

Regulation der hepatischen Mikrozirkulation  
bei schrittweiser Resektion  
im Rattenlebermodell

*Christoph Hall*

Medizinische Fakultät  
der  
Universität Duisburg-Essen

Zentrum für Chirurgie  
Klinikum für Allgemein Chirurgie, Viszeral- und Transplantationschirurgie

**Regulation der hepatischen Mikrozirkulation  
bei schrittweiser Resektion im Rattenlebermodell**

Inaugural - Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
durch die Medizinische Fakultät  
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von  
Christoph Alexander Hall  
aus Villingen-Schwenningen  
2006

Dekan: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. .... K.-H. Jöckel  
1. Gutachter: Priv.-Doz. Dr. med. .... U. Dahmen  
2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. .... J.-F. Schlaak

Tag der mündlichen Prüfung: .....14. März 2007.....

Hervorgegangen aus dieser Dissertation sind zwei Posterarbeiten, die im Rahmen des vom Forschungsreferat der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen jährlich ausgerichteten Tags der Forschung vorgestellt worden sind:

**Optimierung des Videomikroskops CytoScan® für  
Mikrozirkulationsmessungen an der Rattenleber.**

Posterarbeit zur Teilnahme am Tag der Forschung, 19. November 2004.

**Mikrozirkulation während Sequentieller Partieller Hepatektomie (SPH).**

Posterarbeit zur Teilnahme am Tag der Forschung, 18. November 2005.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>7</b>
1.1 MIKROZIRKULATION NACH TEILLEBERENTFERNUNG .....	7
1.2 DEFINITION DER MIKROZIRKULATION .....	9
1.3 MESSTECHNIKEN ZUR UNTERSUCHUNG DER MIKROZIRKULATION.....	9
1.4 ORTHOGONALE POLARISATIONSSPEKTROSKOPIE (OPS).....	10
1.5 VIDEOMIKROSKOP CYTOSCAN® .....	11
1.6 GEGENWÄRTIGE LIMITATIONEN DES CYTOSCAN® ZUR MIKROZIRKULATIONSMESSUNG IM RATTENLEBERMODELL .....	11
1.6.1 Gerätelimitationen.....	11
1.6.2 Softwarelimitationen.....	11
1.7 ZIEL DER ARBEIT .....	12
1.7.1 Optimierung der Messmethodik.....	12
1.7.2 Hämodynamik im Verlauf einer schrittweisen Leberresektion .....	12
<b>2 MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>13</b>
2.1 OPTIMIERUNG DER MESSMETHODIK .....	13
2.1.1 Messprinzip der orthogonalen Polarisationspektroskopie.....	13
2.1.2 Die Geräteausstattung des CytoScan® .....	14
2.1.3 Die Softwareausstattung des CytoScan® .....	15
2.1.4 Ablauf der Messung mit dem Videomikroskop.....	15
2.1.4.1 Untersuchungsobjekte .....	15
2.1.4.2 Videoerfassung.....	15
2.1.4.3 Videodatenprozessierung .....	16
2.1.4.4. Mikrozirkulationsanalysesoftware .....	17
2.1.5 Ziel- und Anpassungsstrategie zur Optimierung der Messmethodik .....	18
2.1.5.1 Vernetzung der Videodatenprozessierung mit einem externen Computer .....	18
2.1.5.2 Vernetzung der Mikrozirkulationsanalyse mit einem externen Computer .....	19
2.2 HÄMODYNAMIK IM VERLAUF EINER SCHRITTWEISEN LEBERRESEKTION.....	21
2.2.1 Versuchsdesign.....	21
2.2.2 Vorversuche (FMR 001 - FMR 009).....	21
2.2.3 Hauptversuche (FMR 010 - FMR 015).....	21
2.2.3.1 Tiere .....	22
2.2.3.2 Messverfahren zur Mikrozirkulation .....	22
2.2.3.3 Chirurgische Techniken .....	22
2.2.3.3.1 Narkose .....	22
2.2.3.3.2 Katheteranlage .....	22
2.2.3.3.3 Resektion.....	23
2.2.3.4 Messverfahren des Blutflussvolumens.....	24
2.2.3.5 Off-line Analyse von Herz- und Atemfrequenz.....	24

2.2.3.6 Off-line Analyse der Mikrozirkulationsparameter .....	25
2.2.4 Validierung .....	30
2.2.5 Statistische Analyse .....	30
<b>3 ERGEBNISSE .....</b>	<b>31</b>
3.1 OPTIMIERUNG DER MESSMETHODIK .....	31
3.1.1 Videodatenprozessierung .....	31
3.1.1.1 Hardware .....	31
3.1.1.1.1 Speichergeschwindigkeit der Videodaten .....	31
3.1.1.1.2 Speicherkapazität für die Videodaten .....	33
3.1.1.1.3 Übertragungsgeschwindigkeit der Videodaten .....	33
3.1.1.1.4 Bildschirmdarstellung des Videosignals.....	34
3.1.1.2 Software .....	35
3.1.1.2.1 Videoerfassung.....	35
3.1.1.2.2 Videodatensicherung.....	35
3.1.1.2.3 Videodatendokumentation.....	36
3.1.1.2.4 Systembetrieb.....	36
3.1.2 Konfiguration von Aufnahme- und Videoanalysecomputer.....	37
3.1.2.1 Hardwareausstattung des Aufnahmecomputers.....	38
3.1.2.2 Peripheriegeräte des Aufnahmecomputers.....	38
3.1.2.2.1 Externe Harddisk .....	38
3.1.2.2.2 Phonokardiographiegerät .....	39
3.1.2.2.3 Lautsprecherset.....	40
3.1.2.3 Softwareausstattung des Aufnahmecomputers .....	40
3.1.2.4 Konfiguration des Videoanalysecomputers.....	41
3.1.3 Mikrozirkulationsanalysesoftware .....	42
3.1.3.1 Qualität der Videodatenanalyse.....	43
3.1.3.2 Messparameter .....	44
3.1.3.3 Messlinien .....	45
3.1.3.4 Messwertberechnung .....	46
3.1.3.5 Messwerttabelle .....	46
3.1.4 Validierung .....	47
3.1.4.1 Intra- und interindividuelle Analysevalidierung.....	47
3.1.4.2 Region of interest (ROI).....	48
3.2 HÄMODYNAMIK IM VERLAUF EINER SCHRITTWEISEN LEBERRESEKTION.....	49
3.2.1 Ergebnisse der Vorversuche (FMR 001 - 009) .....	49
3.2.1.1 Optimierung der Messdurchführung .....	49
3.2.1.2 Abbildungsqualität .....	50
3.2.2 Ergebnisse der Hauptversuche (FMR 010 - 015) .....	52
3.2.2.1 Abbildungsqualität .....	52
3.2.2.2 Versuchsablauf .....	56
3.2.2.2.1 Leberresektion.....	56
3.2.2.2.2 Versuchstiere.....	56
3.2.2.3 Vitalparameter .....	57

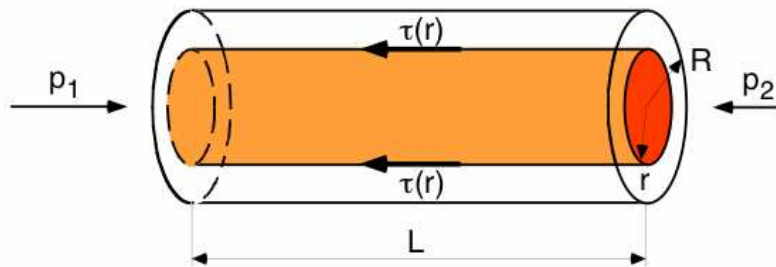
3.2.2.4	Leberdurchblutung.....	59
3.2.2.5	Mikrozirkulation.....	60
3.2.2.5.1	Sinusoidaler Durchmesser.....	60
3.2.2.5.2	Intersinusoidaler Durchmesser.....	61
3.2.2.5.3	Funktionelle Sinusoidale Dichte.....	62
<b>4</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>63</b>
4.1	STELLENWERT DER ORTHOGONALEN POLARISATIONSSPEKTROSKOPIE .....	63
4.1.1	Tierexperimentelle Mikrozirkulationsstudien .....	63
4.1.2	Klinische Mikrozirkulationsstudien .....	63
4.1.3	Methodenvergleich <i>OPS Imaging</i> und Fluoreszenzmikroskopie .....	64
4.1.3.1	Vorteile.....	64
4.1.3.2	Nachteile.....	65
4.2	OPTIMIERUNG DER MESSMETHODIK .....	67
4.2.1	Videodatenprozessierung .....	67
4.2.1.1	Hardware .....	67
4.2.1.2	Software.....	68
4.2.1.3	Messsonde .....	69
4.2.2	Mikrozirkulationsanalysesoftware .....	70
4.2.3	Validierung .....	73
4.3	HÄMODYNAMIK IM VERLAUF EINER SCHRITTWEISEN LEBERRESEKTION.....	75
4.3.1	Vitalparameter .....	75
4.3.2	Leberdurchblutung .....	77
4.3.3	Mikrozirkulation .....	79
4.3.3.1	Sinusoidaler und Intersinusoidaler Durchmesser.....	79
4.3.3.2	Funktionelle Sinusoidale Dichte.....	83
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>86</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>87</b>
<b>7</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>96</b>
7.1	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	96
7.2	ABBILDUNGEN .....	98
7.3	TABELLEN .....	100
<b>8</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>102</b>
<b>9</b>	<b>CURRICULUM VITAE .....</b>	<b>103</b>
<b>10</b>	<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>105</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Mikrozirkulation nach Teilleberentfernung

Leberteilresektionen stellen eine Therapieoption bei primären (hepatocelluläres Carcinom) oder sekundären (Metastasen) Lebertumoren dar. Nach demselben Verfahren werden Teillebertransplantate von gesunden Leberlebendspendern gewonnen.

Die partielle Hepatektomie bedeutet eine akute Reduktion des sinusoidalen Gesamtquerschnitts. Dieser Vorgang lässt sich mit der Physik fluidier Medien (Hydrodynamik) abstrahieren. Blut wird dabei als reales, d.h. inkompressibles und innerer Reibung unterworfenen Fluid betrachtet. Als suspendierte Flüssigkeit wird die innere Reibung stark von den darin verteilten Feststoffen (Blutzellen, Proteinen) bedingt.



**Abb. 1:** Strömung durch ein Rohr (aus <http://www.physik.unizh.ch/teaching/physik-b/WS0506/woche8/Slide11.png>).

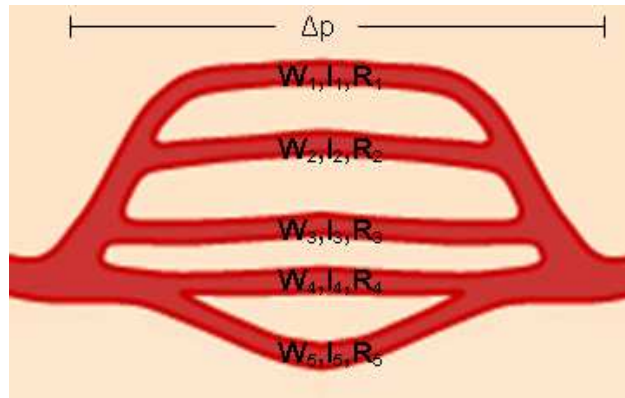
Strömt Blut mit der Viskosität  $\eta$  durch ein einzelnes Rohr (siehe Abb. 1) mit dem Radius  $r$ , der Länge  $L$  und der Druckdifferenz  $\Delta p$  kann das Durchflussvolumen  $I$  in einem bestimmten Zeitintervall  $\Delta t$  mit dem Gesetz von Hagen-Poiseuille theoretisch beschrieben werden als

$$I = \Delta V / \Delta t = (\pi r^4 / 8 \eta L) \Delta p \quad (\text{Gl. 1})$$

Der Ausdruck  $\pi r^4 / 8 \eta L$  wird auch als Strömungsleitwert  $\mathbf{G}$  und der Kehrwert als Strömungswiderstand  $\mathbf{W} = 8 \eta L / \pi r^4$  bezeichnet.

Das sinusoidale Kapillarnetz ist hydrodynamisch als ein *Strömungsnetz* mit einer Vielzahl parallel geschalteter „Röhren“ aufgebaut (siehe Abb. 2).





**Abb. 2:** Parallelschaltung von „Röhren“ (modifiziert nach <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/ppois2.html>).

Es gilt:

- (1) Die Druckdifferenz  $\Delta p$  gilt für alle parallelgeschalteten Röhren:  

$$\Delta p = W_1 l_1 = W_2 l_2 = \dots = W_n l_n.$$
- (2) Es geht keine Flüssigkeit verloren, d.h.  $I = I_1 + I_2 + \dots + I_n.$

Für das Gesamtsystem soll also gelten

$$\Delta p_{\text{ges}} = W_{\text{ges}} I \quad (\text{Gl. 2})$$

Nach dem Grundsatz, dass keine Flüssigkeit verloren geht, also

$$I_1 \text{ (nach Leberresektion)} \geq I_0 \text{ (vor Leberresektion)} \quad (\text{Gl. 3})$$

kann die chirurgischerseits reduzierte Aufnahmekapazität des sinusoidalen Kapillarnetzes für das durchströmende Blut nur über eine Zunahme des Sinusoidalradius aufgefangen werden. Schon eine Verdoppelung des Radius ( $r^4$ )( $r^4$ )= $r^{16}$  führt nach Gl. 1 zu einer Verzehnfachung des Perfusionsvolumens. Da das Sinusoidalnetz andererseits von einer unelastischen fibrösen Leberkapsel umgeben ist, ist die Aufdehnung des Sinusoidalradius endlich.

Dies lässt in Abhängigkeit vom Volumen des Gesamtresektats eine deutliche portale Einflusstauung mit Zunahme des Pfortaderdrucks bzw. der Druckdifferenz  $\Delta p$  und konsekutiver Verminderung des Pfortaderflusses erwarten.

Gleichermaßen wurde die Hypothese aufgestellt, dass die portale Einflusstauung sich retrograd aus dem reduzierten sinusoidalen Kapillarnetz fortleitet und demnach die sinusoidale Mikrozirkulation den gleichen Gesetzmäßigkeiten folgt mit linearem Anstieg des sinusoidalen Durchmessers SD.

## 1.2 Definition der Mikrozirkulation

Die Mikrozirkulation im engeren Sinne umschreibt das hämodynamische Geschehen in der terminalen Strombahn. Hierbei handelt es sich um *“den neutralen Bereich des terminalen Kapillarbettts zwischen arteriellem Influx und venösem Efflux (Wendepunkt des Kreislaufs)”* (64). Es ist der Ort intensiven Stoff- und Gasaustauschs als Grundlage für das Überleben und den Funktionserhalt aller Zellen des Organismus. Aufbauend auf über 10 Milliarden Kapillaren ( $\varnothing$ 5-9 $\mu$ m) mit einer endothelialen Oberfläche  $>0.5\text{km}^2$  (88) wird die Mikrozirkulation des endothelialen Gefäßsystems heute als das größte Organ des menschlichen Körpers (47) angesehen.

Die Mikrozirkulation im weiteren Sinne vereint zusätzlich diejenigen Gefäßabschnitte vor und nach dem terminalen Kapillarbett, die beispielsweise durch Kontraktion glatter Gefäßwandmuskelzellen oder Protrusion einzelner prominenter Endothelzellen regulativ auf die Mikrozirkulation einwirken können. Dazu gehören bezogen auf die Mikrozirkulation der Leber die Pfortader (präterminale ( $\sim\varnothing$ 400-40 $\mu$ m) und terminale ( $\sim\varnothing$ 40-25 $\mu$ m) Portalvenule, sowie inlet-Venule ( $\sim\varnothing$ 25-7 $\mu$ m)), die Leberarterie (präterminale ( $\sim\varnothing <100\mu$ m) und terminale ( $\sim\varnothing <50\mu$ m) Arteriole, sowie arterielle Kapillaren/*arterio-sinus twigs* ( $\sim\varnothing$ 10-8 $\mu$ m)) und die Lebervenen (proximaler Lebervenenabschnitt ( $\sim\varnothing$ 1000 $\mu$ m), sublobäre Schaltvenen und Zentralvenen) (17,45,68,69).

Die Besonderheit der hepatischen Mikrozirkulation liegt in der Durchmischung von sauerstoffreichem Blut aus der A. hepatica mit nährstoffreichem, aber desoxygeniertem Blut der unpaaren Bauchorgane aus der Pfortader. Das arterielle Blut durchläuft erstmals die terminale sinusoidale Strombahn, wohingegen das portalvenöse Blut bereits das terminale Kapillarbett der unpaaren Bauchorgane passiert hat. Deshalb wird das sinusoidale Kapillarbett auch als venöses Wundernetz (*Rete mirabile venosus*) bezeichnet.

## 1.3 Messtechniken zur Untersuchung der Mikrozirkulation

Zur Untersuchung der Mikrozirkulation von Organen und Geweben kann man sich direkter oder indirekter Visualisierungstechniken bedienen.

Zu den weniger genauen, indirekten Visualisierungstechniken zählt beispielsweise die Biokinetikbestimmung von zuvor applizierten Substanzen wie radioaktiv markierten Mikrokügelchen,  $^{133}\text{Xe}$  oder  $^{131}\text{Jod}$ -Albumin in Organkompartimenten oder die Laserlichteinstrahlung auf Organe und Gewebe in der Laser Doppler Flowmetry.

Mit direkten Visualisierungstechniken wird unmittelbar am Untersuchungsobjekt dessen Mikrozirkulation in Echtzeit aufgenommen und abgebildet. Nach Abschluss der Untersuchung wird die Mikrozirkulation anhand kapillär orientierter Messparameter wie dem kapillären Durchmesser oder der perfundierten Kapillardichte ausgewertet. Als klassisches Beispiel für eine direkte Visualisierungstechnik sei die Intravitalmikroskopie (IVM) mit Fluoreszenzfarbstoffen genannt. Auch die neuentwickelte orthogonale Polarisationspektroskopie (OPS) lässt sich den direkten Visualisierungstechniken zuordnen.

#### 1.4 Orthogonale Polarisationspektroskopie (OPS)

1987 wurden von Slaaf et al. (78) erstmals eine technische Modifikation zur Bilderzeugung in der Intravitalmikroskopie beschrieben. Sie setzten einen um 45° geneigten Spiegel und dahinter einen Polarisationsfilter in die optische Achse eines Mikroskops und orthogonal zu Spiegel und Polarisationsfilter zusätzlich einen Polarisator vor eine reguläre optische Lichtquelle. Entsprechend den physikalischen Gesetzen der Reflexion wurden damit am Spiegel 50% des seitlich einstrahlenden, polarisierten Lichts auf das Zielgewebe fokussiert und 50% des polarisierten wie depolarisierten, vom Zielgewebe reflektierten Lichts durchgelassen. Der hinter dem Spiegel positionierte Polarisationsfilter selektierte das Licht in der optischen Achse des Mikroskops gemäß ihrer unterschiedlichen Polarisation in bildbeleuchtendes (polarisiertes) und bilderzeugendes (depolarisiertes) Licht. Wegen der bereits von den Autoren angedeuteten Beschränkung der Mikrozirkulationsmessung auf oberflächennahe Gefäße blieb diese Neuerung eher Spezialaufgaben der Klinischen Kapillaroskopie vorbehalten (48) und fand keine Verbreitung in der IVM.

Die messtechnisch darauf aufbauende orthogonale Polarisationspektroskopie ist in ihrer aktuellen Nutzungsform im Videomikroskop CytoScan® A/R mit Neuentwicklungen der Video- und Computertechnik wie einem 10Bit-A/D-Wandler zur Videoerfassung verbunden.

Sie erscheint damit als eine ideale Kombination der Möglichkeit zur Epi-Illumination solider Organe und Gewebe wie in der IVM und der Non-Invasivität der Klinischen Kapillaroskopie zur Messung der menschlichen peripheren Mikrozirkulation.

*OPS Imaging* eröffnet mit dem Videomikroskop CytoScan® A/R zudem die Ausführung eines neuartigen sequentiellen Ansatzes der partiellen Hepatektomie am gleichen Versuchstier unter größtmöglicher Schonung des Restleberparenchyms.

## 1.5 Videomikroskop CytoScan®

1992 wurde die Firma Cytometrics® (Exton, Philadelphia, USA) zunächst mit dem Ziel gegründet, das neuartige Verfahren zur unblutigen Hämoglobinmessung mittels Reflexspektroskopie am Patientenbett zu vermarkten (51).

Im November 1999 erfolgte die Patentierung der ersten serienreifen Version eines Videomikroskops, welches mit orthogonaler Polarisationspektroskopie arbeitet, dem CytoScan® E-II durch Cytometrics®.

Im August 2000 präsentierte Cytometrics® das verbesserte Videomikroskop CytoScan® A/R (im folgenden VM genannt) als ein technisch erweitertes Nachfolgemodell mit integrierter Videoaufzeichnungsfunktion (18).

## 1.6 Gegenwärtige Limitationen des CytoScan® zur Mikrozyklationsmessung im Rattenlebermodell

Während erster Vorarbeiten mit dem VM zur Mikrozyklationsmessung im Rattenlebermodell traten geräte- und softwarebedingte Limitationen des Systems zutage.

### 1.6.1 Gerätelimitationen

Hardwarebedingt waren die zeitintensive interne Videospeicherung, die unterdimensionierte Speicherkapazität, die langsame externe Datenübertragung und die schlechte Darstellung des Videosignals am Bildschirm des VM problematisch.

### 1.6.2 Softwarelimitationen

Softwarebedingt waren die kurzdauernde Videoerfassung, die selbsttätige Videodatensicherung, die oberflächliche Videodatendokumentation und der unzuverlässige Systembetrieb der Betriebssystemsoftware bzw. der Mikrozyklations-Analysensoftware 1.0 des VM ungenügend.

## 1.7 Ziel der Arbeit

Ziel der Arbeit war es, die Regulation der Leberdurchblutung und der Mikrozirkulation mit einer auf dem CytoScan® A/R basierenden, jedoch optimierten Messmethodik im Verlauf einer schrittweisen Leberresektion im Rattenlebermodell zu untersuchen.

### 1.7.1 Optimierung der Messmethodik

Zur effektiveren Untersuchung der Mikrozirkulation sollte die Aufnahmetechnik des VM und die Videodatenanalyse optimiert werden. Dafür sollte zunächst mit einer System- und Softwareanalyse der Ist-Zustand geklärt werden (Ist-Analyse). Dadurch wird zweitens die Formulierung eines Soll-Zustandes möglich (Soll-Analyse). Die anschließende Angliederung des Ist-Zustands an den Soll-Zustand bezieht die Hardware wie auch die Software des VM mit ein.

Mit Verbesserung des Ablaufs verschiedener Datenverarbeitungsschritte nach dem Einlesen des Videosignals zur Steigerung der Aufnahmequalität sollte zusammen mit der Verbesserung der Videodatenanalyse eine gesteigerte Analysequalität erzielt werden.

### 1.7.2 Hämodynamik im Verlauf einer schrittweisen Leberresektion

- (1) Primäres Ziel war die Etablierung des zu optimierenden Messverfahrens zur Mikrozirkulationsmessung im Rattenlebermodell. Dazu sollte in verschiedenen Durchführbarkeitsstudien das Messverfahren an leberspezifische Besonderheiten angepasst werden. In dieser Phase sollte die zu optimierende Messmethodik ausgetestet und problembereinigt werden.
- (2) Zweitens sollte mit dem etablierten Messverfahren die Regulation der Leberdurchblutung und der Mikrozirkulation während sequentieller partieller Hepatektomie einschließlich Kaudatusresektion bei gleichzeitigem Monitoring der Vitalparameter ausgemessen werden. Anhand der bekannten Hyperperfusion der Restleber nach partieller Hepatektomie wurde die Hypothese aufgestellt, dass der sinusoidale Durchmesser ansteigt, hingegen die Mikrozirkulationsparameter funktionelle Sinusoidaldichte und intersinusoidaler Durchmesser gegenläufig dazu abfallen. Um die Regulation der Restleberdurchblutung zu visualisieren und zu analysieren, sollte die Mikrozirkulation der Leber jeweils nach sequentieller Reduktion des Lebervolumens und damit der Endstrombahn dokumentiert werden. Makrohämodynamische Einflüsse auf die Restleberdurchblutung sollten durch das Kreislaufmonitoring nachgewiesen werden.

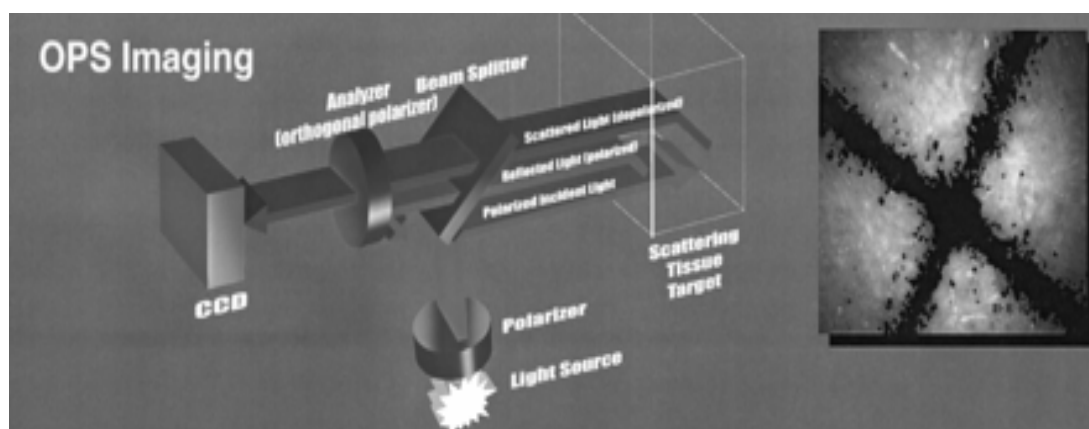
## 2 Material und Methoden

### 2.1 Optimierung der Messmethodik

#### 2.1.1 Messprinzip der orthogonalen Polarisationspektroskopie

Das VM sendet linear polarisiertes Licht einer Wellenlänge (548nm) durch ein Objektiv in das zu untersuchende Gewebe (siehe Abb. 3). Ein Teil der Lichtstrahlen wird von der Oberfläche zurück zur Kamera reflektiert. Ein der Kamera vorgelagerter Polarisationsfilter (*analyzer*) verhindert, daß das reflektierte und noch immer polarisierte Licht die Kamera erreicht. Ein anderer Teil der Lichtstrahlen dringt bis zu 300µm tief in das Gewebe ein, wird dabei vielfach gestreut und nach mindestens 10 Streuungsereignissen (22) depolarisiert. Durch diese Depolarisation entsteht eine virtuelle Lichtquelle, die die Strukturen des Gewebes quasi als Hintergrundbeleuchtung erhellt. Dieses Phänomen wird als Epi-Illumination bezeichnet. Der depolarisierte Anteil passiert den *analyzer* und wird von der Kamera aufgenommen.

Indem die Wellenlänge auf 548nm festgelegt worden ist, einem Bereich im Lichtspektrum, wo Oxy- und Desoxyhämoglobin Licht gleich stark absorbieren (isobestischer Punkt), erscheint der Blutfarbstoff dunkler als das umgebende Gewebe. Einzelne oder aggregierte Erythrozyten wirken somit als ein natürliches Kontrastmittel. Gefäße wie beispielsweise Kapillaren, die physiologischerweise nicht immer Erythrozyten enthalten müssen, können mit dem VM dagegen nicht kontinuierlich dargestellt werden. Auch bleiben die Gefäßwände selbst für den Betrachter unsichtbar.



**Abb. 3:** Messprinzip der orthogonalen Polarisationspektroskopie (aus Nadeau et al. (52)).

## 2.1.2 Die Geräteausstattung des CytoScan®

Im einzelnen besteht das VM (siehe Abb. 4) aus folgenden Komponenten (siehe Tab. 1):

- Computereinheit
- Kombinierte Kontroll- und Bedieneinheit mit Tastatur, Maus und Monitor
- Videoeinheit mit Kamera und Lichtquelle
- Fahrbares Stativ



**Abb. 4:** CytoScan® Video-mikroskop.  
(Quelle: www.lekam.co.uk)

**Tab. 1:** Technische Beschreibung des Videomikroskops (nach (11)).

Bestandteile	Spezifikationen
<b>Prozessor</b>	Intel® Pentium® III mit 550 MHz
<b>Arbeitsspeicher</b>	256 MB RAM
<b>Massenspeicher</b>	6.4 GB SCSI Festplattenlaufwerk
<b>Video-Erfassung</b>	Cytometrics® 10-Bit A/D-Wandler
<b>Monitor</b>	10.4 Zoll (28cm) Aktiv-Matrix Flüssigkristall Monitor
<b>Eingabegeräte</b>	angeschlossenes <u>Mauszeigegerät</u> auf stationärem Tablett; im OPS Bildschirmgerät integrierte <u>Tastatur</u> in vergossenflexibler Ausführung
<b>CytoScan®-Sonden</b>	5xSonde mit 1mm Bilddurchmesser 10xSonde mit 0.5mm Bilddurchmesser
<b>Cytolens®-Bildsondenabdeckung</b>	Einweg-Kunststoffkappe über der Messsondenspitze mit planer, kreisförmiger Kontaktfläche (0.502cm <sup>2</sup> ) und optischer Präzisionslinse
<b>S-Video Out-Videoanschluß</b>	S-Video-Ausgang (PAL): verarbeitetes S-Video-Signal mit separater Übertragung der Helligkeits- und Farbinformation
<b>RS-170 Camera Out-Videoanschluß</b>	RS-170 Kamera-Ausgang (NTSC): unverarbeitetes schwarz-weiß-kompatibles Verbundsignal

Die Computereinheit des VM ist ein IBM®-PC kompatibler Computer mit 550 MHz schnellem Pentium® III Prozessor, 256 MB RAM Arbeitsspeicher und einer 6.4 GB grossen SCSI-Festplatte. Der Rechner ist in einem Gehäuse am Fuß des VM

untergebracht und hat eine Verbindung zur Kontroll-und Videokameraeinheit. Die Stromversorgung erfolgt über ein Netzteil, welches den Anforderungen zum Einsatz in der Klinik entspricht und zusätzlich mit einem 20-Minuten-Notstromakkusystem abgesichert ist.

Der Rechner besitzt keine Schnittstellen für externe Speichermedien wie CD-Schreibgeräte oder Diskettenlaufwerke. Ein seitlich eingebautes Flash-Card Lesegerät dient gegebenenfalls zur Aufspielung einer Betriebssystemaktualisierung.

Auf der Rückseite befinden sich folgende Anschlüsse:

- 100 Mbit/s Netzwerkanschluss (RJ-45)
- Kamera-Schnittstelle für die Aufzeichnung unverarbeiteter Videosignale (RS-170, NTSC-Format)
- S-Video-Anschluß für die Aufzeichnung verarbeiteter Videosignale (S-Video-out, PAL-Format)

### 2.1.3 Die Softwareausstattung des CytoScan<sup>®</sup>

Das VM wird mit vorinstallierter Software geliefert. Diese umfasst das Betriebssystem (Wind River<sup>®</sup> VxWorks<sup>®</sup> Version 1.0, Wind River Systems Inc., Alameda, Kalifornien, USA), die Analysesoftware (Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0, Cytometrics<sup>®</sup>, Exton, Philadelphia, USA) und Software zur Steuerung und Datenakquisition.

### 2.1.4 Ablauf der Messung mit dem Videomikroskop

#### 2.1.4.1 Untersuchungsobjekte

Laut Gerätehandbuch ist das VM für die visuelle Darstellung und Kennzeichnung des Mikrokreislaufsystems an der Oberfläche fester Organe und anderer Objekte wie z.B. Schleimhautgewebe vorgesehen (11).

#### 2.1.4.2 Videoerfassung

Der grundlegende Ablauf der Videoerfassung mit dem VM ist im folgenden schrittweise wiedergegeben:

- (1) Einschalten des VM (*On/Off-Schalter* am Bildschirm-Tastenfeld)
- (2) Aufforderung des Systems zum Austauschen der Cytolens<sup>®</sup>



- (3) Abwarten der anschließenden Messondenkalibrierung
- (4) Anpassen der Standardeinstellungen wie Belichtung, angeschlossene Messsonde (5x/10x), Bilderfassungs-Modus ("Einzel", "Video", "Intervall") und Fokus (*F2 Setup-Taste*)
- (5) Wechseln in das "Patienten"-Register (*Patient-Taste* am Bildschirm-Tastenfeld)
- (6) Eintragung der "Patienten"-Informationen, erst dann ist das VM zur Videoerfassung bereit
- (7) Setzen der Messsonde auf die Zielstruktur
- (8) Fixation der Messsonde über der Zielstruktur nur manuell durch stabile Positionierung des Untersuchers (Arme) oder des Patienten (Zähne, bei Mikrozirkulationsmessung der Sublingualmukosa) möglich
- (9) Fokussierung der Zielstruktur (*Pfeil oben/Pfeil unten-Tasten* der alphanumerischen Tastatur)
- (10) Videoerfassung (*Erfassungs-Taste* am Bildschirm-Tastenfeld)
- (11) Wiedergabe einer Aufnahme über das "Patienten"-Register (*Patient-Taste* am Bildschirm-Tastenfeld) zur Vermessung mittels der geräteinternen Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0

#### 2.1.4.3 Videodatenprozessierung

In der praktischen Erprobung wies das ursprüngliche VM-Betriebsverfahren zur Videoerfassung und –prozessierung einige Limitationen auf. Deswegen wurde eine detaillierte System- und Verfahrensanalyse angewendet (Ist-Analyse) und der Anforderungskatalog an die Optimierung definiert (Definition des Soll-Zustands). Basierend auf dieser Analyse wurden die Optimierungsziele im einzelnen formuliert und die Adaptierungsschritte festgelegt.

Folgende Analysenmerkmale zur Videodatenprozessierung wurden berücksichtigt:

##### (I) Hardware

- (a) Speichergeschwindigkeit der Videodaten
- (b) Speicherkapazität für die Videodaten
- (c) Übertragungsgeschwindigkeit der Videodaten
- (d) Bildschirmdarstellung des Videosignals

##### (II) Software

- (e) Videoerfassung
- (f) Videodatensicherung
- (g) Videodatendokumentation
- (h) Systembetrieb

#### 2.1.4.4 Mikrozirkulationsanalysesoftware

Die Mikrozirkulations-Analysesoftware 1.0 von Cytometrics® wurde speziell für das Betriebssystem des VM programmiert und war nicht weiter dokumentiert.

Für die Bildanalyse waren zunächst im Echtzeit-Video-Modus Parametereinstellungen wie Koordinatenangaben eines Interessenbereichs (ROI) in Mikrometer- oder Pixel-Einheiten nötig.

Die eigentliche Analyse fand im Wiedergabe-Modus statt. Hierzu mußte zunächst ein ausgewähltes Standbild einer zuvor geöffneten Bildersequenz segmentiert werden. Die Zusammenfassung von Pixeln anhand definierter Eigenschaften (hier der Grauwerte) zu Objekten wird in der Bildanalyse als *Segmentierung* bezeichnet. Sie ist eine Klassifizierungsaufgabe auf Pixelebene, wobei das Bild in Objektpixel und Nicht-Objektpixel getrennt wird und die computerunterstützte Erkennung von Zielobjekten ermöglicht. Durch die Analyse der Grauwertintensitäten markierte das Programm die erythrozytenhaltigen und deswegen dunkel gefärbten Gefäße. Ausgehend vom prozentualen Graustufenverhältnis wurde derjenige Segmentier-Schwellenwert ermittelt, welcher vom Algorithmus zur Differenzierung der Blutgefäße vom Bildhintergrund benötigt wurde.

Nach der Berechnung und Anzeige der Gefäßmaske mussten die bei der Mikrozirkulationsanalyse verwendeten, sogenannten Messpunkte als kleine blaue Quadrate über der Gefäßmaske mit dem angeschlossenen Mauszeigergerät positioniert werden. Als Analyse galten die an den Messpunkten ermittelten Messdaten. Diese Messdaten waren schon statistisch vorverarbeitet und nach Durchschnitts-, Mindest-, Maximal- und Medianwert sowie Standardabweichung gelistet.

Folgende Bildanalyse-Parameter wurden mit der Mikrozirkulations-Analysesoftware 1.0 berechnet:

- Gefäßdurchmesser (in  $\mu\text{m}$ )

Der Durchmesser aller innerhalb der Messquadrate ermittelten Gefäße.

- Gefäßintensität (in Zählwerten)

Der Pixelwert aller innerhalb der Messquadrate ermittelten Gefäße.

- Hintergrundintensität (in Zählwerten)

Der Pixelwert des Hintergrunds, der die innerhalb der Messquadrate ermittelten Gefäße umgibt.

– Optische Dichte der dunklen Gefäßstrukturen (in Extinktionseinheiten)

Der Schwärzungsgrad aller innerhalb der Messquadrante ermittelten Gefäße als ein Maß der Intensität eines Gefäßes im Vergleich zur Helligkeit des Hintergrunds.

Im Rahmen der ersten Vorarbeiten mit dem VM wurde auch die Leistungsfähigkeit der Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0 detailliert überprüft (Ist-Analyse). Dem schloss sich die Benennung eines wünschenswerten Soll-Zustands an (Soll-Analyse). Basierend auf dieser Analyse wurden wiederum die Optimierungsziele und die Anpassungsschritte festgelegt.

