

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
des Klinikums Großhadern
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. K. Frieze

In vivo Untersuchung der
Mikrozirkulation anämischer Frühgeborener
vor und nach elektiver Transfusion von
Erythrozytenkonzentrat

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

vorgelegt von
Verena Clauss
aus
München
2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

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

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. R. Meßmer
Prof. Dr. B.F. Becker
Prof. Dr. A. Schulze

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: -

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 26.10.2006



In vivo Untersuchung der
Mikrozirkulation anämischer Frühgeborener
vor und nach elektiver Transfusion von
Erythrozytenkonzentrat

„Das schönste Glück des denkenden Menschen ist, das Erforschliche erforscht zu haben und das Unerforschliche zu verehren.“

Johann Wolfgang von Goethe

Inhaltsverzeichnis

<u>1</u>	<u>EINLEITUNG</u>	<u>1</u>
<u>2</u>	<u>MEDIZINISCHER HINTERGRUND</u>	<u>3</u>
2.1	GRUNDLAGEN DER FRÜHGEBORENENANÄMIE	3
2.1.1	URSACHEN DER FRÜHGEBORENENANÄMIE	3
2.1.2	SYMPTOME DER FRÜHGEBORENENANÄMIE	5
2.2	GRUNDLAGEN DER TRANSFUSION VON ERYTHROZYTENKONZENTRAT BEI FRÜHGEBORENEN	6
2.2.1	NOTWENDIGKEIT DER TRANSFUSION BEI FRÜHGEBORENEN	6
2.2.2	INDIKATIONSSTELLUNG UNTER ORIENTIERUNG AM HÄMATOKRIT	6
2.2.3	INDIKATIONSSTELLUNG UNTER ORIENTIERUNG AN DER HÄMOGLOBINKONZENTRATION	7
2.2.4	INDIKATIONSSTELLUNG UNTER ORIENTIERUNG AN KLINISCHEN SYMPTOMEN	8
2.2.5	RISIKEN DER TRANSFUSION	9
2.3	GRUNDLAGEN DER MIKROZIRKULATION BEI FRÜHGEBORENEN	9
2.3.1	BEDEUTUNG DER MIKROZIRKULATION BEI DER KRANKHEITSENTSTEHUNG	10
2.3.2	MIKROZIRKULATION IN DER HAUT VON FRÜHGEBORENEN	10
2.4	MÖGLICHKEITEN ZUR MESSUNG DER MIKROZIRKULATION	11
2.4.1	NICHT INVASIVE OPTISCHE TECHNIKEN	11
2.4.2	KONVENTIONELLE INTRAVITALMIKROSKOPIE	13
2.4.3	KONFOKALE LASER-RASTER-MIKROSKOPIE (CLSM)	14
2.4.4	ORTHOGONAL POLARIZATION SPECTRAL (OPS) IMAGING	14
<u>3</u>	<u>FRAGESTELLUNG</u>	<u>15</u>
<u>4</u>	<u>MATERIAL UND METHODIK</u>	<u>17</u>
4.1	VORAUSSETZUNGEN ZUR DURCHFÜHRUNG DER STUDIE	17
4.2	PATIENTEN	17
4.3	MESSVORGANG	19

4.3.1	MESSMETHODE: ORTHOGONAL POLARIZATION SPECTRAL IMAGING	19
4.3.2	PRINZIP DER BILDGEBUNG BEI OPS IMAGING	23
4.3.3	MESSBEDINGUNGEN	25
4.4	AUSWERTUNG DER MESSUNGEN	28
4.4.1	HARDWARE-KONFIGURATION	28
4.4.2	SOFTWARE-KONFIGURATION	28
<u>5</u>	<u>ERGEBNISSE</u>	<u>32</u>
5.1	STATISTISCHE DATENVERARBEITUNG	32
5.2	PARAMETER DER MIKROZIRKULATION	33
5.3	KLINISCHE PARAMETER	36
<u>6</u>	<u>DISKUSSION</u>	<u>39</u>
6.1	BEDEUTUNG VERSCHIEDENER KLINISCHER PARAMETER FÜR DIE INDIKATIONSSTELLUNG ZUR TRANSFUSION BEI ANÄMISCHEN FRÜHGEBORENEN	39
6.1.1	HÄMOGLOBINKONZENTRATION	39
6.1.2	GEWICHTSZUNAHME	41
6.1.3	KREISLAUF- UND ATEMFUNKTION	41
6.1.4	HÄMODYNAMISCHE PARAMETER	43
6.2	DIE HAUTPERFUSION UND IHRE ÄNDERUNG DURCH DIE TRANSFUSION BEI ANÄMISCHEN FRÜHGEBORENEN	45
6.2.1	DIE HAUT ALS SCHOCKORGAN	46
6.2.2	ZUSAMMENHANG ZWISCHEN FUNKTIONELLER GEFÄßDICHTHE UND QUALITÄT DER GEWEBEPERFUSION	46
6.2.3	ZUSAMMENHANG ZWISCHEN HAUTPERFUSION UND ALLGEMEINER GEWEBEPERFUSION	47
6.2.4	EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE GEWEBEPERFUSION	48
6.3	BEDEUTUNG DES OPS IMAGING FÜR DIE DIAGNOSTIK DER FRÜHGEBORENENANÄMIE	50
6.3.1	SICHERHEIT UND PRAKTIKABILITÄT IN DER ANWENDUNG BEI FRÜHGEBORENEN	50
6.3.2	ARTEFAKTE DURCH DRUCK UND BEWEGUNG	51
6.3.3	VERGLEICHBARKEIT DER DATEN	53

6.3.4	PRAKTIKABILITÄT DES VIDEOBILDANALYSESYSTEMS CAPISCOPE®	53
6.3.5	EIGNUNG VON OPS IMAGING ZUR ANWENDUNG BEI ANÄMIE	54
6.3.6	VORTEIL VON OPS IMAGING IM VERGLEICH ZU ANDEREN METHODEN	54
6.3.7	AUSWEITUNG DES ANWENDUNGSBEREICHES VON OPS IMAGING IM RAHMEN DER FRÜHGEBORENENANÄMIE	55
6.4	MÖGLICHE WEITERE ANWENDUNGSBEREICHE FÜR OPS IMAGING	56
7	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	58
ABBILDUNGSVERZEICHNIS		60
TABELLENVERZEICHNIS		62
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS		63
LITERATURVERZEICHNIS		65
ANHANG I: MESSPROTOKOLLE		73
ANHANG II: EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG		77
ANHANG III: DATEN DER MIKROZIRKULATION		79
ANHANG IV: VIDEODEMONSTRATION		80
DANKSAGUNG		81
LEBENS LAUF		82

1 Einleitung

„Liams Hand ist winzig - gerade mal so groß wie eine Ein-Euro-Münze. Mit bleistiftdünnen Fingern und Nägeln winzig wie Stecknadelköpfe. Unter der pergamentfeinen Haut verlaufen die Adern wie Flüsse auf einer Landkarte. Alles wirkt zerbrechlich, klein, kraftlos. Bis Liam mit seiner Hand nach dem Finger seiner Mutter greift und ihn umklammert. Mit aller Kraft. So, als würde er nach dem Leben greifen und sich daran festhalten. Damit es ihm nicht wieder entgleitet, das Leben, das viel zu früh begann, weil die Schwangerschaft viel zu früh endete - in der 25. Woche. Liam wiegt nur 920 Gramm, als er entbunden wird - fast vier Monate vor dem Geburtstermin und Wochen bevor seine Organe voll entwickelt waren. (...) Die Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin empfiehlt, die Kinder am Leben zu erhalten, die die 24. Schwangerschaftswoche vollendet haben. Liam hat diese Grenze überschritten. Gerade eben. Er kommt nur wenige Tage später zur Welt. Zu Beginn der 25. Woche. Noch vor einigen Jahren wäre er damit keine Frühgeburt, sondern eine Fehlgeburt gewesen. Ein so genannter Spätabort. Er wäre nicht behandelt, nicht beerdigt worden. Doch die Medizin hat Fortschritte gemacht, die Grenze zum Leben hat sich verschoben. Weil es neue Behandlungsmethoden gibt, werden auch sehr kleine Frühchen am Leben erhalten.“¹

Die Anzahl der frühgeborenen Kinder hat sich in den letzten Jahren stark erhöht. Knapp 50.000 Neugeborene - etwa jedes 15. Kind - kommen heute in Deutschland als Frühgeborene, also vor der abgeschlossenen 37. Schwangerschaftswoche auf die Welt. Das sind fast 50% mehr als noch vor 30 Jahren. Ursachen hierfür sind vor allem das zunehmende Alter der Erstgebärenden, die Möglichkeiten medizinischer Interventionen und die erhöhte Inzidenz von Mehrlingsschwangerschaften als Folge des vermehrten Einsatzes reproduktionsmedizinischer Verfahren (Frieze and Kirschner, 2003). Dabei ist festzustellen, dass immer unreifere Frühgeborene immer bessere Überlebenschancen haben. Heute überleben selbst Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht weit unter 1000 g und einem Gestationsalter von weniger als 28 Wochen. Die durchschnittliche Überlebensrate für Frühgeborene liegt heute bundesweit zwischen 80 und 90% und hat sich damit in den letzten 20 Jahren erheblich verbessert. Selbst die Überlebensrate der

¹ Ausschnitt aus einem Artikel im Hamburger Abendblatt vom 11.01.2005.

Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1000 g liegt im bundesweiten Durchschnitt bei 65%. Noch vor wenigen Jahren wurde der Anteil der Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von weniger als 1500 g (VLBW-infants) an der neonatalen Mortalität zwischen 40 und 50%, teilweise sogar bis zu 85% beziffert. In den Jahren 1997 bis 1999 lag der relative Anteil der VLBW-infants an der Gesamtsäuglingssterblichkeit in Deutschland bei 38%.²

Diese Zahlen dokumentieren den Erfolg der perinatologischen Arbeit der letzten Jahre, der unter anderem dem Fortschritt in der Intensivmedizin zu verdanken ist. Abgesehen davon, dass die Therapiemöglichkeiten bei der Versorgung von Frühgeborenen einem steten Wandel unterliegt, nimmt auch das Wissen über die Entstehung verschiedener Krankheitsprozesse zu. An dieser Entwicklung ist auch die biomedizinischen Technik maßgeblich beteiligt. Durch die Entstehung innovativer Methoden wird es zunehmend möglich Untersuchungen, die bislang nur im Tierversuch durchgeführt werden konnten, beim Menschen und sogar beim Neugeborenen zu realisieren. Dieser Fortschritt ermöglicht einen Zugewinn an Kenntnissen über Mechanismen in der Krankheitsentstehung und kann darüber hinaus Grundlagen für die Erarbeitung neuer Therapiekonzepte schaffen.

Am Universitätsklinikum Großhadern wurden in der Abteilung für Anästhesiologie klinische Studien unter Einsatz eines neuen Messinstrumentes durchgeführt, das bei Erwachsenen im Rahmen herzchirurgischer Eingriffe unter extrakorporaler Zirkulation zum Monitoring der Mikrozirkulation genutzt wurde. In einer vorangegangenen Studie in der Neonatologie wurde diese Methode für die Anwendung bei Neu- und Frühgeborenen übernommen und erfolgreich erprobt. An diese Studie sollte nun mit mikrozirkulatorischen Untersuchungen in einem pathologischen Zustand angeknüpft werden. Messungen bei anämischen Frühgeborenen, die als Behandlung eine Erythrozytentransfusion erhielten, sollten Aufschluss geben über die Störung der Mikrozirkulation im Zustand der Anämie und deren Verbesserung durch die Transfusion. Die Ergebnisse könnten zu einem besseren Verständnis der Frühgeborenenanämie beitragen und eine Bereicherung für die in der Neonatologie umstrittene Transfusionsmedizin bedeuten.

² Sämtliche Angaben wurden Mitteilungen des statistischen Bundesamtes, der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin e.V., dem Bundesverband „Das frühgeborene Kind“ e.V. und der Deutschen Gesellschaft für Perinatale Medizin e.V. entnommen.

2 Medizinischer Hintergrund

2.1 Grundlagen der Frühgeborenenanämie

Neugeborene erfahren innerhalb der ersten Lebenswochen einen Abfall der Hämoglobinkonzentration, des Hämatokrits sowie der Erythrozytenkonzentration. Der postnatale Hämoglobinabfall, der sich innerhalb des ersten Trimenons vollzieht und daher auch als Trimenonreduktion bezeichnet wird, betrifft alle Neugeborenen. Die Trimenonreduktion wird durch eine Rechtsverschiebung der O₂-Dissoziationskurve und die damit erleichterte Abgabe von Sauerstoff an das Gewebe kompensiert und dadurch im Normalfall symptomlos toleriert (Dallman, 1981). Daher stammt auch die Bezeichnung der physiologischen Anämie des Kindesalters. Die Hämoglobinkonzentration fällt dabei von 19,5 g/dl nach Geburt bis auf einen Tiefpunkt von 11,5 g/dl im Alter von etwa zehn Wochen ab (Muntau, 2004). Anders ist die Situation bei Frühgeborenen. Sie haben im Vergleich zu reifen Neugeborenen nicht nur niedrigere Ausgangshämoglobinwerte, bei ihnen verläuft auch der postnatale Hämoglobinabfall in kürzerer Zeit. Dabei besteht eine Abhängigkeit vom Geburtsgewicht. So erfahren Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht zwischen 1000 und 1500 g einen Hb-Abfall von 16 g/dl auf 8 g/dl, Kinder unter 1000 g Geburtsgewicht können einen Tiefpunkt von 7 g/dl erreichen (Dallman, 1981; Stockman, III, 1986). Dies entspricht der so genannten Frühgeborenenanämie.

2.1.1 Ursachen der Frühgeborenenanämie

2.1.1.1 Rückgang der Erythropoese

An der Entstehung der Frühgeborenenanämie sind mehrere verschiedene physiologische Faktoren beteiligt. Eine entscheidende Rolle nimmt dabei der Rückgang der Erythropoese ein. Die embryonale Erythropoese beginnt am 20. Gestationstag und findet zunächst im Dottersack statt. In der Fetalperiode verschiebt sich die Hauptproduktionsstätte des Erythropoetins mit zunehmendem Gestationsalter von der Leber zu den Nieren und zum Knochenmark. Studien an Lämmern haben gezeigt, dass die Erythropoetinproduktion durch die fetale Leber

nach 120 bis 130 Gestationstagen abzufallen beginnt, während gleichzeitig die renale Erythropoetinproduktion ansteigt. Bei Geburt bleibt die Leber dennoch mit einem Anteil von ca. 70-75 % an der Erythropoetinproduktion als Antwort auf eine Anämie beteiligt. 40 Tage später findet der Großteil der Erythropoese renal statt, der hepatische Anteil ist auf 10 % reduziert (Zanjani et al., 1981).

Beobachtungen zeigen, dass bei Frühgeborenen der Tiefpunkt des Hämoglobinabfalls niedrigere Werte annimmt als bei reifen Neugeborenen. Die Ursache hierfür liegt darin, dass bei Frühgeborenen die reaktive Erythropoetinbildung als Antwort auf eine Anämie vergleichsweise geringer ausfällt (Brown et al., 1984; Stockman, III et al., 1977; Stockman, III et al., 1984). Die Mechanismen, die für diese bei Frühgeborenen geringe Korrelation von abfallendem Hämoglobin und ansteigendem EPO-Spiegel verantwortlich sind, sind nicht genau bekannt. Eine mögliche Erklärung könnte jedoch sein, dass die Erythropoetinproduktion bei Frühgeborenen aufgrund ihres niedrigen Gestationsalters noch zu einem beachtlichen Maße in der Leber stattfindet, einem Organ, das für eine Anämie oder eine Gewebhypoxie im Vergleich zum Knochenmark nur eine schwache Sensibilität aufweist (Zanjani et al., 1981).

2.1.1.2 Iatrogenen Blutverlust

Neben der insuffizienten Erythropoese ist der Blutverlust durch häufige Blutabnahmen ein weiterer bedeutender Faktor bei der Entstehung der Anämie bei Frühgeborenen. In Abhängigkeit vom Geburtsgewicht sowie vom Schweregrad der Erkrankung variiert der durchschnittliche Blutverlust als Folge von diagnostischen Blutabnahmen zwischen 7 und 51 ml/kg Körpergewicht bezogen auf den Zeitraum von vier Wochen (Maier et al., 2000; Nexo et al., 1981; Obladen et al., 1988; Strauss et al., 1990). Das entspricht bei Kindern mit einem sehr geringen Geburtsgewicht von weniger als 1500 g, bei denen 1 ml Blut mehr als 1% ihres gesamten Blutvolumens ausmachen kann, zwischen 5 und 45% des berechneten Blutvolumens (Nexo et al., 1981). Im Extremfall kann die für Laboruntersuchungen abgenommene Blutmenge das totale Blutvolumen des Kindes sogar überschreiten (Obladen et al., 1988).

2.1.2 Symptome der Frühgeborenenanämie

Die neonatale Anämie kann durch eine reduzierte Sauerstofftransportkapazität zu einem Sauerstoffmangel im Gewebe führen. Als Folge tritt eine Gewebehypoxie auf. Betrifft die Gewebehypoxie Atem- oder Kreislaufzentren im Gehirn kann sich das klinisch in Form von ausgeprägten kardialen und/oder respiratorischen Beschwerden wie Tachykardien, Bradykardien, Tachypnoen und Episoden von Apnoen mit Abfall der Sauerstoffsättigung präsentieren (Perlman and Volpe, 1985). Weitere Symptome und Zeichen der Anämie bei Frühgeborenen sind Trinkschwäche, mangelnde Gewichtszunahme, Lethargie, Blässe sowie Azidose (Roberton, 1987; Stockman, III and Clark, 1984).

Bis gesunde Frühgeborene den Tiefpunkt des Hämoglobinabfalls erreichen, ist ihr Atemzentrum im Normalfall soweit gereift, dass es auf Hypoxämie weniger sensibel reagiert. Entsprechend kommt es hier seltener zu respiratorischen Beschwerden. Kranke Frühgeborene werden jedoch meist schon früher anämisch und ihr noch unreifes Atemzentrum im ZNS reagiert sehr sensibel auf die abnehmende Sauerstoffversorgung. Dies führt in der Folge zum Auftreten von Apnoephasen. Physiologisch betrachtet ist dabei nicht die Apnoe an sich potentiell gefährlich für das Kind, sondern deren Auswirkung auf die Oxygenierung des Blutes und die Herzfrequenz und somit auf die zerebrale Durchblutung (Poets et al., 1994).

Eine Transfusion von Erythrozytenkonzentrat bewirkt einen gesteigerten Sauerstofftransport zu den verschiedenen Organen und verbessert dadurch die Sauerstoffversorgung des Gewebes (Holland et al., 1987; Hudson et al., 1990; Wardrop et al., 1978). Bei einem gleichzeitigen Auftreten von Anämie und Apnoe trägt die Transfusion zu einer verbesserten Sauerstoffversorgung des Zentralnervensystems bei und reduziert auf diese Weise die Häufigkeit von Apnoephasen (Strauss, 1991). Eine Studie von Nelle et al. bestätigt, dass eine Bluttransfusion bei Frühgeborenen nicht nur den systemischen Sauerstofftransport verbessert, sondern auch den Blutfluss in zerebralen Arterien (Nelle et al., 1994).

2.2 Grundlagen der Transfusion von Erythrozytenkonzentrat bei Frühgeborenen

Die Transfusionsmedizin ist im Fachgebiet der Neonatologie ein umstrittenes Thema, das aufgrund eingeschränkter wissenschaftlicher Erkenntnisse unterschiedlich gehandhabt und kontrovers diskutiert wird.

2.2.1 Notwendigkeit der Transfusion bei Frühgeborenen

Die Notwendigkeit der Transfusion von Erythrozytenkonzentrat bei Frühgeborenen ist keine Seltenheit, da die Hämoglobinkonzentration vor allem in den ersten Lebenswochen aufgrund von Blutabnahmen, raschem Wachstum und insuffizienter Erythropoese bedeutend sinken kann. Dabei sind die invasiven Blutabnahmen bei Frühgeborenen von besonderer Relevanz, da ihr zirkulierendes Blutvolumen, das weniger als 100 ml betragen kann, verhältnismäßig gering ist. So müssen allein 90% aller Transfusionen aufgrund einer Anämie durchgeführt werden, die durch Blutentnahmen zum Zwecke von Laboruntersuchungen iatrogen herbeigeführt wurde (Lenes and Sacher, 1981). Abgesehen von der Anämie kann aber auch eine klinische Symptomatik im Vordergrund stehen. In diesem Fall wird die Transfusion von Erythrozytenkonzentrat durchgeführt, um einen bestimmten Hämatokrit aufrecht zu erhalten, der im jeweiligen klinischen Zustand des Frühgeborenen als wünschenswert erachtet wird. Hiervon betroffen sind Frühgeborene mit symptomatischen respiratorischen und/oder kardialen Grunderkrankungen, mit kardiopulmonaler Instabilität, sowie solche mit unklarer Gedeihstörung (Strauss, 1991).

2.2.2 Indikationsstellung unter Orientierung am Hämatokrit

Der Begriff der Anämie ist bezogen auf Frühgeborene schwierig zu definieren und meistens ist es nicht offensichtlich, ab wann eine Anämie eine Transfusion zur Folge haben muss. Zur Orientierung dienen die derzeit weitgehend akzeptierten Transfusionskriterien für Frühgeborene.

Es muss allerdings betont werden, dass es sich hierbei nur um Definitionen handelt, die nicht evaluiert sind. Laut dieser Kriterien definiert sich die Anämie bei Frühgeborenen wie folgt (Roos et al., 2003):

- Hkt < 40%, beatmet und O₂-Bedarf > 30%
- Hkt < 30%, nicht beatmet, aber O₂-Bedarf > 30% und/oder Bradykardien
- Hkt < 25%, aber mangelnde Gewichtszunahme (<10 g/d)
- Hkt < 25%, schlechtes Trinkvermögen
- Hkt < 20%, Retikulozyten < 20‰, auch bei asymptomatischem Kind

2.2.3 Indikationsstellung unter Orientierung an der Hämoglobinkonzentration

Auch die Orientierung am Hämoglobinwert ist in der praktischen Anwendung üblich. Hierzu wurden einfache Transfusionsregeln formuliert, die auf der Auswurfleistung des Herzens, der venösen Sauerstoffsättigung und der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins basieren. Die Tabelle 1 gibt die Transfusionskriterien gemäß Böhler et al. wieder (Böhler et al., 1994):

Lebenswoche	Hb-Grenze für Frühgeborene	Hb-Grenze für Frühgeborene mit Symptomatik ¹
1	12	14
2	11	13
3	10	12
4	9	11
5	8	10
> 5	7	10

¹ Symptome oder Zeichen der Anämie: Tachykardie > 180/min, Tachypnoe > 70/min, Wachstumsdefizit > 10 g/d trotz adäquater Energiezufuhr von > 120 kcal/kg KG/d, Trinkschwäche, Apathie, häufige Apnoen/Bradykardien

Tabelle 1: Untere Grenzen der Hb-Konzentration in g/dl bei Frühgeborenen. Bei Unterschreitung der angegebenen Grenzen ist die Transfusion von Erythrozytenkonzentrat indiziert.³

³ Die Angaben in der Tabelle gehen zurück auf Linderkamp et al. (Linderkamp et al., 1992).

Der Zusammenhang zwischen dem Hämoglobinwert und dem Auftreten von pathologischen Symptomen wie Tachykardie, zögerlicher Gewichtszunahme und Atembeschwerden scheint jedoch gering zu sein (Strauss, 1991; Wardrop et al., 1978). Während manche Frühgeborene sehr geringe Hämoglobinkonzentrationen tolerieren, ohne Symptome zu zeigen, sind andere bei ähnlichen Hämoglobinwerten durchaus klinisch auffällig (Wardle and Weindling, 2001). Dadurch, dass es bezüglich dieser Problematik an kontrollierten Studien mangelt und selbst das Wissen über die Auswirkungen der Anämie bei Neugeborenen unvollständig ist, haben sich bis jetzt so gut wie keine klar definierten Indikationen für die Transfusion etabliert.

2.2.4 Indikationsstellung unter Orientierung an klinischen Symptomen

Es wurden zwar Richtlinien zur Transfusionsmedizin bei Frühgeborenen veröffentlicht, allerdings bieten diese lediglich eine Liste klinischer Situationen, in denen eine Transfusion zu rechtfertigen ist, nicht aber absolute Indikationen zur Transfusion (Blanchette et al., 1991; Strauss, 1991). Unabhängig davon, welcher Hämoglobinwert die Anämie definiert, wird empfohlen, für die Entscheidung zur Transfusion immer auch die klinischen Zeichen einer Anämie heranzuziehen, zumindest so lange der Hämatokrit bei Werten um 20% liegt (Voak et al., 1994). Die Orientierung an klinischen Symptomen des Kindes wie Apnoephasen, Tachypnoe, Tachykardie oder mangelnde Gewichtszunahme wird zur Indikationsstellung von Transfusionen allgemein praktiziert, allerdings sind die Daten bezüglich der Transfusionswirkung auf die entsprechenden klinischen Parameter widersprüchlich. Während einige Autoren eine transfusionsbedingte Abnahme von Apnoephasen und/oder Bradykardien belegen konnten (Bifano et al., 1992; DeMaio et al., 1989; Joshi et al., 1987; Sasidharan and Heimler, 1992; Stute et al., 1995), haben andere keine vergleichbaren Auswirkungen der Transfusion feststellen können (Blank et al., 1984; Böhler et al., 1994; Keyes et al., 1989; Meyer et al., 1993; Poets et al., 1997). Westkamp et al. plädieren sogar dafür, das Symptom der Apnoephasen von der Liste der klinischen Zeichen zu streichen, die eine Transfusion erforderlich machen, da sie diesbezüglich keine signifikante Verbesserung durch eine Transfusion erkennen konnten (Westkamp et al., 2002). Zwar profitierten die Kinder in dieser Studie insofern von der

Transfusion, als dass ihre Herz- sowie Atemfrequenz signifikant gesenkt wurden, allerdings ist fraglich, ob diese Tatsache alleine für die Rechtfertigung einer Bluttransfusion ausreicht.

