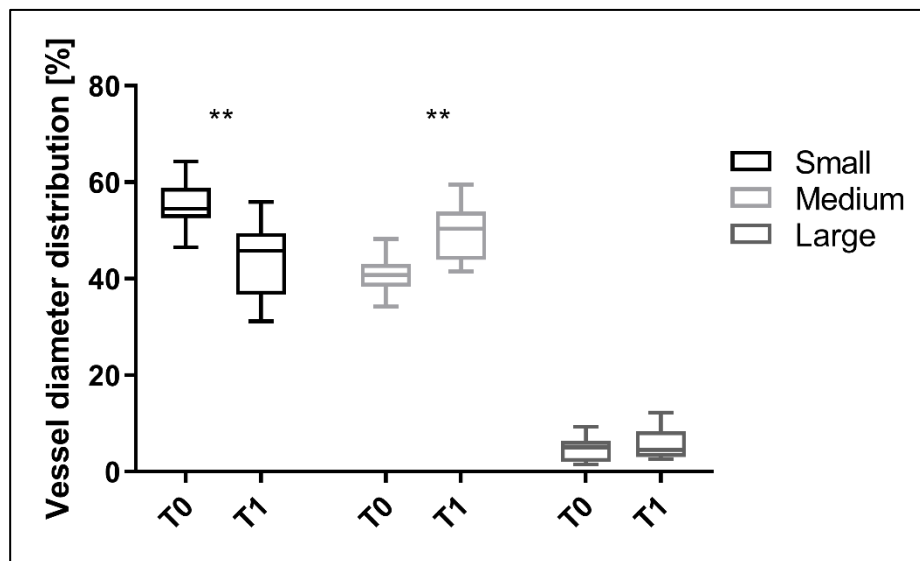


Abbildung 23: Diameter distribution T_0 vs. T_1 dargestellt als Box-Plot (Median, Min/Max)

MFI

Unter Betrachtung aller Gefäßklassen zeigt sich über die Messzeitpunkte T_0 und T_1 keine Änderung des Microvascular Flow Index von statistischer Signifikanz. Betrachtet man jedoch den MFI_{small} zu den Zeitpunkten T_0 (Median 3,0) versus T_1 (Median 3,1) so ergibt sich im Wilcoxon matched – pairs signed rank Test ein p-Wert von 0,0098. Dieses Ergebnis stellt Abbildung 24 graphisch dar.

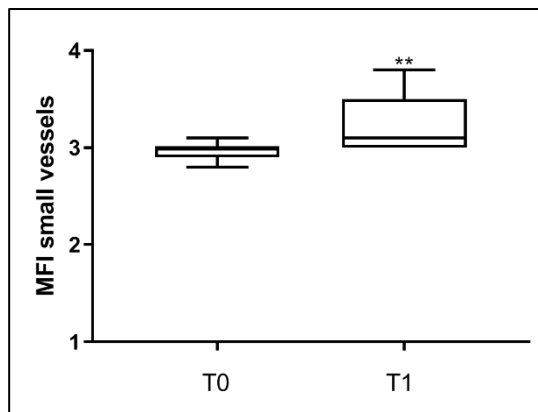


Abbildung 24: MFI small vessels dargestellt als Box-Plot (Median, Min/Max)

4.2.3. Glykokalyx

RBC-Filling

Der Prozentsatz der kontinuierlich mit Erythrozyten gefüllten Gefäßabschnitte wurde mittels der Software Glycocheck ermittelt. Unter Betrachtung aller Patienten der Studie fand sich keine signifikante Veränderung von Zeitpunkt T₀ (Median 69%) zu Zeitpunkt T₁ (Median 67%). Im Wilcoxon Test kann ein p-Wert von 0,7 ermittelt werden.

PBR

Abbildung 25 zeigt die Veränderung der PBR Werte der Gefäße eines Durchmessers von 5-25 μm zu den Zeitpunkten T₀ und T₁. Dabei wurden alle Patienten in die Berechnung miteinbezogen. Der Median zu Zeitpunkt T₀ betrug 2,4 μm , zu Zeitpunkt T₁ 2,3 μm . Es finden sich keine signifikanten Veränderungen ($p = 0,739$). (Siehe Abbildung 25)

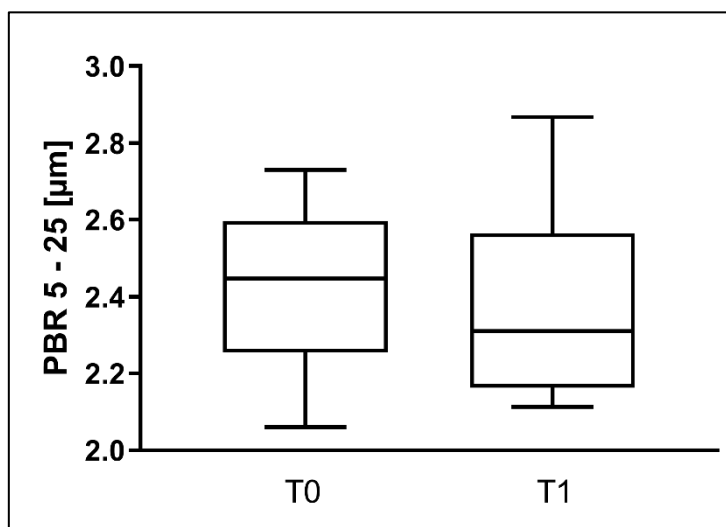


Abbildung 25: PBR 5-25 μm T₀ vs. T₁ dargestellt als Box-Plot (Median, Min/Max)

Glykokalyx-Abbauprodukte im Blut

In den zu den Messzeitpunkten gewonnenen Blutproben ließen sich mittels ELISA verschiedene Abbauprodukte der Glykokalyx nachweisen. Im Folgenden sind die Veränderungen der Konzentrationen von Hyaluronan und Syndecan-1 im zeitlichen Verlauf von T₀ und T₁ dargestellt.

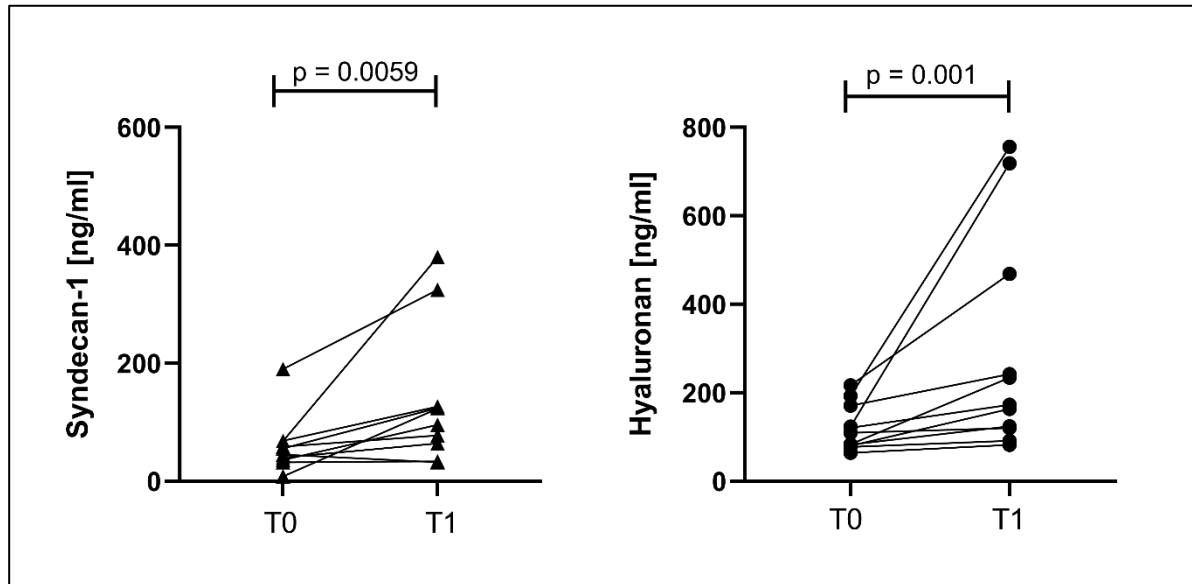


Abbildung 26: Hyaluronan und Syndecan T₀ vs. T₁

Die Konzentration von Syndecan-1 nimmt im Vergleich von T₀ (Median 50,7 ng/ml) zu T₁ (Median 109,4 ng/ml) signifikant zu. Der p-Wert des Wilcoxon matched – pairs signed rank Tests beträgt $p = 0,0059$. (Abbildung 26)

Die Konzentration von Hyaluronan zeigt einen signifikanten Anstieg von T₀ nach T₁, mit einem p-Wert im Wilcoxon matched – pairs signed rank Test von 0,001. (Median T₀: 109,9 ng/ml vs. Median T₁: 173,2 ng/ml) (Abbildung 26)

4.3. Auswertung der Daten der Subgruppe

4.3.1. Mikrozirkulation

TVD

Bildet man die Untergruppe der TVD_{small} mit allen Patienten, für die an den Zeitpunkten T₀, T₁ und T₂ Messwerte vorliegen ($n = 6$), so findet sich eine signifikante Abnahme der TVD_{small} über alle Zeitpunkte mit einem p-Wert von $p = 0,0417$ – berechnet mit dem Friedman Test (Median T₀ = 11,3 mm/mm², Median T₁ = 8,2 mm/mm², Median T₃ = 9,6 mm/mm²). Die post-hoc Analyse mittels Dunn's multiple comparisons test zeigt eine

signifikante Abnahme der TVD_{small} zum Zeitpunkt T_1 im Vergleich zu präoperativen Werten (T_0). Dies ist in Abbildung 27 dargestellt.

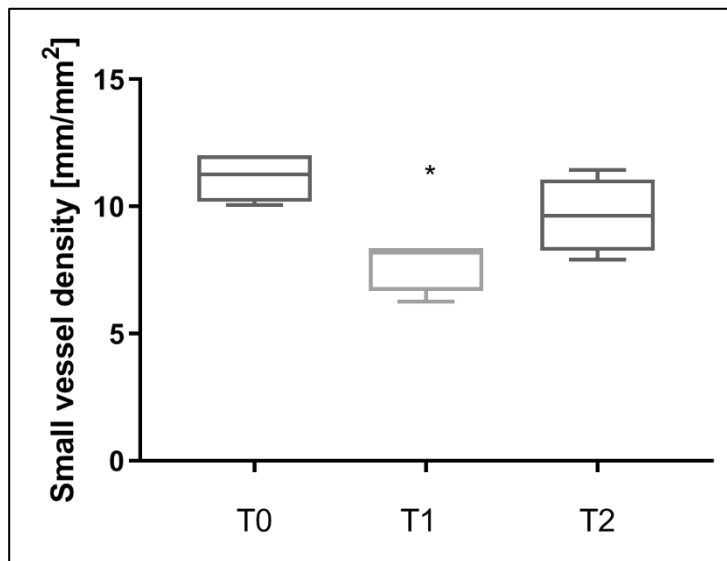


Abbildung 27: TVD_{small} Subgruppe T_0 - T_2 dargestellt als Box-Plot (Median, Min/Max)

4.3.2. Glykoklayx

RBC-Filling

Der Prozentsatz der kontinuierlich mit Erythrozyten gefüllten Gefäßabschnitte wurde mittels der Software Glycocheck zu allen drei Messzeitpunkten ermittelt und mit Hilfe Friedman-Tests auf signifikante Änderungen hin getestet. Dabei konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p = 0,7$).

PBR

Die Werte der PBR 5-25 μm der Kinder, bei denen Messwerte zu allen 3 Messzeitpunkten vorlagen, wurden zu den Zeitpunkten T_0 , T_1 und T_2 miteinander verglichen. Dabei bleiben die Werte über die drei Messzeitpunkte weitgehend unverändert. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich der Subgruppen ($p = 0,99$).

