

AUS DEM LEHRSTUHL FÜR NEUROCHIRURGIE
PROF. DR. MED. ALEXANDER BRAWANSKI
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

RADIAL OXYGEN GRADIENTS OVER RAT CORTEX ARTERIOLES

Inaugural – Dissertation
Zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Michael Galler

2011

Dekan:	Prof. Dr. Bernhard Weber
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Chris Woertgen
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Thomas Bein
Tag der mündlichen Prüfung:	03.05.2011

Radial oxygen gradients over rat cortex arterioles

Michael Galler · Stefan Moritz · Gregor Liebsch ·
Chris Woertgen · Alexander Brawanski · Jan Warnat

Received: 12 February 2010 / Accepted: 12 August 2010
© Springer-Verlag 2010

Abstract

Purpose We present the results of the visualisation of radial oxygen gradients in rats' cortices and their potential use in neurocritical management.

Methods PO₂ maps of the cortex of ten sedated, intubated and controlled ventilated Wistar rats were obtained with a camera (SensiMOD, PCO, Kelheim, Germany). Those pictures were analysed and edited by a custom-made software. A virtual matrix, designed to evaluate the cortical O₂ partial pressure, was placed vertically to the artery under investigation, and afterwards multiple regions of interest were measured (width 10 pixels, length 15–50 pixels). The results showed a map of the cerebral oxygenation, which allowed us to calculate radial oxygen gradients over arterioles. Three groups were defined according to the level of the arterial pO₂: PaO₂ < 80, PaO₂ 80–120 and PaO₂ > 120. Gradients were analysed from the middle of the vessel to its border (1), from the border into the parenchyma next to the vessel (2) and a combination of both (3).

Results Gradient 1 showed significantly different cortical pO₂ values between the three different groups. The mean pO₂ values were 2.62, 5.29 and 5.82 mmHg/mm. Gradient 2 measured 0.56, 0.90 and 1.02 mmHg/mm respectively. Gradient 3 showed significant results between the groups with values of 3.18, 6.19 and 6.84 mmHg/mm.

Conclusion Using these gradients, it is possible to describe and compare the distribution of oxygen to the brain parenchyma. With the presented technique, it is possible to detect pO₂ changes in the oxygen supply of the brain cortex.

Keywords Oxygen gradients · Cortex · PO₂ maps · Visualisation of radial oxygen gradients · Rat cortices

Introduction

The measurement of the brain tissue oxygenation plays an increasing yet still challenging role in advanced neuromonitoring. In patients suffering from traumatic brain injuries or subarachnoidal haemorrhage (SAH), a poor neurological outcome was associated with a low cerebral pO₂ [10–12, 15–17, 22]. A low normal level of brain tissue oxygen tension and the lack of buffering systems make the brain vulnerable for fluctuations of the oxygen supply [1–4, 6, 8, 9, 18, 19, 24]. Different methods were utilised to get reliable measurements of the brain oxygen tension. In general, current methods measure a small volume of tissue around the probe tip located in the white matter and reflect a valuable but limited aspect of the complex process of oxygen delivery and consumption of the brain. Here, we utilise a recently introduced method for optochemical pO₂ mapping of the cortex surface to determine radial oxygen gradients from

M. Galler · C. Woertgen · A. Brawanski · J. Warnat
Klinik und Poliklinik für Neurochirurgie, Universität Regensburg,
Regensburg, Germany

G. Liebsch
Biocam GmbH,
Regensburg, Germany

S. Moritz
Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin,
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,
Wittenberg, Germany

M. Galler (✉)
Klinik für Neurochirurgie, Universitätsklinikum Regensburg,
Franz-Josef-Strauss-Allee 11,
93053 Regensburg, Germany
e-mail: Michael-Galler@t-online.de

cortex arterioles into the tissue under different inspiratory oxygen fractions [26]. We hypothesise that these gradients may reflect the cortex oxygen supply and demand.

Methods

The experiments were performed on 12 Wistar rats (376 ± 33 g, Charles River). After an intubation and anaesthesia with a gas mixture of isoflurane (1.2–1.5%), oxygen and nitrous oxide, a catheter was inserted in the left femoral artery for monitoring the arterial blood pressure and blood gas analysis. The FiO_2 was set between approximately 5% and 98.5% in steps between 10% and 20%. For each measurement, the mean arterial blood pressure, body temperature and actual blood gas values were recorded. Further analysis was based on the actual arterial pO_2 and pCO_2 .

The head of the animal was fixed in a stereotactic head frame, and a craniotomy was performed using a microdrill. The dura was carefully removed under a surgical microscope (Zeiss OPMI 1).

Cortical pO_2 measurement

The combination of charge-coupled device (CCD) technology with luminescent optical oxygen sensors reveals several outstanding new chances for evaluating pO_2 diffusion processes. The fundamental structure of a sensor foil and a CCD chip allows an optimal teamwork because both consist of an array of independent elements, namely indicators and pixels. In principle, the luminescent optical sensor foils consist of indicator dye-doped polymer layers which are spread onto a transparent polyester support. The polymer acts as a solvent for the indicator dye and as a membrane for the analyse (i.e. oxygen) at the same time. After being excited with light, each dye molecule (capable of interacting selectively and independently with oxygen) translates the local oxygen partial pressure within a sample into a luminescence signal. This results in a theoretically extraordinary high spatial resolution which is the basis for evaluation of the diffusion processes around vessels in our application. During the measurement, the luminescence is detected on the CCD chip where the photosensitive picture elements (pixels) convert the intensities into a greyscale value. The measuring system records a series of images with minimal time shift where one image is the colour image from which we obtain the information about the network of venules. Additional images record the time-resolved luminescence of the sensor from which an image obtaining a decay-time-dependent parameter is calculated. This decay-time-dependent parameter reflects the luminescence lifetime (=decay time) of the dye and

therefore the respective pO_2 . From the pO_2 image, we obtain the network of arterioles. Areas which are neither covered by venules (colour image) nor by the arterioles (pO_2 image) can be attributed to parenchyma. Overall spatial resolution of the measurement depends on the optics used and on the resolution of the CCD chip (number of pixels) for the most part even in microscopic applications [5, 7, 13, 14].

This method of planar optochemical pO_2 measurement on the cortex surface was as previously described [26] (Fig. 1): A light conducting polymethyl methacrylate (PMMA) cylinder with the oxygen sensor foil, which had a length of 50 mm and a diameter of 12 mm, was placed gently on the exposed cortex and fixated by a special holder. Due to the limitation of the camera, this resulted in a pixel size of $0.03 \text{ mm} \times 0.03 \text{ mm}$. On top of the cylinder, a CCD camera (AVT, Germany; resolution 780×580 , 10 bit = 1,024 greyscale values) was placed. A ring with light-emitting diodes (LEDs) ($\lambda = 405 \text{ nm}$) was attached on the camera lens. The LEDs sent light impulses through the PMMA cylinder on the sensor foil. The light emissions (645 nm) were filtered by a 455-nm long-pass filter (GG435; Schott, Germany) to capture colour images by the camera. A custom-made trigger box

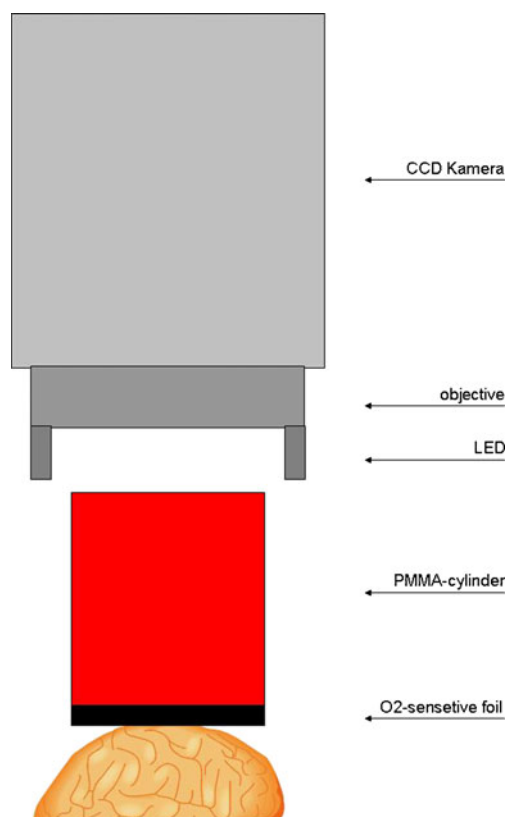


Fig. 1 Experimental camera setup. On the cortex, an O_2 -sensitive foil with the PMMA cylinder is placed. The camera, objective and LED are positioned contact free over the cylinder

and software (Biocam, Germany) controlled the LEDs, the camera and the picture capturing on the PC. An analysis programme allowed the read-out of pO_2 -dependent greyscale values in the captured oxygen maps and in freely selectable regions of interest (ROIs). Absolute pO_2 values were calculated from the read-out greyscale values [26].

For the placement of these ROIs, a suitable vessel was identified with a course as straight as possible. First, an ROI (height 10 pixel, width 30–50 pixel) was placed horizontally over the artery, i.e. in the vessel's course. Depending on the anatomical course, between three and six vertical measurement columns (height 25–50 pixel, width 10 pixel) per one vessel were read out, i.e. perpendicular to the first ROI and in a position where the vessel was in the centre of the ROI (Fig. 2). Values of singular ROIs were averaged and plotted as profiles.

Three groups of corresponding physiological data and cortical pO_2 were separated: (1) low arterial pO_2 (-80 mmHg O_2), (2) normal (80 – 120 mmHg O_2) and (3) high arterial pO_2 ($120 +$ mmHg O_2). Furthermore, an arterial pCO_2 cutoff between 33 and 47 mmHg was chosen, i.e. all arrays below and above this range were excluded.

In each group, three kinds of gradients were investigated. The first one was calculated from the vessel's centre to the vessel border as it appears in the pO_2 maps. The second was calculated from the border region further into the parenchyma (Fig. 3). Gradients were collected on both sides of the vessel as long as no other vessel was branching off the main vessel, probably falsifying the results. Gradient 3 was calculated from the centre of the vessel into the parenchyma. The gradients 1, 2 and 3 were compared statistically by Kruskal–Wallis one-way analysis of variance on ranks.

Results

Altogether 195 analyses on the cerebral pO_2 maps were made containing 3.2050 single pixel measurements. Figure 4 shows an exemplary pO_2 map with the corresponding colour view.

In group 1, the mean arterial pO_2 was 54.34 ± 17.91 mmHg, ranging from 19.8 to 77.8 mmHg; in group 2, it was 88.89 ± 5.65 mmHg, ranging from 80.8 to 98.9 mmHg and in group 3 228.01 ± 72.67 mmHg, ranging from 137.5 to 372.5 mmHg. The standard t test showed statistical significance in all three groups ($p < 0.001$).

The following corresponding average cortical pO_2 values were found in the different groups: group 1 25.71 ± 30.78 mmHg, group 2 42.62 ± 29.62 mmHg and group 3 49.55 ± 28.89 mmHg. Here, the t test showed only statistical significance between groups 1 and 3 ($p < 0.05$), in the comparison of the two other groups the p value was $p > 0.05$.

The mean value of the gradient 1 was 2.62 mmHg/mm in group 1, 5.29 mmHg/mm in group 2 and 5.82 mmHg/mm in group 3. Gradient 2 ranged from 0.56 and 0.90 to 1.02 mmHg/mm, and gradient 3 was 3.18 and 6.19 to 6.84 mmHg/mm, ascending in the different groups (Table 1). Figure 5 shows typical radial pO_2 profiles in the three p_aO_2 groups from which the gradients have been calculated.

A Kruskal–Wallis one-way analysis showed the following results: for gradient 1, group 1 vs group 2 $p < 0.001$, group 1 vs group 3 $p < 0.001$, group 2 vs group 3 $p = 0.002$; for gradient 2, group 1 vs group 2 $p > 0.05$, group 1 vs group 3 $p < 0.05$, group 2 vs group 3 $p > 0.05$; for gradient 3, group 1 vs group 2 $p < 0.05$, group 1 vs group 3 $p < 0.05$, group 2 vs group 3 $p > 0.05$.