2.2.5 Risiken der Transfusion

Die Risiken einer Transfusion wie Infektionen, Graft-versus-host-Reaktion, Immunsuppression, Störungen im Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt und weitere sind zwar heute seltener, aber dennoch nicht vernachlässigbar. Des weiteren gelten die Frühgeborenenretinopathie und die bronchopulmonale Dysplasie zu den schwerwiegenden möglichen Komplikationen der Transfusion bei Frühgeborenen (Cooke et al., 1993; Griffiths et al., 1997; Hesse et al., 1997). Deshalb sollte die Entscheidung zur Übertragung von Blutkomponenten - bei Frühgeborenen mehr als bei jedem anderen Patienten - nach einer sorgfältigen individuellen Abwägung von Nutzen und Risiken getroffen werden.

2.3 Grundlagen der Mikrozirkulation bei Frühgeborenen

Die Mikrozirkulation ist definiert als Blutzirkulation mit Austauschvorgängen zwischen Blut und Interstitium im Bereich der Endstrombahn (Pschyrembel, 2002). Sie repräsentiert die kleinste funktionelle Einheit des kardiovaskulären Systems, innerhalb derer durch die Interaktion zwischen Blut und Gewebe die nötigen Voraussetzungen für das Überleben der Zellen geschaffen werden. Die Untersuchung von Physiologie und Pathophysiologie dieses Systems ermöglicht einen einzigartigen Zugang zum Krankheitsprozess und schafft eine Verknüpfung zwischen klinischer und molekularer Medizin (Fagrell and Intaglietta, 1997).

2.3.1 Bedeutung der Mikrozirkulation bei der Krankheitsentstehung

Die Mikrozirkulation ist charakterisiert durch komplexe Strukturen und ein vieltätiges, regulierendes System. Diese Merkmale erlauben die Erfüllung der verschiedenen Funktionen im Stoffwechsel, im Flüssigkeits- und Wärmehaushalt sowie im Austausch von Informationen. Gleichzeitig findet eine Anpassung an die anatomische Struktur des umliegenden Gewebes sowie an hämodynamische Schwankungen, die durch die arterielle und venöse Makrozirkulation bedingt sind, statt. Änderungen in der Mikrozirkulation haben eine entscheidende Bedeutung in der Entwicklung der Gewebischämie und des Organversagens (Cryer, 1997; Messmer, 1989; Messmer and Kreimeier, 1989). Diese Änderungen treten sowohl im Rahmen akuter Erkrankungen wie bei Sepsis oder hämorrhagischem Schock, als auch bei chronischen Krankheiten wie Diabetes mellitus, koronarer Herzerkrankung oder peripherer arterieller Verschlusskrankheit in Erscheinung.

Bei keiner anderen Patientengruppe haben Störungen der Mikrozirkulation gravierendere Auswirkungen als bei Frühgeborenen. Denn ihre Möglichkeiten, eine inadäquate Perfusion durch kardiovaskuläre Kompensationsmechanismen auszugleichen, sind stark begrenzt durch die eingeschränkte Fähigkeit die Herzfrequenz oder die myokardiale Kontraktilität zu steigern. So ist an der Entstehung vieler schwerwiegender Komplikationen im Frühgeborenenstadium, wie z.B. der nekrotisierenden Enterokolitis, eine Störung der Mikrozirkulation beteiligt (Harrison et al., 1975).

2.3.2 Mikrozirkulation in der Haut von Frühgeborenen

In der vorliegenden Studie wurde die Mikrozirkulation in der Haut von Frühgeborenen gemessen. Denn die Haut ist als Organ gut zugänglich und bei Frühgeborenen so dünn, dass transdermale Messungen möglich sind. Anhand der vorgenommenen Untersuchungen gilt es zu verifizieren, ob sich über Beobachtungen der dermalen Mikrozirkulation Rückschlüsse auf die allgemeine Mikrozirkulation ziehen lassen.

Die Architektur der Haut von Neugeborenen zeigt beachtliche Unterschiede zu der von Erwachsenen. Während letztere im Normalfall mit Kapillarschlingen ausgestattet ist, die vertikal zur Hautoberfläche verlaufen, ist bei Neugeborenen

eine eher horizontale Anordnung vorherrschend, die bereits durch die sehr dünnen oberen Hautschichten gesehen wird. Bei Geburt wird die Haut durch einen dichten subepidermalen Plexus versorgt, der relativ geringe regionale Unterschiede aufweist. Selbst die mittlere und die tiefe Schicht der Dermis sind reich ausgestattet mit Gefäßen. Mit Ausnahme von Handflächen, Fußsohlen und Nagelfalz präsentiert die Haut ein ungeordnetes Netzwerk aus Kapillaren. Das für die reife Haut typische Muster aus Papillarschlingen und subpapillärem Venenplexus ist bei Geburt noch nicht vorhanden. Gegen Ende der ersten Lebenswoche nimmt das Kapillarnetzwerk eine zunehmend geordnetere Form an und papilläre Schlingen treten in der zweiten Lebenswoche als kleine oberflächliche Ausweitungen oder Knospen in Erscheinung. Eine Kühlung der Haut scheint einen beschleunigenden Effekt auf die Reifungsvorgänge zu haben (Mayer, 1921; Perera et al., 1970; Schwalm, 1934).

2.4 Möglichkeiten zur Messung der Mikrozirkulation

Routinemäßig wird bei der intensivmedizinischen Behandlung von schwer kranken Patienten in erster Linie die Normalisierung makrozirkulatorischer Parameter wie Blutdruck, Herzfrequenz und Auswurfleistung des Herzens angestrebt. Es gibt jedoch Hinweise darauf, dass insbesondere Störungen der Mikrozirkulation für eine Verschlechterung von Zell- und Organfunktion verantwortlich sind. Obwohl sie im klinischen Alltag eine eher untergeordnete Rolle spielen, stehen Verfahren zur Verfügung, die sich zum Monitoring der Mikrozirkulation eignen. Verschiedene optische Techniken, die in Klinik und Forschung Anwendung finden, werden im Folgenden beschrieben und beurteilt.

2.4.1 Nicht invasive optische Techniken

Als optische Techniken, die zum mikrozirkulatorischen Monitoring am Patienten einsetzbar sind, stehen die Laser-Doppler-Fluxmetrie und die Nah-Infrarot Spektroskopie zur Verfügung. Die genannten Methoden gelten als für die klinische Anwendung geeignet, da sie nicht invasiv und leicht zu handhaben sind. Ihr Stellenwert für die Klinik wird im Folgenden dargelegt.

2.4.1.1 Laser-Doppler-Fluxmetrie (LDF)

Die Laser-Doppler-Fluxmetrie ist definiert als ein Verfahren zur nicht invasiven Erfassung der kutanen mikrovaskulären Hämodynamik. Das Prinzip der Laser-Doppler-Fluxmetrie beruht auf der Aussendung von monochromatischem Laserlicht auf das zu untersuchende Gewebe. Die Effekte, die sich aus der Interaktion des Laserlichts mit sich bewegenden Erythrozyten ergeben, wurden erstmals 1975 von Stern untersucht (Stern, 1975). Die LDF-Technologie zeichnet sich dadurch aus, dass die Handhabung einfach und zeitsparend ist. Nachteilig sind die geringe Eindringtiefe des Laserlichts von ungefähr 1 mm, die große Variabilität der erhaltenen Messwerte sowie das Fehlen von Absolutwerten, was einen interindividuellen Vergleich erschwert (Christ et al., 2002). Da das remittierte Signal im Wesentlichen aus dem subpapillären Gefäßplexus stammt, der nicht der nutritiven Versorgung der Haut dient, lassen sich mittels der LDF keine Rückschlüsse auf die nutritive, kapilläre Blutversorgung der Haut ziehen. Als routinemäßig anwendbare Methode zum mikrozirkulatorischen Monitoring hat sich die LDF aufgrund der großen Variabilität der Messwerte sowie des Fehlens von Absolutwerten nicht durchsetzen können (Christ et al., 2002).

2.4.1.2 Nah-Infrarot Spektroskopie (NIRS)

Die Nah-Infrarot Spektroskopie ist ein nicht invasives, optisches Verfahren, das erstmals 1977 von Jöbsis beschrieben wurde (Jöbsis, 1977). Diese Technik, die anfänglich vor allem für Untersuchungen bei Feten und Neugeborenen genutzt wurde, erlaubt basierend auf dem Einsatz von gepulstem monochromatischem Licht (z.B. sechs Wellenlängen von 770 – 910 nm) die semiquantitative Berechnung des oxygenierten Hämoglobin- und Cytochrom- $\alpha\alpha 3$ -Gehaltes des Gewebes. Über den Cytochrom- $\alpha\alpha 3$ -Wert kann weiterhin eine Aussage über die zelluläre Oxygenierung gemacht werden (Christ et al., 2002). Der Vorteil dieser Methode liegt in der hohen Eindringtiefe des Signals, was z.B. die Erhebung transkranieller Messwerte erlaubt. Die Eignung als mikrozirkulatorisches Monitoringverfahren ist jedoch insofern eingeschränkt, als dass keine Kalibrierung der Messwerte möglich ist und somit nur relative Veränderungen wiedergegeben werden können. Das Fehlen einer definierten kritischen Grenze für die Oxygenierung limitiert das klinische Potenzial der NIRS.

2.4.2 Konventionelle Intravitalmikroskopie

Die Möglichkeit zur direkten Beobachtung von Gefäßen bietet als konventionelle Methode die Intravitalmikroskopie. Diese Technik hat durch die Realisierung von quantitativen Messungen unser Verständnis für Veränderungen der Mikrozirkulation in Erkrankungen geprägt. Allerdings setzt diese Methode eine systemische Applikation von fluoreszierenden Farbstoffen (FTIC) zur Kontrastverstärkung voraus. Die fluoreszierende Strahlung kann sowohl an sich toxisch wirken, als auch phototoxische Effekte hervorrufen (Saetzler et al., 1997; Steinbauer et al., 2000). Des weiteren ist bei konventionellen Messvorrichtungen eine gewisse Größe erforderlich, um Echtzeitaufnahmen der Mikrozirkulation erzeugen zu können und somit deren quantitative Analyse zu ermöglichen. Da weder die Größe der herkömmlich verwendeten Geräte, noch der Einsatz von Fluoreszenzfarbstoffen mit einer breiten klinischen Anwendung beim Menschen vereinbar sind, stammt ein Großteil der wissenschaftlichen Erkenntnisse über die Funktion der Mikrozirkulation und ihre Bedeutung bei der Krankheitsentstehung aus Studien am Tiermodell. Über die Möglichkeit der quantitativen Datenerhebung im Tierversuch trug diese Technik zu einem besseren Verständnis für die Veränderungen der Mikrozirkulation in Erkrankungen wie Sepsis, Schock und Ischämie-Reperfusionsschaden bei (Fagrell and Intaglietta, 1997).

Beim Menschen war die Anwendung des Intravitalmikroskops bisher weitestgehend auf Gewebe beschränkt, deren Gefäße sichtbar und oberflächennah sind. So wurden beispielsweise mittels der Videokapillarmikroskopie Messungen der Mikrozirkulation am Nagelfalz durchgeführt. Diese dienten dem Zweck der Diagnose und Behandlung von peripheren Gefäßerkrankungen, Diabetes und hämatologischen Erkrankungen (Fagrell and Bollinger, 1990; Fagrell and Intaglietta, 1997; Forst et al., 1998). Weitere der Videokapillarmikroskopie zugänglichen Gewebe sind Auge, Haut, Lippen, Zahnfleisch und Zunge (Davis and Landau, 1966; Fenton et al., 1979; Wolf et al., 1994). Obwohl die Kapillarmikroskopie in limitierter Form bei Erwachsenen seit ungefähr 30 Jahren praktiziert wird, gibt es nur wenige Publikationen über die Anwendung bei Neugeborenen (Norman et al., 1988; Norman et al., 1992b; Norman et al., 1992a; Norman et al., 1993). Als mikrozirkulatorisches Monitoringverfahren für den klinischen Alltag hat diese Methode keinen Einsatz gefunden.

2.4.3 Konfokale Laser-Raster-Mikroskopie (CLSM)

Eine neue Methode, die es ermöglicht, die Mikrozirkulation in vivo darzustellen, nennt sich Konfokale Laser-Raster-Mikroskopie. Eine Anwendung dieser Technik wurde sowohl im Tiermodell (Bussau et al., 1998) als auch am Menschen beschrieben (Rajadhyaksha et al., 1995). Es handelt sich bei der CLSM um eine neue mikroskopische Methode, die sich gegenüber der konventionellen Epifluoreszenzmikroskopie durch eine erhöhte optische Auflösung auszeichnet. Die hiermit gewonnenen Bilder können allerdings nicht mit der standardmäßigen Videofrequenz aufgenommen werden (nur bis zu 16 statt 30 Bilder pro Sekunde). Dies beeinträchtigt die Verlaufsbeobachtung dynamischer Vorgänge. Nachteilig kommt hinzu, dass eine Optimierung der Bilder letztlich auch bei dieser neuen Methode die Applikation fluoreszierender Farbstoffe erfordert.

2.4.4 Orthogonal polarization spectral (OPS) imaging

Die orthogonale polarisierte spektrale Bildgebung (OPS imaging) wurde erstmals 1999 von Groner et al. als neue Technologie vorgestellt (Groner et al., 1999). Mit der Entwicklung dieser nicht invasiven Methode eröffnen sich neue Möglichkeiten für die Untersuchung der Mikrozirkulation beim Menschen. Im Gegensatz zur konventionellen Fluoreszenzmikroskopie erfordert die Visualisierung der Mikrozirkulation mit OPS imaging keine Kontrastverstärkung durch Fluoreszenzfarbstoffe. Das Prinzip des OPS imaging beruht darauf, dass durch den Einsatz einer speziellen Optik Erythrozyten direkt sichtbar gemacht werden können. Auf diese Weise werden hochwertige Bilder von durchbluteten Gefäßen erzeugt, die in Echtzeit beobachtet und aufgenommen werden können. Es konnte bereits gezeigt werden, dass basierend auf solchen Aufnahmen von durchbluteten Mikrogefäßen der Haut Parameter der Mikrozirkulation wie Gefäßdurchmesser, Flussgeschwindigkeit der Erythrozyten und funktionelle Gefäßdichte auch bei Neugeborenen sowie bei Frühgeborenen beurteilt werden können (Genzel-Boroviczény et al., 2002).

3 Fragestellung

Ausführliche Studien am Hamster-Rückenhautkammer-Modell geben bereits Aufschluss über die Auswirkung der Hämodilution auf die Kapillarperfusion. Diese Untersuchungen wurden mittels Fluoreszenz-Intravitalmikroskopie durchgeführt, einer invasiven Methode, die Fluoreszenzfarbstoffe zur Kontrastverstärkung benötigt (Sakai et al., 1999; Sakai et al., 2002; Tsai et al., 1998; Tsai and Intaglietta, 2001).

Mit OPS imaging existiert nun eine risikolose Möglichkeit vergleichbare Studien am Menschen und sogar am Neugeborenen zu realisieren, um die im Tierversuch gewonnen Erkenntnisse auf die klinische Praxis zu übertragen. OPS imaging könnte als diagnostische Methode dazu beitragen, hämodynamische Veränderungen mit Störungen der Mikrozirkulation bei der Frühgeborenenanämie frühzeitig zu erkennen und dem Ziel der Reduktion von invasiven Blutentnahmen näher zu kommen.

Um die Eignung dieser Methode nach erfolgreichem Einsatz im Tiermodell und am Erwachsenen nun auch auf ihre klinische Anwendbarkeit in der Neonatologie hin zu erproben, wurde eine klinische Studie verwirklicht, deren Durchführung und Ergebnisse in dieser Arbeit präsentiert werden.

Gegenstand der Studie sind zehn anämische Frühgeborene, bei denen mittels OPS imaging Messungen der Mikrozirkulation in der Haut realisiert wurden. Diese Messungen fanden in zeitlichem Zusammenhang zu einer Transfusion von Erythrozytenkonzentrat statt. Dies ermöglicht über einen vorher-nachher-Vergleich eine Einschätzung der Veränderung der Mikrozirkulation durch die Transfusion.

Das Hauptaugenmerk der Studie lag auf der Beurteilung der Gewebepерfusion anämischer Frühgeborener und deren Qualitätsänderung durch die Bluttransfusion. Im Rahmen der Transfusion sollten zudem verschiedene klinische Parameter hinsichtlich ihres Stellenwertes als Transfusionsindikatoren untersucht werden. Zudem galt das Interesse der Erprobung von Sicherheit, Praktikabilität und klinischer Anwendbarkeit sowie der Verifizierung des diagnostischen Potenzials von OPS imaging bei anämischen Frühgeborenen.

Das Ziel der Studie war die Auseinandersetzung mit folgenden Fragen:

1. Ist OPS imaging eine geeignete Methode zur Messung der Mikrozirkulation bei anämischen Frühgeborenen?
2. Weist die dermale Mikrozirkulation bei Frühgeborenen im Zustand der Anämie Störungen auf?
3. Bewirkt die Transfusion von Erythrozytenkonzentrat bei anämischen Frühgeborenen eine Veränderung klinischer Parameter?
4. Führt die Transfusion von Erythrozytenkonzentrat bei anämischen Frühgeborenen zu einer Verbesserung der mikrovaskulären Perfusion in der Haut? Dies soll beurteilt werden anhand eines Anstiegs der funktionellen Gefäßdichte, einem Parameter, der als repräsentativ für den Perfusionsgrad des Gewebes gilt.
5. Können über die Veränderung der Hautperfusion Rückschlüsse auf eine Veränderung der allgemeinen Gewebepfusion gezogen werden?
6. Ist der Einsatz von OPS imaging zur nicht invasiven Diagnostik im Rahmen der Frühgeborenenanämie im Speziellen, aber auch in der Neonatologie im Allgemeinen denkbar?

4 Material und Methodik

4.1 Voraussetzungen zur Durchführung der Studie

Die vorliegende Studie wurde auf der Neugeborenen-Intensivstation der Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe im Klinikum Großhadern in München durchgeführt. Sie unterliegt einer Genehmigung durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität. Als Voraussetzung jeder Messreihe galt die Aufklärung der Eltern des Kindes sowie die schriftliche Einholung deren Einverständnisses durch den behandelnden Neonatologen. Das Formular zur Einwilligungserklärung ist im Anhang II abgebildet. Es wurden nur solche Kinder in die Studie eingebunden, die nach Ansicht des Arztes einen Gesundheitszustand aufwiesen, in welchem die Messungen zumutbar waren.

4.2 Patienten

Im Rahmen dieser Studie wurden Messungen bei zehn anämischen Frühgeborenen durchgeführt, von denen allerdings zwei aufgrund von unvollständigen Messdaten in der Statistik unberücksichtigt bleiben mussten. Drei der Kinder wurden zweimal transfundiert und ein Kind erhielt sogar drei Transfusionen in Folge, so dass insgesamt 13 Messreihen durchgeführt und ausgewertet werden konnten.

Vier der Kinder hatten ein Amnioninfektionssyndrom, drei zeigten ein Atemnotsyndrom und drei wiesen respiratorische Adaptationsstörungen auf. Bei einem Kind bestand zum Zeitpunkt der Messung die Diagnose einer Pneumonie.

11 von 13 Messreihen erfolgten bei beatmeten Frühgeborenen.

Die anämischen Frühgeborenen mit einem durchschnittlichen Gestationsalter von 26 Wochen [25-26 Wochen] und einem Geburtsgewicht von 730 g [652-789 g] wurden im Median am 31. Lebenstag [22.-42. Lebenstag] bei einem aktuellen

Gewicht von 1075 g [897-1338 g] mit 10 ml [9-14 ml] Erythrozytenkonzentrat pro kg Körpergewicht transfundiert.⁴

Die Indikationsstellung zur Transfusion wurde unabhängig von der Studie, rein nach dem Ermessen des behandelnden Neonatologen gestellt. Ausschlaggebend für die Entscheidung zur Transfusion war nicht nur der Hämoglobinwert, sondern auch die klinische Situation des jeweiligen Kindes. In der Regel wurden beatmete Kinder mit Sauerstoffbedarf bei einem Hb < 12 g/dl transfundiert, nicht beatmete Kinder mit einem Sauerstoffbedarf von mindestens 30% bei einem Hb < 10 g/dl, Kinder mit einem Sauerstoffbedarf von weniger als 30% mit mangelnder Gewichtszunahme bei einem Hb < 8-9 g/dl und jedes Kind bei einem Hb < 7 g/dl. Da der Hämoglobinwert bei jeder Blutgasanalyse mitbestimmt wurde, eignete er sich im Vergleich zum Hämatokritwert besser zur Erfassung von Verlaufsdaten.

Die Transfusionen wurden mit 10 ml [9-14 ml]⁵ pro kg Körpergewicht bestrahltem, CMV-negativem Erythrozytenkonzentrat, über einen Zeitraum von vier bis fünf Stunden durchgeführt. Während der Messungen wurden sämtliche klinische Daten in einem Messprotokoll dokumentiert, um deren Änderung im Verlauf der Transfusion beziehungsweise deren Korrelation mit Parametern der Mikrozirkulation beurteilen zu können. Die während der Messungen gleichzeitig erfolgte Ermittlung von systolischem, diastolischem und mittlerem arteriellen Blutdruck geschah entweder kontinuierlich über einen arteriellen Zugang (Becton Dickinson Critical Care Systems mit einem Ohmeda Statham® Transducer, Singapore) oder alle fünf Minuten oszillometrisch (Dinamap™ Critikon Vital Data Monitor, Norderstedt, Germany). Mittels einer über der Leber angebrachten Hautsonde wurden die zum Zeitpunkt der Messung bestehende Herzfrequenz und Körperkerntemperatur erfasst und zusammen mit der entsprechenden Inkubatortemperatur im Messprotokoll dokumentiert. Ebenfalls notiert wurden sämtliche Angaben zur Kreislauf- und Atemfunktion, einschließlich der Daten zur Beatmung, sowie die Rekapillarisierungszeit. Von Blutentnahmen in direktem zeitlichem Zusammenhang zu den Messungen musste zum Schutz der Frühgeborenen abgesehen werden. Zur Beurteilung von pH, Hämoglobin und Hämatokrit wurden diejenigen Werte aus Blutgasanalysen und laborchemischen Untersuchungen he-

⁴ Die Werte sind angegeben als Mediane [95% Konfidenzintervall].

⁵ Der Wert ist angegeben als Median [95% Konfidenzintervall].

rangezogen, die in kürzestem zeitlichem Abstand zu den jeweiligen Messungen ermittelt wurden. Die verwendeten Messprotokolle sind im Anhang I abgebildet. Zusätzlich wurde die durchschnittliche Gewichtszunahme der Kinder vor und nach der Transfusion verglichen, und zwar jeweils über einen Zeitraum von sieben Tagen.

4.3 Messvorgang

4.3.1 Messmethode: Orthogonal polarization spectral imaging

Bislang waren die Möglichkeiten zur Untersuchung der Mikrozirkulation beim Menschen aufgrund der Abhängigkeit von radiologischer Durchleuchtung oder von fluoreszierenden Strahlen eingeschränkt. Die orthogonale polarisierte spektrale Bildgebung ist eine neue, nicht invasive Methode zur Untersuchung der Mikrozirkulation, die es ermöglicht, das Gefäßnetzwerk von Organen - wie zum Beispiel der Haut - direkt sichtbar zu machen. Eine spezielle Optik ermöglicht, basierend auf dem Einsatz von polarisiertem Licht und dessen Absorption durch Hämoglobin, die Produktion qualitativ hochwertiger Aufnahmen der durchbluteten Gefäße. Diese können in Echtzeit auf eine Videokassette aufgenommen werden. Im Anschluss an die Messung erfolgt dann off-line die Auswertung der aufgenommenen Sequenzen mit einer speziellen Software. Im Vergleich zur Anwendung der konventionellen Intravitalmikroskopie sind bei dieser Methode die entscheidenden Vorteile der nicht invasiven Einsetzbarkeit und der Unabhängigkeit von kontrastverstärkenden Mitteln gegeben.

4.3.1.1 Validierung der OPS imaging-Technologie

Die Validierung der OPS imaging-Technologie wurde im Vergleich zur intravitalen Fluoreszenzmikroskopie anhand mehrerer Tiermodelle vorgenommen (Harris et al., 2000b; Harris et al., 2002). Die beiden Methoden wurden zu unterschiedlichen Messzeitpunkten für die Untersuchung der Mikrozirkulation identischer Gefäße herangezogen. In der anschließenden quantitativen Analyse konnte eine Korrelation der Daten festgestellt werden. Die Abbildung 1 zeigt zum Vergleich die Darstellungen postkapillärer Venolen der Rückenhautkammer des syrischen Goldhamsters mit dem Intravitalmikroskop und dem mit der OPS imaging-Technologie ausgestatteten CytoscanTM A/R. Mathura et al. konnten nachweisen,

dass auch Messungen am Nagelfalz des Menschen mittels Kapillarmikroskopie und OPS imaging vergleichbare Daten liefern (Mathura et al., 2001b).

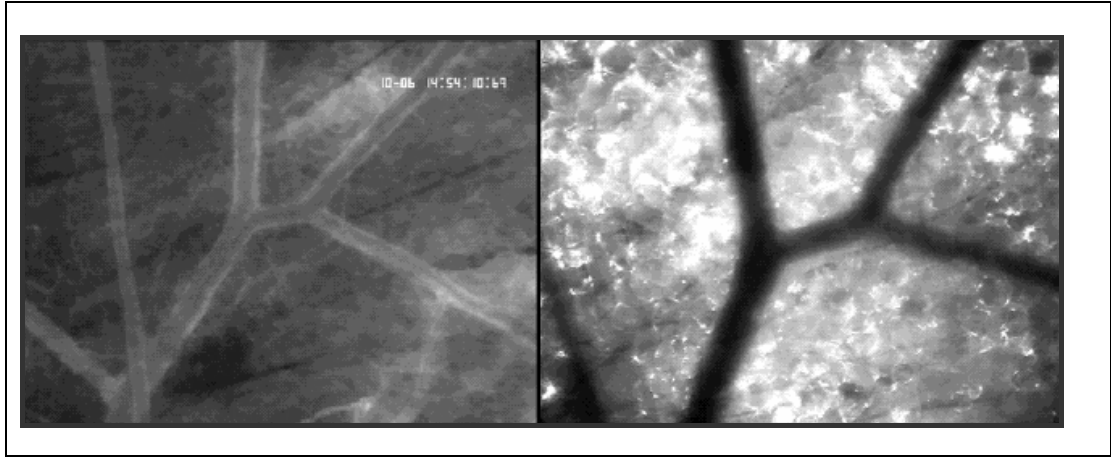


Abbildung 1: Darstellung der Mikrozirkulation im Tiermodell (Rückenhautkammer des syrischen Goldhamsters). Vergleich identischer postkapillärer Venolen mittels Intravitalmikroskop (links) mit Anwendung von FITC-Dextran zur Kontrastgebung und Cytoscan™ A/R (rechts) ohne Kontrastmittel⁶

4.3.1.2 Anwendung von OPS imaging am Menschen

Die Anwendung von OPS imaging am Menschen ist durch den Einbau in ein spezielles Gerät, das so genannte Cytoscan™ A/R (Cytometrics, Philadelphia, PA, U.S.A.) realisiert worden. Die Abbildung 2 zeigt diese Messvorrichtung einschließlich der externen Lichtquelle. In der Abbildung 3 ist nur die OPS imaging-Sonde dargestellt. Zusätzlich benötigt man für die Aufzeichnung der gemessenen Sequenzen einen PAL-Videorekorder (Panasonic, Video Cassette Recorder, AG-7350, Osaka, Japan) sowie einen Monitor (Sony, PVM-97, Tokyo, Japan).

