

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Abteilung und Poliklinik für Sportorthopädie
des Klinikums rechts der Isar

Experimentelle Untersuchungen zur Messung der Knochendurchblutung unter
Hypotension und lokaler Kühlung im Tiermodell

Arne Johannes Venjakob

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. St. W. Vogt
2. Univ.-Prof. Dr. A. Imhoff

Die Dissertation wurde am 17.12.2010 bei der Technischen Universität
München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 06.04.2011
angenommen.

Abkürzungsverzeichnis

BF	Blutfluss
CM	farbstoffhaltige (coloured) Mikrosphären
FM	fluoreszierende Mikrosphären
Hb	Hämoglobin
HCl	Salzsäure
Hct	Hämatokrit
HF	Herzfrequenz
HMV	Herzminutenvolumen
HZV	Herzzeitvolumen
KG	Körpergewicht
KOH	Kaliumhydroxid
MAD	mittlerer arterieller Blutdruck
MS	Mikrosphären
NaCl	Natriumchlorid
paO ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
pCO ₂	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
RBF	regionaler Blutfluss
RKBF	regionaler Knochenblutfluss
RM	radioaktiv markierte Mikrosphären
SEM	Standardfehler des Mittelwerts

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	5
1.1	BEDEUTUNG DER KNOCHEN- UND MUSKELDURCHBLUTUNG.....	5
1.2	METHODEN ZUR MESSUNG DER KNOCHENDURCHBLUTUNG.....	6
1.3	BLUTVERSORGUNG DER LANGEN RÖHRENKNOCHEN	10
1.4	AUFBAU UND BLUTVERSORGUNG DES SKELETTMUSKELS	13
1.5	KNOCHENDURCHBLUTUNG UND BLUTDRUCK.....	14
1.6	KNOCHEN- UND MUSKELDURCHBLUTUNG UNTER LOKALER KÜHLUNG	15
1.7	FRAGESTELLUNG.....	17
2	MATERIAL UND METHODE.....	19
2.1	VERSUCHSTIERE.....	19
2.2	ANÄSTHESIE.....	19
2.2.1	<i>Narkose</i>	19
2.2.2	<i>Überwachung</i>	20
2.3	CHIRURGISCHE PRÄPARATION	20
2.3.1	<i>Legen eines linksventrikulären Katheters zur Injektion der Sphären</i>	20
2.3.2	<i>Legen eines Katheters zur Entnahme der arteriellen Referenz und Überwachung des Blutdrucks</i>	22
2.3.3	<i>Blutgasanalyse</i>	22
2.4	MIKROSPHÄRENMETHODE	22
2.4.1	<i>Vorbereitung und Injektion der Mikrosphären</i>	22
2.4.2	<i>Injektion und Entnahme der arteriellen Referenz</i>	22
2.4.3	<i>Dissektion der Organe</i>	23
2.4.4	<i>Bestimmung der Fluoreszenzintensität in den Gewebeproben</i>	24
2.4.5	<i>Berechnung des Blutflusses und des Herzminutenvolumens (HMV)</i>	25
2.5	VERSUCHSREIHEN	26
2.5.1	<i>Hypotension</i>	26
2.5.2	<i>Lokale Kühlung</i>	26
2.6	STATISTIK	27
3	ERGEBNISSE	28
3.1	HYPOTENSION	28
3.1.1	<i>Entnahme von Blut zur Blutdruckeinstellung</i>	28
3.1.2	<i>Gewicht der Proben</i>	28
3.1.3	<i>Blutflussmessung</i>	28
3.1.3.1	<i>Hämodynamische Parameter</i>	28
3.1.3.2	<i>Nierendurchblutung</i>	29
3.1.3.3	<i>Blutfluss in langen Röhrenknochen</i>	30

3.1.3.4	Vaskulärer Widerstand.....	32
3.1.3.5	Regionaler Knochenblutfluss (RKBF).....	33
3.1.3.5.1	RKBF des Humerus.....	33
3.1.3.5.2	RKBF des Femurs.....	35
3.1.3.5.3	RKBF der Tibia.....	39
3.2	LOKALE KÜHLUNG.....	42
3.2.1	<i>Gewicht der Proben</i>	42
3.2.2	<i>Blutflussmessung</i>	43
3.2.2.1	Hämodynamische Parameter.....	43
3.2.2.2	Blutflusswerte in Nieren.....	43
3.2.2.3	Blutfluss in Humerus, Femur, Tibia.....	44
3.2.2.4	Vaskulärer Widerstand.....	47
3.2.2.5	Regionaler Knochenblutfluss.....	48
3.2.2.5.1	RKBF des Humerus.....	48
3.2.2.5.2	RKBF des Femurs.....	50
3.2.2.5.3	RKBF der Tibia.....	55
3.2.2.6	Muskeldurchblutung unter lokaler Kühlung.....	60
3.2.2.6.1	M. tibialis anterior.....	60
3.2.2.6.2	M. gastrocnemius.....	61
3.2.2.6.3	Vaskulärer Widerstand.....	62
4	DISKUSSION.....	63
4.1	DIE MIKROSPHÄRENMETHODEN– MÖGLICHE FEHLERQUELLEN.....	64
4.2	BLUTFLUSSMESSUNG.....	68
4.2.1	<i>Hypotension</i>	68
4.2.1.1	Knochenblutfluss unter Hypotension.....	68
4.2.2	<i>Lokale Kühlung</i>	70
4.2.2.1	Knochendurchblutung unter lokaler Kühlung.....	70
4.2.2.2	Muskeldurchblutung unter lokaler Kühlung.....	72
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	75
6	LITERATURVERZEICHNIS.....	77
7	TABELLEN.....	90

1 EINLEITUNG

1.1 Bedeutung der Knochen- und Muskeldurchblutung

Knochen dienen als Sinnbild für Tod und Vergänglichkeit. Das liegt vor allem daran, dass Knochen mit totem Gewebe assoziiert werden. Bis in das 17. Jahrhundert hielt sich die Annahme, dass Knochen auf Grund ihrer ungewöhnlich harten Konsistenz nicht durchblutet seien. 1691 beschrieb CLAPTON HAVERS in seinem Buch „Osteologia nova, or, Some new observations of the bones“, dass Blutgefäße in den Knochen eintreten und sich dann im Knochenmark aufzweigen (Havers 1691). Durch permanente Auf- und Abbauprozesse passt sich der Knochen im Laufe des Lebens der jeweiligen mechanischen Situation an. Die Voraussetzung für den ständigen Umbau ist die Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen über Blutgefäße. Es ist weiterhin offensichtlich, dass die Heilung von Knochenbrüchen und verschiedene Erkrankungen des Skelettsystems (z.B. Osteoporose, Algodystrophie, Knochennekrose, Arthrose) mit einer Änderung der Mikrozirkulation einhergehen. Die Bedeutung der Knochendurchblutung erkennt man daran, dass sie bis zu 10% des Herzzeitvolumens (HZV) betragen kann (Shim, Copp et al. 1967; Aalto and Slatis 1984).

Die Durchblutung eines Röhrenknochens beträgt etwa 5-20 ml/min/100g und ist vor allem vom systemischen Perfusionsdruck abhängig (Yu, Shim et al. 1972; Gross, Heistad et al. 1979; Syftestad and Boelkins 1980). Zusätzlich ist eine lokale Regulation der Durchblutung über die Innervation der glatten Muskelzellen in den Gefäßwänden der Aa. nutriciae und deren Äste möglich (Duncan and Shim 1977; Thurston 1982). Die Höhe der Knochendurchblutung ist von neuralen, hormonellen und metabolischen Faktoren abhängig (Shim, Copp et al. 1966; Gross, Heistad et al. 1979; Davis, Jones et al. 1987; Ferrell, Khoshbaten et al. 1990).

Für die Haut ist bekannt, dass es nach Kälteapplikation zu einem Abfall der Durchblutung kommt (Hafner, Brauer et al. 2007; Petrofsky, Lohman et al. 2007; Breger Stanton, Lazaro et al. 2009). VAN DEN BRANDE et al. konnten zeigen, dass es nach Kälteexposition zu einer Vasokonstriktion und folglich zu einem Abfall der Hautdurchblutung kommt (Van den Brande, De Coninck et al. 1997). In der Klinik werden nach Operationen an Gelenken und Knochen routinemäßig Eiswendungen durchgeführt. Es ist nahe liegend, dass sich dies auch auf die Durchblutung des Knochens und der Muskulatur auswirkt. Daher war es ein Ziel

der vorliegenden Arbeit den Einfluss einer standardisierten, schrittweisen Abkühlung auf die Knochen- und Muskeldurchblutung zu untersuchen.

Weiterhin wurde in früheren Arbeiten (Anetzberger, Thein et al. 2003b) vermutet, dass Knochengewebe – ähnlich wie die Niere – über einen Autoregulationsmechanismus der Durchblutung verfügt. Bei leichten Blutdruckschwankungen soll die Durchblutung des Knochens konstant bleiben, bei forcierter Hypotension jedoch hauptsächlich vom Perfusionsdruck abhängig sein. Daher war es ein weiteres Ziel der Arbeit zu überprüfen, ob der Knochenblutfluss einer Autoregulation unterliegt. Zur Beantwortung dieser Fragen wurde die Mikrosphärenmethode (MS Methode) eingesetzt, die seit der Validierung (Anetzberger, Thein et al. 2003a; Anetzberger, Thein et al. 2003b; Anetzberger, Thein et al. 2004b) am Knochen durch ANETZBERGER et al. als derzeit beste Methode zur Messung der Knochendurchblutung gilt.

1.2 Methoden zur Messung der Knochendurchblutung

Die Messung der regionalen Knochendurchblutung (RKBF) ist aufgrund der kompakten Knochensubstanz sowie der komplexen Gefäßarchitektur – verglichen mit der Messung der Durchblutung anderer Gewebe – mit Schwierigkeiten verbunden.

In experimentellen Studien wurden verschiedene Methoden zur Messung der Knochendurchblutung eingesetzt. Grundsätzlich unterscheidet man zwischen direkten und indirekten Methoden.

Als direkte Methode zur Messung der Knochendurchblutung wurde 1962 von CUMMING „Venous Effluent Collection“ etabliert (Cumming 1962). Dabei wird die A. nutriens konstant perfundiert und das Eluat aus den venösen Gefäßen des Knochens oder der V. femoralis gesammelt. Auf Grund der bekannten Perfusionsrate und des venösen Abflusses kann der Blutfluss im Knochen berechnet werden. Der große Nachteil dieser Methode ist die erhebliche Traumatisierung des Gewebes und die damit verbundene Störung der Mikrozirkulation. Darüber hinaus können regionale Unterschiede der Durchblutung innerhalb eines Röhrenknochens nicht erfasst werden. Eine weitere Fehlerquelle liegt darin, dass die alleinige Perfusion über die A. nutriens die Gefäßversorgung eines langen Röhrenknochens nicht widerspiegelt. Die epiphysären und metaphysären Bereiche des Röhrenknochens werden nicht über die A. nutriens, sondern über epi- und methaphysäre Arterien (siehe Abb. 1) versorgt.