5. Diskussion

Große operative Eingriffe gehen häufig mit hämodynamischen Beeinträchtigungen einher, die eine intraoperative sowie postoperative Flüssigkeits- und Volumentherapie notwendig machen. Dabei ist das alleinige Monitoring der Makrozirkulationsparameter oftmals unzureichend, um die Organperfusion und den Volumenhaushalt zu beurteilen (16, 20, 22). Vor dem Hintergrund des „Loss of hemodynamic coherence“ wird in der aktuellen Forschung zunehmend mehr Augenmerk auf die hämodynamische Situation in den Kapillaren und somit der Organperfusion gelegt (16, 20, 84-86). Hierbei kann eine Visualisierung der Mikrozirkulation in vivo, die zum Beispiel durch die SDF Technik möglich ist, helfen pathologische Veränderungen der Mikrozirkulation darzustellen und damit auch zur Therapieevaluation genutzt werden (84-87). Eine zielgerichtete Flüssigkeitstherapie – wie sie derzeit hauptsächlich anhand von Parametern der Makrozirkulation durchgeführt wird – kann durch Hinzuziehen von mikrozirkulatorischen Parametern weiter optimiert werden, um die Therapie und das Outcome der Patienten zu verbessern (86, 88).

Daher gibt es zunehmend Bemühungen das mikrozirkulatorische Monitoring sowie die Beurteilung der Glykokalyx in den klinischen Alltag und die Entscheidungsfindung miteinzubeziehen. Eine Zusammenschau aus makrozirkulatorischen (u.a. Blutdruck, Herzfrequenz, Laktatwert im Serum, Sauerstoffsättigung peripher und zentralvenös) und mikrozirkulatorischen Parametern (u.a. TVD, MFI, Diameter Distribution) soll möglichst umfangreiche Informationen zu Volumenhaushalt und Organperfusion liefern. Hierdurch sollen eine Schädigung der Endorgane durch Hypoxämie bei verminderter Perfusion verhindert werden und Schlüsse auf die Prognose des Patienten im weiteren Verlauf gezogen werden (17, 73, 89).

5.1. MAD und Herzfrequenz

In dieser Studie zeigt der mittlere arterielle Blutdruck über die drei Messzeitpunkte T_0 , T_1 und T_2 keine signifikanten Veränderungen. Für die Stabilität der Blutdruckwerte kommen einige Faktoren in Frage:

Zum einen spricht es für eine suffiziente Volumen- bzw. Flüssigkeitstherapie. Durch Vermehrung des intravasalen Volumens und Ausgleich der Flüssigkeitsverluste bleibt der MAD annähernd stabil. Dabei gilt es sich im Falle der pädiatrischen Studienteilnehmer an den altersabhängigen Perzentilen der Blutdruckwerte zu orientieren.

Desweiteren unterstützt die Katecholamintherapie durch periphere Vasokonstriktion und der damit verbundenen Steigerung des systemischen Widerstands die Aufrechterhaltung eines konstanten MAD durch Zentralisierung des Blutvolumens.

Einen weiteren wichtigen Punkt stellen die guten Kompensationsmechanismen bei Kindern dar. Kinder sind in der Lage trotz Flüssigkeits- und Volumenverluste ihren Blutdruck relativ lange aufrechtzuerhalten. Hierbei lässt sich die Herzfrequenz als Parameter heranziehen, um hier weiter zu differenzieren. Nachdem die Herzfrequenz keine signifikanten Veränderungen von T_0 zu T_1 zeigt, spricht dies eher für ein gutes intraoperatives Flüssigkeits- und Volumenmanagement bzw. auch gering ausgeprägte Volumen- oder Flüssigkeitsverluste. Ein Anstieg der Herzfrequenz hätte Anhalt für Kompensationsmechanismen liefern können.

Wie bereits in einigen Studien belegt, verbessert die Aufrechterhaltung stabiler Blutdruckwerte das Outcome der Patienten. Dabei sind insbesondere Nierenversagen und Schädigung des Myokards als Folgen eingeschränkter Hämodynamik zu nennen (90-92).

Der MAD – für sich allein betrachtet – lässt jedoch aufgrund des „Loss of hemodynamic coherence“ nicht auf die Organperfusion schließen, was weitere Parameter zur Evaluation des Volumenhaushalts erforderlich macht (16).

Zudem bilden die erhobenen Blutdruckwerte nicht die Schwankungen intraoperativ oder auf der Intensivstation ab, sondern stellen lediglich punktuelle Messungen zu Zeitpunkten mit stabiler Hämodynamik dar. Es war nicht umsetzbar direkt vor und nach Bolusgabe von Volumen bei Blutdruckabfällen oder Instabilität Messungen durchzuführen. Dies lag daran, dass die Volumenboli aus einem akut instabilen Zustand des Patienten heraus resultierten und daher keine Zeit blieb die Messungen durchzuführen. Aus diesem Grund konnten auch die unmittelbaren Auswirkungen auf Glykokalyx und Mikrozirkulation nicht erfasst werden.

5.2. Volumentherapie und Bilanzen

Vergleicht man die erhobenen Daten der Flüssigkeitstherapie mittels kristalloider Lösungen (Tabelle 6) mit der in der Leitlinie für perioperatives Flüssigkeitsmanagement bei Kindern (Tabelle 2) empfohlenen Gabe von einer Grundinfusion und einer bei Bedarf zusätzlich angeratenen Flüssigkeitstherapie, so stellt man fest, dass die intraoperativ durchgeführte Flüssigkeitstherapie mit einem durchschnittlichen Wert an verabreichten

Kristalloiden bezogen auf das Körpergewicht und die Operationsdauer von 16 ml/kgKG/h im mittleren Bereich liegt. Dabei hängt die gewählte Menge an Flüssigkeitstherapie maßgeblich vom Gewicht ab. Dies spiegelt auch die positive Korrelation zwischen Flüssigkeitstherapie mittels Kristalloiden und dem Körpergewicht des Patienten wider. Auch die Menge an verabreichten Katecholaminen korreliert mit der Menge an verabreichten Kristalloiden. Dies lässt darauf schließen, dass hier der Blutdruck der Patienten die Therapie entscheidend beeinflusst. Die Volumentherapie korreliert hingegen nicht mit dem Gewicht, sondern mit der OP-Dauer und dem intraoperativen Blutverlust.

Hierbei fällt auf, dass bei einer Gabe von durchschnittlich 15 ml/kgKG (kolloidale Lösungen) und 33 ml/kgKG (Blutprodukte) die Patienten einen ausgeprägten Volumenbedarf hatten. Gründe für die vermehrte Gabe von Volumentherapeutika können unter anderem eine präoperative Anämie verursacht durch die Tumorerkrankung selbst oder eine Niereninsuffizienz, ein hoher intraoperativer Blutverlust, zahlreiche Voroperationen oder eine hohe Nüchternzeit sein (11, 93). In dieser Studienpopulation zeigte sich bei 5 Kindern ein präoperativer Hämoglobinwert von kleiner 10 g/dl. Diese Kinder erhielten intraoperativ überdurchschnittlich große Mengen an Volumen, Kristalloiden und Blutprodukten. Insgesamt ist die Volumen- und Flüssigkeitstherapie kritisch zu sehen. Einerseits sollte ausreichend Volumen und Flüssigkeit substituiert werden, andererseits keine Volumenüberladung provoziert werden. Unter Betrachtung einiger Studien der letzten Jahre zeigt man eher die Haltung hin zur Restriktion denn zur großzügigen Volumentherapie (49, 94, 95). Dies liegt mit daran, dass in unterschiedlichen Studien Volumenüberladung mit vermehrten Komplikationen wie verlängerten Magenentleerungszeiten (96), kardiovaskulären Komplikationen (97, 98) oder Infektionen (98) korreliert und mit einer Schädigung der Glykokalyx (49, 51, 94) einhergeht. Dabei wurde die Gesamtbilanz beziehungsweise auch das Gewicht als Marker für den Volumenstatus genutzt (98). In der aktuellen Studie wurde bei zwei Patienten ein Anstieg des Serumkreatinins $> 0,4$ mg/dl innerhalb der ersten 24 h postoperativ festgestellt. Bei diesen Patienten war der größte Blutverlust aller Studienteilnehmer zu vermerken und es wurden mehr als 100 ml/kgKG an Blutprodukten transfundiert. In der gesamten Wasser- und Volumenbilanz finden sich zwischen diesen beiden Patienten im Vergleich zu der restlichen Studienpopulation keine auffällig abweichenden Werte. Um einen Zusammenhang nachzuweisen wären allerdings größere Teilnehmerzahlen und eine längere Follow-up Zeit zur Evaluation

notwendig. Auch die Parameter von Glykokalyx und Mikrozirkulation zeigen bei diesen beiden Patienten keine signifikanten Abweichungen gegenüber den anderen Teilnehmern, sodass weder von vermehrtem operationsbedingtem Shedding noch von ausgeprägteren Veränderungen der Mikrozirkulation auszugehen ist. Jedoch sollte beachtet werden, dass es grundsätzlich zu Veränderungen der Mikrozirkulation und Glykokalyx kommt, worauf unter Punkt 5.3 - 5.6 genauer eingegangen wird.

5.3. Diameter Distribution

Die in der statistischen Auswertung aufgezeigte Umverteilung der Gefäße zugunsten der Medium vessels (10- 25 μm) im Vergleich der Untersuchungszeitpunkte T_0 zu T_1 lässt sich mit den klinischen Daten während der OP in Einklang bringen. Betrachtet man die intraoperative Medikamentengabe, so lässt sich feststellen, dass präoperativ kein Studienteilnehmer Katecholamine erhalten hat. Zum unmittelbar postoperativen Messzeitpunkt T_1 waren jedoch 100% der Kinder katecholaminpflichtig (Tabelle 8). Diese Umverteilung spiegelt sich auch in der inversen Korrelation der $\text{TVD}_{\text{small}}$ mit der Menge an verabreichten Katecholaminen wider.

Durch die Bindung des Norepinephrines an die α_1 - Rezeptoren der arteriellen Gefäße kommt es zur Vasokonstriktion, dies insbesondere in den Gefäßen der Mikrozirkulation (99). Dabei wurde bereits 1973 festgestellt, dass insbesondere kleine Gefäße und präkapilläre Arteriolen sehr sensitiv gegenüber Norepinephrin sind und dies zu einer Drosselung der Durchblutung in den Kapillaren und somit der Mikrozirkulation führt (100). Daraus lässt sich die Umverteilung der small vessels zugunsten der medium vessels erklären.

Die Gabe von Akrinor® zum Messzeitpunkt T_0 widerspricht dieser Theorie nicht, da dies laut früherer Studien den systemischen Widerstand in den Gefäßen nicht erhöht (101). In der Studie von Kloth et al., 2017, wurde gezeigt, dass Akrinor® seine Wirkung überwiegend über β_1 -Adrenorezeptoren entfaltet und hierdurch zu einem positiv inotropen Effekt führt. Obwohl Theodrenalin eine Verbindung aus Theophyllin und Noradrenalin ist, steigert es durch die Kopplung an Theophyllin - nicht wie alleiniges Noradrenalin - den peripheren systemischen Widerstand, was in dieser Studie experimentell bestätigt wurde. Eine α -Rezeptor-vermittelte Vasokonstriktion tritt nicht ein (101).

Somit erscheint es als sehr wahrscheinlich, dass die Umverteilung zugunsten der mittelgroßen Gefäße vorwiegend auf der Katecholamingabe und der Autoregulation der Gefäße beruht. Ähnliche Ergebnisse der Umverteilung der Gefäße fanden sich in Studien zur Mikrozirkulation in der Sepsis. Auch hier kam es zu einer Abnahme der small vessels (89, 102).