Fig. 2 pO_2 map with set ROIs

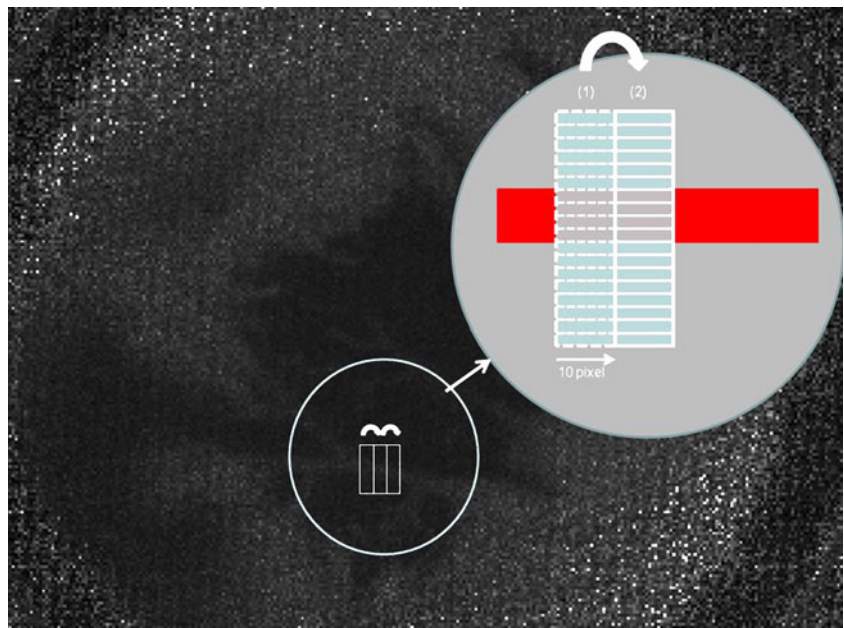
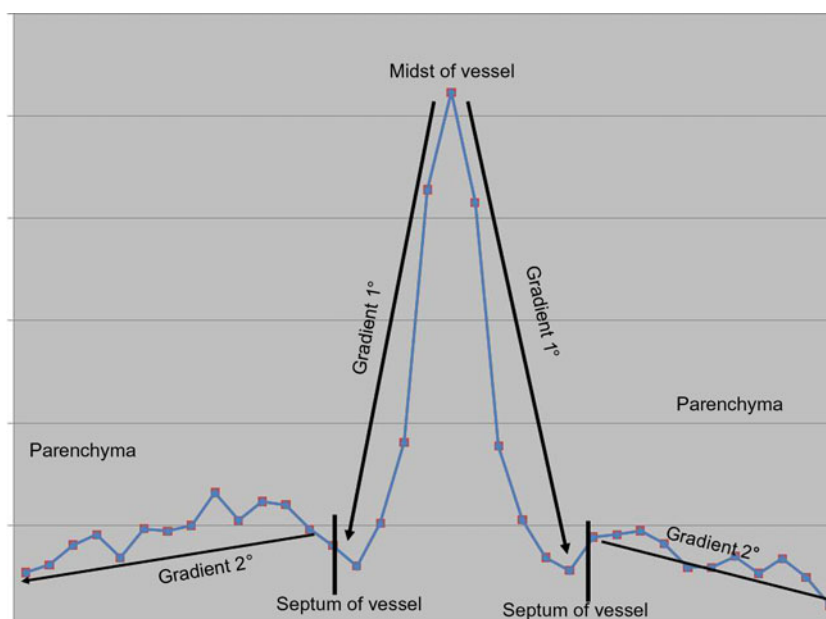


Fig. 3 Scheme for the calculation of the two gradients. Gradient 1 ranging from midst of vessel to septum of vessel. Gradient 2 ranging from septum of vessel into parenchyma



An overview of the results of the calculation of the three different gradients and their statistical significance is shown in Fig. 6.

Discussion

In general, the measurement with luminescent optical oxygen sensors meets several central demands in critical care environment. The sensors are non-toxic, the measurement is completely non-invasive and, due to information guiding via light, the sensors do not need to be mounted or connected to the detector device (i.e. the CCD camera). This allows measuring from outside of closed systems through a transparent window which gives the opportunity of sealing the wound with a transparent cover (in our case, a PMMA cylinder) in order to prevent contamination. Additional advantages of the optical oxygen sensors are that they are transparent, simple to prepare, inexpensive and robust. Especially, the transparency of the oxygen sensor makes our method unique because colour images of the tissue and pO_2 images can be recorded without removing the sensor or opening the observation chamber. Therefore, it is possible to assess colour images and spatially highly resolved pO_2 images from an identical tissue region which allows an exact allocation of tissue pO_2 to tissue structures via image overlay. In conclusion, the measurement method and setup presented here meet all requirements for a highly resolved evaluation of pO_2 diffusion processes from vessels to parenchyma.

The cerebral pO_2 shows a very heterogeneous distribution and measurements depend on the location of the probe. If the chosen region consists of more neuron cell bodies than

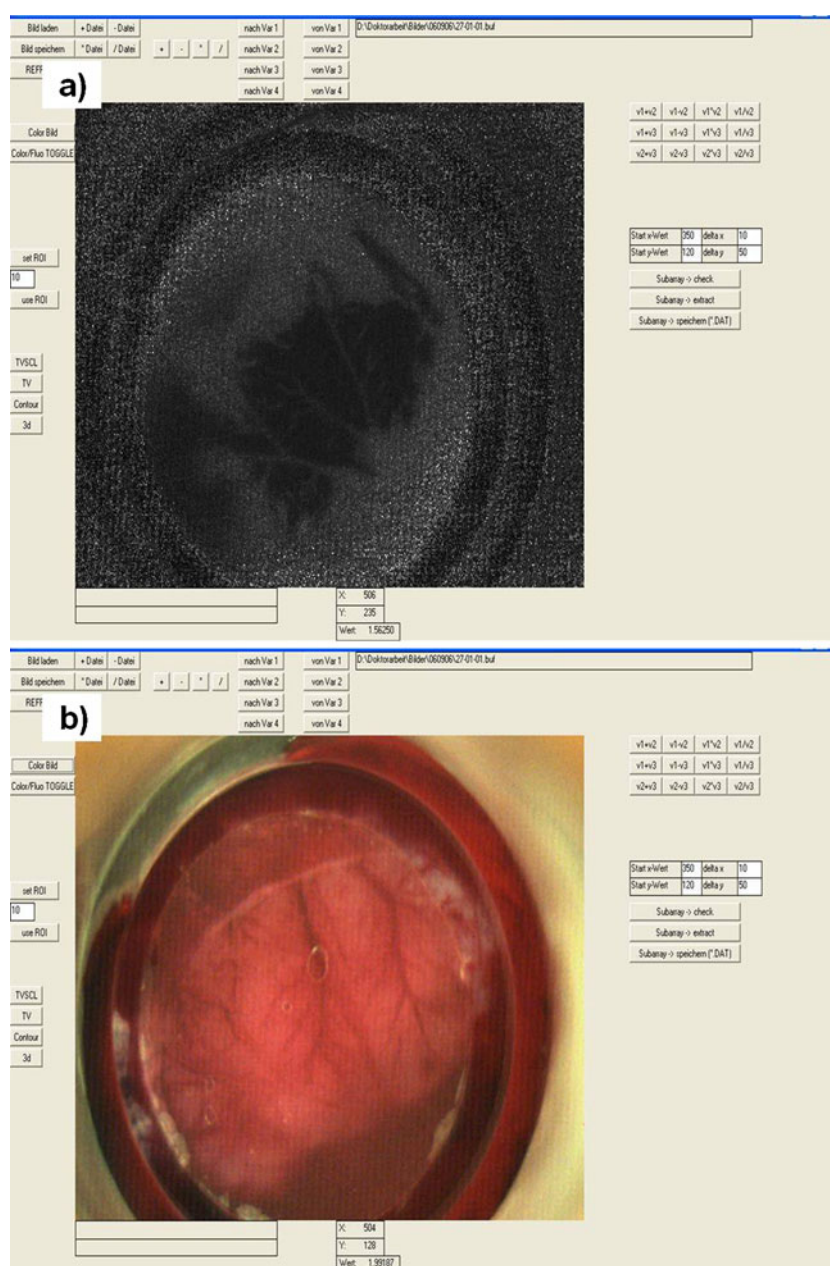
fibres, the cerebral pO_2 values are higher, reflecting the high oxygen demand of the neurons, and if it consists of more fibres, the local pO_2 is lower. As this technique measures an area, where the cell bodies have the majority, the cerebral pO_2 tension is higher than using probes, which measure more often the area of the dendrites [8]. Additionally, the distance of the probe to vessels which eventually run by are completely unknown in case of the intraparenchymal probe, whereas it is visually controlled with the presented method of cortical measurement. Moreover, the vessels are the main target of this study.

Since the sensor foil measures the whole area under it simultaneously, multiple regions of interest areas may be set and the pO_2 values read out in a parallel way, being only limited by the size and the place of the craniotomy.

It has been shown that the oxygen concentration in anaesthetised animals is lower than in conscious animals and depends on the anaesthetics used [11]. Isoflurane, which was used in this study, reduces the cerebral pO_2 . Vovenko et al. described quite concordant oxygen profiles [25], although these measurements were obtained with repetitive single measurements with a Clarke-type electrode.

Johnson et al. mentioned pO_2 values between 25 and 104 mmHg in brain surgeries in normal physiological oxygen condition, which are comparable to the results in the normoxic group [1, 8, 16, 23].

Here, we demonstrated that changes in arterial pO_2 are followed by significant changes in the cortical pO_2 values. We were able to detect changes in cortical oxygenation immediately in concordance to our previous findings [26]. When the arterial pO_2 is elevated, cortical pO_2 values also rise and vice versa. With the increase in arterial pO_2 , the changes in cortical pO_2 become smaller (Fig. 7), a finding

Fig. 4 **a** pO_2 map. **b** Corresponding colour picture

which reflects the exponential relationship of arterial and cortical pO_2 .

Radial oxygen gradients over the cortical arterioles also follow the changes of the arterial pO_2 : with increasing arterial pO_2 , the gradients become larger, although not all

differences between groups 2 (normal arterial pO_2) and 3 (high arterial pO_2) are significant, which resembles the aforementioned ceiling effect.

The most pronounced gradients are found from the vessel into its immediate surroundings, whereas the effect

Table 1 Values of pO_2 between the three different groups

	Arterial pO_2 (mmHg)	Cortical pO_2 (mmHg)	Gradient 1 (mmHg/mm)	Gradient 2 (mmHg/mm)	Gradient 3 (mmHg/mm)
Group 1	54.34±17.91	25.71±30.78	2.62	0.56	1.19
Group 2	88.89±5.65	42.62±29.62	5.29	0.90	2.94
Group 3	228.01±72.67	49.55±28.89	5.82	1.02	4.05

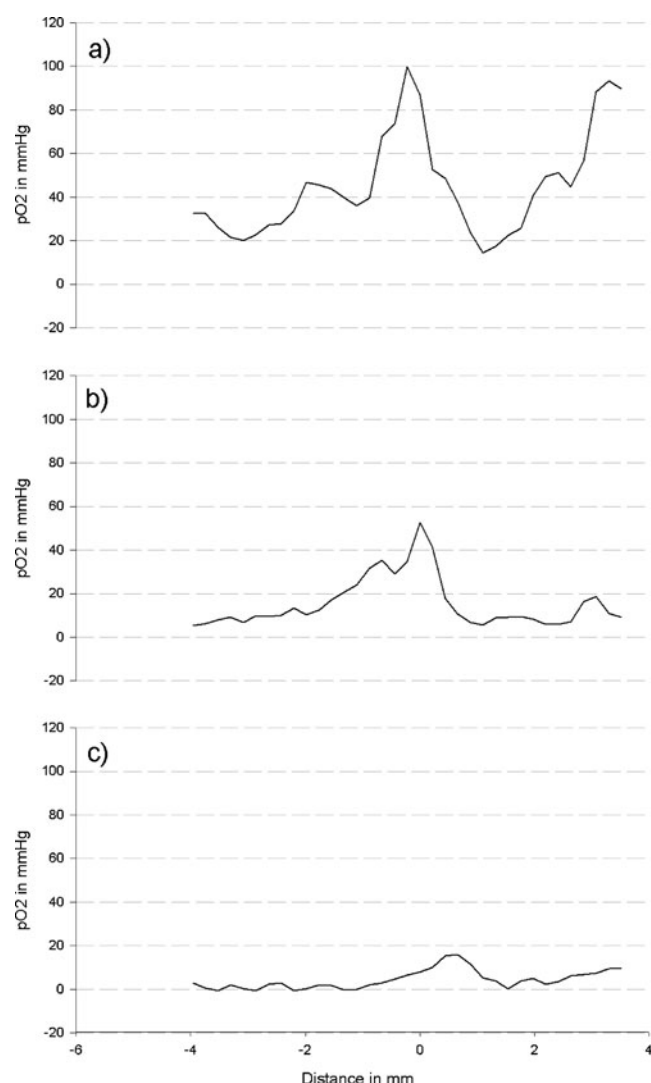


Fig. 5 **a** Graph from group 1; includes all measurements from the analysis of one ROI with a PO₂ value under 80 mmHg. **b** Graph from group 2; includes all measurements from the analysis of one ROI with a PO₂ value between 80 and 120 mmHg. **c** Graph from group 3; includes all measurements from the analysis of one ROI with a pO₂ value over 120 mmHg

of arterial pO₂ changes in the more distant areas around a vessel (gradient 2) is considerably smaller but still detectable. They reflect the relation of cerebral pO₂ in the area adjacent to the main vessel, which contains branching smaller vessels and the capillary bed. With a high arterial pO₂, gradient 1 over the vessel becomes very steep compared with the peripheral gradient 2. In this case, there is probably a high supply of oxygen but still a normal consumption. With low arterial pO₂, the consumption in the periphery of the vessel is presumed to be stable but the supply is decreased and gradient 1 is also diminished. Gradient 2 remains relatively stable and are comparably small. This may reflect a normal autoregulated