Das Cytoscan™ A/R wurde in mehreren verschiedenen Bereichen hinsichtlich seiner Eignung für den klinischen Einsatz am Menschen evaluiert. Neben ophthalmologischen Untersuchungen zur Beurteilung der Mikrozirkulation von Kornea und Konjunktiva (Laemmel et al., 2000) kam es auch zur Anwendung in der Chirurgie. In der Neurochirurgie wurde OPS imaging zur Ermittlung quantitativer Daten der zerebralen Mikrozirkulation eingesetzt (Uhl et al., 2000). In der Herzchirurgie sollten Messungen an der sublingualen Schleimhaut des Patienten klinische Informationen über die Mikrozirkulation während und nach der Anlage eines kardiopulmonalen Bypasses liefern (Christ et al., 2000).

⁶ Figure 2 aus Groner et al. (Groner et al., 1999).

Grundsätzlich kann OPS imaging unter Verzicht auf Fluoreszenzfarbstoffe zur Visualisierung der Mikrozirkulation verschiedener Gewebe und Organe eingesetzt werden: im Bereich der Konjunktiva, der Mundschleimhaut, der Zunge, der Lippen, und an der Haut in Zonen geringer Verhornung, z.B. periokulär, periungual und in Wunden (Christ et al., 2000; De Backer et al., 2000; Groner et al., 1999; Langer et al., 2001b; Mathura et al., 2001b), beziehungsweise an der gesamten Haut bei Neugeborenen (Genzel-Boroviczény et al., 2002).

Intraoperativ sind Messungen der Mikrozirkulation folgender Organe beschrieben: Leber (Langer et al., 2001a), Herz (Boehm et al., 2000), Kolon (Biberthaler and Langer, 2002), Pia mater (Thomale et al., 2001) und Gehirn (Mathura et al., 2001a).

Das Cytoscan™ A/R hat sich gegenüber dem Intravitalmikroskop hinsichtlich der praktischen Anwendung als überlegen erwiesen. Aufgrund der geringen Größe und der Handlichkeit kann es auch für Messungen bei Frühgeborenen im Inkubator eingesetzt werden. Die Eignung zu diesem Zwecke wurde in einer Studie zur Messung der Mikrozirkulation in der Haut von Neugeborenen und Frühgeborenen erfolgreich erprobt (Genzel-Boroviczény et al., 2002). Die Abbildung 4 verdeutlicht die Größenverhältnisse zwischen der OPS imaging-Sonde und einem Frühgeborenen der 24. Gestationswoche.

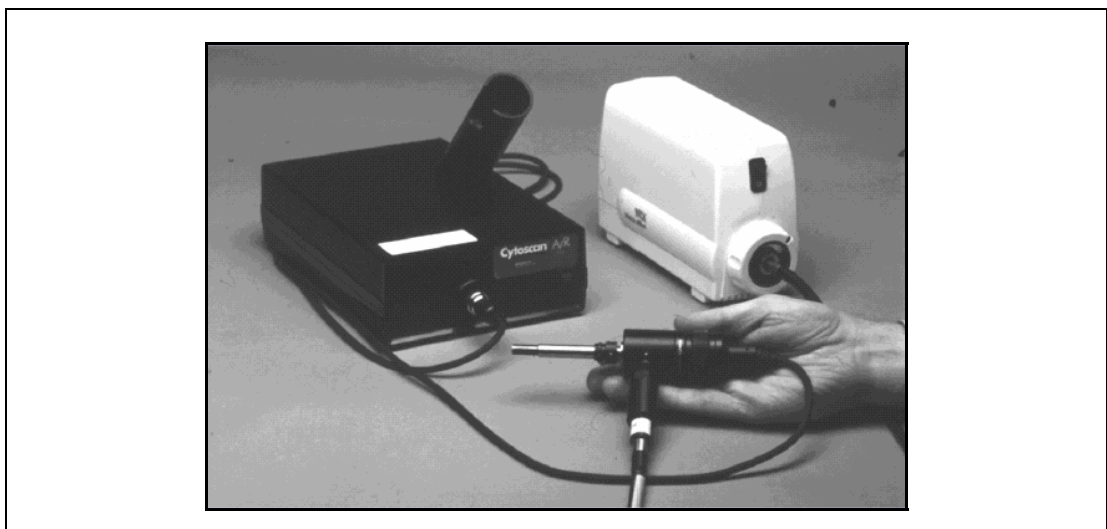


Abbildung 2: Darstellung des Messgerätes Cytoscan™ A/R: Basiseinheit (links) mit Haltevorrichtung für die OPS imaging-Sonde und externe Lichtquelle (rechts)⁷

⁷ Figure 4 aus Langer et al. (Langer et al., 2000).

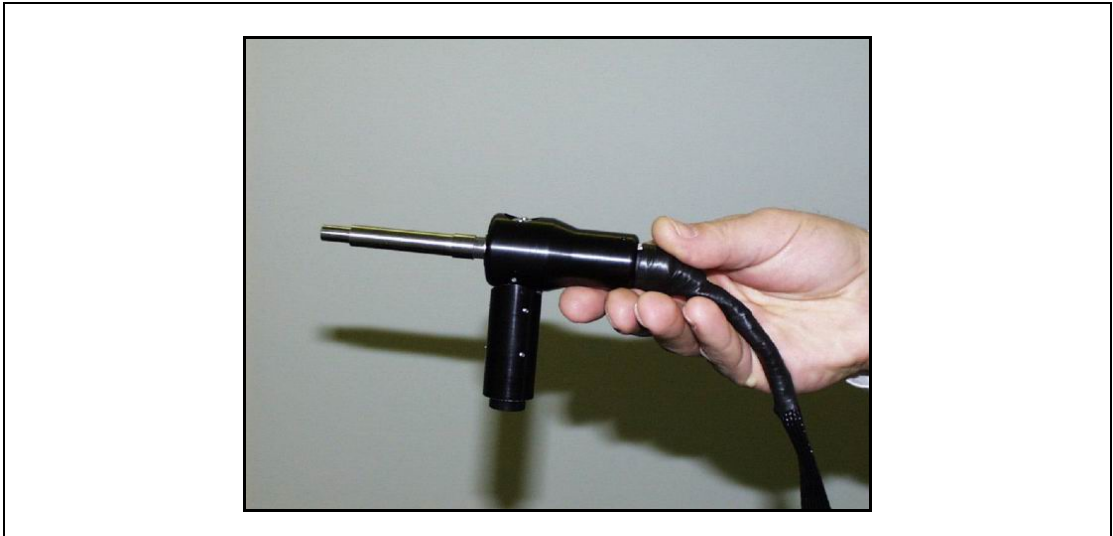


Abbildung 3: Darstellung des Messgerätes Cytoscan™ A/R: OPS imaging-Sonde⁸



Abbildung 4: Darstellung der Sondengröße in Relation zu einem Frühgeborenen im Inkubator (Gestationsalter 24 Wochen, Geburtsgewicht 550 g, erster Lebenstag)⁹

⁸ Figure 1a aus Groner et al. (Groner et al., 1999).

⁹ Figure 1 aus Genzel-Boroviczény et al. (Genzel-Boroviczény et al., 2002).

4.3.2 Prinzip der Bildgebung bei OPS imaging

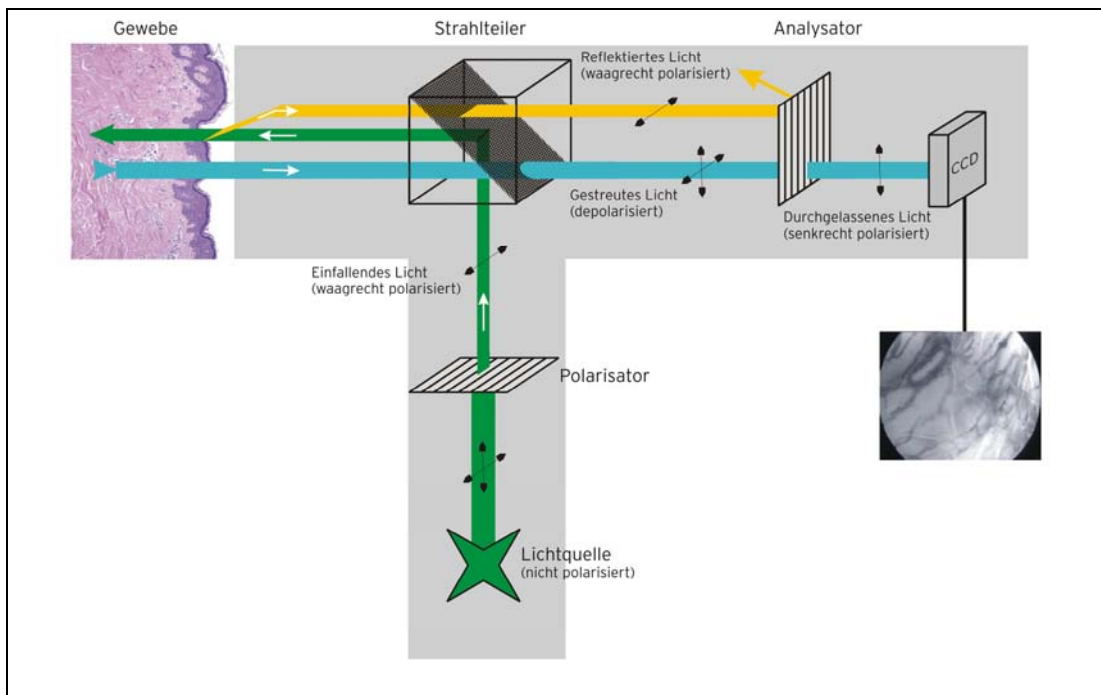


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips der OPS imaging-Sonde ¹⁰

Die Abbildung 5 zeigt in schematischer Darstellung den optischen Weg durch die OPS imaging-Sonde. Ein von einer Lichtquelle produzierter weißer Lichtstrahl wird durch einen Polarisator geschickt, der orthogonal zur Lichtquelle angeordnet ist. Ein integrierter Spektralfilter isoliert Licht der Wellenlänge von 548 nm. Die Auswahl dieser Wellenlänge stellt einen Kompromiss zwischen der maximalen Lichtabsorption des Hämoglobins bei 420 nm und der optimalen Lichteindringtiefe ins Gewebe bei 810 nm dar. Durch die Erzeugung von Licht der Wellenlänge von 548 nm werden beide Faktoren berücksichtigt und die Voraussetzung für eine gute Kontrastgabe und Eindringtiefe geschaffen. Der monochromatische Lichtstrahl wird linear polarisiert und über die Scheibe eines halbdurchlässigen Spiegels orthogonal (im 90° Winkel) auf das zu untersuchende Gewebe geworfen. Die Produktion des Lichtstrahls erfolgt ohne Wärmeentwicklung, so dass für

¹⁰ eigene Erstellung des Abbildungsdesigns mit Photoshop in Anlehnung an Figure 1b aus Groner et al. (Groner et al., 1999).

die Frühgeborenen keine Gefahr durch Erhitzung oder Verbrennung besteht. Die Sonde kann von der Gewebeoberfläche bis in 1 mm Tiefe fokussieren. In vivo ist die typische Tiefe der Fokussierung ungefähr 0,2 mm. Ein Großteil des auf das Gewebe treffenden Lichtstrahles wird an der Oberfläche reflektiert. Nur ca. 10% dringen tiefer in das Gewebe ein. Während das Licht, das an der Oberfläche reflektiert wird, unverändert im waagrecht polarisierten Zustand bleibt, wird das ins Gewebe eindringende Licht mehrfach gestreut und auf diese Weise depolarisiert. Es entsteht eine so genannte virtuelle Lichtquelle. Nach der Absorption durch das Hämoglobin (Oxy- und Desoxyhämoglobin) der Erythrozyten passiert der reflektierte Anteil des Lichts in depolarisierter Form einen Analysator, der orthogonal, also 90° zum Polarisator, vor der CCD-Kamera installiert ist. Dieses Licht, das aus der Tiefe des Gewebes zurückgeworfen wird, wird von der CCD-Kamera (Costar CV-M 536 CCIR, JAI, Tokyo, Japan) in ein negatives Abbild der hämoglobintragenden Strukturen umgewandelt. Auf diese Weise werden die Erythrozyten auf dem Bildschirm in dunklem Kontrast erkennbar. Das Prinzip der orthogonalen polarisierten spektralen Bildgebung beruht auf einer Kontrastbildung durch die Lichtabsorption von Hämoglobin. Blutgefäße müssen daher Erythrozyten enthalten, um sich vom umgebenden Gewebe abzuheben. Die Höhe des Kontrastes wird dabei durch die Anzahl der Erythrozyten bestimmt. Da nur diejenigen Gefäße dargestellt werden können, die mit Erythrozyten durchblutet sind, kommen kollabierte Kapillaren nicht zur Darstellung. Das an der Oberfläche des Gewebes reflektierte und somit unverändert waagrecht polarisierte Licht wird am Analysator (senkrecht) abgelenkt und trägt nicht zur Entstehung des Bildes bei. Der beleuchtete Gewebebezirk wird 10-fach vergrößert. Das entspricht einer Auflösung von $1\mu\text{m}$ pro Pixel. Die Messung wird als bewegtes Bild in Echtzeit auf einen Monitor übertragen und kann in Form von Videosequenzen aufgezeichnet werden. Die Abbildung 6 zeigt beispielhaft ein typisches OPS-imaging-Bild der dermalen Mikrozirkulation eines Frühgeborenen, wie es auf den Monitor übertragen wird. Zur Demonstration der OPS imaging-Aufnahmen in Echtzeit ist im Anhang IV eine CD-ROM beigelegt, auf der zwei Sequenzbeispiele von einem Frühgeborenen gespeichert sind. Die Auswertung der aufgenommenen Sequenzen erfolgt anschließend off-line.

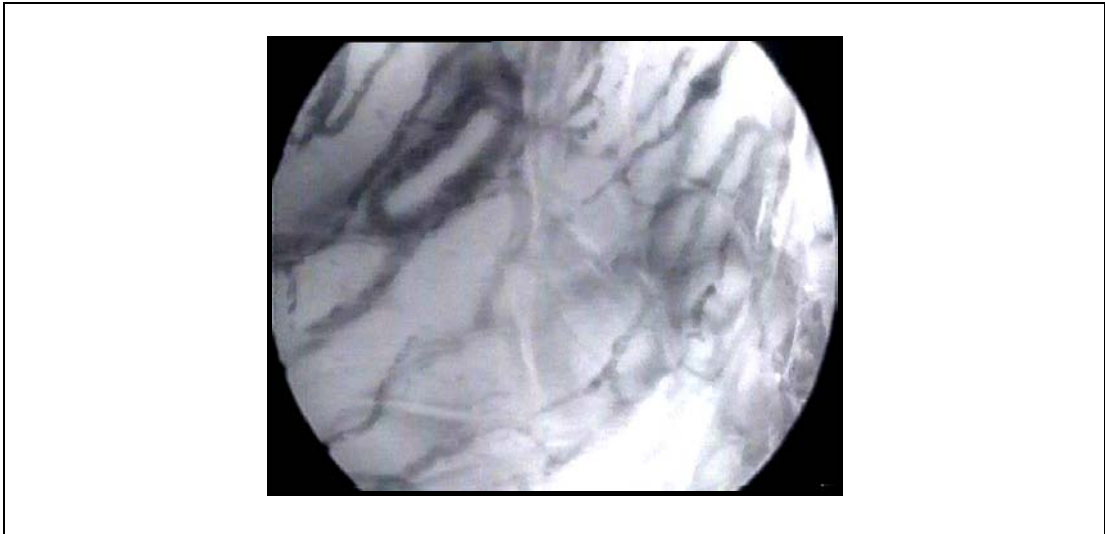


Abbildung 6: Beispiel für ein typisches OPS imaging-Bild der dermalen Mikrozirkulation eines Frühgeborenen: Darstellung der hämoglobintragenden Strukturen des beleuchteten Gewebebezirks in dunklem Kontrast¹¹

4.3.3 Messbedingungen

Die Messungen mittels der beschriebenen OPS imaging-Technologie fanden unter bestimmten, im Vorfeld der Studie definierten Bedingungen statt. Diese beziehen sich auf die Anzahl der Messvorgänge und deren zeitlichen Bezug zur Transfusion, die Messdauer, die für die Messung geeignete Hautstelle, die ordnungsgemäße Handhabung der OPS imaging-Sonde sowie die Erfüllung von hygienischen Anforderungen bei der Messung im Inkubator.

4.3.3.1 Zeitpunkte und Dauer der Messung

Die Messungen wurden, wie in der Abbildung 7 dargestellt, im Inkubator durchgeführt. Jede Messreihe bestand aus drei Messungen, die in Bezug auf das Transfusionsereignis zu unterschiedlichen Zeitpunkten erfolgten:

- T1: innerhalb von vier Stunden vor Transfusion
- T2: zwei Stunden nach abgelaufener Transfusion
- T3: 24 Stunden nach abgelaufener Transfusion

Aus organisatorischen Gründen fand die Transfusion meist am Nachmittag statt, so dass die zweite Messung während der Nacht durchgeführt werden musste.

¹¹ Demonstrationsbeispiel aus den eigenen Aufnahmen.

Dies war förderlich für eine ruhige Messumgebung. Jede Messung erfolgte über einen Zeitraum von bis zu 20 Minuten mit dem Ziel, möglichst viele Sequenzen aufzuzeichnen, die für die Mindestdauer von zehn Sekunden frei von jeglichen Bewegungsartefakten sind. Abhängig von der jeweiligen Messsituation konnten pro Messung zwei bis acht auswertbare Sequenzen gespeichert werden.

4.3.3.2 Messstelle

Es ist zwar nicht möglich, zu den verschiedenen Messzeitpunkten exakt die selben Gefäße zu erfassen, es wurde jedoch darauf geachtet, die jeweiligen Messungen immer an der selben Stelle durchzuführen. Eine sublinguale Anwendung, wie sie beim Erwachsenen praktiziert wird, ist bei Frühgeborenen nicht möglich, da eine Sonde von so geringer Größe wie sie hierfür erforderlich wäre, im Moment nicht erhältlich ist. Allerdings besteht bei Frühgeborenen der Vorteil, dass sie eine sehr dünne Haut haben, was im Gegensatz zur Anwendung beim Erwachsenen eine transdermale Messung zulässt. Die Messung erfolgte in der Axilla, die sich in einer vorangegangenen Studie als geeignete Messstelle etablierte, da hier die geringsten Bewegungsartefakte zu verzeichnen waren (Genzel-Boroviczény et al., 2002). Abgesehen davon tolerieren die Frühgeborenen den Kontakt mit der Sonde an dieser Hautstelle sehr gut und schlafen während der Messung meist sogar ein (siehe Abbildung 7). Eine Sedierung war daher nicht nötig. Bei der Platzierung der Sonde ist es wichtig darauf zu achten, dass die Berührung der Haut so leicht wie möglich ist, um jeglichen Druck auf das Gewebe zu vermeiden. Andernfalls könnten Gefäße komprimiert und die Parameter der Mikrozirkulation verfälscht werden.

4.3.3.3 Erfüllung der hygienischen Anforderungen

Um die hygienischen Anforderungen zu erfüllen, sind für das CytoscanTM A/R sterile Schutzkappen (CytolensTM) aus durchsichtigem Plastik hergestellt worden, die auf die Sonde aufgesteckt werden. Diese Kappen erfüllen zwei Funktionen: Zum einen schützen sie das Gerät vor direktem Kontakt mit dem Gewebe, zum anderen wird die Übertragung von Erregern durch das Wechseln der Kappen verhindert. Für jedes Kind wurde eine eigene Kappe verwendet. Die Sonde wurde vor und nach jedem Gebrauch gründlich desinfiziert.

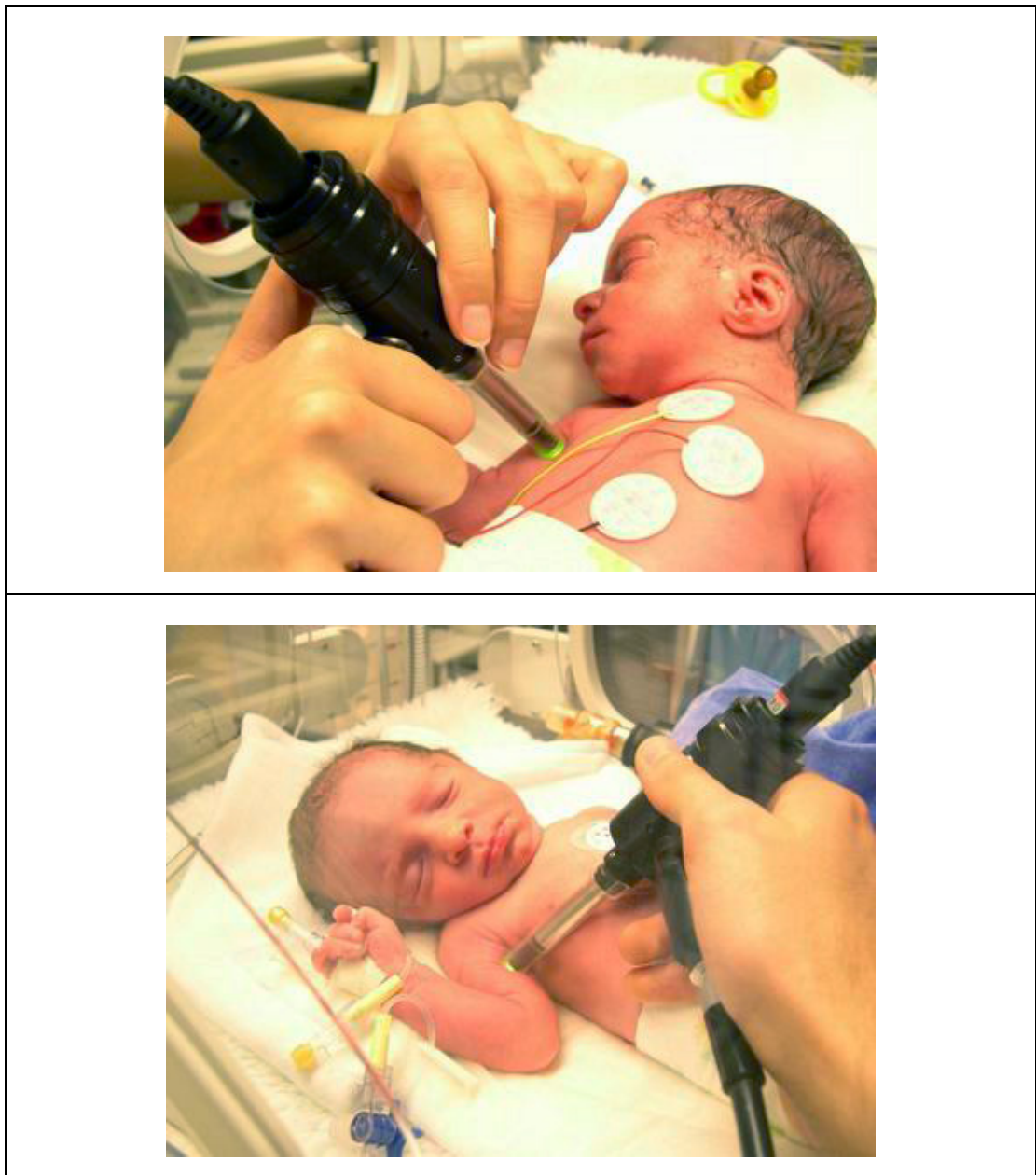


Abbildung 7: Demonstration des Messvorgangs bei einem Frühgeborenen im Inkubator (Gestationsalter 33 Wochen, Geburtsgewicht 1850 g, erster Lebenstag)¹²

¹² Aufnahme der Fotos auf der neonatologischen Intensivstation der I. Universitätsfrauenklinik in München. Verwendung in anonymisierter Form mit dem Einverständnis der Eltern.

4.4 Auswertung der Messungen

Die Parameter der Mikrozirkulation wurden off-line anhand von auf Videokassette (S-VHS-Videokassetten, FUJIMAGNETICS GmbH, Kleve, Deutschland) gespeicherten Sequenzen der dermalen Mikrozirkulation ausgewertet. Diese Auswertung erfolgte mit Hilfe des zu diesem Zweck entwickelten Videobildanalysesystems CapiScope® (KK Technologies, UK).

4.4.1 Hardware-Konfiguration

Die notwendige Hardware-Konfiguration besteht aus einem IBM-kompatiblen PC, einem Videorecorder als Videoquelle und einem Farbmonitor, der die auszuwertenden Videosequenzen anzeigt. Die Videobilder werden in Echtzeit digitalisiert und mittels Tastatur und Maus des PC's bearbeitet.