Die Bestandsaufnahme der Mikrozirkulationsanalyse wurde anhand folgender Kriterien unternommen:

- (a) Qualität der Videodatenanalyse
- (b) Messparameter
- (c) Messlinien
- (d) Messwertberechnung
- (e) Messwerttabelle

## 2.1.5 Ziel- und Anpassungsstrategie zur Optimierung der Messmethodik

### 2.1.5.1 Vernetzung der Videodatenprozessierung mit einem externen Computer

Eine Veränderung innerhalb des VM kam aufgrund der geschlossenen Architektur der Computereinheit und der Steuerungs- und Datenakquisitionsoftware nicht infrage. Einzig durch die Auslagerung mehrerer Datenverarbeitungsschritte schienen die diversen Systemlimitationen des VM durchbrochen werden zu können. Da das VM auf der Rückseite des Rechnergehäuses einige analoge und digitale Schnittstellen aufweist, bestand die naheliegendste Lösung der messmethodischen Probleme in einer Vernetzung mit einem selbstkonfigurierten und zusammengebauten Videoakquisitions-Computer (im folgenden **Aufnahmecomputer** genannt).

Bei der Auswahl der geeigneten Computerkomponenten wurden Kompatibilität der Hardwarebauteile untereinander, Aktualisierbarkeit der Treibersoftware für diese Bauteile und größtmögliche Tauglichkeit für die Aufgaben der schnellen Videoerfassung angestrebt.

Im einzelnen wurden folgende Anschaffungskriterien formuliert:

(a) Kompatibilität

- Einbau nur frei auf dem Markt erhältlicher Standardbauteile.
- Fehler- und verlustfreie Kommunikation der eingesetzten Hardwarebauteile untereinander durch Einbau herstellergeprüfter Komplementärprodukte.

(b) Stabilität

- Stabile und leistungsfähige Systemkonfiguration zur authentischen und möglichst unkomprimierten Aufzeichnung sowie Festplattenabspeicherung der originalen, mehrere 100 MB grossen Videosequenzen.
- Unbehindertes Zusammenspiel der Hardwarekomponenten für die Übermittlung der Videodatenpakete ohne Aufzeichnungsfehler wie Einzelbildverluste (*frame drops*) durch Auswahl leistungsäquivalenter Bauteile.

(c) Bedienungsfreundlichkeit

- Hohe technische Akquisitionsqualität der Videodaten durch Installation einer aktuellen Version aus der Microsoft® Windows® Betriebssystemreihe zur fehlerbereinigten Ausführung wichtiger Funktionen wie Verwaltung der Systemressourcen (Arbeitsspeicher, Speicherdateigröße) und Gerätetreiber oder Parallelbetrieb mehrerer Programme (*Multitasking*).
- Bedienungsfreundliche und gleichzeitig übersichtliche Protokollierung aller Daten- und Messwerte durch Auswahl einer geeigneten Videografikkarte mit Unterstützung eines Dual-Monitor-Betriebs.

(d) Schnelligkeit

- Schnelle Videodatenakquisition pro Sekunde Aufnahmedauer durch sorgfältige Konfiguration des Videoakquisitionscomputers mit einem schnellem GHz-Prozessor und einem hochgetakteten Grafikkartenprozessor, jeweils kombiniert mit ausreichend Arbeitsspeicher.
- Schneller Videodatentransfer (in MB/s) zur Archivierung der Videosequenzen auf einem externen Massenspeicher.

#### 2.1.5.2 Vernetzung der Mikrozirkulationsanalyse mit einem externen Computer

Da Akquisition und Analyse mit dem VM geräteintern so eng miteinander gekoppelt sind, kann die Videodatenauswertung nur so gut sein wie die hardwarebedingten

Systemlimitationen es der Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0 gestatten. Seit Markteinführung des VM ist keine weitere Softwareaktualisierung zur Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0 herausgebracht worden.

Um die Leistungsfähigkeit der Mikrozirkulationsanalyse entscheidend zu verbessern, sollte mit einer offenen und geräteunabhängigen Analysesoftware ein wesentlich höherer Informationsgewinn erzielt werden. Wegen der unbeeinflussbaren System- und Softwarelimitationen des VM war folglich auch die Mikrozirkulationsanalyse nur durch deren Auslagerung auf einen externen Computer erweiterbar.

Die Auswahl der geeigneten Analysesoftware unterlag folgenden Kriterien:

(a) Kompatibilität

- Vollkompatible Analysesoftware zu der als Schnittstelle zwischen Software und VM eingebundenen Frame-Grabber-Karte zur externen Ableitung des RS-170-Videosignals (NTSC) des VM. Idealerweise ist Akquisition und Analyse der Videodaten in einem Softwarepaket vereinigt.
- Problemlos lauffähige Analysesoftware ohne spezielle Hardwareumgebung auf einem normal erhältlichen oder konfigurierbaren PC. Idealerweise spielt sich die Akquisition und Analyse der Videodaten auf demselben PC ab.

(b) Stabilität

- Sicher stabiler Dauerbetrieb der Analysesoftware.
- Funktionsstabile Analysesoftware durch regelmäßige Updates.

(c) Bedienungsfreundlichkeit

- Übersichtliche Bedienung über Funktionssymbole und einfache Menüstrukturen.
- Rasche Problembhebung durch kompetenten Support.
- Höhergradige automatisierte Objekterkennung der Analysesoftware bei voller Entscheidungsfreiheit über die Messlinienplatzierung.

(d) Genauigkeit

- Valide, genaue und reproduzierbare Mikrozirkulationsanalyse.

(e) Qualität

- Hohe Analysequalität durch standardisierte statische wie dynamische Messparameter.

## 2.2 Hämodynamik im Verlauf einer schrittweisen Leberresektion

### 2.2.1 Versuchsdesign

Die Mikrozirkulation der Rattenleber wurde während schrittweiser Leberresektion bei extensivem Monitoring der Vitalparameter und der Leberdurchblutung untersucht (siehe Tab. 2). Aufgrund der schrittweisen Leberresektion mit zunehmend kleinerer Restleber wurde angestrebt, mindestens eine Videosequenz mit hoher Bildqualität für jeden Beobachtungszeitpunkt aufzunehmen. Von allen aufgenommenen Sequenzen wurde die Sequenz mit der besten Qualität für die Analyse ausgewählt.

**Tab. 2:** Übersicht über die erfassten Messvariablen und der Untersuchungszeitpunkte.

Hämodynamik	Mikrozirkulation	Untersuchungszeitpunkte
<b>Blutdruck</b> - Systolischer arterieller Druck - Diastolischer arterieller Druck - Arterieller Mitteldruck - Zentralvenöser Druck - Portalvenöser Druck - Druck der infrahepatischen V. cava	Sinusoidaler Durchmesser SD ( $\mu\text{m}$ )	nach Laparotomie
	Intersinusoidaler Durchmesser ISD ( $\mu\text{m}$ )	nach Resektion des linken Leberlappens
	Funktionelle Sinusoidale Dichte FCD ( $\text{cm}^{-1}$ )	nach Resektion des mittleren Leberlappens
	Sinusoidale Blutflussgeschwindigkeit BFV ( $\mu\text{m/s}$ )	nach Resektion des rechten Leberlappens
<b>Blutfluss</b> - Pfortader - A. hepatica - infrahepatischen V.cava Herzfrequenz Atemfrequenz Körpertemperatur		nach Resektion des Caudatus superior
		nach Resektion des Caudatus inferior
		(Messung des paracavalen Leberrudiments)

### 2.2.2 Vorversuche (FMR 001 - FMR 009)

Ziel der Vorversuche war es, das optimierte Messverfahren zur Mikrozirkulationsmessung im Rattenlebermodell zu etablieren und auszutesten. Die Versuche wurden als schrittweise Leberresektionsreihen zunächst bis 90%-PH (n=3), dann bis 97%-PH (n=5) geplant.

### 2.2.3 Hauptversuche (FMR 010 - FMR 015)

Ziel der Hauptversuche (n=6) war die vollständige Datenakquisition und -dokumentation während schrittweiser Leberresektion zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Resektionsausmaß bzw. Volumen der Restleber und der Regulation der hepatischen Mikrozirkulation.

### 2.2.3.1 Tiere

Verwendet wurden männliche Lewis-Ratten von 275-295g (Charles River<sup>®</sup>, Sulzfeld, Deutschland). Die Ratten wurden artgerecht in Gruppen von 4-5 Tieren pro Käfig in klimatisierten Tierställen unter 12-stündigem Hell-Dunkel-Zyklus gehalten. Sie wurden mit Standard-Trockenfutter (Norlin<sup>®</sup> 20ZH5) und Leitungswasser ad libitum versorgt. Sämtliche Eingriffe an den Versuchstieren erfolgten in Übereinstimmung mit den Vorschriften des deutschen Tierschutzgesetzes (25.05.1998).

### 2.2.3.2 Messverfahren zur Mikrozirkulation

Zur Videoerfassung wurde ausschließlich die 10x-Messsonde eingesetzt. Die Cytolens<sup>®</sup>-Fassung über der Messsondenspitze wurde unmittelbar vor Messsondenkontakt mit der Leberoberfläche randständig mit Cyanacrylatkleber Roti-Coll<sup>®</sup> 1 (Carl Roth GmbH+Co., Karlsruhe, Deutschland) bestrichen. Die Videoakquisition und –prozessierung erfolgte gemäss der optimierten Messmethodik (Beschreibung siehe 3.2.1.1.).

### 2.2.3.3 Chirurgische Techniken

#### 2.2.3.3.1 Narkose

Die Ratten wurden in Isofluraninhalationsnarkose operiert (Sigma-Delta Vernebler, UNO<sup>®</sup>, Holland mit 2.5-3.0%-Isofluran bei Sauerstoff-Fluss von 500ml/min). Zur Aufrechterhaltung einer physiologischen Körpertemperatur diente die beständige perioperative Bestrahlung mit einer normalen, etwa 40cm über der Ratte justierten OP-Lampe (HERAEUS<sup>®</sup> Hanaulux<sup>®</sup> OP-Lampe, Siemens<sup>®</sup> AG Medical Solutions<sup>®</sup>, Deutschland).

#### 2.2.3.3.2 Katheteranlage

Zunächst erfolgte die Anlage der extraabdominellen Katheter und Sonden:

1. Arterielle Druckmessung (in mmHg) durch Katheterisierung der rechten Arteria carotis communis mit einem PE-Katheter  $\varnothing$ 0.6mm (Portex<sup>®</sup> PE-50 catheter, England).

2. Zentralvenöse Druckmessung (in mmHg) durch Katheterisierung der rechten Vena jugularis externa mit einem PE-Katheter  $\varnothing$ 0.6mm (Portex<sup>®</sup> PE-50 catheter, England).
3. Intraoperative Aufzeichnung des Herz- und Atemfrequenzmusters durch Fixation eines selbstgebauten Phonokardiographiegeräts prästernal mit einem um den Rattenthorax laufenden Gummiband (Kondensatormikrofon, Conrad<sup>®</sup> Electronic GmbH, Deutschland).
4. Messung der Körpertemperatur (in °C) durch rektale Katheterisierung mit einem mon-a-therm<sup>®</sup>-Thermometer 12CH (A. Mallinckrodt<sup>®</sup>, Mexiko).

Nach querer Oberbauchlaparotomie wurden die intraabdominellen Katheter eingesetzt:

1. Portalvenöse Druckmessung (in mmHg) durch Katheterisierung der Vena ileocaecalia mit einem PE-Katheter  $\varnothing$ 0.6mm (Portex<sup>®</sup> PE-50 catheter, England).
2. Infrahepatische Kavadruckmessung (in mmHg) durch Katheterisierung der Vena ileolumbalis dextra mit einem PE-Katheter  $\varnothing$ 0.6mm (Portex<sup>®</sup> PE-50 catheter, England).

Für die Anzeige der invasiven Druckmessung des zentralvenösen sowie des systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Drucks sowie der Anzeige der Körpertemperatur wurden die Messkatheter mit einem Sirecust<sup>®</sup> 403P-Monitor (Siemens<sup>®</sup>, Deutschland) verbunden. Es folgte die Überprüfung einer Messwertausgabe an dem angeschlossenen Messgerät.

Nach Abschluss der Katheteranlage wurde eine Äquilibrationszeit von etwa 10 Minuten eingehalten.

#### 2.2.3.3.3 Resektion

Nach Eröffnung des Abdomens und vor Beginn der Hepatektomien fanden die ersten Videoaufzeichnungen mit dem VM auf dem linkslateralen Leberlappen sowie die Protokollierung sämtlicher Messparameter statt. Nach Resektion des linken (30%-ige PH) und des medianen Leberlappens (70%-ige PH) wurden jeweils erneut alle Parameter gemessen. Es folgte die Resektion des rechten Leberlappens (90%-ige PH) und ein weiterer Messdurchlauf. Die 95%-ige PH wurde nach Resektion des Caudatus superior erreicht, die 97%-ige PH mit jener des Caudatus inferior. Obligat war wiederum jeweils eine vollständige Parameterdokumentation.

Unmittelbar nach Beendigung des letzten Untersuchungszeitpunkts wurden die Tiere exsanguiniert.

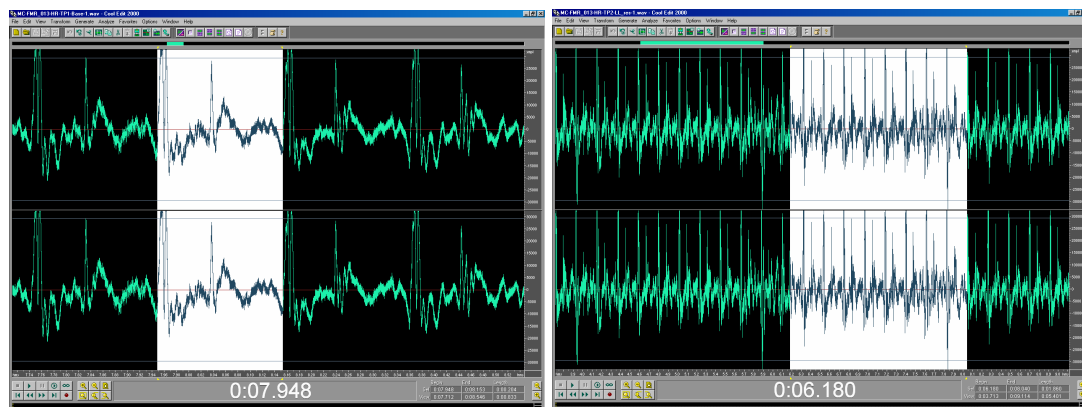


#### 2.2.3.4 Messverfahren des Blutflussvolumens

Die Messung der Blutflussgeschwindigkeit (in ml/min) des hilären Portalvenenabschnitts, der hilusnahen Leberarterie und der infrahepatischen Hohlvene unmittelbar vor Eintritt in deren hepatischen Anteil geschah dopplersonographisch (Transonic® T106 small animal blood flow meter, Transonic® Systems Inc., USA) unter direkter Messwertanzeige an der Messtation des Flowmeters. Nach Einbringen des Flowmeters um das Gefäß sendet ein piezoelektrischer Kristall als Signalgeber innerhalb des Flowmeters Ultraschallsignale durch das Gefäß hindurch, welche auf der gegenüberliegenden Seite des Flowmeters von einem Reflektor zurückgeworfen werden. Die von der Schallwelle zurückgelegte Wegstrecke äußert sich als Phasenverschiebung über der Zeitachse in Abhängigkeit von der Blutflussgeschwindigkeit und der Gefäßbreite.

#### 2.2.3.5 Off-line Analyse von Herz- und Atemfrequenz

Herzfrequenz (in Schlägen/min) und Atemfrequenz (in Atemzügen/min) wurden off-line aus zuvor über die Mikrofon-Schnittstelle des Aufnahmecomputers eingelesenen Audiosignalen mit der Audioanalysesoftware Cool-Edit2000® (Syntrillium® Software Corporation, USA) bestimmt.



**Abb. 5:** FMR-013-Untersuchungszeitpunkt 1 (vor PH) links und FMR-013-Untersuchungszeitpunkt 2 (nach 30%-PH) rechts. Ansicht zweier typischer Schallmuster in der Herz- und Atemfrequenzanalyse eines einzelnen Herzschlags (li.) und eines vollständigen Atemzugs (re.)

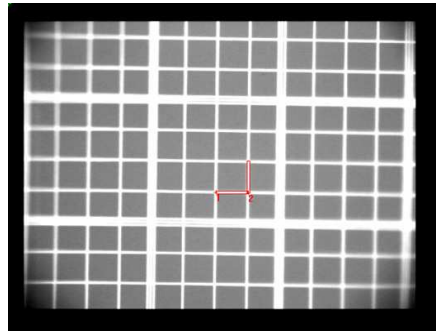
Ein typisches Herzfrequenzmuster zeigt Abbildung 5 (li.). Dieses repräsentiert jeweils die normale Abfolge eines Herzschlags und wiederholt sich regelmäßig über die gesamte Audiosequenz. Der 1.Herzton wird von den ventrikulären Schwingungen durch Myokardanspannung um das inkompressible enddiastolische Füllungsvolumen der linken

Herzkammer produziert. Man erkennt ihn anhand der beiden Frequenzspitzen etwa im ersten Drittel des Schlagschalls (Systole). Der 2. Herzton entsteht durch die Schwingungen bei Aorten- und Pulmonalklappenschluß und liegt im Schallwellenmuster zwischen der zweiten Frequenzspitze und dem Beginn der nächsten identischen Herzschlagsequenz (Diastole). Nach Setzen der Markierungen des Schallwellenmusters eines Herzschlags wird von Cool-Edit® die zeitliche Länge dieses Audiosequenzausschnitts angegeben.. Die mittlere Schlagzahl pro Minute (=60 Sekunden) erhält man durch Division dieser 60 Sekunden mit der ausgemessenen Audiosequenzlänge. Insgesamt werden die Schallwellenmuster von 10 Herzschlägen zufällig verteilt über die gesamte Audiosequenz markiert und daraus die mittlere Schlagzahl pro Minute errechnet.

Abbildung 5 (re.) stellt stellvertretend den Ausschnitt eines typischen Atemfrequenzmusters vor. Das aufgezeichnete Atmungsgeräusch während der Inspiration macht den ersten, längeren Teil des Schallwellenmusters aus. Die zunehmende Ausdehnung des Thorax bewirkt eine immer besser werdende Schallfortleitung, was in der Zunahme der Frequenzamplitude zum Ausdruck kommt. Die anschließende Expiration verdeutlicht der zweite, kürzere Teil des Schallwellenmusters und ist als ruckartiges Ausatmungsgeräusch meist sehr prägnant hörbar. Die weitere Analyse ähnelt derjenigen zur Bestimmung der Herzfrequenz mit ebenfalls 10 zufällig ausgewählten Markierungen und Angabe der Atemzüge bezogen auf 60 Sekunden.

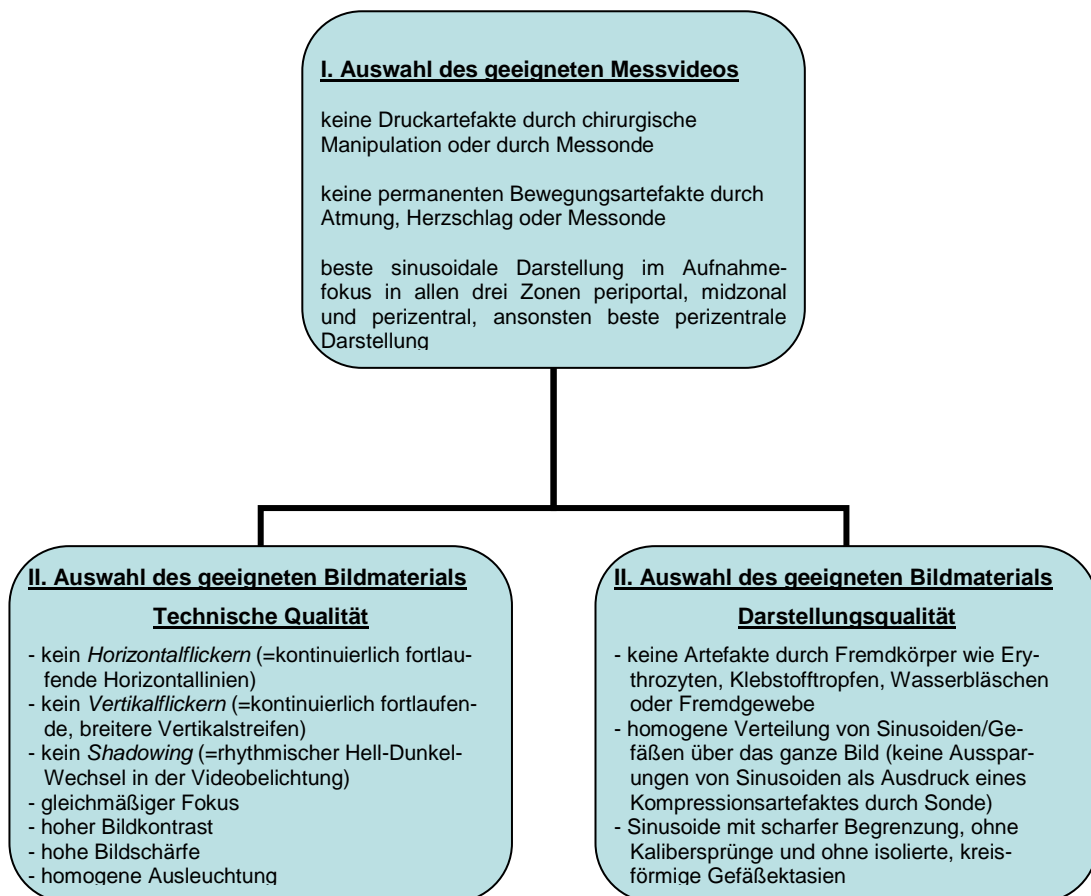
#### 2.2.3.6 Off-line Analyse der Mikrozirkulationsparameter

Sinusoidaler und Intersinusoidaler Durchmesser (in  $\mu\text{m}$ ), Sinusoidale Blutflussgeschwindigkeit (in  $\mu\text{m/s}$ ) und Funktionelle Sinusoidale Dichte (in  $\text{cm}^{-1}$ ) des Videodatenmaterials wurden postoperativ am Videoanalysecomputer mit der Mikrozirkulationsanalysesoftware CapiScope® (KK-Technology®, Bridleways, Devon, England) bestimmt. Für die initiale Kalibrierung der Messgrößen am Analysebildschirm von CapiScope® anhand einer Linie bekannter Länge lag die Videoaufzeichnung einer Neubauer-Kammer mit Einzelquadraten von jeweils  $50\mu\text{m}$  Seitenlänge zugrunde (siehe Abb. 6). Damit konnte die maßstabsgetreue Abmessung der Mikrozirkulationsparameter gewährleistet werden.



**Abb. 6:** Messlinienkalibrierung von CapiScope® mit Neubauerkammer. Verbesserte Neubauer-Zählkammer mit dreifacher Grenzlinienabtrennung eines Gruppenquadrats und Unterteilung in 4x4-Einzelquadrate von je 50µm Kantenlänge (→rote Markierungslinien).

Die Mikrozirkulationsanalyse begann mit der Durchsicht der Videoaufzeichnungen pro Messzeitpunkt. Es wurde dasjenige Messvideo mit den geringsten Artefakten und der besten technischen wie inhaltlichen Darstellungsqualität ausgewählt. Zur Qualitätssicherung in der Mikrozirkulationsanalyse wurde hierzu ein Einschlusskriterienschema entwickelt (siehe Flussdiagramm 1). Sollte im ersten Schritt ein weitgehend artefaktfreies Messvideo ausgesucht werden, so kam es im zweiten Schritt darauf an, aus diesem Messvideo ein einziges Standbild (SD-, ISD- und FCD-Messung) bzw. eine Sequenz bestehend aus mindestens 25-30 Einzelbildern (BFV-Messung) zu extrahieren.



**Flussdiagramm 1:** Auswahlkriterien des Messvideos zur Mikrozirkulationsanalyse.

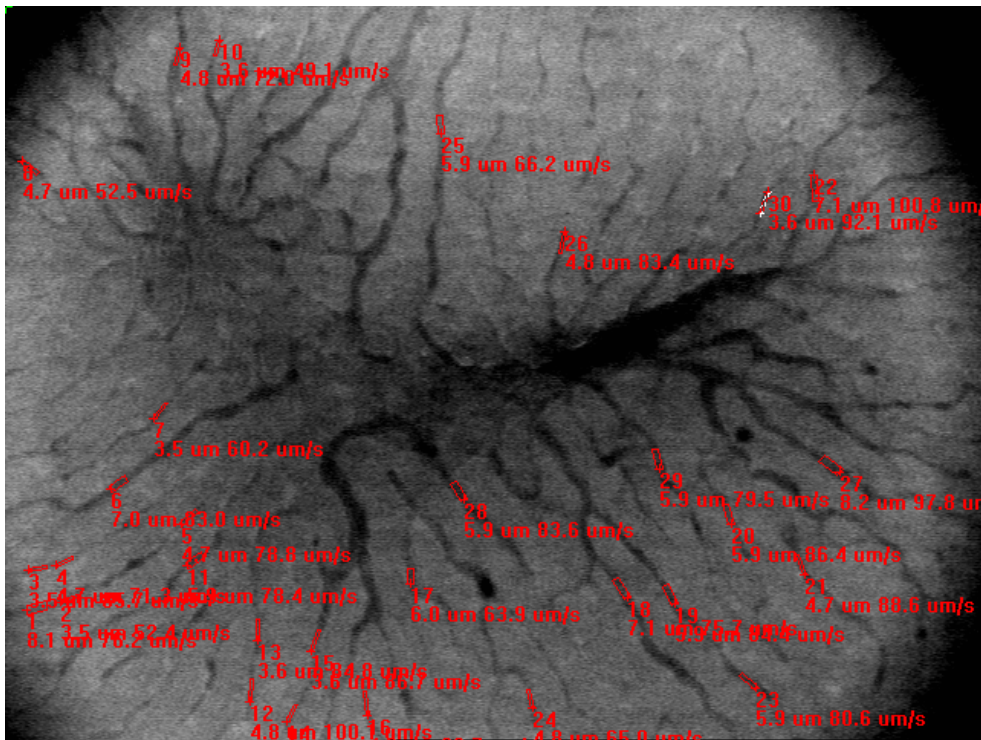
Die Analyse der extrahierten Bilder selbst geschah mit statischen (SD, ISD, FCD) und dynamischen (BFV) Morphometrieparametern (siehe Tab. 3).

Die Ermittlung des sinusoidalen Durchmessers (SD) und der sinusoidalen Blutflussgeschwindigkeit (BFV) ließ sich mit CapiScope® im gleichen Durchlauf semi-automatisch an der extrahierten Videosequenz abarbeiten. Zum präziseren Positionieren der Markierungen lief neben dem Analysefenster von CapiScope® mit den extrahierten Bildern in einem zweiten Videofenster das zusammenhängende Messvideo in einer Endlosschleife ab.

**Tab. 3:** Definition der mikrozirkulatorischen Messparameter.

Parameter	Definition	Auswahl der Messlinien	Topographie der Messlinien	Anzahl der Messlinien
<b>SD</b> und <b>BFV</b>	Sinusoide sicher <u>nicht</u> 1.Ordnung, ausgehend von der ZV	Geradstreckiger Abschnitt des Sinusoids  Nur hochkontrastierte Sinusoide mit erkennbarer Perfusion	midzonal	30 unabhängig voneinander gesetzte Messlinien
<b>ISD</b>	Sinusoide sicher <u>nicht</u> 1.Ordnung, ausgehend von der ZV	Zwischen 2 parallel verlaufenden Sinusoiden  Mehrfachmessungen an den gleichen Sinusoiden, wenn Abstand >1cm (insgesamt max. 3 Messlinien/Sinusoid, wenn Bildqualität keine hinreichend homogene Auswahl erlaubt)	midzonal	30 unabhängig voneinander gesetzte Messlinien
<b>FCD</b>	Alle <u>perfundierten</u> (=funktionellen, d.h. mind. ein Erythrozyt/30s) Sinusoide und Venulen	Nur <u>perfundierte</u> Gefäße, die sich durch ihre Schwärzung vom Bildhintergrund abheben  Einschluss <u>perfundierter</u> Sinusoide und Venulen, die nur teilweise zur Darstellung kommen  Messtechnisch unvermeidbare, insuffiziente Areale („schwarze Ecken“) ausschließen (=keine Blindmarkierungen von in die schwarzen Ecken hineinfließenden Gefäßen)	alle perfundierten Sinusoide und Venulen	Summe aller Messlinien

Zunächst setzte der Untersucher 30 Messlinien. CapiScope® berechnete dann den sinusoidalen Durchmesser, indem es das Gefäßprofil erstellte durch den Abgleich der Pixel-Grauwerte des Gefäßhintergrunds mit denjenigen Grauwerten innerhalb der Gefäßfläche. Der Durchmesser war dann die Länge zwischen dem Beginn der überproportional höheren Pixel-Grauwerte an den beidseitigen Rändern der sinusoidalen Blutzellsäule (siehe Abb. 7).

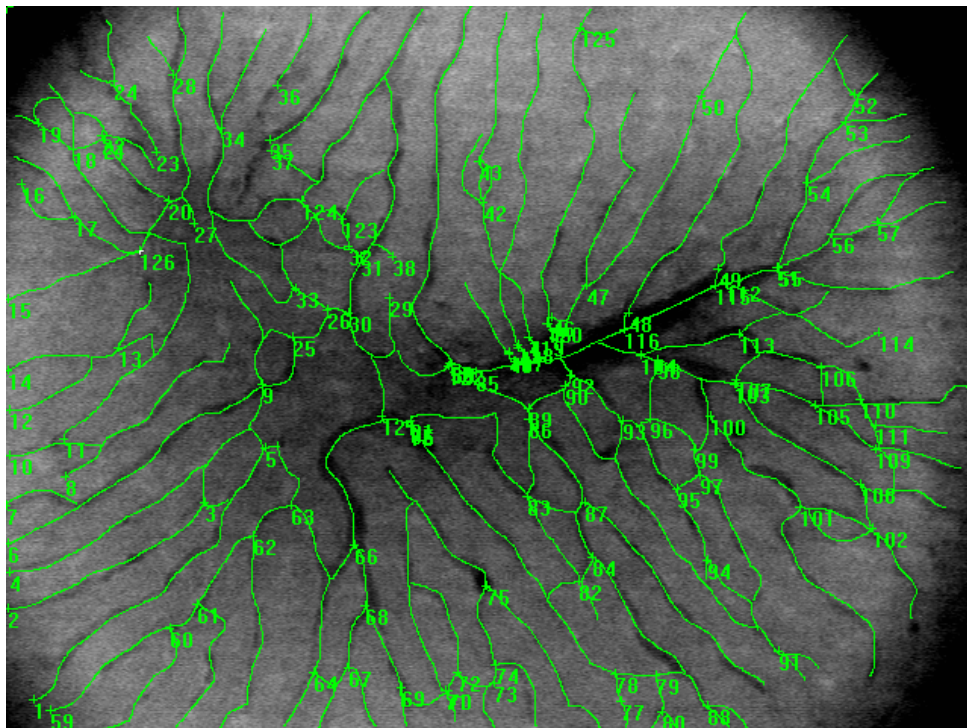


**Abb. 7:** FMR-014-Untersuchungszeitpunkt 1 (vor PH). CapiScope®-Standbild nach Berechnung des SD und der BFV. Einzelmesspunkte mit Ergebnisausgabe.

An denselben Messlinien berechnete CapiScope® die sinusoidale Blutflussgeschwindigkeit nach dem Prinzip der *spatial correlation*. Es wurde dazu die Erläuterung angegeben (siehe auch unter <http://www.kktechnology.com/help/c785.html>), dass zunächst ein über die Breite der Messlinie gemittelt, eindimensionales Grauwertprofil ausschließlich der intrasinusoidalen Pixel-Grauwerte errechnet werde. Diese Grauwertprofilberechnung wiederhole sich für jedes Einzelbild der Videosequenz. Schließlich werden die Grauwertprofilpaare durch die gesamte Videosequenz hindurch miteinander verglichen. Als Vergleichsparameter liege ein räumlicher Korrelationskoeffizient zugrunde, der durch biphasischen Abgleich der einsekündigen Grauwertprofilausschnitte des vorherigen mit dem darauffolgenden Grauwertprofil entstehe. Der höchste Korrelationskoeffizient für zwei Teilstrecken sämtlicher Grauwertprofilpaare der Videosequenz gelte als diejenige Entfernung, die diese Teilstrecke zwischen den beiden Einzelbildern zurückgelegt habe. Da die Berechnung

des *spatial correlation* bereits auf 1-Sekunden-Basis erfolge, erhalte man damit gleichzeitig die sinusoidale Blutflussgeschwindigkeit in  $\mu\text{m}$  pro Sekunde.

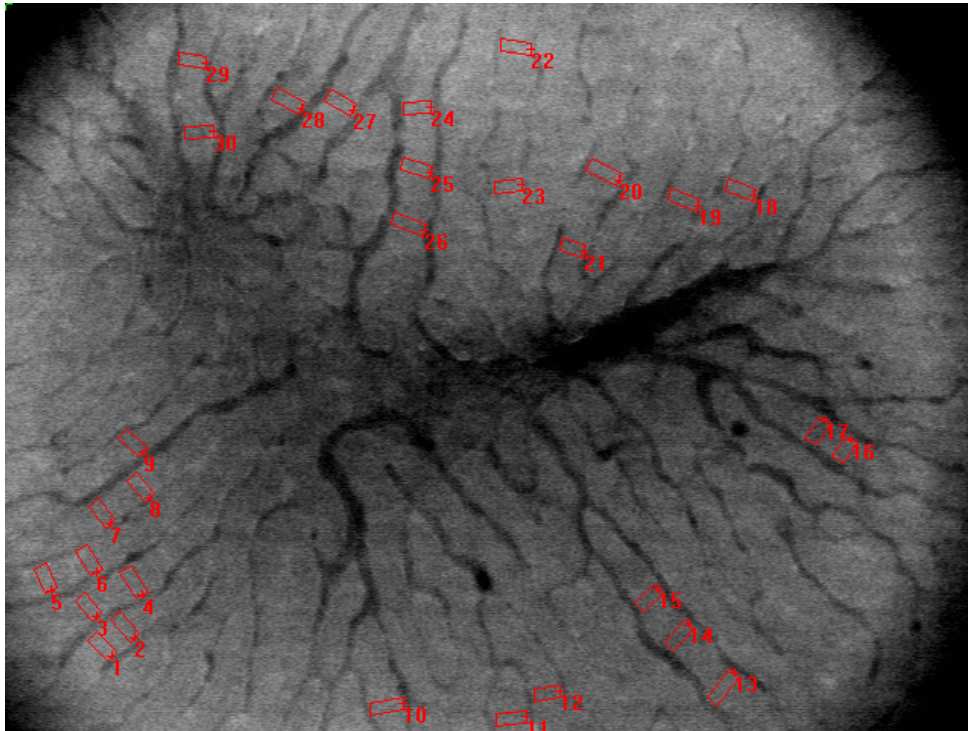
Das Analyseergebnis für die Funktionelle Sinusoidale Dichte wurde von CapiScope<sup>®</sup> ausgegeben nach Markierung aller Sinusoide und postsinusoidalen Venulen. Sie bezog die Gesamtlänge aller nachgezeichneten Sinusoide und Venulen auf die Gesamtfläche des zur Analyse ausgesuchten Standbilds im Analysefenster von CapiScope<sup>®</sup> (siehe Abb. 8).



**Abb. 8:** FMR-014-Untersuchungszeitpunkt 1 (vor PH). CapiScope<sup>®</sup>-Standbild mit durchnummerierten Messlinien für die FCD-Bestimmung.

Die kreisförmige Kontaktfläche der Bildsondenabdeckung Cytolens<sup>®</sup> weist eine Fläche von  $0.5\text{cm}^2$  auf und ist plan. Die leicht gekrümmte Oberfläche der Leber hingegen bedingt die durchgängig bei allen Messvideos beobachtbaren, minimal grössenvarianten schwarzen Ecken. Diese wurden bei der FCD-Bestimmung ausgenommen, indem Blindmarkierungen von in die schwarzen Ecken hineinlaufenden Gefässen ausgeschlossen waren.

Der intersinusoidale Durchmesser ist der Abstand zwischen zwei Sinusoiden. Der Untersucher setzt die Messpunkte auf einen geradstreckigen und hochkontrastierten Abschnitt des Sinusoids mit erkennbarer Perfusion wie in der Tabelle 3 beschrieben an (siehe Abb. 9).



**Abb. 9:** FMR-014-Untersuchungszeitpunkt 1 (vor PH). CapiScope® gibt nach Setzen der 30 Messpunkte die errechneten Werte der 30 Einzelabstände in einer Ergebnistabelle aus.