Eine weitere direkte Methode zur Messung der Knochendurchblutung ist die Intravitalmikroskopie (McCuskey, McClugage et al. 1971; Winet 1989; Winet 1996). Dieses in vivo Verfahren basiert auf dem Prinzip, dass Blutzellen mit fluoreszierenden Farbstoffen markiert und somit unter dem Mikroskop sichtbar gemacht werden können. Es können dann verschiedene mikrozirkulatorisch relevante Parameter, wie zum Beispiel die Fließgeschwindigkeit oder Zell-Endothelzellinteraktion beobachtet und ausgewertet werden. Um die Methode am Knochen anzuwenden, ist die Implantation einer speziellen Kammer (Bone chamber implant) notwendig (McCuskey, McClugage et al. 1971). Dies führt jedoch zu einer Verletzung des umgebenen Knochengewebes mit der Gefahr, dass zunächst nur entzündliche Prozesse im Rahmen der Wundheilung beobachtet werden können. Ein weiterer Nachteil ist das kleine Beobachtungsfeld, wodurch keine Fragestellungen bezüglich der Durchblutung des gesamten Knochens untersucht werden können.

Die Laser Doppler Flowmetrie (Swiontkowski, Tepic et al. 1986; Swiontkowski, Schlehr et al. 1988; Notzli, Swiontkowski et al. 1989; Lausten, Kiaer et al. 1993; Hupel, Schemitsch et al. 1999; Shymkiw, Zernicke et al. 2001; Amarasekera, Costa et al. 2008; Hackenbroich, Wagner et al. 2008; Melnyk, Henke et al. 2008) stellt ebenfalls eine direkte Methode zur Messung der Knochendurchblutung dar. Dabei wird die Geschwindigkeit von Blutzellen kontinuierlich über einen Laser gemessen. Die Lasersonde muss über einen Bohrkanal in das Knochengewebe eingeführt werden. Mittels Laser Doppler Flowmetrie werden lediglich semiquantitative Daten erhoben, da nur Blutflussänderungen erfasst werden können. Zusätzlich kommt es wieder zu einer Traumatisierung des Knochengewebes, da für die Einbringung der Messsonde die Aufbohrung des Knochengewebes notwendig ist.

In zahlreichen Studien zur Messung der Knochendurchblutung wurden die sog. Washout Techniken eingesetzt. Dabei werden radioaktive Tracer (z.B. Iodantipyrin) in die A. nutriens injiziert. Mittels Detektor wird die Radioaktivität im Knochen gemessen. Die für die Injektion notwendige Präparation der A. nutriens, führt laut COFIELD et al. (Cofield, Bassingthwaighe et al. 1975) schon zu einer Abnahme der Knochendurchblutung um ein Drittel. In Abhängigkeit der eingesetzten Isotope (Copp and Shim 1965; Shim, Copp et al. 1967; Kane 1968; Brookes and Revell 1998) und der Flussrate (Schoutens, Bergmann et al. 1979; Tohill, Hooper et al. 1985) werden nur 50 - 75 % der Isotope im Knochen festgehalten. Die hohe Shuntrate führt zu einem großen Messfehler, weshalb sich diese Methode nicht etabliert hat.

Bei der Hydrogenwashout Methode (Whiteside, Lesker et al. 1977; Kiaer, Dahl et al. 1993) wird die Konzentration gasförmigen Wasserstoffs in einer Arterie und im Knochen mittels

Platinelektrode gemessen und daraus der Blutfluss berechnet. Dafür muss die Platinmeselektrode in den Knochen implantiert werden, wodurch es zu einer Manipulation der Mikrozirkulation kommt. Durch die Konzentrationsänderung des gasförmigen Wasserstoffs in unterschiedlichen Knochenregionen (Whiteside, Lesker et al. 1977) kann es zu Messfehlern kommen. Darüber hinaus kann eine Rezirkulation markierter Moleküle (Aukland, Bower et al. 1964) nicht ausgeschlossen werden.

Auf Grund der zum Teil erheblichen Traumatisierung des Knochengewebes bei direkten Messmethoden empfehlen viele Autoren indirekte Methoden zur Messung der Knochendurchblutung.

Die Mikrosphärenmethode ist die am häufigsten eingesetzte indirekte Methode zur Messung der Knochendurchblutung. Da dieses Verfahren auch in unseren Versuchen eingesetzt wurde, wird im Folgenden auf das Prinzip und Besonderheiten der Methode eingegangen.

1967 wurde von RUDOLF und HEYMANN die Messung der regionalen Organdurchblutung erstmalig mit Hilfe von radioaktiv markierten Mikrosphären (RM) durchgeführt (Rudolph and Heymann 1967). 15 µm große sphärische Mikropartikel werden in den linken Ventrikel des Herzens injiziert. Die dort herrschende turbulente Strömung führt zu einer homogenen Verteilung der Sphären im Blut. Mit dem Blutstrom gelangen die Sphären in die Peripherie und bleiben, da sie einen größeren Durchmesser haben, in den Gefäßen der Endstrombahn hängen. Aufgrund der homogenen Verteilung der Mikrosphären im Blut ist die Anzahl, die im Organ festgehalten wird, direkt proportional zum Blutfluss im Organ. Die Sphären sind mit radioaktiven Isotopen markiert. Daher kann deren Anzahl in den Gewebeproben nach Versuchsende indirekt über die Messung der Radioaktivität bestimmt werden.

Ein Jahr nach Einführung der radioaktiven Mikrosphärenmethode wurde diese durch die Referenzblutentnahme (Domenech, Hoffman et al. 1968; Kaihara, Van Heerden et al. 1968; Makowski, Meschia et al. 1968; Neutze, Wyler et al. 1968) weiterentwickelt. Während der Injektion der Mikrosphären wird mittels einer Präzisionspumpe eine Referenzblutprobe aus einer Arterie entnommen. Man erhält dadurch ein „künstliches Organ“ und kann über die Abzugsgeschwindigkeit der Pumpe den tatsächlichen Blutfluss berechnen. Nach Versuchsende wird die Anzahl der Sphären in den Gewebeproben und in der Referenzblutprobe indirekt über die Messung der Radioaktivität bestimmt.

Der Blutfluss im Organ kann wie folgt berechnet werden:

$$\text{Blutfluss}_{\text{Organ}} = (\text{Abzugsgeschwindigkeit}_{\text{Pumpe}} \times \text{Anzahl MS}_{\text{Organ}}) / \text{Anzahl MS}_{\text{Referenz}}$$

Die Blutflussmessung mittels radioaktiver Mikrosphären wurde in den folgenden Jahren von vielen Autoren durch experimentelle Studien auf ihre Zuverlässigkeit überprüft und für verschiedene Organe validiert (Makowski, Meschia et al. 1968; Buckberg, Luck et al. 1971; Archie, Fixler et al. 1973; Warren and Ledingham 1974; Dole, Jackson et al. 1982). Der Einsatz von radioaktiven Mikrosphären ist mit einigen Nachteilen verbunden. Neben der gesundheitlichen Gefährdung sind es vor allem die hohen Kosten, die im Umgang mit RM durch spezielle Entsorgung von Gewebeproben und Einhaltung der Strahlenschutzverordnung entstehen. Auch sind radioaktive MS nur begrenzt in Langzeitversuchen einsetzbar. Dies liegt an der geringen Halbwertszeit der Isotope und der Tatsache, dass sich Isotope von den Sphären lösen und somit zu falschen Messergebnissen führen (Jong De, Van den Bos et al. 1977; Van Oosterhout, Prinzen et al. 1998). Wegen dieser Nachteile wurde nach alternativen Markierungen gesucht. 1988 wurden von HALE (Hale, Alker et al. 1988) farbstoffhaltige (coloured) Mikrosphären eingeführt. Die farbstoffhaltigen MS wurden von KOWALLIK und WALTER (Kowallik, Schulz et al. 1991; Walter, Bauer et al. 1997) auf ihre Messgenauigkeit hin überprüft. Ein Nachteil dieser Methode ergibt sich durch die überlappenden Farbspektren, wodurch nur wenige verschiedene Farben für wiederholte Messungen zur Verfügung stehen (Prinzen and Glenny 1994). Weitere Nachteile sind der hohe Zeitaufwand der Probenverarbeitung und die erhebliche Toxizität des Lösungsmittels, das für das Herauslösen der Farbstoffe aus den Kunststoffpartikeln notwendig ist.

1993 führten GLENNY et al. (Glenny, Bernard et al. 1993) fluoreszierende Mikrosphären (FM) ein. Seither wurde die Überlegenheit der fluoreszierenden MS gegenüber radioaktiven und farbigen MS in zahlreichen Arbeiten bestätigt. (Glenny, Bernard et al. 1993; Prinzen and Glenny 1994; Tan, Riggs et al. 1997; Hubler, Souders et al. 1999; Schimmel, Frazer et al. 2000; Schimmel, Frazer et al. 2001; Thein, Raab et al. 2002; Anetzberger, Thein et al. 2003b; Anetzberger, Thein et al. 2003c).

Die bei FM eingesetzten Farbstoffe weisen jeweils charakteristische Exzitations- und Emissionsmaxima auf, wodurch sie im Fluoreszenzspektrophotometer eindeutig identifiziert werden können. Durch die exakte Trennung der Farben wird ein methodischer Fehler, bedingt durch die Überlappung von Spektren wie das bei CM und RM der Fall ist, vermieden. Die Genauigkeit und Zuverlässigkeit der FM- Methode wurde durch die Weiterentwicklung im Institut für Chirurgische Forschung (ICF) der LMU München entscheidend verbessert.

1999 entwickelten RAAB et al. (Raab, Thein et al. 1999) ein spezielles Filtersystem (Sample Processing Units = SPU), was die standardisierte, vollständige Rückgewinnung der MS aus Blut- und Gewebeproben garantiert. Die Entwicklung eines Robotersystems zur Automatisierung der Probenverarbeitung und –auswertung reduziert deutlich den ursprünglich hohen Zeitaufwand und die möglichen Fehler, die durch die manuelle Digestion der Proben und Messung der Fluoreszenz entstehen (Raab, Thein et al. 1999).