4.4.2 Software-Konfiguration

Die quantitative Bestimmung der Mikrozirkulationsdaten mittels orthogonaler polarisierter spektraler Bildgebung wurde validiert gegen die intravitale Fluoreszenzmikroskopie im Hamstermodell, an der Rattenleber sowie sublingual beim Menschen (Groner et al., 1999; Harris et al., 2000b; Langer et al., 2001a). Im Rahmen dieser Validierung wurde zur Auswertung der jeweilig erstellten Videoaufnahmen international das von Zeintl et al. entwickelte computerassistierte Videobildanalysesystem Cap-Image® (H. Zeintl, Heidelberg, Deutschland) verwendet (Klyscz et al., 1997). Bei der Software-Konfiguration CapiScope® (KK Technologies, UK) handelt es sich um ein optimiertes Analyseprogramm, das gegen die erprobte Cap-Image®-Software validiert wurde und ebenso international zur Analyse von Mikrozirkulationsdaten Anwendung findet (Brookes and Kaufman, 2005). Die Validierung der CapiScope®-Software ist auf der folgenden Internetseite beschrieben: <http://www.kktechnology.com/refs/refopshamster.html>

Für jede auswertbare Sequenz wurden die folgenden Parameter zur Beurteilung der Mikrozirkulation berechnet:

- Gefäßdurchmesser
- Flussgeschwindigkeit der Erythrozyten innerhalb der Gefäße

- Flussvolumen
- funktionelle Gefäßdichte

Für die Ermittlung von Gefäßdurchmesser, Flussgeschwindigkeit und Flussvolumen wurden in jeder Sequenz so viele geeignete Gefäße wie möglich im jeweiligen Bildausschnitt ausgewählt.

Im Folgenden wird die Ermittlung der einzelnen Parameter ausführlicher erläutert.

4.4.2.1 Gefäßdurchmesser

Der Gefäßdurchmesser wird angegeben in μm . Er entspricht der Breite der in dunklem Kontrast sichtbaren Erythrozytensäule. Zur Ermittlung des Durchmessers wird ein Gefäß aus dem stehenden Bild selektiert. Innerhalb des ausgewählten Gefäßes wird eine Linie gezogen, die dem Gefäßverlauf über eine kurze Strecke folgt. Der Computer detektiert dann den Durchmesser des Gefäßes anhand des Grauwertverlaufs senkrecht zu der gezogenen Linie. Dabei setzt das Programm einen Rahmen um den zu messenden Gefäßabschnitt, wie in der Abbildung 8 zu sehen ist.

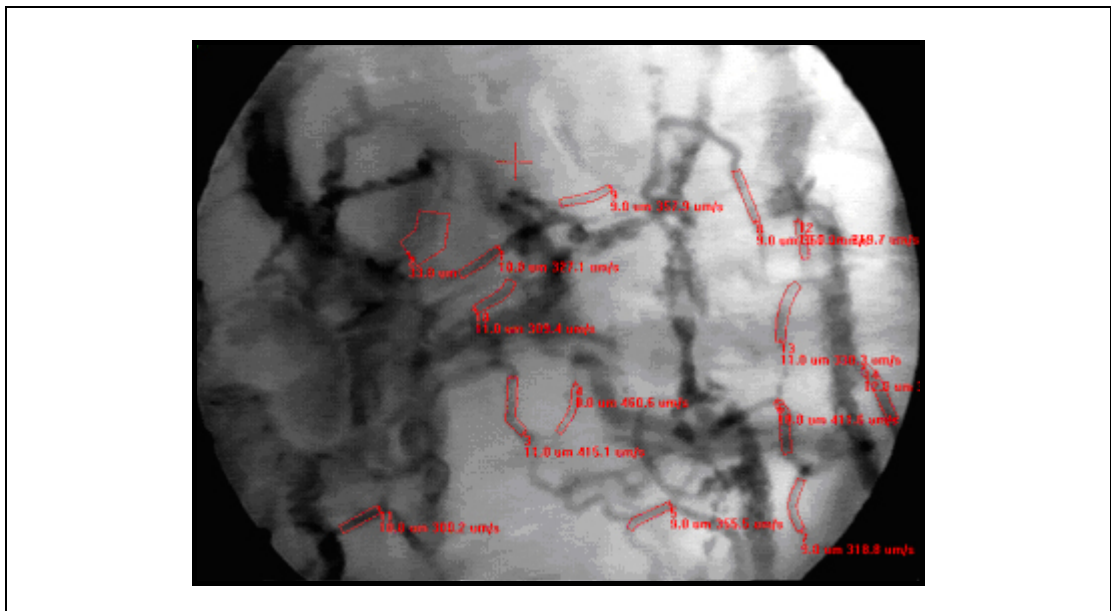


Abbildung 8: Messung von Gefäßdurchmesser und erythrozytärer Flussgeschwindigkeit: Teil des Auswertevorgangs mit CapiScope®¹³

¹³ Demonstrationsbeispiel aus den eigenen Aufnahmen.

4.4.2.2 Flussgeschwindigkeit

Die Einheit für die Flussgeschwindigkeit in den Gefäßen ist $\mu\text{m/s}$. Für die Messung der Flussgeschwindigkeit werden alle Pixel eines Gefäßes parallel auf die längs durch das Gefäß verlaufende Linie mit 1 Pixel Durchmesser projiziert. Der Grauwertverlauf entlang dieser Linie wird 50 mal in der Sekunde aufgezeichnet. Diese Grauwertverläufe werden dann gegeneinander verschoben und durch Berechnung der Korrelationskoeffizienten verglichen. Die Verschiebung, welche die höchste Korrelation ergibt, entspricht der Entfernung, die das Muster zwischen zwei aufgezeichneten Grauwertverläufen zurückgelegt hat. Mit der bekannten Zeitdauer zwischen diesen beiden Aufzeichnungen kann nun die Geschwindigkeit berechnet werden.

4.4.2.3 Flussvolumen

Das Flussvolumen wird automatisch aus dem ermittelten Gefäßdurchmesser und der entsprechenden Flussgeschwindigkeit berechnet und wird in $\mu\text{m}^3/\text{s}$ angegeben.

4.4.2.4 Funktionelle Gefäßdichte

Der Ausdruck „funktionelle Gefäßdichte“ wird in dieser Studie anstelle des etablierten Ausdrucks „funktionelle Kapillardichte“ verwendet, da bei Neugeborenen aufgrund der geringen Gefäßgröße Arteriolen, Kapillaren und postkapilläre Venolen nicht klar voneinander abgegrenzt werden können. Aus diesem Grund wurden hier alle sichtbaren Gefäße zur Messung herangezogen und zur Beschreibung dessen der Begriff „funktionelle Gefäßdichte“ bevorzugt. Sichtbar bedeutet in diesem Fall perfundiert, da mit OPS imaging nicht die Gefäßwände, sondern die Erythrozytensäule innerhalb der Gefäße visualisiert wird.

Die funktionelle Gefäßdichte ist definiert als die Gesamtlänge aller perfundierten Gefäße pro Beobachtungseinheit und trägt entsprechend die Einheit cm/cm^2 . Der Begriff „Dichte“ ist hier zwar physikalisch betrachtet nicht korrekt, hat sich jedoch in diesem Zusammenhang etabliert, so dass die gebräuchliche Verwendung hier übernommen wird. Der Zusatz „funktionell“ verdeutlicht, dass es sich bei den beobachteten Gefäßen nur um die an der Gewebeversorgung beteiligten Gefäße handelt. Die Gefäße, in denen kein Blutfluss nachweisbar ist tragen nicht zur Gewebepерfusion bei und sind mittels OPS imaging auch nicht darstellbar. Wie die Abbildung 9 veranschaulicht, werden zur Ermittlung der funktionellen

Gefäßdichte alle Gefäße des Bildausschnittes, in denen ein Durchfluss von Erythrozyten erkennbar ist, mithilfe der Maus markiert. Das Programm berechnet dann automatisch deren Gesamtlänge bezogen auf die Beobachtungseinheit.

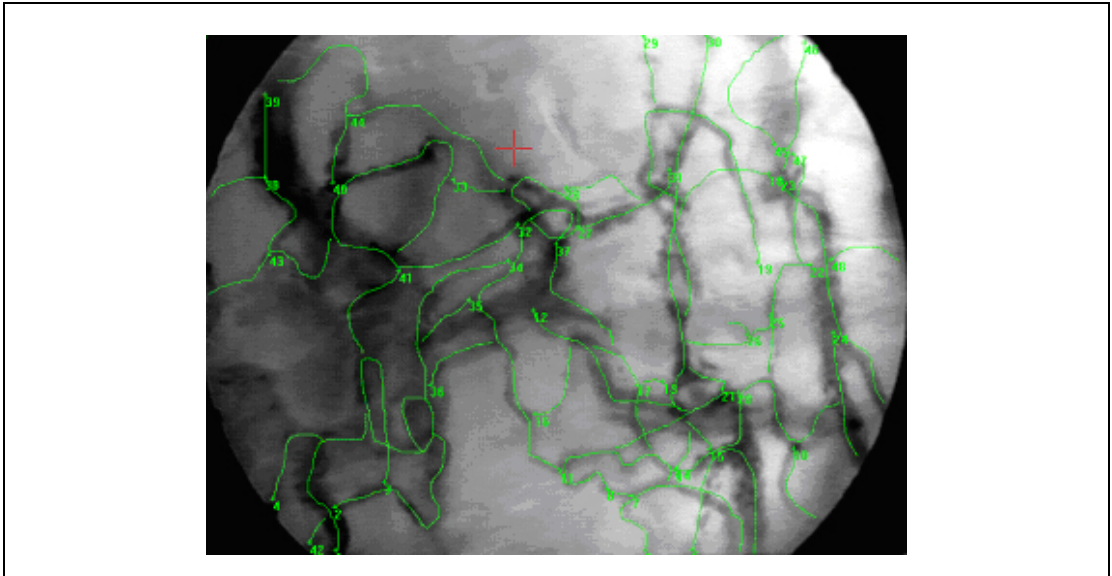


Abbildung 9: Messung der funktionellen Gefäßdichte: Teil des Auswertevorgangs mit CapiScope®¹⁴

¹⁴ Demonstrationsbeispiel aus den eigenen Aufnahmen.

5 Ergebnisse

5.1 Statistische Datenverarbeitung

Die Parameter der Mikrozirkulation sowie die klinischen Daten wurden in Bezug auf die Transfusion zu drei verschiedenen Messzeitpunkten erhoben. Möchte man untersuchen, ob sich die jeweils gemessenen Werte in Abhängigkeit des Transfusionsereignisses verändern, bedarf es einer statistischen Datenauswertung. Diese erfolgte mit dem Programm GraphPad Prism 3.0 für Windows 95 (GraphPad Software Inc, San Diego CA).

Um Unterschiede zwischen den Datenreihen der drei verschiedenen Messzeitpunkte festzustellen, sollen deren Mittelwerte durch einen geeigneten statistischen Test verglichen werden.

Da es sich bei den Datenreihen um wiederholte Messungen der verschiedenen Parameter bei den gleichen Patienten zu unterschiedlichen Zeitpunkten handelt, werden hier nicht unabhängige, sondern verbundene Stichproben untersucht (Harvey Motulsky, 1995). Nachdem mehr als zwei verschiedene Zeitpunkte betrachtet werden, eignet sich die Varianzanalyse für wiederholte Messungen (Repeated-Measures ANOVA).

Die „Repeated-Measures ANOVA“-Analyse testet die Nullhypothese (N_0), nach der die Mittelwerte aller Datenreihen gleich sind. Ist die getestete Wahrscheinlichkeit, dass alle Mittelwerte gleich groß sind, kleiner als das Signifikanzniveau $\alpha=5\%$ ($p<0,05$), so kann die Nullhypothese mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von 5% abgelehnt werden. Eine Ablehnung bedeutet dann, dass mindestens ein Mittelwert einer Datenreihe von den Mittelwerten der anderen Datenreihen abweicht.

Damit dieser Test aussagekräftige Ergebnisse liefert, muss vor seiner Anwendung geprüft werden, ob die Voraussetzungen der Varianzhomogenität zwischen den Datenreihen (Bartlett's Test für gleiche Varianzen)¹⁵ und deren Normalverteilungsannahme (Kolmogorov Smirnov)¹⁶ erfüllt sind. Wird in beiden Tests ein

¹⁵ N_0 : Varianzen sind gleich.

¹⁶ N_0 : Datenreihen sind normalverteilt.

p-Wert größer als 0,05 ermittelt, können die Nullhypothesen bestätigt werden. Die Voraussetzungen für die „Repeated-Measures ANOVA“ sind damit erfüllt.

Bestätigt die Varianzanalyse, dass ein Einfluss der Transfusion auf den untersuchten Parameter wahrscheinlich ist, kann im Anschluss mit dem „Post Test For Linear Trend“ geprüft werden, ob der Parameter im zeitlichen Verlauf linear ansteigt, also von Messzeitpunkt zu Messzeitpunkt jeweils einen höheren Wert annimmt.¹⁷ Liegt der ermittelte p-Wert unter dem Signifikanzniveau von 5%, kann angenommen werden, dass der untersuchte Parameter im zeitlichen Verlauf linear ansteigt.

Für gewisse Parameter, wie den Hämatokrit und die Gewichtszunahme, die nur einen Vergleich zwischen zwei verschiedenen Zeitpunkten zulassen, wurde der „Paired-t-Test“ durchgeführt. Dieser Test bietet die Möglichkeit zu beurteilen, ob die Änderung der Mittelwerte von einem Messzeitpunkt zum anderen statistisch signifikant ist. Die Voraussetzung der Normalverteilung wurde vor Anwendung des Tests jeweils überprüft.

Korrelationsberechnungen wurden mit Hilfe des „Spearman rank two-way“-Tests durchgeführt.

Die Ergebnisse der beschriebenen Tests, die sowohl zur statistischen Verarbeitung der Mikrozirkulationsdaten als auch der klinischen Daten angewendet wurden, werden im Folgenden dargelegt.

5.2 Parameter der Mikrozirkulation

In der Tabelle 2 sind sämtliche Parameter der Mikrozirkulation und deren Änderung im Verlauf der Transfusion aufgeführt.

	4h vor Transfusion (a)	2h nach Transfusion (b)	24h nach Transfusion (c)
Durchmesser [μm]	10,8 [9,7-11,2]	10 [9,4-10,7]	10,4 [9,2-11,3]
Flussgeschwindigkeit [$\mu\text{m/s}$]	349 [336-402]	344 [316-378]	371 [325-392]
Flussvolumen [$\mu\text{m}^3/\text{s}$]	29390 [26620-37620]	27870 [24230-31370]	31750 [24510-36340]
Funktionelle Gefäßdichte [cm/cm^2]	142 [134-155]	185 [166-196] ¹	206 [185-219] ²

¹ $p < 0,0001$ (a) vs (b)

² $p < 0,0001$ (b) vs (c)

Tabelle 2: Parameter der Mikrozirkulation als Mediane [95% Konfidenzintervall] vor Transfusion (a), 2 h nach Transfusion (b) und 24 h nach Transfusion (c)

¹⁷ N_0 : Werte steigen im zeitlichen Verlauf nicht an.

Da diese Studie primär das Ziel verfolgt, den Einfluss der Transfusion auf die Gewebepfusion zu untersuchen, ist die Beurteilung der funktionellen Gefäßdichte als einem geeigneten, für die Gewebepfusion repräsentativen Parameter von besonderem Interesse: Die funktionelle Gefäßdichte stieg zwei Stunden nach der Transfusion von 142 cm/cm² [134-155 cm/cm²] auf 185 cm/cm² [166-196 cm/cm²] an und zeigte 24 Stunden nach der Transfusion einen weiteren Anstieg auf 206 cm/cm² [185-219 cm/cm²].

Die „Repeated-Measures ANOVA“-Analyse sowie der „Post Test For Linear Trend“ ergaben für beide Anstiege einen p-Wert < 0,0001. Dieses Ergebnis bestätigt einen linearen Anstieg der funktionellen Gefäßdichte im zeitlichen Verlauf der Transfusion.

Die Durchführung des „Paired-t-Tests“ verdeutlicht, dass der Anstieg der funktionellen Gefäßdichte zwei Stunden nach der Transfusion ($p < 0,0001$)¹⁸ wie auch der weitere Anstieg 24 Stunden nach der Transfusion ($p < 0,0001$)¹⁹ statistisch signifikant sind.

In der Abbildung 10 wird der Anstieg der funktionellen Gefäßdichte im Verlauf der Transfusion graphisch veranschaulicht:

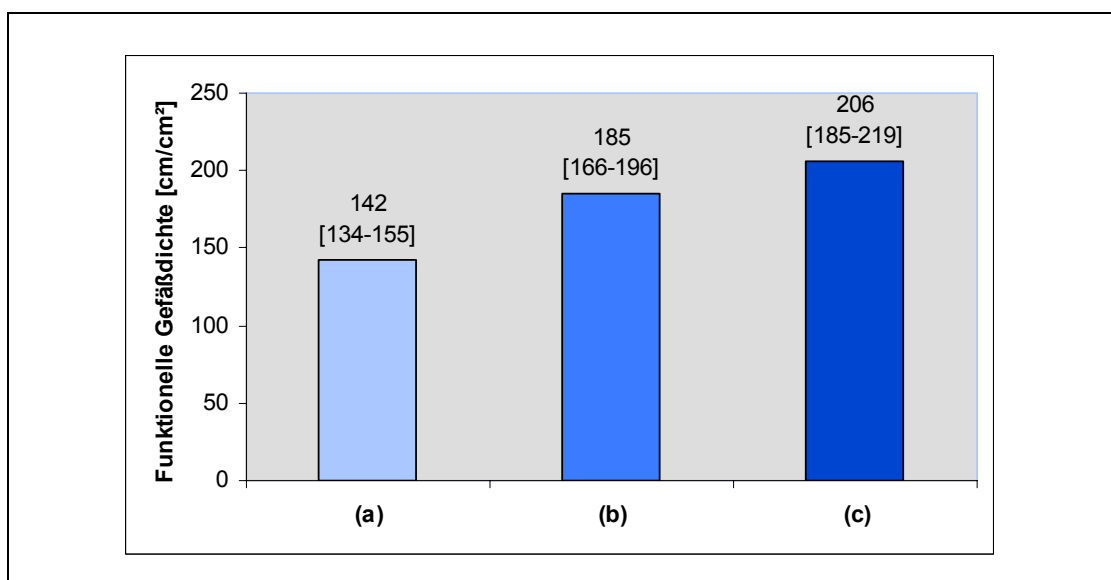


Abbildung 10: Änderung der funktionellen Gefäßdichte angegeben als Median in cm/cm² [95% Konfidenzintervall] vor Transfusion (a), 2 h nach Transfusion (b) und 24 h nach Transfusion (c)

¹⁸ p-Wert (vor Tx vs 2 h nach Tx) < Signifikanzniveau α ($\alpha=5\%$).

¹⁹ p-Wert (2 h nach Tx vs 24 h nach Tx) < Signifikanzniveau α ($\alpha=5\%$).

Die Abbildung 11 zeigt vergleichend zwei Sequenzausschnitte von demselben Frühgeborenen. Beim vergleichenden Betrachten der beiden Sequenzausschnitte ist erkennbar, dass die Gesamtlänge der grün markierten Gefäße zwei Stunden nach Transfusion deutlich höher ist als vor Transfusion. Dies entspricht dem statistisch ermittelten Anstieg der funktionellen Gefäßdichte.

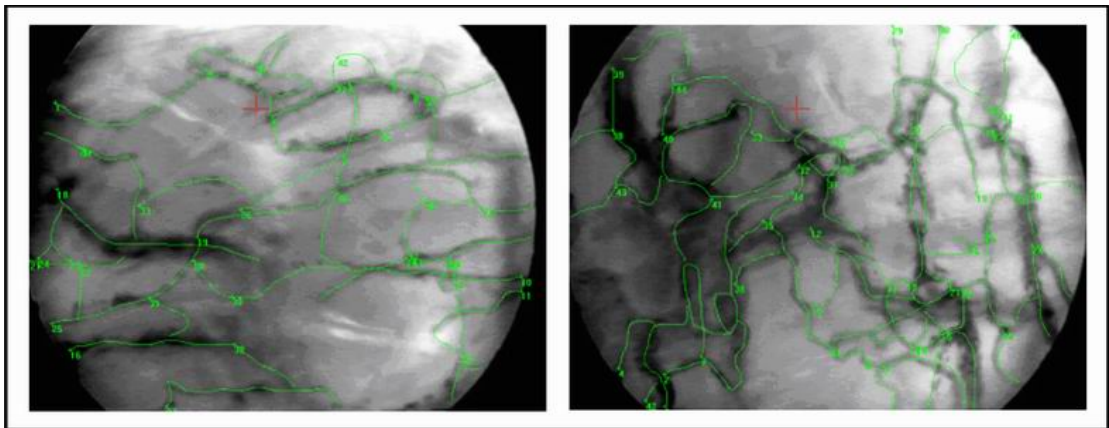


Abbildung 11: Vergleich der funktionellen Gefäßdichte vor Transfusion (links) und 2 h nach Transfusion (rechts) anhand der Aufnahmen eines 16 Tage alten Frühgeborenen (Gestationsalter 25 Wochen, Geburtsgewicht 686 g, aktuelles Gewicht 850 g)²⁰

Hinsichtlich Gefäßdurchmesser (vor Tx: 10,8 μm [9,7-11,2 μm], 2 h nach Tx: 10 μm [9,4-10,7 μm], 24 h nach Tx: 10,4 μm [9,2-11,3 μm]), Flussgeschwindigkeit (vor Tx: 349 $\mu\text{m/s}$ [336-402 $\mu\text{m/s}$], 2 h nach Tx: 344 $\mu\text{m/s}$ [316-378 $\mu\text{m/s}$], 24 h nach Tx: 371 $\mu\text{m/s}$ [325-392 $\mu\text{m/s}$]) sowie Flussvolumen (vor Tx: 29390 $\mu\text{m}^3/\text{s}$ [26620-37620 $\mu\text{m}^3/\text{s}$], 2 h nach Tx: 27870 $\mu\text{m}^3/\text{s}$ [24230-31370 $\mu\text{m}^3/\text{s}$], 24 h nach Tx: 31750 $\mu\text{m}^3/\text{s}$ [24510-36340 $\mu\text{m}^3/\text{s}$]) ergaben die „Repeated-Measures ANOVA“-Analysen keine signifikante Änderung durch die Transfusion (p-Werte > α)²¹.

Weder für die Hämoglobinkonzentration noch für die Herzfrequenz war eine Korrelation mit Parametern der Mikrozirkulation feststellbar. Die mit Hilfe des „Spearman rank two-way“-Tests ermittelten Korrelationskoeffizienten liegen alle nahe bei Null.

²⁰ Demonstrationsbeispiel aus den eigenen Aufnahmen.

²¹ Signifikanzniveau $\alpha=5\%$.

5.3 Klinische Parameter

Die Tabelle 3 enthält sämtliche Daten der klinischen Parameter angegeben als Mediane und 95% Konfidenzintervalle:

	4h vor Transfusion (a)	2h nach Transfusion (b)	24h nach Transfusion (c)
Transfusionsvolumen (ml)	10 [9-14]		
Lebenstag	31 [22-42]		
Gestationsalter (Wochen)	26 [25-26]		
Geburtsgewicht (g)	730 [652-789]		
aktuelles Gewicht (g)	1075 [897-1338]		
RR systolisch (mmHg)	54 [55-68]	59 [55-66]	56 [48-65]
RR diastolisch (mmHg)	32 [29-41]	33 [30-43]	32 [27-35]
MAD (mmHg)	42 [38-52]	42 [39-51]	39 [35-45]
Herzfrequenz (1/min)	165 [157-174]	164 [160-179]	165 [155-175]
Inspirationsdruck (cmHg) 1	17 [14-18]	18 [13-18]	18 [12-20]
Expirationsdruck (cmHg) 1	4 [3-4]	4 [3-4]	4 [3-5]
FiO ₂ (%)	0,36 [0,30-0,45]	0,39 [0,31-0,47]	0,36 [0,27-0,52]
Temp Inkubator (°C)	31,8 [31,3-34,0]	31,5 [30,8-33,4]	31,8 [30,7-33,4]
Temp Kind (°C)	37 [37,0-37,3]	37,2 [37,0-37,4]	37 [36,6-37,2]
Hb (g/dl)	8,3 [7,9-10,4]	10,7 [9,9-12,9] ²	11,8 [10,8-12,9]
Hkt (%)	27 [26-29]		38 [35-40] ³
pH	7,3 [7,3-7,39]	7,35 [7,31-7,37]	7,36 [7,33-7,39]

¹ n=11 (beatmete Kinder)

² p=0,0064 (a) vs (b)

³ p=0,0085 (a) vs (c)

Tabelle 3: Werte der klinischen Parameter vor und nach Transfusion als Mediane [95% Konfidenzintervall]

Aus der Tabelle 3 ist ersichtlich, dass die Transfusion von Erythrozytenkonzentrat bei den anämischen Frühgeborenen einen Anstieg der Hämoglobinkonzentration bewirkt. Die Hämoglobinwerte stiegen von 8,3 g/dl [7,9-10,4 g/dl] vor der Transfusion auf 10,7 g/dl [9,9-12,9 g/dl] zwei Stunden nach der Transfusion und auf 11,8 g/dl [10,8-12,9 g/dl] 24 Stunden nach der Transfusion.

Da die „Repeated-Measures ANOVA“- Analyse für die Änderung der Hämoglobinkonzentration einen p-Wert von 0,0094 ergibt und damit unter dem Signifikanzniveau α^{22} liegt ist der Hb-Anstieg als signifikant zu bewerten. Mit Hilfe des „Post

²² Signifikanzniveau $\alpha=5\%$.

Test For Linear Trend“ wurde ein unter dem Signifikanzniveau²³ liegender p-Wert von 0,004 ermittelt. Daraus ist abzuleiten, dass die Hämoglobinkonzentration im zeitlichen Verlauf linear ansteigt.

Um die Veränderung der Hämoglobinkonzentration von einem Messzeitpunkt zum anderen zu ermitteln wurde der „Paired-t-Test“ angewendet. Als Ergebnis zeigte sich ein statistisch signifikanter Anstieg der Hämoglobinkonzentration zwei Stunden nach der Transfusion ($p=0,0064$)²⁴. Der weitere Anstieg 24 Stunden nach der Transfusion ist mit einem über dem Signifikanzniveau²⁵ liegendem p-Wert von 0,4722 als nicht signifikant einzustufen.