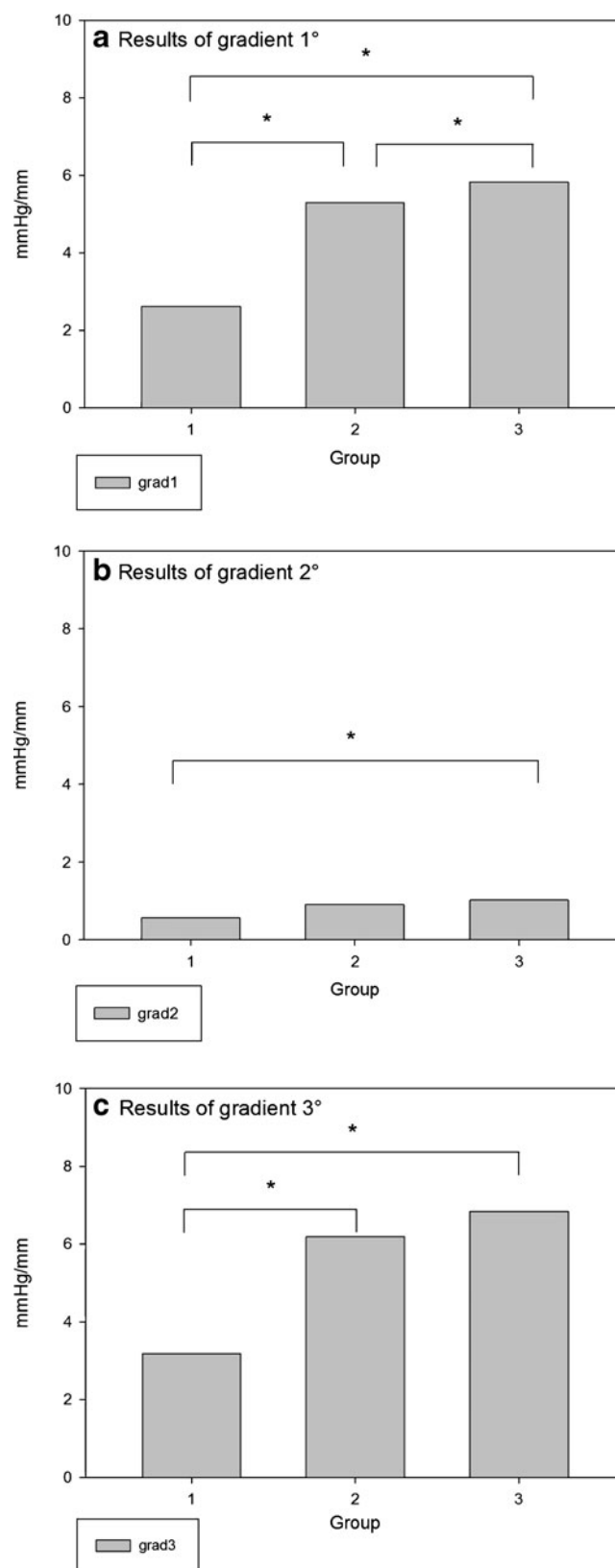


Fig. 6 **a** Results of the calculation of gradient 1 (vessel's centre to the vessel border) ascending in the three different groups. **b** Results of the calculation of gradient 2 (border region further into the parenchyma). **c** Results of the calculation of gradient 3 (vessel's centre into the parenchyma)

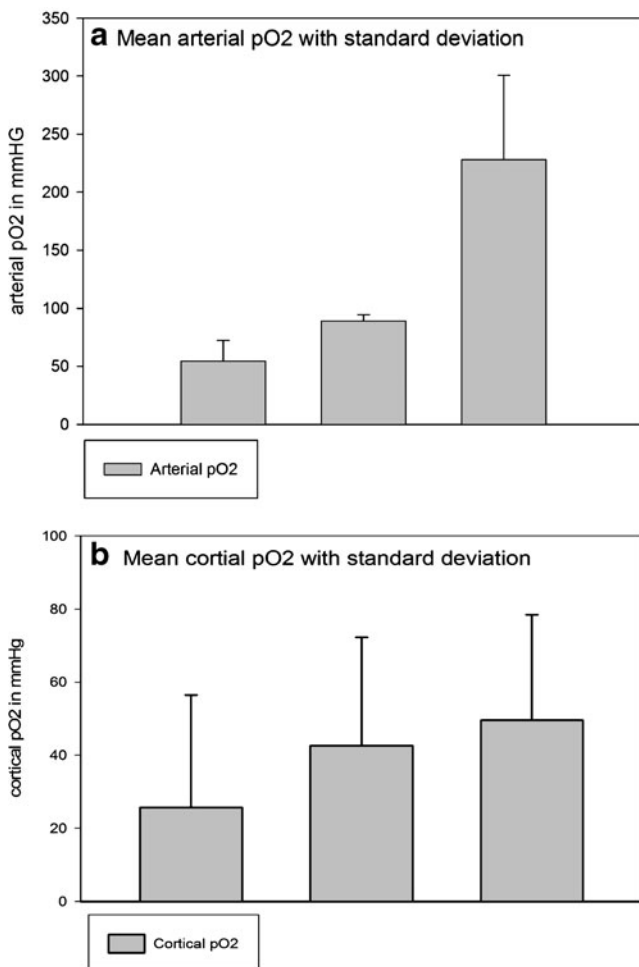


Fig. 7 **a** Mean arterial pO₂ with standard deviation of the rats' blood gas analysis. **b** Mean rats' cortical pO₂ with standard deviation

oxygen distribution into the tissue [20, 21]. We speculate that disturbances of autoregulation may result in unusual values or slope of gradient 2. Gradient 1 may reflect the amount of oxygen supply. High slopes represent good up to “luxury” supply and a relatively low demand; otherwise, the slope of gradient 1 would decrease. We assume that gradient 1 reflects the oxygen distribution in the very

vicinity of the cortical arteriole, covering an area directly on the surface of the vessel and adjacent areas beside the vessel, i.e. a fluid film and parenchyma with microvascular structures. Due to the restriction of the resolution, we could not exclude the contribution of capillaries from the measurements (Fig. 8). This means that we get measurements from the outer wall of the vessel, which reflects and is presumably proportionate to the intra-arterial pO₂, and of the adjacent areas close to the vessel. However, passive and active transport and consumption processes throughout the vessel wall take place before oxygen molecules can reach the sensor foil and therefore cannot be detected. Secondly, gradient 1 reflects the oxygen distribution close to the vessel and appears like a passive distribution process comparable to the simplifying Krogh–Cylinder model. If we combine both gradients 1 and 2, we get an overview of the cerebral pO₂ distribution process from the arteriole into the parenchyma. This parameter may serve as an estimation for the effective oxygen transport into the tissue. Although the cerebral pO₂ profiles, which we detected over the cortical arteriole, remind us of a passive diffusion process, it is clear that the underlying oxygen transport in the arteriicapillary units is much more complex and cannot be visualised with this method. Pathological states such as tissue oedema affect oxygen transport, and we assume that we can find corresponding changes in the oxygen gradients. Also, vasospasm in SAH patients may be detected if it is followed by a change in oxygen gradients, e.g. by an impaired transport through the pathological altered vessel wall (and also by analysing the simultaneously recorded colour views of the measurement area, which is not a focus of this investigation).

Limitations of this investigation include inherent differences between a rat model and humans, possible induction of spreading depression by the mechanical manipulations and changes of tissue oxygen consumption and cerebral flow due to changes in FiN₂O. In this context, a bias of the measurements is likely.

Due to this, further experiments will be necessary to show how oxygen gradients behave in pathological states with the neurocritically ill patients. The presented method

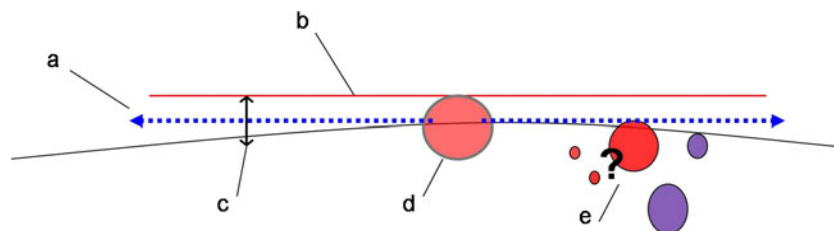


Fig. 8 Schematic of the actual pO₂ distribution function (*a*) under the sensor foil (*b*) from within the vessel into the tissue. Several aspects including possible fluid-filled diffusion gaps between the cortex and the

sensor (*c*), active processes in the vessel wall (*d*) and unpredictable influence of other vessels/branches (*e*) make classical models such as the Krogh–Cylinder inapplicable

may help to elucidate the oxygen supply and consumption in intensive care patients as well as in the laboratory setting.

Conflicts of interest None.

References

- Babilas P, Liebsch G, Schacht V, Klimant I, Wolfbeis OS, Szeimies RM, Abels C (2005) In vivo phosphorescence imaging of pO₂ using planar oxygen sensors. *Microcirculation* 12:477–487
- Doppenberg EM, Zauner A, Bullock R, Ward JD, Fatouros PP, Young HF (1998) Correlations between brain tissue oxygen tension, carbon dioxide tension, pH, and cerebral blood flow—a better way of monitoring the severely injured brain? *Surg Neurol* 49:650–654
- Erecinska M, Silver IA (2001) Tissue oxygen tension and brain sensitivity to hypoxia. *Respir Physiol* 128:263–276
- Haitsma IK, Maas AI (2002) Advanced monitoring in the intensive care unit: brain tissue oxygen tension. *Curr Opin Crit Care* 8:115–120
- Hartmann P, Trettnak W (1996) Effects of polymer matrices on calibration functions of luminescent oxygen sensors based on porphyrin ketone complexes. *Anal Chem* 68:2615–2620
- Hlatky R, Valadka AB, Gopinath SP, Robertson CS (2008) Brain tissue oxygen tension response to induced hyperoxia reduced in hypoperfused brain. *J Neurosurg* 108:53–58
- Holst G, Kohls O, Klimant I, König B, Kuhl M, Richter T (1998) A modular luminescence lifetime imaging system for mapping oxygen distribution in biological samples. *Sens Actuators B* 51:163–170
- Jaeger M, Soehle M, Meixensberger J (2005) Brain tissue oxygen (PtiO₂): a clinical comparison of two monitoring devices. *Acta Neurochir Suppl* 95:79–81
- Jaeger M, Soehle M, Schuhmann MU, Winkler D, Meixensberger J (2005) Correlation of continuously monitored regional cerebral blood flow and brain tissue oxygen. *Acta Neurochir (Wien)* 147:51–56, discussion 56
- Johnston AJ, Steiner LA, Chatfield DA, Coles JP, Hutchinson PJ, Al-Rawi PG, Menon DK, Gupta AK (2004) Effect of cerebral perfusion pressure augmentation with dopamine and norepinephrine on global and focal brain oxygenation after traumatic brain injury. *Intensive Care Med* 30:791–797
- Johnston AJ, Steiner LA, Gupta AK, Menon DK (2003) Cerebral oxygen vasoreactivity and cerebral tissue oxygen reactivity. *Br J Anaesth* 90:774–786
- Lang EW, Mulvey JM, Mudaliar Y, Dorsch NW (2007) Direct cerebral oxygenation monitoring—a systematic review of recent publications. *Neurosurg Rev* 30:99–106, discussion 106–107
- Liebsch G, Klimant I, Frank B, Holst G, Wolfbeis OS (2000) Luminescence lifetime imaging of oxygen, pH, and carbon dioxide distribution using optical sensors. *Appl Spectrosc* 54:548–559
- Liebsch G, Klimant I, Krause C, Wolfbeis OS (2001) Fluorescent imaging of pH with optical sensors using time domain dual lifetime referencing. *Anal Chem* 73:4354–4363
- Liu KJ, Bacic G, Hoopes PJ, Jiang J, Du H, Ou LC, Dunn JF, Swartz HM (1995) Assessment of cerebral pO₂ by EPR oximetry in rodents: effects of anesthesia, ischemia, and breathing gas. *Brain Res* 685:91–98
- Meixensberger J, Vath A, Jaeger M, Kunze E, Dings J, Roosen K (2003) Monitoring of brain tissue oxygenation following severe subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res* 25:445–450
- Mulvey JM, Dorsch NW, Mudaliar Y, Lang EW (2004) Multi-modality monitoring in severe traumatic brain injury: the role of brain tissue oxygenation monitoring. *Neurocrit Care* 1:391–402
- Rose JC, Neill TA, Hemphill JC 3rd (2006) Continuous monitoring of the microcirculation in neurocritical care: an update on brain tissue oxygenation. *Curr Opin Crit Care* 12:97–102
- Rosenthal G, Hemphill JC 3rd, Sorani M, Martin C, Morabito D, Obrist WD, Manley GT (2008) Brain tissue oxygen tension is more indicative of oxygen diffusion than oxygen delivery and metabolism in patients with traumatic brain injury. *Crit Care Med* 36:1917–1924
- Scheufler KM, Rohrborn HJ, Zentner J (2002) Does tissue oxygen-tension reliably reflect cerebral oxygen delivery and consumption? *Anesth Analg* 95:1042–1048, table of contents
- Tsai AG, Johnson PC, Intaglietta M (2003) Oxygen gradients in the microcirculation. *Physiol Rev* 83:933–963
- Valadka AB, Gopinath SP, Contant CF, Uzura M, Robertson CS (1998) Relationship of brain tissue pO₂ to outcome after severe head injury. *Crit Care Med* 26:1576–1581
- van den Brink WA, van Santbrink H, Steyerberg EW, Avezaat CJ, Suazo JA, Hogesteegeer C, Jansen WJ, Kloos LM, Vermeulen J, Maas AI (2000) Brain oxygen tension in severe head injury. *Neurosurgery* 46:868–876, discussion 876–868
- van Santbrink H, van den Brink WA, Steyerberg EW, Carmona Suazo JA, Avezaat CJ, Maas AI (2003) Brain tissue oxygen response in severe traumatic brain injury. *Acta Neurochir (Wien)* 145:429–438, discussion 438
- Vovenko E (1999) Distribution of oxygen tension on the surface of arterioles, capillaries and venules of brain cortex and in tissue in normoxia: an experimental study on rats. *Pflugers Arch* 437:617–623
- Warnat J, Liebsch G, Stoerr EM, Brawanski A, Woertgen C (2008) Simultaneous imaging of cortical partial oxygen pressure and anatomic structures using a transparent optical sensor foil. *J Neurosurg Anesthesiol* 20:116–123