Die heutzutage überwiegend verwendeten FM zeichnen sich gegenüber den RM und CM durch ihre einfachere Lagerung, Handhabung und Überlegenheit im Langzeitversuch (Van Oosterhout, Prinzen et al. 1998; Anetzberger, Thein et al. 2004a) aus. 2003 wurde die Mikrosphärenmethode auch am Knochen validiert. Der Messfehler für die Messung des Knochenblutflusses beträgt für die Verwendung von FM $7,5 \pm 1,5\%$ und ist somit deutlich niedriger als der für RM mit $9,0 \pm 3,1\%$ (Anetzberger, Thein et al. 2003a; Anetzberger, Thein et al. 2003b).

Der große Vorteil der MS-Methode gegenüber direkten Messmethoden besteht darin, dass eine wiederholte Messung der Durchblutung ohne chirurgische Manipulation am Knochengewebe selbst möglich ist. Weitere entscheidende Vorteile gegenüber allen anderen Methoden sind:

- gleichzeitige Messung des HMV
- gleichzeitige Messung der Durchblutung verschiedener Organe
- gleichzeitige Messung der Durchblutung verschiedener Regionen innerhalb eines Röhrenknochens

1.3 Blutversorgung der langen Röhrenknochen

Bereits 1691 beschrieb HAVERS in seinem Buch „Osteologia nova, or, Some new observations of the bone“, dass Blutgefäße in den Knochen eintreten und sich im Knochenmark aufzweigen (Havers 1691). Er vermutete im Knochen ein Kanalsystem, worüber Nährstoffe im Knochen verteilt werden. 1754 beschrieb ALBINUS in der Mitte einer funktionellen Grundeinheit (Osteon) einen zentralen Kanal (Albinus 1754). Diese parallel zur Knochenachse verlaufenden Blutgefäßkanäle werden als Havers'sche Kanäle bezeichnet. Im Innern dieser Kanäle befinden sich kleine Blutgefäße, die über kleine Kanälchen (Canaliculi) Osteozyten mit Nährstoffen versorgen. Zwei benachbarte Havers'sche Kanäle werden durch einen senkrecht zur Knochenoberfläche verlaufenden Kanal verbunden. Dieser wird als Volkmann'scher Kanal bezeichnet (Volkmann 1826).

Eine weitergehende systematische Beschreibung der Gefäßarchitektur des Knochens blieb lange aus. Erst die Entwicklung neuer Techniken, wie z.B. Spalteholz Technik (Spalteholz 1911) und Mikroangiographie (Tucker 1949; Kelly, Janes et al. 1959), ermöglichten die Darstellung der Blutgefäße im Knochen.

Die Blutversorgung langer Röhrenknochen wird durch mehrere Gefäßsysteme gewährleistet. Etwa 50% der Knochendurchblutung langer Röhrenknochen erfolgt über Aa. nutrientes (Trueta 1963). Diese oft paarig angelegten Gefäße gelangen über die Foramina nutrientes im Bereich der Diaphyse in den Knochen (Brookes and Revell 1998) und verzweigen sich dort. Im Markraum bilden diese Gefäße ein feines Kapillarnetz. Im Gegensatz dazu werden die Epi- und Metaphyse über kleine Arterien versorgt, die über Kanäle in den Knochen gelangen (Rogers and Gladstone 1950; Trueta and Harrison 1953; Albrektsson 1985). Diese Gefäße versorgen die subchondrale Knochenplatte, subartikuläre Trabekel und die Spongiosa der Metaphyse (Trueta and Harrison 1953; Trueta 1963) und tragen ca. 40% zur Knochendurchblutung bei. Während des Wachstums trennt die Epiphysenfuge die Epiphyse von der Metaphyse und es besteht keine Verbindung zwischen beiden Kapillarsystemen. Nach Abschluss des Wachstums bilden sich zwischen beiden Gefäßnetzen umfangreiche Gefäßanastomosen aus.

Eine weitere Komponente der Blutversorgung langer Röhrenknochen bilden periostale Gefäße. Sie versorgen hauptsächlich die Kortikalis und anastomosieren mit Gefäßen des Knochenmarks (Trueta 1963; De Bruyn, Breen et al. 1970). Innerhalb des Knochengewebes verlaufen die Gefäße in Havers'schen- und Volkmann'schen Kanälen (Frick, Leonhardt et al. 1992).

Venöses Blut der Epi- und Metaphyse fließt regional über epi- und metaphysäre Venen ab (Brookes and Revell 1998). Das venöse Gefäßsystem des Markraums ähnelt dem der Leber. Im Markraum des Knochens existiert ein aus Sinusoiden bestehendes Kapillarsystem. Diese Sinusoide münden in eine sog. Sammelvene (zentraler venöser Kanal). Die Sammelvene führt in eine V. emissaria, die mit der A. nutriens im Bereich der Diaphyse durch die Kortikalis tritt (De Bruyn, Breen et al. 1970). Das venöse Blut der Epi- und Metaphyse wird über epi- und metaphysäre Venen drainiert (Brookes and Revell 1998). Der periostale Venenkomplex kommuniziert sowohl mit der Sammelvene als auch mit intramuskulären und interfazikulären Venen.

Die nachfolgende Abbildung 1 veranschaulicht schematisch die Blutversorgung eines Röhrenknochens.

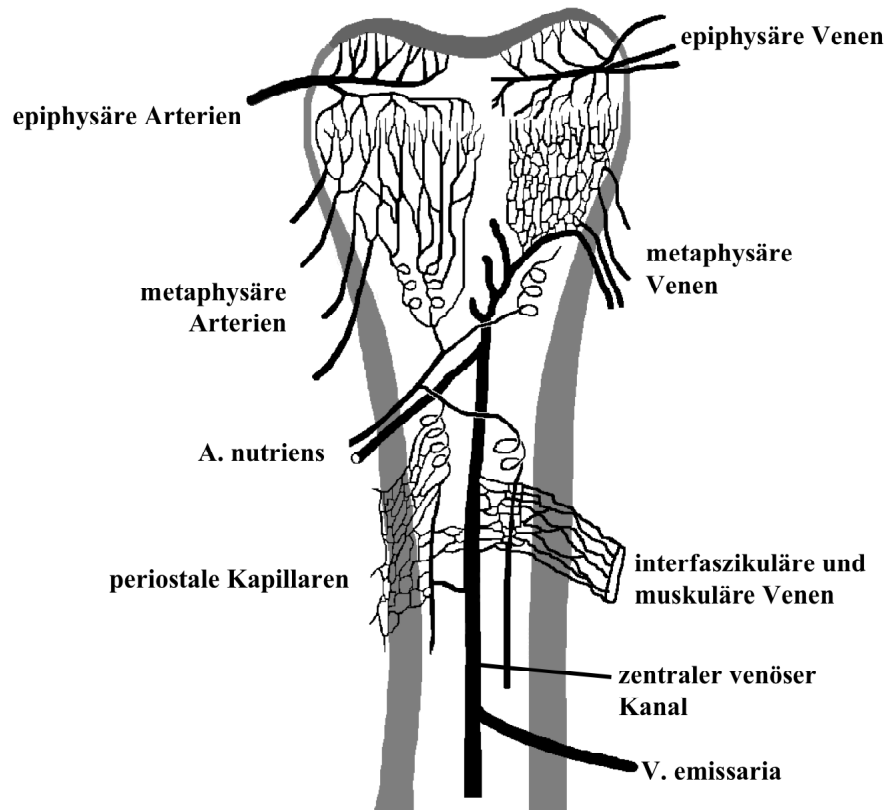


Abbildung 1: Gefäßsystem eines Röhrenknochens, modifiziert nach BROOKES (Brookes and Revell 1998).

1.4 Aufbau und Blutversorgung des Skelettmuskels

Skelettmuskeln sind die willkürlich steuerbaren Anteile der Muskulatur eines Organismus. Sie sind über Sehnen mit dem Knochen verbunden und überspannen mindestens ein Gelenk. Das feine Zusammenspiel von Kontraktion und Relaxation verschiedener Muskeln stabilisiert oder bewegt die Gelenke. Durch das Zusammenspiel aller Muskeln ist ein Organismus in der Lage sich fortzubewegen.

Die quergestreifte Skelettmuskulatur macht den Hauptanteil des Muskelgewebes aus. Die „quergestreifte Muskelfaser“ beinhaltet mehrere Zellkerne und hat eine Länge von mehreren Zentimetern. Die Querstreifung beruht auf der parallelen Anordnung der kontraktilen Elemente. Zwischen den einzelnen Muskelfasern befindet sich lockeres Bindegewebe (Endomysium), welches das Verschieben der Schichten während der Muskelkontraktion ermöglicht. Das Endomysium besteht aus Kollagenfasern Typ III und Typ I sowie zahlreichen geschlängelten Kapillaren. Viele Muskelfasern bilden zusammen ein Primärbündel von ca. 1 mm Durchmesser. Das Primärbündel ist umgeben vom Perimysium internum und besteht hauptsächlich aus Kollagen Typ III, in geringerem Ausmaß aus Kollagen Typ I. Mehrere Primärbündel werden von Perimysium externum umschlossen und bilden das sog. Sekundärbündel. Ein Sekundärbündel ist die mit bloßem Auge sichtbare Faserung des Muskels. Die in die verschiedenen Hüllen eingelagerten Kollagenfasern gewährleisten die Reißfestigkeit der Muskulatur. Das sog. Epimysium, eine lockere bindegewebige Verschiebeschicht, umhüllt den Muskel. Die äußerste Hülle bildet eine straffe Muskelfaszie. Zugfeste Kollagenfasern, ausgehend vom Ursprung eines Muskels, bilden Sehnenfasern, mit denen der Muskel am Knochen verbunden ist.

Die Ein- und Austrittsstelle der Arterien und Venen liegt meist im mittleren Abschnitt des Muskels, dem sog. Hilum. Die Blutgefäße verzweigen sich innerhalb des Perimysiums und dringen mit ihrem dichten Kapillarnetz in die Sekundär- und Primärbündel ein. Die Kapillaren sind überwiegend in Längsrichtung der Muskelfasern orientiert. In den meisten Muskeln beträgt die Kapillardichte 1,5 - 2 Kapillaren pro quer geschnittene Muskelfaser. Bei sportlichem Training nimmt die Kapillardichte bis auf das 1,7-fache zu.