5.4. Total vessel density

Unter Betrachtung aller Studienteilnehmer ergab sich eine statistisch signifikante Abnahme der Gesamtdichte kleiner Gefäße (TVD_{small}) von Messzeitpunkt T_0 zu T_1 . Auch in der Subgruppe von Kindern, für die Messwerte zu allen 3 Messzeitpunkten vorlagen, zeigte sich eine signifikante Abnahme der TVD_{small} von T_0 zu T_1 , jedoch auch ein Wiederanstieg der TVD_{small} von T_1 zu T_2 . Dies lässt darauf schließen, dass es sich bei der Abnahme der TVD_{small} um ein akutes Phänomen handelt. Da die TVD_{all} über alle Messzeitpunkte hinweg keine signifikante Veränderung zeigt, lässt sich dies ebenfalls als eine Umverteilung der Gefäßdichte von den kleinen Gefäßen hin zu den mittelgroßen und großen Gefäßen deuten. Diese Ergebnisse zeigen sich auch in den Ergebnissen für die Diameter Distribution. Dass es sich dabei um ein akutes Phänomen handelt, unterstützt wiederum die These, dass die Umverteilung unter anderem durch die Katecholamintherapie intraoperativ bedingt ist. Zudem spielt der Volumenstatus der Patienten eine Rolle. So führt Volumenmangel zu einer Abnahme der Gefäßdichte (103). Wird dies durch Transfusion von Blutprodukten oder kolloidalen bzw. kristalloiden Volumenersatz therapiert, so kommt es zu einem Anstieg der TVD und einer Verbesserung der Mikrozirkulation (104). Eine Abnahme der TVD_{small} – wie sie in dieser Studie zu beobachten war – bedeutet letztendlich eine Abnahme der verfügbaren Kapillaren, was wiederum mit einer schlechteren Sauerstoffversorgung des Gewebes einhergeht, da auf kapillärer Ebene der Austausch von Sauerstoff stattfindet (103, 105). Dies zeigt sich auch im signifikanten Anstieg des Serumlaktatwerts im Vergleich von T_0 zu T_1 . Auch eine Studie von Jung et. al (2015) zum Thema Mikrozirkulation und Cardiac Devices im kardiogenen Schock konnte das gegenläufige Verhalten der Serumlaktatsspiegel und der TVD bzw. Kapillardichte (TVD_{small}) zeigen. Dabei ist die Gefäßdichte als wichtiger Parameter zur Abschätzung der Mortalität und des Outcomes bestätigt worden (105, 106). Insgesamt bestätigt das Ergebnis einer Verminderung der perfundierten Kapillardichte trotz stabiler Blutdruckwerte das Konzept des „Loss of hemodynamic coherence“.

5.5. Microvascular flow index

Der MFI_{small} steigt von Messzeitpunkt T_0 zu Messzeitpunkt T_1 signifikant an, es kommt jedoch über alle drei Messzeitpunkte zu keiner nennenswerten Änderung des Flow Index. Demnach führen die Veränderungen während der OP zu einem akuten Anstieg der Flussgeschwindigkeit in den kleinen Gefäßen. Dabei handelt es sich um ein passageres Phänomen, wie die Berechnungen aus den drei Zeitpunkten ergaben. Die Ursache für die Zunahme der Gefäßabschnitte mit Hyperdynamic Flow lässt sich durch diese Studie nicht eindeutig klären. Möglicherweise kommt es durch die Reduktion der Dichte kleiner Gefäße zu einer Beschleunigung der Flussgeschwindigkeit in den verbleibenden kleinen Gefäßen. Das Blutvolumen im Körper der Patienten wird in der Regel annähernd auf gleichem Niveau gehalten, sodass bei gleichbleibendem Herzminutenvolumen nun mehr Blutvolumen durch die wenigen noch verfügbaren kleinen Gefäße fließen muss. Vergleicht man die Ergebnisse der TVD mit denen des MFI so stellt sich heraus, dass es sich bei Beiden um akute Phänomene handelt und sich beide invers verhalten. Dies wiederum unterstützt diese These. Zugleich kommt es durch den vermehrten Anteil kleiner Gefäße mit einem hyperdynamischen Flussprofil und die daraus folgende verminderte Transit-Zeit zu einer verminderten Sauerstoffextraktion in der Peripherie. Dieses Phänomen ließ sich bereits in anderen Studien der Herzchirurgie und Sepsis-Forschung feststellen (107, 108). Die verminderte Sauerstoffausbeute in den peripheren Geweben führt zu lokaler Hypoxie, was daraufhin wiederum zur Ausschüttung vasoaktiver Substanzen und damit zu einer Vasodilatation führen kann (109-111). Dies stellt sich der Wirkung der Katecholamine und der durch Volumenmangel bedingten Vasokonstriktion entgegen. Nachdem es zu einem Überwiegen der vasodilatativen Substanzen gekommen ist, führt dies zu einer Normalisierung der Flussgeschwindigkeiten sowie der Gefäßverteilung - wie man sie zum Zeitpunkt T_0 vorfand. Gleichzeitig erhielten die Patienten einen hohen Anteil an kolloidalem Volumen sowie Blutprodukte, was wiederum durch die Volumenexpansion bei gleichzeitiger Vasokonstriktion zu einer Flussbeschleunigung führen kann (112).

5.6. PBR und Glykokalyxabbauprodukte

Die statistische Auswertung der Perfused Boundary Region der Gefäße von 5 – 25 μm ergab keine signifikanten Veränderungen über die Messzeitpunkte. Dies spricht zunächst dafür, dass es intraoperativ zu keinem ausgeprägten Shedding-Effekt kam. Was auffällt ist, dass die Werte der PBR mit 2,3 bis 2,5 im Mittel insgesamt höher liegen

als beim Erwachsenen. Betrachtet man die Werte der gesunden erwachsenen Kontrollgruppe in der Studie „Sublingual Microvascular Glycocalyx - Dimensions in Lacunar Stroke Patients“ von Remy J.H. Martens et al., so findet man eine PBR von 2.08 ± 0.24 (113). In der Studie von Nussbaum et al., 2015, finden sich vergleichbar hohe Werte für die PBR bei Kindern (81). Einschränkend muss man sagen, dass die Werte der PBR hohe interindividuelle Variabilität zeigen und ob diese Beobachtung auf die Grunderkrankung der Kinder zurückzuführen ist oder eine physiologische Gegebenheit darstellt, lässt sich nach derzeitiger Datenlage nicht abschätzen. Hierzu wären weitere Studien auch an gesunden Kindern notwendig. Betrachtet man die PBR der Subgruppe trotz der niedrigen Patientenzahl von 6 Kindern genauer, so bleiben die Werte der PBR annähernd stabil über alle 3 Messzeitpunkte. Bezieht man auch die Ergebnisse der Bestimmung von Glykokalyxabbauprodukten im Blut mit ein, so fällt auf, dass die PBR Werte für eine konstant gute Glykokalyx sprechen wohingegen die Konzentration der Abbauprodukte Hyaluronan und Syndecan-1 von prä- zu postoperativ ansteigen. Hierbei ist zunächst denkbar, dass es in der lokalen Mikrozirkulation der sublingualen Schleimhaut zu weniger Beeinträchtigung der Glykokalyx kommt als zum Beispiel der intestinalen Mikrozirkulation bei abdominalen Eingriffen. Die zirkulierenden Glukokalyxabbauprodukte lassen letztlich keine Rückschlüsse auf deren Ursprung zu. Weiterhin sind die im Blut nachgewiesenen Glykokalyx-Komponenten Abbild der Glykokalyx im gesamten Organismus und somit gegebenenfalls sensitiver als die Bestimmung der Glykokalyxdicke an einem singulären Messort. Möglich ist zudem, dass es zu einer Destruktion der Glykokalyx kommt, diese jedoch lokal kontinuierlich wiederaufgebaut wird und dadurch die Werte für die PBR annähernd konstant gehalten werden können. Zudem deutet alles darauf hin, dass es sich um einen akuten Effekt handelt und die Regeneration der Glykokalyx rasch erfolgt, wodurch es wie auch in der Studie von Rehm et al. beobachtet, zu einer relativ zügigen Abnahme der Abbauprodukte nach Ende des Shedding im Blut kommt (114). Dies wiederum kann jedoch auch durch die rasche Elimination der Abbauprodukte über den Urin bedingt sein. Daraus lässt sich schließen, dass die Messung der Glykokalyxabbauprodukte im Blut sensitiver den „Turnover“ der Glykokalyx abbildet als die punktuellen Messungen der PBR. Bei der lokalen Regeneration der Glykokalyx spielt auch die Volumentherapie eine entscheidende Rolle. Eine Theorie, die diese These unterstützen würde, ist die intraoperative Gabe von Kolloiden, die wie bereits in anderen Studien beschrieben zur Verbesserung der Glykokalyx führen können (115, 116). Alle in die Berechnung

eingegangenen Kinder erhielten intraoperativ neben kristalloiden auch relativ hohe Mengen an kolloidalen Lösungen zur Volumentherapie. Eine Studie von Nemme et al. BMC Anesthesiology (2017) über das Shedding bei abdomineller Hysterektomie, konnte ebenfalls nur geringe Unterschiede in der Glykokalyx bei abdominalen OPs zeigen, sodass man nicht generell davon ausgehen kann, dass größere operative Eingriffe zu einer Schädigung der Glykokalyx führen (117). Im Gegensatz dazu zeigten sich signifikante Veränderungen der Glykokalyx in der Herzchirurgie bei Operation an der Herzlungenmaschine (118). Dabei kommt es durch Verwendung der Herzlungenmaschine zu ausgeprägtem Kontakt von Blut mit Fremdoberflächen und zur Induktion einer Inflammationsreaktion mit Freisetzung von Entzündungsmediatoren und Bildung von Sauerstoffradikalen, die für das vermehrte Shedding im Unterschied zur Operation ohne Herzlungenmaschine verantwortlich gemacht werden (119). Durch die mechanische Beanspruchung und die Inflammation kommt es hier zu einer stärkeren Schädigung der Glykokalyx und somit einem Anstieg der PBR. Ähnliche Beobachtungen konnten in einer Studie von Pranskunas et al. gemacht werden, die sowohl bei herzchirurgischen wie auch bei neurologischen Patienten einen signifikanten Anstieg der PBR im Vergleich zur gesunden Vergleichsgruppe fanden (120). Bei einer Studie von Nussbaum et al. zeigte sich ebenfalls eine Erhöhung der PBR bei Kindern nach Operationen an der Herzlungenmaschine während operative Eingriffe zur Korrektur einer Lippenkiefer-gaumenspalte zu keiner Veränderung der PBR führten (81). Das unterschiedliche Ausmaß des Shedding-Effekts bei kardialen und neurologischen Erkrankungen und Operationen im Vergleich zu intraabdominellen Operationen und anderen operativen Eingriffen konnte bisher in keiner der Studien hinreichend aufgeklärt werden. Insgesamt handelt es sich bei den bislang wenigen Studien, die Veränderungen der PBR intra- oder perioperativ untersucht haben, um Beobachtungsstudien mit kleiner Fallzahl – wie auch die vorliegende Arbeit –, so dass die Datenlage sehr limitiert ist. Um ein besseres Verständnis über die möglichen Auswirkungen operativer Eingriffe und evtl. Unterschiede in Abhängigkeit von Art der Operationen zu erlangen, sind multizentrische Studien mit einer hohen Teilnehmerzahl erforderlich.

5.7. Studienlimitation

Einschränkungen in der Aussagekraft dieser Studie finden sich vor allem in der niedrigen Anzahl der Studienteilnehmer. Hierbei ist zum einen die geringe Gesamtzahl

der operativen Eingriffe, die den Einschlusskriterien entsprechen, zu sehen und zum anderen die mangelnde Bereitschaft der Eltern zur Einwilligung in die Studienteilnahme. In einigen Fällen war hierbei die unüberwindbare Sprach- und Kulturbarriere verantwortlich für die Ablehnung, in anderen Fällen auch nur die Sorge der Eltern um das eigene Kind.

Die hohe Zahl der loss-of-follow up in den Messungen der Zeitpunkte T₂ und T₃ war entweder durch die gesundheitliche Situation des Kindes bedingt – insbesondere durch respiratorische Probleme, die keine Messung zu ließen oder durch die schwierige technische Umsetzung der Messung am wachen, agilen Kind. Die 3. und 4. Messung fand auf der Kinderintensivstation des Dr. von Haunerschen Kinderspital statt, jedoch entwickelten viele Kinder postoperativ neben der respiratorischen Problematik zusätzlich delirante Zustände, die durch die mangelnde Compliance zum Abbruch der Messungen führten. Dadurch konnten zum Messzeitpunkt T₃ lediglich bei 4 Patienten Messwerte erhoben werden, die aber aufgrund der geringen Aussagekraft nicht in die statistische Auswertung einbezogen wurden.