In der Abbildung 12 wird die Änderung der Hämoglobinkonzentration im Verlauf der Transfusion graphisch verdeutlicht:

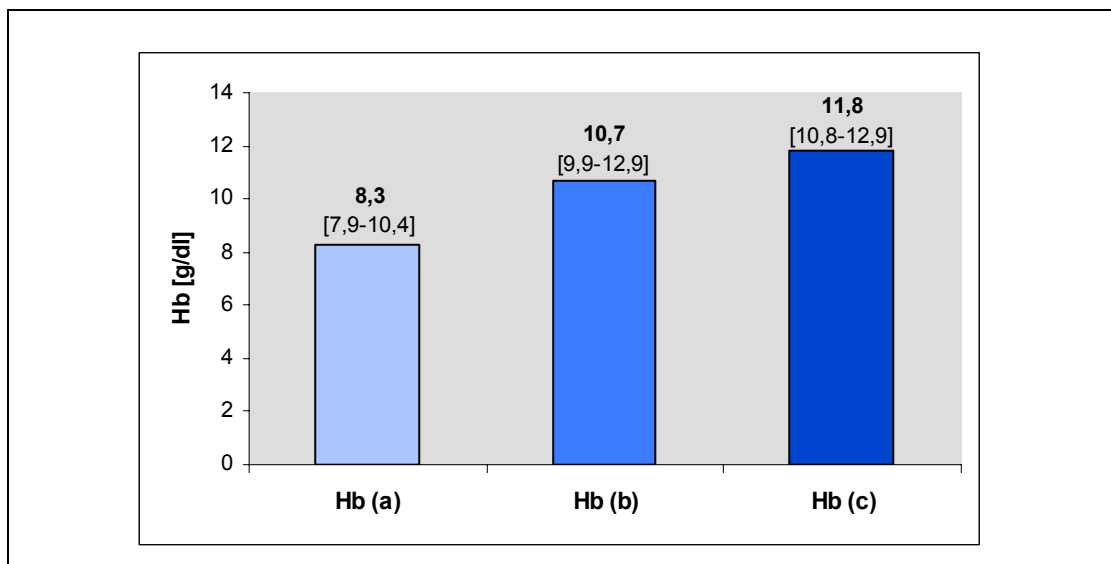


Abbildung 12: Änderung der Hb-Werte angegeben als Mediane in g/dl [95% Konfidenzintervall] vor Transfusion (a), 2 h nach Transfusion (b) und 24 h nach Transfusion (c)

Bezüglich des Hämatokrits ergab der durchgeführte „Paired-t-Test“ einen signifikanten Anstieg von 27 % [26-29 %] vor der Transfusion auf 38 % [35-40 %] 24 Stunden nach der Transfusion ($p\text{-Wert } 0,0085 < \alpha$)²⁶.

²³ Signifikanzniveau $\alpha=5\%$.

²⁴ p-Wert (vor Tx vs 2 h nach Tx) < Signifikanzniveau α ($\alpha=5\%$).

²⁵ p-Wert (2 h nach Tx vs 24 h nach Tx) > Signifikanzniveau α ($\alpha=5\%$).

²⁶ Signifikanzniveau $\alpha=5\%$.

Hinsichtlich der klinischen Parameter wie mittlerem arteriellen Blutdruck (vor Tx: 42 mmHg [38-52 mmHg], 2 h nach Tx: 42 mmHg [39-51 mmHg], 24 h nach Tx: 39 mmHg [35-45 mmHg]), Herzfrequenz (vor Tx: 165 1/min [157-174 1/min], 2 h nach Tx: 164 1/min [160-179 1/min], 24 h nach Tx: 165 1/min [155-175 1/min]) und Körpertemperatur (vor Tx: 37 °C [37,0-37,3°C], 2 h nach Tx: 37,2 °C [37,0-37,4 °C], 24 h nach Tx: 37 °C [36,6-37,2°C]) ergaben die „Repeated-Measures ANOVA“-Analysen keine transfusionsbedingte signifikante Änderung der Werte (p -Werte $> \alpha$)²⁷.

Der mittels der Blutgasanalyse ermittelte pH-Wert zeigte keine nennenswerte Veränderung im Rahmen der Transfusion (vor Tx: 7,30 [7,30-7,39], 2 h nach Tx: 7,35 [7,31-7,37], 24 h nach Tx: 7,36 [7,33-7,39]). Die „Repeated-Measures ANOVA“-Analyse ergab für die pH-Änderung einen p -Wert von 0,0766. Da dieser Wert über dem Signifikanzniveau von 5% liegt ist die Änderung der pH-Konzentration im Rahmen der Transfusion als nicht signifikant zu bewerten.

Auch auf die Gewichtszunahme der Kinder hatte die Transfusion keinen Effekt. Innerhalb der sieben Tage vor der Transfusion nahmen die Kinder im Durchschnitt 17 g/d zu, in den sieben Tagen danach 16 g/d. Der „Paired-t-Test“ liefert bezüglich des Parameters der Gewichtszunahme einen über dem Signifikanzniveau von 5% liegenden p -Wert von 0,9224.

²⁷ Signifikanzniveau $\alpha=5\%$.

6 Diskussion

6.1 Bedeutung verschiedener klinischer Parameter für die Indikationsstellung zur Transfusion bei anämischen Frühgeborenen

Die Frühgeborenenanämie ist eine alltägliche klinische Herausforderung auf einer neonatologischen Intensivstation. Dem postnatalen Hämoglobinabfall bei Frühgeborenen kann zum Teil eine ineffektive Erythropoese zugrunde liegen. Meistens handelt es sich jedoch um die Folge eines iatrogen herbeigeführten Blutverlustes. Viele Frühgeborene tolerieren einen niedrigeren Hämoglobinspiegel ohne Schwierigkeiten, manche entwickeln jedoch die Symptome einer echten Anämie. Der klinische Zustand dieser Kinder verlangt oft nach einer Intervention, nämlich der Transfusion von Erythrozytenkonzentrat. Da klar definierte und etablierte Indikationen zur Transfusion bei Neugeborenen fehlen, muss die Entscheidung zu dieser Therapie von routiniertem medizinischen Personal häufig auf Grundlage einer langjährigen klinischen Erfahrung abgewogen werden. Ein Mangel an kontrollierten Studien zu dieser Problematik und die Widersprüchlichkeit von Ergebnissen geben Anlass zu kontroversen Diskussionen über Nutzen und Risiken einer Transfusion bei reifen Neugeborenen sowie Frühgeborenen.

Das Ziel der vorliegenden Studie lag unter anderem darin, zu untersuchen, ob die Erythrozytentransfusion einen Effekt auf die klinische Situation der anämischen Frühgeborenen hat. Anhand der Beobachtungen über die Transfusionswirkung auf verschiedene klinische Parameter könnten Aussagen über deren Stellenwert als Transfusionsindikatoren gemacht werden.

6.1.1 Hämoglobinkonzentration

In der Praxis ist zur Indikationsstellung einer Transfusion die Orientierung an der Hämoglobinkonzentration des Kindes üblich. Allerdings konnte beobachtet werden, dass ein Absinken des Hämoglobinwertes in ganz unterschiedlichem Maße toleriert wird. Manche Frühgeborenen zeigen bei einem niedrigen Hämoglobinspiegel klinische Auffälligkeiten, während andere bei gleichen Werten symptom-

los bleiben. Nach Meinung einiger Autoren ist der Hämoglobinwert nur ein schwacher Indikator für die Oxygenierung des Gewebes (Alverson et al., 1988; Holland et al., 1987; Wardrop et al., 1978). Wardle et al. vertreten sogar die Ansicht, dass die aktuelle Hämoglobinkonzentration nur bedingt aussagekräftig sei, da sie die periphere Oxygenierung nicht exakt widerspiegelt (Wardle and Weindling, 2001). Was ihrer Meinung nach zählt, ist die Fähigkeit des Blutes, den Bedürfnissen des Gewebes mit einer ausreichenden Sauerstoffzufuhr adäquat beizukommen. Die Beobachtung, dass Frühgeborene auf gleiche Hämoglobinspiegel so unterschiedliche klinische Reaktionen zeigen, führen sie darauf zurück, dass die Hämoglobinkonzentration und die Sauerstoffversorgung des Gewebes nur in einem geringen Zusammenhang stehen (Wardle and Weindling, 2001). Folgende Argumente lassen sich für diese Theorie anführen: Erstens spiegelt der Hb-Wert nicht das Erythrozytenvolumen wieder, welches vielleicht ein besseres Maß für die Sauerstoff-Transportkapazität wäre (Faxelius et al., 1977). Zweitens hängen die Sauerstoffsättigung des Blutes und die Sauerstoffabgabe an das Gewebe gemäß der O₂-Bindungskurve nicht nur von der Hämoglobinkonzentration, sondern auch von der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins ab. Diese steht unter dem Einfluss von Temperatur, CO₂-Partialdruck, pH und des im Erythrozyten gespeicherten 2,3-Diphosphoglycerates und ist daher variabel. Drittens sind die Möglichkeiten, eine Anämie bis zu einem gewissen Grad durch eine erhöhte Auswurfleistung des Herzens oder eine gesteigerte Ventilation zu kompensieren, von der individuellen kardiopulmonalen Reserve des Einzelnen abhängig (Alverson, 1995). Viertens geht der physiologische Hämoglobinabfall während der ersten Lebenswochen bei Reif- sowie bei Frühgeborenen normalerweise ohne Symptome einer Anämie oder anderen klinischen Konsequenzen einher (O'Brien and Pearson, 1971; Stockman, III et al., 1977).

Alternativ zum Hämoglobinwert könnte theoretisch die periphere Sauerstoffausschöpfung ein besseres Maß für die Notwendigkeit einer Transfusion sein, da sie widerspiegelt, inwiefern die Sauerstoffzufuhr an die Bedürfnisse des Gewebes angepasst ist (Alverson et al., 1988; Alverson, 1995; Wardle et al., 1998). Eine Pilotstudie bei anämischen Frühgeborenen sollte die Hypothese testen, dass Messungen der peripheren Sauerstoffausschöpfung (FOE) dazu dienen können, die Notwendigkeit einer Bluttransfusion anzuzeigen. Nachdem jedoch in dieser Studie die Indikation zur Transfusion nicht durch den peripher gemessenen FOE-Wert beeinflusst wurde, erschien dieses Konzept als in der Klinik nicht anwendbar (Wardle et al., 2002).

6.1.2 Gewichtszunahme

Stockman et al. behaupten, dass eine mangelnde Gewichtszunahme ein Beweis für das Vorliegen einer echten Anämie bei Frühgeborenen sein könnte (Stockman, III and Clark, 1984). Da sie in ihrer Studie als Auswirkung der Transfusion proportional zum Hämoglobinanstieg auch eine verbesserte Gewichtszunahme feststellen konnten, erachten sie den klinischen Parameter der mangelnden Gewichtszunahme als Transfusionsindikator für gerechtfertigt. Diese Beobachtungen konnten von Ross et al. bestätigt werden (Ross et al., 1989). In einer anderen Studie konnte dagegen selbst bei solchen Kindern, die aufgrund ihres schlechten Wachstumsverhaltens transfundiert wurden, keine eindeutige Steigerung der Wachstumsrate nach Transfusion festgestellt werden (Böhler et al., 1994). Meyer et al. zeigten, dass Frühgeborene, die transfundiert wurden, um den Hämatokrit über 35% zu halten, im Vergleich zu nicht transfundierten Kindern von einer verbesserten Gewichtszunahme profitierten (Meyer et al., 1993). Die Energiezufuhr der Kinder geht aus dieser Studie nicht hervor, es wurde lediglich angegeben, dass die Kinder eine verhältnismäßig geringe Proteinzufuhr erhielten. Ein erhöhtes Proteinangebot als Folge der Erythrozytentransfusion könnte in diesem Fall für den beobachteten Effekt auf die Wachstumsrate verantwortlich sein.

In der vorliegenden Studie blieb die durchschnittliche Gewichtszunahme über einen Beobachtungszeitraum von jeweils sieben Tagen vor und nach der Transfusion nahezu konstant. Diese Tatsache muss vor dem Hintergrund betrachtet werden, dass bei zwei der Kinder, die doppelt transfundiert wurden, diese zusätzliche Transfusion in den siebentägigen Beobachtungszeitraum der Gewichtszunahme fiel und damit auch in die Berechnung mit eingeht. Aber trotz der zum Teil mehrfach durchgeführten Transfusionen im selben Beobachtungszeitraum ergab sich für die Kinder kein Benefit bezüglich ihres Körpergewichtes.

6.1.3 Kreislauf- und Atemfunktion

Die Anämie kann das Gewebe über einen verminderten Sauerstofftransport für eine Hypoxie prädisponieren. Im Rahmen dieser Hypoxie kann es zur Depression von Atem- und Kreislaufzentren im Gehirn kommen, so dass es in der Folge zum Auftreten von kardiorespiratorischen Abnormitäten kommt (Perlman and Volpe, 1985). Was klinische Studien zu dieser Thematik betrifft, wurden hinsichtlich der

Kreislauf- und Atemfunktion von verschiedenen Autoren unterschiedliche, zum Teil widersprüchliche Beobachtungen, über die Auswirkungen einer Erythrozytentransfusion gemacht. Keyes et al. untersuchten die Auswirkungen einer Bluttransfusion auf Herzfrequenz, Atemfrequenz, sowie Häufigkeit von kardiorespiratorischen Ereignissen wie Apnoephasen und Episoden von Bradykardien bei 11 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g. Es konnte kein Einfluss auf die genannten Parameter festgestellt werden (Keyes et al., 1989). Die Studie von Stute und Mitarbeitern, die an 25 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von ebenfalls weniger als 1500 g vorgenommen wurde, zeigte auch keine signifikante Änderung der kardiorespiratorischen Parameter während des Beobachtungszeitraumes von drei Tagen vor bis drei Tage nach der Transfusion. Hier wurde allerdings durch die Transfusion eine Abnahme in der Häufigkeit von kardiorespiratorischen Unregelmäßigkeiten festgestellt: Apnoephasen länger als 15 Sekunden, Tachykardien mit einer Frequenz über 200/min, sowie Bradykardien mit einer Frequenz unter 100/min traten nach dem Transfusionsereignis signifikant seltener auf (Stute et al., 1995). Auch in der Untersuchung von Böhler et al. zeigte die Erythrozytentransfusion keinen signifikanten Effekt auf die Herzfrequenz. Das gleiche gilt auch für Sauerstoffverbrauch, respiratorischen Quotienten und Energieverbrauch (Böhler et al., 1994).

In der, in dieser Arbeit präsentierten Studie blieben sowohl die Herzfrequenz als auch der Blutdruck durch die Transfusion unbeeinflusst. Die Durchschnittswerte waren vor und nach der Therapie nahezu konstant.

Ross et al. beobachteten dagegen bei ihren Frühgeborenen als Reaktion auf die Transfusion einen Abfall der Herzfrequenz um 5% (Ross et al., 1989). Auch Joshi und Mitarbeiter beobachteten bei ihren Untersuchungen an 30 Frühgeborenen bei unveränderter Atemfrequenz eine statistisch signifikante Abnahme der Herzfrequenz nach Transfusion (Joshi et al., 1987). In der Studie von Westkamp et al. zeigten die Kinder nach Transfusion eine signifikante Abnahme der Atemfrequenz von 5% und der Herzfrequenz von 7% (Westkamp et al., 2002). Dass dieses Ergebnis im Widerspruch zu einer ihrer früheren Studien (Poets et al., 1997) steht, bei der die Herzfrequenz durch das Transfusionsereignis nahezu unbeeinflusst blieb, führen sie darauf zurück, dass die Frühgeborenen in der aktuellen Studie in einem schwereren Maße anämisch waren. Auf das Auftreten von Apnoeeepisoden mit Sauerstoffsättigungsabfällen, aufgrund derer die Indikation zur Transfusion gestellt wurde, konnte in keiner der beiden Studien ein eindeutiger Effekt beobachtet werden.

Bifano et al. verglichen die Auswirkungen einer Transfusion von Erythrozytenkonzentrat mit einer Infusion von Albumin. Sie beobachteten innerhalb der ersten vier Stunden ähnliche Effekte auf die kardiorespiratorische Situation. Dementsprechend äußerten sie die Vermutung, dass die Verbesserung der Kreislaufbeziehungsweise Atmungsfunktion eher dem Volumeneffekt zuzuschreiben sei als dem Hämoglobinanstieg (Bifano et al., 1992). Dagegen untersuchten Stute et al. die Transfusionswirkung über einen Zeitraum von drei Tagen. Sie stellten eine Verbesserung der kardiorespiratorischen Situation über mehrere Tage fest und sind daher der Ansicht, dass ihre Beobachtungen nicht auf einer Volumenexpansion beruhen, sondern auf einer verbesserten Sauerstoffversorgung des Gewebes (Stute et al., 1995).

Die Effektivität einer Substitution von $\alpha\alpha\text{Hb}$ auf die Sauerstoffversorgung des Gewebes war Gegenstand einer Studie von Tsai und Mitarbeitern. Sie untersuchten am Hamster-Hautfalten-Modell die Auswirkungen einer isovolämischen Substitution mit $\alpha\alpha\text{Hb}$ im Vergleich zu einer isoonkotischen und isovolämischen Hämodilution mit Dextran 70 im Hinblick auf die Gewebepfusion und die Sauerstoffzufuhr an das Gewebe. Zu diesem Zwecke ermittelten sie die funktionelle Kapillardichte. Die Ergebnisse ihrer Studie legen nahe, dass der Anstieg des Sauerstoffgehaltes des Blutes durch die $\alpha\alpha\text{Hb}$ -Substitution eine ähnliche Sauerstoffzufuhr an das Gewebe bewirkt wie die isovolämische Hämodilution mit Dextran 70 (Tsai et al., 1994).

6.1.4 Hämodynamische Parameter

Die hämodynamischen Auswirkungen einer Bluttransfusion bei Frühgeborenen wurden anhand von Messungen der kardialen Auswurfleistung und des Blutdrucks untersucht. Die Ergebnisse dieser Studien sind allerdings widersprüchlich: Hudson und Mitarbeiter stellten in ihrer Studie an 24 Frühgeborenen fest, dass durch eine Transfusion von 30 ml Erythrozytenkonzentrat pro kg Körpergewicht die Auswurfleistung des Herzens signifikant gesenkt wurde (Hudson et al., 1990). Die Studie von Alverson et al., in der zehn sauerstoffabhängige Frühgeborene mit bronchopulmonaler Dysplasie mit einer Erythrozytentransfusion behandelt wurden, konnte eine statistisch signifikante Änderung der Auswurfleistung des Herzens nicht bestätigen (Alverson et al., 1988). Das Transfusionsvolumen fiel allerdings mit 10 ml pro kg Körpergewicht deutlich geringer aus. Zu-

dem wurden die Messungen in Alversons Studie mit „Pulsed Wave Doppler“ durchgeführt, während Hudson et al. die Methode des „Continuous Wave Doppler“-Verfahrens favorisierten, da sie die Berechnung der kardialen Auswurfleistung mit dieser Methode für reproduzierbarer halten (Hudson et al., 1990).

Beobachtungen über den Einfluss einer Transfusion auf den Blutdruck sind ebenfalls wenig übereinstimmend: Joshi et al. untersuchten den Effekt einer Bluttransfusion auf respiratorische und kardiale Parameter bei 30 Frühgeborenen und konnten weder hinsichtlich der Atemfrequenz noch des Blutdruckes Veränderungen beobachten (Joshi et al., 1987). Im Gegensatz dazu zeigte die Transfusion bei den 32 Frühgeborenen in der Studie von Robinson und Mitarbeitern eine Auswirkung auf den Blutdruck: Der arterielle oder zentralvenöse Druck zeigte durch die Transfusion einen signifikanten Anstieg, wenn der mittlere arterielle Druck vor der Transfusion unter 35 mmHg lag (Robinson et al., 1977).

Bauer et al. untersuchten in einer Studie bei Neugeborenen in der ersten Lebenswoche die periphere Ruhedurchblutung des Beines mit Hilfe der Venenverschluss-Plethysmographie mittels Dehnungsmessstreifen (Bauer et al., 1993). Sie gehen davon aus, dass dieser Parameter ein empfindlicher Indikator für Veränderungen des Blutvolumens ist und infolge dessen dem Einfluss der Transfusion unterliegt. Des Weiteren in die Untersuchung eingeschlossen waren die Auswirkungen der Erythrozytentransfusion auf Blutvolumen, Blutdruck und Blutviskosität. Die Kinder in dieser Studie waren mit einem Hämatokrit von 38% vor Transfusion deutlich weniger anämisch als die Kinder in der hier vorliegenden Studie mit einem Hämatokrit von 27%. Bauer et al. konnten einen Anstieg der peripheren Ruhedurchblutung um 25% feststellen. Der systolische Blutdruck stieg dagegen nur um 12% an. Der periphere Widerstand (Quotient aus Blutdruck und peripherer Ruhedurchblutung) wurde durch die Transfusion um 9% gesenkt. Das bedeutet, dass die gesteigerte Ruhedurchblutung sowohl auf den Blutdruckanstieg als auch auf die Reduktion des peripheren Widerstandes zurückzuführen ist. Die Blutviskosität zeigte einen Anstieg um 21%. Die vaskuläre Komponente des peripheren Widerstandes, im Englischen als „vascular hindrance“ bezeichnet (Quotient aus peripherem Widerstand und Blutviskosität), die allein durch die Geometrie der Gefäße bestimmt wird und ein Indikator für Vaskokonstriktion ist, erfuhr eine Reduktion um 24%.

Insgesamt sind diese Veränderungen hinweisgebend für eine Vasodilatation von Gefäßen der Extremität. Der periphere Widerstand steigt mit Zunahme der Blut-

viskosität sowie mit zunehmender Vasokonstriktion der Gefäße, was gleichbedeutend ist mit einer Zunahme der „vascular hindrance“. Die beobachtete Abnahme der „vascular hindrance“ um 24% deutet darauf hin, dass als Folge der Transfusion eine deutliche periphere Vasodilatation stattfindet. Diese kompensiert die transfusionsbedingt erhöhte Blutviskosität. Der Anstieg der peripheren Ruhedurchblutung sowie der Abfall der „vascular hindrance“ waren besonders ausgeprägt bei jenen Kindern, die vor Transfusion ein großes Blutvolumen aufwiesen. Daraus kann die Annahme abgeleitet werden, dass eine gesteigerte Blutviskosität eine Rekrutierung von Gefäßen im Sinne einer Vasodilatation vorher kollabierter, nicht durchbluteter Gefäße, nach sich zieht. Dies entspricht einer Zunahme der funktionellen Gefäßdichte und könnte gleichzeitig eine Erklärung für die Zunahme der peripheren Durchblutung sein. Die Erkenntnisse dieser Studie stehen also in Einklang mit den Beobachtungen der hier vorliegenden Studie. In beiden Fällen gibt es Hinweise auf eine Verbesserung der Gewebeperfusion als Folge der Transfusion von Erythrozytenkonzentrat.

Zusammengefasst kann festgehalten werden, dass die Transfusion von Erythrozytenkonzentrat keine eindeutigen Effekte auf den klinischen Zustand anämischer Frühgeborener zeigt. Weder anhand der eigenen Beobachtungen, noch anhand der Ergebnisse aktueller Studien lassen sich unumstrittene Tendenzen eruieren, die einen oder mehrere klinische Parameter als eindeutige Transfusionsindikatoren rechtfertigen würden.

6.2 Die Hautperfusion und ihre Änderung durch die Transfusion bei anämischen Frühgeborenen

Im Mittelpunkt des Interesses dieser Studie lag die Untersuchung der Hautperfusion sowie deren Veränderung im Rahmen der Erythrozytentransfusion bei anämischen Frühgeborenen. Anhand der Ergebnisse soll beurteilt werden, ob ein Zusammenhang zwischen der Hautperfusion und der allgemeinen Gewebeperfusion erkennbar ist.

6.2.1 Die Haut als Schockorgan

Um eine adäquate Versorgung der Organe und deren uneingeschränkte Funktion zu garantieren, muss eine effektive Durchblutung der Mikrogefäße gewährleistet sein. „Adäquat“ bedeutet dabei nicht eine permanente Aufrechterhaltung eines stabilen Versorgungszustandes, sondern die Garantie einer steten Anpassung an den wechselnden Bedarf des Gewebes.

Besonders Frühgeborene reagieren empfindlich auf Störungen der mikrovaskulären Perfusion, da ihre Möglichkeiten, eine inadäquate Blutversorgung mit einer Steigerung von Herzfrequenz oder myokardialer Kontraktilität zu kompensieren eingeschränkt sind. Unter normalen Bedingungen ist der Blutfluss in der Haut im Vergleich zum Sauerstoffbedarf des Gewebes hoch. In Stresssituationen dagegen sind es vor allem die arterio-venösen Shunts der Haut, die mit einer bedeutenden Vasokonstriktion reagieren. Dieser Kompensationsmechanismus besteht zwar bei jedem Menschen, ist jedoch bei Neugeborenen von besonderer Bedeutung. Hier funktioniert die Haut als Schockorgan und eine ungenügende Gewebepfusion führt reaktiv zu einer Vasokonstriktion mit Reduktion der Hautdurchblutung (Maayan et al., 1986).

6.2.2 Zusammenhang zwischen funktioneller Gefäßdichte und Qualität der Gewebepfusion

Die funktionelle Kapillardichte wurde als ein Parameter der Mikrozirkulation nach vielfachen Untersuchungen allgemein anerkannt und gilt im Moment als einer der besten quantitativen Indikatoren für die Gewebepfusion und zwar unter physiologischen sowie pathophysiologischen Bedingungen (Nolte et al., 1995).

In der vorliegenden Studie wurde der Begriff der funktionellen Kapillardichte für die Anwendung bei Frühgeborenen aufgrund der bei Frühgeborenen größenverhältnisbedingten schlechten Differenzierbarkeit von Kapillaren, Venolen und Arteriolen auf den Begriff der funktionellen Gefäßdichte übertragen. Es wurde zum ersten Mal gezeigt, dass die funktionelle Gefäßdichte ansteigt, wenn die Hämoglobinkonzentration um 2,4 g/dl, also um 29% angehoben wird. Dabei könnte der erste Anstieg zwei Stunden nach Transfusion eher dem Volumeneffekt als der Transfusion von Erythrozyten zugeschrieben werden, nicht jedoch der weitere Anstieg 24 Stunden nach der Transfusion.

Die Methode des OPS imaging stellt sicher, dass zur Ermittlung der funktionellen Gefäßdichte nur diejenigen Gefäße herangezogen werden, die tatsächlich durchblutet sind. Diese Tatsache lässt vermuten, dass die funktionelle Gefäßdichte nicht nur als direktes Maß für die Gewebepfusion, sondern auch als indirektes Maß für die Sauerstoffzufuhr an das Gewebe betrachtet werden kann. Harris und Mitarbeiter bestätigen diese Vermutung (Harris et al., 2000a).