1.5 Knochendurchblutung und Blutdruck

Die Organdurchblutung hängt im Wesentlichen vom Perfusionsdruck ab. Veränderungen der hämodynamischen Situation, wie sie z.B. im hypovolämischen Schock auftreten, müssen daher auch eine Veränderung der Knochendurchblutung zur Folge haben. Bereits 1968 untersuchten RUTHERFORD et al. (Rutherford, Kaihara et al. 1968) an Hunden den Blutfluss in verschiedenen Organen während eines hypovolämischen Schocks mittels radioaktiver Mikrosphären. Sie fanden unter akutem Volumenmangel im Vergleich zur Kontrollgruppe einen signifikanten Abfall der Durchblutung der unteren Extremität. Auch die Arbeitsgruppe um YU (Yu, Shim et al. 1972) erforschte systematisch an Hunden die Auswirkungen des hämorrhagischen Schocks auf die Knochendurchblutung. Sie konnten mittels Venous Effluent Collection zeigen, dass die Knochendurchblutung während des Schocks stark absinkt. Bei Blutverlust von einem Drittel fiel der MAD auf etwas mehr als die Hälfte des Ausgangswertes und der Knochenblutfluss sogar auf ein Viertel des Ausgangswertes.

SYFTESTAD et al. (Syftestad and Boelkins 1980) maßen mittels MS- Methode die Durchblutung des Kaninchenfemurs nach Entnahme von 20 ml Blut pro kg Körpergewicht. Im Vergleich zu 15 Minuten nach Blutentnahme kam es 16 Stunden nach Blutentnahme zu einem Anstieg der Knochenmarksdurchblutung wohingegen der Blutfluss in den anderen Regionen gleich blieb.

ANETZBERGER et al. (Anetzberger, Thein et al. 2003b) prüften mittels simultaner Injektion von FM und RM die Zuverlässigkeit beider Mikrosphärenspezies unter veränderten hämodynamischen Bedingungen. Der Knochenblutfluss der Versuchstiere wurde bei einem MAD von 90, 70 und 50 mm Hg gemessen. Während leichter Hypotension (MAD 70 mm Hg) blieb die Knochendurchblutung im Vergleich zum Ausgangswert gleich. Bei Reduktion des MAD auf 50 mm Hg kam es zu einem signifikanten Abfall der Knochendurchblutung. Die Autoren vermuteten, dass Knochen die Fähigkeit haben, den Blutdruck über einen gewissen Blutdruckbereich konstant zu halten. Diese Fähigkeit wäre mit dem Autoregulationsmechanismus der Nierendurchblutung vergleichbar. Autoregulation bezeichnet die Fähigkeit von Organen die Durchblutung an den Sauerstoffbedarf des Gewebes anzupassen (Guyton, Carrier et al. 1964).

Die Niere verfügt unter „steady state“ Bedingungen über einen hoch effizienten Autoregulationsmechanismus (Navar 1978). Schwankungen des systolischen Blutdrucks zwischen 180 und 80 mm Hg bleiben ohne Auswirkungen auf die glomeruläre Filtrationsrate

der Niere. Die Autoregulation der Nierendurchblutung wird durch einen schnellen myogenen und einen langsameren tubuloglomerulären Rückkopplungsmechanismus im Bereich der präglomerulären Nierenstrombahn gewährleistet (Cupples and Braam 2007). Bei dem schnellen Mechanismus reagieren die Nierengefäße bei Zunahme des intravasalen Drucks direkt über eine Aktivierung von Kationenkanälen mit einer Vasokonstriktion. Auf diese Weise wird der Widerstand dem jeweiligen Perfusionsdruck angepasst und eine autoregulatorische Wirkung erzielt.

Bei dem langsameren tubuloglomerulären Rückkopplungsmechanismus gelangt bei einer Zunahme der glomerulären Filtrationsrate mehr Kochsalz an die Macula densa. Über die Bildung von Adenosin wird das zugehörige Gefäß verengt und die glomeruläre Filtration gedrosselt. Diese tubuloglomeruläre Rückkopplung gewährleistet neben der Autoregulation der Nierendurchblutung eine Anpassung der Filtrationsrate an die tubuläre Transportkapazität.

1.6 Knochen- und Muskeldurchblutung unter lokaler Kühlung

Der Zusammenhang zwischen Organdurchblutung und Umgebungstemperatur ist nur für wenige Organe bekannt. An der Haut kommt es – sowohl bei lokaler, als auch bei systemischer Kühlung – zu einem Anstieg des vaskulären Widerstands und somit zu einem Abfall der Durchblutung (Hodges, Kosiba et al. 2007; Davis, Shibasaki et al. 2008). Auch andere Autoren beschreiben unter lokaler Kühlung eine Vasokonstriktion der Gefäße. Durch kälteempfindliche afferente Nervenendigungen kommt es über die Aktivierung sympathischer Nerven zu einer Freisetzung von Noradrenalin (Johnson, Yen et al. 2005) und somit zur Vasokonstriktion. Darüber hinaus gibt es Hinweise, dass unter Kühlung unbekannte, nicht neurale Mechanismen zu einer verzögerten Vasokonstriktion beitragen (Freedman, Sabharwal et al. 1992; Johnson, Yen et al. 2005; Kellogg 2006). Nach dieser primären Vasokonstriktion gibt es in der Literatur Hinweise auf eine sekundär durch Kälte induzierte Vasodilatation der Gefäße. Dies könnte eine Schutzreaktion darstellen, um eine Ischämie mit nachfolgender Gewebnekrose zu verhindern. BERGERSEN et al. fanden nach 30-45 minütiger Kühlung des 3. Fingers keinen Unterschied in der Höhe des Blutflusses im Vergleich zur Kontrollseite. Sie postulierten als Ursache eine Relaxation von glatten Muskelzellen arterio-venöser Anastomosen (Bergersen, Hisdal et al. 1999).

Grundsätzlich muss zwischen systemischer Kühlung (Hypothermie) und lokaler Kühlung unterschieden werden. Die meisten Untersuchungen befassen sich mit den Auswirkungen der Hypothermie auf den Organismus, während der Effekt lokaler Kühlung auf Muskel- und Knochenstoffwechsel unzureichend untersucht ist.

Eine systemische Kältetherapie (Hypothermie) verlangsamt den Stoffwechsel, senkt den Energieverbrauch und verringert das Ausmaß degenerativer Prozesse (Arrica and Bissonnette 2007). Ein Nachteil sind die negativen Auswirkungen auf das Gerinnungssystem mit Reduktion der Aktivität von Antithrombin III und Protein C (Staikou, Paraskeva et al. 2011). Bereits durch eine milde Hypothermie (35°C bis 32°C) kann die Inzidenz inflammatorischer Prozesse deutlich verringert werden (Hildebrand, van Griensven et al. 2005; Huet, Kinirons et al. 2007; Schmitt, Diestel et al. 2007). Bei Körperkerntemperaturen unterhalb von 34 Grad Celsius kommt es infolge einer Bradykardie zu einem Abfall des Herzzeitvolumens (Deussen 2007). Andere Autoren fanden unter mäßiger Hypothermie (30 bis 31°C) bei Ratten einen Abfall der Muskeldurchblutung um etwa 15% (Sugimoto, Monafó et al. 1987; Dines, Mizisin et al. 1997).

THORLACIUS et al. (Thorlacius, Vollmar et al. 1998) untersuchten an Hamstern mittels Intravitalmikroskopie den Einfluss lokaler Kühlung und Erwärmung auf den Blutfluss und die Gefäßdurchmesser von Skelettmuskeln. Die Hauttemperatur der Versuchstiere wurde auf acht Grad Celsius gesenkt und über 30 Minuten konstant gehalten. Sie fanden eine Abnahme des arteriellen Gefäßdurchmessers um 43 % bei unverändert venösem und kapillarem Gefäßdurchmesser. Der Anteil nicht durchbluteter Kapillaren stieg nach zehn Minuten Kältetherapie von 0,4 auf 44 % an. Erwärmung führte zu einem Rückgang der hämodynamischen Parameter auf Werte entsprechend Ausgangsniveau vor Kühlung.

Die Arbeitsgruppe um NAIDU (Naidu and Sachdeva 1993) untersuchte den Fingerblutfluss von 64 Probanden vor und nach achtwöchiger antarktischer Kälteexposition mittels Laser Doppler Flowmetrie. Sie konnten zeigen, dass der Fingerblutfluss nach Eiswasserexposition (zwei Minuten im Wasserbad bei null bis vier Grad Celsius) um 61% abfiel. Im Gegensatz dazu fiel der Abfall der Durchblutung unter antarktischen Bedingungen wesentlich geringer aus. Als Ursache dieses Phänomens führten die Autoren eine unter antarktischen Bedingungen auftretenden Vasodilatation an. Diese vermindert die durch das Eiswasserbad ausgelöste Vasokonstriktion.

HO et al. maßen bei 21 Probanden die Knochen- und Weichteildurchblutung mittels Skelettszintigraphie nach lokaler Kühlung. Bereits 20 Minuten nach Kälteexposition kam es

zu einem signifikanten Abfall der Knochen- und Weichteildurchblutung im Bereich des Kniegelenkes.

Während die Folgen der lokalen Kühlung für verschiedene Organe (Haut, Gehirn) gut untersucht sind, sind die Auswirkungen auf die Durchblutung des Röhrenknochens und seiner verschiedenen Regionen nicht geklärt. Das gleiche gilt für die Auswirkung einer Kühlung auf die Muskulatur. Frühere Untersuchungen lassen vermuten, dass es initial zu einem Abfall der Durchblutung kommt und dann im weiteren Verlauf zu einer Mehrdurchblutung durch eine durch Kälte induzierte Vasodilatation.

1.7 Fragestellung

Obwohl sich zahlreiche Untersuchungen mit der Knochendurchblutung unter Hypotension beschäftigen, gibt es keine Untersuchung, die sich gezielt mit der Autoregulation des Knochens befasst. In der Arbeit von ANETZBERGER et al. wurde zwar vermutet, dass der Knochen über einen Autoregulationsmechanismus der Durchblutung verfügt, dies kann jedoch bei lediglich 3 Messungen zwischen MAD von 90 und 50 mm Hg nicht abschließend beurteilt werden (Anetzberger, Thein et al. 2003b). Daher war es ein Ziel dieser Arbeit die Hypothese zu prüfen, ob auch Knochen die Fähigkeit der Autoregulation der Durchblutung haben.

Zur Überprüfung der Hypothese wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit definierte Versuchsprotokolle erarbeitet. Der MAD der Versuchstiere wurde schrittweise durch Blutentnahme gesenkt und Blutflussmessungen zu definierten Blutdruckwerten durchgeführt.

Im Detail sollte auf folgende Fragen eingegangen werden:

- (1) Wie ändert sich die Durchblutung in den langen Röhrenknochen unter Hypotension?
- (2) Wie ändert sich der Blutfluss innerhalb der einzelnen Regionen eines Röhrenknochens unter Hypotension?