„Radial oxygen gradients over rat cortex arterioles“ –

Zusammenfassung

Zusammenfassung zur Publikation

„Radial oxygen gradients over rat cortex arterioles“

in

Acta Neurochirurgica- The European Journal of Neurosurgery

ISSN 0001-6268 Volume 152 Number 12

Einleitung

Die Sauerstoffversorgung des Gehirns ist entscheidend für das Outcome von neurochirurgisch schwer erkrankten Patienten. Es handelt sich hier in erster Linie um Patienten mit einer Subarachnoidalblutung oder mit schwerem Schädel-Hirn-Trauma. Die Messung des Sauerstoffpartialdruckes des Gehirngewebes stellt einen wichtigen Baustein in der aktuellen Überwachung und Therapie dar. Es wurden verschiedene Ansätze verfolgt, die kraniellen Sauerstoffpartialdrücke zu messen. Es gibt Hinweise, dass der Partialdruck nicht unter 15 mmHg O_2 fallen sollte, um die neurologischen Schäden für den Patienten möglichst zu begrenzen. Unter diesem Aspekt werden Messsonden intraparenchymal in die Nähe der Läsion implantiert, um möglichst zeitnah auf Veränderungen des pO_2 Einfluss nehmen zu können. Dabei nimmt man aber auch in Kauf, dass Hirngewebsverletzungen iatrogen verursacht werden könnten.

Neben der Verwendung im klinischen Bereich werden pO_2 Sonden auch in der Forschung zur Sauerstoffversorgung des Gehirns verwendet. Bis heute sind die genauen physiologischen Vorgänge noch nicht vollständig erforscht und verstanden. So ist z.B. das Modell des Krogh-Zylinders sicher sehr vereinfacht, so dass hier neue experimentelle Methoden wünschenswert wären, um etwa Messungen auch auf mikroskopischer Ebene vorzunehmen. Die oben erwähnten Sonden haben den Nachteil, dass sie nur den Sauerstoffpartialdruck unspezifisch in ihrer Umgebung messen, zum Teil selbst Sauerstoff verbrauchen und einzelne interessante Areale nicht simultan betrachtet werden können. Des Weiteren bieten sie einfach nicht die nötige Auflösung, um kleinere Vorgänge bei der Versorgung mit Sauerstoff

Zusammenfassung

darzustellen. So ist es zum Beispiel nicht möglich, die Vorgänge darzustellen, die sich im Bereich der Gefäßwand abspielen.

Unter den beiden oben genannten Gesichtspunkten kann die im Folgenden beschriebene Technik der semiinvasiven Messung des Sauerstoffpartialdruckes auf der Gehirnoberfläche Vorteile bieten. So kann simultan über einer beliebigen Fläche der unter einer Sensorfolie herrschende pO_2 detektiert werden, also regelrechte pO_2 -Karten z.B. der Gehirnoberfläche erstellt werden. Außerdem kann mit einer hohen zeitlichen Auflösung gemessen werden. Die Sensorfolie verbraucht dabei selbst keinen Sauerstoff. Diese entscheidenden Vorteile sollen nun genutzt werden, um die Sauerstoffverteilung im Bereich der Arteriolen des Cortex in Tierexperimenten zu untersuchen.

Methoden

Die Experimente wurden an 12 Wistar Ratten durchgeführt. Dazu wurden die Tiere narkotisiert und ein Katheter für den arteriellen Blutdruck und arterielle Blutgase in die Femoralarterie gelegt. Der FiO_2 wurde zwischen 5% und 98,5 % gewählt. Dabei wurden nach jeder Veränderung des inspiratorischen Sauerstoffgehalts sowohl der mittlere arterielle Blutdruck, die Körpertemperatur als auch die aktuellen Blutgase ausgewertet. Die späteren Analysen wurden anhand des arteriellen pO_2 und dem pCO_2 durchgeführt.

Der Kopf der Ratten wurde in einem stereotaktischen Kopfring fixiert und anschließend eine Kraniotomie durchgeführt. Zusätzlich wurde die Dura unter einem chirurgischen Mikroskop vorsichtig geöffnet.

Messung des Sauerstoffpartialdruckes

Für die Messung der kortikalen Sauerstoffversorgung wurde ein experimentelles Kamerasetup verwendet. Hierfür wurde ein sterilisierter lichtdurchlässiger Zylinder zusammen mit einer sauerstoffsensitiven Folie vorsichtig auf die Gehirnoberfläche aufgebracht. Das Ganze wurde mit einem speziell hergestellten Halter fixiert. Dadurch konnten Bilder von einem kleinen Ab-

Zusammenfassung

schnitt des Cortex mit einer gekoppelten Farbbildkamera (CCD-Kamera) gemacht werden. Dazu wurde die Kamera in etwa 10 mm Entfernung über dem Zylinder abhängig vom Fokus der Kamera angebracht. Außerdem wurde ein Ring mit LEDs an der Objektivlinse angebracht, um Lichtimpulse auf die sauerstoffsensitive Folie zu senden. Das Prinzip für die Emission von Licht war Folgendes: Wenn das Licht auf eine Stelle auf der Folie traf, wo die Konzentration des Sauerstoffs niedrig oder Sauerstoff gar nicht vorhanden war, wurde die Folie angeregt und sandte ihrerseits Licht zurück. Wenn nun aber das Licht auf einen bereits durch Sauerstoff angeregten Teil der Folie traf, wurde kein Licht zurückgesandt. Daran konnte man erkennen, wo im Gehirn eine Versorgung mit Sauerstoff vorhanden war und wo nicht. Dieses reflektierte oder besser emittierte Licht passierte nun den Zylinder und wurde sowohl in Farbbilder als auch in Spezialaufnahmen von der Kamera digital gespeichert. Eine selbstprogrammierte Software ermöglichte es, die Bilder sofort online zu betrachten, die Kamera zu bedienen und die Bilder zu speichern. Im Offline-Modus konnten mit dieser Software die verschiedenen Bilder anhand ihres Sauerstoffpartialdruckes ausgewertet werden. Dazu wurden „Regions of interest“ (ROI) verwendet. Zusätzlich konnten die Sauerstoffübersichtsbilder in Pseudofarbbilder oder 3D-Profile umgewandelt werden.

Die Kombination der CCD-Technologie mit einer lichtreaktiven sauerstoffsensitiven Folie ermöglicht einen neuen Ansatz, um die Sauerstoffdiffusionsprozesse zu messen. Die Grundstruktur der Folie und des CCD-Chips ergänzen sich hervorragend in der endgültigen Auflösung, weil beide aus unterschiedlichen Bauteilen bestehen, nämlich Indikatoren und Pixel. Grundsätzlich besteht die Folie aus mehreren Lagen Polymer mit eingebetteter Indikator-Tinte auf einem transparenten Polyestergerüst. Das Polymer fungiert hier sowohl als Lösungsmittel für die Tinte als auch als Membran für den Sauerstoff. Nachdem alles mit Licht angeregt wurde, überträgt jedes Tintenmolekül den gerade vorhandenen Sauerstoffpartialdruck in ein Lichtsignal. Dies würde theoretisch zu einer außerordentlich hohen Auflösung führen, was die Grundlage für die Messungen der Diffusionsprozesse entlang des Gefäßes war. Während der Messungen wurden die Lichtemissionen von der CCD-Kamera aufgenommen und in eine Grauskala übertragen. Das System kann mehrere Serien von Bildern mit einer minimalen Zeitversetzung aufzeichnen, wobei das erste Bild ein Farbbild ist, um die zugrundeliegende Anatomie zu betrachten, vor allem des venösen Anteils. Zusätzliche Bilder geben Auskunft über den Sauerstoffpartialdruck; hier wird vor allem der arterielle Anteil betrachtet. Areale, die weder von Venolen noch von Arteriolen bedeckt werden, werden zum Parenchym

„Radial oxygen gradients over rat cortex arterioles“ –

Zusammenfassung

gerechnet. Zusammenfassend kann man sagen, dass die reine Auflösung abhängig von der verwendeten Optik und der Auflösung des CCD-Chips ist. Der schematische Aufbau dieses Setups lässt sich gut im angefügten Bild erkennen.