## 2.2.4 Validierung

Um die Qualität der Mikrozirkulationsanalyse zu bestimmen wurden folgende Kriterien überprüft:

- intra-individuelle sowie inter-individuelle Reproduzierbarkeit
- Auswahl des intraoperativen ROI zur Mikrozirkulationsmessung
- Abbildungsqualität des optimierten Messverfahrens

## 2.2.5 Statistische Analyse

Die zentrale Dokumentation der Messdaten sowie die Berechnung derer Mittelwerte und deren Standardabweichung erfolgte mit MS Excel®. Die Messergebnisse zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten wurden innerhalb desselben Versuchstiers zur statistischen Analyse mit dem Paarvergleich t-test für abhängige Stichproben verglichen. Unterschiede in den Messwerten wurden als signifikant angesehen für P-Werte < 0.05. Zur statistischen Analyse wurde SigmaStat® 2004 for Windows Version 9.0 eingesetzt.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Optimierung der Messmethodik

#### 3.1.1 Videodatenprozessierung

Cytometrics® lieferte das VM in einer einheitlichen Standardkonfiguration an den Kunden. Es wurden hierbei keine Kundenwünsche und -probleme berücksichtigt. Zwar ließen sich einzelne Systemparameter des VM je nach untersuchter Gewebeart ändern, wie beispielsweise in den Einstellregistern "Speichern" oder "Video". Jedoch bewegten sich diese Einstellungsmöglichkeiten seitens des Benutzers in einem sehr begrenzten Rahmen. Darüber hinausgehende Änderungen, wie beispielsweise die Grösse der aufgenommenen Videosequenz durch Komprimierungsroutinen zu verringern um Festplattenplatz zu sparen, waren nicht möglich. Seitens des Herstellers gab es nur wenig Unterstützung. Im mitgelieferten Handbuch fanden sich keine Hinweise auf Erweiterungsmöglichkeiten, auch wurde im Produktprogramm des Herstellers keine Auswahl- oder Zubehörliste zum VM geboten. Bedarfsanpassungen mit einem grösseren internen Massenspeicher etwa waren ebenso unerfüllbar wie mechanische oder chemische Anwendungshilfsmittel zur Stabilisierung bzw. Fixierung der Messsonde. Eine genauere Dokumentation oder Spezifikation über die verwendeten Hardwarekomponenten wie Angaben zum Hersteller oder Leistungswerten der Hardware lagen nicht vor. Im Gegenteil wurde nur darauf hingewiesen, beim Anschluss von Zusatzgeräten einen Systemstandard gemäß IEC601-1-1 für medizinische Geräte zu befolgen. Eine detailliertere Erklärung zu diesem IEC601-1-1-Standard für medizinische Geräte wurde nicht gegeben.

##### 3.1.1.1 Hardware

###### 3.1.1.1.1 Speichergeschwindigkeit der Videodaten

**Ist-Zustand:** Setzte man die Messsonde des VM auf die Oberfläche des zu untersuchenden Gewebes, so konnte das Videobild in Echtzeit auf dem Bildschirm des VM beobachtet werden. Eine direkte Speicherung dieser Sequenz war möglich, das Gerät konnte jedoch maximal eine Sequenz, bestehend aus 450 Einzelbildern (640x480-Pixel), aufnehmen. Bei einer Bildrate von 30 Bildern pro Sekunde entsprach diese Sequenz einer Messdauer von 15 Sekunden. Die akquirierte Sequenz wurde nicht, wie es bei einem SCSI-System zu erwarten gewesen wäre, direkt während der Aufnahme in



Echtzeit auf die SCSI-Festplatte gespeichert, sondern nur im Arbeitsspeicher (256 MB RAM) des VM abgelegt. Erst nach Beendigung der Aufnahme wurde die Sequenz auf die Festplatte gespeichert. Entgegen des erwarteten Zeitaufwands bei einer Datentransferrate von etwa 30 MB/s und einer Videosequenz dieser Größe (250 MB) von 9 bis 10 Sekunden, benötigte das VM 4 bis 5 Minuten um die Sequenz zu speichern. Jede einzelne Messung mit dem VM verlängerte bei sequentiellen Messungen die OP-Dauer also um mindestens diese 4 bis 5 Minuten. Aufgrund eines freien Plattenplatzes von etwa 4.750 MB und die damit verbundene Limitation auf maximal 19 speicherbaren 15-Sekunden-Videosequenzen, konnte der zeitliche Anteil der Videodatenspeicherung an der Dauer der Gesamt-OP bis zu 95 Minuten betragen.

**Ziel (Soll-Zustand):** Schnelle Videodatenspeicherung durch Vernetzung mit einem VM-unabhängigen Massenspeicher.

**Adaptierung:** Das VM wies unter seinen rückseitigen Schnittstellen einen NTSC-Videoausgang auf. Dieser Videoausgang übermittelte ein „Live-Signal“ des aktuellen Videobildes, welches auf den NTSC-Eingang eines Aufnahmegeräts geschaltet werden kann.

Als erste Lösungsmöglichkeit wurde erwogen, einen NTSC-kompatiblen Videorekorder an das VM anzuschließen. Dieser eröffnete die Möglichkeit beliebig lange Sequenzen aufzunehmen. Abschnitte dieser Sequenzen können dann in einem weiteren Schritt in einen zweiten, externen Computer digitalisiert werden. Diese Form der Aufnahme ist jedoch zeitintensiv und hat zudem den Nachteil, dass das Videosignal durch die analoge Bandaufnahme einem Qualitätsverlust unterliegt.

Die zweite und letztlich gewählte Lösungsmöglichkeit bestand in der Installation einer NTSC-kompatiblen Frame-Grabber-Karte (Matrox<sup>®</sup> Meteor<sup>®</sup> II, Matrox<sup>®</sup> Europa, Cork, Irland) im Aufnahmecomputer. Zu beachten war, dass das von uns verwendete Modell die Auswahl möglicher Hauptplatinen (*Motherboard*) und deren Chipsätze bzw. Hauptprozessoren für den Aufnahmecomputer einschränkte. So wurde beispielsweise das gleichzeitige Bearbeiten mehrerer Rechenbefehle pro Takteinheit durch die Aufteilung des realen Prozessors in zwei oder mehr logische Prozessoren (*Hyper-Threading*) von der gewählten Frame-Grabber-Karte nicht unterstützt.

Das gepufferte unverarbeitete Videosignal wurde nun über den externen Videoanschluß RS-170 mit Hilfe eines RG-58 Koaxial-Kabels an die RS-170-Schnittstelle der Frame-Grabber-Karte übertragen. Mit Hilfe des Aufnahmecomputers und der Capturing-Funktion der Videoakquisitions- und analysesoftware CapiScope<sup>®</sup> wurde das RS-170-Videosignal in Echtzeit auf dem Computerbildschirm ausgelesen. Für die Frame-Grabber-Karte von Matrox<sup>®</sup> wurden die neuesten Treiber (Matrox<sup>®</sup> Imaging Library 7.5

Processing Pack 1) aufgespielt. CapiScope® ermöglichte dem Benutzer die abschließende Videodatenspeicherung auf der internen Festplatte des Aufnahmecomputers.

#### 3.1.1.1.2 Speicherkapazität für die Videodaten

**Ist-Zustand:** Der Speicherbedarf der Sequenzen war außerordentlich hoch. Eine 15-Sekunden-Sequenz benötigte annähernd 250 MB Festplattenspeicher. Dies entsprach einem Datenstrom von 16.7 MB pro Sekunde Aufnahmezeit.

Auf dem im VM installierten 6.400 MB Festplattenlaufwerk standen, bedingt durch den Speicherbedarf des Betriebssystems und der Analysesoftware, nur noch etwa 4.750 MB zur Speicherung der Sequenzen zur Verfügung. Somit konnten nur maximal 19 unkomprimierte 15-Sekunden-Sequenzen oder 8.000 unkomprimierte Einzelbilder auf dem Festplattenlaufwerk gleichzeitig abgelegt werden.

**Ziel (Soll-Zustand):** Hohe Speicherkapazität durch Vernetzung des Aufnahmecomputers mit externem Massenspeicher.

**Adaptierung:** Die im Aufnahmecomputer intern vorhandene IDE-Festplatte erlaubte lediglich einen Datendurchsatz von effektiven 5-7 MB/s, wodurch ständig Einzelbildverluste provoziert wurden.

Die Lösung bestand in der weiteren Aufrüstung des Aufnahmecomputers. Dazu wurde das Festplattensystem um eine SCSI-Schnittstellenkarte erweitert, an die eine schnellere externe SCSI-Festplatte angeschlossen wurde. Das neuinstallierte SCSI-System erreichte eine Speicherkapazität von 17.1 GB bei einer Schreib- und Leserate von 30-57 MB/s und einer Zugriffsgeschwindigkeit von 4.9ms. Durch diese Modifikation konnte das Videosignal des VM über einen nur von der Speicherkapazität begrenzten Zeitraum in Echtzeit gespeichert werden.

#### 3.1.1.1.3 Übertragungsgeschwindigkeit der Videodaten

**Ist-Zustand:** Die eingebaute Analysesoftware des VM ermöglichte nur extrem eingeschränkte Analysefunktionen. Die externe Videoanalyse erfordert jedoch einen sehr leistungsfähigen Rechner. Diesen Anforderungen genügte der Aufnahmecomputer nicht, bei dem auch auf geringe Abmessungen geachtet wurde. Zudem sollten die gesammelten Videosequenzen sicher aufbewahrt und extern archiviert werden. Die Videosequenzen wurden infolgedessen auf einen dritten Rechner, den sogenannten **Videoanalysecomputer**, übertragen. Die gespeicherten Sequenzen konnten dabei nur

nach Aufbau einer FTP-Netzwerkverbindung über die 100-Mbit-Netzwerkschnittstelle (RJ-45 Steckkabel) auf den Videoanalysecomputer überspielt werden. Die Übertragungsgeschwindigkeit der Sequenzen lag bei 20 Mbit (2.5 MB/s). Folglich benötigte die Übertragung von 4.750 MB 32 Minuten.

**Ziel (Soll-Zustand):** Hohe Übertragungsgeschwindigkeit der Videodaten durch Vernetzung des Videoanalysecomputers mit externem Massenspeicher.

**Adaptierung:** Dieses Problem wurde bereits durch die Aufrüstung des Aufnahmecomputers mit einer mobilen SCSI-Festplatte adressiert. Durch Installation einer kompatiblen SCSI-Schnittstellenkarte im Videoanalysecomputer wurde ein direkter Videodaten austausch zwischen Aufnahme- und Videoanalysecomputer eingerichtet.

#### 3.1.1.1.4 Bildschirmdarstellung des Videosignals

**Ist-Zustand:** Die detailarme S/W-Bildausgabe war aufgrund des kleinformigen Monitors nicht zufriedenstellend. Bei diesem Bildschirm handelte es sich um einen 10.4 Zoll (28cm) Aktiv-Matrix Flüssigkristall-Monitor mit einer Auflösung von 640x480 Pixeln und aktivierbarem Auto-Kontrast. Es wurden keine Regler für die Veränderung von Kontrast und Helligkeit der Bildanzeige angeboten. Zudem erschien die werksseitig voreingestellte Bildschirmbeleuchtung als zu intensiv. Dieses Problem verstärkte sich bei starker Lichteinstrahlung von außen.

**Ziel (Soll-Zustand):** Einstellbare Bildschirmdarstellung des Videosignals durch Vernetzung des Aufnahmecomputers mit Sekundärbildschirm(en).

**Adaptierung:** Die Bildausgabe wurde nach Einbau einer Videografikkarte (HIS<sup>®</sup> Excalibur Ati<sup>®</sup>-Radeon-9600XT-ViVo Turbo Platinum, HIS<sup>®</sup> Hightech Information System Ltd, HongKong, China) in den Aufnahmecomputer verbessert. Basierend auf dem Grafikchipsatz Ati<sup>®</sup>-Radeon-9600XT-ViVo verfügte die neue Grafikkarte über drei Schnittstellen: eine VGA-Schnittstelle für analoge Monitor-Signale, eine DVI-I-Schnittstelle für digitale Bildsignale sowie einen S-Video Ein- und Ausgang. Eine weitere Steigerung der Darstellungsqualität erfuhr das Videoakquisitionssystem nach Anschluss zweier Flüssigkristall-Monitore mit den Bildschirmdiagonalen 17 Zoll (43.2cm) bzw. 15 Zoll (38.4cm) an der DVI-I bzw. VGA-Schnittstelle. Die beiden Monitore erlaubten zudem eine Beeinflussung des Bildkontrasts und der Helligkeit auf Hardwareebene.

Für die Bildaufnahme wurde kurzzeitig erwogen, über den S-Video Ein- und Ausgang der Videografikkarte das S-Video-Signal des VM mit einer frei erhältlichen Videoaufzeichnungssoftware aufzunehmen. Das verarbeitete S-Video-Signal, welches vom VM zum Aufnahmecomputer gesendet wird, ist bereits kontrastverstärkt. Praktisch aber war der Unterschied im Vergleich mit der Darstellungsqualität der Frame-Grabber-Karte marginal und brachte keine entscheidenden Vorteile in der Signalerkennung.

### 3.1.1.2 Software

#### 3.1.1.2.1 Videoerfassung

**Ist-Zustand:** Die Optionen zur Videoerfassung befanden sich im Echtzeit-Video-Modus im Einstellregister "Video". Der Benutzer konnte hier zwischen manueller oder automatischer Fokussierung bzw. Belichtung wählen sowie die Kontrast-Automatik aktivieren. Diese Modifikationen waren auch im externen S-VHS-Signal wirksam. Im Einstellregister "Speichern" konnten maximal 450 Einzelbilder einer zusammenhängend im VM speicherbaren Videosequenz gewählt werden. Dies entsprach einer Sequenzdauer von 15 Sekunden. Einmal gesetzte Einstellungen konnten jedoch nicht während der Videoaufzeichnung geändert werden.

**Ziel (Soll-Zustand):** Hohes Akquisitionsvolumen in der Videoerfassung durch Vernetzung mit externer Akquisitionsoftware.

**Adaptierung:** Ein regulierbares Echtzeit-Videorecording mittels des vom VM bereitgestellten RS-170-Videosignals konnte nach Installation der Videoaufzeichnungs- und Analysesoftware CapiScope® auf dem Aufnahmecomputer verwirklicht werden. Verschiedene Zusatzfunktionen dieser Software wie die Steuerung von Kontrast und Helligkeit oder implementierte Aufzeichnungsroutinen der Videodaten verhalfen zu einer Videoaufzeichnung mit praktisch unlimitiertem Akquisitionsvolumen.

#### 3.1.1.2.2 Videodatensicherung

**Ist-Zustand:** Nach Beendigung der Aufnahme mit dem VM hatte der Benutzer nicht die Möglichkeit, die aufgenommenen Sequenzen zu kontrollieren und zu entscheiden, ob diese technisch einwandfrei sind und somit gespeichert oder aber verworfen werden sollen. Nach der Beendigung der Messung speicherte das VM die Sequenz automatisch. Auch unbrauchbare Aufnahmen blockierten das Gerät somit für 4 bis 5 Minuten während

der Videodatensicherung und belegten wertvollen Speicherplatz des internen Massenspeichers.

**Ziel (Soll-Zustand):** Regelbare Videodatensicherung durch Vernetzung mit externer Akquisitionsoftware.

**Adaptierung:** Durch die Installation der Videoaufzeichnungs- und Analysesoftware CapiScope® wurden die Kontrollmöglichkeiten der Videodatensicherung merklich erweitert. Der Benutzer konnte damit genau festlegen, welche Videosequenz in welcher Länge auf welchem Massenspeicher abgelegt werden sollte.

#### 3.1.1.2.3 Videodatendokumentation

**Ist-Zustand:** Vor der eigentlichen Videoerfassung konnte der Benutzer des VM im „Patient“-Datenblatt schematisiert nähere Angaben zum untersuchten „Patienten“ machen wie beispielsweise Name oder Geburtsdatum. Eine sehr limitierte Eingabe im Umfang von wenigen Zeichen war am Ende des Datenblatts in der Eingabebox „Zusatzinformationen“ möglich. Nach der Videoerfassung konnten diese „Patienteninformationen“ nur noch sehr umständlich geändert werden. Die Dokumentation umfangreicherer Messdaten, wie sie beispielsweise bei den Hämodynamikmessungen im Verlauf einer schrittweisen Leberresektion angefallen sind, allein mit der Dokumentationsmöglichkeit des VM ist undurchführbar.

**Ziel (Soll-Zustand):** Unbegrenzte Videodatendokumentation durch Datenprotokollierung gemäß MS Excel®-Standard.

**Adaptierung:** Arbeitsgruppeninterne Standardsoftware für die Protokollierung von Messdaten ist MS Excel®. Diese Software wurde auch auf dem Aufnahme- und dem Videoanalysecomputer installiert. Aufgrund der tabellarischen und den Bedürfnissen des Benutzers gestaltbaren Videodatendokumentation mit MS Excel® konnte eine problemlose und anpassungsfähige Messdateneingabe vor und nach Videoerfassung angefertigt werden.

#### 3.1.1.2.4 Systembetrieb

**Ist-Zustand:** Generell erschwerte das Betriebssystem die Benutzung des VM. Zwar wurden alle Systemkomponenten einwandfrei erkannt und im laufenden Betrieb problemlos koordiniert. Beim Hochfahren des Systems erzwangen gelegentlich

auftretende und nicht weiter definierte Stops das Aus- und erneute Einschalten des VM. In der gleichen Phase der Inbetriebnahme erschien manchmal eine Statusmeldung, wonach die individuellen Einstellungen undefinierte Probleme verursachen. Anschließend wurde das VM mit den werkseigenen Standardeinstellungen weiterbetrieben, so dass zuerst eine aufwändige Neueinstellung der Einstellungsregister seitens des Benutzers vorgenommen werden musste. Hinderlich war zudem die plötzliche selbsttätige Änderung der Tastaturbelegung während der Dateneingabe im "Patienten"-Datenblatt zur weiteren Zuordnung von Bilderserien und "Patienten"-Informationen. Ohne erkennbaren Grund stimmte das am Monitor ausgegebene Zeichen nicht mehr mit dem auf der Taste aufgedruckten Zeichen überein, was die weitere Benutzung unmöglich machte. Die Folge davon war der komplette Neustart des VM, was zu beachtlichen Störungen und Verzögerungen im weiteren Fortgang der OP führte.

**Ziel (Soll-Zustand):** Fehlerfreier Systembetrieb durch Teilvernetzung der VM-Systemsoftware mit einem externen Betriebssystem.

**Adaptierung:** Als Betriebssystem des Aufnahmecomputers kam Microsoft® Windows® XP® Pro® mit der Systemerweiterung Service-Pack 2 zum Einsatz. Nach Download und Installation einer Softwareaktualisierung für die Frame-Grabber-Karte bestand eine störungsfreie Interaktion zwischen dem Windows®-Betriebssystem, CapiScope®, Frame-Grabber-Karte und dem RS-170-Video-Signal des VM. Das Betriebssystem bzw. der Grafikkartentreiber behandelte das auf die ViVo-Schnittstelle der Videografikkarte geschaltete S-Video-Signal außerdem unabhängig vom Videoaufzeichnungsgerät. Eventuelle Inkompatibilitäten zwischen dem VM und den Hardwarekomponenten des Aufnahmecomputers waren damit ausgeschlossen. Die Funktion nahezu aller Hardwarekomponenten der VM-Computereinheit waren durch den Aufnahmecomputer ersetzt worden und standen unter der Kontrolle von Windows® XP® Pro®. Betriebssystembedingte Mängel in der VM-eigenen Hardwareunterstützung konnten zumindest auf Ebene des Echtzeit-Video-Modus umgangen werden. Eine regelmässige Systempflege durch Treiber- und Betriebssystemupdates sowie die Möglichkeit des telefonischen Microsoft®-Kundenservice sicherte den stabilen und zukunftsorientierten Systembetrieb.

### 3.1.2 Konfiguration von Aufnahme- und Videoanalysecomputer

Die kontinuierliche Entwicklungsarbeit zur Optimierung der Videodatenakquisition und -prozessierung hatte zu einer hochkomplexen Videoakquisitionseinheit geführt. Ein

Maximum an Leistungsfähigkeit hinsichtlich der Videodatenakquisition und -prozessierung konnte durch Vernetzung des VM mit externer Hard- und Software erreicht werden. Diese Systemkomponenten sollen im folgenden eingehender beschrieben werden.

### 3.1.2.1 Hardwareausstattung des Aufnahmecomputers

In seiner eingesetzten Ausbaustufe war der selbstkonfigurierte Aufnahmecomputer aus verschiedenen Hardwarekomponenten zusammengesetzt (siehe Tab. 4). Im Praxiseinsatz arbeitete er bei allen 6 Versuchstieren während den mehrstündigen Operationen im störungsfreien Dauerbetrieb. Es gab keinerlei Kompatibilitätsprobleme mit den Video- und Audioaufnahmegeräten (VM bzw. Phonokardiographiegerät). Insbesondere arbeitete die Frame-Grabber-Karte reibungslos mit dem Hauptplatinenchipsatz und dessen Hauptprozessor zusammen. Die eingelesenen Video- und Audiosignale konnten verlustfrei in Echtzeit weiterverarbeitet und vollständig ohne lange Wartezeit auf dem externen Massenspeicher gesichert werden. Die untenstehende Abbildung 10 demonstriert die aufnahmebereite Videoakquisitionseinheit in unserem mikrochirurgischen Kleintier-OP.



**Abb. 10:** Arbeitsplatz zur Messung der hepatischen Mikrozirkulation. Links neben dem CytoScan® stehend der selbstkonfigurierte Aufnahme-PC mit angeschlossener mobiler Festplatte auf dem Computergehäuse und Dual-Monitor-Betrieb.

### 3.1.2.2 Peripheriegeräte des Aufnahmecomputers

#### 3.1.2.2.1 Externe Harddisk

Zur Videodatenspeicherung wurde die bereits erwähnte mobile SCSI-Festplatte an die SCSI-Schnittstellenkarte angeschlossen.

**Tab. 4:** Technische Beschreibung des Aufnahmecomputers.

<b>Hardwarebestandteile</b>	<b>Spezifikationen</b>	<b>Hersteller</b>
<b>Frame-Grabber-Karte</b>	Matrox® Imaging adapter Meteor_II® PCI frame grabber	<b>Matrox® Electronic Systems GmbH</b> Inselkammerstraße 8 82008 Unterhaching <a href="http://www.matrox.com/home_deu.htm">http://www.matrox.com/home_deu.htm</a>
<b>Video-Grafikkarte</b>	HIS® Excalibur Ati®-Radeon-9600XT-ViVo Turbo mit 256 MB Grafikspeicher	<b>Hightech Information System® Ltd.</b> Unit 7-9, 2nd Floor, Block B, Po Lung Centre, 11 Wang Chiu Road, Kowloon Bay, Kowloon, Hong Kong <a href="http://www.hisdigital.com/html/home.php">http://www.hisdigital.com/html/home.php</a>
<b>Prozessor</b>	Intel® Pentium® IV Prozessor mit 2.8 GHz	<b>Intel® GmbH</b> Dornacher Strasse 1 85622 Feldkirchen <a href="http://www.intel.com/index.htm">http://www.intel.com/index.htm</a>
<b>Arbeitsspeicher</b>	Kensington® 128 MB DDR-RAM + Kensington® 512 MB DDR-RAM	<b>ACCO® Deutschland GmbH &amp; Co. KG</b> Arnoldstraße 5 73614 Schorndorf <a href="http://www.kensington.de">http://www.kensington.de</a>
<b>SCSI-Schnittstellen-Karte</b>	Adaptec® SCSI-Karte 29160 Ultra-160 SCSI	<b>Adaptec® GmbH</b> Richard-Reitzner-Allee 8 85540 Haar <a href="http://www.adaptec-de.com">http://www.adaptec-de.com</a>
<b>Massenspeicher</b>	1 x externes 17.1 GB IBM® IC35L018UWD210-0 SCSI-Festplattenlaufwerk	<b>IBM® Deutschland GmbH</b> Pascalstraße 100 70569 Stuttgart <a href="http://www.ibm.com/de">http://www.ibm.com/de</a>
	1 x 120GB IDE Maxtor 6Y120P0	<b>Maxtor®</b> Berner Straße 28 60437 Frankfurt/Main <a href="http://www.maxtor.com">http://www.maxtor.com</a>
<b>Bildanzeiger-Geräte</b>	Wortmann® MAGiC® LCD 170BT DVI	<b>WORTMANN® AG</b> Bredenhop 20 32609 Hüllhorst <a href="http://www.wortmann.de">http://www.wortmann.de</a>
	Fujitsu-Siemens 15"-TFT SCALEOVIEW T15-1	<b>Fujitsu® Siemens® Computers GmbH</b> Domagkstrasse 28 80807 München <a href="http://www.fujitsu-siemens.de/index.html">http://www.fujitsu-siemens.de/index.html</a>

### 3.1.2.2.2 Phonokardiographiegerät

Die Herz- und Atemtöne wurden über ein präkardial fixiertes Phonokardiographiegerät abgeleitet und an der Mikrofon-Schnittstelle des Aufnahmecomputers eingelesen.



Dieses Phonokardiographiegerät war ein im Eigenbau entstandenes Messinstrument, zusammengesetzt aus einem Mikrofon (Kondensatormikrofon, Conrad® Electronic GmbH, Deutschland) und einem elektronischen Verstärkerbauteil (1 Watt-Mini-Verstärker Bausatz, Conrad® Electronic GmbH, Deutschland).

### 3.1.2.2.3 Lautsprechereset

Die Live-Sound-Kontrolle der Phonokardiographieaufnahmen geschah über ein Standard-Lautsprechereset (HMS® Wavemaster® 2020, HMS®-Hightech Media Systeme GmbH, Deutschland) mit einem Frequenzbereich von 50-20.000 Hz und Reglern für die Lautstärke und die Höhen- und Tiefeneinstellung. Die Boxen hatten eine Sinusleistung von 2x0,83 Watt, einen eingebauten Verstärker und waren magnetisch abgeschirmt.

### 3.1.2.3 Softwareausstattung des Aufnahmecomputers

Nachfolgend aufgeführte Anwendungsprogramme wurden zwecks ordnungsgemäßer Videodatenakquisition und Datenprotokollierung auf dem Aufnahmecomputer installiert (siehe Tab. 5).

**Tab. 5:** Datenakquisitionsrelevante Software des Aufnahmecomputers.

Softwareprofil	Software	Hersteller
<b>Protokollierungs- und Dokumentations-Software</b>	Microsoft® Excel® 2002	<b>Microsoft® Deutschland GmbH</b> Konrad-Zuse-Straße 1 85716 Unterschleißheim <a href="http://www.microsoft.com/germany/default.mspx">http://www.microsoft.com/germany/default.mspx</a>
<b>Video-akquisitions-Software</b>	CapiScope® Version 3-18-0-0	<b>KK Technology®</b> Bridleways, Holyford, Devon EX24 6HW England <a href="http://www.kktechnology.com/">http://www.kktechnology.com/</a>
<b>Audio-akquisitions-Software</b>	CoolEdit2000®	<b>Syntrillium Software Corporation®</b> P.O. Box 62255, Phoenix, AZ 85082-2255 USA <a href="http://www.adobe.com/special/products/audition/syntrillium.html">http://www.adobe.com/special/products/audition/syntrillium.html</a>
<b>Standbild-dokumentations-Software (Screenshot)</b>	Microsoft® Paint® Version 5.0 Build 2195	<b>Microsoft® Deutschland GmbH</b> Konrad-Zuse-Straße 1 85716 Unterschleißheim <a href="http://www.microsoft.com/germany/default.mspx">http://www.microsoft.com/germany/default.mspx</a>

<b>Dateiverwaltungs-Software</b>	Microsoft® Windows® XP Explorer 5.01.2600 SP 2	<b>Microsoft® Deutschland GmbH</b> Konrad-Zuse-Straße 1 85716 Unterschleißheim <a href="http://www.microsoft.com/germany/default.mspix">http://www.microsoft.com/germany/default.mspix</a>
<b>System-überwachungs-Software</b>	Microsoft® Windows® XP Task Manager 5.01.2600 SP 2	<b>Microsoft® Deutschland GmbH</b> Konrad-Zuse-Straße 1 85716 Unterschleißheim <a href="http://www.microsoft.com/germany/default.mspix">http://www.microsoft.com/germany/default.mspix</a>
<b>Betriebssystem</b>	Microsoft® Windows® XP 5.01.2600 SP 2	<b>Microsoft® Deutschland GmbH</b> Konrad-Zuse-Straße 1 85716 Unterschleißheim <a href="http://www.microsoft.com/germany/default.mspix">http://www.microsoft.com/germany/default.mspix</a>

### 3.1.2.4 Konfiguration des Videoanalysecomputers

Mit der zuvor beschriebenen Videoakquisitionseinheit wurden die Video- und Audio-Sequenzen während der OP aufgezeichnet und auf der externen SCSI-Festplatte abgelegt. Zur weiteren *off-line* Analyse der gemessenen Video- und Audiodaten konnte dieser mobile Massenspeicher mit der SCSI-Schnittstellenkarte des Videoanalysecomputers verbunden werden. Der geringen Zugriffszeiten auf diese Festplatte wegen wurde der Transfer der umfangreichen Videodaten in den Arbeitsspeicher des Videoanalysecomputers beschleunigt. Die Konfiguration des Videoanalysecomputers zeigt Tabelle 6.

**Tab. 6:** Technische Beschreibung des Videoanalysecomputers.

<b>Hardwarebestandteile</b>	<b>Spezifikation</b>	<b>Hersteller</b>
<b>Netzwerk-Karte</b>	Allied® Telesyn® AT-2450FTX PCI Ethernet Adapter	<b>Allied® Telesyn® International GmbH</b> Kapweg 4 13405 Berlin <a href="http://www.alliedtelesyn.de">http://www.alliedtelesyn.de</a>
<b>Grafikkarte</b>	Matrox® Millennium® P750 DualHead Graphic Card mit 64 MB Grafikspeicher	<b>Matrox® Electronic Systems GmbH</b> Inselkammerstraße 8 82008 Unterhaching <a href="http://www.matrox.com/home_deu.htm">http://www.matrox.com/home_deu.htm</a>
<b>Prozessor</b>	Intel® Pentium® Prozessor mit 3.06 GHz	<b>Intel® GmbH</b> Dornacher Strasse 1 85622 Feldkirchen <a href="http://www.intel.com/index.htm">http://www.intel.com/index.htm</a>
<b>Arbeitsspeicher</b>	Siemens® 1024 MB DDR-RAM 4.0.0 CL2	<b>Siemens® Aktiengesellschaft</b> Wittelsbacherplatz 2 80333 München <a href="http://www.siemens.com">http://www.siemens.com</a>

<b>SCSI-Schnittstellen-Karte</b>	Adaptec® SCSI-Controller 29160 Ultra160 SCSI	<b>Adaptec® GmbH</b> Richard-Reitzner-Allee 8 85540 Haar <a href="http://www.adaptec-de.com">http://www.adaptec-de.com</a>
<b>Massen-speicher</b>	1 x externes 17.1 GB IBM® IC35L018UWD2100 SCSI-Festplattenlaufwerk	<b>IBM® Deutschland GmbH</b> Pascalstraße 100 70569 Stuttgart <a href="http://www.ibm.com/de">http://www.ibm.com/de</a>
	1 x externe 300 GB Maxtor® OneTouch FireWire and USB	<b>Maxtor®</b> Berner Straße 28 60437 Frankfurt/Main <a href="http://www.maxtor.com">http://www.maxtor.com</a>
	2 x interne Maxtor® 6Y200M0 S-ATA 200GB	<a href="http://www.maxtor.com">http://www.maxtor.com</a>
<b>Monitore</b>	2 x Wortmann® MAGiC® LCD 170BT DVI	<b>WORTMANN® AG</b> Bredenhop 20 32609 Hüllhorst <a href="http://www.wortmann.de">http://www.wortmann.de</a>
<b>Betriebssystem</b>	Microsoft® Windows® 2000 Version 5.00.2195 SP4	<b>Microsoft® Deutschland GmbH</b> Konrad-Zuse-Straße 1 85716 Unterschleißheim <a href="http://www.microsoft.com/germany/default.mspx">http://www.microsoft.com/germany/default.mspx</a>
<b>Festplatten-Controller</b>	On-board RAID-System	<b>ASUS® Computer GmbH</b> Harkortstrasse 25 40880 Ratingen <a href="http://www.asuscom.de">http://www.asuscom.de</a>
<b>Audio-Karte</b>	Terratec® Aureon® 5.1 Fun	<b>TerraTec® Electronic GmbH</b> Herrenpfad 38 41334 Nettetal <a href="http://www.terratec.de">http://www.terratec.de</a>

### 3.1.3 Mikrozirkulationsanalysesoftware

Als wenig nutzbringend erwies sich die Mikrozirkulations-Analysesoftware 1.0. Obwohl das VM Bildserien akquiriert, ist die Analyse von dynamischen Parametern wie der Flußgeschwindigkeit nicht vorgesehen. Eingriffe in die vorhandene Software waren nicht möglich. Laut VM-Handbuch wäre zwar eine Software-Aktualisierung am eingebauten PC-Flash-Karten-Leser ausführbar. Jedoch wurden trotz offensichtlicher Softwaremängel Cytometrics®-Kunden weder über Software-Aktualisierungen in Kenntnis gesetzt noch konnten Aktualisierungsankündigungen auf der Cytometrics®-Internetseite eingesehen werden. Unpräzise und letztlich unklar war die Messwertermittlung des Gefäßdurchmessers. Die Mikrozirkulations-Analysesoftware 1.0 erlaubte nur eine generelle, nicht weiter korrigierbare Gefäßsegmentierung ohne zusätzliche Differenzierungen beispielsweise nach sinusoidalem Gefäßabschnitt. Die

Parameterauswahl war mit der ausschließlichen Berechnung des Gefäßdurchmessers minimal.

Zur Lösung des Analysesoftwareproblems standen eine Reihe von Bildanalyseprogrammen zur Einzelbildanalyse zur Verfügung. Bei der Untersuchung der Mikrozirkulation sind jedoch dynamische Parameter wie beispielsweise die Erythrozytengeschwindigkeit von Bedeutung, zu deren Ermittlung das Bildanalyseprogramm eine Objekterkennungsroutine oder zumindest eine flächenbasierte Kalkulationsroutine beinhalten sollte. Die Entscheidung fiel deshalb auf das bereits erwähnte Softwarepaket CapiScope<sup>®</sup>, welches zusätzlich die bereits erwähnten Videosteuerungs- und aufzeichnungsfunktionen umfasste.

### 3.1.3.1 Qualität der Videodatenanalyse

**Ist-Zustand:** Die Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0 markierte mit einer Gefäßmaske nach Ablauf der undokumentierten Segmentierungsroutine die erythrozytenhaltigen Gefäße. Dies funktionierte allerdings nur bei den großvolumigeren perizentralen Sinusoiden und postsinusoidalen Venulen, so dass die midzonalen Sinusoide nur sporadisch markiert wurden. Fraglich ist daher, ob die Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0 tatsächlich den sinusoidalen Durchmesser berechnet, wie es das Cytometrics<sup>®</sup>-Handbuch zu vermitteln versucht, wenn hauptsächlich postsinusoidale Venulen markiert werden. Trotz ausgiebiger MedLine-Recherche wurde keine Arbeit zur Validierung der Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0 gefunden.

**Ziel (Soll-Zustand):** Valide und plattformunabhängige Mikrozirkulationsanalyse durch Vernetzung mit externer Analysesoftware.

**Adaptierung:** Es wurde die neueste Version der Mikrozirkulationsanalysesoftware CapiScope<sup>®</sup> auf dem Videoanalysecomputer installiert. Die Gefäße konnten nunmehr systematisch und definitionsgemäß analysiert und der Schwerpunkt der Analyse auf die midzonalen Sinusoide gelegt werden. Die Messlinienplatzierung konnte beliebig oft korrigiert, der Messdurchlauf beliebig oft wiederholt werden. Die Dokumentation der Messwertberechnung war lückenlos. Zudem betreut der Entwickler von CapiScope<sup>®</sup> einen eigenen Internetauftritt, wo er Informationen wie beispielsweise Programmaktualisierungen oder neueste Handbuchversionen zusammenfasst. Die Mikrozirkulationsanalyse mit CapiScope<sup>®</sup> ist grundsätzlich validierbar.

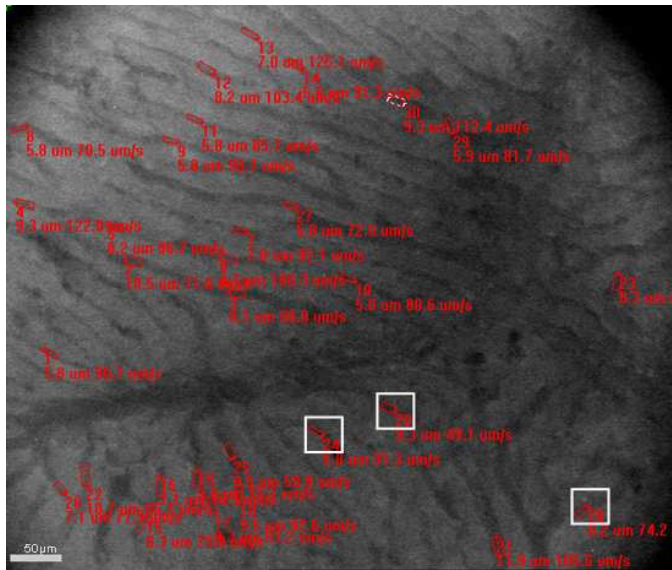
### 3.1.3.2 Messparameter

**Ist-Zustand:** Mit der Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0 lassen sich der sinusoidale Durchmesser (in  $\mu\text{m}$ ), Gefäßintensität (in Zählwerten), Hintergrundintensität (in Zählwerten) und optische Dichte der dunklen Gefäßstrukturen (in Extinktionseinheiten) analysieren. Mit Ausnahme des allgemein bekannten und weithin genutzten Messparameters „Sinusoidaler Durchmesser“ waren die anderen Messparameter wenig informativ und in dieser Form nur bei der Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0 zu finden. Wie die Berechnung des sinusoidalen Durchmessers zustande kam war nirgendwo näher beschrieben.