In der täglichen Praxis wird wegen des positiven analgetischen Effekts und zur Reduktion der Schwellung postoperativ Eis auf das Operationsgebiet gelegt (Koc, Tez et al. 2006; Cina-

Tschumi 2007). SCHRÖDER und PÄSSLER konnten zeigen, dass nach VKB-Plastik eine 14-tägige Anwendung des Cryo/Cuff Systems im Vergleich zur alleinigen postoperativen Kühlung eine signifikant geringere Schwellung und weniger Schmerzen zur Folge hatte (Schröder and Pässler 1994).

Trotz der breiten Anwendung in der täglichen Praxis gibt es keine wissenschaftlichen Arbeiten darüber, in wie weit sich lokale Kühlung auf die Knochen- und Muskeldurchblutung auswirkt. In der vorliegenden Arbeit wurde die Hypothese geprüft, dass eine lokale Kühlung zu einer Abnahme der Knochen- und Muskeldurchblutung führt.

Hierzu wurde ein Hinterlauf der Versuchstiere im Wasserbad gelagert und die Temperatur des Wasserbades schrittweise gesenkt.

Folgende Fragen sollten beantwortet werden:

(3) Wie ändert sich die Durchblutung im Femur und in der Tibia nach schrittweiser Abkühlung im Vergleich zur Kontrollseite?

(4) Gibt es Regionen innerhalb des Röhrenknochens, die bei Kühlung besonders vulnerabel reagieren?

(5) Wie ändert sich die Muskeldurchblutung nach Abkühlung im Wasserbad im Vergleich zur nicht gekühlten Kontrollseite?

(6) Gibt es Unterschiede beim Vergleich verschiedener Muskeln?

2 MATERIAL UND METHODE

2.1 Versuchstiere

Insgesamt wurden für beide Versuchsreihen 14 erwachsene, weibliche New Zealand White Kaninchen (Fa. Charles River, Kisslegg, Deutschland und Harlan Winkelmann, Borcheln, Deutschland) verwendet. Bei allen Versuchstieren waren die Epiphysenfugen geschlossen, was im Rahmen der Probenaufarbeitung überprüft wurde.

Während der Versuchsdauer wurden die Tiere in Gruppen in der Versuchstierhaltung des Instituts für Chirurgische Forschung der LMU München in Großtierboxen (2,55 m²) mit freiem Auslauf (12 m²) gehalten. Die Kaninchen erhielten Standardfutter (Rabbit diet, Sniff, Soest, Deutschland) und Wasser ad libitum.

Für die Versuche wurden die Tiere nach dem Zufallsprinzip ausgewählt. Alle Untersuchungen erfolgten nach Genehmigung der Regierung von Oberbayern, München (AZ.: 55.2-1-54-2531-12-05) in der Zeit vom 01.10.2005 bis 23.12.2005 im Institut für Chirurgische Forschung der LMU München unter Beachtung der Tierschutzbestimmungen.

2.2 Anästhesie

2.2.1 Narkose

Die Tiere wurden bereits in der Box durch intramuskuläre Injektion von Ketaminhydrochlorid (17,5 mg/kg KGW; Ketavet®, Pfizer, Pharmacia GmbH, Karlsruhe, Deutschland) und Xylazinhydrochlorid (1,75 mg/kg KGW; Rompun®, 2%, Bayer GmbH, Leverkusen, Deutschland) betäubt. Anschließend wurden die Tiere gewogen und im anterioren Halsbereich rasiert. Die Kaninchen wurden in Rückenlage auf dem Operationstisch fixiert.

Die Narkose wurde nach Legen eines Zugangs an der zentralen Ohrvene (22G, Vasodrop, Bad Hersfeld, Deutschland) durch venöse Gabe von Ketaminhydrochlorid (12,5 mg/kg KGW pro Stunde) und Xylazinhydrochlorid (2,4 mg/kg KGW pro Stunde) fortgeführt.

Zur Volumensubstitution und Stabilisierung des Herz-Kreislauf-Systems wurden bei Bedarf 0,9 % Kochsalzlösung (NaCl 0,9%, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) und HAES (Haemofusin® 6%, Baxter, Unterschleißheim, Deutschland) unter ständiger Kontrolle der Vitalparameter intravenös infundiert.

Nach länglichem Hautschnitt und Spaltung der oberflächlichen Hautfaszien wurde die oberflächliche Schlundmuskulatur aufgesucht und medial des M. sternocleidomastoideus stumpf in die Tiefe präpariert. Anschließend wurde die Trachea im Verlauf dargestellt und querinzidiert. Über die Inzision wurde ein Tubus (pädiatrischer Endotrachealtubus, Größe: 3.5, L.165 mm, Vygon GmbH & CO.KG, Aachen, Deutschland) eingeführt und nach auskultatorischer Lagekontrolle an der Trachea mittels resorbierbarem Faden gesichert. Der Tubus wurde mit dem Beatmungsgerät (Sechrist IV-100 B, Infant Ventilator, Anaheim, Kalifornien, USA; Beatmungsdruck 12 mm Hg, Luft/O₂ Verhältnis Inspiration/Expiration 1:2) verbunden und das Kaninchen beatmet.

Nach Versuchsende wurden die Tiere mit einer Überdosis Kaliumchlorid Lösung (1 M Kaliumchlorid Lösung, Baxter GmbH, Deutschland) getötet.

2.2.2 Überwachung

Alle Versuche wurden unter kontinuierlichem EKG- und Blutdruckmonitoring durchgeführt. Der arterielle Blutdruck wurde über einen in der linken A. carotis liegenden Katheter mittels Druckwandler (Sirecust 404-1, Siemens AG, München, Deutschland) gemessen.

Vor jeder Mikrosphäreninjektion wurden Herzfrequenz (Schläge/min) und mittlerer Blutdruck (MAD in mm Hg), Zeit sowie die Blutgase (P_aO₂ und P_aCO₂) gemessen.

2.3 Chirurgische Präparation

2.3.1 Legen eines linksventrikulären Katheters zur Injektion der Sphären

Nach Längsinzision der Haut in der anterioren Halsregion wurde die äußere Halsfaszie längs gespalten und zwischen M. sternocleidomastoideus und M. sternohyoideus stumpf in die Tiefe präpariert. Anschließend wurde der N. vagus und die rechte A. carotis dargestellt (Abbildung 2). Um einen Blutverlust der Tiere während des Einführens des Katheters zu vermeiden, wurde die Arterie während der Inzision mit einer kleinen Gefäßklemme kurzzeitig abgeklemmt. Nach Längsinzision der Arterie und Entfernen der Gefäßklemme wurde ein Katheter (Cavafix MT, Durchflussrate 10 ml/min, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) eingeführt und mittels Fadenloop temporär fixiert. Der Katheter wurde an einen online Druckwandler (Sirecust 404-1, Siemens AG, München, Deutschland) angeschlossen und unter Beobachtung der Druckkurve sowie unter kontinuierlichem EKG Monitoring in den linken Ventrikel vorgeschoben. Die korrekte Lage der Katheterspitze wurde anhand der

charakteristischen Wellenform der Ventrikeldruckkurve überprüft (Abbildung 3). Bei Auftreten von Herzrhythmusstörungen wurde der Katheter zurückgezogen und nach fünfminütiger Pause und Stabilisierung des Herz-Kreislauf-Systems erneut im linken Ventrikel platziert.

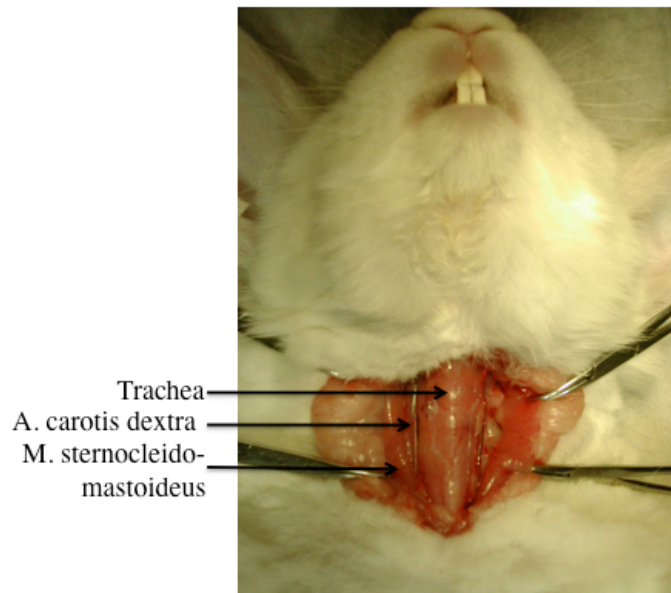


Abbildung 2: Blick auf die vordere Halsregion nach Inzision der äußeren Halsfaszie. Darstellung der Trachea, A. carotis dextra und sinistra.

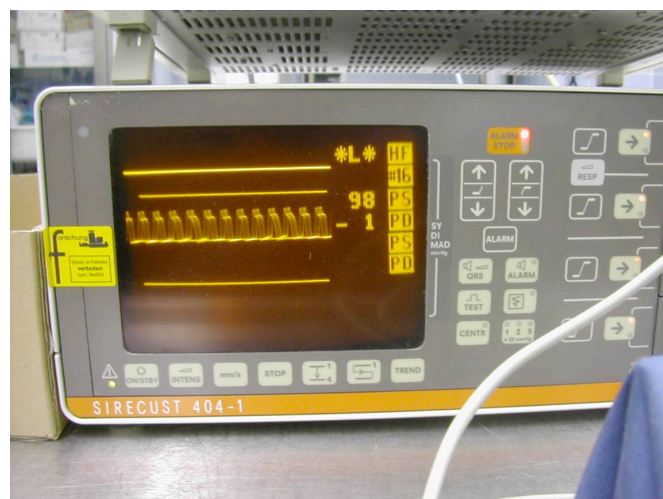


Abbildung 3: Online Druckwandler (Sirecust 404-1) mit charakteristischer Wellenform der Ventrikeldruckkurve.

2.3.2 Legen eines Katheters zur Entnahme der arteriellen Referenz und Überwachung des Blutdrucks

In oben beschriebener Technik wurde die linke A. carotis dargestellt, ein Katheter eingeführt und in die pars descendens der Aorta vorgeschoben. Der Katheter wurde anschließend mit einem dünnen Faden fixiert. Über einen Drei-Wege-Hahn wurde der Katheter an einen online Druckwandler angeschlossen (Sirecust 960, Siemens AG, München, Deutschland), um den mittleren arteriellen Blutdruck kontinuierlich zu überwachen und eine arterielle Referenzblutprobe entnehmen zu können (Abbildung 4).