Der Ausdruck „Perfusion“ ist in diesem Zusammenhang gleichzusetzen mit dem Nährstoffaustausch zwischen Blut und Gewebe. Dieser ist sowohl abhängig von der Anzahl und der Flussgeschwindigkeit der beteiligten Erythrozyten, als auch von der funktionellen Gefäßdichte. Die Qualität des Nährstoffaustausches im Gewebe ist zwar nicht messbar, anhand der funktionellen Gefäßdichte lässt sich diese jedoch repräsentativ beurteilen. Die Messungen mit OPS imaging zeigen einen signifikanten Anstieg der funktionellen Gefäßdichte in direktem Zusammenhang mit dem Transfusionsereignis. Das bedeutet, dass vorher nicht perfundierte Gefäße als Folge der Transfusion wieder durchblutet werden. Somit hat die Transfusion also einen positiven Effekt auf die Perfusion der Haut. Umgekehrt lässt diese Beobachtung den Rückschluss zu, dass im Zustand der Anämie Hautgefäße konstringiert werden, wodurch die Hautperfusion zugunsten der Durchblutung anderer Organe gedrosselt wird. Die Ergebnisse der hier präsentierten Studie liefern demzufolge eine Bestätigung für die Vermutung, dass die Haut bei Frühgeborenen die Funktion eines Schockorgans übernimmt.

6.2.3 Zusammenhang zwischen Hautperfusion und allgemeiner Gewebepfusion

Es stellt sich die Frage, ob von der Qualität der Hautperfusion Rückschlüsse auf die allgemeine Gewebepfusion gezogen werden können. De Backer et al. führten eine Studie zur Untersuchung von funktioneller Kapillardichte und Blutflussgeschwindigkeit bei gesunden Erwachsenen im Vergleich zu Patienten im septischen oder kardiogenen Schock durch. Die Messungen erfolgten sublingual. Im septischen Schock fanden sie eine eindeutig reduzierte Anzahl perfundierter Kapillaren neben einer erhöhten Anzahl an Kapillaren, in denen nur ein marginaler oder kein Blutfluss nachzuweisen war. Bei den Patienten im kardiogenen Schock wurde ebenso eine verminderte FCD festgestellt (De Backer et al., 2000). Das deutet darauf hin, dass die gestörte Mikrozirkulation im Rahmen des Schocks an

der sublingualen Mundschleimhaut in Erscheinung tritt. Auch Weil et al. zeigten, dass eine Korrelation zwischen der Durchblutung innerer Organe und der Blutversorgung der sublingualen Mundschleimhaut besteht (Weil et al., 1999).

Übertragen auf die vorliegende Studie bestärkt diese Tatsache in der Annahme, dass eine gestörte Mikrozirkulation in der Haut von Frühgeborenen als frühes Anzeichen einer beispielsweise durch mangelndes Blutvolumen bedingten Beeinträchtigung der allgemeinen Gewebepfusion gewertet werden kann.

Die in der Haut gemessene funktionelle Gefäßdicke könnte als Repräsentant für die Qualität der Gewebepfusion sogar ein Indikator für die Notwendigkeit einer Transfusion sein. Allerdings setzt eine solche Anwendung in der Klinik die Erueierung von absoluten Werten voraus, damit ein physiologischer und ein pathologischer Bereich der funktionellen Gefäßdicke voneinander abgegrenzt werden können.

6.2.4 Einflussfaktoren auf die Gewebepfusion

Sowohl die Organ- als auch die Gewebefunktion sind auf einen adäquaten Blutfluss angewiesen. Dieser erfordert die Aufrechterhaltung eines ausreichenden Druckgradienten durch das Herz. Die Gewebepfusion wird aber nicht allein vom Blutfluss bestimmt, sondern ebenso von der Geometrie der Blutgefäße sowie von rheologischen Eigenschaften des Blutes wie Hämatokrit, Blut- und Plasmaviskosität sowie Verformbarkeit und Aggregation der Erythrozyten.

Untersuchungen im Rahmen der Hämodilution haben gezeigt, dass mit steigendem Plasmavolumen der Hämatokrit und die Blutviskosität absinken. Durch die reduzierte Blutviskosität kann keine angemessene Druckübertragung auf die Kapillaren erfolgen, was zu einem Abfall der funktionellen Kapillardichte führt. Die reduzierte Gewebepfusion geht mit einem ungenügenden Abtransport von Stoffwechselprodukten aus dem Gewebe einher und gefährdet auf diese Weise die Organfunktion. Studien im Rahmen des hämorrhagischen Schocks zeigen, dass das Überleben in erster Linie von der Aufrechterhaltung der funktionellen Kapillardichte und in zweiter Linie von der Oxygenierung des Gewebes bestimmt wird (Tsai and Intaglietta, 2001). Die Aufrechterhaltung der FCD wird durch ein Absinken des Hämatokrits bei steigender Plasmaviskosität erreicht. Dadurch wird der systemische Druck besser auf die Kapillaren übertragen und über eine erhöhte Scherspannung an den Gefäßwänden werden Vasodilatoren freigesetzt.

Die höhere funktionelle Kapillardichte geht mit einer verbesserten Gewebepерfusion einher. In diesem Sinne sind Maßnahmen zur Anhebung der Plasnaviskosität förderlich für eine Reduktion von Bluttransfusionen.

Linderkamp und Mitarbeiter haben die Beteiligung von Erythrozyten und Blutplasma an der Blutviskosität bei Frühgeborenen im Vergleich zu reifen Neugeborenen und Erwachsenen untersucht (Linderkamp et al., 1984). Bei einem gleichen Hämatokrit ist die Blutviskosität bei Frühgeborenen wegen einer niedrigen Plasnaviskosität und einer geringen Erythrozytenaggregation geringer als bei reifen Neugeborenen oder bei Erwachsenen. Das beruht darauf, dass der Plasmaproteinspiegel mit dem Gestationsalter korreliert und bei Frühgeborenen entsprechend geringer ist. Bei einem Neugeborenen führt der Austausch seines Plasmas gegen Plasma eines Erwachsenen zu einem Anstieg seiner Blutviskosität auf Werte eines Erwachsenen. Der Austausch von Erythrozyten eines Neugeborenen gegen Erythrozyten eines Erwachsenen zeigt hingegen keine Auswirkung auf die Blutviskosität. Die Erythrozyten des Neugeborenen weisen folglich keine spezifischen, die Blutviskosität beeinflussende Eigenschaften auf.

Im Gegensatz zum Austausch von Erythrozyten eines Neugeborenen gegen die eines Erwachsenen hat die Transfusion anämischer Frühgeborener mit adultem Erythrozytenkonzentrat einen Anstieg der Blutviskosität um 33% sowie einen Anstieg des Blutvolumens zur Folge (Nelle et al., 1997).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die funktionelle Gefäßdichte einen aussagekräftigen Indikator der mikrovaskulären Perfusion darstellt. Es konnte gezeigt werden, dass bei anämischen Frühgeborenen eine Einschränkung der Hautperfusion besteht, die nach der Durchführung einer Transfusion von Erythrozytenkonzentrat eine deutliche Verbesserung zeigt. Die Qualität der Hautperfusion korreliert mit der allgemeinen Gewebepерfusion, so dass theoretisch anhand der funktionellen Gefäßdichte Aussagen über die Notwendigkeit einer Transfusion gemacht werden könnten.

6.3 Bedeutung des OPS imaging für die Diagnostik der Frühgeborenenanämie

Blutabnahmen bei Neugeborenen, die in vielen Fällen durch einen Stich in die Ferse erfolgen, bergen verschiedene Risiken, die von Nexo et al. zusammengefasst wurden: kutane Kalzifizierungen an der Ferse, nekrotisierende Chondritis des Calcaneus, Osteomyelitis, plötzlicher Blutdruckanstieg, Notwendigkeit einer Transfusion und nicht zuletzt das Infektionsrisiko durch CMV (Nexo et al., 1981). Je schwerer ein Frühgeborenes erkrankt ist, desto intensiver ist es den unvermeidbaren Blutentnahmen und den damit verbundenen Risiken ausgesetzt. Um das Risiko der Transfusionskomplikationen bei den schon schwer kranken Patienten zu minimieren, forderten Nexo et al., dass sowohl die Häufigkeit der Blutabnahmen als auch die Menge des für Laboruntersuchungen abzunehmenden Blutes so weit wie möglich reduziert werden sollten. Der Einsatz nicht invasiver Methoden könnte eine Möglichkeit schaffen, diesem Ziel näher zu kommen.

In Anlehnung an die Ergebnisse der vorliegenden Studie ist die Ansicht vertretbar, dass eine gestörte Hautperfusion bei Neugeborenen als frühes Anzeichen einer Beeinträchtigung der allgemeinen Gewebepfusion, beispielsweise im Rahmen der Anämie erachtet werden kann. Eine Beurteilung der Hautperfusion könnte dementsprechend über die allgemeine Gewebepfusion Aufschluss geben und somit für die Einschätzung der Notwendigkeit einer Transfusion hilfreich sein. Zur Beurteilung der Hautperfusion steht mit OPS imaging eine Methode zur Verfügung, die nicht invasiv auch bei Frühgeborenen einsetzbar ist.

Das Ziel dieser Studie lag unter anderem in der Erprobung von Sicherheit, Praktikabilität und klinischer Anwendbarkeit sowie in der Verifizierung des diagnostischen Potenzials von OPS imaging bei anämischen Frühgeborenen.

6.3.1 Sicherheit und Praktikabilität in der Anwendung bei Frühgeborenen

Da OPS imaging bei Frühgeborenen bisher kaum Anwendung fand, galt es zu überprüfen, ob die Messungen bei anämischen Frühgeborenen im Inkubator leicht und sicher durchführbar sind. Im Gegensatz zur Intravitalmikroskopie erfordert OPS imaging keine Applikation von toxischen Fluoreszenzfarbstoffen, so dass für den Patienten kein Risiko für das Auftreten von Nebenwirkungen be-

steht. Bei keinem der an der Studie beteiligten Frühgeborenen sind Komplikationen als Folge der Messungen aufgetreten.

Die handliche OPS imaging-Sonde, deren Durchmesser von 8 mm mit der Dicke eines Kugelschreibers vergleichbar ist, zeichnet sich durch eine komfortable Anwendbarkeit im Inkubator aus. Der Umgang mit dem Gerät ist unkompliziert und für jeden erlernbar. Routine in der richtigen Platzierung und Fokussierung ist durch Übung schnell zu erreichen.

Als bereits bewährte Messstelle für die transdermalen Messungen bei den Frühgeborenen wurde die Axilla ausgewählt (Genzel-Boroviczény et al., 2002). Die Toleranz gegenüber der Messung seitens der Frühgeborenen ist als sehr gut einzustufen. Das einzige Hindernis bei der transdermalen Messung im Frühgeborenenalter stellt eine eventuell vorhandene Lanugobehaarung dar, die bei sehr unreifen Frühgeborenen, die um die 25. Gestationswoche geboren sind, die Haut bedecken kann. Diese Lanugobehaarung hat einen störenden Einfluss auf die Bildgebung und vermindert die Qualität der Aufnahmen.

6.3.2 Artefakte durch Druck und Bewegung

Voraussetzung für die automatisierte Auswertung mit der CapiScope®-Software ist die Aufnahme stabiler Bilder für die Minstdauer von zehn Sekunden. Bewegungen seitens des Messenden sowie des Frühgeborenen beeinträchtigen den Auswertevorgang. Bei Verwackelungen muss die Sonde erneut auf der Haut platziert und fokussiert werden. Damit die Aufnahme von auswertbaren, das heißt stabilen Sequenzen gewährleistet ist, sind nicht nur Geduld und Feingefühl seitens der messenden Person erforderlich, sondern auch eine Umgebung, die einem die nötige Zeit gibt und beruhigend auf das Kind wirkt. Dass dies mit dem straffen Tagesablauf auf einer Neugeborenen-Intensivstation zum Teil nur bedingt vereinbar ist, erschwert oft die Messbedingungen. Wenn aber ausreichend Zeit zur Verfügung steht und Unruhe vermieden werden kann, schlafen die Kinder im Optimalfall während der Messung ein. So sind vom Kind ausgehende Bewegungsartefakte ohne die Notwendigkeit einer Sedierung auf ein Minimalmaß reduziert.

Ein weiterer limitierender Faktor ist die Tatsache, dass der Druck, mit dem die Sonde auf die Haut aufgesetzt wird, nicht objektiv kontrollierbar ist. Durch einen zu großen Druck der Sonde können Gefäße komprimiert, die Flussgeschwindig-

keit der Erythrozyten vermindert und die funktionelle Gefäßdichte durch scheinbar nicht durchblutete Gefäße unterschätzt werden. Mit großer Sorgfalt muss versucht werden, das Vorkommen von Druckartefakten auf ein Minimalmaß zu reduzieren, indem die Sonde so neben dem Kind platziert wird, dass es lediglich zu einer leichten Berührung der Haut kommt.

Im Rahmen der Auswertung konnte durch mehrmaliges Abspielen der Mikrozirkulationsaufnahmen die Perfusion der dermalen Mikrogefäße in Echtzeit kontrolliert werden. Die Sequenzen, in denen eine druckbedingte Verlangsamung der Flussgeschwindigkeit oder eine Stase zu beobachten waren, wurden aussortiert.

Die Beseitigung von Druckartefakten während des Messvorgangs könnte durch eine Möglichkeit zur objektiven Druckkontrolle oder durch die Vermeidung des direkten Kontakts zwischen Sondenspitze und Gewebe verwirklicht werden. Zweiteres wurde von Uhl und Mitarbeitern bei mikrozirkulatorischen Untersuchungen während intrazerebralen Aneurysma-Operationen und intrakranieller Tumorentfernung umgesetzt (Uhl et al., 2000). Durch den Einbau der OPS imaging-Sonde in ein Stereotaxiegerät konnte ein konstanter Abstand von 2 mm zwischen Sondenspitze und Gewebe eingehalten werden. Zur Verbesserung der Bildqualität wurde die Dura mit physiologischer 0,9% iger NaCl-Lösung gespült. Die selbe Technik wurde auch von Thomale et al. für die mikrozirkulatorische Untersuchung im normalen und traumatisierten Gewebe der Pia mater im Tiermodell verwendet (Thomale et al., 2001). Aufgrund des Platzmangels im Inkubator ist diese Methode allerdings schlecht auf Messungen bei Frühgeborenen übertragbar.

Einen weiteren Lösungsansatz zur Minimierung von Bewegungs- und Druckartefakten lieferten Lindert, Pries und Mitarbeiter (Lindert et al., 2002). Sie entwickelten eine sterilisierbare Saugvorrichtung aus Stahl, die an die sterile Schutzkappe (CytolensTM) montiert wird. An einen mit 24 Öffnungen versehenen Ring kann seitlich über einen Konnektor eine Saugvorrichtung angeschlossen werden. Über die Ringöffnungen wird durch einen Sog zwischen 30 und 100 mmHg eine Fixierung des zu untersuchenden Gewebes im Ringbereich erreicht. Der konstante Abstand von 0,5 mm zwischen Plastikkappe und Gewebe ermöglicht die Messung der Mikrozirkulation in der Mitte des Ringes, wo kein Gewebekontakt besteht. Mit dieser Technik werden also sowohl Bewegungsartefakte als auch die Kompression von Gefäßen durch Druck reduziert.

6.3.3 Vergleichbarkeit der Daten

Vielfach durchgeführte tierexperimentelle Studien haben bewiesen, dass die Werte der mikrozirkulatorischen Parameter, die mit der konventionellen Intravitalmikroskopie (IVM) und OPS imaging ermittelt wurden, vergleichbar sind. Die beiden Methoden wurden zu unterschiedlichen Messzeitpunkten für die Untersuchung der Mikrozirkulation identischer Gefäße herangezogen. Die anschließende quantitative Analyse zeigte eine Korrelation der mit IVM und OPS imaging erhobenen Daten (Biberthaler and Langer, 2002; Groner et al., 1999; Harris et al., 2000c; Langer et al., 2001a; Langer et al., 2002; Mathura and Ince, 2000).

Ein Problem der orthogonalen polarisierten spektralen Bildgebung zur Beurteilung der Mikrozirkulation beim Menschen ist die Variabilität der Gefäße, die zur Messung herangezogen werden. Im Vergleich zur Intravitalmikroskopie am Tiermodell oder zur Kapillarmikroskopie des Nagelfalzes ist es hier nicht möglich, exakt dieselben Gefäße im zeitlichen Verlauf zu beobachten. Diesbezüglich stellt sich die Frage der Vergleichbarkeit von Daten, die zu unterschiedlichen Messzeitpunkten erhoben wurden. Am Tiermodell der Hamster-Rückenhautkammer können die zu vergleichenden Areale markiert werden (Harris et al., 2000c). Am Menschen müssen mehrere verschiedene Gefäße gemessen und ausgewertet werden, um statistisch verwertbare Daten zu erhalten.

6.3.4 Praktikabilität des Videobildanalysesystems CapiScope®

Zur computerunterstützten Auswertung der aufgenommenen Mikrozirkulationsbilder wurde das Videobildanalysesystem CapiScope® verwendet. Der Auswertungsvorgang ist ein zeitaufwendiger Prozess, da die verschiedenen Sequenzen wiederholt abgespielt werden müssen, um die Beurteilung der Durchblutung der Kapillaren am bewegten Bild vornehmen zu können. In diesem Zusammenhang scheint vor allem die Ermittlung der funktionellen Gefäßdichte subjektiv zu sein, da es von der Betrachtung der auswertenden Person abhängt, welche Kapillaren als perfundiert erachtet werden und entsprechend zu markieren sind. Diesbezüglich wird darauf hingewiesen, dass in der vorliegenden Studie sämtliche Sequenzen von einer einzigen Person ausgewertet wurden und die Perfusion der Kapillaren aufgrund dessen konstant beurteilt wurde. Außerdem erfolgte die Auswertung „blind“, also ohne die Kenntnis, zu welchem Kind oder zu welchem Aufnahmezeitpunkt die jeweils auszuwertenden Sequenzen zuzuordnen sind.

Aufgrund dessen, dass die Auswertung nicht voll automatisch abläuft, sondern in einem aufwendigen Prozess off-line erfolgen muss, ist die Eignung dieser Technik für den routinemäßigen Einsatz im klinischen Alltag eingeschränkt. Es ist erstrebenswert, eine Software zu entwickeln, die Messung und Auswertung in einem Prozess verarbeitet, so dass unmittelbar im Anschluss an den Messvorgang die ermittelten Daten beurteilt und somit Rückschlüsse auf die Mikrozirkulation gezogen werden können.

6.3.5 Eignung von OPS imaging zur Anwendung bei Anämie

Dass diese Methode auch im Zustand der Anämie, also bei niedrigen Hämatokritwerten verwertbare Ergebnisse liefert, beweist eine Studie von Harris et al.. Sie haben an der Rückenhautkammer des lebenden syrischen Goldhamsters gezeigt, dass die orthogonale polarisierte spektrale Bildgebung dazu geeignet ist, präzise und reproduzierbare quantitative Messungen von Gefäßdurchmesser und funktioneller Kapillardichte mit einem großen Spielraum bezüglich des Hämatokrits vorzunehmen. Bei einer isovolämischen Hämodilution mit einer Absenkung des Hämatokrits auf bis zu 25% des Ausgangswertes zeigte sich im Bereich niedriger Hämatokritkonzentrationen eine signifikante Senkung der funktionellen Kapillardichte. Dabei konnte eine gute Übereinstimmung der Untersuchungen mit OPS imaging und der intravitalen Fluoreszenzmikroskopie festgestellt werden (Harris et al., 2002).

6.3.6 Vorteil von OPS imaging im Vergleich zu anderen Methoden

Im Vergleich zu anderen Methoden scheint OPS imaging zur Erfassung der Mikrozirkulation geeigneter, denn der Einsatz des bei dieser Methode verwendeten kurzwelligen Lichts erlaubt eine Einschätzung der tatsächlichen Gefäßperfusion. Geräte wie z.B. Laser-Doppler-Fluxmetrie oder Infrarot-Plethysmographie arbeiten dagegen mit Licht langer Wellenlängen. Sie erfassen dadurch vor allem tief liegende Gefäße und messen Parameter, die eher für den totalen Blutfluss repräsentativ sind als für die Mikrozirkulation (Hales et al., 1993). Der Einsatz der konventionellen Fluoreszenzmikroskopie kommt aufgrund der Toxizität der Fluoreszenzfarbstoffe bei Frühgeborenen nicht in Frage.

6.3.7 Ausweitung des Anwendungsbereichs von OPS imaging im Rahmen der Frühgeborenenanämie

Für die Gewährleistung einer effektiven Patientenversorgung muss der Zustand eines Patienten sowohl anhand von Beobachtungen und nicht invasiven Messungen (Blutdruck, Herzfrequenz, Temperatur, Blässe, etc.) als auch anhand von invasiven laborchemischen Untersuchungen (Hb, Ferritin, Vitamin B12, etc.) beurteilt werden. Die Herausforderung an medizinische Technologien liegt darin, Möglichkeiten zu schaffen, den nutritiven Zustand eines Patienten anhand nicht invasiver Messungen zu erfassen. Denn abgesehen davon, dass invasive Blutentnahmen - bei Frühgeborenen ins Besondere - mit Komplikationen verbunden sein können, verlangsamt das Warten auf Ergebnisse laborchemischer Untersuchungen den Behandlungsprozess erheblich.

OPS imaging ist eine Technologie, deren Anwendungsmöglichkeit unter anderem darin liegen könnte, Elemente des Blutbildes direkt zu messen oder zu berechnen. Die Kombination von OPS imaging, Bildverarbeitung, Reflexionsspektroskopie und Rechenalgorithmen kann unter Vermeidung einer invasiven Blutentnahme zu einer raschen Ermittlung der Hämoglobinkonzentration, des Hämatokrits und des weißen Blutbildes verhelfen (Groner et al., 1999). Nadeau und Groner haben die OPS imaging-Technologie als nicht invasives Bildgebungsverfahren in der Diagnostik der Anämie erprobt. Zur Ermittlung der Hämoglobinkonzentration wurde die CytoscanTM-Hardware mit HEMOSCAN® (Cytometrics, Philadelphia, PA, U.S.A.) als Analyseprogramm kombiniert. Es konnte gezeigt werden, dass die Hb-Messungen mit HEMOSCAN® eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der konventionellen Labormethoden aufwiesen (Nadeau and Groner, 2001).

In einer Pilotstudie bei Frühgeborenen kam HEMOSCAN® zur transdermalen Hb-Messung zur Anwendung. Dabei konnte gezeigt werden, dass es prinzipiell möglich ist, den Hämoglobinwert bei Frühgeborenen nicht invasiv durch die Haut zu ermitteln (Christ et al., 2000). Es bedarf allerdings der Erhebung größerer Datenmengen, um zu überprüfen, ob die mit HEMOSCAN® ermittelten Daten mit den laborchemischen Daten für die Hämoglobinkonzentration korrelieren.

Zusammenfassend kann OPS imaging als eine für die klinische Anwendung bei anämischen Frühgeborenen geeignete Methode erachtet werden. Mittels OPS

imaging ist es möglich, qualitativ hochwertige Bilder der dermalen Mikrozirkulation in der Axilla zu erstellen. Eine Einschränkung besteht hierbei nur durch Bewegungs- und Druckartefakte und durch eine eventuell vorhandene Lanugobehaarung. Die Methode ist nicht invasiv, einfach und sicher an Frühgeborenen im Inkubator anwendbar und gemäß der Beobachtungen nicht mit Komplikationen verbunden. Sie ist nicht nur geeignet für die Diagnosestellung einer die Mikrozirkulation betreffenden Krankheit wie z.B. der Frühgeborenenanämie, sondern sie erlaubt auch die Verlaufsbeobachtung eines Krankheitsprozesses. Nicht zuletzt stellt OPS imaging eine einfache Möglichkeit dar, den Therapieerfolg einer Behandlung, wie z.B. der Bluttransfusion bei anämischen Frühgeborenen zu überprüfen.

6.4 Mögliche weitere Anwendungsbereiche für OPS imaging

Die OPS imaging-Methode gewährt einen einfachen Zugang zu den Gefäßnetzwerken verschiedener Organe und eröffnet damit neue Perspektiven für das klinische Monitoring. Dabei zeichnet sich diese Methode dadurch aus, dass sie eine Möglichkeit schafft, die Mikrozirkulation von Geweben, die auf andere Weise nicht erfassbar ist, der Untersuchung zugänglich zu machen. Die Handlichkeit des Instrumentariums begünstigt den Gebrauch des CytoscansTM A/R als nicht invasives Diagnostikgerät und ist nicht zuletzt ein entscheidender Vorteil für die Anwendung bei Frühgeborenen im Inkubator. Die Methode kann am wachen Patienten genauso angewendet werden wie am narkotisierten Patienten während eines chirurgischen Eingriffs. Somit ist ein Einsatz zu Forschungszwecken mit der Untersuchung von pathologischen Vorgängen im Krankheitsprozess ebenso denkbar wie ein Einsatz in der klinischen Praxis, z.B. zur Diagnose von Krankheiten, die mit Veränderungen der Mikrozirkulation einhergehen. Auch die Anwendung von OPS imaging zur Kontrolle eines Therapiekonzeptes bei der Behandlung von Krankheiten, die die Mikrozirkulation beeinflussen, könnte eine Innovation für die Klinik sein.

Bei Erwachsenen ist es aufgrund der geringeren Herzfrequenz möglich in einer qualitativ hochwertigen OPS imaging-Aufnahme die Pulsänderung nachzuvollziehen, indem man die höchste und niedrigste Erythrozytengeschwindigkeit sowie deren Veränderungen innerhalb des Herzzyklus misst. Theoretisch könnte in ähnlicher Weise, wie es in der Pulswellenanalyse basierend auf der Photoplethysmographie angewendet wird, die Auswurfleistung des Herzens unter-

sucht werden (Reuter et al., 2003). Bei Neugeborenen sind diese Phänomene allerdings nicht zu beobachten, da die mit OPS imaging darstellbaren Gefäße zu klein sind und die Herzfrequenz zu hoch ist.

Weitere Möglichkeiten zur klinischen Anwendung von OPS imaging wurden von Harris und Mitarbeitern beschrieben (Harris et al., 2000a): Im Rahmen einer Organtransplantation könnte mittels OPS imaging die Qualität der Perfusion des verpflanzten Organes intraoperativ beurteilt werden. So hätte der Chirurg noch während des Eingriffs die Möglichkeit, eine Anastomosendehiszenz zu erkennen und diese sofort zu korrigieren, so dass die postoperative Entstehung eines Organversagens verhindert werden kann.