**Ziel (Soll-Zustand):** Multipel parametrisierte und damit aussagekräftige Mikrozirkulationsanalyse durch Vernetzung mit externer Analysesoftware.

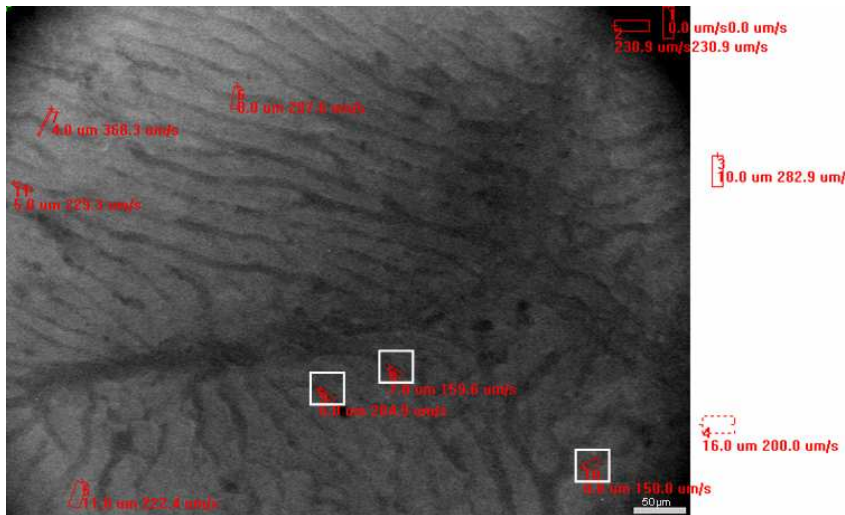
**Adaptierung:** CapiScope<sup>®</sup> erlaubte die multiple Mikrozirkulationsanalyse nach statischen Messparametern wie dem sinusoidalen und intersinusoidaler Durchmesser (in  $\mu\text{m}$ ) sowie der funktionellen Kapillardichte (in  $\text{cm}^{-1}$ ). Da zudem die Messlinien flexibel gesetzt werden konnten, wären theoretisch noch weitere Messparameter denkbar. Die Messparameterberechnung wurde im Programm selbst, aber auch auf der Internetseite des Entwicklers (siehe unter <http://www.kktechnology.com/help/c785.html>) erläutert. Dort wurde zudem angegeben, dass CapiScope<sup>®</sup> auch dynamische Blutflussgeschwindigkeitsmessungen (in  $\mu\text{m/s}$ ) über eine ganze Bilderserie hinweg beherrsche.

Für die Evaluation der sinusoidalen Blutflussberechnung wurden wiederholt definitionsgemäße, aber auch regelwidrige Messpunkte gesetzt. Die wiederholte Platzierung von Messpunkten an etwa gleicher Position in einem Sinusoid ergab unterschiedliche Werte (siehe weiße Quadrate in Abb. 11). Bei regelwidriger Platzierung der Messpunkte, beispielsweise in eine der schwarzen Ecken, in das weiße Feld neben der Videosequenz oder auch quer zur Flussrichtung wurden Flussgeschwindigkeiten auch dort ausgegeben, wo sicher kein Fluss vorhanden war. Aufgrund dieser Evaluationsergebnisse wurde beschlossen, den Parameter „sinusoidale Blutflussgeschwindigkeit“ aus der weiteren Diskussion und Interpretation der sinusoidalen Mikrozirkulationanalyse während schrittweiser Leberresektion herauszunehmen.



**Abb. 11: Evaluation der Blutflussberechnung.**

Standbild nach BFV-Analyse (links oben Einzelbild Nr. 600 aus FMR-015-Untersuchungszeitpunkt 4 (nach 90%-PH)) und identisches Standbild links unten mit stichprobenartiger BFV-Analyse an denselben Messpunkten sowie absichtlich regelwidriger Messpunktplatzierung. BFV-Stichproben mit nicht reproduzierbaren Geschwindigkeitswerten. Regelwidrige Messpunkte teilweise mit Messwertausgabe.



**3.1.3.3 Messlinien**

**Ist-Zustand:** Die Platzierung der Messlinien wurde dem Benutzer der Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0 mehr oder weniger vorgeschrieben. Nach Segmentierung vorwiegend großkalibriger Gefäße des hepatischen Mikrokreislaufs konnte der Benutzer zur weiteren Mikrozirkulationsanalyse mit dem Mauszeigergerät des VM flächige Messquadrate über die Gefäßmaske legen. Innerhalb dieser Messquadrate von unveränderbarer Flächengröße fand dann die eigentliche Berechnung der Messparameter statt.

**Ziel (Soll-Zustand):** Anpassungsfähige Mikrozirkulationsanalyse durch Vernetzung mit externer Analysesoftware.

**Adaptierung:** Die Mikrozirkulationsanalysesoftware CapiScope® befähigte den Benutzer zur vollen Kontrolle über die Messlinienplatzierung nach selbstgestellten

Regeln und in unbegrenzter Auswahl. Zwar beinhaltete das Programm keinerlei Segmentierungsfunktion, jedoch war die Messwertberechnung streng auf die ausgewählten Messlinien fokussiert. Vorteilhaft war zudem die semi-automatische Berechnung des sinusoidalen Durchmessers. Hierfür passte sich die Breite der Messlinien nach Grauwertprofilanalyse dem Gefäßausschnitt an. Es ergab sich dadurch eine weit präzisere und reproduzierbarere Ergebnisausgabe, als es allein unter Augenkontrolle durch die manuelle Messlinienplatzierung möglich wäre.

#### 3.1.3.4 Messwertberechnung

**Ist-Zustand:** Die Mikrozirkulations-Analysensoftware 1.0 gab die Messwertberechnung als Durchschnittswert- bzw. Maximalwertberechnung innerhalb aller Messquadrate ohne Einzelwertdokumentation aus. Somit konnte nicht nachvollzogen werden, wie diese Ergebnisse im einzelnen zustande gekommen sind. Dies behinderte wesentlich die Beantwortung von Fragen nach Präzision, Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der Mikrozirkulationsanalyse.

**Ziel (Soll-Zustand):** Separate und überprüfbare Parameterberechnung durch Vernetzung mit externer Analysesoftware.

**Adaptierung:** Mit CapiScope<sup>®</sup> wurden die Messparameter separat der Reihenfolge der Messlinienauswahl gemäß berechnet und übersichtlich in einer Ergebnistabelle aufgelistet. In Verbindung mit der Möglichkeit zur Abspeicherung der analysierten Standbilder konnte somit eine vollständige Dokumentation der stattgehabten Mikrozirkulationsanalyse gegebenenfalls zur nachträglichen Messwerteüberprüfung angelegt werden.

#### 3.1.3.5 Messwerttabelle

**Ist-Zustand:** Zur weiteren Bearbeitung der erhobenen Messwerte mit MS Excel<sup>®</sup> mußten die Analysedaten zunächst von der Festplatte des VM auf eine externe Festplatte transferiert werden. Neben der Umständlichkeit dieses Verfahrens bestand zudem die Gefahr der falschen Zuordnung von Messwerten und Untersuchungstier.

**Ziel (Soll-Zustand):** Schneller Export und direkte Weiterbearbeitung der Messwerttabellen durch Vernetzung mit externer Analysesoftware.

**Adaptierung:** Die in einem separaten Fenster übersichtlich aufgeführte Ergebnisliste nach Messwertberechnung mit CapiScope® konnte noch während der Analysesitzung in eine MS Excel® -Tabelle kopiert werden. Infolgedessen bestand eine direkte Verbindung zu jeder weiteren statistischen oder graphischen Bearbeitung mit entsprechenden Programmen.

### 3.1.4 Validierung

#### 3.1.4.1 Intra- und interindividuelle Analysevalidierung

Aufgrund des Versuchsdesigns einer schrittweisen Reduktion der Lebermasse war die Auswahl eines ROI (*Region of interest*) auf einem Leberlappen und dessen kontinuierliche Beobachtung als Referenzleberläppchen unmöglich. Zu jedem Untersuchungszeitpunkt wurde die Messsonde neu platziert, d.h. ein neuer ROI ausgewählt. Aus den aufgenommenen Sequenzen pro Messzeitpunkt wurden diejenigen mit der höchsten Bildqualität ausgesucht. Im Gegensatz zu anderen Autoren (siehe auch 4.2.3.) wurde versuchsdesignbedingt lediglich ein ROI ausgewählt, dieser jedoch mit mehreren Messpunkten analysiert. Zur Reproduzierbarkeit wurde die Analyse sowohl intra- wie auch interindividuell wie auch mit Werten aus der Literatur verglichen.

Für die intraindividuelle Reproduzierbarkeit wurden aus dem Experiment FMR-012 die Standbilder 180 und 236 des Untersuchungszeitpunkts 1 (vor PH) ausgewählt. Es ergab sich für beide eine gute Reproduzierbarkeit mit  $p < 0.05$  für SD und ISD (siehe Tab. 7). Die Messergebnisse waren statistisch nicht signifikant unterschiedlich.

**Tab. 7:** Ergebnisse der intraindividuellen Validierung.

Untersuchungszeitpunkt		SD ( $\mu\text{m}$ )	ISD ( $\mu\text{m}$ )	FCD ( $\text{cm}^{-1}$ )
vor PH	Standbild 180	5.3 (+-1.4)	22 (+-5.7)	40.6
	Standbild 236	6 (+-1.5)	24.6 (+-5)	34.2
Paarvergleich t-Test		0.03	0.03	

Für die interindividuelle Reproduzierbarkeit wurden aus dem Experiment FMR-012 das Standbild 236 des Untersuchungszeitpunkts 1 (vor PH) und das Standbild 132 des Untersuchungszeitpunkts 4 (nach 90%) ausgewählt.

Es ergab sich für den Untersuchungszeitpunkt 1 eine hohe Reproduzierbarkeit mit  $p < 0.05$  für SD und ISD. Untersuchungszeitpunkt 4 zeigte eine hohe Reproduzierbarkeit mit  $p < 0.01$  für ISD, jedoch eine eingeschränkte Reproduzierbarkeit mit  $p < 0.09$  für SD (siehe Tab. 8) was mit der inhomogenen Perfusion zu erklären ist (siehe auch 3.2.2.1.).



**Tab. 8:** Ergebnisse der interindividuellen Validierung.

Untersuchungszeitpunkt		SD ( $\mu\text{m}$ )	ISD ( $\mu\text{m}$ )	FCD (cm)
vor PH	Untersucher 1	6 (+1.5)	24.6 (+5.1)	34.2
	Untersucher 2	6.6 (+1)	21 (+3.4)	29
Paarvergleich t-Test		<0.04	<0.01	
nach 90%	Untersucher 1	11.2 (+3.2)	19.2 (+5.1)	30.9
	Untersucher 2	12.4 (+3.4)	22.8 (+2.2)	29.3
Paarvergleich t-Test		0.09	<0.01	

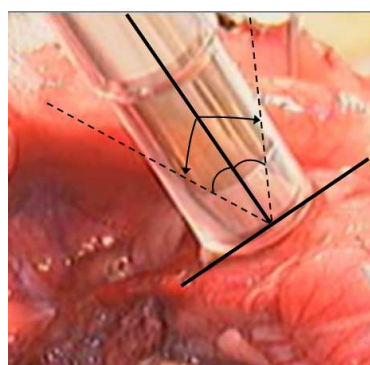
### 3.1.4.2 Region of interest (ROI)

Bei Durchsicht der akquirierten Videosequenzen fällt auf, dass zentralvenöse Strukturen den ROI des Leberläppchens unterschiedlich stark dominieren (siehe Abb. 31 und 32 des Anhangs). Dies lässt sich mit dem angewandten Verfahren zur Videodatenakquisition erklären.

Die Cytolens<sup>®</sup> über der Messondenspitze des VM wurde unmittelbar vor Messendenkontakt mit der Leberoberfläche randständig mit Acrylharzkleber bestrichen (siehe auch 3.2.1.1.). Das hatte den Vorteil der nahezu bewegungsartefaktfreien Messungen nach Aufsetzen der Messondenspitze auf einem Leberlappen.

Andererseits konnte somit nicht schon vor der eigentlichen Messung die genaue Lage des ROI geprüft werden, da dadurch leicht künstliche Druckartefakte auf dem Leberlappen gesetzt werden würden.

Trotz Fixierung der Messondenspitze auf der Leberoberfläche konnte aufgrund einer minimalen vertikalen Ausrichtungsmöglichkeit relativ zu ihrer Oberflächenwölbung die Aufsichtsebene auf dem Leberlappen geringfügig den morphologischen Voraussetzungen angepasst werden (siehe Abb. 12). Dies ist etwa mit der Untersuchung mittels eines Ultraschallkopfs vergleichbar. Die Bewegungsfreiheit des Schnittpunkts der Aufsichtsebene relativ zum Leberlappen ist damit viel größer und beschränkt sich nicht nur auf eine starre parallele Stellung wie in der IVM. Unter Inanspruchnahme der minimalen Bewegungsfreiheit der Messondenspitze kann der Untersucher den ROI zur Videoaufzeichnung der Mikrozirkulation somit geringgradig beeinflussen.



**Abb. 12:** Variabler Schnittpunkt der Aufsichtsebene der Messsonde relativ zum Leberläppchen.

## 3.2 Hämodynamik im Verlauf einer schrittweisen Leberresektion

### 3.2.1 Ergebnisse der Vorversuche (FMR 001 - 009)

Der Untersuchungsablauf mit dem optimierten Messverfahren wurde in 8 Vorversuchen (FMR-001 bis FMR-009) etabliert (siehe Tabelle 20 des Anhangs). Davon waren 3 als 90%-ige partielle Hepatektomien vorrangig als Durchführbarkeitsstudien konzipiert. Unter den Experimenten, die eine 97%-ige partielle Hepatektomie umfassten, war die Videoqualität bei dreien aufgrund einer defekten Messsonde als unbrauchbar zur weiteren Analyse zu werten und 2 mussten aufgrund von technischen Problemen im Laufe der Resektion abgebrochen werden. Die Videoqualitätsprobleme wurden durch Austausch der Messsonde erfolgreich behoben.

#### 3.2.1.1 Optimierung der Messdurchführung

In den Vorversuchen stellte sich heraus, dass die Durchführung der Messung durch den Messondenkontakt wie durch chirurgische Manipulation artefaktabhängig ist.

Durch die intraoperative Messung mit kurzzeitigem Kontakt des Messondenkopfs mit der Leberoberfläche ausgelöste Druckartefakte (wie Mikrohämorrhagien und Sinusoidalhämostase) waren direkt ersichtlich. Durch chirurgische Manipulation entstandenen morphologischen Artefakte dagegen müssen durch vorsichtiges Manipulieren vermieden werden.

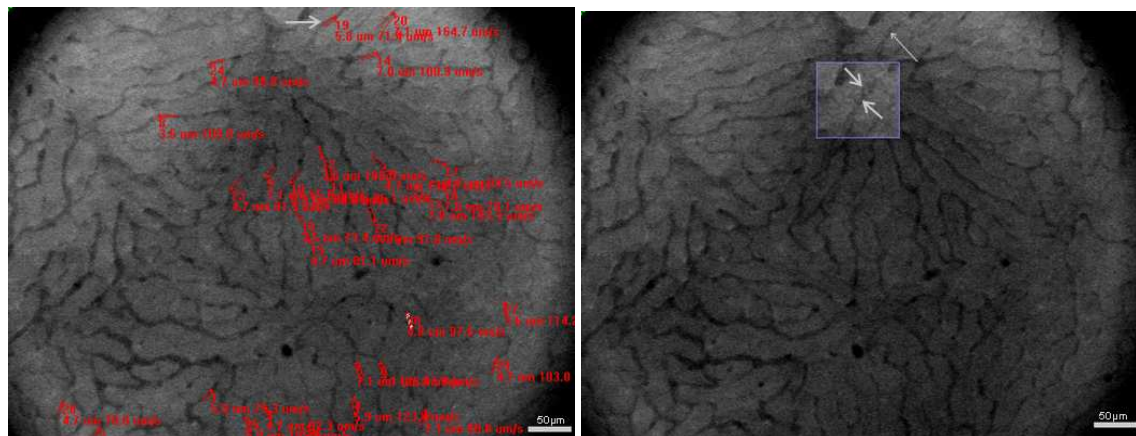
Trotz vielfältiger Lösungsansätze wie die Fixation der Messsonde mit Mikrometerschrauben an einem Fotostativ, Lagerung der Leber auf trockenen Kompressen zur Verstärkung des geringen Reibungswiderstands des Organs gegenüber der peritonealen Auflage oder der intraoperative Zug am Xyphoid zur Provokation einer vagal vermittelten Atempause besserte die Aufnahmequalität nicht wesentlich. Selbst mit einem eigens nachgebauten Unterdruckaufsatz (40) für die Plastikkappe Cytolens<sup>®</sup> waren Bewegungsartefakte unvermeidbar. Zudem war der experimentelle und technische Aufwand bei Anwendung dieser Methode beträchtlich.

Letztlich erwies sich das randständige Bestreichen der Cytolens<sup>®</sup> mit Acrylharzkleber als optimales Hilfsmittel zur Reduktion der Bewegungsartefakte. So präpariert wurde die Messsonde auf die Gewebeoberfläche aufgesetzt. Aufgrund der feuchten Oberfläche des Peritonealüberzugs der Leber führte die Verwendung des Acrylharzklebers nicht zu einem Verkleben von Plastik und Peritoneum, wie es beispielsweise zwischen Plastik und trockener Haut auftritt. Lediglich ein verstärktes Anhaften der Leberoberfläche an

der Cytolens® war feststellbar. Mit etwas Übung konnte der Untersucher durch Fixation der Unterarme auf dem OP-Tisch eine stabile Position der Sonde austarieren, mit der sich bewegungsarme Sequenzen akquirieren ließen.

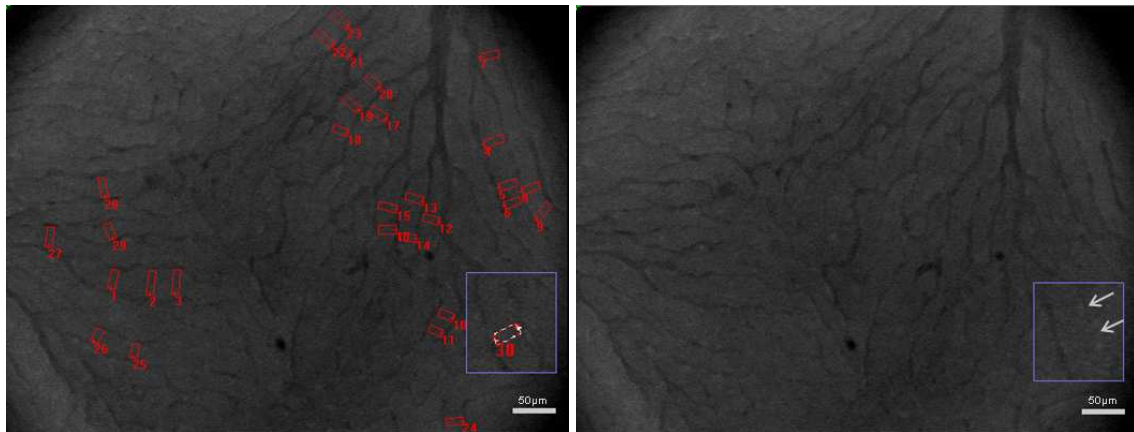
### 3.2.1.2 Abbildungsqualität

In der SD- und ISD-Analyse war die Auswahl der midzonalen Messpunkte mitunter dadurch erschwert, daß aufgrund von Kontrastindifferenzen eine klare Abgrenzung von Sinusoid und perisinusoidalem Gewebe nicht immer möglich war. Polygonale, helle Negativ-Abbildungen ließen sich beispielsweise mit der Präsenz anderer Blutzellen wie Lymphozyten und Thrombozyten im sinusoidalen Erythrozytenstrom vor dunklem Hintergrund erklären (siehe Abb. 13).



**Abb. 13:** FMR-011-Untersuchungszeitpunkt 1 (vor PH). Standbild nach SD-Analyse (links Einzelbild Nr. 450) und Standbild aus derselben Videosequenz (rechts Einzelbild Nr. 664). 2xfach vergrößertes Inlay rechts mit sichtbarer transientser Heterogenität des sinusoidalen Blutflusses. SD-Messpunkt Nr.19 (li.) im rechten Standbild nicht reproduzierbar, möglicherweise aufgrund der Passage zweier Leukozyten (rundliche, schwarzumrandete Aussparungen; →Pfeile) unter gleichzeitiger Erythrozytenkompression.

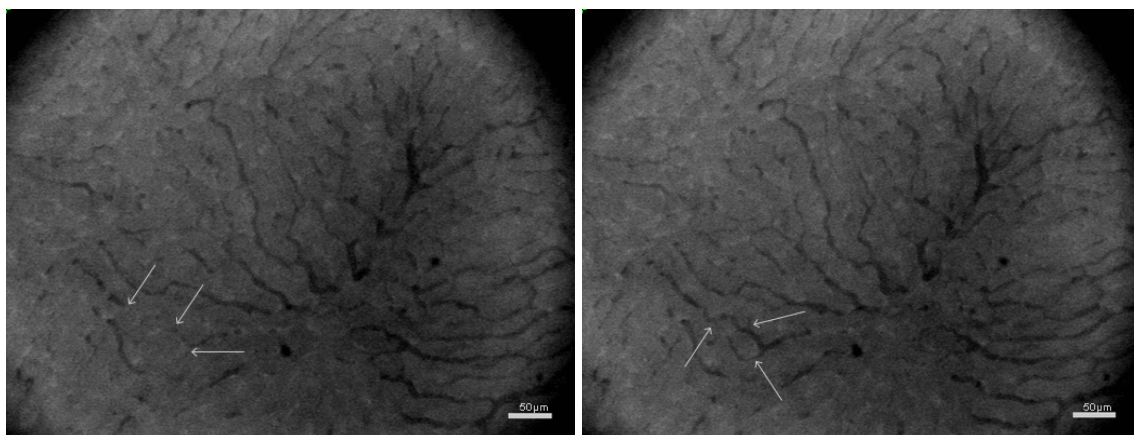
Speziell in der ISD-Analyse bestand gelegentlich das Risiko, einen zwischen zwei Sinusoiden liegenden blutentleerten Sinusoid zu übersehen und einen fälschlicherweise zu großen ISD zu messen. Hier hat sich das Abspielen des vollständigen Messvideos, um alle Sinusoide immer klar voneinander unterschieden zu können, als hilfreich erwiesen (siehe Abb. 14).



**Abb. 14:** FMR-010-Untersuchungszeitpunkt 1 (vor PH). Standbild nach ISD-Analyse (links Einzelbild Nr. 232) und Standbild aus derselben Videosequenz (rechts Einzelbild Nr. 444). Jeweils 2xfach vergrößertes Inlay mit sichtbarer transientser Heterogenität des sinusoidalen Blutflusses ohne erkennbare Ursache. ISD-Messpunkt Nr.30 (li.) im rechten Standbild nicht reproduzierbar aufgrund blutentleertem Parallelsinusoid (→Pfeile).

In der FCD-Analyse konnte nicht selten eine transiente Unterbrechung des sinusoidalen Blutfluss selbst bei völlig artefaktfreien Messvideos beobachtet werden. Vor Leberresektion kann die Ursache dafür beispielsweise in den Flussturbulenzen an den sinusoidalen Bifurkationen oder in den Zell-Gefäßendothel-Wechselbeziehungen von Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten oder luminal vorgewölbten Kupffer-Zellen liegen. Nach Leberresektion können Perfusionsschwankungen zusätzlich durch fettige Vakuolisierung und Schwellung der Hepatozyten auftreten (siehe Abb. 15).

Der FCD war zudem graduell abhängig vom Füllungszustand des Sinusoids. Der SD war periportal geringer verglichen mit der perizentralen Sinusoidalbreite. Somit ergab sich eine bessere visuelle Identifizierbarkeit der Sinusoide sobald sich eine ZV in der Abbildungsebene des Messvideos befand.



**Abb. 15:** FMR-015-Untersuchungszeitpunkt 1 (vor PH). Beide Standbilder zeigen die physiologische Perfusion vor PH in derselben Videosequenz (links Einzelbild Nr. 579; rechts Nr. 717). Sichtbare transiente Heterogenität des sinusoidalen Blutfluss ohne erkennbare Ursache (→Pfeile).

Tendenziell resultierten durch diesen Abbildungsqualitätsfaktor höhere FCD-Werte, besonders bis nach 70%-PH, wenn eine allgemeine hepatische Hyperperfusion noch nicht eingetreten war.

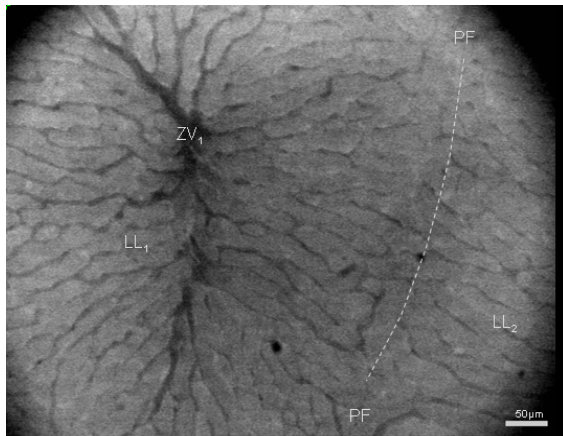
Ab 90%-PH kam es aufgrund der sinusoidalen Blutfülle gerade auch in der Läppchenperipherie zu einer besseren Erkennbarkeit der Sinusoide und postsinusoidalen Venulen. Dies wurde teilweise dadurch ausgeglichen, daß ein relativ zu den ersten drei Untersuchungszeitpunkten kleinerer lobulärer Bildausschnitt gemessen wurde (siehe Abb. 31 und 32 des Anhangs). Auch hier konnte mit dem Abspielen des vollständigen Messvideos die Perfusion aller Sinusoide besser gesehen werden.

### 3.2.2 Ergebnisse der Hauptversuche (FMR 010 - 015)

#### 3.2.2.1 Abbildungsqualität

Die Hauptversuche FMR-010 bis FMR-015 mit 97%-PH stellten das Datenmaterial zur Mikrozirkulationsanalyse während schrittweiser Leberresektion (siehe Tab. 21 des Anhangs). Pro Messzeitpunkt wurden 2-7 Videosequenzen aufgenommen. So wurden bei allen Tieren zu jedem Messzeitpunkt Video- und Audioaufnahmen von hoher Bildqualität erzielt. Zur Anschauung des technischen wie inhaltlichen Qualitätsniveaus werden zwei Serien von Abbildungen gezeigt:

**Abbildungen 16 bis 21** geben die schrittweise Leberresektion aus dem Experiment FMR-013 in einer Bilderserie wieder. Bis 70%-PH erscheint das Leberläppchen homogen durchblutet mit schmalen Sinusoiden und normal breiten Leberzellbälkchen. Nach 90%-PH in Abb. 19 zeigt sich die deutliche sinusoidale Verbreiterung bei gleichzeitiger Abnahme des ISD. Jede Abbildung repräsentiert beispielhaft die Lebermorphologie zum jeweiligen Messzeitpunkt. Im Original erscheint ein Videobild in einer Grösse von 640x480 Pixel (=630x470µm, da 1 Pixel=0.98µm) und in einer Kreisdiagonalen von 500µm im Analysefenster von CapiScope®.



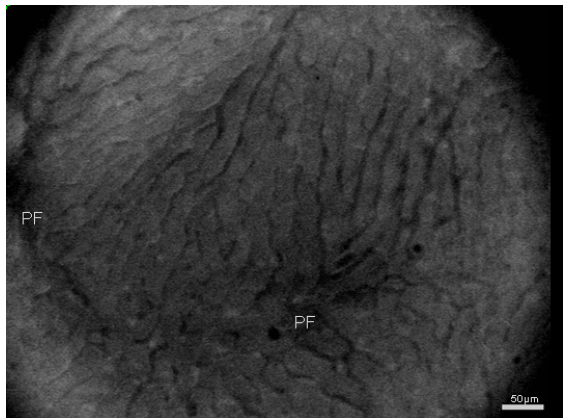
**Abb. 16: (I) vor PH.**

- Physiologische Leberdurchblutung mit einem SD von  $5.6\mu\text{m}$
- Rechte untere Bildecke mit Portalfelder-tangenten zwischen  $LL_1$  und  $LL_2$



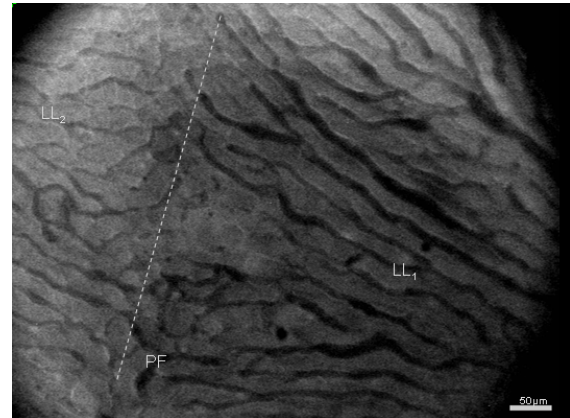
**Abb. 17: (II) nach linker Lobektomie.**

- Leichte Dilatation der midzonalen Sinusoide auf  $6.3\mu\text{m}$
- Typische Gefäßmorphologie der untereinander vernetzten, radiären Sinusoidstrassen



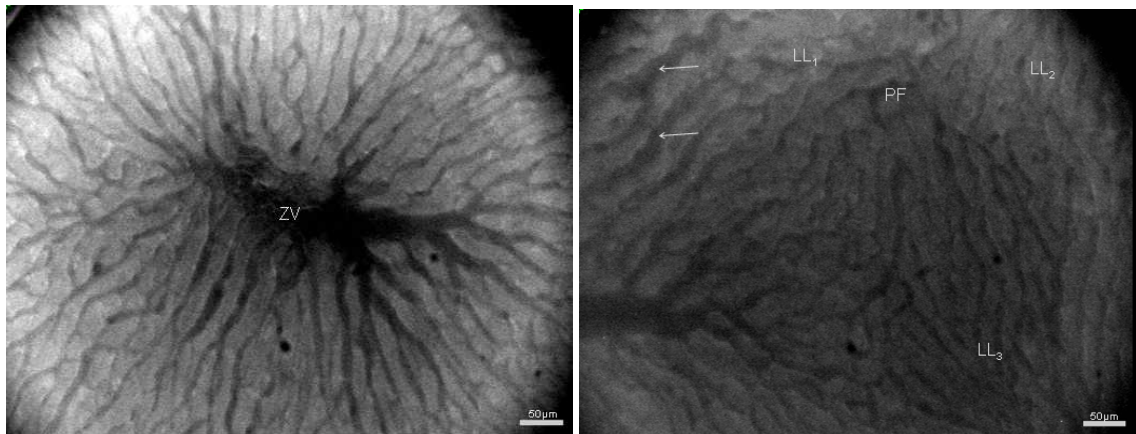
**Abb. 18: (III) nach Bilobektomie des linken und mittleren Leberlappens.**

- Kaum sichtbare Veränderungen (SD-Anstieg auf  $6.8\mu\text{m}$ )
- Wesentlich torquiertere Periportalsinusoide relativ zu denjenigen der Midzonal- und Perizentralzone



**Abb. 19: (IV) nach Trilobektomie und erhaltenem Leberkaudaten.**

- Auffällige Weitstellung der midzonalen Sinusoide nach 90%-PH auf  $8.3\mu\text{m}$
- Blutfülle des Leberkaudaten läßt auch optisch geschwollenes Leberläppchen näher an den Betrachter herantreten
- Azinäre Symmetrieachse im ersten vertikalen Bilddrittel teilt  $LL_1$  und  $LL_2$



**Abb. 20:** (V) nach Resektion des oberen Leber- **Abb. 21:** (VI) nach Kaudatusresektion und kaudaten. Messung auf parakavalem Leberrudiment.

- Blutzufuhr zur ZV über auffällig homogen, perfundierte stark dilatierete Sinusoide (midzonaler SD: 10µm)
- Räumliche Detaildarstellung der zentralvenösen Gefäßwandwölbungen gut erkennbar
- Sichtlich perfusionsinhomogenes LL<sub>1</sub> mit größerer sinusoidaler Durchmesserinkohärenz (→Pfeile; im Mittel leichte Verbreiterung auf 10.4µm)
- Standbild mit Dreiläppchenbegrenzung im ersten horizontalen Bild Drittel

**Abbildungen 22 bis 27** verdeutlichen besondere morphologische und mikrozirkulatorische Aspekte der Sinusoide und postsinuoidalen Venulen vor und während der schrittweisen Leberresektion. Um zu einer natürlicheren Betrachtung der Flusscharakteristik zu kommen, kann zu den Standbildern Abb. 22, 26 und 27 die vollständige Videosequenz auf der beiliegenden CD-ROM abgespielt werden.

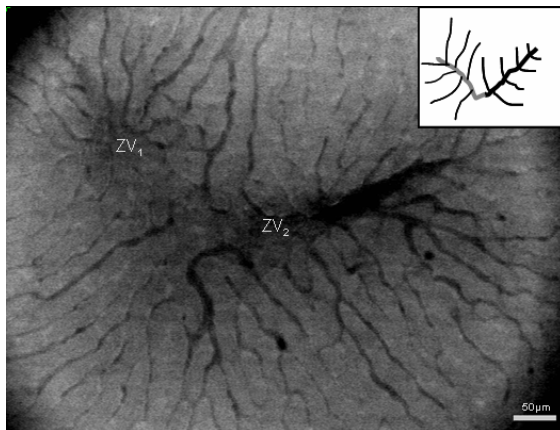
Spätestens ab 90%-PH wurden die durchgehend von perizentral nach periportal gleichmäßig tiefschwarz kontrastierten Sinusoide mit Aufhebung des physiologischen Durchmessergefälles gut erkennbar (siehe Abb. 19). Gleichzeitig traten häufig einzelne midzonale Sinusoide auf, die überproportional breiter erschienen als die übrigen Midzonalsinusoide desselben Leberläppchens, was sich in der hohen Standardabweichung der Messwerte widerspiegelte. Diese offensichtliche Perfusionsinhomogenität des Leberläppchens war im Vergleich der Abbildungen 26 und 27 besonders deutlich (siehe auch Tab. 9).

**Tab. 9:** Eher homogen oder inhomogen erscheinendes Perfusionsmuster in den Messvideos ab 90%-PH mit Angabe der SD.

Messvideo	nach 90%-PH	nach 95%-PH	nach 97%-PH
FMR-010	7.9+-2.1	9.3+-2.2	8.4+-2.4
FMR-011	7.9+-1.9	9.9+-2.5	10.8+-2.1
FMR-012	8+-2	9.9+-2.2	10.2+-1.5
FMR-013	8.3+-2.2	10+-2.2	10.4+-1.6
FMR-014	8.9+-1.7	9.2+-2.3	9.8+-2.4
FMR-015	7.9+-1.7	8.3+-1.7	9.5+-2.1

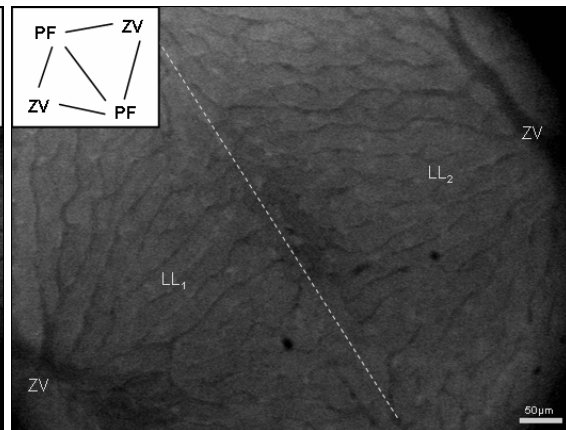
perfusionshomogen:  perfusionsinhomogen:

Der visuelle Eindruck einer Perfusionsinhomogenität trat bei 2 von 6 Versuchstieren durchgehend auf (FMR-010, FMR-012), 2 Versuchstiere zeigten sie im Messvideo nach 90%-PH (FMR-011, FMR-015), 2 Versuchstiere nach 95%-PH (FMR-011, FMR-014) und wiederum 2 Versuchstiere (FMR-013, FMR-015) nach 97%-PH (siehe Tab. 9 und Abb. 31 und 32 des Anhangs). Im Ausmass der Standardabweichung zu den einzelnen Beobachtungszeitpunkten spiegelt sich dieser Eindruck weniger deutlich wider.