2.3.3 Blutgasanalyse

Die arteriellen Blutgase wurden eine Minute vor jeder Mikrosphäreninjektion bestimmt. Hierzu wurde aus der rechten A. carotis ein Milliliter arterielles Blut entnommen und mittels Blutgasanalysator (Chiron Diagnostics 348, Emeryville, Kalifornien, USA) p_aO_2 (mm Hg), p_aCO_2 (mm Hg), Hämoglobin (g/dl) und Hämatokrit (%) gemessen.

2.4 Mikrosphärenmethode

2.4.1 Vorbereitung und Injektion der Mikrosphären

Für Messungen wurden die MS-Spezies zufällig ausgewählt. Das Stammgefäß wurde vor der Entnahme der MS drei Minuten mit Hilfe eines Vortex (Vortex Genie 2, Bender & Holbein AG, Zürich, Schweiz) mechanisch geschüttelt und anschließend fünf Minuten in ein Ultraschallbad (Sonorex TK52H, Bandelin, Deutschland) gestellt. Danach wurden die Sphären erneut drei Minuten geschüttelt. Für jede Injektion wurden 1×10^6 MS pro kg Körpergewicht dem Stammgefäß entnommen und mit 0,9% NaCl Lösung auf 10 ml verdünnt.

2.4.2 Injektion und Entnahme der arteriellen Referenz

Die korrekte Lage der Katheterspitze im linken Ventrikel wurde vor jeder Injektion an Hand der charakteristischen Wellendruckkurve auf dem online Druckwandler überprüft. Die Injektion der Sphären erfolgte bei allen Versuchen durch die gleiche Person und wurde über den Zeitraum von einer Minute konstant per Hand vorgenommen. Die Entnahme der arteriellen Referenzblutprobe erfolgte in allen Versuchen über einen Katheter (Cavafix® MT,

Durchflussrate: 10 ml/min, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland), der in der pars descendens der Aorta positioniert wurde.

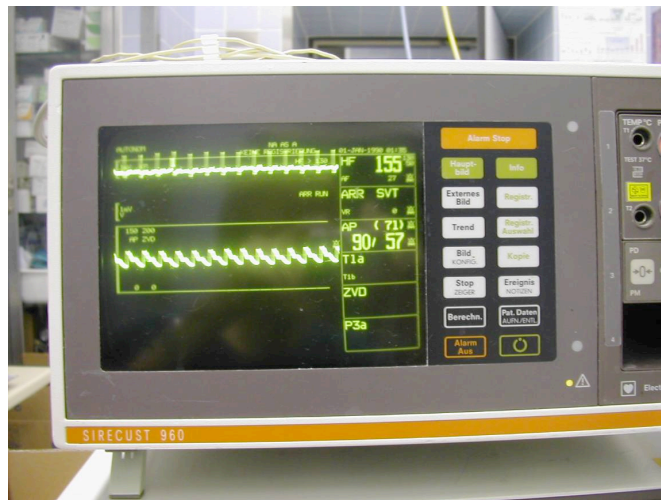


Abbildung 4: Bild einer charakteristischen Druckwelle in der pars descendens der Aorta.

Die Entnahme der arteriellen Referenzblutprobe erfolgte mittels einer Präzisionspumpe ("33" Syringe Pump, FMI, Engelsbach, Deutschland), deren Abzugsgeschwindigkeit bei allen Versuchen 3,54 ml/min betrug. Die Entnahme der Referenzblutprobe wurde 15 Sekunden vor der Injektion der Mikrosphären begonnen und 60 Sekunden nach Ende der Mikrosphäreninjektion fortgeführt.

2.4.3 Dissektion der Organe

Nach Beendigung des Versuchs wurden den Tieren beide Nieren, beide Humeri, Femora und Tibiae und in der Versuchsreihe „lokale Kühlung“ zusätzlich beide Mm. tibiales anterior und Mm. gastrocnemici entnommen. Die Gewebe wurden sorgfältig von Binde- und Fettgewebe befreit. Anschließend wurden die Nieren jeweils in acht, die Mm. tibiales anterior in drei, die Mm. gastrocnemici in 10 gleichgroße Proben aufgeteilt und gewogen. Die Röhrenknochen wurden von Periost, Knorpel, Sehnen- und Bandansätzen befreit und nach einem standardisierten Dissektionsschema (Anetzberger, Thein et al. 2003c), welches sich an den anatomischen Regionen orientiert, aufgeteilt (Abbildung 5) und gewogen. Pro Tier entstanden insgesamt in der Versuchsreihe Hypotension 56 und in der Versuchsreihe Hypothermie 82 Gewebeproben.

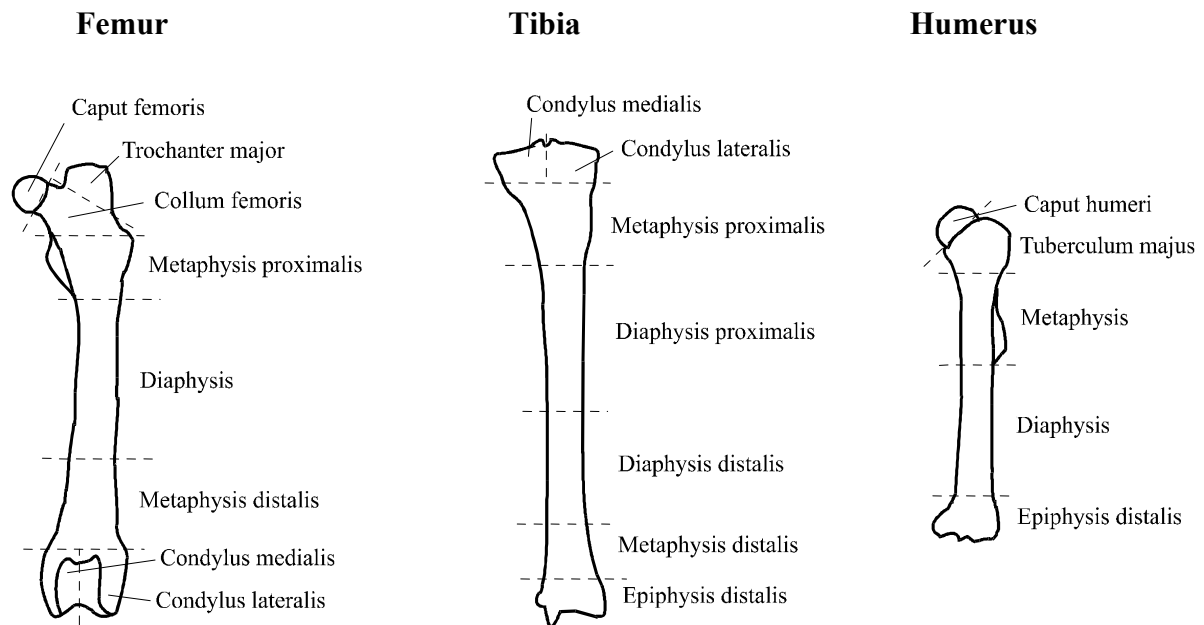


Abbildung 5: Dissektionsschema nach ANETZBERGER (Anetzberger, Thein et al. 2003c).

2.4.4 Bestimmung der Fluoreszenzintensität in den Gewebeproben

Die automatisierte Probenverarbeitung und Messung der Fluoreszenzintensität in den Knochenproben erfordert eine Entkalkung der Proben. Die kristalline Matrix des Knochens wurde durch eine dreiwöchige Lagerung in HCl (1 mol/l) ausgelöst.

Die Digestion der organischen Matrix der Gewebe- und arteriellen Referenzblutproben in KOH (4 mol/l) und die Isolierung der FM aus der Digestionslösung erfolgte automatisiert mittels Robotersystem und Sample Processing Unit (SPU, Perkin Elmer, Überlingen, Deutschland) (Raab, Thein et al. 1999; Thein, Raab et al. 2000).

Die arterielle Referenzblutprobe wurde sofort nach der Injektion durch das Filtersystem der SPU filtriert. Um einen möglichen Sphärenverlust durch Adhärenz von einzelnen MS an der Oberfläche der Entnahmespritze (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) zu verhindern, wurde diese dreimal mit NaCl gereinigt.

2.4.5 Berechnung des Blutflusses und des Herzminutenvolumens (HMV)

Sämtliche Berechnungen wurden mit Hilfe der Software Microsoft® Excel: mac 2008 (Microsoft Corporation, USA) durchgeführt.

Der absolute Blutfluss in der Probe (BF_{Probe}) wurde folgendermaßen berechnet:

$$BF_{\text{Probe}} = (F_{\text{Referenz}} \times I_{\text{Probe}}) / I_{\text{Referenz}}$$

mit:	BF_{Probe}	Blutfluss in der Probe in ml/min
	F_{Referenz}	Abzugsgeschwindigkeit der Havardpumpe (3,54 ml/min)
	I_{Probe}	Fluoreszenzintensität der Probe
	I_{Referenz}	Fluoreszenzintensität der Referenzprobe

Der errechnete Blutfluss wurde durch das Probengewicht (in 100g) dividiert und in ml/min/100g angegeben.

Zur Bestimmung des HMV wurden vor jeder Injektion 20 µl der Injektionslösung mit einer Pipette entnommen. Die Fluoreszenzintensität des Aliquots wurde gemessen und die Gesamtintensität der applizierten Sphären berechnet ($I_{\text{injiziert}} = 500 \times \text{Intensität}_{20\mu\text{l}}$).

Das Herzminutenvolumen kann nach Archie et al. (Archie, Fixler et al. 1973) folgendermaßen berechnet werden:

$$HMV = (F_{\text{Referenz}} \times I_{\text{injiziert}}) / I_{\text{Referenz}}$$

mit:	HMV	Herzminutenvolumen in ml/min
	F_{Referenz}	Abzugsgeschwindigkeit der Havardpumpe (3,54 ml/min)
	$I_{\text{injiziert}}$	Fluoreszenzintensität der injizierten Menge
	I_{Referenz}	Fluoreszenzintensität der Referenzprobe

Das HMV wurde in ml/min/kg Körpergewicht angegeben.

Der periphere vaskuläre Gefäßwiderstand wurde nach ARCHIE et al. errechnet, indem der MAD (mm Hg) durch den Blutfluss der Probe (ml/min/100g) dividiert wurde, ohne den Venendruck zu berücksichtigen (Archie, Fixler et al. 1973).

2.5 Versuchsreihen

2.5.1 Hypotension

Der mittlere arterielle Blutdruck (MAD) wurde bei Bedarf für die 1. Injektion durch Gabe von HAES (Haemofusin® 6%, Baxter, Unterschleißheim, Deutschland) auf 100 mm Hg MAD angehoben. Nach der 1. Injektion bei 100 mm Hg wurde der MAD schrittweise durch Entnahme von Blut auf 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg MAD gesenkt.