Weiterhin könnte der klinische Einsatz von OPS imaging bei der Resektion eines nekrotischen Darmabschnittes von Nutzen sein. Durch die Messung der mikrovaskulären Perfusion des Darmgewebes könnte das Ausmaß der Nekrose exakt definiert werden, so dass bei der Resektion kein unnötig zu groß gewählter chirurgischer Sicherheitsabstand eingehalten werden muss.

Da die Heterogenität der Gefäße ein typisches Merkmal von Tumorgewebe ist, kann OPS imaging auch in der Tumorthherapie eingesetzt werden. Eine intraoperative Bestimmung der Tumorgrenzen gäbe dem Chirurgen die Sicherheit, den Tumor in toto zu reseziieren.

Letztlich könnte OPS imaging auch in der Therapie chronischer Wunden eingesetzt werden, um die Wirkung der Behandlungsmaßnahmen auf das Einsprossen neuer Gefäße in den Wundbereich zu verifizieren und die Therapie entsprechend anpassen zu können.

7 Zusammenfassung und Ausblick

Die Möglichkeiten zur Untersuchung der Mikrozirkulation bei Frühgeborenen sind eingeschränkt. Störungen in diesem Bereich sind jedoch an der Entstehung vieler Krankheitsprozesse beteiligt. Die quantitative Erfassung der Mikrozirkulation in der Haut anämischer Frühgeborener könnte Erkenntnisse über die Qualität der Gewebepfusion während der Anämie und deren Veränderung durch die Transfusion von Erythrozytenkonzentrat erbringen.

Zur Beurteilung der Mikrozirkulation wurde die orthogonale polarisierte spektrale Bildgebung (OPS imaging) verwendet. Es handelt sich dabei um eine Technik, deren Tauglichkeit für die quantitative Analyse der mikrozirkulatorischen Daten von Frühgeborenen bereits bewiesen wurde.

Das Hauptaugenmerk der Studie lag auf der Beurteilung der Gewebepfusion anämischer Frühgeborener und deren Qualitätsänderung durch die Bluttransfusion. Im Rahmen der Transfusion sollten zudem verschiedene klinische Parameter hinsichtlich ihres Stellenwertes als Transfusionsindikatoren untersucht werden. Des Weiteren galt das Interesse der Erprobung von Sicherheit, Praktikabilität und klinischer Anwendbarkeit sowie der Verifizierung des diagnostischen Potenzials von OPS imaging bei anämischen Frühgeborenen.

OPS imaging ist eine nicht invasive Methode, die es aufgrund ihrer speziellen Optik ermöglicht, Erythrozyten als hämoglobintragende Strukturen direkt sichtbar zu machen. Über die Visualisierung der Erythrozyten kommen perfundierte Mikrogefäße in der Haut von Frühgeborenen in dunklem Kontrast zur Darstellung. Mittels OPS imaging wurden jeweils drei transdermale Messungen in der Axilla von zehn anämischen Frühgeborenen mit einem durchschnittlichen Gestationsalter von 26 Wochen [25-26 Wochen] und einem Geburtsgewicht von 730 g [652-789 g] durchgeführt.²⁸ Diese Messungen erfolgten in zeitlichem Zusammenhang zur Transfusion (Tx), nämlich innerhalb von vier Stunden vor der Transfusion sowie zwei und 24 Stunden nach der Transfusion. Die OPS imaging-Aufnahmen der perfundierten Hautgefäße wurden kontinuierlich auf Video aufgenommen. Basierend auf diesen Aufnahmen konnten mittels einer dafür entwickelten Software die verschiedenen Parameter der Mikrozirkulation wie funktio-

²⁸ Angaben als Mediane [95% Konfidenzintervall].

nelle Gefäßdichte, Gefäßdurchmesser, Flussgeschwindigkeit und Flussvolumen ermittelt werden.

Als Ergebnis zeigte sich ein signifikanter²⁹ Anstieg der funktionellen Gefäßdichte zwei Stunden nach der Transfusion mit einem weiteren signifikanten³⁰ Anstieg 24 Stunden nach der Transfusion (vor Tx: 142 cm/cm² [134-155 cm/cm²], 2 h nach Tx: 185 cm/cm² [166-196 cm/cm²], 24 h nach Tx: 206 cm/cm² [185-219 cm/cm²])³¹. Da die funktionelle Gefäßdichte als Parameter zur Beurteilung der mikrovaskulären Perfusion anerkannt ist, kann dieser Anstieg im Rahmen der Transfusion als Verbesserung der Gewebepfusion gewertet werden. Die anderen Parameter der Mikrozirkulation zeigten keine signifikanten Änderungen. Ebenso wenig die klinischen Variablen wie Blutdruck, Herzfrequenz und Körpertemperatur. Nur die Hämoglobinkonzentration (vor Tx: 8,3 g/dl [7,9-10,4 g/dl], 2 h nach Tx: 10,7 g/dl [9,9-12,9 g/dl], 24 h nach Tx: 11,8 g/dl [10,8-12,9 g/dl])³² und der Hämatokrit (vor Tx: 27 % [26-29 %], 24 h nach Tx: 38 % [35-40 %])³³ zeigten transfusionsbedingt einen signifikanten Anstieg.

Es liegt nahe, dass Störungen der Hautperfusion bei Frühgeborenen als frühes Anzeichen einer Beeinträchtigung der allgemeinen Gewebepfusion des Körpers gewertet werden können. Da OPS imaging über die Messung der mikrovaskulären Hautdurchblutung eine Einschätzung der Qualität der Gewebepfusion erlaubt, ist diese Methode für die klinische Anwendung bei Frühgeborenen als geeignet zu erachten. Die Handlichkeit des Messinstrumentes sowie die Tatsache, dass die Messungen mit keinem Komplikationsrisiko verbunden sind, lassen den Einsatz bei Frühgeborenen im Inkubator zu.

Das klinische Potenzial von OPS imaging bei der Frühgeborenenanämie besteht vor allem darin, eine Störung der mikrovaskulären Perfusion frühzeitig zu erkennen, den Behandlungsprozess zu beschleunigen und zu einer Reduktion invasiver, mit Komplikationen behafteten Blutentnahmen beizutragen. Dabei könnte OPS imaging nicht nur zur Diagnostik und zur Verlaufsbeobachtung einer die Mikrozirkulation betreffenden Krankheit dienen, sondern auch die Möglichkeit zum Monitoring von Erfolg oder Misserfolg eines Therapiekonzeptes bieten.

²⁹ $p < 0,0001$ („Paired-t-Test“).

³⁰ $p < 0,0001$ („Paired-t-Test“).

³¹ Angaben als Mediane [95% Konfidenzintervall].

³² Angaben als Mediane [95% KI], $p=0,0064$ (vor Tx vs 2 h nach Tx) („Paired-t-Test“).

³³ Angaben als Mediane [95% KI], $p=0,0085$ (vor Tx vs 24 h nach Tx) („Paired-t-Test“).

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung der Mikrozirkulation im Tiermodell (Rückenhautkammer des syrischen Goldhamsters). Vergleich identischer postkapillärer Venolen mittels Intravitalmikroskop (links) mit Anwendung von FITC-Dextran zur Kontrastgebung und Cytoscan™ A/R (rechts) ohne Kontrastmittel	20
Abbildung 2: Darstellung des Messgerätes Cytoscan™ A/R: Basiseinheit (links) mit Haltevorrichtung für die OPS imaging-Sonde und externe Lichtquelle (rechts).....	21
Abbildung 3: Darstellung des Messgerätes Cytoscan™ A/R: OPS imaging-Sonde	22
Abbildung 4: Darstellung der Sondengröße in Relation zu einem Frühgeborenen im Inkubator (Gestationsalter 24 Wochen, Geburtsgewicht 550 g, erster Lebenstag)	22
Abbildung 5: Schematische Darstellung des Funktionsprinzipes der OPS imaging-Sonde	23
Abbildung 6: Beispiel für ein typisches OPS imaging-Bild der dermalen Mikrozirkulation eines Frühgeborenen: Darstellung der hämoglobintragenden Strukturen des beleuchteten Gewebebezirks in dunklem Kontrast.....	25
Abbildung 7: Demonstration des Messvorgangs bei einem Frühgeborenen im Inkubator (Gestationsalter 33 Wochen, Geburtsgewicht 1850 g, erster Lebenstag)	27
Abbildung 8: Messung von Gefäßdurchmesser und erythrozytärer Flussgeschwindigkeit: Teil des Auswertevorgangs mit CapiScope®	29
Abbildung 9: Messung der funktionellen Gefäßdichte: Teil des Auswertevorgangs mit CapiScope®	31
Abbildung 10: Änderung der funktionellen Gefäßdichte angegeben als Median in cm/cm^2 [95% Konfidenzintervall] vor Transfusion (a), 2 h nach Transfusion (b) und 24 h nach Transfusion (c)	34
Abbildung 11: Vergleich der funktionellen Gefäßdichte vor Transfusion (links) und 2 h nach Transfusion (rechts) anhand der Aufnahmen eines 16 Tage alten Frühgeborenen (Gestationsalter 25 Wochen, Geburtsgewicht 686 g, aktuelles Gewicht 850 g)	35

Abbildung 12: Änderung der Hb-Werte angegeben als Mediane in g/dl [95% Konfidenzintervall] vor Transfusion (a), 2 h nach Transfusion (b) und 24 h nach Transfusion (c)	37
--	----

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Untere Grenzen der Hb-Konzentration in g/dl bei Frühgeborenen. Bei Unterschreitung der angegebenen Grenzen ist die Transfusion von Erythrozytenkonzentrat indiziert.	7
Tabelle 2: Parameter der Mikrozirkulation als Mediane [95% Konfidenzintervall] vor Transfusion (a), 2 h nach Transfusion (b) und 24 h nach Transfusion (c)	33
Tabelle 3: Werte der klinischen Parameter vor und nach Transfusion als Mediane [95% Konfidenzintervall]	36

Abkürzungsverzeichnis

µm	Mikrometer
CCD	Charged Couple Device (engl.), Halbleiterdetektor mit der Fähigkeit Licht in eine Punktmatrix umzuwandeln und die Helligkeitswerte jedes einzelnen Punktes als digitales Signal wiederzugeben
CLSM	Confocal laser scanning microscopy
cm	Zentimeter
cmHg	Zentimeter Quecksilbersäule
CMV	Cytomegalie-Virus
CO ₂	Kohlendioxid
e.V.	eingetragener Verein
engl.	englisch
EPO	Erythropoetin
etc.	et cetera (lat.): und so weiter
FCD	funktionelle Kapillardichte
FiO ₂	inspiratorische Sauerstoffkonzentration
FITC	Fluorescein Isothiocyanat
FOE	fractional oxygen extraction (engl.)
g/d	Gramm/Tag
g/dl	Gramm/Deziliter
h	Stunden
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
IBM	Intelligent Business Machines (engl.)
IVM	Intravitalmikroskopie
kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht

KI	Konfidenzintervall
LDF	Laser-Doppler-Fluxmetrie
MAD	mittlerer arterieller Blutdruck
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
N ₀	Nullhypothese
NaCl	Natriumchlorid
NIRS	Nah-Infrarot Spektroskopie
nm	Nanometer
O ₂	Sauerstoff
OPS imaging	Orthogonal polarization spectral imaging
PC	Personal Computer (engl.)
pH	pondus hydrogenii, Abkürzung für Potenz und Maß für Wasserstoffionenkonzentration
p-Wert	probability (engl.): Wahrscheinlichkeit
RR	systemischer Blutdruck
s	Sekunde
T	Messzeitpunkt
Temp	Temperatur
Tx	Transfusion
VLBW-infant	very low birth weight infant (Geburtsgewicht < 1500 g)
vs	versus
z.B.	zum Beispiel
ααHb	3,5-bis(dibromosalicyl)fumarate

Literaturverzeichnis

Alverson,DC, 1995, The physiologic impact of anemia in the neonate: Clin.Perinatol., v. 22, p. 609-625.

Alverson,DC, V H Isken, R S Cohen, 1988, Effect of booster blood transfusions on oxygen utilization in infants with bronchopulmonary dysplasia: J Pediatr., v. 113, p. 722-726.

Bauer,K, O Linderkamp, H T Versmold, 1993, Short-term effects of blood transfusion on blood volume and resting peripheral blood flow in preterm infants: Acta Paediatr., v. 82, p. 1029-1033.

Biberthaler,P, S Langer, 2002, Comparison of the new OPS imaging technique with intravital microscopy: analysis of the colon microcirculation: Eur.Surg.Res, v. 34, p. 124-128.

Bifano,EM, F Smith, J Borer, 1992, Relationship between determinants of oxygen delivery and respiratory abnormalities in preterm infants with anemia: J Pediatr., v. 120, p. 292-296.

Blanchette,VS, H A Hume, G J Levy, N L Luban, R G Strauss, 1991, Guidelines for auditing pediatric blood transfusion practices: Am J Dis Child, v. 145, p. 787-796.

Blank,JP, T G Sheagren, J Vajaria, H H Mangurten, R S Benawra, B L Puppala, 1984, The role of RBC transfusion in the premature infant: Am J Dis Child, v. 138, p. 831-833.

Boehm,D, F Christ, A G Harris, H Reichenspurner, B Reichart, K Messmer, 2000, First application of intravital microscopy on the beating heart using OPS imaging: J Vasc Res, v. 37.

Böhler,T, A Janecke, O Linderkamp, 1994, Blood transfusion in late anemia of prematurity: effect on oxygen consumption, heart rate, and weight gain in otherwise healthy infants: Infusionsther.Transfusionsmed., v. 21, p. 376-379.

Brown,MS, J F Garcia, R H Phibbs, P R Dallman, 1984, Decreased response of plasma immunoreactive erythropoietin to "available oxygen" in anemia of prematurity: J Pediatr., v. 105, p. 793-798.

Bussau,LJ, P M Delaney, G D Papworth, D H Barkla, R G King, 1998, Fibre optic confocal imaging (FOCI) of keratinocytes, blood vessels and nerves in hairless mouse skin in vivo: J.Anat., v. 192, p. 187-194.

Christ,F, A Bauer, D Brugger, 2002, Different optical methods for clinical monitoring of the microcirculation: Eur.Surg.Res, v. 34, p. 145-151.

Christ,F, O Genzel-Boroviczény, S Schaudig, M Niklas, C Schiessler, J Strötgen, S Eifert, H Reichenspurner, A G Harris, K Messmer, 2000, Monitoring of the Microcirculation in Cardiac Surgery and Neonates using Orthogonal Polarization Spectral Imaging, in K Messmer (ed), Progress in Applied Microcirculation: Basel, Karger, p. 82-93.

Cooke,RW, D Clark, M Hickey-Dwyer, A M Weindling, 1993, The apparent role of blood transfusions in the development of retinopathy of prematurity: Eur.J Pediatr., v. 152, p. 833-836.

Cryer,HG, 1997, Therapeutic approaches for clinical ischemia and reperfusion injury: Shock, v. 8, p. 26-32.

Dallman,PR, 1981, Anemia of prematurity: Annu.Rev.Med., v. 32, p. 143-160.

Davis,E, J Landau, 1966, Clinical Capillary Microscopy, Springfield, Thomas.

De Backer,D, J Creteur, J Vincent, 2000, Use of Orthogonal Polarization Spectral Imaging in Intensive Care, in K Messmer (ed), Progress in Applied Microcirculation: Basel, Karger, p. 104-109.

DeMaio,JG, M C Harris, C Deuber, A R Spitzer, 1989, Effect of blood transfusion on apnea frequency in growing premature infants: J Pediatr., v. 114, p. 1039-1041.

Fagrell,B, A Bollinger, 1990, Clinical Capillaroscopy : A Guide to Its Use in Clinical Research and Practice, Seattle, Washington, Hogrefe & Huber.

Fagrell,B, M Intaglietta, 1997, Microcirculation: its significance in clinical and molecular medicine: J.Int.Med., v. 241, p. 349-362.

Faxelius,G, J Raye, R Gutberlet, S Swanstrom, A Tsiantos, E Dolanski, M Dehan, N Dyer, D Lindstrom, A B Brill, M Stahlman, 1977, Red cell volume measurements and acute blood loss in high-risk newborn infants: J Pediatr., v. 90, p. 273-281.

Fenton,BM, B W Zweifach, D M Worthen, 1979, Quantitative morphometry of conjunctival microcirculation in diabetes mellitus: Microvasc.Res., v. 18, p. 153-166.

Forst,T, A Pfutzner, T Kunt, T Pohlmann, U Schenk, R Bauersachs, E Kustner, J Beyer, 1998, Skin microcirculation in patients with type I diabetes with and without neuropathy after neurovascular stimulation: Clin.Sci.(Lond), v. 94, p. 255-261.

Friese,K, W Kirschner, 2003, Das BabyCare-Projekt: Der Gynäkologe, v. 36, p. 403-412.

Genzel-Boroviczény,O, F Christ, V Glas, 2004, Blood transfusion increases functional capillary density in the skin of anemic preterm infants: Pediatr.Res, v. 56, p. 751-755.

Genzel-Boroviczeny, O, J Stroetgen, A G Harris, K Messmer, F Christ, 2002, Orthogonal Polarization Spectral Imaging (OPS): A Novel Method to Measure the Microcirculation in Term and Preterm Infants Transcutaneously: *Pediatr.Res.*, v. 51, p. 386-391.

Griffiths, G, R Lall, S Chatfield, A Short, P Mackay, P Williamson, J Brown, M I Levene, 1997, Randomised controlled double blind study of role of recombinant erythropoietin in the prevention of chronic lung disease: *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.*, v. 76, p. F190-F192.

Groner, W, J W Winkelmann, A G Harris, C Ince, G J Bouma, K Messmer, R G Nadeau, 1999, Orthogonal polarization spectral imaging: a new method for study of the microcirculation: *Nat.Med.*, v. 5, p. 1209-1212.

Hales, JR, R G Roberts, R A Westerman, F R Stephens, A A Fawcett, 1993, Evidence for skin microvascular compartmentalization by laser-Doppler and photoplethysmographic techniques: *Int.J.Microcirc.Clin.Exp.*, v. 12, p. 99-104.

Harris, AG, S Langer, K Messmer, 2000a, The Study of the Microcirculation using Orthogonal Polarization Spectral Imaging, *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*, p. 705-714.

Harris, AG, I Sinitsina, K Messmer, 2000b, Quantitative Analysis of Orthogonal Polarization Spectral Images: Validation in the Hamster Dorsal Skinfold Chamber, in K Messmer (ed), *Progress in Applied Microcirculation*: Basel, Karger, p. 21-31.

Harris, AG, I Sinitsina, K Messmer, 2000c, The Cytoscan Model E-II, a new reflectance microscope for intravital microscopy: comparison with the standard fluorescence method: *J.Vasc.Res.*, v. 37, p. 469-476.

Harris, AG, I Sinitsina, K Messmer, 2002, Validation of OPS imaging for microvascular measurements during isovolumic hemodilution and low hematocrits: *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol.*, v. 282, p. H1502-H1509.

Harrison, MW, R S Connell, J R Campbell, M C Webb, 1975, Microcirculatory changes in the gastrointestinal tract of the hypoxic puppy: an electron microscope study: *J Pediatr.Surg.*, v. 10, p. 599-608.

Harvey Motulsky, MD, 1995, *Intuitive Biostatistics*, Oxford, Oxford University Press, Inc., p. 255-262.

Hesse, L, W Eberl, M Schlaud, C F Poets, 1997, Blood transfusion. Iron load and retinopathy of prematurity: *Eur.J.Pediatr.*, v. 156, p. 465-470.

Holland, BM, J G Jones, C A Wardrop, 1987, Lessons from the anemia of prematurity: *Hematol.Oncol.Clin.North Am.*, v. 1, p. 355-366.

Hudson, I, A Cooke, B Holland, A Houston, J G Jones, T Turner, C A Wardrop, 1990, Red cell volume and cardiac output in anaemic preterm infants: *Arch Dis Child.*, v. 65, p. 672-675.

Jöbsis, F, 1977, Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters: *Science*, v. 198, p. 1264-1267.

Joshi,A, T Gerhardt, P Shandloff, E Bancalari, 1987, Blood transfusion effect on the respiratory pattern of preterm infants: *Pediatrics*, v. 80, p. 79-84.

Keyes,WG, P K Donohue, J L Spivak, M D Jones, Jr., F A Oski, 1989, Assessing the need for transfusion of premature infants and role of hematocrit, clinical signs, and erythropoietin level: *Pediatrics*, v. 84, p. 412-417.

Laemmel,E, R Tdayoni, I Sinitsina, J Boczkowski, E Vicaut, 2000, Using Orthogonal Polarization Spectral Imaging for the Experimental Study of Microcirculation: Comparisons with Intravital Microscopy, in K Messmer (ed), *Progress in Applied Microcirculation*: Basel, Karger, p. 50-60.

Langer,S, F Born, R Hatz, P Biberthaler, K Messmer, 2002, Orthogonal polarization spectral imaging versus intravital fluorescent microscopy for microvascular studies in wounds: *Ann.Plast.Surg.*, v. 48, p. 646-653.

Langer,S, A G Harris, P Biberthaler, E von Dobschuetz, K Messmer, 2001a, Orthogonal Polarization Spectral Imaging as a tool for the assessment of hepatic microcirculation. A validation study: *Transplantation*, v. 71, p. 1249-1256.

Langer,S, R Hatz, A G Harris, T Hernandez-Richter, G Maiwald, K Messmer, 2001b, Assessing the microcirculation in a burn wound by use of OPS imaging: *Eur.J Med.Res.*, v. 6, p. 231-234.

Langer,S, E von Dobschuetz, A G Harris, F Krombach, K Messmer, 2000, Validation of the Orthogonal Polarization Spectral Imaging Technique on Solid Organs, in K Messmer (ed), *Progress in Applied Microcirculation*: Basel, Karger, p. 32-46.

Lenes,BA, R A Sacher, 1981, Blood component therapy in neonatal medicine: *Clin.Lab Med.*, v. 1, p. 285-309.

Linderkamp,O, H T Versmold, K P Riegel, K Betke, 1984, Contributions of red cells and plasma to blood viscosity in preterm and full-term infants and adults: *Pediatrics*, v. 74, p. 45-51.

Linderkamp,O, E P Zilow, G Zilow, 1992, *Transfusionsmedizin 1991/1992*. Beitr.Infusionsther., Basel, Karger, p. 235-246.

Lindert,J, J Werner, M Redlin, H Kuppe, H Habazettl, A R Pries, 2002, OPS imaging of human microcirculation: a short technical report: *J Vasc Res*, v. 39, p. 368-372.

Maayan,C, F Eyal, A Mandelberg, D Sapoznikov, B S Lewis, 1986, Effect of mechanical ventilation and volume loading on left ventricular performance in premature infants with respiratory distress syndrome: *Crit Care Med.*, v. 14, p. 858-860.

Maier,RF, J Sonntag, M M Walka, G Liu, B C Metze, M Obladen, 2000, Changing practices of red blood cell transfusions in infants with birth weights less than 1000 g: *J Pediatr.*, v. 136, p. 220-224.

Mathura,KR, G J Bouma, C Ince, 2001a, Abnormal microcirculation in brain tumours during surgery: *Lancet*, v. 358, p. 1698-1699.

Mathura,KR, C Ince, 2000, First Clinical use of Orthogonal Polarization Spectral Imaging, in K Messmer (ed), Progress in Applied Microcirculation: Basel, Karger, p. 94-101.

Mathura,KR, K C Vollebregt, K Boer, J C De Graaff, D T Ubbink, C Ince, 2001b, Comparison of OPS imaging and conventional capillary microscopy to study the human microcirculation: J.Appl.Physiol, v. 91, p. 74-78.

Mayer,K, 1921, Observation on the capillaries of the normal infant: Am J Dis Child, v. 22, p. 381-387.

Messmer,K, 1989, Ischemic Diseases and the Microcirculation, Munich, Zuckschwerdt.

Messmer,K, U Kreimeier, 1989, Microcirculatory therapy in shock: Resuscitation, v. 18 Suppl, p. S51-S61.

Meyer,J, A Sive, P Jacobs, 1993, Empiric red cell transfusion in asymptomatic preterm infants: Acta Paediatr., v. 82, p. 30-34.

Muntau,A, 2004, Hämatologie, in Urban und Fischer (ed), Intensivkurs Pädiatrie: München, p. 179.

Nadeau,RG, W Groner, 2001, The role of a new noninvasive imaging technology in the diagnosis of anemia: J Nutr., v. 131, p. 1610S-1614S.

Nelle,M, C Hocker, E P Zilow, O Linderkamp, 1994, Effects of red cell transfusion on cardiac output and blood flow velocities in cerebral and gastrointestinal arteries in premature infants: Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, v. 71, p. F45-F48.

Nelle,M, C Hoecker, O Linderkamp, 1997, Effects of red cell transfusion on pulmonary blood flow and right ventricular systolic time intervals in neonates: Eur.J.Pediatr., v. 156, p. 553-556.

Nexo,E, N C Christensen, H Olesen, 1981, Volume of blood removed for analytical purposes during hospitalization of low-birthweight infants: Clin.Chem., v. 27, p. 759-761.

Nolte,D, H Zeintl, M Steinbauer, S Pickelmann, K Messmer, 1995, Functional capillary density: an indicator of tissue perfusion?: Int.J.Microcirc.Clin.Exp., v. 15, p. 244-249.

Norman,M, B Fagrell, P Herin, 1992a, Effects of neonatal polycythemia and hemodilution on capillary perfusion: J Pediatr., v. 121, p. 103-108.

Norman,M, B Fagrell, P Herin, 1993, Skin microcirculation in neonatal polycythaemia and effects of haemodilution. Interaction between haematocrit, vasomotor activity and perfusion: Acta Paediatr., v. 82, p. 672-677.

Norman,M, P Herin, B Fagrell, 1992b, An evaluation of skin capillary blood flow determinations in neonates using a computerized videophotometric method: Microvasc.Res., v. 43, p. 276-284.

Norman,M, P Herin, B Fagrell, R Zetterstrom, 1988, Capillary blood cell velocity in full-term infants as determined in skin by videophotometric microscopy: *Pediatr.Res.*, v. 23, p. 585-588.

O'Brien,RT, H A Pearson, 1971, Physiologic anemia of the newborn infant: *J Pediatr.*, v. 79, p. 132-138.

Obladen,M, M Sachsenweger, M Stahnke, 1988, Blood sampling in very low birth weight infants receiving different levels of intensive care: *Eur.J Pediatr.*, v. 147, p. 399-404.