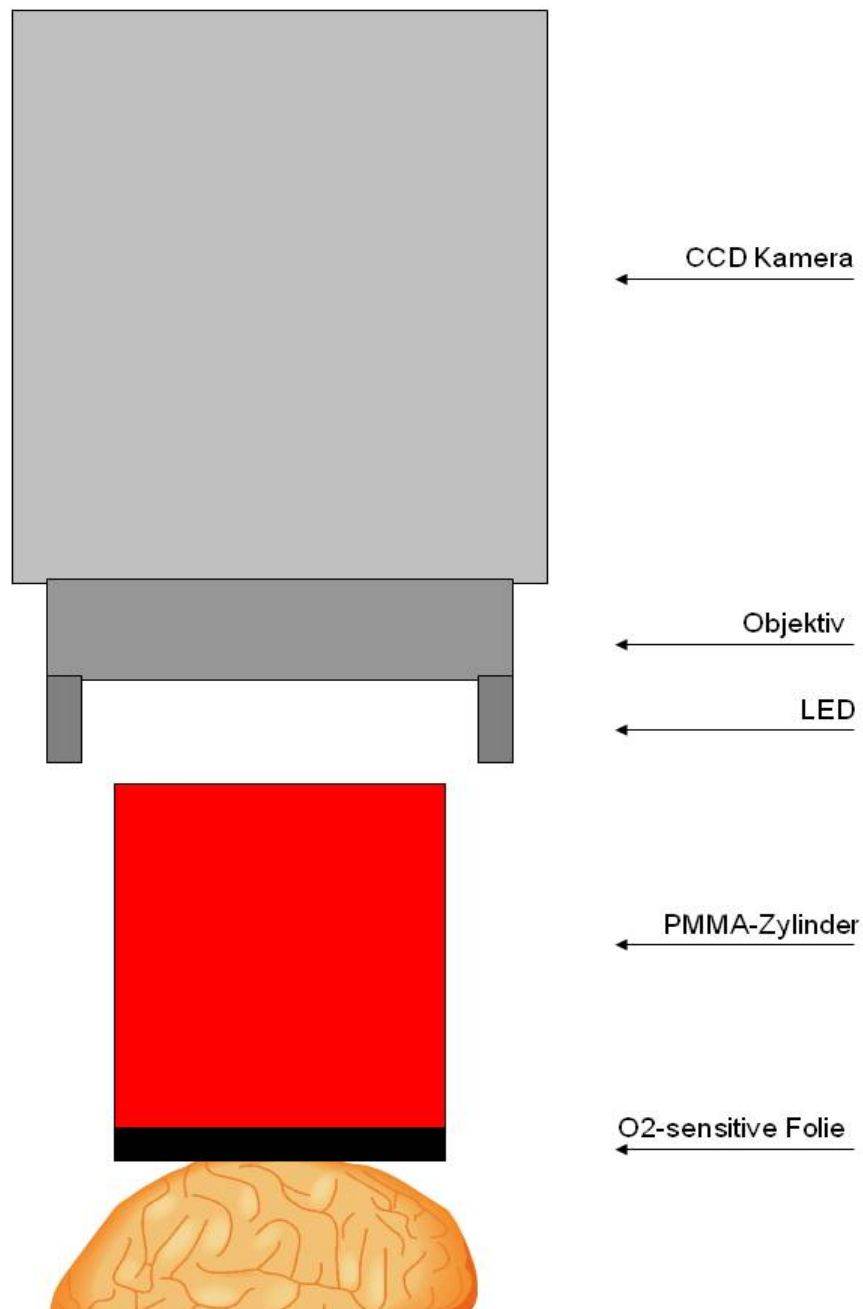


Abbildung 1: Schematischer Aufbau des Kamera-Setups in vergrößerter Darstellung und Platzierung über dem Gehirn

„Radial oxygen gradients over rat cortex arterioles“ –

Zusammenfassung

Gewinnung der Daten

Der FiO_2 wurde zwischen ~ 5 % und ~ 98,5 % in 10 – 20 % Stufen variiert. Fünf Minuten nachdem der FiO_2 verändert wurde, wurde eine Blutprobe für die aktuellen Blutgase entnommen und danach wurde eine Serie von Messungen gestartet. Jedoch lagen den anschließenden Auswertungen und Einteilungen in den später beschriebenen Gruppen nur der tatsächlich gemessene arterielle pO_2 und nicht die Höhe des FiO_2 zu Grunde. Nach jeder Serie wurden fünf weitere Serien mit jeweils mehreren Messungen und Bildern gemacht, um zum einen die Reproduzierbarkeit zu testen und zum anderen das Rauschsignal durch eine Mittelung aller Ergebnisse zu minimieren. Im Anschluss wurden die Daten extern auf einer Festplatte zur weiteren Auswertung gespeichert. Jede Bildserie bestand aus einem Hintergrundbild, einem Bild im angeregtem Zustand und einem Bild der Emissionsphase.

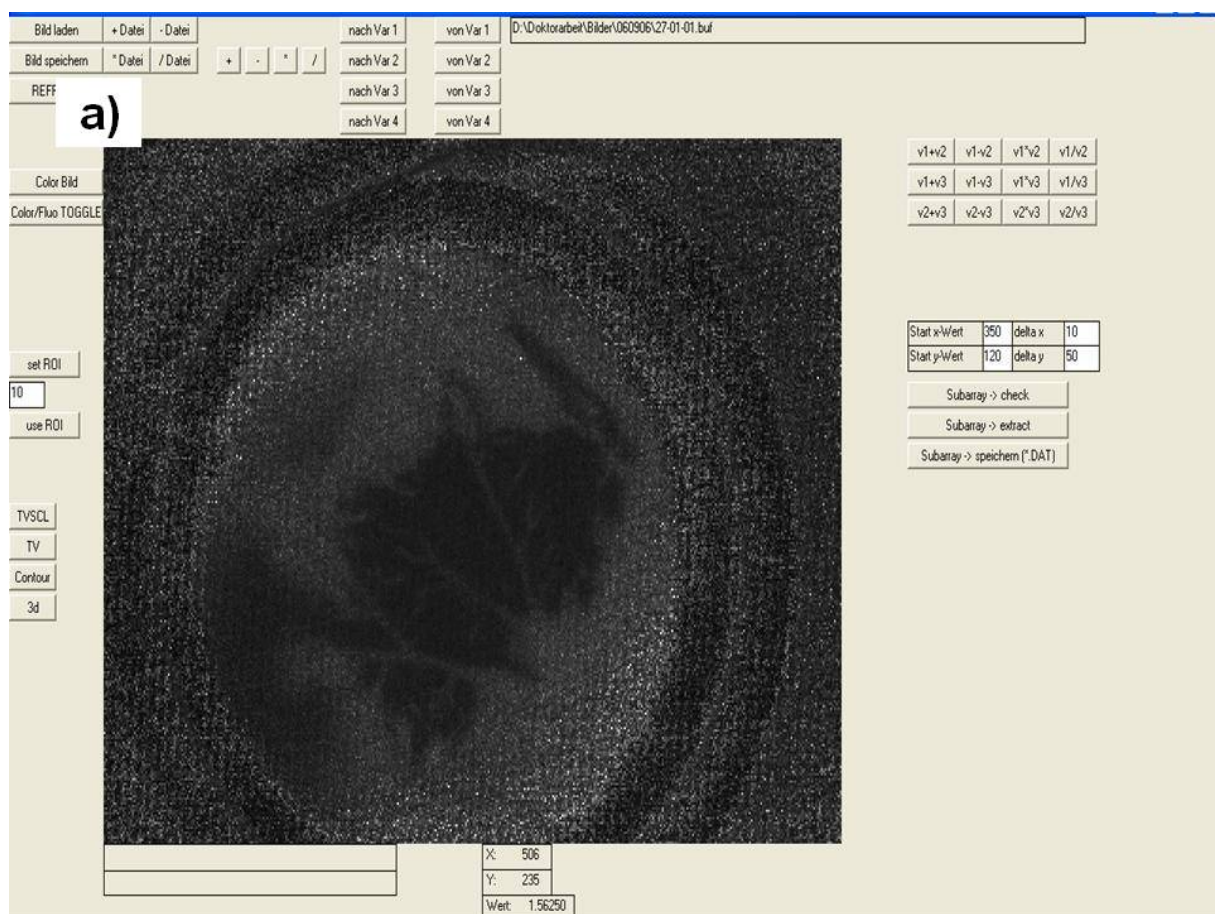


Abbildung 2a: Beispiel für die Benutzeroberfläche der Software und einem Bild zur Berechnung des Sauerstoffpartialdruckes

„Radial oxygen gradients over rat cortex arterioles“ –

Zusammenfassung

Zusätzlich wurde ein Bild mit der zu Grunde liegenden Anatomie gespeichert. Das folgende Bild gibt einen Eindruck darüber ab.

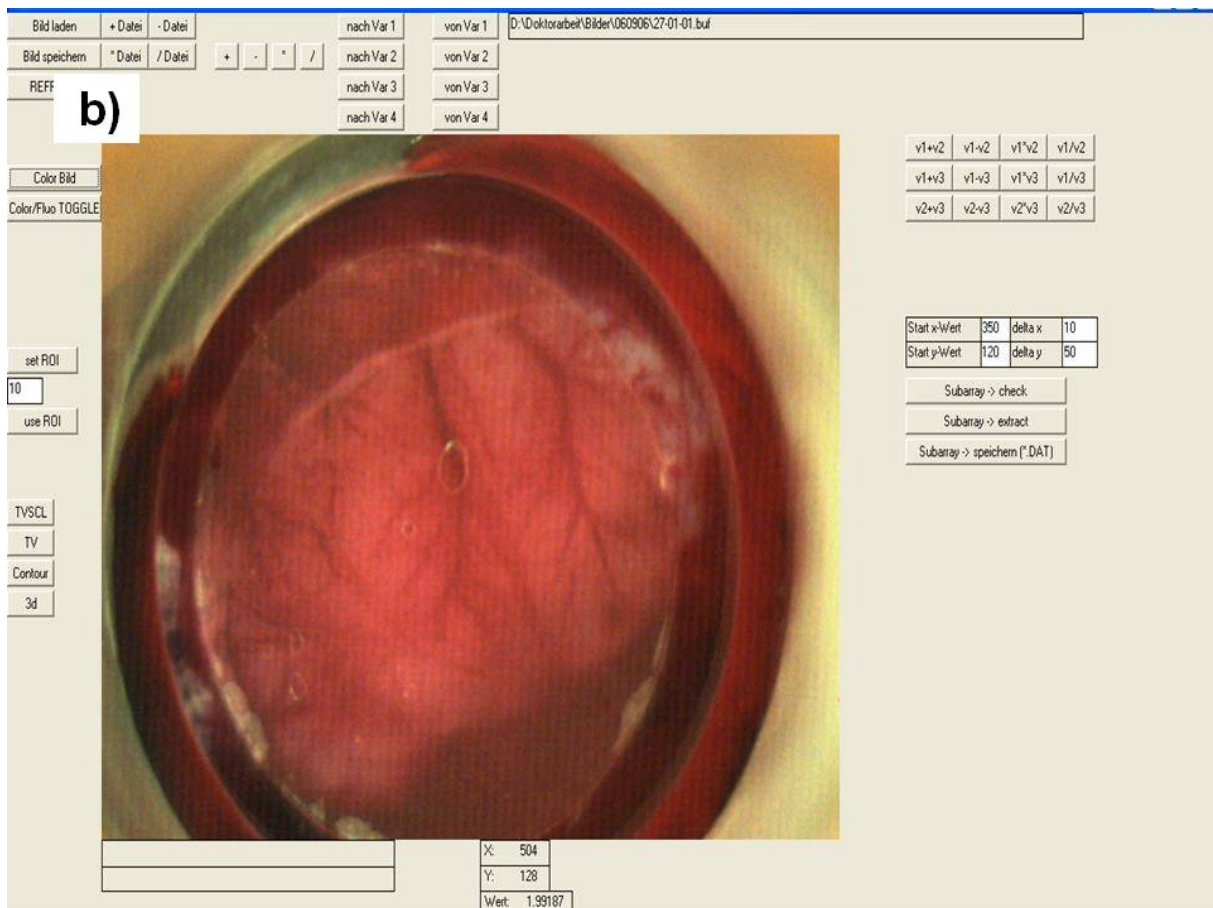


Abbildung 2b: Beispiel für die Benutzeroberfläche und dem anatomischen Übersichtsbild

Messwertverarbeitung

Sowohl die Abklingzeit als auch die Intensität des ausgesandten Lichtes waren maßgeblich vom Sauerstoffpartialdruck abhängig. Die Messung der Abklingzeit, besonders bei Messungen mit transparenten Sensorfolien, ist hier zu bevorzugen, weil sie nicht durch die allgemeinen Interferenzen des zu untersuchenden Gewebes oder der Lichtquelle gestört wird. Die Phosphoreszenz wurde von dem in der Kamera integrierten CCD-Chip in Form von Pixeln aufgenommen, die in 390 x 290 Pixel aufgelöst wurden. Diese wurden anschließend auf eine Auflösung von 640 x 640 Pixel vergrößert.