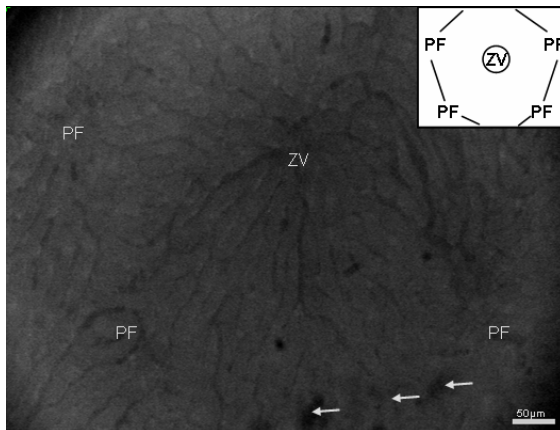
**Abb. 22: Subfokale Zentralvenenvereinigung zur Schaltvene.**

ZV<sub>1</sub>-Konfluens ebenfalls subfokal (siehe auch beiliegende CD-ROM; Abb. aus FMR-014-Untersuchungszeitpunkt 1 (vor PH))



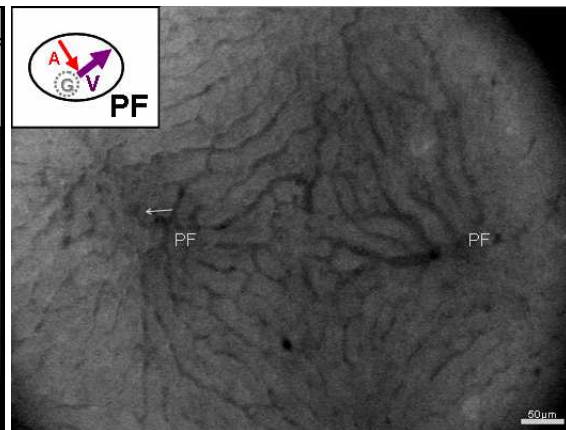
**Abb. 23: Fast vollständiger Leberazinus.**

Bilddiagonale von links oben nach rechts unten als Symmetrieachse eines Leberazinus mit den beiden zentralvenöswärts gerichteten Polen (Abb. aus FMR-015-Untersuchungszeitpunkt 2 (nach 30%-PH))



**Abb. 24: Fast vollständiges Leberläppchen.**

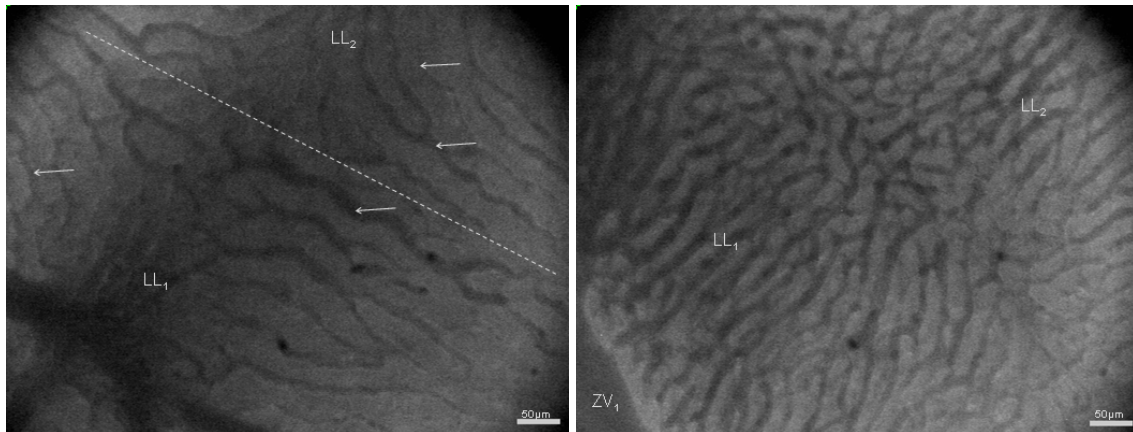
- Fokustiefe in der Transversalebene gibt ein fast vollständiges Leberläppchen mit subfokaler ZV wieder (Markierung dreier PF zur besseren Orientierung)
- Leichte Gewebeschäden im rechten unteren Bildquadranten (→Pfeile, Abb. aus FMR-010-Untersuchungszeitpunkt 3 (nach 70%-PH))



**Abb. 25: Fast vollständige Glisson-Trias.**

- Detaillierte Gefäßaufnahme zweier Portalfelder mit vermutlicher Mitdarstellung der im Vergleich zur Portalvene („V“) kleineren arteriellen („A“) Hepatikaäste (→Pfeile)
- Wegen fehlender Visualisierbarkeit des Gallengangs („G“) keine vollständige Glisson-Trias-Ansicht möglich (Abb. aus FMR-011-Untersuchungszeitpunkt 3 (nach 70%-PH))





**Abb. 26:** Perfusionsinhomogene Leberläppchen ( $\rightarrow$ Pfeile) im  $LL_1$  wie auch im  $LL_2$ . (siehe auch beiliegende CD-ROM; Abb. aus FMR-010-Untersuchungszeitpunkt 5 (nach 95%-PH))

**Abb. 27:** Perfusionshomogene Leberläppchen. - Homogene Perfusion zweier Leberläppchen des parakavalen Leberrudiments mit dichtem Sinusoidalnetzwerk (siehe auch beiliegende CD-ROM)  
- Beachte die Breite der nur ausschnittsweise visualisierten  $ZV_1$  in der linken unteren Bildecke (Abb. aus FMR-011-Untersuchungszeitpunkt 6 (nach 97%-PH))

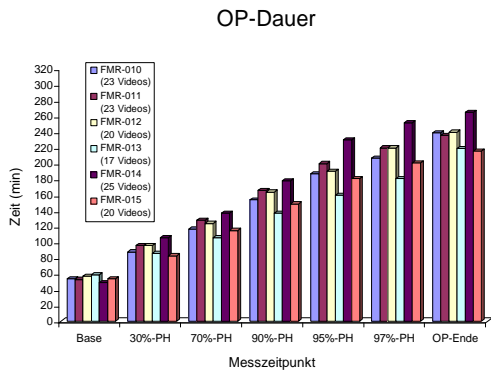
### 3.2.2.2 Versuchsablauf

#### 3.2.2.2.1 Leberresektion

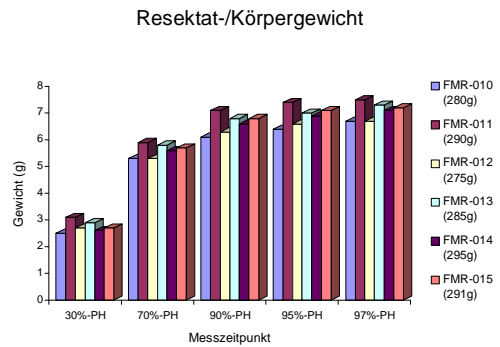
Es waren keine Abweichungen in der chirurgischen Technik der sequentiellen Reduktion des Leberparenchyms bei irgendeinem der Versuchstiere nötig. Zeitliche Abweichungen in den einzelnen Resektionsschritten entstanden aufgrund der unterschiedlichen Anzahl aufgezeichneter Videosequenzen auf der Suche nach der bestmöglichen technischen und inhaltlichen Videoqualität. Die OP-Dauer lag zwischen 216 Minuten mit insgesamt 20 aufgenommenen Videosequenzen (FMR-015) und 265 Minuten mit 25 Videosequenzen (FMR-014) (siehe Diag. 2 und Tab. 21 des Anhangs).

#### 3.2.2.2.2 Versuchstiere

Keines der 6 Versuchstiere zeigte intraoperative Komplikationen wie unkontrollierbare Blutungen oder akuter Blutdruckabfall oder verstarb vor Beendigung der OP. Das Ausgangskörpergewicht der Tiere betrug 275g (FMR-012) bis 295g (FMR-014). Das Gewicht des Gesamtresektats unter schrittweiser Leberresektion schwankte entsprechend von 6.7g (FMR-010, FMR-012) bis 7.5g (FMR-011; siehe Diag. 3).



**Diag. 2:** Gesamte OP-Dauer je Versuchstier von der Messkatheteranlage bis zum Exitus unmittelbar nach der letzten Parameterdokumentation.



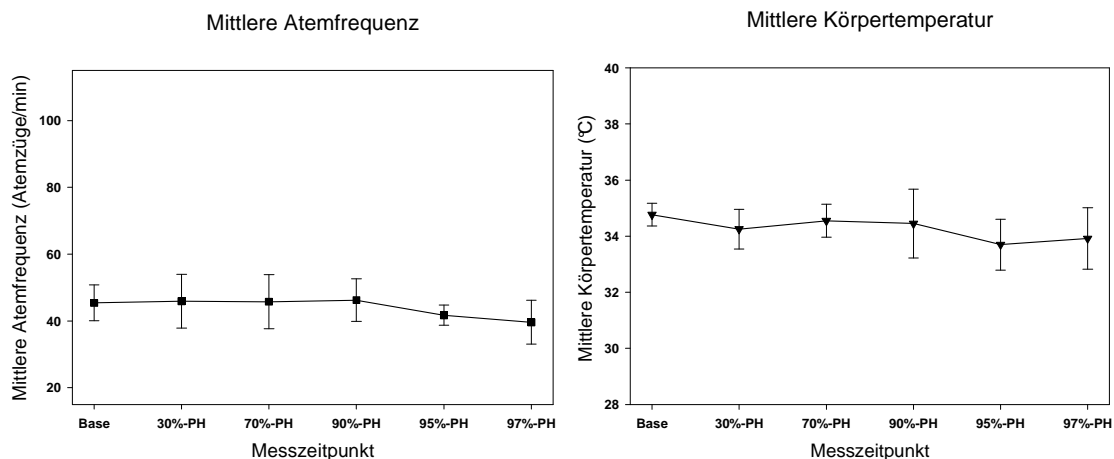
**Diag. 3:** Verhältnis des Gewichts des Gesamtresektats unter schrittweiser Leberresektion.

### 3.2.2.3 Vitalparameter

Insgesamt waren die Vitalparameter Atemfrequenz, Körpertemperatur, Herzfrequenz und ZVD während der mehrstündigen OP konstant.

Isoflurananästhesiebedingt lagen vor Resektionsbeginn erniedrigte Atemfrequenzen von 40 (FMR-013) bis 53 (FMR-012) Atemzügen/min vor (Normalbereich 65 bis 115 Atemzüge/min; siehe unter <http://info.med.yale.edu/yarc/vcs/normativ.htm>). Unter dem anhaltenden OP-Trauma sanken sie nochmals leicht ab mit Endwerten von 31 (FMR-013) bis 48 (FMR-010) Atemzügen/min.

Der intraoperative Verlauf der Körpertemperatur war unter permanenter Wärmelichteinstrahlung konstant. Selbst bei der mit 265 Minuten längsten OP (FMR-015) konnte eine äußerst gering schwankende Körpertemperatur von  $34^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  verzeichnet werden (siehe Diag. 4).



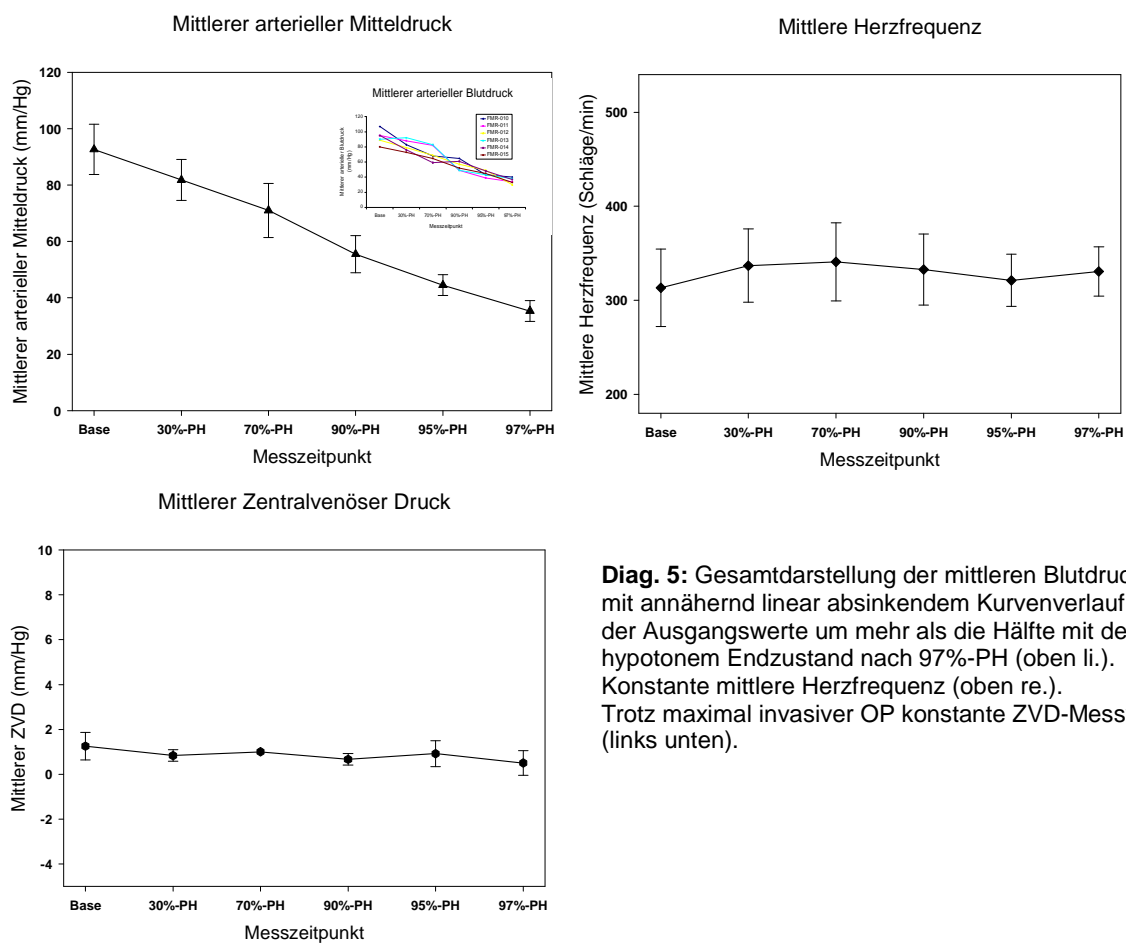
**Diag. 4:** Normale bis niedrignormale mittlere Atemfrequenz (li.) und unauffällige mittlere Körpertemperatur (re.).

Bei allen Versuchstieren konnte für den mittleren arteriellen Mitteldruck ein annähernd gleichmäßiger Druckgradient  $\Delta P$  gemessen werden.

Die Messwerte vor schrittweiser Leberresektion bewegten sich zwischen 80mmHg (FMR-015) bis 107mmHg (FMR-010). Die schrittweise Entnahme von Leberparenchym reduzierte schrittweise das zirkulierende Blutvolumen mit darauffolgender Abnahme des arteriellen Mitteldrucks. Nach 90%-PH waren Druckwerte eines kompensierten hypovolämischen Schocks festzustellen mit einer Spannbreite von 50mmHg (FMR-011) bis 65mmHg (FMR-010). Der Endpunkt dieses Druckgefälles war am 6. Messzeitpunkt erreicht, bei dem ein Mitteldruck von nur noch 30mmHg (FMR-012) bis 40mmHg (FMR-010) registriert werden konnte (siehe Diag. 5).

Trotz stetig abnehmender Mitteldruckwerte blieb die Herzfrequenz bei allen 6 Tieren während des gesamten OP-Verlaufs im Normbereich von 330 bis 480 Schlägen/min (siehe auch unter <http://info.med.yale.edu/yarc/vcs/normativ.htm>). Dies wäre ein weiterer Beleg für einen kompensierten Schockzustand (siehe Diag. 5).

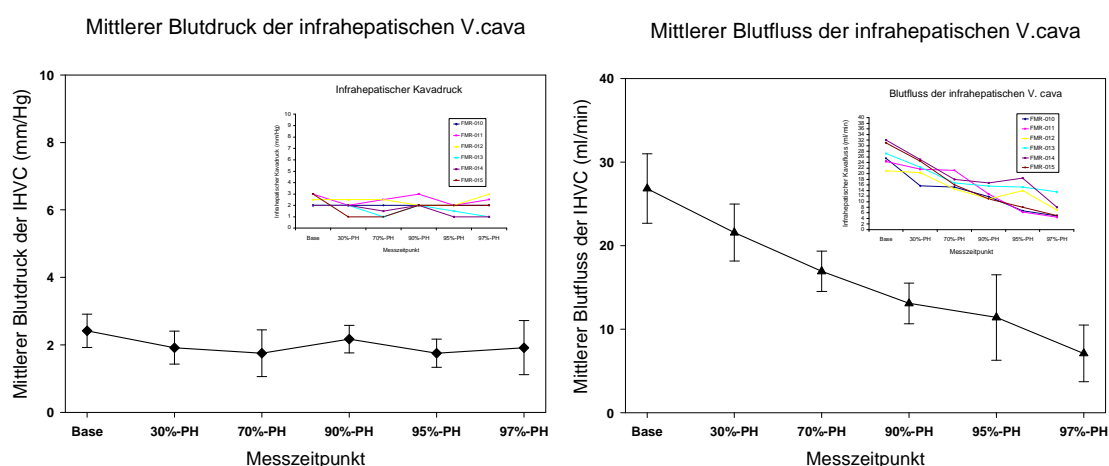
Der mittlere ZVD schwankte mit Druckwerten von 0.7mmHg (FMR-014, FMR-015) bis 1.2mmHg (FMR-010) während schrittweiser Leberresektion. Er lag allerdings sämtlich im Referenzbereich von -2mmHg bis 3mmHg (siehe Diag. 5).



**Diag. 5:** Gesamtdarstellung der mittleren Blutdruckwerte mit annähernd linear absinkendem Kurvenverlauf. Abfall der Ausgangswerte um mehr als die Hälfte mit deutlich hypotonem Endzustand nach 97%-PH (oben li.). Konstante mittlere Herzfrequenz (oben re.). Trotz maximal invasiver OP konstante ZVD-Messwerte (links unten).

Der intrahepatische Hohlvenendruck variierte im Mittel mit 2mmHg+0.2mmHg (Referenz von 1mmHg bis 5mmHg) nur wenig (siehe Diag. 6).

Entsprechend des im OP-Verlauf sinkenden arteriellen Mitteldrucks aufgrund der durch die Leberresektion induzierten systemischen Hypovolämie, zeigte sich ebenfalls ein linearer Abfall der mittleren Blutflussvolumina in der IHVC bei allen Tieren von 27ml/min auf 7ml/min (siehe Diag. 6).



**Diag. 6:** Unveränderte mittlere Blutdruckverhältnisse in der IHVC über die gesamte OP hinweg (li.). Dagegen gleichmäßig lineares Absinken des mittleren Hohlvenenflusses (re.).

### 3.2.2.4 Leberdurchblutung

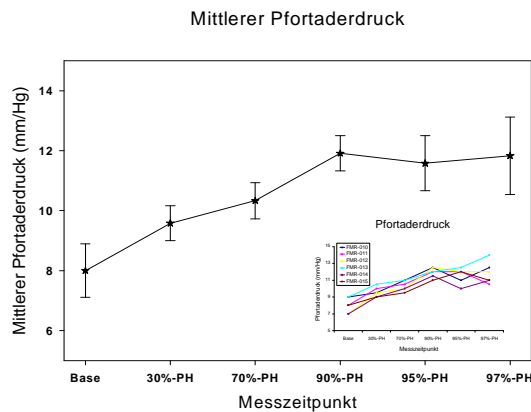
Die Leberdurchblutung war intraoperativ einer portalen Druckerhöhung mit gleichzeitiger Blutflussabnahme in Pfortader und Leberarterie unterworfen.

Der mittlere Pfortaderdruck stieg von 7mmHg linear an bis nach 90%-PH mit Maxima zwischen 11mmHg (FMR-015) und 12.5mmHg (FMR-010 und FMR-012) als Ausdruck der eintretenden portalen Hypertonie. Nach Resektion der beiden Leberkaudaten stieg er nicht weiter an, vermutlich wegen der Ausbildung eines kompensierten Schockzustands (siehe Diag. 7).

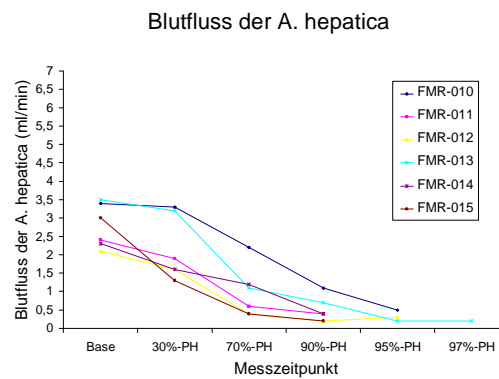
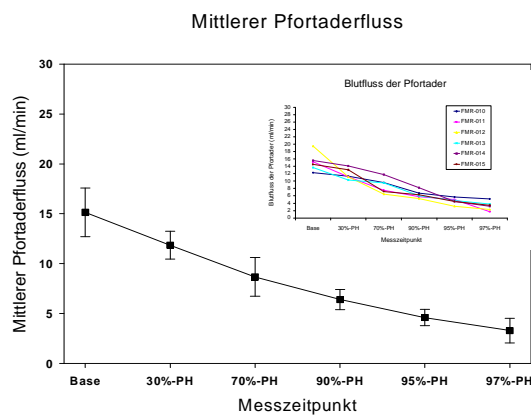
Der mittlere Pfortaderfluss verminderte sich linear ohne Messwertsprünge während schrittweiser Reduktion des gesamtinოსoidalen Gefäßquerschnitts von 15ml/min vor OP über 6.5ml/min nach 90%-PH bis auf 3.3ml/min nach 97%-PH (siehe Diag. 8).

Analog zur Pfortaderflusskurve war eine stetige Reduktion des Blutflusses in der Leberarterie bis zur 90%-igen PH ableitbar. Beim 4.Messzeitpunkt nach 90%-PH waren nur noch 0.2ml/min (FMR-012 und FMR-015) bis 1.1ml/min (FMR-010) registrierbar. Mit Ausnahme von FMR-013 reichte die Messgeräteskala zur weiteren Flussmessung

nach 95%-iger bzw. 97%-iger PH nicht aus. Für FMR-013 waren zu diesen Zeitpunkten nur noch Minimalvolumina von 0.2ml/min feststellbar (siehe Diag. 8).



**Diag. 7:** Kontinuierlicher linearer Anstieg des mittleren Pfortaderdrucks um 33% bis 78% bei schrittweiser Resektion bis nach 90%-PH. Uneinheitliche weitere Druckentwicklung im letzten Drittel der OP.



**Diag. 8:** Lineare mittlere Pfortaderflusskurve unter sequentieller Reduktion des sinusoidalen Gesamtquerschnitts (li.). Nach durchgehend rückläufigen Hepatikaflüssen zunehmend erschwerte Untersuchungsverhältnisse nach 90%-PH mit teils undurchführbarer Messwertableitung (re.).

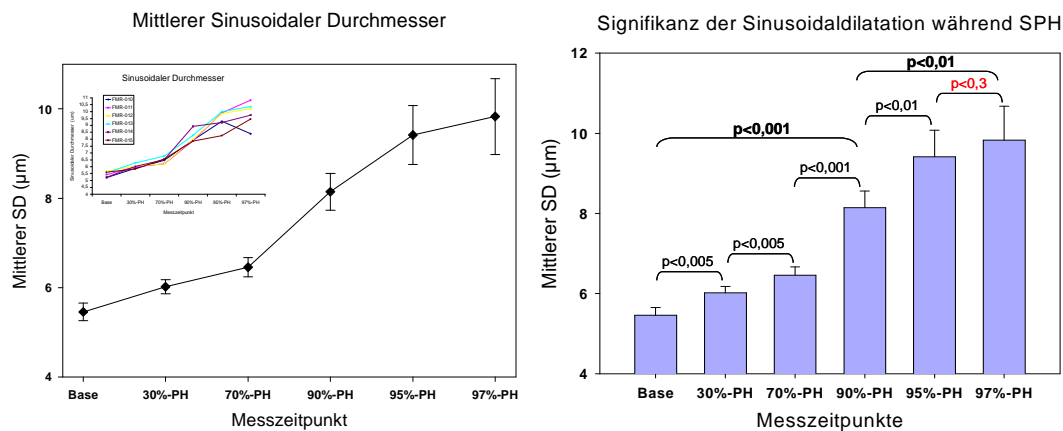
### 3.2.2.5 Mikrozirkulation

#### 3.2.2.5.1 Sinusoidaler Durchmesser

Bei Ausgangswerten von 5.2µm (FMR-010) bis 5.7µm (FMR-012) vor PH erweiterten sich die Sinusoide geringfügig, jedoch signifikant bis nach 70%-iger PH. Zwischen 70%-PH und 90%-PH konnte bei allen Tieren ein signifikanter mittlerer Durchmesseranstieg von 6.4µm auf 8.2µm festgestellt werden. Im weiteren Verlauf bis nach 97%-iger PH wurde der maximale Sinusoidaldurchmesser entweder schon nach 95%-PH erreicht (9.3µm bei FMR-010), ansonsten erst nach 97%-PH (höchster Messwert mit 10.8µm bei FMR-011; siehe Diag. 9).

Auffällig ist die Zunahme der Streubreite bei zunehmendem Resektionsausmaß im individuellen Tier (von 5.2+-1.3µm bei FMR-010 vor PH auf 8.4+-2.1 µm nach 97%-PH)

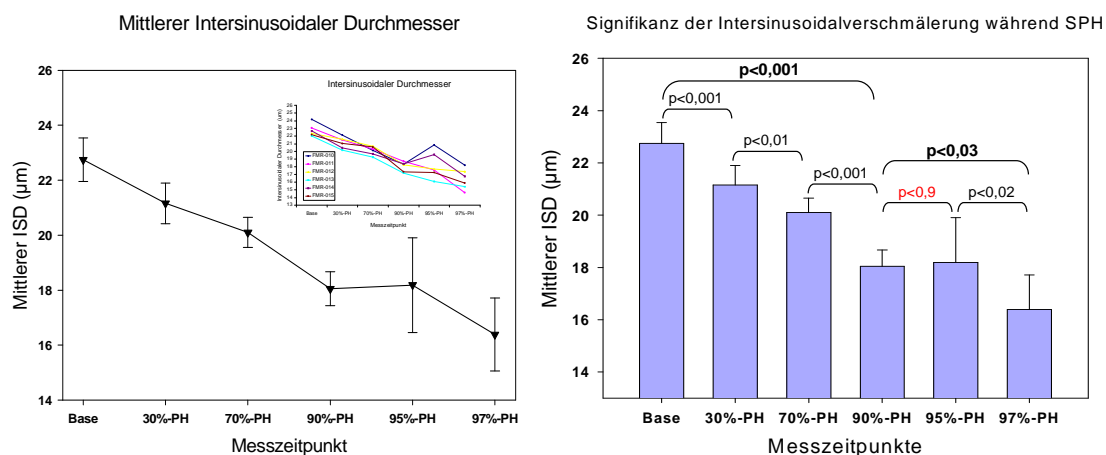
auf als auch in der Gesamtgruppe (mittlerer Mittelwert von  $5.5 \pm 0.2 \mu\text{m}$  vor PH auf  $9.8 \pm 0.9 \mu\text{m}$  nach 97%-PH als pro Untersuchungszeitpunkt (siehe auch 3.2.2.1.).



**Diag. 9:** Signifikante Sinusoidverbreiterung nach 90%-PH um 20% (FMR-015) bis 37% (FMR-014) ( $p < 0,01$ ). Mit Ausnahme von FMR-010 zweiter signifikanter Durchmesseranstieg im letzten OP-Drittel nach 97%-PH um 9% (FMR-014) bis 37% (FMR-011) ( $p < 0,01$ ).

### 3.2.2.5.2 Intersinusoidaler Durchmesser

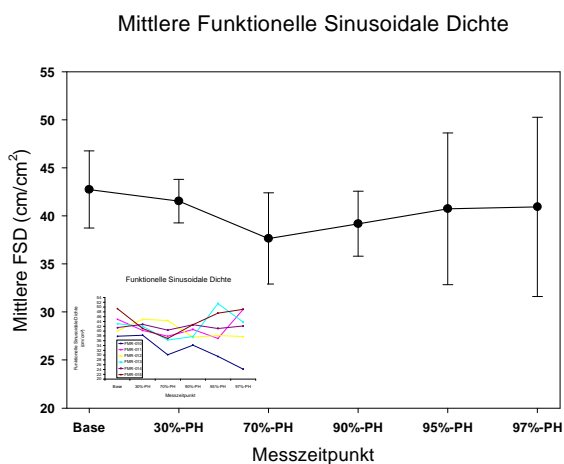
Vor OP lag der mittlere ISD bei  $22.8 \mu\text{m}$ . Während schrittweiser Leberresektion verhielt sich der intersinusoidale Durchmesser im Sinne eines stetigen Rückgangs auf  $19.3 \mu\text{m}$  (FMR-013) bis  $20.7 \mu\text{m}$  (FMR-011) nach 70%-iger PH. Der Rückgang des mittleren ISD zwischen 70%-PH und 90%-PH war von  $20.1 \mu\text{m}$  auf  $18 \mu\text{m}$ . Bei zwei von sechs Versuchstieren weitete sich der intersinusoidale Abstand wieder nach 95%-iger PH (FMR-010, FMR-014). Der Resektionsschritt von 95%-PH auf 97%-PH äußerte sich hingegen bei allen Tieren als Verschmälerung des ISD auf Minimalwerte von  $14.6 \mu\text{m}$  (FMR-011) bis  $18.2 \mu\text{m}$  (FMR-010). (siehe Diag. 10).



**Diag. 10:** Um 7% (FMR-014) bis 16% (FMR-015) signifikant kleinerer Intersinusoidalabstand zwischen 70%-PH und 90%-PH ( $p < 0,01$ ). Nach 97%-PH weitere Reduktion um 0.8% (FMR-010) bis 22% (FMR-011) ( $p < 0,02$ ), jedoch mit dazwischenliegender mittlerer Abstandsvergrößerung nach 95%-PH.

### 3.2.2.5.3 Funktionelle Sinusoidale Dichte

Vor OP betrug der mittlere FSD  $43\text{cm}^{-1}$ . Während schrittweiser Leberresektion war der mittlere FSD der verstärkt blutdurchströmten Sinusoide konstant mit  $39\text{cm}^{-1}$  nach 90%-PH und  $41\text{cm}^{-1}$  nach 97%-PH (siehe Diag. 11). Auffallend waren allerdings wegen der teilweise auftretenden Perfusionsinhomogenität der Leberläppchen die hohen Standardabweichungen, vor allem zu den beiden letzten Messzeitpunkten. Der Werteabstand nach 97%-iger PH reichte sogar von  $24.1\text{cm}^{-1}$  (FMR-010) bis  $49\text{cm}^{-1}$  (FMR-015) mit einem mehr als doppelt so grossen Unterschied ( $24.9\text{cm}^{-1}$  bzw. 103%).



**Diag. 11:** Hohe Standardabweichungen mit scheinbar konstanter mittlerer funktioneller sinusoidaler Dichte und unentschlossener Verlaufsrichtung.

## 4 Diskussion

### 4.1 Stellenwert der orthogonalen Polarisationspektroskopie

Obwohl erst seit 7 Jahren verfügbar, hat sich das VM seit seiner Markteinführung Ende 1999 neben der herkömmlichen Fluoreszenzmikroskopie etabliert. Sowohl beim Versuchstier wie auch beim Menschen ist es bereits zur Klärung vielfältiger Fragestellungen angewandt worden.

#### 4.1.1 Tierexperimentelle Mikrozirkulationsstudien

Inzwischen liegen tierexperimentelle Arbeiten zu Mikrozirkulationsstudien in der Rückenhautkammer bei Hamstern (23-25,60,65), des Pankreas von Ratten (91), des Kolons von Mäusen (4-5), der Saphenusarterie von Mäusen (49), freier Rückenhautlappen von Mäusen (33,58), der Nebenschilddrüse von Kaninchen (79), der Pia mater von Ratten (80), des Cortex von Ratten (81), des Kremastermuskels von Mäusen (33), des Zwerchfells von Ratten (33), der Ileum- und Ileostoma-Schleimhaut von Schweinen (83-84), muskulokutaner Lappenplastiken von Schweinen (18) und der Sublingual-Schleimhaut von Schweinen (52) vor.

#### 4.1.2 Klinische Mikrozirkulationsstudien

Der einzigartige Vorteil der nebenwirkungsfreien und beliebig häufig wiederholbaren Untersuchung von menschlichen Organen und Geweben mit dem VM hat sich seit Ende 1999 in über 30 wissenschaftlichen Veröffentlichungen (Stand: 20.06.2006) niedergeschlagen. Es wurde klinisch bereits die Mikrozirkulation der Konjunktiva (33,73), des Cortex (43,85), der Haut (8,37,44), des Pankreas (74,91), der Pia mater (22,86), des Wundrands einer offenen Hautwunde (37), der Supraspinatussehne (6), sowie der Schleimhaut eines Dünndarminterponats (18), der dorsalen Zungenoberfläche (8,15-16,52,75) und von Dünndarmtransplantaten (7) beobachtet. Schließlich wurden bislang insgesamt 3 Mikrozirkulationsstudien der menschlichen Leber von einer Arbeitsgruppe veröffentlicht (65-67). Sie verfolgten damit erstmalig das Ziel, die Gefäßmorphologie und die Leberperfusion vor und nach Leberlebendtransplantation bei Organ Spendern wie Organempfängern zu untersuchen. Der kommerzielle Vertrieb des weiterentwickelten VM Mitte 2000 läßt sich darin erkennen, dass die meisten Veröffentlichungen zu diesem Thema in die Jahre 2001 und 2002 fallen.



### 4.1.3 Methodenvergleich *OPS Imaging* und Fluoreszenzmikroskopie

*OPS Imaging* wie auch die Fluoreszenzmikroskopie sind Untersuchungsverfahren zur direkten Visualisierung der Mikrozirkulation eines Kapillarbetts.

Die direkte Visualisierung des Untersuchungsobjekts mit *OPS Imaging* gründet sich auf der Reflektion depolarisierten Lichts. Durch Verwendung linear polarisierten Lichts einer bestimmten Wellenlänge (548nm) lassen sich selektiv Erythrozyten direkt visualisieren.

Demgegenüber steht die konventionelle IVM als die bislang führende direkte Visualisierungstechnik in der Mikrozirkulationsforschung (90). Die IVM erfasst die Mikrozirkulation durch Reflektion gefilterten Fluoreszenzlichts. Sie erfordert jedoch die intra- oder extravasale Markierung mit fluoreszierenden Substanzen. Wahlweise können entweder Albumin, Erythrozyten, Leukozyten oder auch das Blutplasma selbst angefärbt werden (siehe Tab. 10).

#### 4.1.3.1 Vorteile

In der Anwendung von *OPS Imaging* mit dem VM ergeben sich viele Vorteile. Das Untersuchungsverfahren ist atoxisch, temperaturneutral, mobil, flexibel, wiederholt einsetzbar und non-invasiv. Im Gegensatz zu den stationären Mikroskopen bei der IVM oder der Klinischen Kapillarskopie ist das Videomikroskop CytoScan® A/R transportabel, was schnelle Untersuchungen am Bett des Patienten oder im OP ermöglicht. Der entscheidende Vorteil gegenüber der IVM besteht jedoch aus Anwendersicht darin, dass die Kapillardagnostik mit *OPS Imaging* in der Messgeräteversion des Videomikroskops CytoScan® A/R konsequent den klinischen Erfordernissen angepasst worden ist. Somit lässt sich während der OP ohne langwierige Messvorbereitungen das Gefäßnetz praktisch jedes Körperorgans, intraabdominell beispielsweise das der Lebersinusoide oder intrathorakal das der Herzkranzgefäße, untersuchen. Wegen der gefahrlosen und unkomplizierten Anwendung wurde der klinische Einsatz bereits mehrmals erfolgreich durchgeführt.

Die Vorteile der Fluoreszenzmikroskopie liegen in der gezielten Markierung verschiedener Blutzellen wie auch des Blutplasmas selbst je nach Interesse des Untersuchers. Damit können auch speziellere Untersuchungen wie beispielsweise die Leukozyten-Gefäßendothel-Wechselbeziehung durchgeführt werden (2). In Verbindung mit dem einfachen Wechseln der Vergrößerungsstufe ohne weitere Umbaumaßnahmen ermöglicht dies eine differenzierte Betrachtung verschiedener experimenteller Designs.

#### 4.1.3.2 Nachteile

Beide Visualisierungstechniken IVM und *OPS Imaging* haben eine Eindringtiefe in das Zielgewebe von nur 200-500µm (11,66-67).

Mit beiden Visualisierungstechniken sind außerdem methodenimmanente Messungenauigkeiten in der Mikrozirkulationsanalyse möglich. Die IVM erfasst die Mikrozirkulation durch Reflektion gefilterten Fluoreszenzlichts. Dieses Fluoreszenzlicht erscheint über dem gesamten Gefäßquerschnitt. Wird in der Mikrozirkulationsanalyse der unter *OPS Imaging* akquirierten Videodaten die variable Breite der sinusoidalen Blutzellsäule gemessen, kommt in der Mikrozirkulationsanalyse von IVM-Videos noch die variable Breite der Blutplasmaschicht von bis zu 2µm hinzu (23-24). Gerade in der SD-Messung muß deswegen den relativen Veränderungen der Sinusoidaldurchblutung im Verlauf einer schrittweisen Leberresektion eine größere Aussagekraft beigemessen werden als der studienübergreifende Vergleich von absoluten Messzahlen.

OPS Imaging ist abgesehen von vermeidbaren geringen Druckschäden durch den Kontakt der Messonde mit der Geweboberfläche und der ausschließlichen Erythrozytendarstellung nicht mit weiteren Nachteilen verbunden. Somit ist *OPS Imaging* geeignet für wiederholte in-vivo Untersuchungen der Mikrozirkulation. An leicht zugänglichen Geweben wie der menschlichen Mundschleimhaut (15,75) oder im Tiermodell der Rückenhautkammer bei Hamstern (23) ebensogut wie bei operativ freigelegten Geweben kann die Durchblutung non-invasiv über einen längeren Zeitraum beobachtet werden.