Auch die Feasibility-Studie zur Evaluation der sublingualen Mikrozirkulation auf der Kinderintensivstation von Gonzalez et al. zeigte die respiratorische Situation sowie die Compliance der Patienten als entscheidende Komponente und auch limitierenden Faktor der Durchführbarkeit der Mikrozirkulationsmessungen (121).

Diese Studie wurde unter Beachtung der fünf Kriterien, die in der „Round table conference“ von De Backer et al. 2007 (13) festgelegt wurden, durchgeführt:

- (1) Fünf Sequenzen des darzustellenden Organs
- (2) Vermeidung von Artefakten durch zu hohen Druck während der Messung
- (3) Entfernung von Sekretionsartefakten
- (4) Aufnahme der Sequenzen unter adäquatem Fokus und Kontrast
- (5) Qualitativ hochwertige Aufnahme der Sequenzen

Der erste Punkt ließ sich nicht bei allen Patienten umsetzen, wobei hier sowohl organisatorische als auch patientenspezifische Faktoren maßgeblich waren, die die Aufnahme von fünf Video-Sequenzen nicht zuließen. Teilweise mussten in der Auswertungsphase Videos, die nicht den Qualitätsansprüchen in Bildstabilität, Fokus oder Kontrast entsprachen, herausgenommen werden, da eine adäquate Auswertung dieser nicht möglich war. Es wurde darauf geachtet, dass soweit von Patientenseite aus

möglich, stets mindestens drei verwertbare Sequenzen aufgenommen wurden. Dies gelang in der überwiegenden Zahl der Fälle. In der Auswertung der Daten wurde aus den 3-5 Messwerten der Mittelwert bestimmt, mit welchem die statistischen Tests durchgeführt wurden.

Eine weitere Limitation findet sich im stark unterschiedlichen Patientengut hinsichtlich Alter, Grunderkrankung und OP-Art. Auch dies schränkt die Aussagekraft ein. Es war jedoch nicht möglich eine homogene Kohorte zu rekrutieren, da dann nur noch wenige Einzelfälle mit insgesamt viel zu geringer Gesamtteilnehmerzahl resultieren würden. Eine Möglichkeit diesem Problem entgegenzuwirken wäre das Design einer groß angelegten multizentrischen Studie, die aber nur schwer zu realisieren wäre.

Auch das Studiendesign als Beobachtungsstudie stellt eine Einschränkung der Aussagekraft dar. Da es sich um eine reine Beobachtungsstudie handelt, können keine kausalen Aussagen bezüglich der von uns beobachteten Veränderungen getroffen werden. Dennoch eignen sich die Ergebnisse dazu Hypothesen zu generieren, welche in Folgestudien oder aber auch am Tiermodell validiert werden müssen.

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass die geringe Patientenzahl die Power dieser Studie stark verringert. Dennoch konnten selbst an diesem kleinen Patientenkollektiv signifikante Veränderungen von mikrozirkulatorischen Parametern nachgewiesen werden. Es ist notwendig auf Basis dieser Ergebnisse weitere Studien mit höheren Teilnehmerzahlen durchzuführen, um die Resultate zu bestätigen und die Auswirkungen der beobachteten Veränderungen auf das postoperative Outcome genauer zu analysieren.

5.8. Ausblick

Um das Monitoring von Mikrozirkulation und Glykokalyx am Patientenbett in der klinischen Routine zu etablieren sind noch einige Hürden zu nehmen. Eine Schwierigkeit besteht darin, dass insbesondere zu Observation der Mikrozirkulation derzeit noch eine semiautomatische Analyse der Videosequenzen erforderlich ist, die für den Untersucher sehr zeitaufwändig ist. Zudem soll die Therapie durch das Monitoring nicht verzögert werden, sondern entscheidend beeinflusst. Hier wäre eine Neu- oder Weiterentwicklung vorhandener Software erforderlich, sodass diese unmittelbare Ergebnisse liefert, die dann in die Therapieentscheidung mit einbezogen werden können. Betrachtet man die „Micronurse study“ von Tanaka et al. zeigt sich, dass durch gute Ausbildung und

Training die Durchführung einer Analyse von MFI und TVD am Patientenbett sehr gute Ergebnisse liefert (122). Hier würde eine Software mit automatischer Auswertung der Daten den Arbeitsaufwand verringern und die Umsetzbarkeit im klinischen Alltag erhöhen. Im Vergleich dazu hat das Monitoring der Glykokalyx mit der Software „Glykocheck“ den entscheidenden Schritt umgesetzt. Diese Software mit automatischer Qualitätskontrolle und anschließender Auswertung der Videosequenzen zeigte in der „GlycoNurse“ - Studie sehr gute Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Untersuchern (Arzt vs. Krankenpflegekraft) sowie auch zwischen verschiedenen Messungen eines Untersuchers (123).

Eine weitere Schwierigkeit stellt die Interpretation der Messergebnisse dar. Eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse gestaltet sich durch das Fehlen von Normwerten schwierig. Hier wäre die Durchführung des Monitorings von Mikrozirkulation und Glykokalyx am Patientenbett im Rahmen groß angelegter multizentrischer Studien mit großer Patientenzahl eine sinnvolle Möglichkeit mehr Daten zu generieren und daraus Normbereiche zu generieren. Im Zuge dieser Studien würde sich bereits die Handhabung und der Einsatz dieser Techniken in den klinischen Alltag integrieren, sodass die Option zur Beibehaltung des Monitorings von Mikrozirkulation und Glykokalyx am Patientenbett auch nach Studienende besteht.

Die Mikrozirkulatorischen Veränderungen könnten dann im Sinne von „targeted treatment“ Ansätzen für die Steuerung der Flüssigkeitstherapie herangezogen werden. Bisher werden hier bereits Ansätze verfolgt mittels Monitorings von Schlagvolumen bzw. Cardiac Output, der arteriellen Druckkurve, Echokardiographie und anderer Parameter (124). Möglichweise ist auch die Kombination dieser Messwerte mit den am Patientenbett ermittelten Parameter der Mikrozirkulation und Glykokalyx nützlich um die „Fluid Responsiveness“ zu beurteilen und somit Patienten zu identifizieren, die von weiterer Flüssigkeitsgabe profitieren (16, 85, 125).

6. Literaturverzeichnis

1. Schmidt RF, Lang F, Heckmann M. Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie. 31. Auflage. Heidelberg: Springer Verlag; 2010.
2. Intensivmedizin DGfAu, Kinderanästhesie WA. S1- Leitlinie Perioperative Infusionstherapie bei Kindern. AWMF Leitlinien [Internet]. 2016 [cited 09.05.2017]; AWMF Registernummer 001 – 032. Available from: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/001-032l_S1_S1_Infusionstherapie_perioperativ_Kinder_2016-02_01.pdf.
3. AWMF. Intravasale Volumentherapie beim Erwachsenen S3-Leitlinie. AWMF Leitlinien [Internet]. 2014 [cited 23.06.2017]; AWMF-Register 001-020. Available from: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/001-020k_S3_Intravasale_Volumentherapie_Erwachsenen_2014-09.pdf.
4. Karow T, Lang-Roth R. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie: Vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden für Studium und Praxis 2017. 25. Auflage. Pulheim: Karow; 2016.
5. Myburgh JA, Finfer S, Bellomo R, Billot L, Cass A, Gattas D, et al. Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. N Engl J Med. 2012;367(20):1901-11.
6. Sümpelmann R, Kretz FJ, Luntzer R, de Leeuw TG, Mixa V, Gabler R, et al. Hydroxyethyl starch 130/0.42/6:1 for perioperative plasma volume replacement in 1130 children: results of an European prospective multicenter observational postauthorization safety study (PASS). Paediatr Anaesth. 2012;22(4):371-8.
7. Peng Y, Du J, Zhao X, Shi X, Wang Y. Effects of colloid pre-loading on thromboelastography during elective intracranial tumor surgery in pediatric patients: hydroxyethyl starch 130/0.4 versus 5% human albumin. BMC Anesthesiol. 2017;17(1):62.
8. Eber SW, Frank J. Pädiatrische Transfusionsmedizin: Therapie der Krankheiten im Kindes- und Jugendalter; 2014, 1445-59.

9. Margraf A, Nussbaum C, Sperandio M. Ontogeny of platelet function. *Blood Adv.* 2019;3(4):692-703.
10. Bharadwaj A, Khandelwal M, Bhargava SK. Perioperative neonatal and paediatric blood transfusion. *Indian J Anaesth.* 2014;58(5):652-7.
11. Sümpelmann R, Hollnberger H, Schmidt J, Strauß JM. Empfehlungen zur perioperativen Infusionstherapie bei Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern. *Anästh Intensivmed.* 2006;47:616-9.
12. Osthaus WA, Huber D, Beck C, Roehler A, Marx G, Hecker H, et al. Correlation of oxygen delivery with central venous oxygen saturation, mean arterial pressure and heart rate in piglets. *Paediatr Anaesth.* 2006;16(9):944-7.
13. De Backer D, Hollenberg S, Boerma C, Goedhart P, Buchele G, Ospina-Tascon G, et al. How to evaluate the microcirculation: report of a round table conference. *Crit Care.* 2007;11(5):R101.
14. Neuhauser H, Schienkiewitz A, Rosario AS, Dortschy R, Kurth B-M. Referenzperzentile für anthropometrische Maßzahlen und Blutdruck aus der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS) Robert Koch-Institut; 2013.
15. Neuhauser HK, Thamm M, Ellert U, Hense HW, Rosario AS. Blood pressure percentiles by age and height from nonoverweight children and adolescents in Germany. *Pediatrics.* 2011;127(4):e978-88.
16. Ince C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. *Crit Care.* 2015;19 Suppl 3:S8.
17. De Backer D, Donadello K, Sakr Y, Ospina-Tascon G, Salgado D, Scolletta S, et al. Microcirculatory alterations in patients with severe sepsis: impact of time of assessment and relationship with outcome. *Crit Care Med.* 2013;41(3):791-9.
18. Edul VS, Enrico C, Laviolle B, Vazquez AR, Ince C, Dubin A. Quantitative assessment of the microcirculation in healthy volunteers and in patients with septic shock. *Crit Care Med.* 2012;40(5):1443-8.

19. Gattinoni L, Brazzi L, Pelosi P, Latini R, Tognoni G, Pesenti A, et al. A trial of goal-oriented hemodynamic therapy in critically ill patients. SvO₂ Collaborative Group. *N Engl J Med*. 1995;333(16):1025-32.
20. Ackland GL, Brudney CS, Cecconi M, Ince C, Irwin MG, Lacey J, et al. Perioperative Quality Initiative consensus statement on the physiology of arterial blood pressure control in perioperative medicine. *Br J Anaesth*. 2019;122(5):542-51.
21. Trzeciak S, McCoy JV, Phillip Dellinger R, Arnold RC, Rizzuto M, Abate NL, et al. Early increases in microcirculatory perfusion during protocol-directed resuscitation are associated with reduced multi-organ failure at 24 h in patients with sepsis. *Intensive Care Med*. 2008;34(12):2210-7.
22. Elbers PW, Ince C. Mechanisms of critical illness--classifying microcirculatory flow abnormalities in distributive shock. *Crit Care*. 2006;10(4):221.
23. Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, van Zandvoort MA, oude Egbrink MG. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch*. 2007;454(3):345-59.
24. Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng*. 2007;9:121-67.
25. Löffler G, Heinrich PC, Müller M, Graeve L. *Biochemie und Pathobiochemie*. 9. Auflage. Berlin; Heidelberg: Springer Verlag; 2014.
26. Ihrcke NS, Wrenshall LE, Lindman BJ, Platt JL. Role of heparan sulfate in immune system-blood vessel interactions. *Immunol Today*. 1993;14(10):500-5.
27. Oohira A, Wight TN, Bornstein P. Sulfated proteoglycans synthesized by vascular endothelial cells in culture. *J Biol Chem*. 1983;258(3):2014-21.
28. Gibson RM, Kansas GS, Tedder TF, Furie B, Furie BC. Lectin and epidermal growth factor domains of P-selectin at physiologic density are the recognition unit for leukocyte binding. *Blood*. 1995;85(1):151-8.
29. Lipowsky HH. Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation*. 2005;12(1):5-15.