Zusammenfassung

Analyse

Für die Analyse wurde eine selbst-programmierte Software verwendet, die es ermöglichte, in der Grauskalierung, die von dem jeweiligen vorhandenen Sauerstoffpartialdruck abhängig war, einen ROI (Region of Interest) über dem gewünschten Areal zu platzieren. Zunächst wurde eine geeignete Arteriole anhand von vorher definierten Auswahlkriterien ausgewählt. Diese waren unter anderem ein möglichst gerader Gefäßverlauf mit möglichst wenigen Aufzweigungen und einer möglichst geringen Zahl an Seitenästen. Danach wurde das Bild mit der Software so gedreht und eingestellt, dass die Arteriole horizontal lag. Dazu wurde das Bild auch vergrößert, um die einzelnen Pixel und den Verlauf besser darzustellen. Jetzt wurde ein ROI (Höhe: 10 Pixel, Breite: 30 – 50 Pixel) über dem Verlauf der Gefäßes platziert, um sowohl einen Gradienten für den pO_2 innerhalb des Gefäßes zu haben als auch noch

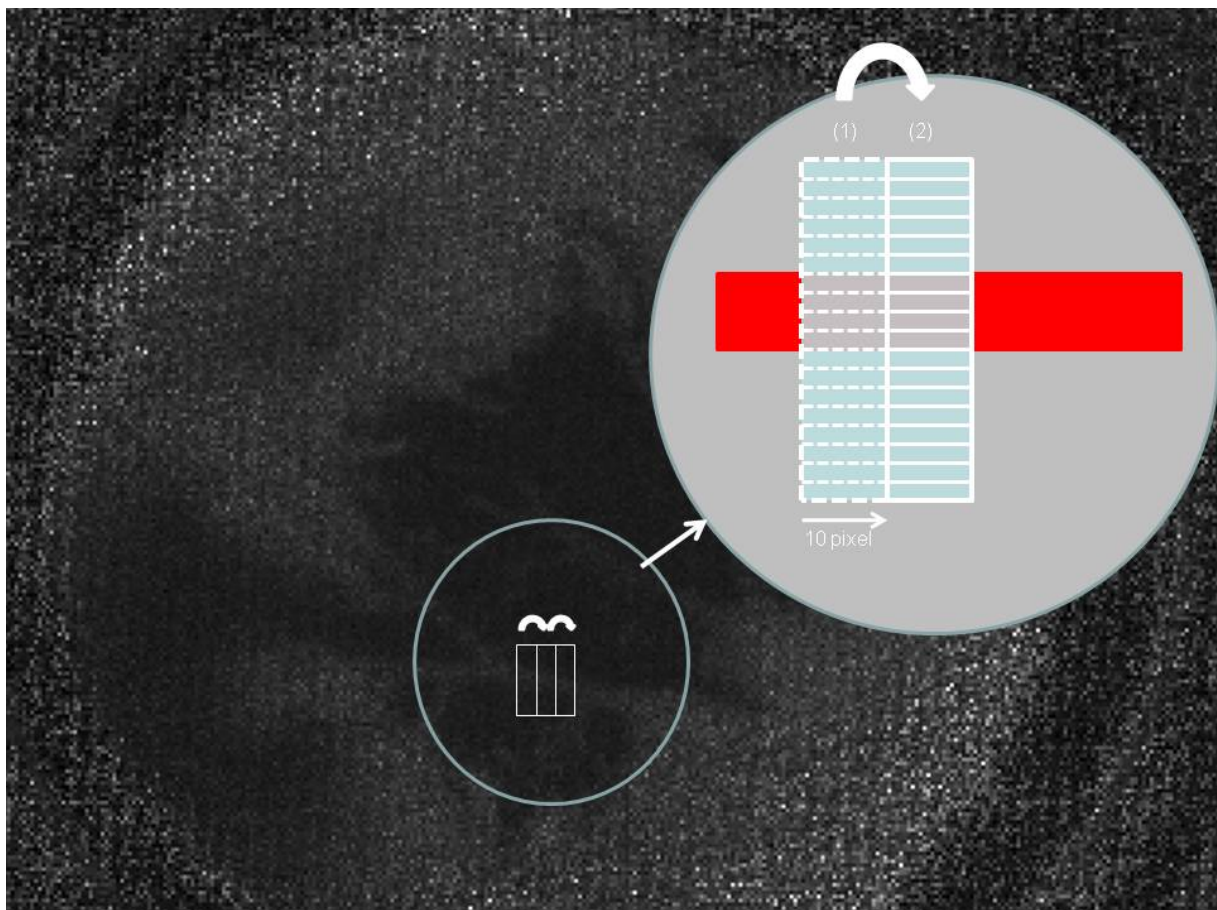


Abbildung 3: Beispiel für die oben genannten Kriterien und Platzierung der ROIs

Zusammenfassung

mals einen möglichst geraden Verlauf zu überprüfen. Nun wurden weitere ROIs (Höhe: 25 – 50 Pixel, Breite: 10 Pixel) senkrecht über den ersten ROI gelegt. Hierdurch konnte man den Gradienten bestimmen, der den Verlauf des Sauerstoffpartialdruckes mit Beginn im Gefäß oder in unmittelbarer Nähe des Gefäßes und mit Endpunkt im Parenchym anzeigte. Pro Gefäß konnten so mehrere Messungen nebeneinander gemacht und miteinander später statistisch verglichen werden. Ein Beispiel der oben erwähnten Herangehensweise zeigt Abbildung 3.

Die Ergebnisse der einzelnen ROIs wurden gemittelt und als Kurvenverläufe in einer Grafik dargestellt.

Anschließend wurden 3 Hauptgruppen anhand physiologischer Gesichtspunkte gebildet. Die Bedingungen für diese Gruppen waren, dass sich sämtliche pO_2 und pCO_2 Werte in einem für den Menschen physiologischen Bereich befinden. Deshalb wurden alle Messreihen von Ratten mit einem pCO_2 unter 33 mmHg oder über 47 mmHg ausgeschlossen. Die erste Gruppe wurde aus Messreihen mit niedrigem arteriellen Sauerstoffpartialdruck (bis 80 mmHg) gebildet, die Zweite mit normalem arteriellen Sauerstoffpartialdruck (80 – 120 mmHg) und die Dritte mit einem hohen arteriellen Sauerstoffpartialdruck (über 120 mmHg). Die folgende Abbildung soll zeigen, wie sich die verschiedenen Kurvenverläufe bei unterschiedlichem Sauerstoffgehalt in den drei oben genannten Gruppen darstellten.

Der Kurvenverlauf a) zeigt, wie sich der Gradient bei einem hohen Sauerstoffpartialdruck (über 120 mmHg) verhält. Der Peak der Kurve, der mit einem Pfeil markiert ist, spiegelt die Sättigung innerhalb des Gefäßes wider. Der Theorie zufolge sollte der Gradient dann auf beiden Seiten des Gefäßes gleichmäßig abnehmen, was der Sauerstoffabgabe ins Parenchym entspricht. Jedoch ist diese Vorstellung nur ein Modell, um die komplexen Vorgänge zu vereinfachen. Die kleineren Peaks stellen zum Beispiel Seitenäste, Abgänge oder kleinere Gefäße in der Umgebung dar.

Der Kurvenverlauf b) zeigt beispielhaft einen Gradienten der zweiten Gruppe (80 – 120 mmHg) und Kurvenverlauf c) einen der ersten Gruppe (bis 80 mmHg). Hier ist auch jeweils das Gefäß mit einem Pfeil markiert. Dies ist die korrekte Legende für die unten folgende Grafik. Bei der Veröffentlichung wurden Punkt a) und c) vertauscht.

„Radial oxygen gradients over rat cortex arterioles“ –

Zusammenfassung

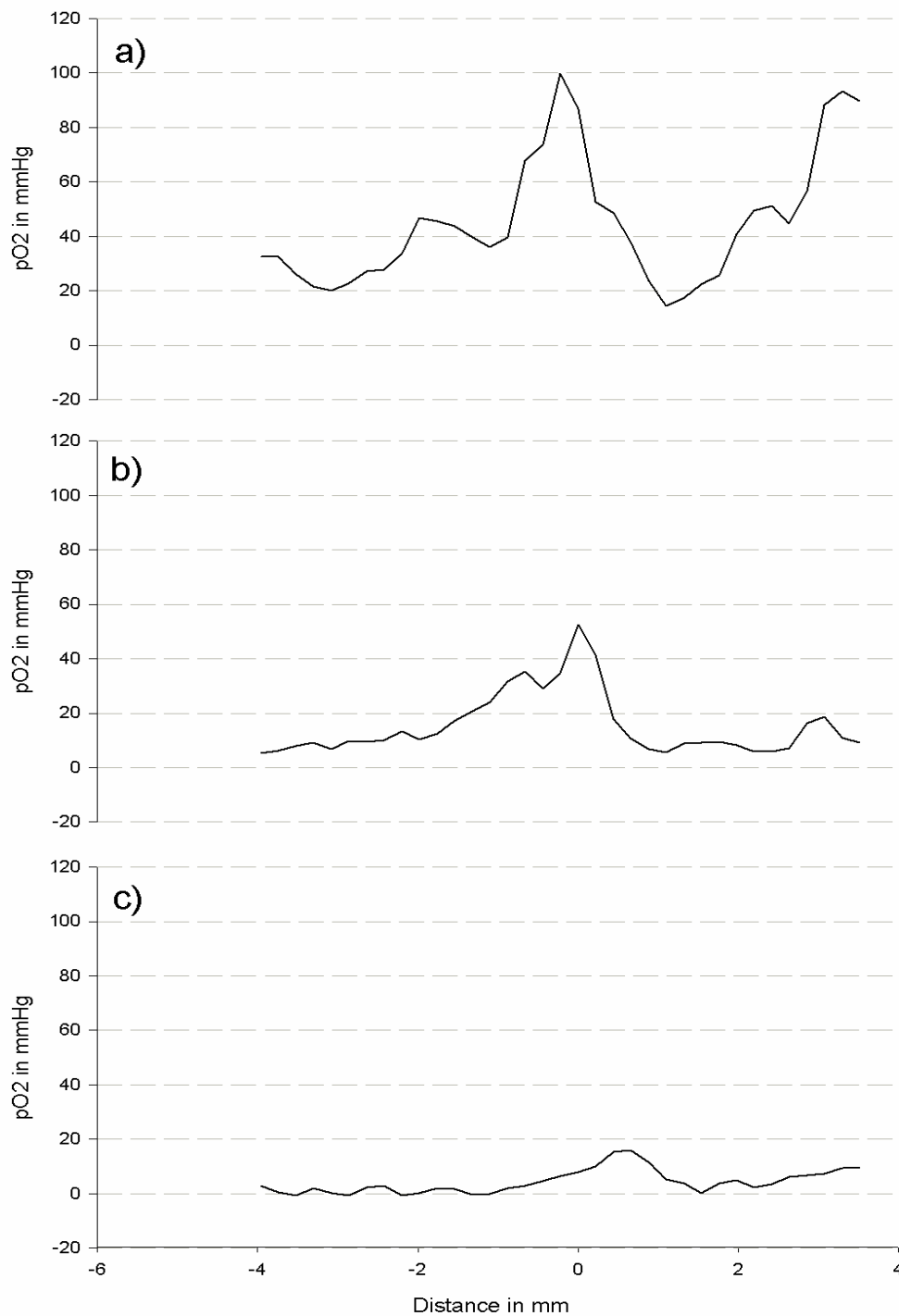


Abbildung 4: Beispiele für verschiedene Kurvenverläufe, Beschreibung siehe Text oben



„Radial oxygen gradients over rat cortex arterioles“ –

Zusammenfassung

In den jeweiligen Gruppen wurden immer drei Gradienten bestimmt. Der Erste (Gradient 1°) zeigte den Verlauf des Sauerstoffpartialdruckes von der Mitte des Gefäßes bis zur Gefäßwand, der Zweite (Gradient 2°) von der Gefäßwand bis ins Parenchym und der Dritte (Gradient 3°) von der Mitte des Gefäßes bis ins Parenchym. Sofern es möglich war, wurden diese Gradienten auf beiden Seiten des Gefäßes bestimmt. Manchmal war dies nicht möglich, weil zum Beispiel andere Arteriolen kreuzten oder die untersuchte Arteriole Seitenäste abgab. Das folgende Bild verdeutlicht diese Betrachtungen. In der Publikation wurde der Pfeil für den Gradienten 3° nicht mit gedruckt.