Die Nachteile der Fluoreszenzmikroskopie zur Bilderzeugung in der hepatischen Mikrozirkulation sind die Toxizität der Fluoreszenzfarbstoffe und das unphysiologische extrakorporale Untersuchungsumfeld (9,21,23,35,46). Nicht auszuschließen ist daher eine Beeinflussung des Untersuchungsobjekts (hier der Mikrozirkulation) durch den Untersucher selber (23).

Durch die Anregung der Fluoreszenzfarbstoffe im Gewebe entwickelt sich Wärme, die zu Gewebsschädigungen führen kann. Auch die Fluoreszenzfarbstoffe selbst können gewebs- und blutzellschädigende Wirkungen haben (23).

Das Untersuchungsverfahren mit dem IVM zur Mikrozirkulationsmessung der Leber erlaubt dem Untersucher nur die Untersuchung eines Leberlappens. Dies hängt mit der technischen Notwendigkeit der Fixation des Untersuchungsobjekts auf der Objektträgerfläche zusammen (61).

Nicht zuletzt ist ein klinischer Einsatz der Fluoreszenzmikroskopie wegen der toxischen Fluoreszenzfarbstoffe ohne Gefährdung des Patienten unmöglich.

**Tab. 10:** Methodenvergleich orthogonale Polarisationspektroskopie (OPS) und Fluoreszenzmikroskopie (IVM).

Leistungsmerkmale	OPS	IVM
Messprinzip	Reflektion depolarisierten Lichts	Reflektion gefilterten Fluoreszenzlichts
Gerät	CytoScan®	Fluoreszenzmikroskop
applizierte Substanzen	keine	Fluoreszenzfarbstoffe wie Fluoresceinisothiocyanat (FITC) und Rhodamine 6G
Blutplasma	nicht visualisierbar	Fluoreszenzmarkiertes Albumin/Sodium
Erythrozyten	direkt visualisierbar	antikörpervermittelte Markierung durch FITC (Anhaftung ex vivo an der Zellmembran)
Leukozyten	bedingt visualisierbar als helle Aussparungen am Rand der Blutsäule	histochemische Markierung mit Rhodamine 6G (Anreicherung innerhalb der Mitochondrien)
Phagozyten (Kupffer-Zellen)	nicht visualisierbar	Fluoreszenzmarkierte Latex-Partikel
Eindringtiefe	200-500µm unterhalb der Gewebeoberfläche	
Nebenwirkungen	keine	Toxizität der Fluoreszenzfarbstoffe, somit Beeinflussung der Mikrozirkulation
Methodenimmanente Störfaktoren	Druckartefakte (Aufsetzen der Sonde auf Gewebe)	- Temperaturerhöhung und phototoxische Effekte im Gewebe durch Halogenlampe und Farbstoffe - <i>leakage</i> (=Bildkontrastverschlechterung durch extravasalen Austritt von Farbstoff)
Messgenauigkeit	aufgrund der Messmethode bzw. der methodenimmanenten Störfaktoren begrenzt	
Repetitiv-Messreihen	ja	nur einmalige Messreihe möglich
Messradius am Untersuchungsobjekt	Messinstrument kann sich dem Untersuchungsobjekt anpassen (GeräteKabellänge ca. 2m)	Untersuchungsobjekt muss sich den Objektträgerabmessungen anpassen
Messvorbereitungen am Untersuchungsobjekt	keine Manipulation notwendig	häufig Manipulationen notwendig (Mobilisation des Untersuchungsobjekts zur Lagerung und chemischen Fixierung auf Objektträger)
Wechsel der Vergrößerungsstufe	Wechsel der Vergrößerungsstufe möglich nach Messsondenwechsel	Wechsel der Vergrößerungsstufe einfach möglich (Objektivrevolver)
Mobilität der Messgeräte	hoch	nur stationärer Einsatz
Sterilität	sterile Plastikkappe über Messsondenspitze	normalerweise Einsatz von unsterilen Objektiven bzw. unsterilem Kreuztisch
Klinischer Einsatz	bereits durchgeführt	nicht möglich

Farbmarkierung in Vorteile:  Nachteile:

## 4.2 Optimierung der Messmethodik

### 4.2.1 Videodatenprozessierung

#### 4.2.1.1 Hardware

Bemerkenswert ist an den meisten Publikationen zur Untersuchung der Mikrozirkulation mit *OPS Imaging*, daß kaum jemand von dem Einsatz des VM in seiner Standardkonfiguration für die Videodatenspeicherung und die Bildschirmdarstellung des Videosignals berichtet.

Häufig ist die Kombination aus VM und angeschlossenem analogen oder digitalen Videorekorder (4-6,22,24-25,29,33-37,42,44,58,65-67,73-74,83-86,89,91). Die Videobandaufzeichnung ist allerdings mit Bildqualitätsverlusten (analog) oder zumindest umständlicher sekundärer Videodatenübertragung (digital) verbunden. Zudem kann die Videoakquisition nur über Funktionstasten am Rekordergehäuse bedient werden. Im allgemeinen wird nach Anschluss eines analogen oder digitalen Videorekorders an das VM nicht selten die somit erweiterte Videoakquisitionseinheit mit einem S/W-Röhrenmonitor komplettiert (4-6,23,25,35,37,42,44,60).

Für die Optimierung der Messmethodik wurde in dieser Arbeit (siehe 3.1.1.1.) ein grundsätzlich anderer Ansatz gewählt: Das VM wurde mit einem Aufnahmecomputer, dessen 2 LCD-Monitoren und der externen und mobilen SCSI-Festplatte via Framegrabberkarte, Videografikkarte und SCSI-Karte vernetzt. Der Dual-Monitor-Betrieb unterstützte das integrative Konzept einer Messtation zur zentralen Akquisition und Dokumentation von Video-, Audio- und Messdaten zusammen mit der Akquisitionsoftware CapiScope® des Aufnahmecomputers erheblich.

Das mit dem VM gewonnene Videosignal wurde zur Darstellung und weiteren Verarbeitung direkt zum Aufnahmecomputer weitergeleitet. Durch Primärspeicherung der Videosequenzen auf die externe SCSI-Festplatte mit ihren vielfach höheren Schreib-/Leseraten und Zugriffsgeschwindigkeiten wurde sowohl die Speichergeschwindigkeit wie auch die Übertragungsgeschwindigkeit der Videodaten beschleunigt und die Speicherkapazität für die Videodaten erweitert. Durch den Dual-Monitor-Betrieb für die Bildschirmdarstellung des Videosignals konnte die Videoakquisition unter Umgehung der minderwertigen Bildqualität des VM-Monitors stattfinden.

#### 4.2.1.2 Software

Wie im Ergebnisteil (siehe 3.1.1.2) dargestellt, wurde die proprietäre Software des VM sowohl für die Videodatenakquisition als auch die Mikrozirkulationsanalyse gegen die Videosteuerungs-, Aufzeichnungs- und Analysesoftware CapiScope<sup>®</sup> ausgetauscht. Prinzipiell hätte auch die seit mehreren Jahren in der Mikrozirkulationsforschung führende Videosteuerungs- und Analysesoftware CaplImage<sup>®</sup> verwendet werden können, die allerdings keine direkte Funktion zur Videodatenakquisition besitzt (siehe Tab. 11).

**Tab. 11:** Leistungsmerkmale CapiScope<sup>®</sup> und CaplImage<sup>®</sup>.

Vergleichsparameter	CapiScope <sup>®</sup>	CaplImage <sup>®</sup>
<b>Videodatenakquisition</b>		
Integrierte Capturing Funktion (Live Video)	+	-
Live-Video-Steuerung (Kontrast, Helligkeit)	+	+
Import als .avi	+	+
Importieren von CytoScan <sup>®</sup> -Files (.hdr)	+	-
Eingangskanal	nur RS-170	nur VCR
<b>Benutzerfreundlichkeit</b>		
Öffnen mehrerer Bildsignal-Fenster	+	-
Abspielen eines Videos "auf Knopfdruck"	+	-
Vor- und Rücklauf eines Videos „auf Knopfdruck“	+	+
Teilsequenz auswählen und herausschneiden	+	-
Einstellen von Helligkeit und Kontrast	intuitiv	erschwert
<b>Video- und Einzelbildbearbeitung</b>		
Kalibrierung	+	+
Messraster-Auflage	+	-
ROI-Funktion	+	+
Pan-Image Funktion (selektives Verschieben nur des Bildinhalts)	+	-
Counting-Funktion	+	+
Playback-Modus	+	+
Bewegungskorrektur	-	+
Bildkolorierung	+	nur Grauwerte
Diagrammroutinen zur grafischen Abbildung von Messergebnissen	+	-

Angaben zu CaplImage<sup>®</sup> nach 24,30,95, zu CapiScope<sup>®</sup> nach <http://www.kktechnology.com/>.

Aufgelistet nach den formulierten Analysenmerkmalen zur Ist-Analyse der Software zur Videodatenprozessierung ergeben sich mit CapiScope® viele Verbesserungen, allen voran die ausgereifte Videoerfassung mit unlimitierter und regelbarer Videoaufzeichnung (siehe Tab. 12).

**Tab. 12:** Softwarevergleich CapiScope® und CaplImage® zur Videodatenprozessierung.

<b>Analysenmerkmale</b>	<b>CapiScope®</b>	<b>CaplImage®</b>
<b>Videoerfassung</b>	- unlimitierte Videoaufzeichnung - regelbares Echtzeit-Videorecording	nur off-line Videoimport
<b>Videodatensicherung</b>	retrospektiv	-
<b>Videodaten-dokumentation</b>	direkte Portierung der Messwerte in eine MS Excel®-Tabelle möglich	
<b>Systembetrieb</b>	kompatibel zu Microsoft® Windows® XP® Pro®	

Angaben zu CaplImage® nach 24,30,95, zu CapiScope® nach <http://www.kktechnology.com/>.

Die Entscheidung für die Videosteuerungs- und Aufzeichnungssoftware CapiScope® zur Vernetzung der Videoerfassung mit dem Aufnahmecomputer fiel relativ leicht, da nur CapiScope® über die Fähigkeit zum Echtzeit-Videorecording über das RS-170 Videosignal des VM verfügt. Vorteilhaft im Umgang mit CapiScope® war aber auch, dass der Anwender die bestmögliche und artefaktfreie Teilsequenz einer Videoaufnahme zur Mikrozirkulationsanalyse herauschneiden konnte.

#### 4.2.1.3 Messonde

Zur Reduktion von Bewegungs- und Druckartefakten während der Videoakquisition wird manchmal der Einsatz eines flexiblen Stützarms zur mechanischen Fixierung der Messonde erwähnt (4-5,22-25,33-37,42,49,62,73-76,81,85-86). Andere Autoren ziehen zur Erlangung einer bestmöglichen Aufnahmequalität die manuelle Positionierung der Messonde auf dem Untersuchungsobjekt vor (15,52,65-67,73). Der Einfluß eines Stützarms auf die Aufnahmequalität vom Untersuchungsobjekt abhängig. Gerade in der Anwendung des VM an der Leber ist ein starr fixierter Stützarm oder Mikromanipulator grundsätzlich eher nachteilig, da ständig diaphragmal übertragene Bewegungsartefakte durch Atmung und Herzschlag ausgeglichen werden müssen. Eigene Erfahrungen mit einem solchen Stützarm zeigten zudem eine eingeschränkte Feinjustierung der Kontaktebene zwischen stützarmfixierter Messonde und Leberoberfläche auf.

Das optimierte Messverfahren mit der Kombination aus manuell und chemisch fixierter Messonde zusammen mit der kontrollierten Videodatensicherung mit CapiScope®

erlaubte nahezu artefaktfreie Videoaufnahmen (siehe Tab. 13). Durch dessen kontinuierliche Videoaufzeichnungsfunktion konnte sich der Untersucher zunächst ungestört auf die Ausbalancierung der Messsonde des VM auf der Leberoberfläche konzentrieren. Hier musste er die optimale Messondenposition als Kompromiss zwischen Kontakterhalt trotz Atem- und Herzbewegung des Versuchstiers und geringstmögliche Druckartefakte finden. Danach konnte der CapiScope<sup>®</sup>-Anwender am Bildschirm des Aufnahmecomputers die bestmögliche 30-sekündige Videosequenz abwarten und diese dann abspeichern (retrospektive Videodatensicherung).

**Tab. 13:** Fixierung der Messsonde des VM zur Videodatenakquisition.

<b>Leistungsmerkmale</b>	<b>Eigene Methode</b>	<b>Andere Methoden</b>
<b>Positionierung</b>	manuell	- manuell - stützarmabhängig
<b>Fixation</b>	- manuell durch Aufsetzen der Unterarme des Untersuchers - chemisch mit Acrylharzklebstoff	- manuell durch Aufsetzen der Unterarme des Untersuchers - stützarm
<b>Anzahl der Messungen</b>	ca. 3-5 zur grösseren Auswahl des geeigneten Messvideos	beliebig

Gerätetechnische Verbesserungen, vor allem im Hinblick auf einen regelmäßigen klinischen Einsatz des VM, sind zukünftig denkbar mit der Weiterentwicklung der mobilen Notebook-Computertechnik. Seit Anfang 2006 wird ein solches Gerät unter dem Namen MicroScan<sup>®</sup> von MicroVision Medical<sup>®</sup> Inc., Amsterdam, Niederlande vermarktet (siehe auch unter <http://www.microvisionmedical.com/index.html>). Es lässt sich ähnlich wie das VM handhaben, besteht jedoch nur noch aus der Messsonde, welche zur Videoakquisition direkt an ein Notebook angeschlossen werden kann.

#### 4.2.2 Mikrozirkulationsanalysesoftware

Wie im Ergebnisteil (siehe 3.1.3) beschrieben, eignete sich die proprietäre Software des VM aufgrund zahlreicher Limitationen in Parametrisierung, Durchführung, Berechnung und Genauigkeit der Messmethodik nicht für eine glaubhafte Auswertung der Videosequenzen. Deshalb wurden die beiden Analysesoftwarepakete CapiScope<sup>®</sup> und CapImage<sup>®</sup> miteinander verglichen (siehe Tab. 14).

CapiScope<sup>®</sup> wurde als Analysewerkzeug für Mikrozirkulationsstudien beispielsweise mit jenen in der Fluoreszenzmikroskopie entwickelt und in einer neuen Modifikation für die Analyse der VM-Sequenzen adaptiert. Mit CapiScope<sup>®</sup> kann die hepatische Mikrozirkulation sicher nach statischen Parametern analysiert werden.

**Tab. 14:** Softwarevergleich CapiScope® und CaplImage® zur Mikrozirkulationsanalyse.

Leistungsmerkmale	CapiScope®	CaplImage®
Qualität der Analyse	++	+
Messverfahren	++	+
Messlinien	++	++
Messwerttabellen	++	++
Einsatzhäufigkeit	+	++

Konzipiert ist CapiScope® als ein Softwareprodukt zur universellen Mikrozirkulationsanalyse unabhängig von der Art des untersuchten Kapillarbetts. Es konnte jedoch ohne weitere Anpassungen zur Analyse des sinusoidalen Mikrokreislaufs gemäss den leberspezifischen Mikrozirkulationsparametern eingesetzt werden.

In der Mehrzahl der Literaturstellen zur Mikrozirkulationsmessung der unmanipulierten Leber wird neben diversen anderen Softwareprodukten der Einsatz der Analysesoftware CaplImage® angegeben (siehe Tab. 16). Deswegen soll in einer Übersichtstabelle der Aussagewert der gängigen Messparameter zur Messung der sinusoidalen Durchblutung unter besonderer Berücksichtigung der Parameterberechnung beider Softwareprodukte eingegrenzt werden (siehe Tab. 15).

In der Qualität der Videodatenanalyse überzeugen beide Analysesoftwarepakete in ihrer Plattformunabhängigkeit. Negativ bei CaplImage® ist allerdings der mangelnde Kundensupport ohne ständig aktualisierten Internetauftritt. Unbekannt ist außerdem, ob die fehlende Videoaufzeichnungsfunktionen von CaplImage® inzwischen um die angekündigten Verbesserungen wie die direkte Videoaufzeichnung auf und die Videoanalyse von Festplatte (30) erweitert worden sind.

Durch die multiplen Messparameter gestattete CapiScope® überhaupt erst eine differenziertere Abwägung und Diskussion von Einflüssen der Bildqualität einerseits und der Leberdurchblutung andererseits auf die Analysenergebnisse. Die mit CapiScope® verwandten Messparameter wären auch unter CaplImage® verfügbar gewesen. Zu beachten ist allerdings die unterschiedliche Messwertermittlung von SD und BFV mit CaplImage®. Eine Erläuterung über die Berechnungsweise der Messparameter bekommt man bei CapiScope® (<http://www.kktechnology.com/help/stepbystepguide.html>) genauso wie bei CaplImage® (24,30,95). Unterschiedliche Analysenergebnisse, besonders diejenigen von SD und BFV, können hinsichtlich einer Untersucher- oder Softwareabhängigkeit aufgeschlüsselt werden.

Beide Analysesoftwarepakete sind vergleichbar in der freien Platzierung von Messlinien, in der Darstellung der Messwertberechnung mit separater und überprüfbarer



Tab. 15: Aussagewert der gängigen Messparameter zur sinusoidalen Durchblutung.						
Funktionsmerkmale	SD		ISD		FCD	
	CaplImage®	CapiScope®	CaplImage®	CapiScope®	CaplImage®	CapiScope®
<b>Messverfahren</b>	einfach, jedoch manuelles Setzen der Messlinien unter visueller Kontrolle	sehr einfach durch manuelles Setzen der Messlinien und semi-automatische Anpassung nach Grauwertprofilanalyse	einfach, jedoch manuelles Setzen der Messlinien unter visueller Kontrolle		extrem aufwändig wegen manuellem Erstellen der Gefäßmaske durch Nachzeichnen der Gefäße	
<b>Berechnung</b>	Länge der manuell gesetzten Messlinie in µm oder Pixel-Einheiten	Länge der Messlinie nach Grauwertprofilanalyse über dem Sinusoid in µm oder Pixel-Einheiten	Länge der manuell gesetzten Messlinie in µm oder Pixel-Einheiten		Gesamtlänge der Sinusoide und Venulen pro Standbildfläche (in mm/mm <sup>2</sup> !)	Gesamtlänge der Sinusoide und Venulen pro Standbildfläche (in cm/cm <sup>2</sup> !)
<b>Genauigkeit</b>	untersucherabhängig, jedoch keine Grauwertprofilanalyse	eher hoch in Abhängigkeit vom Sinuoidal-contrast	untersucherabhängig, jedoch keine Grauwertprofilanalyse		untersucherabhängig, jedoch keine Segmentierungsanalyse	
<b>Vorkommen</b>	häufig		sehr selten		eher selten	

Angaben zu CaplImage® nach 24,30,95, zu CapiScope® nach <http://www.kktechnology.com/>.

### 4.2.3 Validierung

Das Fehlen eines Softwareprodukts als Gold-Standard in der Mikrozirkulationsanalyse relativiert die Aussagekraft von Messergebnissen unterschiedlicher Softwareprodukte. In zwei Validationsstudien zur Programmvalidierung von CapImage<sup>®</sup> und CapiScope<sup>®</sup>, tierexperimentell an der Rückenhautkammer wacher Hamster und klinisch an der Sublingualmukosa narkotisierter Patienten, wurde die Vergleichbarkeit der Messergebnisse von CapImage<sup>®</sup> und CapiScope<sup>®</sup> untersucht (13-14). Nachdem die jeweils identischen Gefäße ausgemessen worden sind, korrelierten die Werte für den Gefäßdurchmesser. Beide Softwareprodukte wurden zudem von den Autoren dieser Validationsstudien unabhängig voneinander mit dem *flying wheel* (Scheibe mit kontrastgebenden zirkulären Einkerbungen und einstellbarer Umdrehungsgeschwindigkeit) für die Analyse der Blutflussgeschwindigkeit validiert.

Es kann daher nicht gesagt werden, dass die eine Analysesoftware auf der Basis ihres jeweiligen Messalgorithmus "richtiger" rechnet als die andere. Die Autoren der Validationsstudien zu CapImage<sup>®</sup> und CapiScope<sup>®</sup> zogen jedoch das Fazit, dass CapiScope<sup>®</sup> aufgrund seiner semi-automatischen Parameterberechnung die Parameter "kapillärer Durchmesser" und "kapilläre Blutflussgeschwindigkeit" akkurater ausmesse als CapImage<sup>®</sup>.

CapiScope<sup>®</sup> erschien insgesamt als beste Lösung des Analysesoftwareproblems, da es zusätzlich zu den Analysefunktionen die bereits erwähnten Videosteuerungs- und aufzeichnungsfunktionen umfasste. Die Untersuchung der Mikrozirkulation fiel wegen der intuitiveren Bedienung einfacher aus.

Die eigene intraindividuelle Überprüfung der Reproduzierbarkeit von CapiScope<sup>®</sup> bei der Ausmessung eines Azinus aus den Hauptversuchen zeigte eine gute Übereinstimmung ( $p < 0.05$ ) der Analyseergebnisse vor PH und nach 90%-iger Resektion. Die interindividuelle Validitätsprüfung mit CapiScope<sup>®</sup> wich nur in den Analyseergebnissen des SD nach 90%-PH voneinander ab mit  $p < 0.09$ . Dies lässt sich mit der individuellen Auswahlfreiheit bezüglich der Messlinienplatzierung innerhalb der für beide Untersucher geltenden Parameterdefinitionen wie mit Einflüssen durch die Abbildungsqualität erklären.

Zusätzlich stimmten die mit dem optimierten Messverfahren gemessenen Normalwerte im Rattenlebermodell mit denen aus der Literatur überein (siehe Tab. 16). Im Unterschied zu den meisten dort zitierten Arbeiten wurde in der vorliegenden Arbeit genau ein Azinus, aber mit erheblich mehr Messpunkten ausgewertet.

<b>Tab. 16:</b> Mikrozirkulationsparameter der Rattenleber in vivo und nach PH. (Stand: 20.06.2006).					
<b>Autor / Jahr Tiermodell</b>	<b>IVM / OPS</b>	<b>Analyse- Software</b>	<b>ROI</b>	<b>SD (in µm)</b>	<b>FCD (in mm/mm<sup>2</sup>)</b>
<b>Palmes (61)/ 2005</b> 14 Ratten (250-300g) 70%-PH	IVM (750x)	<b>AnalySIS<sup>®</sup></b> off-line (SIS <sup>®</sup> , Münster)	Zufallsauswahl von 10-12 Azini + 10-12 post- sinusoidale Venulen	mittlerer SD (n=100) periportal und perizentral der linken Leber  <b>keine Messwerte aufgeführt</b>	nicht gemessen
<b>Schleimer (76)/ 2004</b> 32 Ratten (382+-36g) HALT (=heterotopic auxiliary LTx)	OPS (334x)	<b>CapImage<sup>®</sup></b> off-line + <b>VM- software 1.0</b> on-line	Zufallsauswahl von 10 Azini + postsinusoidale Venulen	mittlerer midzonaler SD (n je Azinus=k.A.) des Azinus  <b>6.5 +-0.4</b> physiologisch	Gesamtlänge aller perfundierten Sinusoide / Messbereich  <b>439 +-22</b> physiologisch
<b>Langer (35)/ 2001</b> 9 Ratten (220-240g) IRI (=ischemia reperfusion injury)	Validations- studie zwischen IVM (533x) OPS (450x)	<b>CapImage<sup>®</sup></b> off-line	Zufallsauswahl von 10 Azini + 6 post- sinusoidale Venulen	mittlerer midzonaler SD (n=10 je Azinus)  <b>10.5 +-0.16 (IVM)</b> <b>10.2 +-0.12 (OPS)</b> physiologisch	nicht gemessen
<b>Uhlmann (87)/ 1999</b> Ratte	IVM - Übersichts- studie  IVM (280x1000x)	<u>empfohlen:</u> <b>Lobulus<sup>®</sup></b> off-line (Medvis <sup>®</sup> , Saarlouis)	keine Angaben	zitierte Messwerte abhängig vom Messort <b>6,4;6,5 periportal</b> <b>7,0;6,9 midzonal</b> <b>8,3;7,8</b> <b>pericentral</b> <b>12,2 90µm von</b> <b>der ZV entfernt</b> <b>9,0 150µm</b> <b>von ZV entfernt</b> physiologisch	Gesamtlänge aller perfundierten Sinusoide / Messbereich  <b>keine Messwerte aufgeführt</b>

Autor / Jahr Tiermodell	IVM / OPS	Analyse- Software	ROI	SD (in $\mu\text{m}$ )
<b>Kondo (32) / 1998</b> 12 Ratten (286+-31g) IRI (=ischemia reperfusion injury)	IVM (650x)	<b>NIH-Image<sup>®</sup></b> off-line (=National Institute of Health)	Zufallsauswahl von 10 Azini + 10 post- sinusoidale Venulen	mittlerer midzonaler SD (n je Azinus =k.A.) des Azinus <b><u>10 +-0.3</u></b> physiologisch
<b>Koeppel (31) / 1997</b> 8 Ratten (237-292g) IRI (=ischemia reperfusion injury)	IVM (k.A.)	<b>CapImage<sup>®</sup></b> off-line	Zufallsauswahl von Azini (k.A. zu Anzahl und Auswahl- kriterien)	mittlerer midzonaler SD (n=Summe aller SD>60) aller Azini <b><u>10 +-0.1</u></b> physiologisch
<b>Bauer (2) / 1995</b> 4 Ratten (200-230g) hemorrhagic shock	IVM (330x)	<b>Lobulus<sup>®</sup></b> off-line (Medvis <sup>®</sup> , Saarlouis)	5 Leberläppchen (k.A. zu den Auswahlkriterien)	mittlerer SD (n je Leberläppchen =k.A.) jeweils 90 $\mu\text{m}$ von der ZV entfernt <b><u>10.7 +-0.4</u></b> physiologisch
<b>Okumura (59) / 1994</b> Ratten (200-250g; n=k.A.) Endothelin-1 Infusion	IVM (k.A.)	<b>Capiflow Velocimetry System<sup>®</sup></b> on-line (Swedish Institute of Microelectro- nics)	Zufallsauswahl eines Leberläppchens	mittlerer midzonaler SD (n=3) des Leber- läppchens <b><u>9.56 +-0.3</u></b> physiologisch
<b>Menger (46) / 1991</b> 15 Ratten (250-350g) Hamster/Ratte- Vergleichsstudie zur Gefäßmorphologie	IVM (280x + 700x)	<b>CAMAS<sup>®</sup></b> off-line (=Computer assisted Microcirculation Analysis System)	6-10 Leberläppchen (k.A. zu den Auswahlkriterien)	mittlerer SD (n= Summe aller Sinu- soide) aller Läpp- chen abhängig vom Messort <b><u>9.7 +-1.6</u></b> periportal (n=56) <b><u>14.2 +-4.0</u></b> pericentral (n=56)

### 4.3 Hämodynamik im Verlauf einer schrittweisen Leberresektion

#### 4.3.1 Vitalparameter

Die mehrstündige, maximal invasive OP wie auch die Isofluranhalationsnarkose wurden bis nach 90%-PH von den Versuchstieren gut toleriert mit arteriellen Mitteldrücken oberhalb von 60 mmHg bei konstanter Herzfrequenz. Herz- und Atemfrequenz, ZVD sowie die Körpertemperatur blieben bis nach 90%-PH konstant. Spätestens ab 95%-PH sank der mittlere arterielle Mitteldruck in den Bereich eines kompensierten Schocks mit konstant bleibender Herzfrequenz ab. Für die Parameter Atemfrequenz und Körpertemperatur waren vermehrt niedrignormale Messwerte registrierbar. Der ZVD blieb unverändert.

Wang et al. (92) fanden 2h nach einzeitiger 90%-PH im Rattenlebermodell ebenfalls einen signifikant ( $p < 0,01$ ) erniedrigten MAP auf etwa 75mmHg. Unter der Annahme einer kurzen OP-Dauer kann hier von einem akuten Abfall des MAP gesprochen werden.

Spätestens nach 90%-PH, wenn der MAP nur noch etwa 60mmHg betrug und damit die Hälfte des Ausgangswertes vor Leberresektion, waren Druckwerte erreicht, die auch in *hemorrhagic-shock*-Rattenmodellen angewendet werden. Je nachdem, ob eher ein kompensierter oder dekomensierter Schock simuliert werden soll, bewegen sie sich zwischen 60 bis 40mmHg (2,71). Dieser Umstand muss bei der weiteren Diskussion und Interpretation von Leberdurchblutung und Mikrozirkulation nach 95% und 97%-PH berücksichtigt werden. (siehe Tab. 17).

**Tab. 17:** Auswirkung einer 70%-PH auf wichtige Vitalparameter im Rattenlebermodell.

Parameter	vor PH	nach 70%	Diff. in %	Autor
MAP (mmHg)	120	110	-9%	(93)
	93	71	-24%	eigene Messung
ZVD (mmHg)	2.1	-	-	(10)
	1.3	1	-23%	eigene Messung
Kavadruck (cmH <sub>2</sub> O oder mmHg*)	3.8	3.9	0%	(50)
	4.1	4.1	0%	(19)
	2.4*	1.8*	-25%	eigene Messung
Kavafluss (ml/min)	27	17	-37%	eigene Messung

Das allmähliche Auslösen eines hypovolämischen schockähnlichen Zustands im Verlauf der schrittweisen Leberresektion erklärt sich damit, dass sich ständig etwa 25% des gesamten Blutvolumens des Körperkreislaufs im Blutspeicherorgan Leber (17,38,41) befinden. Durch sukzessives Entfernen der Leberlappen entnimmt man dem Körperkreislauf somit beträchtliche Blutvolumina und fördert zusammen mit dem operationsbedingten Blut- und Volumenverlust einen hypovolämischen Kreislaufzustand mit konsekutivem Blutdruckabfall. Eine zusätzliche Blutumverteilung aus dem aktiv transportierten Volumen heraus ergibt sich durch das *splanchnic pooling* und konsekutiver, intraoperativ beobachtbarer Darmwandödematierung (3,27,41,77). Schließlich trägt auch die Hyperperfusion der Restleber zur systemischen Hypovolämie bei (20).

Für die Induktion eines hypovolämischen Schocks durch die Kombination aus maximaler Leberresektion und gesamter OP-Dauer spricht auch die linear absteigende Flussvolumenkurve der IHVC. Der mittlere infrahepatische Kavadruck hingegen blieb mit etwa 2mmHg relativ konstant.

Fogli et al. fanden nach einzeitiger 70%-PH der Rattenleber zwar tendenziell leicht abnehmende Werte am Ableitungsort der infrarenalen VCI, allerdings bei hohen Standardabweichungen (19). Morsiani et al. berichteten von konstanten Kavadrücken im Vergleich zur Kontrollgruppe im Bereich der infrarenalen VCI 6h nach einzeitiger 70%-PH der Rattenleber (50; siehe Tab. 17).

Offensichtlich nimmt die Aufrechterhaltung eines stabilen Perfusionsdruckgradienten (17) einen höheren Stellenwert ein als die etwaige Verhinderung einer portalen Hypertonie. Dies gelingt durch Aktivierung der kavalen wie hepatischen venösen Kapazitätsgefäße. Die während schrittweiser Leberresektion einhergehende systemische Hypovolämie kann durch Kontraktion jener Kapazitätsgefäße zur Bereitstellung zusätzlichen Blutvolumens (63) nicht kompensiert werden, was in einer linearen Minderung der Flussvolumenkurve in der IHVC zum Ausdruck kommt. Durch den Effekt eben jener Kontraktion wird jedoch der Blutdruck der IHVC aufrecht erhalten und damit der transsinusoidale wie der transdiaphragmale Perfusionsgradient.

#### 4.3.2 Leberdurchblutung

Im Verlauf der schrittweisen Leberresektion zeigte sich ein linearer, relativ steiler Anstieg des Pfortaderdrucks bis nach 90%-iger PH. Zwischen 90%-PH und 97%-PH hingegen kam es zu keiner weiteren Portaldrucksteigerung mehr. Der Pfortaderfluss verringerte sich linear.

Wie in der Einleitung erläutert (siehe unter 1.1) kommt es in einem parallelgeschalteten Röhrensystem nach  $\Delta p_{\text{ges}} = W_{\text{ges}} \cdot l$  in Abhängigkeit vom Volumen des Gesamtresektats zu einer deutlichen portalen Einflusstauung mit Zunahme des Pfortaderdrucks  $p$  und Verminderung des Pfortaderflusses  $I$ . Diese Erklärung für die Druckerhöhung in der Pfortader wird auch von anderen Autoren gegeben (1,17,19,27,39,57,70).

Bei vergleichbaren Ausgangswerten für den physiologischen Pfortaderdruck im Rattenlebermodell von etwa 7 mmHg (39) stieg er postoperativ ausnahmslos an (siehe auch Tab. 18). Nach Resektion des linken und mittleren Leberlappens (70%-PH) fanden wir eine vergleichbare, signifikante ( $p < 0,01$ ) Pfortaderdruckerhöhung auf 9.5 mmHg bis 11 mmHg (relativer Druckanstieg um 19% (FMR-015) bis 43% (FMR-012, FMR-014)).

Darüberhinaus konnten Lee et al. (39) in derselben Arbeit am Modell der isoliert perfundierten Leber von 30% und 70% hepatektomierten Lebern eine lineare Blutflussvolumen-/Pfortaderdruck-Kurve demonstrieren. Der Unterschied in der Anstiegssteilheit zwischen 30%-PH und 70%-PH bei sonst gleichem linearen Verlauf spiegelt den reduzierten sinusoidalen Gesamtquerschnitt wider.

Der nach 90%-PH mehr plateauartige Verlauf der mittleren Portaldruckkurve bei weiterhin leicht absinkendem Pfortaderfluss lässt sich auf den bereits schockähnlichen arteriellen Mitteldruck zurückführen. Da die Versuchstiere nun einen präfinalen Zustand erreicht haben, ist infolge des Volumenmangels keine weitere Erhöhung des Portaldrucks mehr zu erwarten. Die meisten Hauptabflussbahnen des hepatischen Blutstroms sind zu diesem Untersuchungszeitpunkt bereits zusammen mit den vorherigen Lobektomien ligiert worden. Die Resektion des oberen und unteren Leberkaudaten trägt nur noch 5% bzw. 2% zum Gesamtresektat bei. Entsprechend geringfügig ist die weitere Reduktion des sinusoidalen Gesamtquerschnitts und die damit verbundene weitere Erhöhung des Portaldrucks.

**Tab. 18:** Auswirkung einer 70%-PH auf die Leberdurchblutung.

Parameter	vor PH	nach 70%	Diff. in %	Autor
<b>Pfortaderdruck (cmH<sub>2</sub>O oder mmHg*)</b>	13	18.3	<b>+40%</b>	(50)
	13	17.8	<b>+37%</b>	(19)
	10.3	14.1	<b>+37%</b>	(54)
	7.5*	11.1*	<b>+48%</b>	(39)
	8	10.3	<b>+29%</b>	eigene Messung
<b>Pfortaderfluss (ml/min)</b>	14.8	14.8	<b>0%</b>	(39)
	25.1	22.5	<b>-10%</b>	(28)
	15.1	8.7	<b>-42%</b>	eigene Messung
<b>Hepatikafluss (ml/min)</b>	3.5	0.6	<b>-83%</b>	(39)
	2.8	0.9	<b>-68%</b>	eigene Messung

Die Basalwerte für den Pfortaderfluss vor PH liegen bei 12.3ml/min bis 19.5ml/min und stimmen darin annähernd mit dem mittleren Basalwert von etwa 20.6ml/min im Rattenlebermodell überein, den d'Almeida et al. im Rahmen einer messinstrumentellen Validationsstudie gewonnen haben (12).

Das Flussvolumen verringerte sich intraoperativ linear mit Werten von 6.5ml/min (FMR-012) bis 11.7ml/min (FMR-014) nach 70%-PH und Endwerten von 1.7ml/min (FMR-011) bis 5.2ml/min (FMR-010) nach 97%-PH.

Lee et al. bestimmten den Pfortaderfluss nach einzeitiger 70%-PH, allerdings erst 18-24h postoperativ (39). In diesem Zeitraum hat sich wahrscheinlich das Pfortaderflussvolumen wieder erholt, so dass die Messwerte unverändert erschienen. Karran et al. dagegen maßen ein verringertes Pfortaderflussvolumen unmittelbar nach einzeitiger 70%-PH (siehe Tab. 18).

Analog zur Pfortaderflusskurve verringerte sich der Blutfluss der A. hepatica stetig während schrittweiser Leberresektion ohne akuten Abfall der Flusskurve. Vergleichbare Messwerte fanden Lee et al. nach einzeitiger 70%-PH mit 3.5ml/min vor und 0.6ml/min nach Resektion (39; siehe Tab. 18).

Ab 95%-iger Leberresektion mit massiver sinusoidaler Einflusstauung konnten nur noch bei einem Versuchstier ganz geringe Blutflussbewegungen beobachtet werden. Wie bereits bei der Pfortaderflusskurve beschrieben, zeigte sich eine äquivalente Reaktion in der Leberarterienflusskurve infolge der Einflusstauung (39,70). Dies kann als mikrozirkulatorischer Beleg gedeutet werden für die von Yamamoto et al. (94) an Ausgußpräparaten der Rattenleber nachgewiesenen, zahlreichen arteriportalen venösen Anastomosen. Weniger häufig existieren zudem direkte arteriosinusoidale Gefäßbrücken bzw. *arterio-sinus twigs* (siehe auch Abb. 28; 45).