30. Lüllmann-Rauch R. Taschenlehrbuch Histologie. 5. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2015.
31. Chappell D, Dorfler N, Jacob M, Rehm M, Welsch U, Conzen P, et al. Glycocalyx protection reduces leukocyte adhesion after ischemia/reperfusion. *Shock*. 2010;34(2):133-9.
32. Starling EH. On the Absorption of Fluids from the Connective Tissue Spaces. *J Physiol*. 1896;19(4):312-26.
33. Levick JR, Michel CC. Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. *Cardiovasc Res*. 2010;87(2):198-210.
34. Levick JR. Capillary filtration-absorption balance reconsidered in light of dynamic extravascular factors. *Exp Physiol*. 1991;76(6):825-57.
35. Weinbaum S. 1997 Whitaker Distinguished Lecture: Models to solve mysteries in biomechanics at the cellular level; a new view of fiber matrix layers. *Ann Biomed Eng*. 1998;26(4):627-43.
36. Hu X, Weinbaum S. A new view of Starling's hypothesis at the microstructural level. *Microvasc Res*. 1999;58(3):281-304.
37. Fu BM, Weinbaum S, Tsay RY, Curry FE. A junction-orifice-fiber entrance layer model for capillary permeability: application to frog mesenteric capillaries. *J Biomech Eng*. 1994;116(4):502-13.
38. Michel CC. Starling: the formulation of his hypothesis of microvascular fluid exchange and its significance after 100 years. *Exp Physiol*. 1997;82(1):1-30.
39. Hu X, Adamson RH, Liu B, Curry FE, Weinbaum S. Starling forces that oppose filtration after tissue oncotic pressure is increased. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279(4):H1724-36.
40. Mulivor AW, Lipowsky HH. Inflammation- and ischemia-induced shedding of venular glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;286(5):H1672-80.

41. Schmidt EP, Yang Y, Janssen WJ, Gandjeva A, Perez MJ, Barthel L, et al. The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis. *Nat Med.* 2012;18(8):1217-23.
42. Vink H, Constantinescu AA, Spaan JA. Oxidized lipoproteins degrade the endothelial surface layer : implications for platelet-endothelial cell adhesion. *Circulation.* 2000;101(13):1500-2.
43. Becker BF, Chappell D, Jacob M. Endothelial glycocalyx and coronary vascular permeability: the fringe benefit. *Basic Res Cardiol.* 2010;105(6):687-701.
44. Reitsma S, Oude Egbrink MG, Heijnen VV, Megens RT, Engels W, Vink H, et al. Endothelial glycocalyx thickness and platelet-vessel wall interactions during atherogenesis. *Thromb Haemost.* 2011;106(5):939-46.
45. Desjardins C, Duling BR. Heparinase treatment suggests a role for the endothelial cell glycocalyx in regulation of capillary hematocrit. *Am J Physiol.* 1990;258(3 Pt 2):H647-54.
46. Pries AR, Secomb TW, Jacobs H, Sperandio M, Osterloh K, Gaehtgens P. Microvascular blood flow resistance: role of endothelial surface layer. *Am J Physiol.* 1997;273(5 Pt 2):H2272-9.
47. Adamson RH. Permeability of frog mesenteric capillaries after partial pronase digestion of the endothelial glycocalyx. *J Physiol.* 1990;428:1-13.
48. Pahakis MY, Kosky JR, Dull RO, Tarbell JM. The role of endothelial glycocalyx components in mechanotransduction of fluid shear stress. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;355(1):228-33.
49. Chappell D, Bruegger D, Potzel J, Jacob M, Brettner F, Vogeser M, et al. Hypervolemia increases release of atrial natriuretic peptide and shedding of the endothelial glycocalyx. *Crit Care.* 2014;18(5):538.
50. Curry FR. Atrial natriuretic peptide: an essential physiological regulator of transvascular fluid, protein transport, and plasma volume. *J Clin Invest.* 2005;115(6):1458-61.

51. Bruegger D, Jacob M, Rehm M, Loetsch M, Welsch U, Conzen P, et al. Atrial natriuretic peptide induces shedding of endothelial glycocalyx in coronary vascular bed of guinea pig hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289(5):H1993-9.
52. Young J. Malpighi's "De Pulmonibus". *Proc R Soc Med*. 1929;23(1):1-11.
53. Pearce JM. Malpighi and the discovery of capillaries. *Eur Neurol*. 2007;58(4):253-5.
54. Welsch U, Deller T, Sobotta J. *Lehrbuch Histologie*. 3. Auflage. München: Elsevier, Urban und Fischer; 2010.
55. Ocak I, Kara A, Ince C. Monitoring microcirculation. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2016;30(4):407-18.
56. Deller T, Welsch U, Kummer W. *Histologie : Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie : das Lehrbuch*. 5. Auflage. München: Elsevier-Verlag; 2018.
57. Speckmann E-J, Hescheler J, Köhling R. *Physiologie*. 6. Auflage. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2013.
58. Rassow J, Hauser K, Netzker R, Deutzmann R. *Duale Reihe Biochemie*. 3. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2012.
59. Pohl U, Holtz J, Busse R, Bassenge E. Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertension*. 1986;8(1):37-44.
60. Hilton SM. A peripheral arterial conducting mechanism underlying dilatation of the femoral artery and concerned in functional vasodilatation in skeletal muscle. *J Physiol*. 1959;149:93-111.
61. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288(5789):373-6.
62. Kobzik L, Reid MB, Bredt DS, Stamler JS. Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature*. 1994;372(6506):546-8.

63. Treuer AV, Gonzalez DR. Nitric oxide synthases, S-nitrosylation and cardiovascular health: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities (review). *Mol Med Rep.* 2015;11(3):1555-65.
64. Bolz SS, Vogel L, Sollinger D, Derwand R, de Wit C, Loirand G, et al. Nitric oxide-induced decrease in calcium sensitivity of resistance arteries is attributable to activation of the myosin light chain phosphatase and antagonized by the RhoA/Rho kinase pathway. *Circulation.* 2003;107(24):3081-7.
65. Mery PF, Lohmann SM, Walter U, Fischmeister R. Ca²⁺ current is regulated by cyclic GMP-dependent protein kinase in mammalian cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(4):1197-201.
66. Adachi T, Weisbrod RM, Pimentel DR, Ying J, Sharov VS, Schoneich C, et al. S-Glutathiolation by peroxynitrite activates SERCA during arterial relaxation by nitric oxide. *Nat Med.* 2004;10(11):1200-7.
67. Tohse N, Sperelakis N. cGMP inhibits the activity of single calcium channels in embryonic chick heart cells. *Circ Res.* 1991;69(2):325-31.
68. Ziolo MT, Harshbarger CH, Roycroft KE, Smith JM, Romano FD, Sondgeroth KL, et al. Myocytes isolated from rejecting transplanted rat hearts exhibit a nitric oxide-mediated reduction in the calcium current. *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33(9):1691-9.
69. Harper SL, Bohlen HG, Rubin MJ. Arterial and microvascular contributions to cerebral cortical autoregulation in rats. *Am J Physiol.* 1984;246(1 Pt 2):H17-24.
70. Tamaki K, Mayhan W, Heistad D. Effects of vasodilator stimuli on resistance of large and small cerebral vessels. *Am J Physiol.* 1986;251(6 Pt 2):H1176-82.
71. Faraci FM, Mayhan WG, Schmid PG, Heistad DD. Effects of arginine vasopressin on cerebral microvascular pressure. *Am J Physiol.* 1988;255(1 Pt 2):H70-6.
72. Katusic ZS, Shepherd JT, Vanhoutte PM. Vasopressin causes endothelium-dependent relaxations of the canine basilar artery. *Circ Res.* 1984;55(5):575-9.

73. Sakr Y, Dubois MJ, De Backer D, Creteur J, Vincent JL. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Crit Care Med.* 2004;32(9):1825-31.
74. Lee DH, Dane MJ, van den Berg BM, Boels MG, van Teeffelen JW, de Mutsert R, et al. Deeper penetration of erythrocytes into the endothelial glycocalyx is associated with impaired microvascular perfusion. *PLoS One.* 2014;9(5):e96477.
75. Treu CM, Lupi O, Bottino DA, Bouskela E. Sidestream dark field imaging: the evolution of real-time visualization of cutaneous microcirculation and its potential application in dermatology. *Arch Dermatol Res.* 2011;303(2):69-78.
76. Groner W, Winkelman JW, Harris AG, Ince C, Bouma GJ, Messmer K, et al. Orthogonal polarization spectral imaging: a new method for study of the microcirculation. *Nat Med.* 1999;5(10):1209-12.
77. Goedhart PT, Khalilzada M, Bezemer R, Merza J, Ince C. Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation. *Opt Express.* 2007;15(23):15101-14.
78. Van Teeffelen JW, Vink H. Clinical assessment of vascular health with GlycoCheck Glycocalyx Measurement Software - A GlycoCheck™ Whitepaper. GlycoCheck™ BV, Oxfordlaan 70, 6229 EV Maastricht, The Netherlands: GlycoCheck™ BV. 2012.
79. Boerma EC, Mathura KR, van der Voort PH, Spronk PE, Ince C. Quantifying bedside-derived imaging of microcirculatory abnormalities in septic patients: a prospective validation study. *Crit Care.* 2005;9(6):R601-6.
80. Ozarslan NG, Ayhan B, Kanbak M, Celebioglu B, Demircin M, Ince C, et al. Comparison of the effects of sevoflurane, isoflurane, and desflurane on microcirculation in coronary artery bypass graft surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2012;26(5):791-8.
81. Nussbaum C, Haberer A, Tiefenthaller A, Januszewska K, Chappell D, Brettner F, et al. Perturbation of the microvascular glycocalyx and perfusion in infants after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2015;150(6):1474-81 e1.

82. Diaclone SAS. Human sCD138 (syndecan-1) ELISA Kit Instructions for use Insert Version 8, Besancon, France 2020 [cited 21.07.2020]. Available from: https://www.diaclone.com/documents/protocole/950.640_human_cd138_elisa_kit_version_8.pdf.
83. Bruegger D, Brettner F, Rossberg I, Nussbaum C, Kowalski C, Januszewska K, et al. Acute degradation of the endothelial glycocalyx in infants undergoing cardiac surgical procedures. *Ann Thorac Surg.* 2015;99(3):926-31.
84. den Uil CA, Caliskan K, Lagrand WK, van der Ent M, Jewbali LS, van Kuijk JP, et al. Dose-dependent benefit of nitroglycerin on microcirculation of patients with severe heart failure. *Intensive Care Med.* 2009;35(11):1893-9.
85. Bennett VA, Vidouris A, Cecconi M. Effects of Fluids on the Macro- and Microcirculations. *Crit Care.* 2018;22(1):74.
86. Bennett VA, Cecconi M. Perioperative fluid management: From physiology to improving clinical outcomes. *Indian J Anaesth.* 2017;61(8):614-21.
87. Erdem O, Ince C, Tibboel D, Kuiper JW. Assessing the Microcirculation With Handheld Vital Microscopy in Critically Ill Neonates and Children: Evolution of the Technique and Its Potential for Critical Care. *Front Pediatr.* 2019;7:273.
88. Chappell D, Westphal M, Jacob M. The impact of the glycocalyx on microcirculatory oxygen distribution in critical illness. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2009;22(2):155-62.
89. Trzeciak S, Dellinger RP, Parrillo JE, Guglielmi M, Bajaj J, Abate NL, et al. Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. *Ann Emerg Med.* 2007;49(1):88-98, e1-2.
90. Walsh M, Devereaux PJ, Garg AX, Kurz A, Turan A, Rodseth RN, et al. Relationship between intraoperative mean arterial pressure and clinical outcomes after noncardiac surgery: toward an empirical definition of hypotension. *Anesthesiology.* 2013;119(3):507-15.