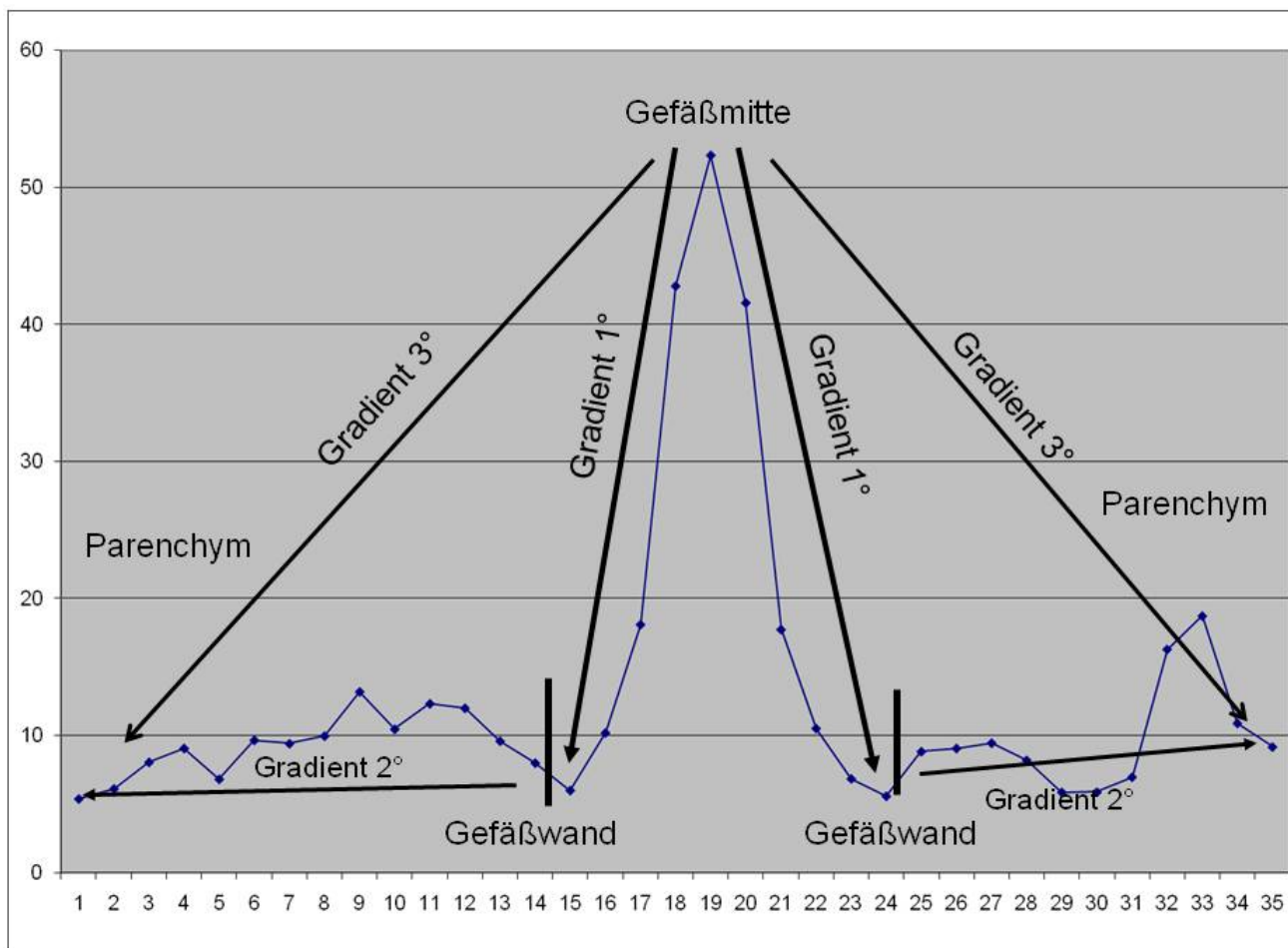


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Sauerstoffgradienten

Die Gradienten wurden statistisch untereinander mit dem „Kruskis-Wallis one-way analysis of variance on ranks“ verglichen.

Zusammenfassung

Ergebnisse

Insgesamt wurden 195 Analysen von verschiedenen Sauerstoffpartialdruckübersichtsbildern gemacht, was 32050 einzelne Messungen ergab, nicht wie die in der Veröffentlichung fälschlicherweise angegeben 3.2050.

In Gruppe 1 war der mittlere arterielle pO_2 $54,34 \pm 17,91$ mmHg, in Gruppe 2 $88,89 \pm 5,65$ mmHg und in Gruppe 3 $228,01 \pm 72,67$ mmHg. Der Standard t-test zeigte eine statistische Signifikanz in allen drei Gruppen. Der daraus resultierende durchschnittliche kortikale pO_2 zeigte in Gruppe 1 einen Wert von $25,71 \pm 30,78$ mmHg, in Gruppe 2 einen Wert von $42,62 \pm 29,62$ mmHg und in Gruppe 3 einen Wert von $49,55 \pm 28,89$ mmHg. Hier zeigte der t-test eine statistische Signifikanz nur zwischen Gruppe 1 und 3.

Die Mittelwerte des ersten Gradienten waren in Gruppe 1 2,62 mmHg/mm, in Gruppe 2 5,29 mmHg/mm und in Gruppe 3 5,82 mmHg/mm. Die Werte des zweiten Gradienten betrugen in derselben Reihenfolge 0,56 mmHg/mm, 0,90 mmHg/mm und 1,02 mmHg/mm. Und die des dritten Gradienten lagen bei 3,18 mmHg/mm, 6,19 mmHg/mm und 6,84 mmHg/mm.

Die Berechnung der Gradienten erfolgte folgendermaßen: Ein ROI, z.B. mit der Größe 10x50 Pixel, wurde komplett ausgelesen und die Werte der jeweils einzelnen Pixel in einer Excel-Tabelle gespeichert. Anschließend wurden diese Werte gemittelt und anhand des Peaks verglichen mit dem Farbbild wurde die Mitte des Gefäßes bestimmt.

Dann wurden die Gradienten, wie in Abb. 5 gezeigt, festgelegt und ausgelesen.

Die Pixel wurden anschließend in mm umgerechnet, indem man den Durchmesser des Zylinders, der hier 12 mm betrug, durch die in den Messungen abgebildete Breite des Zylinders in Pixel teilte. Hier war das Ergebnis 0,03 mm. Anschließend wurden die gefundenen Werte für die Gradienten mit Hilfe dieses Wertes in mmHg/mm umgerechnet.

Die Entfernung zwischen zwei Messpunkten entsprach folglich einem Pixel, was umgerechnet 0,03 mm waren.

Diese Gruppen wurden nun durch die „Kruskis-Wallis one-way analysis“ verglichen. Die Ergebnisse waren Folgende:

Zusammenfassung

Für den ersten Gradienten: Gruppe 1 gegenüber Gruppe 2 $p < 0.001$; Gruppe 1 gegenüber Gruppe 3 $p < 0.001$; Gruppe 2 gegenüber Gruppe 3 $p = 0.002$.

Für den zweiten Gradienten: Gruppe 1 gegenüber Gruppe 2 $p > 0.05$; Gruppe 1 gegenüber Gruppe 3 $p < 0.05$; Gruppe 2 gegenüber Gruppe 3 $p > 0.05$.

Für den dritten Gradienten: Gruppe 1 gegenüber Gruppe 2 $p < 0.05$; Gruppe 1 gegenüber Gruppe 3 $p < 0.05$; Gruppe 2 gegenüber Gruppe 3 $p > 0.05$.

Der Stern in der Abbildung 6 bedeutet eine statistische Signifikanz zwischen den einzelnen Gruppen.

Diskussion

Die Technik der planaren optochemischen Sauerstoffpartialdruckmessung in dem oben beschriebenen Setup hat einige Vorteile, welche für die neurologisch/neurochirurgische Intensivmedizin interessant erscheinen. Die sauerstoffsensitive Sensorfolie ist nicht-toxisch, die Messungen können minimal invasiv durchgeführt werden und die Sensorfolie selber muss nicht auf der CCD-Kamera befestigt werden. Dies erlaubt Messungen in einem geschlossenen System, ohne dass die Gehirnoberfläche bei jeder erneuten Messung einer potenziell kontagiösen Umgebung ausgesetzt werden muss. Möglich macht dies die transparente Folie, die man gleichzeitig als Versiegelung für die Wunde und zur Überwachung derselben verwenden kann. Darüber hinaus ist die Folie einfacher bereit zu stellen, kostengünstig und robust. Die Transparenz der Folie macht die Untersuchungen einzigartig, weil man sowohl Farbbilder der Gehirnoberfläche und damit auch der darunterliegenden Anatomie anfertigen kann, sowie pO_2 Bilder zur Überwachung des Sauerstoffpartialdruckes, ohne dass man den Sitz der Folie oder der versiegelten Kammer verschieben muss. Dies erlaubt nun, dass man die Anatomie mit der tatsächlichen Sauerstoffversorgung vergleichen und bei entsprechenden Engpässen Gegenmaßnahmen einleiten kann. Zusammenfassend bietet diese Methode alle Möglichkeiten, um eine hochauflösende Darstellung der Sauerstofftransportprozesse, ausgehend von der Gefäßwand ins Parenchym, zu zeigen.

„Radial oxygen gradients over rat cortex arterioles“ –

Zusammenfassung

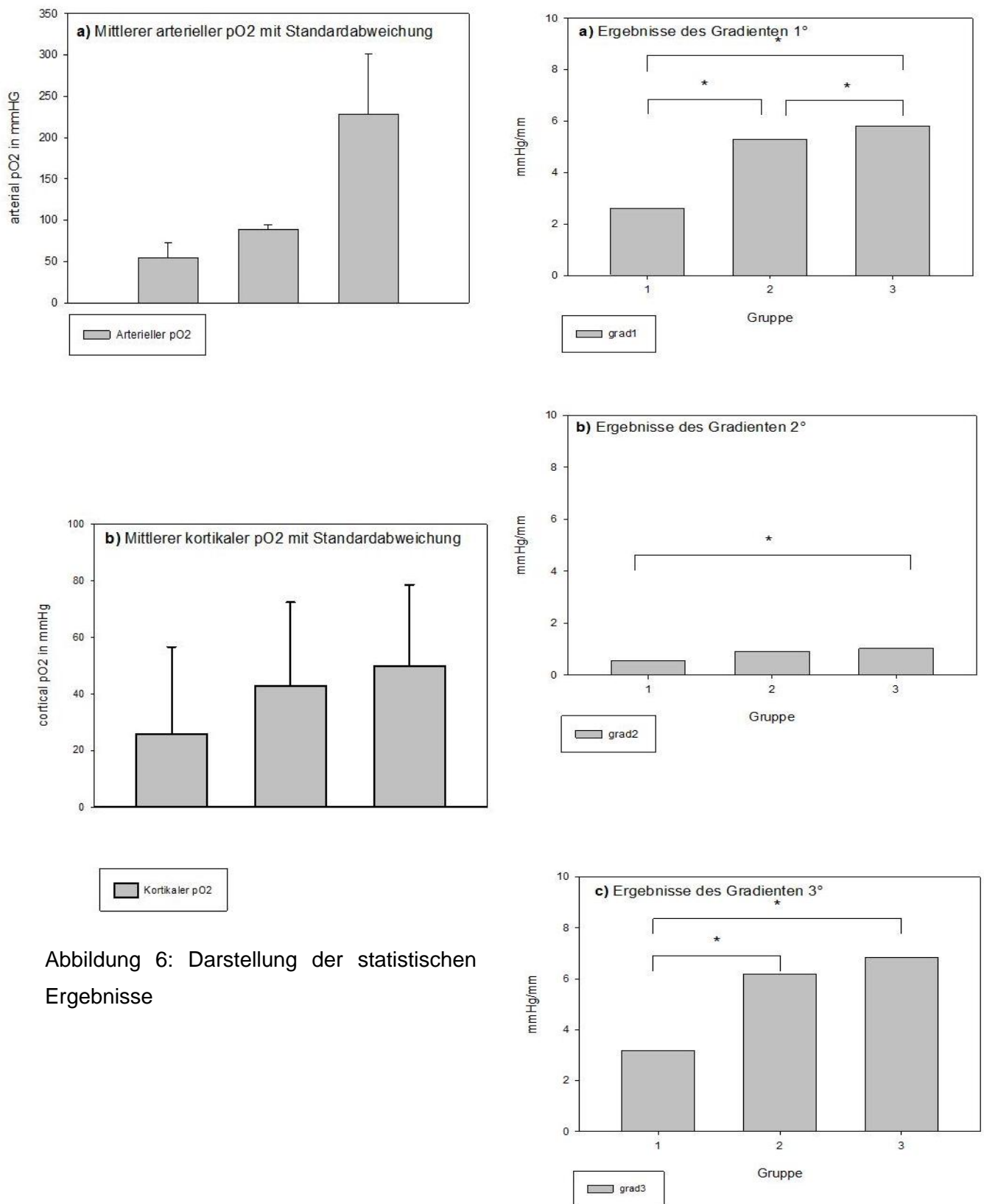


Abbildung 6: Darstellung der statistischen Ergebnisse

Zusammenfassung

Normalerweise zeigen die Messungen des zerebralen Sauerstoffpartialdruckes mit Messsonden eine sehr unterschiedliche Verteilung, abhängig von der Lage der jeweiligen Sonde. Wenn nun die ausgewählte Region mehr aus neuronalen Zellkörpern als aus Nervenfasern besteht, dann ist der entsprechende pO_2 höher, was den hohen Sauerstoffbedarf der Zellen widerspiegelt. Wenn die betrachtete Region aber mehr aus den Zellfortsätzen besteht, so ist der Gewebesauerstoffpartialdruck niedriger. Da diese neue Technik aber in einer Region misst, die mehr aus den Zellkörpern besteht, ist der Sauerstoffpartialdruck gegenüber einer Messung mit einer parenchymalen Sonde höher. Zusätzlich kann man bei den Messungen mit Sonden den genauen Abstand zum jeweiligen Gefäß nicht abschätzen, wohingegen der Verlauf des Gefäßes mit der neuen Methode visuell nachverfolgt und mit dem daraufhin angefertigten pO_2 Bild verglichen werden kann. Deshalb stehen die arteriellen Kortexgefäße im Mittelpunkt dieser Arbeit. Da die Sensorfolie im gesamten Gebiet misst, dem sie aufliegt, ist es möglich, mehrere Messungen parallel mit unterschiedlich gewählten ROIs vorzunehmen. Die Größe und Lage der ROIs wird einzig durch die Größe und Positionierung der Kraniotomie beeinflusst.