### 4.3.3 Mikrozirkulation

In den vorliegenden Versuchen wurde zur Mikrozirkulationsanalyse jeweils ein Standbild von hoher Bildqualität aus einer Videosequenz ausgesucht und der SD und ISD 30 midzonaler Sinusoide ausgemessen. Der FCD wurde durch Markierung aller sichtbar perfundierten Gefäße bestimmt.

Für jeden Untersuchungszeitpunkt wurde im Gegensatz zu anderen Autoren nur ein Azinus ausgemessen, da im Rahmen der schrittweisen Resektion immer weniger Leberoberfläche zur Videodatenakquisition verfügbar war und die ROI für alle Messlinien gleich groß gehalten werden sollten (siehe auch 3.1.4.2).

Andere Autoren untersuchten ebenfalls häufig die midzonalen Sinusoide, jedoch konnten sie auf eine Auswahl mehrerer Azini bzw. Leberläppchen zurückgreifen. Es wurde beispielsweise angegeben, als ROI 10 Azini ausgewählt zu haben mit 10 analysierten Midzonalsinusoiden pro ROI (siehe Tab. 16).

#### 4.3.3.1 Sinusoidaler und Intersinusoidaler Durchmesser

Der mittlere sinusoidale Durchmesser stieg während der ersten beiden Resektionsschritte von 5.5µm auf 6µm nach 30%-PH, dann auf 6.5µm nach 70%-PH an. Nach Durchführung des nächsten Resektionsschritts (90%-PH) kam es zu einem sprunghaften Anstieg des mittleren SD auf 8.1µm. Auch die nächsten Resektionsschritte um 5% bzw 2% vergrößerten den SD signifikant ( $p < 0.05$ ).

Diese Beobachtungen führen zu folgender Hypothese der Regulation der sinusoidalen Durchblutung. Bei einer moderaten Reduktion der Strombahn (bis 70%-PH) wird die sinusoidale Durchblutung trotz portaler Druckerhöhung weitgehend konstant gehalten, erkennbar an dem nur geringfügigen, allerdings signifikanten Anstieg des sinusoidalen Durchmessers. Ab der subtotalen Resektion, d.h. einer erheblichen Reduktion der Endstrombahn, kommt es zu einer Dekompensation mit erheblicher Weitstellung der

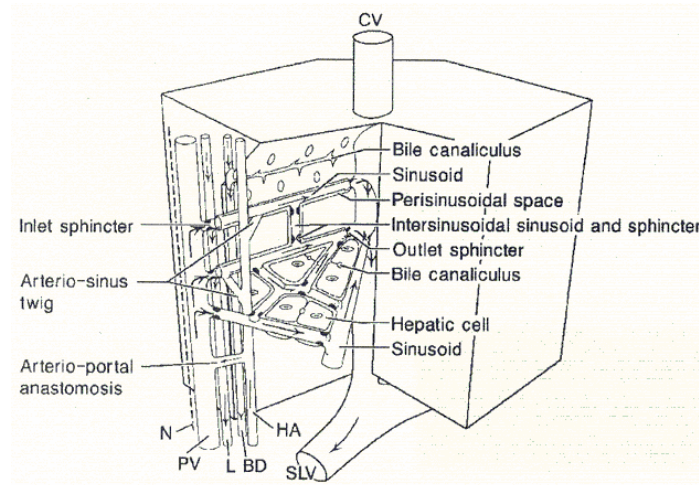


Sinusoide und sichtbar großem Anstieg des SD. Wie zu der Definition der Mikrozirkulation (siehe 1.2) bereits angedeutet, ist dieses Phänomen möglicherweise erklärbar mit einer muskulären bzw. zellulären Regulation der Sinusoiddurchblutung in der vorgeschalteten Portalvenule (siehe Tab. 19).

**Tab. 19:** Regulation der sinusoidalen Durchblutung.

Autor	Regulationsmechanismus	Modulation	
<b>McCuskey RS (45)</b> <b>Ekataksin W (17)</b> <b>Sasse D (72)</b> <b>Rappaport AM (69)</b>	Kontraktion der (distalen) präterminalen Portalvenule	- Endothelin-1 - Phenylephrin - Angiotensin II	- Histamin - NO - Ödem
<b>Richardson PD(70)</b> <b>Lautt WW (38)</b> <b>Oda M (56)</b>	Nukleusprotrusion der Endothelzellen der Übergangsvenule ( <i>inlet sphincter</i> )	- Ethanol - Endotoxin - portaler Hepatozyt	- Entzündung - Fibrose - Nerval

Die Regulation des portalen Blutflusseinstroms in die Sinusoide geschieht durch die Quasisphinkter-ähnliche Funktion der glatten Muskulatur in der (distalen) präterminalen Portalvenule sowie durch den luminalen Protrusionsgrad des endothelialen Zellkerns (*inlet sphincter*) am Endpunkt der portosinusoidalen Übergangsvenule (siehe Tab. 19 und Abb. 28). Zudem wird durch Sphinkteraktivität am proximalen und/oder distalen Ende des Sinusoids die Aufrechterhaltung eines transsinusoidalen Druckgefälles erreicht (53). Infolge dieses Regulationsmechanismus können im Verlauf der schrittweisen Leberresektion zumindest bis nach 70%-PH weitgehend homogen durchblutete Leberläppchen gesehen werden (siehe Abb. 31 und 32 des Anhangs).

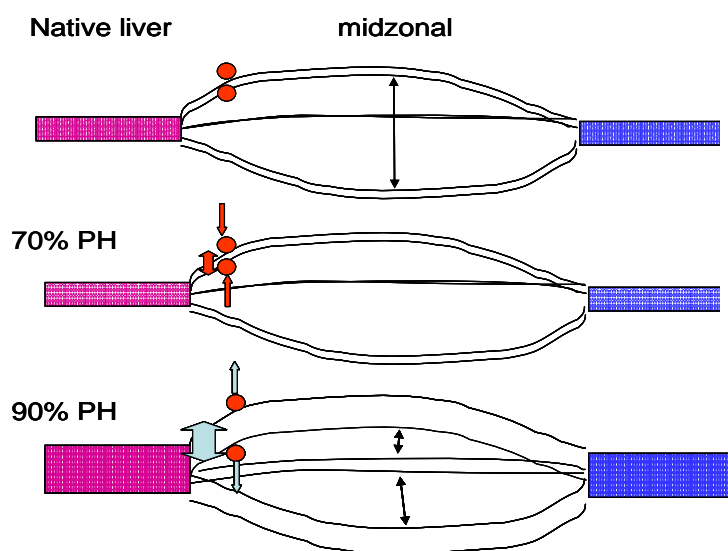


**Abb. 28:** Regulation des sinusoidalen Blutflusseinstroms durch Quasisphinkter-ähnliche Funktion (*inlet sphincter*) der glatten Muskulatur der präterminalen Portalvenule (N=Nerv, PV=Portalvenule, CV=Zentral-vene, L=Lymphgefäß, HA=A. hepatica, BD=Gallengang, SLV=Schaltvene; Schemazeichnung aus McCuskey et al.(45)).

Im Einklang mit der bereits unter 3.2.2.1. gezeigten Perfusionsinhomogenität des Leberläppchens vor allem ab 90%-PH lässt sich eine Dekompensation in der Regulation der sinusoidalen Leberläppchenperfusion durch die *inlet sphincter* vermuten (siehe Abb. 29). Damit bestätigt sich eine bereits früher gemachte Beobachtung des Verhaltens einzelner Sinusoide unter Erhöhung des Einstromvolumens, die die

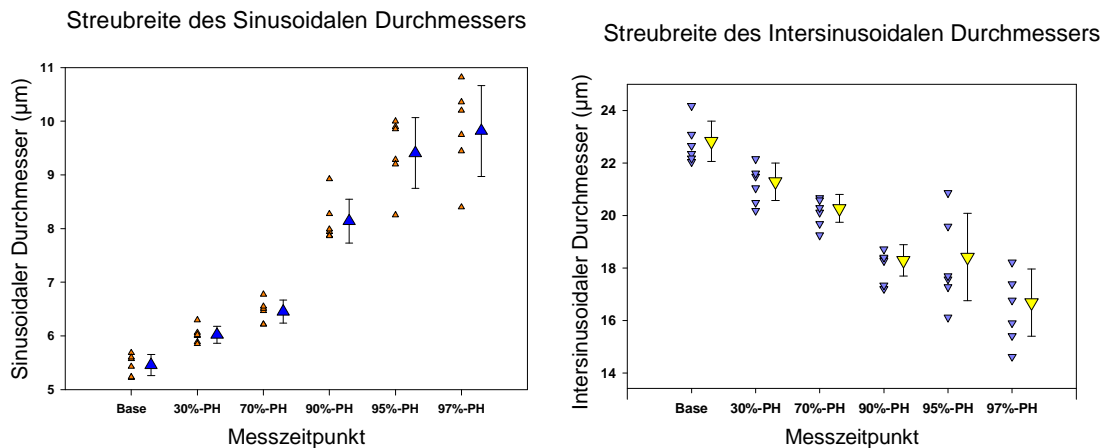
Funktion eines "Durchgangskanals" oder *portohepatic venous anastomosis* einnehmen können (17,45).

Die Beobachtung eines perfusionshomogenen Leberläppchens ab 90%-PH ist allerdings nicht gleichbedeutend mit einer fortbestehenden, kompensierten Regulation der Leberläppchenperfusion. Wie unter 3.2.1.2. beschrieben, kommt es gerade ab 90%-PH aufgrund der sinusoidalen Blutfülle zu einer besseren Erkennbarkeit der periportalen Sinusoide und deutlicher Zunahme des midzonalen SD mit physikalisch bereits erklärter portaler Einflusstauung. Somit könnte auch hinter einem homogen perfundierten Leberläppchen eine weitgehende Funktionslosigkeit der *inlet sphincter* stehen .



**Abb. 29:** Kompensierte Regulation des sinusoidalen Blutflusseinstroms durch *inlet sphincter* bis 70%-PH. Ab 90%-PH dekomponierte *inlet sphincter* mit homogener oder inhomogener Läppchenperfusion und größerer Streubreite von SD und ISD.

Der optische Eindruck der inhomogenen Perfusion wird nach Mikrozirkulationsanalyse durch eine Zunahme der Streubreite für den SD und ISD unterstützt (siehe Diag. 12). Eine durch die Anzahl der Messpunkte an jenen verbreiterten midzonalen Sinusoiden durch den Untersucher möglicherweise eingeführte Messwertverschiebung erscheint jedoch vernachlässigbar. Die starke Aufdehnung einzelner Sinusoide geht immer auf Kosten sowohl der benachbarten Sinusoide (17) wie auch des sinusoidalen Gesamtsystems innerhalb des Leberläppchens vorstatten. Resultiert bei ersteren ein relativ unterdurchschnittlicher SD, so ist bei letzteren eine weitgehend dem Resektionsausmaß entsprechende Normalverteilung in den SD-Werten zu analysieren. Erwartungsgemäß vergrößerte sich nur die berechnete Standardabweichung von SD und ISD nach 90%-PH verglichen mit jenen bis nach 70%-PH bei insgesamt unverändert linearem Anstieg (SD) bzw. Abfall (ISD) der Messkurven.



**Diag. 12:** Zunahme der Streubreite von SD und ISD nach 90%-PH aufgrund der zunehmenden Perfusionsinhomogenität.

Der mittlere intersinusoidale Durchmesser sank kontinuierlich ab von 23 µm vor PH auf 16µm nach 97%-PH.

Ein Hepatozyt ist eine hexagonale Zelle mit einem mittleren Durchmesser von 15µm. Physiologischerweise liegt zwischen zwei Sinusoiden mindestens eine Lage von Hepatozyten, so daß die Hepatozyten von Blut umspült sind. Physiologischerweise sind jedoch nicht alle Sinusoide gleichermaßen von Blut durchströmt (siehe 3.2.1.2.). Vielmehr zeigen sie ein wechselndes Perfusionsmuster mit temporären Blutflussunterbrechungen wegen besonders an sinusoidalen Bifurkationen luminal vorgewölbten Kupffer-Zellen (26) oder wegen des flüchtigen Anhaftens von Erythrozyten (17,53), Leukozyten (17,82) und Thrombozyten (17) an der Wand der sinusoidalen Endothelzellen.

Mit *OPS Imaging* werden nicht erythrozytendurchströmte Sinusoide nicht dargestellt, so dass zwei Leberzellbälkchen, die von einem nicht durchströmten Sinusoid getrennt sind, als ein Leberzellbälkchen mit entsprechend größerem ISD zur Darstellung kommen können. Damit läßt sich der hohe ISD vor Resektion erklären.

Wird nun der portale Druck erhöht, so werden zunehmend mehr Sinusoide durchströmt, was sich im Abfall des intersinusoidalen Durchmessers äußert. Folge der sinusoidalen Blutfülle nach 90%-PH sind eine Zunahme des sinusoidalen Durchmessers. Gleichermäßen liegt auch der korrespondierenden Abnahme des ISD die Leberläppchenhyperperfusion zugrunde. Zusätzliche Bedeutung für die ISD-Abnahme erlangt die bereits erwähnte (siehe 3.1.4.2 Abbildungsqualität), deutlich verbesserte Erkennbarkeit der hyperperfundierten Sinusoide in der ISD-Analyse.

Die anatomisch-physiologische Erklärung für die hohe Anpassungsfähigkeit an fluktuierende Blutmengen im zuführenden Gefäßbett des Splanchnikums liefert die hohe Elastizität der Mikroangioarchitektur des "Kapazitätsorgans" Leber (17). Variablen sind sowohl die Aufhebung des physiologischen Durchmessergefälles von perizentral

nach periportal wie auch die Inanspruchnahme einer "Expansionsreserve" (17) durch Streckung der besonders torquierten Periportalsinusoide.

#### 4.3.3.2 Funktionelle Sinusoidale Dichte

Der FCD ist ein allgemein anerkannter mikrozirkulatorischer Parameter, mit dessen Hilfe man die Qualität der kapillären Gewebepfusion und damit die kontinuierliche Versorgung mit Sauerstoff und Substraten sowie den Abtransport von Stoffwechselmetaboliten beurteilen kann (55).

Der mittlere FCD war zwar konstant, fiel aber besonders ab 90%-PH durch hohe Standardabweichungen auf. Das visuelle Korrelat dieses Phänomens ist eine inhomogene Läppchenhyperperfusion, die in 4 von 6 Versuchstieren nachzuweisen war (siehe 3.2.2.1).

Eine Verringerung des FCD um etwa die Hälfte wäre aus zweierlei Gründen zu erwarten gewesen. Zum einen führt die läppchenweite Blutfülle der Restsinusoide während schrittweiser Leberresektion, dokumentiert in einem signifikanten Anstieg des SD, zu einer sinusoidalen Raumforderung. Die deutliche Läppchenhyperperfusion bei allseits begrenzter Elastizität des Leberläppchens wie auch des gesamten, von einer fibrösen Kapsel von 5µm Dicke (15) umschlossenen Leberlappens ließe in der Folge den Kollaps des mittleren Sinusoids unter der Aufdehnung seiner beiden Nachbarsinusoide erwarten. Zum anderen wird aufgrund einer allgemeinen Ödematisierung des Leberläppchens mit gleichzeitiger hepatischer Schwellung ein effektiv kleinerer Bildausschnitt und damit relativ geringerer Bestand an Sinusoiden und postsinusoidalen Venulen durch die Analyse erfasst.

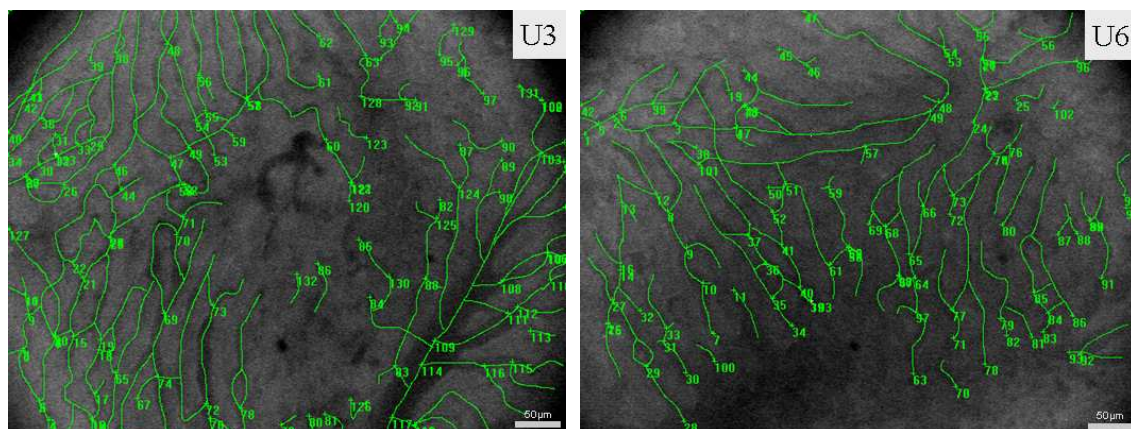
Eine diesem Trend des FCD-Abfalls gegenläufige Erhöhung der FCD-Messergebnisse aufgrund der Läppchenhyperperfusion und damit besseren Darstellbarkeit und Erkennbarkeit aller Sinusoide scheint dagegen vernachlässigbare Auswirkungen auf den analysierten FCD zu haben.

Tatsächlich waren der FCD nach 97%-PH nur bei 2 Versuchstieren um 6% (FMR-012) bzw. 36% (FMR-010) geringer verglichen mit den Werten vor PH. In allen anderen Fällen war er dem Ausgangswert vergleichbar oder lag sogar darüber. Diese Befunde der FCD-Analyse entsprachen dem optischen Eindruck einer läppchenweiten Perfusionsinhomogenität und diese scheint damit ausschlaggebend für die hohe Variabilität in der FCD-Messung zu sein. Nakata et. al. (53) vermuteten die Ursache dafür in den dichotomen Verzweigungsstellen der intersinusoidalen Sinusoide (siehe auch Abb. 28). Schon kleinste Flussunregelmäßigkeiten bewirken durch diese physiologischen intersinusoidalen *shunts* eine Hauptflussrichtung des sinusoidalen

Blutstroms entsprechend dem kleineren Durchflusswiderstand. Ist dieser Widerstand in einem Sinusoid also erhöht, so fließt das Blut über diese intersinusoidalen *shunts* in die beiden Nachbargesäße ab. Da die Sinusoide keinerlei glatte Gefäßmuskulatur besitzen, kollabiert der blutentzogene Sinusoid unter dem vermehrten Flussvolumen seiner Nachbarsinusoide. Je größer der transsinusoidale Perfusionsgradient  $\Delta p$  im Verlauf einer schrittweisen Leberresektion wird, desto eher scheint infolgedessen eine Fixierung des intersinusoidalen *shunts* und die Erweiterung zu der bereits erwähnten *portohepatic venous anastomosis* einzutreten.

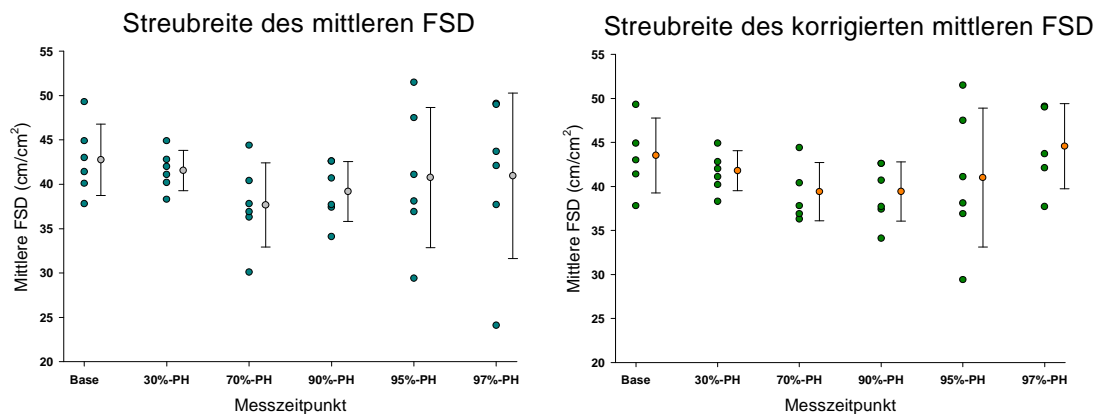
Beide Beobachtungen, Konstanz des mittleren FCD und große Streubreite der Einzelwerte, lassen sich durch die Zusammenschau der Ergebnisse für den SD und ISD erklären. Nimmt der sinusoidale Durchmesser zu und der intersinusoidale Durchmesser ab, richtet sich die Änderung des abhängigen Wertes, nämlich des FCD, nach dem Verhältnis der Veränderungen der beiden erstgenannten Parameter. Die große Streubreite der Werte erklärt sich durch Schwankungen im Verhältnis der Werte für SD und ISD bei den einzelnen Tieren, wird aber auch durch die Abbildungsqualität beeinflusst.

Aufgrund der vielfältigen Ursachen für lobäre Perfusionschwankungen vor und nach Leberresektion wurde ein Vergleich der Analyseergebnisse vor und nach Eliminierung stark abweichender Werte wegen nicht analysierbarer Standbildarealen angestellt. Insgesamt mußten 2 Einzelwerte für die korrigierte FSD-Analyse herausgenommen werden (siehe Abb. 30).



**Abb. 30:** FMR-010-Untersuchungszeitpunkt 3 (nach 70%-PH, li.) und FMR-010-Untersuchungszeitpunkt 6 (nach 97%-PH, re.). Ausschluss beider FSD-Werte wegen nicht analysierbarer Standbildarealen im mittleren Bereich (li.) bzw. in den Randbezirken des Standbilds (re.).

Im Vergleich vor und nach FSD-Korrektur gelingt tatsächlich eine Minderung der FSD-Streubreite (siehe Diag. 13).



**Diag. 13:** Streubreite des mittleren FSD vor und nach Korrektur. Entsprechend den Untersuchungszeitpunkten der ausgeschlossenen Standbilder ergibt sich eine sichtbare Verringerung der FSD-Streubreite nach 70%-PH und nach 97%-PH.

**Zusammenfassend** bestätigen besonders die Messungen der Leberdurchblutung die in der Einleitung formulierten hydrodynamischen Konsequenzen bei akuter Reduktion des sinusoidalen Gesamtquerschnitts im Rattenlebermodell.

Entsprechend der schrittweisen Reduktion der Endstrombahn bis zur 70%-PH wurde ein gleichmäßig linearer Anstieg des Portaldrucks und ein linearer Rückgang des Portal- und des Hepatikaflusses beobachtet. Gleichmaßen fanden sich ein linearer Abfall des mittleren arteriellen Mitteldrucks bei linearem Abfall des infrahepatischen Kavafusses bei den Vitalparametern.

Ab 90%-PH überwogen die Auswirkungen eines kompensierten hypovolämischen Schocks mit nicht weiter zunehmenden Portaldruck- und Flusswerten und einem unter 60mmHg sinkenden MAP bei konstanter Herzfrequenz.

Die Messungen der Mikrozirkulation ließen bis zur 70%-PH eine ähnliche Gesetzmäßigkeit erkennen wie die Parameter der Leberdurchblutung mit einer linearen Sinusoiddilatation bei linearer Abnahme des ISD. Der mittlere FCD blieb konstant bei hoher Standardabweichung. Bei moderater portaler Einflusstauung wurde offensichtlich die sinusoidale Perfusion durch die *inlet sphincter* kontrolliert und so der sinusoidale Durchmesser konstant gehalten.

Ab 90%-PH zeigte sich eine deutliche Hyperperfusion mit sprunghaftem Anstieg des SD und korrespondierendem Abfall des ISD bei weiterhin konstantem mittlerem FCD und gleichzeitig sichtbarer Perfusionsinhomogenität. Diese Beobachtung ist möglicherweise erklärbar durch eine Dekompensation der sinusoidalen Durchblutungsregulation mit funktionslosen *inlet sphinctern*.

## 5 Zusammenfassung

**Hintergrund:** I. Limitierte Geräte- und Softwareausstattung des mit orthogonaler Polarisationspektroskopie (OPS) arbeitenden Videomikroskops (VM) CytoScan®A/R erschwerten die Mikrozirkulationsmessung im Rattenlebermodell. Durch Verlaufsanalyse der Videodatenprozessierung des VM sollten diese Limitationen überwunden werden. II. Teilleberentfernung mit akuter Reduktion des sinusoidalen Gesamtquerschnitts bei unverändertem Blutzufuhr verursacht prähepatisch eine Einflusstauung mit akuter portaler Hypertonie sowie hyperperfundierte Restlebersinusoide. Durch Verlaufsanalyse der sinusoidalen Hyperperfusion im gleichen Rattenlebermodell sollte die Regulation der Leberdurchblutung und der Mikrozirkulation untersucht werden.

**Ziele:** I. Verbesserung der Messmethodik durch Optimierung der Videodatenakquisition und –analyse. II. Visualisierung und Untersuchung der Regulation der hepatischen Mikrozirkulation bei schrittweiser Leberresektion und extensivem Kreislaufmonitoring.

**Material & Methoden:** I. Der Ist-Zustand der Messmethodik wurde analysiert und ein benutzerspezifischer Soll-Zustand formuliert. Die einzelnen Ziele und deren Anpassungsstrategien wurden festgelegt. II. Schrittweise Resektion bis einschließlich Kaudatusresektion im gleichen Rattenlebermodell (n=6) nach neuer, gefäßorientierter Resektionstechnik. Die Vitalparameter wurden nach multipler Katheterisierung, die Mikrozirkulation vor Resektionsbeginn und nach jedem Resektionsschritt (n=6) mit dem VM gemessen. Die off-line Analyse des midzonalen Sinusoidalen (SD) und Intersinusoidalen Durchmessers (ISD) sowie der funktionellen sinusoidalen Dichte (FSD) aller perfundierten Gefäße erfolgte softwaregestützt.

**Ergebnisse:** I. Die Vernetzung des VM und Auslagerung der Videodatenprozessierung auf externen, selbstkonfigurierten PC erbrachte eine sichtbar verbesserte und beschleunigte Datenakquisition. Die Mikrozirkulationsanalysesoftware des VM wurde durch eine externe und deutlich vielseitigere Analysesoftware ersetzt. II. Intraoperativ zeigte sich bis 70%-PH eine linear zunehmende Hypovolämie des Systemkreislaufs mit Rückgang von Blutdruck und Kavafuhr bei relativ konstantem Zentralvenendruck (ZVD), Kavadruck, Herz- und Atemfrequenz. Die Reduktion des sinusoidalen Kapillarbetts führte zu einer portalen Hypertonie und verminderter Leberdurchblutung. Die Mikrozirkulationsanalyse ergab eine zunächst geringe, jedoch nach 90%-PH deutlich zunehmende Sinusoidaldilatation. Der ISD sank kontinuierlich ab bei konstantem mittleren FCD und jeweils vergrößerter Streubreite. Vorwiegend nach 90%-PH zeigten sich vermehrt perfusionsinhomogene Leberläppchen.

**Diskussion & Fazit:** Aus der Literatur ist bekannt, dass präsinusoidale *inlet sphincter* die sinusoidale Perfusion regeln. Die auffällige sinusoidale Dilatation nach 90%-PH lässt sich möglicherweise durch eine Dekompensation dieses Regulationsmechanismus erklären.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Baer, H. U., Guastella, T., Wheatley, A. M., Zimmermann, A., and Blumgart, L. H. (1993). Acute effects of partial hepatectomy on liver blood flow in the jaundiced rat. *J.Hepatol.* **19**, 377-382.
2. Bauer, C., Marzi, I., Bauer, M., Felger, H., and Larsen, R. (1995). Interleukin-1 receptor antagonist attenuates leukocyte-endothelial interactions in the liver after hemorrhagic shock in the rat. *Crit.Care Med.* **6**, 1099-1105.
3. Beloucif, S., Brienza, N., Andreoni, K., Ayuse, T., Takata, M., O'Donnell, C. P., and Robotham, J. L. (1995). Distinct behavior of portal venous and arterial vascular waterfalls in porcine liver. *J.Crit Care* **10**, 104-114.
4. Biberthaler, P., Langer, S., Luchting, B., Khandoga, A., and Messmer, K. (2001). In vivo assessment of colon microcirculation: comparison of the new OPS imaging technique with intravital microscopy. *Eur.J Med Res.* **6**, 525-534.
5. Biberthaler, P. and Langer, S. (2002). Comparison of the new OPS imaging technique with intravital microscopy: analysis of the colon microcirculation. *Eur.Surg.Res.* **34**, 124-128.
6. Biberthaler, P., Wiedemann, E., Nerlich, A., Kettler, M., Mussack, T., Deckelmann, S., and Mutschler, W. (2003). Microcirculation associated with degenerative rotator cuff lesions. In vivo assessment with orthogonal polarization spectral imaging during arthroscopy of the shoulder. *J.Bone Joint Surg.Am.* **85-A**, 475-480.
7. Cautero, N., Gelmini, R., Villa, E., Bagni, A., Merighi, A., Masetti, M., Di Benedetto, F., Di Francesco, F., Bezer, L., Begliomini, B., Jovine, E., and Pinna, A. D. (2002). Orthogonal polarization spectral imaging: a new tool in morphologic surveillance in intestinal transplant recipients. *Transplant.Proc.* **34**, 922-923.
8. Christ, F., Genzel-Boroviczeny, O., Schaudig, S., Niklas, M., Schiessler, C., Strötgen, J., Eifert, S., Reichenspurner, H., Harris, A. G., and Messmer, K. (2000). Monitoring of the microcirculation in cardiac surgery and neonates using orthogonal polarization spectral imaging. In "Orthogonal Polarization Spectral Imaging" (K. Messmer, Ed.), pp. 82-93. Karger, Basel.
9. Christ, F., Bauer, A., and Brugger, D. (2002). Different optical methods for clinical monitoring of the microcirculation. *Eur.Surg.Res.* **34**, 145-151.



10. Corso, C. O., Gundersen, Y., Dörger, M., Lilleaasen, P., Aasen, A. O., and Messmer, K. (1998). Effects of the nitric oxide synthase inhibitors NG-nitro-L-arginine methyl ester and aminoethyl-isothiourea on the liver microcirculation in rat endotoxemia. *J.Hep.* **28**, 61-69.
11. Cytometrics Inc. (2000). CytoScan<sup>®</sup>-Videomikroskop Bedienungshandbuch.
12. D'Almeida, M. S., Cailmail, S., and Lebrec, D. (1996). Validation of transit-time ultrasound flow probes to directly measure portal blood flow in conscious rats. *Am.J.Physiol* **271**, H2701-H2709.
13. Dadasch, B., Schaudig, S., Kellam, K. R., and Christ, F. (2001). Validation of an analysis software for ops-imaging used in humans.
14. Dadasch, B., Harris, A. G., Kellam, K. R., and Christ, F. (2001). Validation of an analysis software for intravital microscopy with ops imaging applied to the hamster skinfold chamber.
15. De Backer, D., Creteur, J., Preiser, J. C., Dubois, M. J., and Vincent, J. L. (2002). Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* **166**, 98-104.
16. De Backer, D., Creteur, J., Dubois, M. J., Sakr, Y., and Vincent, J. L. (2004). Microvascular alterations in patients with acute severe heart failure and cardiogenic shock. *Am.Heart J.* **147**, 91-99.
17. Ekataksin, W. and Kaneda, K. (1999). Liver microvascular architecture: an insight into the pathophysiology of portal hypertension. *Semin.Liver Dis.* **19**, 359-382.
18. Erdmann, D., Sweis, R., Wong, M. S., Eyler, C. E., Olbrich, K. C., Levin, L. S., Germann, G., and Klitzman, B. (2002). [Current perspectives of orthogonal polarization spectral imaging in plastic surgery]. *Chirurg* **73**, 827-832.
19. Fogli, L., Gorini, P., Cappellari, L., and Morsiani, E. (1990). Effect of partial hepatectomy and liver regeneration on portal pressure in rats. *Surgical Research Communications* **6**, 159-166.
20. Gertsch, P., Stipa, F., Ho, J., Yuen, S. T., Luk, I., and Lauder, I. J. (1997). Changes in hepatic portal resistance and in liver morphology during regeneration: in vitro study in rats. *Eur.J.Surg.* **163**, 297-304.
21. Gretz, J. E. and Duling, B. R. (1995). Measurement uncertainties associated with the use of bright-field and fluorescence microscopy in the microcirculation. *Microvasc.Res.* **49**, 134-140.

22. Groner, W., Winkelman, J. W., Harris, A. G., Ince, C., Bouma, G. J., Messmer, K., and Nadeau, R. G. (1999). Orthogonal polarization spectral imaging: a new method for study of the microcirculation. *Nat.Med.* **5**, 1209-1212.
23. Harris, A. G., Sinitsina, I., and Messmer, K. (2000). The Cytoscan Model E-II, a new reflectance microscope for intravital microscopy: comparison with the standard fluorescence method. *J.Vasc.Res.* **37**, 469-476.
24. Harris, A. G., Sinitsina, I., and Messmer, K. (2000). Quantitative Analysis of Orthogonal Polarization Spectral Images: Validation in the Hamster Dorsal Skinfold Chamber. In "Orthogonal Polarization Spectral Imaging" (K. Messmer, Ed.), Vol. 24, pp. 21-31. Karger, Basel.
25. Harris, A. G., Sinitsina, I., and Messmer, K. (2002). Validation of OPS imaging for microvascular measurements during isovolumic hemodilution and low hematocrits. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* **282**, H1502-H1509.
26. Jones, A. L. and Schmucker, D. L. (1977). Current concepts of liver structure as related to function. *Gastroenterology* **73**, 833-851.
27. Kanematsu, T., Takenaka, K., Furuta, T., Ezaki, T., Sugimachi, K., and Inokuchi, K. (1985). Acute portal hypertension associated with liver resection. Analysis of early postoperative death. *Arch.Surg.* **120**, 1303-1305.
28. Karran, S. J., Eagles, C. J., Fleming, J. S., and Ackery, D. M. (1979). In vivo measurement of liver perfusion in the normal and partially hepatectomized rat using Tc-99m sulfur colloid. *J.Nucl.Med.* **20**, 26-31.
29. Klitzman, B., Braun, R. D., Lockhart, A. C., Heller, L., Dewhirst, M. W., and Hurwitz, H. I. (2000). Wound-induced angiogenesis: a clinical model. In "Orthogonal Polarization Spectral Imaging" (K. Messmer, Ed.), pp. 110-114. Karger, Basel.
30. Klyszcz, T., Junger, M., Jung, F., and Zeintl, H. (1997). [Cap image--a new kind of computer-assisted video image analysis system for dynamic capillary microscopy]. *Biomed.Tech.(Berl)* **42**, 168-175.
31. Koeppel, T. A., Thies, J.C., Schemmer, P., Trauner, M., Gebhard, M. M., Otto, G., and Post, S. (1997). Inhibition of nitric oxide synthesis in ischemia/reperfusion of the rat liver is followed by impairment of hepatic microvascular blood flow. *J.Hepatol.* **27**, 163-169.

32. Kondo, T., Todoroki, T., Hirano, T., Schildberg, F. W., and Messmer, K. (1998). Impact of ischemia-reperfusion injury on dimensional changes of hepatic microvessels. *Res.Exp.Med.(Berl)* **198**, 63-72.
33. Laemmel, E., Tadayoni, R., Sinitsina, I., Boczkowski, J., and Vicaut, E. (2000). Using Orthogonal Polarization Spectral Imaging for the Experimental Study of Microcirculation: Comparisons with Intravital Microscopy. In "Orthogonal Polarization Spectral Imaging" (K. Messmer, Ed.), Vol. 24, pp. 50-60. Karger, Basel.
34. Langer, S., Dobschuetz, E. v., Harris, A. G., Krombach, F., and Messmer, K. (2000). Validation of the Orthogonal Polarization Spectral Imaging Technique on Solid Organs. In "Orthogonal Polarization Spectral Imaging" (K. Messmer, Ed.), Vol. 24, pp. 32-46. Karger, Basel.
35. Langer, S., Harris, A. G., Biberthaler, P., von Dobschuetz, E., and Messmer, K. (2001). Orthogonal polarization spectral imaging as a tool for the assessment of hepatic microcirculation: a validation study. *Transplantation* **71**, 1249-1256.
36. Langer, S., Biberthaler, P., Harris, A. G., Steinau, H. U., and Messmer, K. (2001). In vivo monitoring of microvessels in skin flaps: introduction of a novel technique. *Microsurgery* **21**, 317-324.
37. Langer, S., Born, F., Hatz, R., Biberthaler, P., and Messmer, K. (2002). Orthogonal polarization spectral imaging versus intravital fluorescent microscopy for microvascular studies in wounds. *Ann.Plast.Surg.* **48**, 646-653.
38. Lutt, W. W. and Greenway, C. V. (1987). Conceptual review of the hepatic vascular bed. *Hepatology* **7**, 952-963.
39. Lee, S. S., Hadengue, A., Girod, C., Brailon, A., and Lebrec, D. (1987). Reduction of intrahepatic vascular space in the pathogenesis of portal hypertension. In vitro and in vivo studies in the rat. *Gastroenterology* **93**, 157-161.
40. Lindert, J., Werner, J., Redlin, M., Kuppe, H., Habazettl, H., and Pries, A. R. (2002). OPS imaging of human microcirculation: a short technical report. *J.Vasc.Res.* **39**, 368-372.
41. Maass-Moreno, R. and Rothe, C. F. (1995). Nonlinear resistances in hepatic microcirculation. *Am.J Physiol* **269**, H1922-H1930.