Die Sphäreninjektion erfolgte erst, nachdem der MAD über einen Zeitraum von 20 Minuten konstant blieb. Es wurde jeweils die infundierte Menge an HAES sowie die Menge der Blutentnahme protokolliert.

2.5.2 Lokale Kühlung

Die kontrollierte, schrittweise Abkühlung der unteren Extremität wurde durch ein Wasserbad (Julabo SW, Seelbach; Deutschland) erreicht. Ein zufällig ausgewählter Hinterlauf (Münzwurf) wurde distal der Femurdiaphyse in ein Wasserbad gelegt. Die Länge des Hinterlaufs wurde jeweils vor dem Versuch ausgemessen und in der Mitte markiert. Somit wurde das Femur standardisiert zur Hälfte gekühlt. Durch Hinzufügen von Eiswürfeln und regelmäßiges Umverteilen des Wassers konnten die Zieltemperaturen von 32, 26, 20, 14, 8 und 2°C exakt eingestellt werden. Die Messung der Durchblutung mittels Injektion von MS erfolgte erst, nachdem die eingestellte Wassertemperatur für 20 Minuten konstante Werte aufwies. Der Hinterlauf der Gegenseite wurde nicht gekühlt und diente zur Kontrolle.

Die intramuskuläre Temperatur wurde vor und nach Injektion der MS über eine Messsonde (Thermistor SU, Diesen + Kern GmbH Bad Bramstedt; Deutschland) gemessen. Dazu wurde über einen 0,5 cm langen Hautschnitt vor Versuchsbeginn eine Messsonde distal der Tuberositas tibiae zwischen M. tibialis anterior und anteriorer Tibiakante eingebracht und über einen dünnen Tapeverband gesichert.

2.6 Statistik

Für die statistische Auswertung der Daten wurde das Computerprogramm SPSS für Mac, Version 17.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) verwendet.

Für alle Organproben wurden die Blutflusswerte berechnet, Mittelwert und Standardfehler des Mittelwertes (SEM) angegeben.

Die Blutflusswerte von wiederholten Messungen wurden mit dem nicht parametrischen Test für verbundene Stichproben nach Friedman getestet. Im Signifikanzfall wurden Unterschiede zwischen den einzelnen Messungen durch paarweises Testen mittels Wilcoxon-Test ermittelt. Zum Vergleich der Blutflusswerte zwischen rechts- und linksseitengleichen Organen bzw. Gewebeproben wurde ebenfalls der Wilcoxon-Test eingesetzt. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als signifikant erachtet.

3 ERGEBNISSE

3.1 Hypotension

3.1.1 Entnahme von Blut zur Blutdruckeinstellung

Vor der ersten Injektion der Sphären wurde der MAD auf 100 mm Hg eingestellt. Hierzu war teilweise eine Infusion von HAES 6% notwendig. Im Mittel wurde $50,0 \pm 20,0$ ml HAES 6% infundiert. Anschließend wurde der MAD schrittweise durch Entnahme von Blut auf 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg gesenkt. Für die Senkung des mittleren arteriellen Blutdrucks auf 90 mm Hg wurden 7 ± 4 ml auf 80 mm Hg 19 ± 16 ml auf 60 mm Hg 20 ± 8 ml auf 40 mm Hg 24 ± 9 ml und auf 30 mm Hg 31 ± 20 ml venöses Blut entnommen.

3.1.2 Gewicht der Proben

Die Voraussetzung für den Vergleich der Blutflüsse in den identischen Regionen eines rechten und linken Röhrenknochens ist die gleiche Probengröße. Zwischen dem Gewicht gleicher rechter und linker Proben bestand kein statistisch signifikanter Unterschied ($p > 0,05$; Wilcoxon) (siehe Tabelle 1).

3.1.3 Blutflussmessung

3.1.3.1 Hämodynamische Parameter

Der MAD konnte exakt (± 1 mm Hg) auf die jeweiligen Zielwerte eingestellt werden. Das HMV blieb bis zu einem MAD von 80 mm Hg mit 219 ± 64 ml/min/kg KG, 202 ± 46 ml/min/kg KG und 169 ± 47 ml/min/kg KG konstant und fiel dann signifikant auf 139 ± 47 ml/min/kg KG bei 60 mm Hg MAD ab ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test).

Die Herzfrequenz blieb zwischen 100 bis 80 mm Hg mit 164 ± 11 und 166 ± 17 Schlägen/min konstant und fiel dann bei einem MAD von 60 mm Hg auf 156 ± 21 Schläge/min ab. Ab 40 mm Hg MAD kam es zu einem signifikanten Abfall der Herzfrequenz auf 153 ± 16 Schläge/min ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test).

Die arteriellen Blutgase (p_{aO_2} und p_{aCO_2}) blieben über die gesamte Versuchsdauer konstant (Friedman-Test, $p > 0,05$). Alle von uns erhobenen hämodynamischen Parameter sind in Tabelle 2 dargestellt.

3.1.3.2 Nierendurchblutung

Der Blutfluss in rechter und linker Niere war zu allen Messzeitpunkten gleich. Die Nierendurchblutung blieb trotz Senkung des MAD von 100 auf 60 mm Hg unverändert und betrug in der rechten Niere bei MAD von 100 mm Hg 299 ± 43 ml/min/100g (links: 295 ± 39 ml/min/100g), bei MAD von 90 mm Hg 305 ± 36 ml/min/100g (links 298 ± 35 ml/min/100g) und bei MAD von 80 mm Hg 329 ± 39 ml/min/100g (links 323 ± 35 ml/min/100g). Bei weiterer Senkung des MAD auf 60 mm Hg kam es zu einem Abfall der Nierendurchblutung auf 228 ± 25 ml/min/100g (links 233 ± 26 ml/min/100g). Ein statistisch signifikanter Abfall der Nierendurchblutung trat bei einem MAD von 40 mm Hg (rechts: 153 ± 18 ml/min/100g, links: 146 ± 18 ml/min/100g) und 30 mm Hg (91 ± 19 ml/min/100g, links 85 ± 19 ml/min/100g) auf (Friedman-Test $< 0,05$, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Die Durchblutung beider Nieren ist in Abbildung 6 graphisch dargestellt.

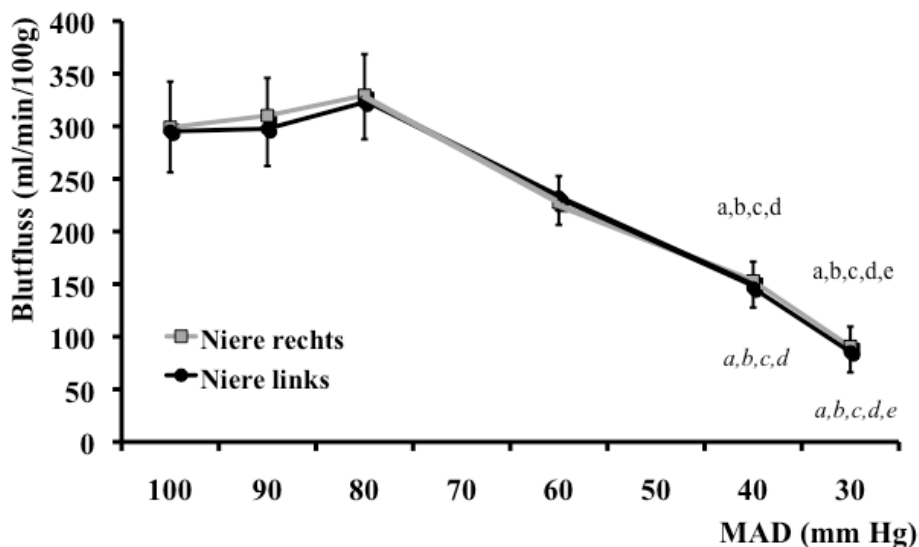


Abbildung 6: Blutfluss der Niere in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 8$), bei MAD 100, 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg. Die Statistik für die linke Niere ist kursiv angegeben, die der rechten Niere regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 40 mm Hg.

3.1.3.3 Blutfluss in langen Röhrenknochen

Trotz schrittweiser Senkung des MAD von 100 auf 80 mm Hg blieb der Blutfluss in beiden Humeri konstant. Der Blutfluss im rechten Humerus war bei 100 mm Hg $11,8 \pm 1,3$ ml/min/100g (links $11,0 \pm 1,6$ ml/min/100g), bei 90 mm Hg $12,0 \pm 1,4$ ml/min/100g (links $10,3 \pm 1,3$ ml/min/100g), bei 80 mm Hg $11,4 \pm 1,3$ ml/min/100g (links $10,0 \pm 1,3$ ml/min/100g). Die weitere Senkung des MAD hatte einen linearen, signifikanten Abfall der Durchblutung zur Folge. Bei einem MAD von 60 mm Hg betrug der Blutfluss im rechten Humerus $9,4 \pm 0,9$ ml/min/100g (links $7,4 \pm 1,0$ ml/min/100g), bei 40 mm Hg $7,1 \pm 0,7$ ml/min/100g (links $5,3 \pm 0,6$ ml/min/100g) und bei 30 mm Hg nur noch $4,3 \pm 0,5$ ml/min/100g (links $4,0 \pm 0,6$ ml/min/100g). Die Durchblutung des rechten Humerus war mit Ausnahme der ersten Messung bei MAD von 100 mm Hg signifikant höher im Vergleich zum linken Humerus ($p < 0,05$; Wilcoxon Test).