91. Bijker JB, van Klei WA, Vergouwe Y, Eleveld DJ, van Wolfswinkel L, Moons KG, et al. Intraoperative hypotension and 1-year mortality after noncardiac surgery. *Anesthesiology*. 2009;111(6):1217-26.
92. Brienza N, Giglio MT, Marucci M, Fiore T. Does perioperative hemodynamic optimization protect renal function in surgical patients? A meta-analytic study. *Crit Care Med*. 2009;37(6):2079-90.
93. Larsen R. Intraoperative Flüssigkeitstherapie. *Anästhesie und Intensivmedizin für die Fachpflege*. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; 2016. p. 251-7.
94. Brettner F, von Dossow V, Chappell D. The endothelial glycocalyx and perioperative lung injury. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2017;30(1):36-41.
95. Corcoran T, Rhodes JE, Clarke S, Myles PS, Ho KM. Perioperative fluid management strategies in major surgery: a stratified meta-analysis. *Anesth Analg*. 2012;114(3):640-51.
96. Lobo DN, Bostock KA, Neal KR, Perkins AC, Rowlands BJ, Allison SP. Effect of salt and water balance on recovery of gastrointestinal function after elective colonic resection: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002;359(9320):1812-8.
97. Janvrin SB, Davies G, Greenhalgh RM. Postoperative deep vein thrombosis caused by intravenous fluids during surgery. *Br J Surg*. 1980;67(10):690-3.
98. Brandstrup B, Tonnesen H, Beier-Holgersen R, Hjortso E, Ording H, Lindorff-Larsen K, et al. Effects of intravenous fluid restriction on postoperative complications: comparison of two perioperative fluid regimens: a randomized assessor-blinded multicenter trial. *Ann Surg*. 2003;238(5):641-8.
99. Smith MD, Maani CV. Norepinephrine. *StatPearls*. Treasure Island (FL)2018.
100. Furness JB, Marshall JM. Correlation of the directly observed responses of mesenteric vessels of the rat to nerve stimulation and noradrenaline with the distribution of adrenergic nerves. *J Physiol*. 1974;239(1):75-88.
101. Kloth B, Pecha S, Moritz E, Schneeberger Y, Sohren KD, Schwedhelm E, et al. Akrinor(TM), a Cafedrine/ Theodrenaline Mixture (20:1), Increases Force of

Contraction of Human Atrial Myocardium But Does Not Constrict Internal Mammary Artery In Vitro. *Front Pharmacol.* 2017;8:272.

102. De Backer D, Ospina-Tascon G, Salgado D, Favory R, Creteur J, Vincent JL. Monitoring the microcirculation in the critically ill patient: current methods and future approaches. *Intensive Care Med.* 2010;36(11):1813-25.

103. Bartels SA, Bezemer R, Milstein DM, Radder M, Lima A, Cherpanath TG, et al. The microcirculatory response to compensated hypovolemia in a lower body negative pressure model. *Microvasc Res.* 2011;82(3):374-80.

104. Schinagl CM, Mormanova ZH, Puchwein-Schwepcke A, Schmid I, Genzel-Boroviczeny O. The effect of red blood cell transfusion on the microcirculation of anemic children. *Eur J Pediatr.* 2016;175(6):793-8.

105. Domizi R, Damiani E, Scorcella C, Carsetti A, Castagnani R, Vannicola S, et al. Association between sublingual microcirculation, tissue perfusion and organ failure in major trauma: A subgroup analysis of a prospective observational study. *PLoS One.* 2019;14(3):e0213085.

106. Jung C, Fuernau G, de Waha S, Eitel I, Desch S, Schuler G, et al. Intraaortic balloon counterpulsation and microcirculation in cardiogenic shock complicating myocardial infarction: an IABP-SHOCK II substudy. *Clin Res Cardiol.* 2015;104(8):679-87.

107. Koning NJ, Simon LE, Asfar P, Baufreton C, Boer C. Systemic microvascular shunting through hyperdynamic capillaries after acute physiological disturbances following cardiopulmonary bypass. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014;307(7):H967-75.

108. Gutierrez G. The rate of oxygen release and its effect on capillary O₂ tension: a mathematical analysis. *Respir Physiol.* 1986;63(1):79-96.

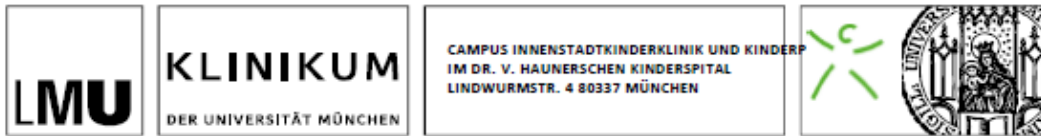
109. DeMartino AW, Kim-Shapiro DB, Patel RP, Gladwin MT. Nitrite and nitrate chemical biology and signalling. *Br J Pharmacol.* 2019;176(2):228-45.

110. Singel DJ, Stamler JS. Chemical physiology of blood flow regulation by red blood cells: the role of nitric oxide and S-nitrosohemoglobin. *Annu Rev Physiol.* 2005;67:99-145.
111. Jensen FB. The dual roles of red blood cells in tissue oxygen delivery: oxygen carriers and regulators of local blood flow. *J Exp Biol.* 2009;212(Pt 21):3387-93.
112. Hildebrand LB, Kimberger O, Arnberger M, Brandt S, Kurz A, Sigurdsson GH. Crystalloids versus colloids for goal-directed fluid therapy in major surgery. *Crit Care.* 2009;13(2):R40.
113. Martens RJ, Vink H, van Oostenbrugge RJ, Staals J. Sublingual microvascular glycocalyx dimensions in lacunar stroke patients. *Cerebrovasc Dis.* 2013;35(5):451-4.
114. Rehm M, Bruegger D, Christ F, Conzen P, Thiel M, Jacob M, et al. Shedding of the endothelial glycocalyx in patients undergoing major vascular surgery with global and regional ischemia. *Circulation.* 2007;116(17):1896-906.
115. Jacob M, Bruegger D, Rehm M, Stoeckelhuber M, Welsch U, Conzen P, et al. The endothelial glycocalyx affords compatibility of Starling's principle and high cardiac interstitial albumin levels. *Cardiovasc Res.* 2007;73(3):575-86.
116. Kozar RA, Peng Z, Zhang R, Holcomb JB, Pati S, Park P, et al. Plasma restoration of endothelial glycocalyx in a rodent model of hemorrhagic shock. *Anesth Analg.* 2011;112(6):1289-95.
117. Nemme J, Hahn RG, Krizhanovskii C, Ntika S, Sabelnikovs O, Vanags I. Minimal shedding of the glycocalyx layer during abdominal hysterectomy. *BMC Anesthesiol.* 2017;17(1):107.
118. Dekker NAM, Veerhoek D, Koning NJ, van Leeuwen ALI, Elbers PWG, van den Brom CE, et al. Postoperative microcirculatory perfusion and endothelial glycocalyx shedding following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anaesthesia.* 2019;74(5):609-18.
119. Koning NJ, Vonk AB, Vink H, Boer C. Side-by-Side Alterations in Glycocalyx Thickness and Perfused Microvascular Density During Acute Microcirculatory Alterations in Cardiac Surgery. *Microcirculation.* 2016;23(1):69-74.

120. Pranskunas A, Tamosuitis T, Balciuniene N, Damanskyte D, Sneider E, Vitkauskiene A, et al. Alterations of conjunctival glycocalyx and microcirculation in non-septic critically ill patients. *Microvasc Res.* 2018;118:44-8.
121. Gonzalez R, Lopez J, Urbano J, Solana MJ, Fernandez SN, Santiago MJ, et al. Evaluation of sublingual microcirculation in a paediatric intensive care unit: prospective observational study about its feasibility and utility. *BMC Pediatr.* 2017;17(1):75.
122. Tanaka S, Harrois A, Nicolai C, Flores M, Hamada S, Vicaut E, et al. Qualitative real-time analysis by nurses of sublingual microcirculation in intensive care unit: the MICRONURSE study. *Crit Care.* 2015;19:388.
123. Rovas A, Lukasz AH, Vink H, Urban M, Sackarnd J, Pavenstadt H, et al. Bedside analysis of the sublingual microvascular glycocalyx in the emergency room and intensive care unit - the GlycoNurse study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2018;26(1):16.
124. Marik PE, Cavallazzi R, Vasu T, Hirani A. Dynamic changes in arterial waveform derived variables and fluid responsiveness in mechanically ventilated patients: a systematic review of the literature. *Crit Care Med.* 2009;37(9):2642-7.
125. Pranskunas A, Koopmans M, Koetsier PM, Pilvinis V, Boerma EC. Microcirculatory blood flow as a tool to select ICU patients eligible for fluid therapy. *Intensive Care Med.* 2013;39(4):612-9.

7. Anhang

7.1. Aufklärung der Eltern



Endorgan-fokussiertes Volumenmanagement in der pädiatrischen Intensivmedizin (EFVI)

Informationsblatt für Eltern

Information und Einwilligungserklärung

Studienleiter: PD Dr. med. Karl Reiter
Prüfärzte: Dr. med. Florian Hey, Dr. med. Matthias Hübner, Dr. med. Sita Javeri, Christoph Rohde, Dr. Claudia Nußbaum
Kontaktdaten: Dr. v. Haunersches Kinderspital
Lindwurmstr. 4, 80337 München
Tel: 089/4400-52841
karl.reiter@med.uni-muenchen.de

Sehr geehrte Eltern!
Sehr geehrte Erziehungsberechtigte!

Ihr Kind ist eingeladen, an einer wissenschaftlichen Studie teilzunehmen. Bevor Sie sich entscheiden, würden wir Ihnen gerne den Inhalt der Studie sowie die Bedeutung einer Teilnahme erklären. Unverzichtbare Voraussetzung für die Durchführung der Studie ist, dass Sie Ihr Einverständnis zur Teilnahme Ihres Kindes schriftlich erklären. Bitte lesen Sie den folgenden Text als Ergänzung zum Informationsgespräch mit Ihrem Prüfarzt sorgfältig durch und zögern Sie nicht, Fragen zu stellen. Neben Ihnen erhält auch ihr Kind die Informationen zu unserer Studie. Wenn ihr Kind bereits „einsichtsfähig“ ist, muss es gesondert aufgeklärt werden und ebenfalls seine Zustimmung zur Teilnahme an unserer Studie geben.

Die Teilnahme an dieser Studie erfolgt freiwillig. Ihr Kind kann jederzeit ohne Angabe von Gründen aus der Studie ausscheiden. Die Ablehnung der Teilnahme oder ein vorzeitiges Ausscheiden aus dieser Studie hat keine nachteiligen Folgen für die medizinische Betreuung Ihres Kindes.

Bitte unterschreiben Sie die Einwilligungserklärung nur,

- wenn Sie Art und Ablauf der Studie vollständig verstanden haben,
- wenn Sie bereit sind, der Teilnahme Ihres Kindes an dieser Studie zuzustimmen und
- wenn Sie sich über Ihre Rechte und die Rechte Ihres Kindes als Teilnehmer an dieser Studie im Klaren sind.

Zu dieser Studie sowie zur Patienteninformation und Einwilligungserklärung wurde von der zuständigen Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München eine zustimmende Bewertung erteilt.

Welches Ziel hat diese Studie?

Bei nahezu allen Patienten, die nach einer Operation auf eine Intensivstation aufgenommen werden, steht eine optimale Kreislauffunktion im Mittelpunkt. So zeigen viele Patienten einen erniedrigten Blutdruck. Um den Kreislauf zu unterstützen, gibt es mehrere Möglichkeiten. So kann man über die Vene vermehrt Flüssigkeit zuführen oder mit Medikamenten wie z.B. Adrenalin den Blutdruck auf ein normales Niveau anheben. Alle Maßnahmen können neben dem gewünschten Effekt auch Nebenwirkungen haben. Auch nach intensiver Forschung gibt es gerade bei Kindern nur wenige diagnostische Möglichkeiten, die dem behandelnden Arzt in seiner Entscheidung helfen, ob Medikamente oder Flüssigkeit in einer bestimmten Situation das Beste für den Patienten sind. Wir möchten mit dieser Studie diagnostische Verfahren überprüfen, die uns bei dieser Entscheidung helfen sollen.

Was sind nun die speziellen Untersuchungen, die wir durchführen wollen?