42. Mathura, K. R. and Ince, C. (2000). First clinical use of orthogonal polarization spectral imaging. In "Orthogonal Polarization Spectral Imaging" (K. Messmer, Ed.), pp. 94-101. Karger, Basel.
43. Mathura, K. R., Bouma, G. J., and Ince, C. (2001). Abnormal microcirculation in brain tumours during surgery. *Lancet* **358**, 1698-1699.
44. Mathura, K. R., Vollebregt, K. C., Boer, K., De Graaff, J. C., Ubbink, D. T., and Ince, C. (2001). Comparison of OPS imaging and conventional capillary microscopy to study the human microcirculation. *J.Appl.Physiol* **91**, 74-78.
45. McCuskey, R. S. (2000). Morphological mechanisms for regulating blood flow through hepatic sinusoids. *Liver* **20**, 3-7.
46. Menger, M. D., Marzi, I., and Messmer, K. (1991). In vivo fluorescence microscopy for quantitative analysis of the hepatic microcirculation in hamsters and rats. *Eur.Surg.Res.* **23**, 158-169.
47. Messmer, K. and Krombach, F. (1998). [Microcirculation research in experimental surgery]. *Chirurg* **69**, 333-338.
48. Messmer, K. (2000). Summary of discussion. In "Orthogonal Polarization Spectral Imaging" (K. Messmer, Ed.), pp. 47-49. Karger, Basel.
49. Michel, F., Duriez, M., Levy, B. I., and Boulanger, C. M. (2004). Minimally invasive, in vivo exploration of mouse small artery reactivity. *J Cardiovasc.Pharmacol.* **43**, 271-275.
50. Morsiani, E., Aleotti, A., and Ricci, D. (1998). Haemodynamic and ultrastructural observations on the rat liver after two-thirds partial hepatectomy. *J.Anat.* **192 ( Pt 4)** , 507-515.
51. Nadeau, R. G. and Groner, W. (2000). Orthogonal Polarization Spectral Imaging: State of the Art. In "Orthogonal Polarization Spectral Imaging" (K. Messmer, Ed.), Vol. 24, pp. 9-20. Karger, Basel.
52. Nadeau, R. G. and Groner, W. (2001). The role of a new noninvasive imaging technology in the diagnosis of anemia. *J.Nutr.* **131**, 1610S-1614S.
53. NAKATA, K., LEONG, G. F., and BRAUER, R. W. (1960). Direct measurement of blood pressures in minute vessels of the liver. *Am.J.Physiol* **199**, 1181-1188.

54. Niiya, T., Murakami, M., Aoki, T., Murai, N., Shimizu, Y., and Kusano, M. (1999). Immediate increase of portal pressure, reflecting sinusoidal shear stress, induced liver regeneration after partial hepatectomy. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* **6**, 275-280.
55. Nolte, D., Zeintl, H., Steinbauer, M., Pickelmann, S., and Messmer, K. (1995). Functional capillary density: an indicator of tissue perfusion? *Int.J.Microcirc.Clin.Exp.* **15**, 244-249.
57. Ohlsson, E. G., Rutherford, R. B., Haalebos, M., Wagner, H. N., Jr., and Zuidema, G. D. (1969). The distribution of portal blood flow before and after hepatic resection in dogs. *J.Surg.Res.* **9**, 657-663.
58. Olivier, W. A., Hazen, A., Levine, J. P., Soltanian, H., Chung, S., and Gurtner, G. C. (2003). Reliable assessment of skin flap viability using orthogonal polarization imaging. *Plast.Reconstr.Surg.* **112**, 547-555.
59. Okumura, S., Takei, Y., Kawano, S., Nagano, K., Masuda, E., Goto, M., Tsuji, S., Michida, T., Chen, S.-S., Kashiwagi, T., Fusamoto, H., Kamada, T., and Sato, N. (1994). Vasoactive effect of Endothelin-1 on rat liver *in vivo*. *Hepatology* **19**, 155-161.
60. Pahernik, S., Harris, A. G., Schmitt-Sody, M., Krasnici, S., Goetz, A. E., Dellian, M., and Messmer, K. (2002). Orthogonal polarisation spectral imaging as a new tool for the assessment of antivasular tumour treatment *in vivo*: a validation study. *Br.J.Cancer* **86**, 1622-1627.
61. Palmes, D., Budny, T. B., Dietl, K. H., Herbst, H., Stratmann, U., and Spiegel, H. U. (2005). Detrimental effect of sinusoidal overperfusion after liver resection and partial liver transplantation. *Transpl.Int.* **17**, 862-871.
62. Pennings, F. A., Bouma, G. J., and Ince, C. (2004). Direct observation of the human cerebral microcirculation during aneurysm surgery reveals increased arteriolar contractility. *Stroke* **35**, 1284-1288.
63. Pries, A. R. and Secomb, T. W. (2005). Control of blood vessel structure: insights from theoretical models. *Am.J Physiol Heart Circ.Physiol* **288**, H1010-H1015.
64. Pschyrembel, W. b. and Wörterbuch-Redaktion des Verlags (2004). Pschyrembel - Klinisches Wörterbuch. Walter de Gruyter, Berlin.
65. Puhl, G., Schaser, K. D., Vollmar, B., Menger, M. D., and Settmacher, U. (2003). Noninvasive *in vivo* analysis of the human hepatic microcirculation using orthogonal polarization spectral imaging. *Transplantation* **75**, 756-761.

66. Puhl, G., Schaser, K. D., Pust, D., Kohler, K., Vollmar, B., Menger, M. D., Neuhaus, P., and Settmacher, U. (2004). The delay of rearterialization after initial portal reperfusion in living donor liver transplantation significantly determines the development of microvascular graft dysfunction. *J Hepatol.* **41**, 299-306.
67. Puhl, G., Schaser, K. D., Pust, D., Kohler, K., Vollmar, B., Menger, M. D., Neuhaus, P., and Settmacher, U. (2005). Initial hepatic microcirculation correlates with early graft function in human orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl.* **11**, 555-563.
68. Rappaport, A. M. (1973). The microcirculatory hepatic unit. *Microvasc.Res.* **6**, 212-228.
69. Rappaport, A. M. (1976). The microcirculatory acinar concept of normal and pathological hepatic structure. *Beitr.Pathol.* **157**, 215-243.
70. Richardson, P. D. and Withrington, P. G. (1981). Liver blood flow. I. Intrinsic and nervous control of liver blood flow. *Gastroenterology* **81**, 159-173.
71. Rushing, G. D., Britt, R.C., Britt, L. D. (2006). Effects of hemorrhagic shock on adrenal response in a rat model. *Ann.Surg.* **5**, 652-656.
72. Sasse, D., Spornitz, U. M., and Maly, I. P. (1992). Liver architecture. *Enzyme* **46**, 8-32.
73. Schaser, K. D., Settmacher, U., Puhl, G., Zhang, L., Mittlmeier, T., Stover, J. F., Vollmar, B., Menger, M. D., Neuhaus, P., and Haas, N. P. (2003). Noninvasive analysis of conjunctival microcirculation during carotid artery surgery reveals microvascular evidence of collateral compensation and stenosis-dependent adaptation. *J.Vasc.Surg.* **37**, 789-797.
74. Schaser, K. D., Puhl, G., Vollmar, B., Menger, M. D., Stover, J. F., Kohler, K., Neuhaus, P., and Settmacher, U. (2005). In vivo imaging of human pancreatic microcirculation and pancreatic tissue injury in clinical pancreas transplantation. *Am.J Transplant* **5**, 341-350.
75. Schiessler, C., Schaudig, S., Harris, A. G., and Christ, F. (2002). [Orthogonal polarization spectral imaging—a new clinical method for monitoring of microcirculation]. *Anaesthetist* **51**, 576-579.
76. Schleimer, K., Stippel, D. L., Kasper, H. U., Suer, C., Tawadros, S., Hoelscher, A. H., and Beckurts, K. T. (2004). Improved microcirculation of a liver graft by controlled portal vein arterialization. *J Surg.Res.* **116**, 202-210.
77. Sirinek, K. R. and Thomford, N. R. (1974). The effect of vasopressin on portal hypertension following hepatectomy. *Surg.Gynecol.Obstet.* **139**, 573-577.

78. Slaaf, D. W., Tangelder, G. J., Reneman, R. S., Jager, K., and Bollinger, A. (1987). A versatile incident illuminator for intravital microscopy. *Int.J.Microcirc.Clin.Exp.* **6**, 391-397.
79. Sofola, I. O., Pazos, G. A., Buttolph, T. B., Casler, J. D., and Leonard, D. W. (2001). The Cytoscan model E-II in intraoperative parathyroid gland identification in a rabbit model. *Otolaryngol.Head Neck Surg.* **125**, 635-639.
80. Thomale, U. W., Schaser, K. D., Unterberg, A. W., and Stover, J. F. (2001). Visualization of rat pial microcirculation using the novel orthogonal polarized spectral (OPS) imaging after brain injury. *J Neurosci.Methods* **108**, 85-90.
81. Thomale, U. W., Kroppenstedt, S. N., Beyer, T. F., Schaser, K. D., Unterberg, A. W., and Stover, J. F. (2002). Temporal profile of cortical perfusion and microcirculation after controlled cortical impact injury in rats. *J.Neurotrauma* **19**, 403-413.
82. Tsai, A. G., Friesenecker, B., and Intaglietta, M. (1995). Capillary flow impairment and functional capillary density. *Int.J.Microcirc.Clin.Exp.* **15**, 238-243.
83. Tugtekin, I. F., Theisen, M., Matejovic, M., Stehr, A., Ploner, F., Träger, K., Mathura, K. R., Ince, C., Georgieff, M., and Radermacher, P. (2000). Endotoxin-induced ileal mucosal acidosis is associated with impaired villus Microcirculation in pigs. In "Orthogonal Polarization Spectral Imaging" (K. Messmer, Ed.), pp. 61-69. Karger, Basel.
84. Tugtekin, I. F., Radermacher, P., Theisen, M., Matejovic, M., Stehr, A., Ploner, F., Matura, K., Ince, C., Georgieff, M., and Trager, K. (2001). Increased ileal-mucosal-arterial PCO<sub>2</sub> gap is associated with impaired villus microcirculation in endotoxic pigs. *Intensive Care Med.* **27**, 757-766.
85. Uhl, E., Lehmborg, J., Steiger, H. J., and Messmer, K. (2000). Intraoperative observation of human cerebral microcirculation. In "Orthogonal Polarization Spectral Imaging" (K. Messmer, Ed.), pp. 72-81. Karger, Basel.
86. Uhl, E., Lehmborg, J., Steiger, H. J., and Messmer, K. (2003). Intraoperative detection of early microvasospasm in patients with subarachnoid hemorrhage by using orthogonal polarization spectral imaging. *Neurosurgery* **52**, 1307-1315.
87. Uhlmann, S., Uhlmann, D., and Spiegel, H. U. (1999). Evaluation of hepatic microcirculation by in vivo microscopy. *J.Invest Surg.* **12**, 179-193.
88. Verdant, C. and De Backer, D. (2005). How monitoring of the microcirculation may help us at the bedside. *Curr.Opin.Crit Care* **11**, 240-244.

89. Vollebregt, K. C., Boer, K., Mathura, K. R., De Graaff, J. C., Ubbink, D. T., and Ince, C. (2001). Impaired vascular function in women with pre-eclampsia observed with orthogonal polarisation spectral imaging. *BJOG*. **108**, 1148-1153.
90. Vollmar, B. and Menger, M. D. (1998). The use of intravital microscopy in surgical research. 26-years of experience analyzed by studies presented at the Surgical Forum of the Annual Congress of the German Society of Surgery. *Langenbecks Arch.Surg.* **383**, 282-285.
91. von Dobschuetz, E., Biberthaler, P., Mussack, T., Langer, S., Messmer, K., and Hoffmann, T. (2003). Noninvasive in vivo assessment of the pancreatic microcirculation: orthogonal polarization spectral imaging. *Pancreas* **26**, 139-143.
92. Wang, X. O., Sun, Z. W., Soltesz, V., Deng, X. M. (1997). The role of intravenous administration of dextran 70 in enteric bacterial translocation after partial hepatectomy in rats. *Eur.J.Clin.Invest.* **27**, 936-942.
93. Wu, Y., Campbell, K. A., Sitzmann, J. V. (1993). Hormonal and splanchnic hemodynamic alterations following hepatic resection. *J.Surg.Res.* **55**, 44-48.
94. Yamamoto, K., Sherman, I., Phillips, M. J., and Fisher, M. M. (1985). Three-dimensional observations of the hepatic arterial terminations in rat, hamster and human liver by scanning electron microscopy of microvascular casts. *Hepatology* **5**, 452-456.
95. Zeintl, H. (2000). CapImage®-Bedienungshandbuch. *PDF-Datei*. Dr. Zeintl Ingenieurbüro, Heidelberg. H.Zeintl@t-online.de



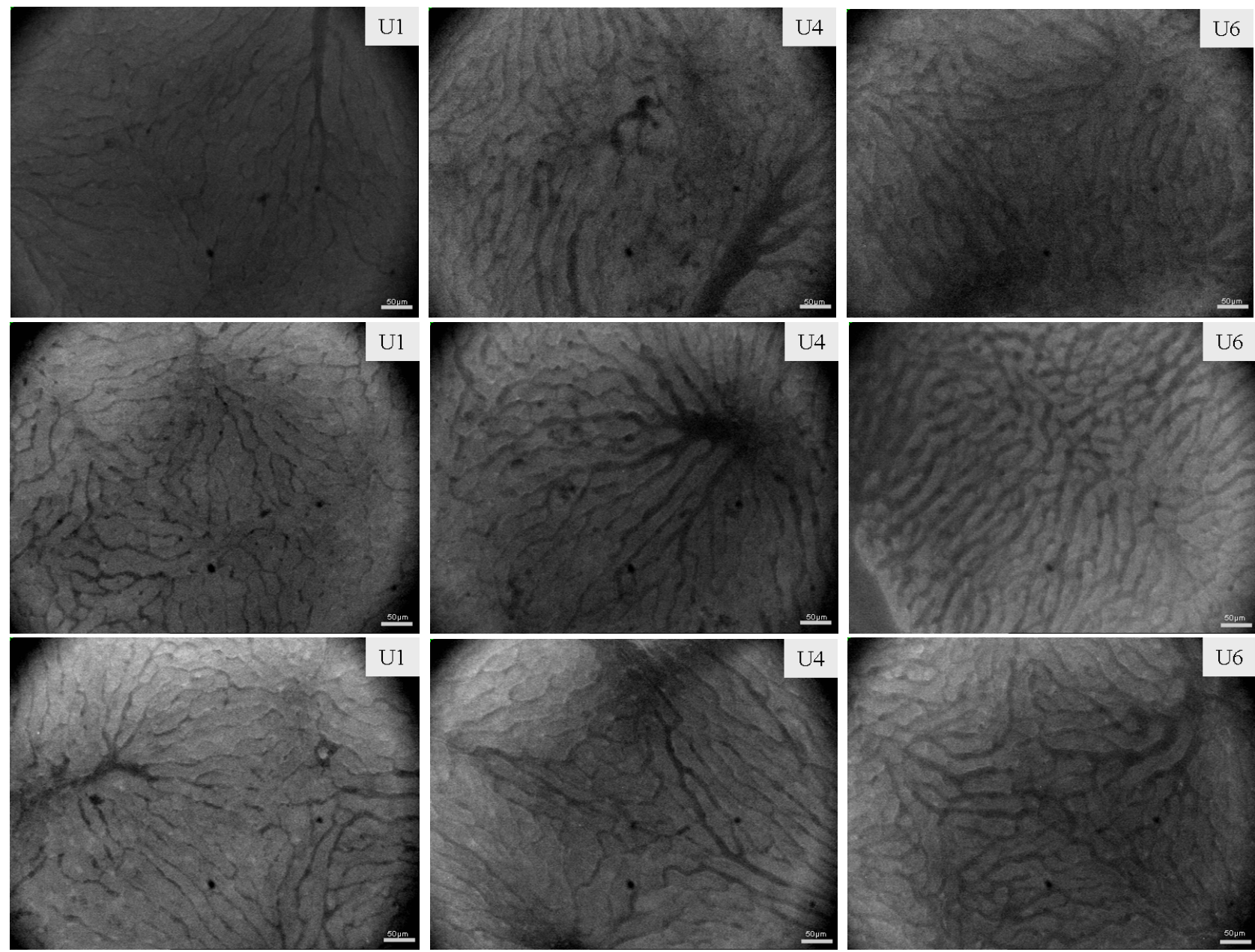
## 7 Anhang

### 7.1 Abkürzungsverzeichnis

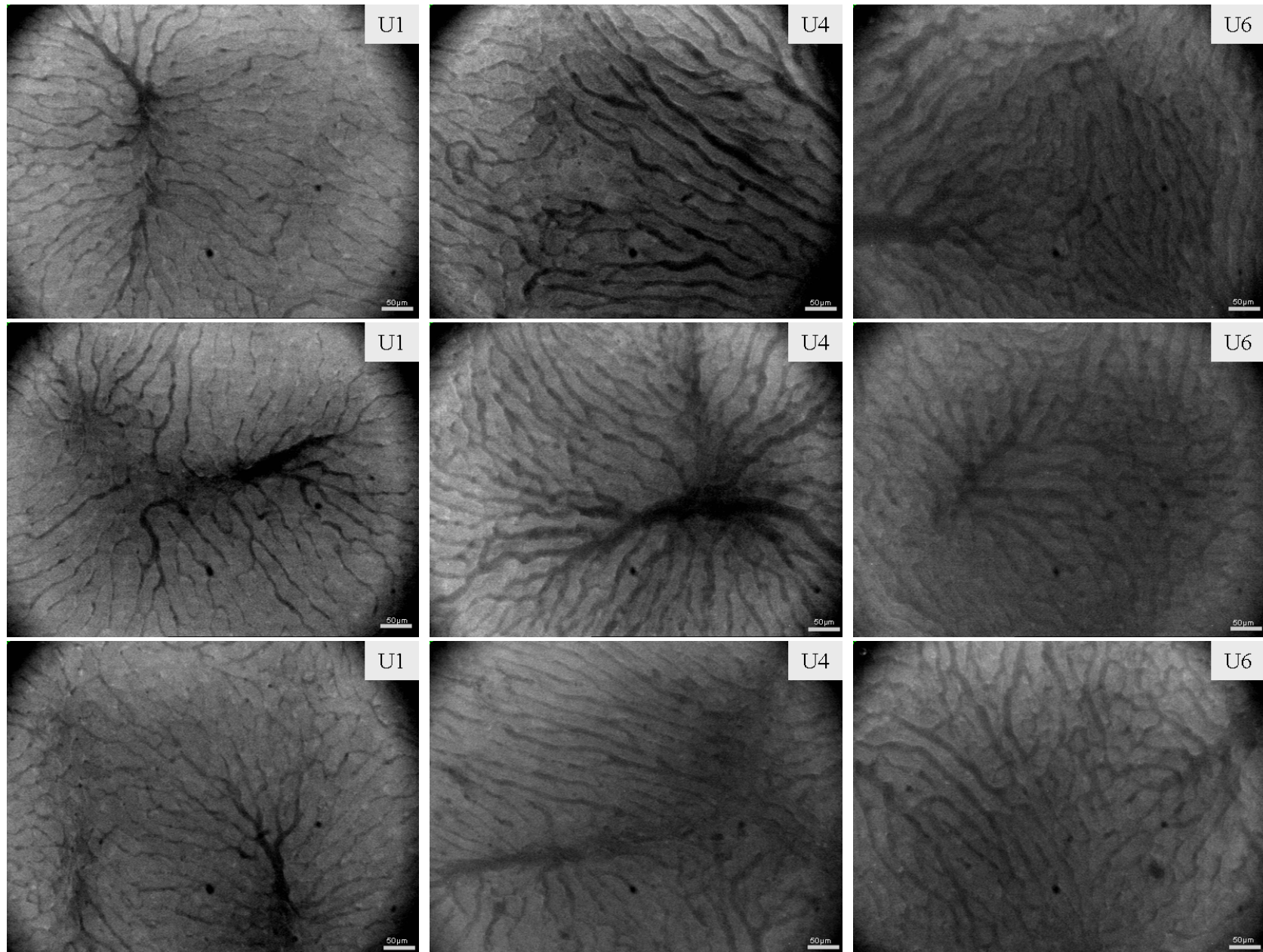
<b>A/D-Wandler</b>	Analog/Digital-Wandler
<b>BFV</b>	Blood Flow Velocity
<b>CD</b>	Compact Disc
<b>CPU</b>	Central Processing Unit
<b>CV</b>	Central vein
<b>DDR-RAM</b>	Double Data Rate-RAM
<b>DVI-I</b>	Digital Visual Interface - Integrated
<b>FCD / FSD</b>	Funktionelle Capillare / Sinusoidale Dichte
<b>FITC</b>	Fluoresceinisothiocyanat
<b>FM</b>	Full Monitoring
<b>FMR</b>	Full Monitoring Resection
<b>FTP</b>	File Transfer Protocol
<b>GB</b>	Gigabyte
<b>GHz</b>	Gigahertz
<b>IDE</b>	Integrated Drive Electronics
<b>IEC601-1-1</b>	International Electrotechnical Commission
<b>IHVC</b>	Infrahepatische Vena cava
<b>IRI</b>	Ischemia/-Reperfusion Injury
<b>ISD</b>	Intersinusoidaler Durchmesser
<b>IVM</b>	Intravitalmikroskopie
<b>LCD</b>	Liquid Crystal Display
<b>LL</b>	Leberläppchen
<b>LTx</b>	Lebertransplantation
<b>MAP</b>	Mittlerer arterieller Mitteldruck
<b>MB</b>	Megabyte
<b>MB/s</b>	Megabyte per second
<b>Mbit/s</b>	Megabit per second
<b>MHz</b>	Megahertz
<b>MS</b>	Microsoft®
<b>NTSC</b>	National Television System(s) Committee
<b>OPS</b>	Orthogonale Polarisationspektroskopie
<b>PAL</b>	Phase Alternating Line

<b>PCI</b>	Peripheral Component Interconnect
<b>PC</b>	Personal Computer
<b>PE-Katheter</b>	Polyethylen-Katheter
<b>PF</b>	Portalfeld
<b>PH</b>	Partielle Hepatektomie
<b>Pixel</b>	Picture Element
<b>PPV</b>	Präterminale Portalvenule
<b>RAID</b>	Redundant Array of Independent Disks
<b>RAM</b>	Random Access Memory
<b>RG-58</b>	Radio Grade 58 (Kabel)
<b>RJ-45</b>	Registered Jack Type 45
<b>ROI</b>	Region of Interest
<b>RS-170</b>	Recommended Standard 170
<b>S-ATA</b>	Serial-Advanced Technology Attachments
<b>SCSI</b>	Small Computer System Interface
<b>SD</b>	Sinusoidaler Durchmesser
<b>SP</b>	Service Pack
<b>SPH</b>	Sequentielle partielle Hepatektomie
<b>S-Video</b>	Separated Video
<b>S/W-Bild</b>	Schwarz/Weiß-Bild
<b>TFT</b>	Thin-Film Transistor
<b>THV</b>	Terminale hepatische Venule
<b>USB</b>	Universal Serial Bus
<b>VGA</b>	Video Graphics Array
<b>ViVo</b>	Video in-Video out
<b>VM</b>	Videomikroskop CytoScan® A/R
<b>ZV</b>	Zentralvene
<b>ZVD</b>	Zentraler Venendruck

Abb. 31: Untersuchungszeitpunkte U1 (vor PH), U4 (nach 90%-PH) und U6 (nach 97%-PH) von FMR-010 (oben), 011 (Mitte) und 012 (unten).



**Abb. 32:** Untersuchungszeitpunkte **U1** (vor PH), **U4** (nach 90%-PH) und **U6** (nach 97%-PH) von FMR-013 (oben), 014 (Mitte) und 015 (unten).



Tab. 20: Übersicht der Versuchsziele aller FMR-Vorversuche am Rattenlebermodell.								
Datum	Versuch	Gewicht (g)	OP-Dauer (min)	Versuchsziel(e)	technische Probleme	Videos pro Messzeitpunkt	Analyzierbar	FM
26.10.2004	FMR-001 (90%-PH)	360	258	- Etablierung des FMR-Designs - Lösung technischer Probleme	- Einzelbildverluste >20% - Arbeitsspeichermangel-des PC	TP1-Base-1-LL	0/1	4/4
						TP2-LL_res-1-ML	0/1	
						TP3-ML_res-1-RL	0/1	
						TP4-RL_res-1-Caudate	0/1	
09.11.2004	FMR-002 (90%-PH)	360	212	- Etablierung des FMR-Designs - Lösung technischer Probleme	- nur avi-Videos - träger Aufnahme-PC wegen Softwareinteraktionen	TP1-Base-1-LL	0/1	4/4
						TP2-LL_res-1-ML	0/1	
						TP3-ML_res-1-RLsup	0/1	
						TP4-RL_res-1-Caudate	0/1	
FMR-003 Versuch nicht den FMR-Messreihen zugeordnet								
10.12.2004	FMR-004 (90%-PH)	315	235	- FMR-Etablierung - Lösung technischer Probleme	- mve-Videos in 768x576 - Softwareabstürze	2xTP1-base	0/1	4/4
						2xTP2-base	0/1	
						2xTP3-base	0/1	
						TP4-base	0/1	
15.12.2004	FMR-005	335	133	97%-PH	starkes Bildflackern	TP1-base	0/1	1/6
21.12.2004	FMR-006 (97%-PH)	345	365	- Methodenvergleich dreier Aufnahmetechniken - Lösung technischer Probleme	- avi-, mve- und raw-Videos - ungenügende Videoqualität	5xTP1-Base-LL	0/5	6/6
						5xTP2-LL_res-ML	0/5	
						4xTP3-ML_res-RL	0/4	
						4xTP4-RL_res-Caudate	0/4	
						2xTP5-Csup_res-Cinf	0/2	
						1xTP6-Cinf_res	0/1	
11.01.2005	FMR-007 (97%-PH)	260	286	- Methodenvergleich zweier Aufnahmetechniken - Lösung technischer Probleme	- avi-, mve- und raw-Videos - ungenügende Videoqualität	3xTP1-Base-LL	0/3	6/6
						3xTP2-LL_res-ML	0/3	
						2xTP3-ML_res-RL	0/2	
						3xTP4-RL_res-Caudate	0/3	
						2xTP5-Csup_res-Cinf	0/2	
						1xTP6-Cinf_res	0/1	
12.01.2005	FMR-008 (97%-PH)	250	223	- Lösung technischer Probleme	- CPU-Austausch - trotzdem ungenügende Videoqualität	3xTP1-Base-LL	0/3	6/6
						1xTP2-LL_res-ML	0/1	
						3xTP3-ML_res-RL	0/3	
						2xTP4-RL_res-Caudate	0/2	
						2xTP5-Csup_res-Cinf	0/2	
						1xTP6-Cinf_res	0/1	
13.01.2005	FMR-009	260	104	97%-PH	starkes Bildflackern	TP1-1	0/1	1/6

**Tab. 21:** Übersicht der Versuchsziele aller FMR-Hauptversuche am Rattenlebermodell.

Datum	Versuch	Gewicht (g)	OP-Dauer (min)	Versuchsziel(e)	technische Probleme	Videos pro Messzeitpunkt	Analysierbar	FM
14.01.2005	FMR-010 (97%-PH)	280	239	- 97%-PH mit Ersatzmessonde - bestmögliche inhaltliche Videoqualität	keine	3xTP1-Base-LL	1/3	6/6
						3xTP2-LL_res-ML	1/3	
						3xTP3-ML_res-RL	1/3	
						6xTP4-RL_res-Caudate	1/6	
						4xTP5-Csup_res-Cinf	1/4	
						4xTP6-Cinf_res	1/4	
17.01.2005	FMR-011 (97%-PH)	290	236	- 97%-PH mit Ersatzmessonde - bestmögliche inhaltliche Videoqualität	keine	3xTP1-Base-LL	1/3	6/6
						2xTP2-LL_res-ML	1/2	
						2xTP3-ML_res-RL	1/2	
						7xTP4-RL_res-Caudate	1/7	
						5xTP5-Csup_res-Cinf	1/5	
						4xTP6-Cinf_res	1/4	
18.01.2005	FMR-012 (97%-PH)	275	240	- 97%-PH mit Ersatzmessonde - bestmögliche inhaltliche Videoqualität	keine	2xTP1-Base-LL	1/2	6/6
						3xTP2-LL_res-ML	2/3	
						3xTP3-ML_res-RL	1/3	
						6xTP4-RL_res-Caudate	1/6	
						3xTP5-Csup_res-Cinf	1/3	
						3xTP6-Cinf_res	1/3	
19.01.2005	FMR-013 (97%-PH)	285	219	- 97%-PH mit Ersatzmessonde - bestmögliche inhaltliche Videoqualität	keine	3xTP1-Base-LL	1/3	6/6
						2xTP2-LL_res-ML	1/2	
						3xTP3-ML_res-RL	2/3	
						3xTP4-RL_res-Caudate	1/3	
						2xTP5-Csup_res-Cinf	1/2	
						4xTP6-Cinf_res	1/4	
20.01.2005	FMR-014 (97%-PH)	295	265	- 97%-PH mit Ersatzmessonde - bestmögliche inhaltliche Videoqualität	keine	4xTP1-Base-LL	1/4	6/6
						5xTP2-LL_res-ML	1/5	
						4xTP3-ML_res-RL	1/4	
						5xTP4-RL_res-Caudate	2/5	
						3xTP5-Csup_res-Cinf	1/3	
						4xTP6-Cinf_res	1/4	
21.01.2005	FMR-015 (97%-PH)	291	216	- 97%-PH mit Ersatzmessonde - bestmögliche inhaltliche Videoqualität	keine	4xTP1-Base-LL	1/4	6/6
						3xTP2-LL_res-ML	1/3	
						3xTP3-ML_res-RL	1/3	
						4xTP4-RL_res-Caudate	1/4	
						2xTP5-Csup_res-Cinf	1/2	
						4xTP6-Cinf_res	1/4	

## 8 Danksagung

Ich fühle mich besonders Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. Christoph E. Broelsch, Direktor der Klinik für Allgemein- und Transplantationschirurgie, zu Dank verpflichtet für die Schaffung der strukturellen Rahmenbedingungen, um erfolgreiche Forschung in seiner Abteilung betreiben zu können.

Frau Priv.-Doz. Dr. med. Uta Dahmen und Herrn Dr. med. Olaf Dirsch gebührt Dank für die freundliche Aufnahme in die interdisziplinäre Arbeitsgruppe Experimentelle Chirurgie und dem Bereitstellen des Promotionsthemas sowie der nötigen Infrastruktur.

Der gegenseitige akademische Meinungs austausch, die Weitergabe von und die Teilhabe an langjährig gesammelter Erfahrung in wissenschaftlichem Arbeiten und zahlreiche methodische und technische Ratschläge, insbesondere durch Herrn Dr. Dirsch, haben beständig zur weiteren Präzisierung dieser Promotionsarbeit beigetragen.

Dank und Anerkennung gilt Herrn Dr. med. Nodir Madrahimov, der mit seinem selbstentwickelten erweiterten Resektionsverfahren im Rattenlebermodell zusammen mit seiner virtuosen Gefäßkatheterisierungstechnik den Weg für diese Mikrozirkulationsstudien bereitet hat.

Zu danken wäre weiterhin Herrn Dr. med. Robert Kleinert, Erstanwender des VM in unserer Arbeitsgruppe, für die Weitergabe früherer Praxiserfahrungen und Problemlösungen.

Kollegialer Dank richtet sich an Herrn Vitaly Milekhin aus der Forschungsgruppe um Herrn Priv.-Doz. Dr. med. M. Kamler der Klinik für Thorax- und Kardiovaskuläre Chirurgie für das Ausleihen einer Messonde für unser VM und den Erfahrungsaustausch in der Anwendung von CapiScope® zur Mikrozirkulationsanalyse.

Nicht ungewürdigt bleiben soll die Hintergrundarbeit unserer ehemaligen MTA Frau Adriane Schulz, die den regelmäßig auftretenden Bedarf an Computerbauteilen und sonstigem Verbrauchsmaterial geduldig und wunschgemäß bearbeitete.

Von Herzen danke ich meinen Eltern Helmut und Elisabeth Hall, die nicht nur durch ihre finanzielle Unterstützung dieses Studium mitsamt Promotion überhaupt ermöglichten und befürworteten.

Diese Promotion wurde 10/04 bis 03/05 gefördert durch ein IFORES-Forschungsstipendium (IFORES - interne Forschungsförderung Essen).

## 9 Curriculum vitae

### PERSÖNLICHE DATEN

Name	Christoph Alexander Hall
Wohnort	Brigachtal
Geburtsdatum und -ort	03.02.1974 in Villingen
Familienstand	ledig, keine Kinder

### SCHULAUSBILDUNG

1980 - 1984	Grundschule Brigachtal
1984 - 1990	Gymnasium am Hoptbühl, Villingen
1990 - 1993	Wirtschaftsgymnasium, Villingen

### BERUFSAUFBILDUNG

09/1993 – 11/1994	Zivildienst (Reha-Klinik <i>Sonnhalde</i> , Donaueschingen)
12/1994 – 09/1995	Diverse Berufspraktika (Volontariat Lokalzeitung: <i>Schwarzwälder Bote</i> , Buchhandlung, Altenpflege)
10/1995 – 03/1998	Fachschule für Altenpflege, Donaueschingen (aufgrund Studienzulassung vorzeitig beendet)

### MEDIZINSTUDIUM

1998 – 2005	Humanmedizinstudium (Bonn, Essen), Famulaturen: <ul style="list-style-type: none"><li>• Medizinische Klinik I (Direktor: Prof. Dr. T. Sauerbruch)</li><li>• Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie (Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. C.E. Broelsch)</li><li>• Klinik für Knochenmarktransplantation (Direktor: Prof. Dr. D. Beelen)</li><li>• Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie, AG Experimentelle Chirurgie (Leiter: PD Dr. U. Dahmen)</li></ul>
2005 – 2006	Praktisches Jahr am Universitätsklinikum Essen <ul style="list-style-type: none"><li>• Zentrum für Innere Medizin<ul style="list-style-type: none"><li>Klinik für Gastroenterologie (Direktor: Prof. Dr. G. Gerken)</li><li>Klinik für Kardiologie (Direktor: Prof. Dr. R. Erbel)</li><li>Klinik für Endokrinologie (Direktor: Prof. Dr. K. Mann)</li></ul></li><li>• Zentrum für Chirurgie<ul style="list-style-type: none"><li>Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie (Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. C.E. Broelsch)</li><li>Klinik für Unfallchirurgie (Direktor: Prof. Dr. D. Nast-Kolb)</li></ul></li><li>• Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie und Neuroradiologie (Direktor: Prof. Dr. M. Forsting)</li></ul>
<b>Mai / Juli 2006</b>	<b>3. Staatsexamen und Vollapprobation als Arzt</b>



## SONSTIGE QUALIFIKATIONEN & AKTIVITÄTEN

1996	Teilnahme am nationalen Aufsatzwettbewerb über ein selbstgewähltes Japan-Thema, Japanische Botschaft, München
1997	Teilnahme an einem 4-wöchigen Intensivsprachkurs, Vichy/Frankreich
1997	2. Platz beim nationalen B. Braun-Preis 1997 für Schulen im Sozial- und Gesundheitswesen zum Thema „Inkontinenz – ein Tabu?“, B. Braun Melsungen AG, Melsungen
2001	Teilnahme am nationalen Reportagewettbewerb „Campus-Schreiber“ der Wirtschaftszeitung Handelsblatt: Junge Karriere“, Handelsblatt Verlag, Düsseldorf
seit 2003	Mitarbeit in der Arbeitsgruppe „Experimentelle Chirurgie“ unter der Leitung von Frau Priv.-Doz. Dr. med. U. Dahmen und Herrn Dr. med. O. Dirsch
2004	Träger eines IFORES-Forschungsstipendiums (IFORES - interne Forschungsförderung Essen)
2004	Teilnahme am „Tag der Forschung“ der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen mit einer promotionsbasierten Posterarbeit
2005	Teilnahme am „Tag der Forschung“ der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen mit einer promotionsbasierten Posterarbeit

## SONSTIGE KENNTNISSE

Fremdsprachen	Englisch: in Wort und Schrift Französisch: erweiterte Basiskenntnisse
EDV	Sehr gute Kenntnisse in <ul style="list-style-type: none"><li>• Alle Standardanwendungen, gängige Betriebssysteme</li><li>• Hardware- und Netzwerktechnik</li></ul>

# 10 Bibliographie

## Zeitschriftenaufsätze

- (1.) **Hall CA**, Satler M. (1998): Inkontinenz – das grosse Tabu (Teil 1). *Pflegen Ambulant* **5**, 10-13.
- (2.) **Hall CA**, Satler M. (1998): Inkontinenz – das grosse Tabu (Teil 2). *Pflegen Ambulant* **6**, 12-14.

## Abstracts

- (1.) **Hall CA**, Dahmen U, Broelsch CE, Dirsch O (2004). Optimierung des Videomikroskops CytoScan® für Mikrozirkulationsmessungen an der Rattenleber. Posterarbeit zum Tag der Forschung, Medizinische Fakultät der Universität Duisburg-Essen, 19. November 2004, Essen.
- (2) **Hall CA**, Madrahimov N, Dirsch O, Broelsch CE, Dahmen U (1999). Mikrozirkulation während sequentieller partieller Hepatektomie. Posterarbeit zum Tag der Forschung, Medizinische Fakultät der Universität Duisburg-Essen, 18. November 2005, Essen.