Perera,P, A K Kurban, T J Ryan, 1970, The development of the cutaneous microvascular system in the newborn: *Br.J.Dermatol.*, v. 82, p. 86-91.

Perlman,JM, J J Volpe, 1985, Episodes of apnea and bradycardia in the preterm newborn: impact on cerebral circulation: *Pediatrics*, v. 76, p. 333-338.

Poets,CF, U Pauls, B Bohnhorst, 1997, Effect of blood transfusion on apnoea, bradycardia and hypoxaemia in preterm infants: *Eur.J Pediatr.*, v. 156, p. 311-316.

Poets,CF, M P Samuels, D P Southall, 1994, Epidemiology and pathophysiology of apnoea of prematurity: *Biol.Neonate*, v. 65, p. 211-219.

Pschyrembel, 2002, *Klinisches Wörterbuch*, Berlin, de Gruyter, p. 1066.

Rajadhyaksha,M, D Esterowitz, R H Webb, R R Anderson, 1995, In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast: *J.Invest Dermatol.*, v. 104, p. 946-952.

Reuter,DA, A Kirchner, T W Felbinger, F C Weis, E Kilger, P Lamm, A E Goetz, 2003, Usefulness of left ventricular stroke volume variation to assess fluid responsiveness in patients with reduced cardiac function: *Crit Care Med.*, v. 31, p. 1399-1404.

Roberton,NR, 1987, Top up transfusions in neonates: *Arch Dis Child*, v. 62, p. 984-986.

Robinson,RO, M Fujimura, P Howat, D M Salisbury, 1977, Effect of blood transfusion in low birthweight infants: *Arch Dis Child*, v. 52, p. 696-699.

Roos,R, O Genzel-Boroviczeny, H Proqitté, 2003, *Hämatologie, Checkliste Neonatologie*: Stuttgart, Thieme, p. 248.

Ross,MP, R D Christensen, G Rothstein, J M Koenig, M A Simmons, N A Noble, R E Kimura, 1989, A randomized trial to develop criteria for administering erythrocyte transfusions to anemic preterm infants 1 to 3 months of age: *J Perinatol.*, v. 9, p. 246-253.

Saetzler,RK, J Jallo, H A Lehr, C M Philips, U Vasthare, K E Arfors, R F Tuma, 1997, Intravital fluorescence microscopy: impact of light-induced phototoxicity on adhesion of fluorescently labeled leukocytes: *J Histochem.Cytochem.*, v. 45, p. 505-513.

- Sakai,H, H Hara, A G Tsai, E Tsuchida, P C Johnson, M Intaglietta, 1999, Changes in resistance vessels during hemorrhagic shock and resuscitation in conscious hamster model: *Am.J.Physiol*, v. 276, p. H563-H571.
- Sakai,H, S Takeoka, R Wettstein, A G Tsai, M Intaglietta, E Tsuchida, 2002, Systemic and microvascular responses to hemorrhagic shock and resuscitation with Hb vesicles: *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol*, v. 283, p. H1191-H1199.
- Sasidharan,P, R Heimler, 1992, Transfusion-induced changes in the breathing pattern of healthy preterm anemic infants: *Pediatr.Pulmonol.*, v. 12, p. 170-173.
- Schwalm,H, 1934, Die Hautkapillaren bei Neugeborenen: *Arch Kinderheilkunde*, v. 103, p. 129-137.
- Steinbauer,M, A G Harris, C Abels, K Messmer, 2000, Characterization and prevention of phototoxic effects in intravital fluorescence microscopy in the hamster dorsal skinfold model: *Langenbecks Arch Surg.*, v. 385, p. 290-298.
- Stern,MD, 1975, In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering: *Nature*, v. 254, p. 56-58.
- Stockman,JA, III, 1986, Anemia of prematurity. Current concepts in the issue of when to transfuse: *Pediatr.Clin.North Am*, v. 33, p. 111-128.
- Stockman,JA, III, D A Clark, 1984, Weight gain: a response to transfusion in selected preterm infants: *Am J Dis Child*, v. 138, p. 828-830.
- Stockman,JA, III, J F Garcia, F A Oski, 1977, The anemia of prematurity. Factors governing the erythropoietin response: *N.Engl.J Med.*, v. 296, p. 647-650.
- Stockman,JA, III, J E Graeber, D A Clark, K McClellan, J F Garcia, R E Kavey, 1984, Anemia of prematurity: determinants of the erythropoietin response: *J Pediatr.*, v. 105, p. 786-792.
- Strauss,RG, 1991, Transfusion therapy in neonates: *Am J Dis Child*, v. 145, p. 904-911.
- Strauss,RG, R A Sacher, J F Blazina, V S Blanchette, L M Schloz, S H Butch, H Hume, G J Levy, A McMican, C Sotelo-Avila, 1990, Commentary on small-volume red cell transfusions for neonatal patients: *Transfusion*, v. 30, p. 565-570.
- Stute,H, B Greiner, O Linderkamp, 1995, Effect of blood transfusion on cardio-respiratory abnormalities in preterm infants: *Arch.Dis.Child Fetal Neonatal Ed*, v. 72, p. F194-F196.
- Thomale,UW, K D Schaser, A W Unterberg, J F Stover, 2001, Visualization of rat pial microcirculation using the novel orthogonal polarized spectral (OPS) imaging after brain injury: *J Neurosci.Methods*, v. 108, p. 85-90.
- Tsai,AG, B Friesenecker, M McCarthy, H Sakai, M Intaglietta, 1998, Plasma viscosity regulates capillary perfusion during extreme hemodilution in hamster skinfold model: *Am.J.Physiol*, v. 275, p. H2170-H2180.

Tsai,AG, B Friesenecker, R M Winslow, M Intaglietta, 1994, Functional capillary density changes during blood substitution with alpha alpha Hb and dextran 70: influence on oxygen delivery: *Artif.Cells Blood Substit.Immobil.Biotechnol.*, v. 22, p. 841-847.

Tsai,AG, M Intaglietta, 2001, High viscosity plasma expanders: Volume restitution fluids for lowering the transfusion trigger: *Biorheology*, v. 38, p. 229-237.

Uhl,E, J Lehmberg, H J Steiger, K Messmer, 2000, Intraoperative Observation of Human Cerebral Microcirculation, in K Messmer (ed), *Progress in Applied Micro-circulation*: Basel, Karger, p. 72-81.

Voak,D, R Cann, R D Finney, I D Fraser, R Mitchell, M F Murphy, J A Napier, P Phillips, A J Rejman, A H Waters, 1994, Guidelines for administration of blood products: transfusion of infants and neonates. British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force: *Transfus.Med.*, v. 4, p. 63-69.

Wardle,SP, R Garr, C W Yoxall, A M Weindling, 2002, A pilot randomised controlled trial of peripheral fractional oxygen extraction to guide blood transfusions in preterm infants: *Arch.Dis.Child Fetal Neonatal Ed*, v. 86, p. F22-F27.

Wardle,SP, A M Weindling, 2001, Peripheral fractional oxygen extraction and other measures of tissue oxygenation to guide blood transfusions in preterm infants: *Semin.Perinatol.*, v. 25, p. 60-64.

Wardle,SP, C W Yoxall, E Crawley, A M Weindling, 1998, Peripheral oxygenation and anemia in preterm babies: *Pediatr.Res.*, v. 44, p. 125-131.

Wardrop,CA, B M Holland, K E Veale, J G Jones, O P Gray, 1978, Nonphysiological anaemia of prematurity: *Arch Dis Child*, v. 53, p. 855-860.

Weil,MH, Y Nakagawa, W Tang, Y Sato, F Ercoli, R Finegan, G Grayman, J Bisera, 1999, Sublingual capnometry: a new noninvasive measurement for diagnosis and quantitation of severity of circulatory shock: *Crit Care Med.*, v. 27, p. 1225-1229.

Westkamp,E, V Soditt, S Adrian, B Bohnhorst, P Groneck, C F Poets, 2002, Blood transfusion in anemic infants with apnea of prematurity: *Biol.Neonate*, v. 82, p. 228-232.

Wolf,S, O Arend, K Schulte, T H Ittel, M Reim, 1994, Quantification of retinal capillary density and flow velocity in patients with essential hypertension: *Hypertension*, v. 23, p. 464-467.

Zanjani,ED, J L Ascensao, P B McGlave, M Banisadre, R C Ash, 1981, Studies on the liver to kidney switch of erythropoietin production: *J Clin.Invest*, v. 67, p. 1183-1188.

Anhang I: Messprotokolle



Pat.Nr: _____

Gestationsalter: _____

Lebenstag: _____

Geburtsgewicht: _____

Aktuelles Gewicht: _____

Durchschnittliche Gewichtszunahme vor Transfusion: _____

Durchschnittliche Gewichtszunahme nach Transfusion: _____

(bezogen auf 7 Tage)

Diagnosen:Transfusionsindikation:

Tag der Transfusion: _____ Uhrzeit: _____

Uhrzeit 1.Messung: _____ → Band _____ von _____ bis _____

Uhrzeit 2.Messung: _____ → Band _____ von _____ bis _____

Uhrzeit 3.Messung: _____ → Band _____ von _____ bis _____

Messung -1-

innerhalb 4 h vor Transfusion

Datum: _____ Uhrzeit: _____ Band: ____ von _____ bis _____

Beatmung:

Beatmungsart: _____
Intubation: _____
Flow: _____ /l
Pin/Peep: _____
MAD: _____
f: _____ /min
FiO₂: _____ %
SpO₂: _____ %

O₂-Versorgung innerhalb 4 h vor Transfusion:

Apnoe-Phasen: _____
Episoden mit SpO₂ < 85%: _____

Kardiovaskuläres System:

RR-Bestimmung: _____
RR Systol./Diastol.: _____
MAD: _____
Hf: _____ /min
Recap-Zeit: _____ sec
Hautkolorit/Akren: _____
Temp Inku/Kind: _____ °C / _____ °C
bradykarde Episoden 4 h vor Transfusion: _____
tachykarde Episoden 4 h vor Transfusion: _____

Labor/Blutgas:

Hb: _____ g/dl Hkt: _____ % pH: _____

Messung -2-

2 h nach Transfusion

Datum: _____ Uhrzeit: _____ Band: _____ von _____ bis _____

Beatmung:

Beatmungsart: _____
Intubation: _____
Flow: _____ /l
P_{in}/Peep: _____
MAD: _____
f: _____ /min
FiO₂: _____ %
SpO₂: _____ %

O₂-Versorgung 2 h nach Transfusion:

Apnoe-Phasen: _____
Episoden mit SpO₂ < 85%: _____

Kardiovaskuläres System:

RR-Bestimmung: _____
RR Systol./Diastol.: _____
MAD: _____
Hf: _____ /min
Recap-Zeit: _____ sec
Hautkolorit/Akren: _____
Temp Inku/Kind: _____ °C / _____ °C
bradykarde Episoden 2 h nach Transfusion: _____
tachykarde Episoden 2 h nach Transfusion: _____

Labor/Blutgas:

Hb: _____ g/dl Hkt: _____ % pH: _____

Messung -3-

24 h nach Transfusion

Datum: _____ Uhrzeit: _____ Band: ____ von _____ bis _____

Beatmung:

Beatmungsart: _____

Intubation: _____

Flow: _____ /l

Pin/Peep: _____

MAD: _____

f: _____ /min

FiO₂: _____ %SpO₂: _____ %**O₂-Versorgung 24 h nach Transfusion:**

Apnoe-Phasen: _____

Episoden mit SpO₂ < 85%: _____**Kardiovaskuläres System:**

RR-Bestimmung: _____

RR Systol./Diastol.: _____

MAD: _____

Hf: _____ /min

Recap-Zeit: _____ sec

Hautkolorit/Akren: _____

Temp Inku/Kind: _____ °C / _____ °C

bradykarde Episoden 24 h nach Transfusion: _____

tachykarde Episoden 24 h nach Transfusion: _____

Labor/Blutgas:

Hb: _____ g/dl Hkt: _____ % pH: _____

Anhang II: Einverständniserklärung

Klinikum Großhadern
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Direktor: Prof. Dr. Hermann Hepp

Klinikum Großhadern • Neonatologie • 81366 München Durchwahl: (089) 7095 - 2803

Ludwig _____ **LMU**
Maximilians _____
Universität _____
München _____

81377 München
Marchioninistraße 15

Telefax: (089) 7095 - 2809

Einverständniserklärung

Liebe Eltern,

wir untersuchen derzeit in einer klinischen Studie Störungen der *Hautdurchblutung* bei kranken Frühgeborenen. Hierbei wird eine Methode angewendet, die für Ihr Kind völlig unbedenklich ist. Die Messungen werden bei Kindern durchgeführt, die aufgrund einer Blutarmut eine Bluttransfusion erhalten.

Wir würden uns daher sehr freuen, wenn Sie Ihre Zustimmung zur Teilnahme Ihres Kindes an unserer Studie geben würden.

Wir legen Ihrem Baby dabei einen kleinen *Messfühler* auf die Haut. Aus diesem Sensor wird grünes Licht in das umliegende Gewebe abgegeben, das wenige Millimeter tief eindringt. Das zurückkehrende Signal wird in einem Computer analysiert und gibt Aufschluß über die Hautdurchblutung; über die Gefäße und den Blutfluß direkt unter der Haut. Die erste Messung findet vor der Bluttransfusion statt, zwei weitere Messungen erfolgen nach der Transfusion. Am Ende der Messungen werden noch die Hauttemperatur und der Blutdruck bei Ihrem Kind gemessen.

Die Untersuchung ist für Ihr Kind ohne Risiko und dauert jeweils ungefähr 10 bis 15 Minuten. Sie können selbstverständlich gerne dabei sein, wenn Sie dies wünschen. Bei einer Nichtteilnahme entstehen Ihnen und Ihrem Kind keine Nachteile.

Sollten Sie noch weitere Fragen haben, so wenden Sie sich bitte an uns.

PD Dr. O. Genzel
Oberärztin der Neonatologie
Tel 7095 2808

Hiermit erkläre ich mich einverstanden mit der Teilnahme meines Kindes an der Hautperfusionstudie (Messung der Hautdurchblutung *an der Körperoberfläche*, der Hauttemperatur und des Blutdruckes).

München, den.....
(Datum)

.....
(Unterschrift)

Ich bin damit einverstanden, daß die Daten in anonymisierter Form für wissenschaftliche Zwecke verwendet werden dürfen.

München, den.....
(Datum)

.....
(Unterschrift)

Anhang III: Daten der Mikrozirkulation

Die nachfolgenden Tabellen zeigen die ermittelten Werte der mikrozirkulatorischen Parameter von jedem einzelnen Patienten zu jedem Messzeitpunkt. Es handelt sich dabei um die Mediane der Werte aller auswertbaren Sequenzen. Eine detaillierte Aufstellung der einzelnen Werte jeder Sequenz ist als Excel-Tabelle auf der beiliegenden CD-ROM beigelegt.

	Gefäßdurchmesser [μm]			Flussgeschwindigkeit [$\mu\text{m/s}$]		
	vor Tx	2h nach Tx	24h nach Tx	vor Tx	2h nach Tx	24h nach Tx
P1	8,8	7,8	9,8	349	327	372
P2	11,8	10,8	*	428	370	*
P3	9,8	9,8	10,8	432	401	375
P4	12,3	12,7	10,8	353	275	374
P5	11,8	10,8	*	442	375	*
P6	10,8	9,8	8,8	344	320	307
P7	10,8	9,8	10,8	398	402	371
P8	11,0	10,5	8,0	298	290	259
P9	11,5	10,0	*	304	278	*
P10	10,0	10,0	10,0	334	369	355
P11	9,0	10,0	9,0	325	319	347
P12	8,8	8,8	11,3	453	444	423
P13	9,0	10,0	13,2	334	344	404
Median	10,8	10,0	10,4	349	344	371
95% Konfidenzintervall	9,7-11,2	9,4-10,7	9,2-11,3	336-402	316-378	325-392

* bei den Patienten P2, P5 und P9 fiel die 3. Messung (24 h nach Tx) aufgrund einer erneuten Transfusion am Folgetag und dem Start einer neuen Messreihe aus.

	Funktionelle Gefäßdichte [cm/cm^2]			Flussvolumen [$\mu\text{m}^3/\text{s}$]		
	vor Tx	2h nach Tx	24h nach Tx	vor Tx	2h nach Tx	24h nach Tx
P1	147	188	215	19100	19148	31693
P2	136	189	*	42160	35510	*
P3	140	176	191	31337	31095	32166
P4	122	149	170	42028	35102	31812
P5	166	216	*	51359	35366	*
P6	170	219	240	27281	23847	22189
P7	159	185	225	34627	32105	34105
P8	158	187	210	25940	27869	16058
P9	131	153	*	38272	18439	*
P10	113	142	167	24924	28451	29561
P11	136	163	183	24458	22767	25027
P12	160	211	216	29392	27779	34664
P13	142	173	202	26686	23889	46972
Median	142	185	206	29390	27870	31750
95% Konfidenzintervall	134-155	166-196	185-219	26620-37620	24230-31370	24510-36340

* bei den Patienten P2, P5 und P9 fiel die 3. Messung (24 h nach Tx) aufgrund einer erneuten Transfusion am Folgetag und dem Start einer neuen Messreihe aus.

Anhang IV: Videodemonstration

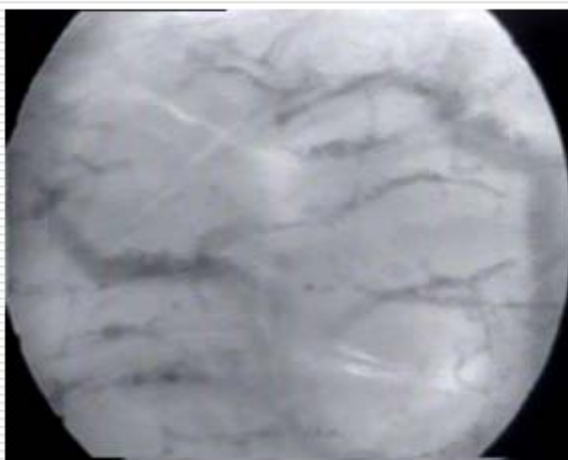
Auf der beiliegenden CD-ROM sind zur Demonstration der OPS imaging-Aufnahmen in Echtzeit zwei Sequenzausschnitte gespeichert. Diese stammen von einem 16 Tage alten Frühgeborenen (Gestationsalter 25 Wochen, Geburtsgewicht 686 g, aktuelles Gewicht 850 g) und demonstrieren den Unterschied zweier Sequenzen, die in Bezug zum Transfusionsereignis zu unterschiedlichen Zeitpunkten aufgenommen wurden: innerhalb von vier Stunden vor sowie zwei Stunden nach der Transfusion.

Die CD startet nach dem Einlegen automatisch. Die Videos können anschließend durch Mausklick aktiviert werden (siehe Abbildung unten).

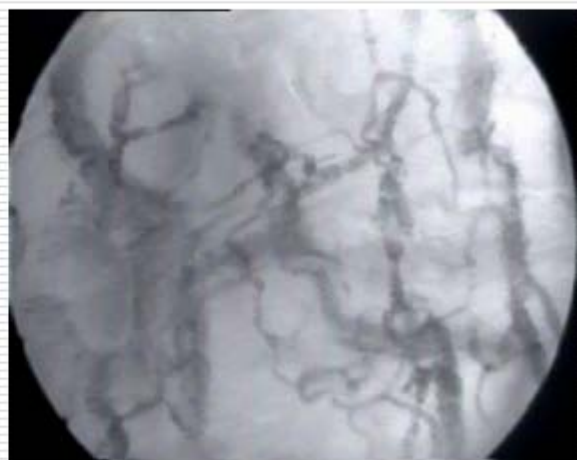
Sollte die CD nach dem Einlegen nicht automatisch starten, muss die Datei „Play.bat“ im Stammverzeichnis der CD gestartet werden (Doppelklick).

Sollten die Videos bei Mausklick nicht starten, muss der DivX-Player installiert werden. Dieser kostenlose Player ist auf der CD im Verzeichnis „DivX“ vorhanden oder kann unter <http://www.divx.com> kostenlos heruntergeladen werden.

Demonstration



vor Transfusion



2 h nach Transfusion

Danksagung

Diese Studie entstand in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. med. Frank Christ aus der Abteilung für Anästhesiologie am Klinikum Großhadern. Sie waren so freundlich, mir das Cytoscan-Gerät für meine Messungen bei den Frühgeborenen zur Verfügung zu stellen. Bei technischen oder organisatorischen Problemen stand mir Frank Christ mit Rat und Tat zur Seite. Ich möchte mich besonders bei seinen Doktorandinnen Sieglinde Schaudig und Behin Dadasch bedanken, die sich die Zeit genommen haben, mich in das CapiScope®-Programm zur Auswertung meiner Messungen einzuführen.

Weiterhin gilt mein Dank allen Ärzten sowie dem Pflegepersonal der Neugeborenen-Intensivstation I10B am Klinikum Großhadern, die mich bei der Durchführung der Studie unterstützt haben, indem sie mich über anstehende Transfusionen informierten, die Einwilligung der Eltern einholten und mir genügend Zeit und Raum gaben, meine Messungen durchzuführen. Nicht zuletzt habe ich in diesem Rahmen viel über den Umgang mit Frühgeborenen erfahren und lernen dürfen.

Danke auch den Eltern der Frühgeborenen, die in dieser nicht einfachen Situation ihr Einverständnis für die Messungen gegeben haben.

Bei Julia Strötgen möchte ich mich dafür bedanken, dass sie mich in die Anwendung von OPS imaging bei Frühgeborenen im Inkubator einführte und mir jederzeit für Fragen zur Verfügung stand.

Ebenfalls möchte ich meinen Dank an meine Familie und meinen Freund richten, die mich nicht nur während dieser Arbeit, sondern während meines ganzen Studiums mit ihrer Unterstützung begleiteten.

Mein größter Dank gebührt meiner Betreuerin Prof. Dr. med. Orsolya Genzel-Boroviczény, die mir diese Arbeit ermöglichte und mir nicht nur in fachlichen Fragen, sondern auch in persönlichen Belangen über diesen langen Zeitraum zur Seite stand. Ihr habe ich es zu verdanken, dass ich meine Arbeit im Rahmen des GNPI-Kongresses in Köln im Juli 2003 präsentieren durfte und eine Veröffentlichung in *PEDIATRIC RESEARCH* im Vol.5 2004 als Mitautorin erreichte. Die Zusammenarbeit war mir eine Ehre und hat mir immer Freude gemacht.

Lebenslauf

Verena Clauss

Franz-Joseph-Strasse 41
80801 München

geboren am 19.September 1978 in München

Schul Ausbildung

1984 – 1988	Grundschule an der Schwindstrasse, München
1988 – 1991	Willi-Graf-Gymnasium, München
1991 – 1997	Max-Born-Gymnasium, Germering
Juni 1997	Allgemeine Hochschulreife mit den Schwerpunkten Biologie und Französisch

Hochschulausbildung

1997 – 2004	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität, München
2002 – 2003	Auslandsstudium an der Université Claude Bernard, Lyon/Frankreich
08/2000	1.Staatsexamen
09/2003	2.Staatsexamen
11/2004	3.Staatsexamen

Famulaturen

03/1999	Chirurgie	Krankenhaus der Barmherzigen Brüder (Dr. Reuter), München
08-09/2001	Allgemeinmedizin	Praxis für Allgemeinmedizin und Naturheilverfahren Dr. Stecher, Germering
02-04/2002	Radiologie	Institut für Klinische Radiologie am Klinikum der Universität München-Großhadern (Prof. Dr. Reiser)
07-08/2002	Pädiatrie	Kinderklinik der Universität München im Dr. von Haunerschen Kinderspital (Prof. Dr. Reinhardt)
10-12/2002	Gynäkologie	Gynécologie Obstétrique am Centre Hospitalier Lyon-Sud (Prof. Berland), Lyon/Frankreich
01-02/2003	Pädiatrie	Endocrinologie Pédiatrique am Centre Hospitalier Lyon-Sud (Prof. David), Lyon/Frankreich

Praktisches Jahr 10/2003 – 09/2004

1.Tertial	Pädiatrie	<u>Allgemeine Pädiatrie</u> , Kinderklinik der Universität München im Dr. von Haunerschen Kinderspital (Prof. Dr. Reinhardt) <u>Neonatalogie</u> , I. Universitätsfrauenklinik Maistrasse (Prof. Dr. Genzel-Boroviczény), München
2.Tertial	Innere Medizin	Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Département de Médecine (Prof. Nicod), Lausanne/Schweiz
3.Tertial	Chirurgie	<u>Allgemein-, Visceral-, und Gefäßchirurgie</u> , Krankenhaus Dritter Orden (Dr. Pütterich), München <u>Kinderchirurgie</u> , Kinderklinik des Krankenhauses Dritter Orden (Prof. Dr. Kellnar), München

Wissenschaftliche Arbeit

2002-2005	Promotion Klinisch-experimentelle Doktorarbeit an der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe am Klinikum der Universität München Großhadern Betreut durch Prof. Dr. med. O. Genzel-Boroviczény Thema: <i>In vivo</i> Untersuchung der Mikrozirkulation anämischer Frühgeborener vor und nach elektiver Transfusion von Erythrozytenkonzentrat
07/2003	Kongressvortrag auf der 29. Jahrestagung der Gesellschaft für Neonatalogie und Pädiatrische Intensivmedizin in Köln <i>„Verbesserung der Mikrozirkulation anämischer Frühgeborener nach elektiver Transfusion“</i>
09/2003	GNPI-Reisestipendium für die Award-Session der „Young Investigators“ beim 44 th Annual ESPR Meeting in Bilbao/Spanien <i>„Elective Transfusion Leads to an Increase in Functional Capillary Density in the Skin of Anemic Preterm Infants“</i>
12/2003	Vortrag <i>„Die kongenitale muskuläre Hypotonie am Fallbeispiel dreier betroffener Geschwister“</i> im Rahmen der Fortbildung im Dr. von Haunerschen Kinderspital, München
08/2004	Vortrag <i>„Behandlungskonzepte bei der subkapitalen Humerusfraktur im Kindesalter“</i> im Rahmen der Fortbildung in der Abteilung für Kinderchirurgie, Krankenhaus Dritter Orden, München
11/2004	Publikation (Genzel-Boroviczény et al., 2004) Genzel-Boroviczény, O, F Christ, <u>V Glas</u> , 2004, <i>Blood transfusion increases functional capillary density in the skin of anemic preterm infants</i> : <i>Pediatr.Res</i> , v. 56, p. 751-755.