In mehreren anderen Arbeiten wurde gezeigt, dass der Sauerstoffpartialdruck in anästhesierten Versuchstieren niedriger liegt, verglichen mit Tieren, die bei vollem Bewusstsein sind. Außerdem ist dieser auch vom verwendeten Anästhetikum abhängig. So zeigten verschiedene Studien, dass das hier verwendete Isofluran den zerebralen Sauerstoffpartialdruck senkt. Jedoch zeigten zum Beispiel die Studien von Vovenko ähnliche Sauerstoffprofile, die mit wiederholten Messungen mit einer Clarke'schen Messsonde gewonnen wurden, wie die oben bereits erwähnten Ergebnisse.

Des Weiteren konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass Veränderungen im arteriellen pO_2 gravierende Veränderungen in der Sauerstoffversorgung des Gehirns zur Folge hatten. So war es möglich, diese Veränderungen im Sauerstoffpartialdruck sofort nach der Veränderung des arteriellen pO_2 zu detektieren. Das bedeutet nun für die Versorgung auf einer Intensivstation: wenn der arterielle pO_2 ansteigt, steigt auch der zerebrale pO_2 und umgekehrt. Jedoch hat man hier einen „Ceiling-Effekt“ gesehen; so steigt der zerebrale pO_2 bei sehr hohen arteriellen pO_2 nur noch geringer an, was teilweise die Ergebnisse im Vergleich der verschiedenen Gruppen erklärt. Dies betrifft vor allem die Gruppen 2 und 3. Da hier die verschiedenen Ergebnisse durch die vorher definierten Grenzen teils sehr nahe beieinander

Zusammenfassung

liegen, konnte man schon vorher erwarten, dass die statistischen Ergebnisse teilweise nicht signifikant sind. Durch den bereits erwähnten „Ceiling-Effekt“ lassen sich diese Ergebnisse erklären und gibt auch dadurch Rückschluss für die Praxis. So hat zum Beispiel die Steigerung der Sauerstoffzufuhr bei Störungen der Sauerstoffversorgung allein ab einem gewissen Zeitpunkt keinen größeren Effekt mehr, weil das Limit für die Bereitstellung von Sauerstoff im Gefäß fast erreicht ist. Die verschiedenen radialen Sauerstoffgradienten zeigen einen ähnlichen Verlauf bei Veränderungen des arteriellen pO_2 , d.h. mit steigendem arteriellem pO_2 steigt die Höhe der verschiedenen Gradienten. Dies betrifft vor allem die Gradienten der Gruppen 2 und 3, weil ihre Messwerte, wie oben bereits erwähnt, relativ nahe beieinander liegen. So lässt sich ableiten, dass der Anstieg des zerebralen pO_2 exponentiell ist, denn die Ergebnisse mit einem unphysiologischen Sauerstoffpartialdruck wurden außen vorgelassen.

Die größten Veränderungen lassen sich in der unmittelbaren Umgebung des Gefäßes erkennen, was vor allem im ersten Gradienten darstellbar ist, wobei die Sauerstoffdiffusion in der Gefäßwand auch einen signifikanten Einfluss hat. Die Lösung dieses komplexen Mechanismus und den tatsächlichen Einfluss auf die Diffusion durch das Gefäß waren schon des Öfteren Ziel vieler Studien. Jedoch konnte dieser bis jetzt nicht genau geklärt werden. Die Veränderungen in dem vom Gefäß weiter entfernten Gewebe lassen sich zwar immer noch in den verschiedenen Gradienten detektieren. Dennoch ist der Abfall der Gradienten nicht mehr so hoch wie es noch in unmittelbarer Nähe zum Gefäß der Fall ist. Diese Veränderungen reflektieren den Zusammenhang zwischen dem zerebralen pO_2 im Gewebe, das sich in naher Umgebung zum Gefäß befindet, was unter anderem auch kleinere Seitenäste und das Kapillargebiet selbst beinhaltet. Aus diesem Grund kann es dort möglicherweise eine hohe Sauerstoffversorgung und Bereitstellung bei jedoch normalem Verbrauch geben. Man nimmt an, dass durch die Autoregulationsmechanismen des Gehirns die Versorgung im Parenchym bei einem niedrigen arteriellen pO_2 stabil ist, aber der Sauerstoffpartialdruck insgesamt, und somit der erste Gradient abnehmen. Dagegen verhält sich der zweite Gradient relativ beständig, was diese These unterstützt. Daraus könnte man bei Störungen der Autoregulation schließen, dass es hier folglich zu ungewöhnlichen Messresultaten oder zu einem Abfall des zweiten Gradienten kommt.

Im Allgemeinen spiegelt der erste Gradient die Höhe der Sauerstoffversorgung wider. Hohe Abfälle des Sauerstoffpartialdruckes zeigen eine immer noch gute bis sehr gute Versorgung

Zusammenfassung

und einen relativ niedrigen Verbrauch an, andernfalls würde der Abfall des ersten Gradienten stärker abflachen. Deshalb wird angenommen, dass der erste Gradient die Sauerstoffversorgung in unmittelbarer Nähe der kortikalen Arteriolen widerspiegelt, was sowohl einen Teil direkt über der Oberfläche des Gefäßes sowie die nähere Umgebung um das Gefäß mit einbezieht. Dort liegen unter anderem Flüssigkeitsfilme und das Parenchym mit mikrovaskulären Strukturen. Folgende Abbildung soll dies weiter verdeutlichen. a) stellt die Sauerstoffdiffusion dar, b) stellt die Folie dar, c) steht für den Abstand zwischen Gehirnoberfläche und der Folie, d) stellt das untersuchte Gefäß dar und e) soll beispielhaft für das Kapillargebiet und die kleinen Seitenäste stehen.

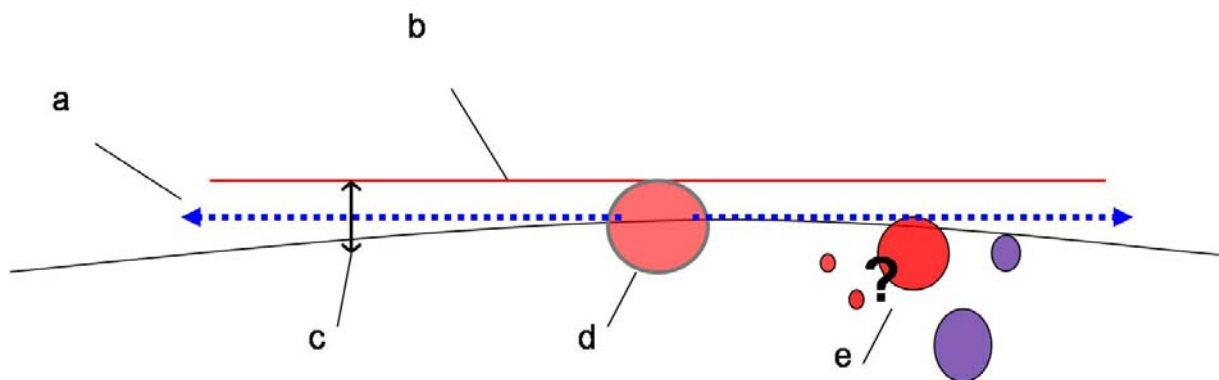


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Messmethode auf der Gehirnoberfläche mit möglichen Fehlerquellen

Wegen der bis dato eingeschränkten Auflösung konnte bei den verschiedenen Messungen eine Beteiligung der Kapillaren nicht ganz ausgeschlossen werden. Das bedeutet in diesem konkreten Fall, dass die Messergebnisse den äußeren Anteil der Gefäßwand, welche sich proportional zum intraarteriellen pO_2 verhält und diesen gleichzeitig widerspiegelt, und die Umgebung in der Nähe des Gefäßes wiedergibt. Des Weiteren finden schon vorher aktiver und passiver Sauerstofftransport sowie ein gewisser Verbrauch statt, bevor die Moleküle überhaupt die Sensorfolie erreichen können. Deshalb zeigen die Ergebnisse nur einen gewissen Teil des tatsächlich bereitgestellten pO_2 . Darüber hinaus reflektiert der erste Gra-

Zusammenfassung

dient die Sauerstoffversorgung in unmittelbarer Nähe des Gefäßes und erscheint somit als passive Diffusion in das Gewebe vergleichbar mit einem vereinfachten Krogh-Zylinder-Modell. Dass dies jedoch nicht den tatsächlichen Vorgängen entspricht, sollte klar sein. Wenn der erste und zweite Gradient addiert werden, erhält man somit einen Überblick der zerebralen Sauerstoffversorgung ausgehend von der Arteriole ins Parenchym. Dies könnte ein guter Parameter für die Schätzung eines effektiven Sauerstofftransportes ins Hirngewebe sein. Dies muss in weiteren Untersuchungen noch näher betrachtet werden. Außerdem erinnern die gefundenen zerebralen pO_2 -Profile eher an einen passiven Prozess, was jedoch zeigt, dass die zu Grunde liegenden Sauerstofftransportmechanismen viel komplexer und viel schwerer darzustellen sind, als es bis jetzt angenommen wurde und somit auch mit dieser neuen Technik noch nicht vollständig dargestellt werden können.

So könnten pathologische Prozesse, wie zum Beispiel ein Gehirnödem, die Sauerstoffversorgung und den Transport stark beeinflussen. Weiterhin wird angenommen, dass man diese Prozesse mit den oben vorgestellten Gradienten gut darstellen könnte. Zum Beispiel könnten bei Patienten, die eine Subarchnoidalblutung erlitten haben, die auftretenden Gefäßvasospasmen mit diesen Gradienten detektiert und dargestellt werden, und somit auch der eingeschränkte Sauerstofftransport durch die pathologisch veränderte Gefäßwand. Zusätzlich könnte man diese Ergebnisse auch parallel mit den gleichzeitig angefertigten Farbbildern vergleichen und später mit zunehmender Erfahrung Rückschlüsse auf die zu Grunde liegende Pathologie ziehen. Dies war jedoch nicht Gegenstand dieser Arbeit.

Es gibt jedoch auch gewisse Einschränkungen dieser neuen Technik, die noch zu erwähnen sind. Zum einen sind dies die schlechte Übertragbarkeit der gefundenen Ergebnisse von der Ratte auf den Menschen. Zum anderen sind die durch die mechanische Manipulation mögliche Induktion einer sich an der Gehirnoberfläche ausbreitenden „spreading depression“ und die Veränderungen des Sauerstoffverbrauches des Gewebes und der Durchblutung des Gehirns durch Veränderungen des FiN_2O zu nennen. Dies alles könnte zu Verzerrungen der Messergebnisse führen.

Deswegen sind sicher weitere experimentelle Studien notwendig. Es könnten so die neuropathologischen Veränderungen bei Patienten mit Verletzungen des Gehirns untersucht, dargestellt und dann in naher Zukunft adäquater behandelt werden. Des Weiteren könnte diese neu eingeführte Technik dabei helfen, die Sauerstoffversorgung und den -verbrauch im Ge-

„Radial oxygen gradients over rat cortex arterioles“ –

Zusammenfassung

hirn besser zu untersuchen. Die hier genutzte und evaluierte Technik könnte in der pathophysiologischen Forschung und in der Intensivmedizin hilfreich sein.

Lebenslauf

Geburtsdatum: 21.12.1983
Geburtsort: Lauf a.d. Pegnitz
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schule

09/90 – 07/94	Pestalozzi-Grundschule Sulzbach-Rosenberg
09/94 – 06/03	Herzog-Christian-August-Gymnasium Sulzbach-Rosenberg

Zivildienst

09/03 – 06/04	Grundwehersatzdienst, Krankenhaus St. Anna Sulzbach-Rosenberg
---------------	--

Studium

10/04 – 09/06	Universität Regensburg Vorklinik Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10/06 – 11/10	Klinikum der Universität Regensburg Klinischer Teil Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Beruf

11/10	Approbation als Arzt
Ab 01/11	Assistenzarzt für Orthopädie und Unfallchirurgie, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg

Danksagung

Am Ende möchte ich mich bedanken:

Bei meinen Eltern und Freunden für ihre Unterstützung,

Bei dem Team, das mir diese gesamte Arbeit ermöglicht hat,

Bei Prof. Dr. Woertgen und Dr. Warnat für ihre Geduld, Betreuung und Unterstützung,

Vielen Dank.