Folgende Untersuchungen wollen wir durchführen:

1. Wir werden bei allen Patienten mehrmals (3-4 mal), zusammen mit den Routineblutentnahmen, zusätzliche Blutproben (ca. 0,5ml) entnehmen, um Markersubstanzen für eine möglicherweise eingeschränkte Organdurchblutung zu bestimmen. Wir messen das Eiweiß S-100B, das einen Zusammenhang mit der Hirndurchblutung aufweist. Es könnte sein, dass in Zukunft neue Markersubstanzen zur Verfügung stehen. Deren Messung würden wir aber erst nach erneuter Information an Sie durchführen.
2. Außerdem werden wir mehrmals Urinproben von Ihrem Kind sammeln, um diese auf bestimmte Werte einer beeinträchtigten Nierenfunktion zu untersuchen IGFBP7 (insulinlike growth factor-binding protein 7) und TIMP-2 (tissue inhibitor of metalloproteinase 2).
3. Wir werden selbstklebende optische Sonden auf der Haut im Bereich der Stirn und seitlich im Bereich der Nieren aufbringen, um ein Mass für den Sauerstoffgehalt des Hirn- und Nierengewebes zu bekommen.
4. Außerdem werden wir regelmäßig Ultraschalluntersuchungen des Herzens durchführen.
5. Mit einer Kamera werden wir beim noch in Narkose schlafenden Kind unter der Zunge, untersuchen, wie gut die kleinsten Gefäße der Schleimhaut durchblutet sind. Hierbei handelt es sich um eine sogenannte Mikrozirkulationsmessung.
6. Des Weiteren werden wir über einen für die Operation notwendigen Katheter in einem arteriellen Blutgefäß kontinuierliche Auswertungen der Messwerte durchführen. Dazu wird also kein neuer Katheter gelegt, sondern lediglich die Daten der Standardmessung ausgewertet. Hierbei handelt es sich um die Schlagvolumenvariation und Pulsdruckvariation.

Was sind die Vorteile, wenn Sie an dieser Studie teilnehmen?

Die Ergebnisse, die wir aus dieser Untersuchung erzielen können, haben für die jetzige Erkrankung bzw. Therapie keine Vorteile und auch keinen Einfluss auf die Behandlung Ihres Kindes. Die Informationen, die durch diese Studie gewonnen werden, können helfen, die Behandlung von Kindern auf einer Intensivstation in Zukunft zu verbessern.

Gibt es Nachteile, wenn Ihr Kind an dieser Studie teilnimmt?

Im Rahmen der für die Operation notwendigen Routineblutabnahmen wird gleichzeitig etwas mehr Blut (ca. 0,5ml, 3-4 mal) entnommen, sodass Ihr Kind nicht ein einziges Mal zusätzlich gestochen wird, um die Extra-Blutmenge für diese Studie zu gewinnen. Die Entnahme dieser zusätzlichen Blutmenge, hat keinen Einfluss auf das Befinden Ihres Kindes. Auch stellen die zusätzlichen diagnostischen Untersuchungen keine beeinträchtigende Belastung für Ihr Kind dar.

Was wird geschehen, wenn mein Kind teilnimmt?

Wenn Ihr Kind an der Studie teilnimmt, erfolgt im Rahmen der Routineblutentnahme die Abnahme einer Blut- und Urinprobe am Tag vor der Operation. Mit Beginn der Narkose am

Operationstag erfolgt die Messung der für die Studie notwendigen Parameter. Die Datensammlung wird nach der Operation auf der Intensivstation für weitere 6-8 Stunden fortgesetzt. Zusätzlich erfolgt am Ende wieder mit einer Routineblutentnahme eine erneute Blutentnahme. Dazwischen werden noch insgesamt dreimal Urinproben gesammelt, die über einen liegenden Blasenkateter (dieser ist für die Operation notwendig) abgenommen werden können. Für die Studie werden keine Katheter zusätzlich gelegt.

Lagerung der Blutproben/urinproben

Es ist geplant, die Blut- und Urinproben Ihres Kindes mindestens 15 Jahre zu lagern und ggf. auch für weitere Projekte, die dann erneut durch unsere Ethikkommission und nach eingehender Information durch Sie und Ihr Kind genehmigt werden müssen, zu verwenden. Danach werden die Proben vernichtet. Die Blut- und Urinproben werden nicht unter dem richtigen Namen Ihres Kindes gelagert, sondern in einer doppelt verschlüsselten Form (Doppelcodierung). Das bedeutet, dass die bereits mit einem pseudonymisierten Patientencode versehenen Proben vor der Einlagerung eine andere Codierung erhalten, die keinesfalls zurückverfolgt werden kann. Nur dem Studienleiter ist dies möglich.

In welcher Weise werden die im Rahmen dieser Forschungsstudie gesammelten Daten verwendet?

Sofern gesetzlich nicht etwas anderes vorgesehen ist, haben nur der Studienleiter und die Prüfarzte Zugang zu den vertraulichen Daten, in denen Ihr Kind namentlich genannt wird („personenbezogene“ Daten). Weiter können Beauftragte der zuständigen Ethikkommission Einsicht nehmen, um die Richtigkeit der Aufzeichnungen zu überprüfen. Diese Personen unterliegen einer gesetzlichen Schweigepflicht. Der Studienleiter und die Prüfarzte unterliegen im Umgang mit den Daten den Bestimmungen des geltenden Datenschutzgesetzes in der aktuellen Fassung.

Es erfolgt keine Weitergabe der Daten nach außen. Auch in etwaigen Veröffentlichungen der Daten ist Ihr Kind nicht als Person erkennbar oder namentlich genannt. Im Falle des Widerrufs Ihrer Einwilligung werden die gespeicherten Daten und Proben vernichtet.

Wer organisiert und finanziert die Forschung?

Diese Studie wird von der Interdisziplinären Intensivstation des Dr. von Haunerschen Kinderspitals organisiert und finanziert.

Datenschutz

Bei dieser Studie werden die Vorschriften über die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz eingehalten. Es werden persönliche Daten und Befunde über Ihr Kind erhoben, gespeichert und verschlüsselt (pseudonymisiert), d.h. weder Name noch Initialen oder das Geburtsdatum Ihres Kindes erscheinen im Verschlüsselungscode. Eine Entschlüsselung der Daten erfolgt nur, wenn es zu einer Änderung der wissenschaftlichen Fragestellung kommt, die dies notwendig macht. In diesem Fall werden Sie und Ihr Kind zuvor benachrichtigt.

Im Falle des Widerrufs Ihrer Einwilligung werden die pseudonymisiert gespeicherten Daten und Proben vernichtet. Der Zugang zu den Originaldaten und zum Verschlüsselungscode ist auf folgende Personen beschränkt: den Studienleiter, PD Dr. Karl Reiter, den Prüfarzten Dr. Florian Hey, Dr. Matthias Hübner, Dr. Sita Javeri, Christoph Rohde und Beauftragte der Ethikkommission. Die Weitergabe von Daten an Dritte bzw. die Gewährung der Einsicht setzt eine Entbindung von der Schweigepflicht durch Sie voraus.

Nach Abschluss der Studie, d.h. wenn die Daten aller Patienten erfasst sind, werden die Daten vollständig anonymisiert, was bedeutet, dass niemand, auch nicht die lokalen Studienärzte, die Daten einzelnen Patienten zuordnen können.

Die Daten und Proben werden 15 Jahre im Dr. von Haunerschen Kinderspital aufbewahrt.

Im Falle von Veröffentlichungen der Studienergebnisse bleibt die Vertraulichkeit der persönlichen Daten gewährleistet.

Entstehen für die Teilnehmer Kosten? Gibt es einen Kostenersatz oder eine Vergütung? Gibt es eine Versicherung?

Durch die Teilnahme Ihres Kindes an dieser Studie entstehen für Sie keine zusätzlichen Kosten. Für die Teilnahme Ihres Kindes an dieser Studie erhalten Sie keine Vergütung. Für diese Studie gibt es keine verschuldensunabhängige Versicherung.

Möglichkeit zur Diskussion weiterer Fragen

Für weitere Fragen im Zusammenhang mit dieser Studie stehen Ihnen Ihr Prüfarzt und seine Mitarbeiter gerne zur Verfügung. Auch Fragen, die die Rechte Ihres Kindes als Patient und Teilnehmer an dieser Studie betreffen, werden Ihnen gerne beantwortet.

Name der Kontaktperson: PD Dr. med. Karl Reiter, Oberarzt Kinderintensivstation

Erreichbar unter: 089 44005 2811

e-mail: karl.reiter@med.uni-muenchen.de

Name der Kontaktperson: Dr. med. Florian Hey, Assistenzarzt Kinderintensivstation

Erreichbar unter: 089 44005 2811

e-mail: Florian.Hey@med.uni-muenchen.de

Name der Kontaktperson: Dr. med. Matthias Hübner, Assistenzarzt Kinderintensivstation

Erreichbar unter: 089 44005 2811

e-mail: Matthias.Huebner@med.uni-muenchen.de

Name der Kontaktperson: Dr. med. Sita Javeri, Assistenzärztin Kinderintensivstation

Erreichbar unter: 089 44005 2811

e-mail: Sita.Javeri@med.uni-muenchen.de

Name der Kontaktperson: Christoph Rohde, Assistenzarzt Kinderintensivstation

Erreichbar unter: 089 44005 2811

e-mail: Christoph.Rohde@med.uni-muenchen.de

Name der Kontaktperson: Claudia Nußbaum, Assistenzärztin Neonatologie

Erreichbar unter: 089 44005 2811

e-mail: Claudia.Nußbaum@med.uni-muenchen.de

Vielen Dank, dass Sie sich über unsere Studie informiert haben!

Einwilligungserklärung

Name des Patienten in Druckbuchstaben:

Geb.-Datum: Code:

Wir sind von Herrn/Frau (Dr. med.) ausführlich und verständlich über mögliche Belastungen und Risiken, sowie über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie und sich für unser Kind daraus ergebende Anforderungen aufgeklärt worden. Wir haben darüber hinaus den Text dieser Patientenaufklärung und Einwilligungserklärung, die insgesamt 5 Seiten umfasst, gelesen. Aufgetretene Fragen wurden uns vom Prüfarzt verständlich beantwortet. Wir hatten ausreichend Zeit, uns zu entscheiden. Wir haben zurzeit keine weiteren Fragen mehr.

Wir sind zugleich damit einverstanden, dass die im Rahmen dieser Studie ermittelten Daten meines Kindes aufgezeichnet werden. Um die Richtigkeit der Datenaufzeichnung zu überprüfen, dürfen dafür autorisierten Personen oder Beauftragte der zuständigen Behörden beim Prüfarzt Einblick in die personenbezogenen Krankheitsdaten unseres Kindes nehmen.

Uns ist bewusst, dass die Teilnahme unseres Kindes an der Studie freiwillig ist. Wir können unsere Zustimmung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne Einfluss auf die medizinische Versorgung unseres Kindes oder auf gesetzliche Rechte zurücknehmen. Im Falle des Widerrufs der Einwilligung werden die gespeicherten Daten und Proben vernichtet.

Wir stimmen zu, dass das Blut und Urin unseres Kindes in diesem Forschungsprojekt, wie in der Patienteninformation beschrieben, nicht personenbezogen untersucht werden.

Uns ist bekannt, dass Befunde dieser Studie grundsätzlich nicht mitgeteilt werden.

Wir stimmen zu, dass Blut und Urinproben meines Kindes in zukünftigen, von der Ethikkommission mit einem positiven Votum versehenen Studien indirekt personenbezogen untersucht und mindestens 15 Jahre gelagert werden dürfen. Wir sind aufgeklärt worden, dass für weitere Untersuchungen eine erneute Zustimmung unsererseits bzw. die Zustimmung unseres einwilligungsfähigen Kindes erfolgen muss.

Ja

Nein

Wir sind mit der Erhebung und Verwendung persönlicher Daten und Befunddaten unseres Kindes nach Massgabe der Patienteninformation einverstanden.

Eine Kopie dieser Patienteninformation und Einwilligungserklärung haben wir erhalten. Das Original verbleibt beim Prüfarzt.

.....
Name d. Eltern/ gesetzlichen Vertreter/
Erziehungsberechtigten (Blockschrift)

.....
Datum

.....
Unterschrift

.....
Name d. Eltern/ gesetzlichen Vertreter/
Erziehungsberechtigten (Blockschrift)

.....
Datum

.....
Unterschrift

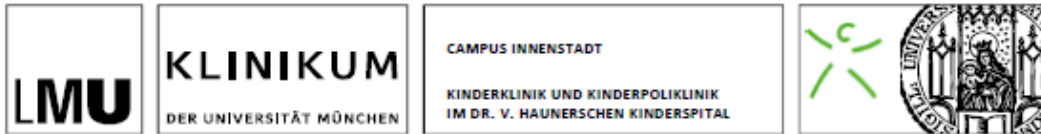
.....
Name d. aufklärenden Person
(Blockschrift)

.....
Datum

.....
Unterschrift, Stempel

1 Kopie für Patient; 1 Kopie für Krankenakte

7.2. Aufklärung der Patienten (Kinder)



Endorgan-fokussiertes Volumenmanagement in der pädiatrischen Intensivmedizin (EFVI)

Informationsblatt für Kinder und Jugendliche

Patienteninformation und Einwilligungserklärung

Studienleiter: PD Dr. med. Karl Reiter
Prüfärzte: Dr. med. Florian Hey, Dr. med. Matthias Hübner, Dr. Sita Javeri, Christoph Rohd, Dr. Claudia Nußbaum

Liebe Patientin!
Lieber Patient!

Wir wollen dich über ein Forschungsprojekt informieren und dich einladen, daran teilzunehmen.

Was ist Forschung? Warum machen wir diese Untersuchungen?

Mit der Forschung versuchen wir, Antworten auf Fragen zu finden. Wir wollen neue Methoden untersuchen, damit wir besser wissen, wie wir Kindern helfen können, die, wie du, operiert werden und im Anschluss daran auf die Intensivstation kommen. Kinder, die nach einer Operation auf der Intensivstation liegen, schlafen meist wegen der Schmerzmittel, die wir geben, weiter. Wir Ärzte und die Schwestern der Intensivstation überwachen alle Körperfunktionen und helfen manchmal mit Medikamenten, diese zu regulieren. Eine der wichtigsten Funktionen des Herz-Kreislaufsystems ist die Versorgung aller Organe mit Blut. Damit der Körper alle Organe gut durchbluten kann, muss eine ausreichende Menge an Flüssigkeit zur Verfügung stehen und der Blutdruck muss hoch genug sein, um das Blut durch den ganzen Körper pumpen zu können. Bei manchen schwerkranken Kindern ist das nicht der Fall und deshalb müssen wir ihnen helfen. Für den Arzt ist es nicht immer ganz leicht festzustellen, welches die beste Vorgehensweise ist, um dem Kind zu helfen. Er kann sich entscheiden, ob er dem Kind Medikamente oder mehr Flüssigkeit über die Vene oder beides verabreicht. Dieses Problem wollen wir untersuchen, um den Ärzten in Zukunft bei ihrer Entscheidung zu helfen.

Warum wurdest du ausgewählt?

Wir fragen alle Kinder, die nach einer Operation auf unserer Intensivstation liegen müssen.

Muss ich an diesem Forschungsprojekt teilnehmen?

Nein. Es ist deine Entscheidung. Es ist OK, wenn du teilnimmst, es ist auch OK, wenn du nicht teilnimmst. Wenn du dich entscheidest teilzunehmen, kannst du diese Entscheidung jeder Zeit ändern und niemand wird deswegen böse sein.

Was wird geschehen, wenn ich teilnehme?

Wenn eine Blutabnahme wegen deiner Krankheit vor und nach der Operation durchgeführt werden muss, werden wir ein bisschen mehr Blut für Extrauntersuchungen abnehmen. Du wirst deswegen nicht extra gestochen. Außerdem werden wir noch weitere Extrauntersuchungen durchführen. Du brauchst keine Angst zu haben, keine dieser Extrauntersuchungen tut weh. Bitte sprich auch mit deinen Eltern darüber!

Was sind das für Extrauntersuchungen, die wir durchführen werden?

Die Extrauntersuchungen sind eine Ultraschalluntersuchung des Herzens und Untersuchungen, die uns zeigen sollen, ob alle deine Organe ausreichend mit Blut versorgt sind. Hierfür bekommst du zwei Aufkleber mit einem Kabel auf die Stirn und den Rücken geklebt. Wir sammeln alle Werte deiner Herz-Kreislauffunktion, die von einem Monitor aufgezeichnet werden. Außerdem werden wir noch mehrmals deinen Urin untersuchen. Es sind Untersuchungen, die wir normalerweise nicht regelmäßig durchführen, sondern sie sind Teil dieses Forschungsprojektes.

Wird es mir helfen, wenn ich daran teilnehme?

Wir können dir nicht versprechen, dass dir die Teilnahme an diesem Forschungsprojekt helfen wird. Aber in Zukunft, so hoffen wir, werden wir lernen, wie wir kranke Kinder auf der Intensivstation am besten behandeln können.

Gibt es etwas, worüber ich mir Sorgen machen muss?

Nein. Wir werden bei deiner normalen Blutuntersuchung nur etwa 2 oder 3 Extra-Blutproben (2 oder 3 Esslöffel an Blut zusätzlich) abnehmen. Es wird dir dadurch nicht schlechter gehen. Auch die zusätzlichen Untersuchungen werden nicht wehtun. Außerdem wirst du die meisten Untersuchungen gar nicht mitbekommen, weil du schlafen wirst.

Wird noch jemand darüber informiert, dass ich teilnehme?

Alles, was wir über dich erfahren, wird zwar für längere Zeit aufgehoben, darf aber niemandem verraten werden, der nicht an der Studie mitarbeitet. Außerdem werden die Informationen über dich nicht unter deinem Namen gespeichert, sondern unter einer Geheimzahl, die jeder Teilnehmer erhält.

Nur der Studienleiter und die Prüfarzte wissen, welcher Patient welche Geheimzahl hat.

Das, was du oder deine Eltern uns erzählt haben und alles, was wir sonst über dich erfahren haben, dürfen nur Dr. K. Reiter (der Studienleiter), Dr. F. Hey, Dr. M. Hübner, Dr. Sita Javeri, Christoph Rohde (Prüfarzte) und Personen, die dafür zuständig sind, dass wir bei unserer Studie gewisse Regeln einhalten (Ethikkommission), lesen.

Die Informationen über dich werden bei uns an der Klinik aufbewahrt.

Wenn wir einmal unsere Untersuchungsergebnisse allen Menschen, die sich dafür interessieren, vorstellen sollten, so wird trotzdem niemand etwas über dich und das, was du uns über dich erzählt hast, erfahren.

Was wollen wir erreichen?

Wir möchten Kindern wie dir helfen, schneller gesund zu werden, um dann die Intensivstation möglichst schnell wieder verlassen zu können. Darum machen wir diese Studie.

Kann ich mich jederzeit anders entscheiden?

Falls du doch nicht an der Studie teilnehmen möchtest, kannst du uns das jederzeit mitteilen. Alles, was wir über dich gespeichert haben, wird dann gelöscht und nicht mehr verwendet.

Was mache ich, wenn ein Problem auftritt?

Wenn dir irgendetwas, was der Arzt tut, nicht gefällt, sage es bitte deinen Eltern oder uns.

Vielen Dank, dass du dich für unsere Studie interessierst!

**Name der Kontaktperson: PD Dr. med. Karl Reiter/ Dr. med. Florian Hey/ Dr. med. Matthias Hübner/ Dr. med. Sita Javeri, Christoph Rohde
Erreichbar unter: 089 44005 2811**

Einwilligungserklärung (Zutreffendes ankreuzen)

- | | | |
|---|-----------------------------|-------------------------------|
| Hast Du das Informationsblatt gelesen? | <input type="checkbox"/> ja | <input type="checkbox"/> nein |
| Hast Du alle Fragen gestellt, die Du stellen wolltest? | <input type="checkbox"/> ja | <input type="checkbox"/> nein |
| Hat der Arzt alle Deine Fragen beantwortet? | <input type="checkbox"/> ja | <input type="checkbox"/> nein |
| Möchtest Du bei diesem Forschungsprojekt mitmachen? | <input type="checkbox"/> ja | <input type="checkbox"/> nein |
| Bist Du einverstanden, dass wir Deine Daten für dieses Forschungsprojekt verwenden? | <input type="checkbox"/> ja | <input type="checkbox"/> nein |

Name und Geburtsdatum des Kindes

Unterschrift des Kindes (ab 6. Lebensjahr)

Name des Arztes/Ärztin

Datum

Unterschrift des Arztes/Ärztin

1 Kopie für Patient; 1 Kopie für Studienleiter; 1 Kopie Akte

7.3. Protokoll zur Erhebung der klinischen Daten

Protokoll zur Erhebung der klinischen Daten

Allgemeine Daten:	
Code:	
Gewicht:	
Größe:	
Geburtsdatum:	
Diagnose / Art des Eingriffs:	

	Codierung	Bedsidescore	Weitere Proben
Präoperative Messung			
PostOP Messung 1			
PostOP Messung 2			
PostOP Messung 3			

Gesamtübersicht Postoperativer Verlauf	
Aufenthaltsdauer Intensivstation	
Beatmungszeit	
Katecholaminbedarf/Dauer	

Verlauf auf Intensivstation		
	PostOP Messung 2	PostOP Messung 3
Vitalparameter		
HF		
AF		
MAD (syst./diast./mittel)		
SpO2		
Temp		
Beatmungsparameter		
Art		
O ₂ - Zufuhr		
PIP		
PEEP		
Frequenz		
CO ₂		
Tidalvolumen		
Ernährung:		
Parenteral/Oral		
Bilanz		
Wasserbilanz		
Volumenbilanz		
Ödeme		
Blutgasanalyse		
Hkt		
pO ₂		
pCO ₂		
HCO ₃		
BE		
Hb		
pH		
Laktat		
Glucose		
CRP aus Labor		

Medikamente		
Perfusoren:		
Antibiose:		
Volumen:		
Analgetika:		
Katecholamine:		
Sonstiges:		

8. Danksagung

Einen besonderen Dank möchte ich meiner Doktormutter Frau PD Dr. med. C. Nußbaum für die Bereitstellung des Themas und die Unterstützung bei der Ausarbeitung dieser Arbeit aussprechen. Vielen Dank für die hervorragende Betreuung!

Außerdem danke ich der Abteilung für Anästhesiologie und dem Personal der Kinderintensivstation am Dr. von Haunerschen Kinderspital für die Unterstützung bei der Durchführung dieser Studie.

Mein Dank gilt ebenso allen Patientinnen und Patienten, sowie deren Sorgeberechtigten für die Teilnahme an der Studie.

Bei meinen Eltern, meinem Bruder, meinen Freunden und insbesondere meinem Mann möchte ich mich für die unermüdliche Unterstützung während des gesamten Studiums und der Anfertigung dieser Arbeit bedanken.

9. Affidavit



Eidesstattliche Versicherung

Wagner, Marie Christin (geb. Kreis)

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

„Veränderungen der sublingualen Mikrozirkulation und der mikrovaskulären endothelialen Glykokalyx bei Kindern im peri- und postoperativen Setting“

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.

Gauting, 13.12.2022

Marie Christin Wagner

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin

10. Publikationsliste

„Monitoring der Mikrozirkulation und der endothelilalen Glykokalyx bei Kindern mit abdominellen und thorakalen Operationen: eine Pilotstudie“

Marie Wagner, Eveline Anzinger, Florian Hey, Julius Z. Wermelt, Orsolya Genzel-Boroviczeny und Claudia Nussbaum

(Abstract, GNPI Jahrestagung, 2022)

„Monitoring of the microcirculation in children undergoing major abdominal and thoracic surgery: A pilot study“

Marie Wagner, Eveline Anzinger, Florian Hey, Karl Reiter, Julius Z. Wermelt, Belen Pastor-Villaescusa, Orsolya Genzel-Boroviczeny and Claudia Nussbaum

Clinical Hemorheology and Microcirculation, vol. Pre-press, no. Pre-press, pp. 1-13, 2022, DOI: 10.3233/CH-221617, Published 26 November 2022