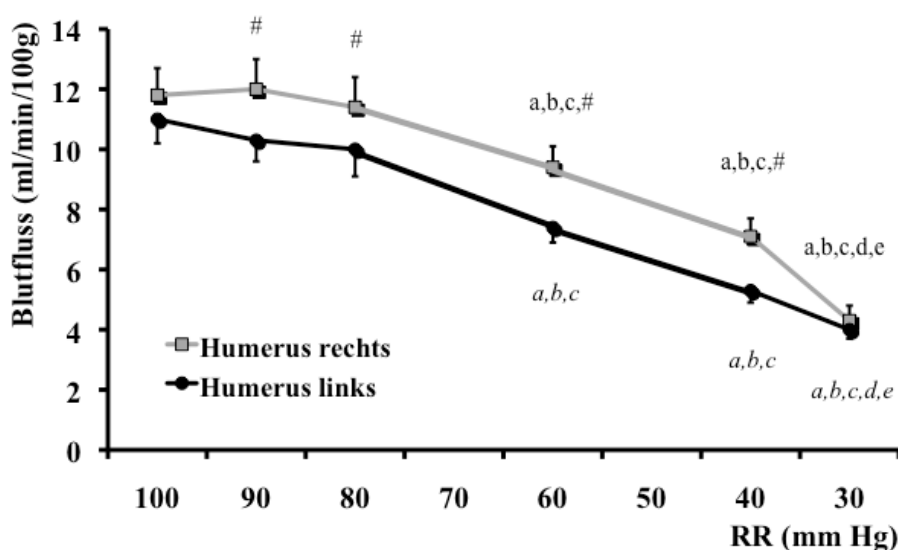


Abbildung 7: Blutfluss Humerus in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 8$), bei MAD 100, 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg. Die Statistik für die linke Extremität ist kursiv angegeben, die der rechten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 40 mm Hg, [#] signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

Auch der Blutfluss im Femur blieb zwischen 100 und 80 mm Hg MAD konstant und fiel ab 60 mm Hg MAD linear ab ($p < 0,05$ Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test) (Abbildung 8). Im rechten Femur betrug der Blutfluss bei 100 mm Hg $12,2 \pm 0,9$ ml/min/100g (links $13,0 \pm 1,2$ ml/min/100g), bei 90 mm Hg $11,6 \pm 1,0$ ml/min/100g (links $12,2 \pm 1,2$ ml/min/100g), bei 80 mm Hg $10,9 \pm 1,0$ ml/min/100g (links $11,3 \pm 1,1$ ml/min/100g), bei 60 mm Hg $7,6 \pm 0,7$ ml/min/100g (links $7,9 \pm 0,8$ ml/min/100g), bei 40 mm Hg $5,6 \pm 0,6$ ml/min/100g (links $5,5 \pm 0,6$ ml/min/100g) und bei 30 mm Hg $3,8 \pm 0,5$ ml/min/100g (links $3,6 \pm 0,4$ ml/min/100g). Der Blutfluss im rechten und linken Femur war zu jedem Messzeitpunkt gleich ($p > 0,05$; Wilcoxon Test).

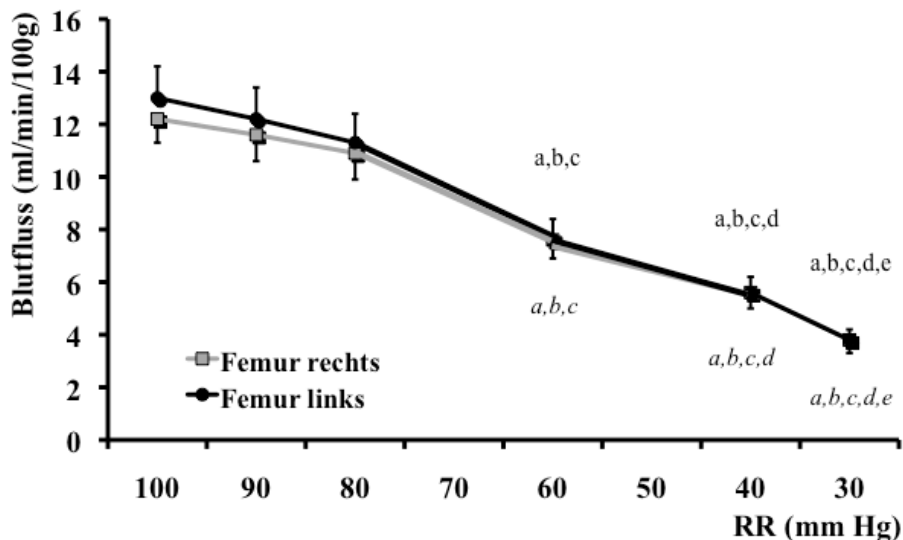


Abbildung 8: Blutfluss Femur in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 8$), bei MAD 100, 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg. Die Statistik für die linke Extremität ist kursiv angegeben, die der rechten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 40 mm Hg.

Zwischen 100 und 80 mm Hg MAD blieb der Blutfluss in der Tibia konstant. Ab 60 mm Hg MAD kam es zu einem linearen, signifikanten Abfall der Knochendurchblutung ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test) (Abbildung 9). Der Blutfluss in der rechten Tibia betrug bei 100 mm Hg $6,7 \pm 0,8$ ml/min/100g (links $7,0 \pm 0,8$ ml/min/100g), bei 90 mm Hg $6,4 \pm 0,9$ ml/min/100g (links $6,4 \pm 0,7$ ml/min/100g), bei 80 mm Hg $6,0 \pm 0,9$ ml/min/100g (links $6,3$ ml/min/100g). Der Blutfluss bei 60 mm Hg war in der rechten Tibia

3,7 ± 0,6 ml/min/100g (links 4,4 ± 0,5 ml/min/100g), bei 40 mm Hg 2,7 ml/min/100g (links 3,0 ml/min/100g) und bei 30 mm Hg 1,7 ± 0,3 ml/min/100g (links 2,0 ± 0,3 ml/min/100g). Der Blutfluss in der rechten und linken Tibia war zu allen Messzeitpunkten gleich ($p > 0,05$; Wilcoxon Test) (Abbildung 9).

Der Blutfluss aller Organe ist detailliert in Tabelle 3 aufgeführt.

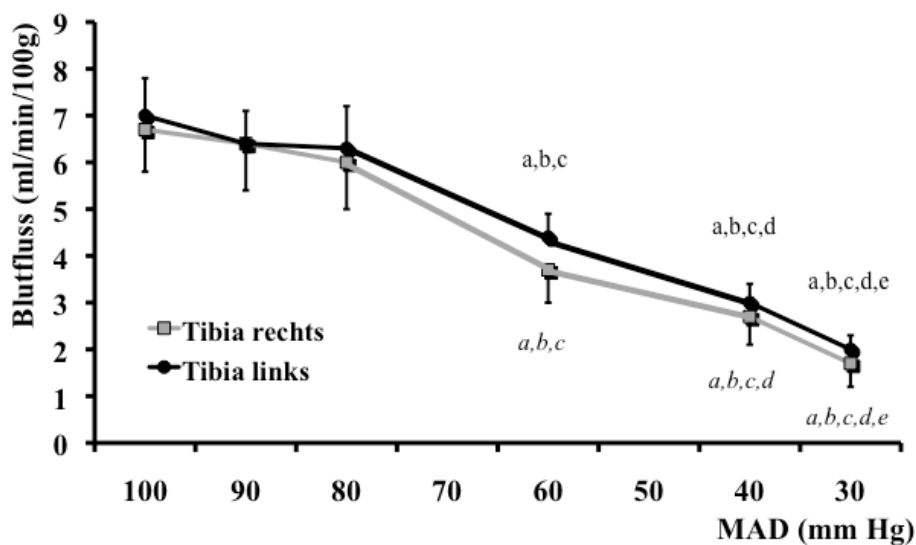


Abbildung 9: Blutfluss Tibia in ml/min/100g (Mittelwert ± SEM, $n = 8$), bei MAD 100, 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg. Die Statistik für die linke Extremität ist kursiv angegeben, die der rechten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 40 mm Hg.

3.1.3.4 Vaskulärer Widerstand

Der periphere Gefäßwiderstand in den Nieren fiel nach Senkung des MAD von 100 auf 80 mm Hg MAD von $0,33 \pm 0,04$ mm Hg/(ml/min/100g) (links von $0,34 \pm 0,03$ mm Hg/(ml/min/100g)) auf $0,24 \pm 0,03$ mm Hg/(ml/min/100g) (links von $0,25 \pm 0,02$ mm Hg/(ml/min/100g)) ab ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Die weitere Absenkung des MAD auf 30 mm Hg MAD führte zu einem statistisch signifikanten Anstieg des vaskulären Widerstands auf $0,33 \pm 0,07$ mm Hg/(ml/min/100g) (links $0,35 \pm 0,09$ mm Hg/(ml/min/100g)) ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test).

In den langen Röhrenknochen konnte der gleiche Verlauf wie in der Niere festgestellt werden. Initial wurde ein leichter Abfall, bei niedrigen Blutdruckwerten ein leichter Anstieg des peripheren vaskulären Widerstands gemessen. Die Veränderung war jedoch nicht statistisch signifikant ($p > 0,05$; Friedman-Test). Die vaskulären Widerstände der Niere und aller langer Röhrenknochen sind in Tabelle 4 dargestellt.

3.1.3.5 Regionaler Knochenblutfluss (RKBF)

3.1.3.5.1 RKBF des Humerus

Die höchsten Blutflüsse innerhalb des Humerus wurden zwischen 100 und 80 mm Hg MAD im Tuberculum majus (zwischen $18,2 \pm 4,0$ und $11,6 \pm 4,0$ ml/min/100g) und der Metaphyse ($16,5 \pm 2,2$ und $16,0 \pm 3,9$ ml/min/100g) gemessen. Der Blutfluss des Caput humeri lag zwischen $11,7 \pm 2,4$ und $9,7 \pm 2,0$ ml/min/100g, der Diaphyse zwischen $7,6 \pm 1,5$ und $6,2 \pm 1,1$ ml/min/100g und der Epiphyse bei $6,1 \pm 1,1$ und $11,2 \pm 6,2$ ml/min/100g. Die Durchblutung der einzelnen Regionen änderte sich zwischen 100 und 80 mm Hg MAD nicht und fiel anschließend konstant ab.

Ein signifikanter Abfall der Durchblutung konnte für alle Regionen bei 40 oder 30 mm Hg MAD festgestellt werden ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test) (siehe Abbildungen 10a-e). Der regionale Blutfluss der anatomischen Regionen des Humerus ist in Tabelle 5 aufgeführt.

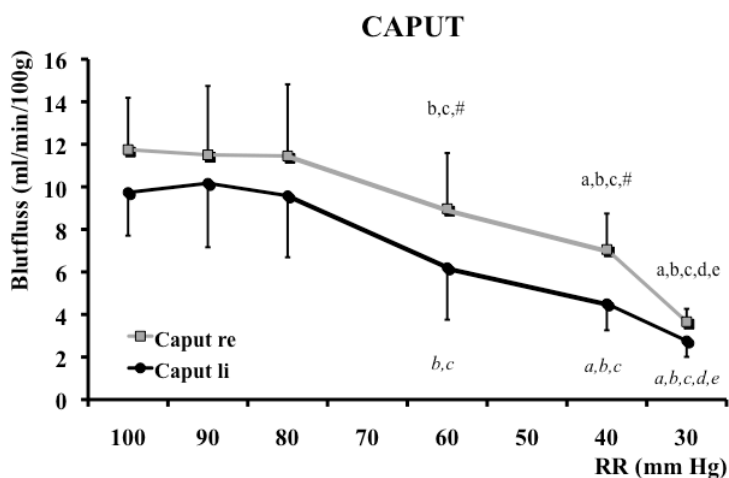


Abbildung 10a

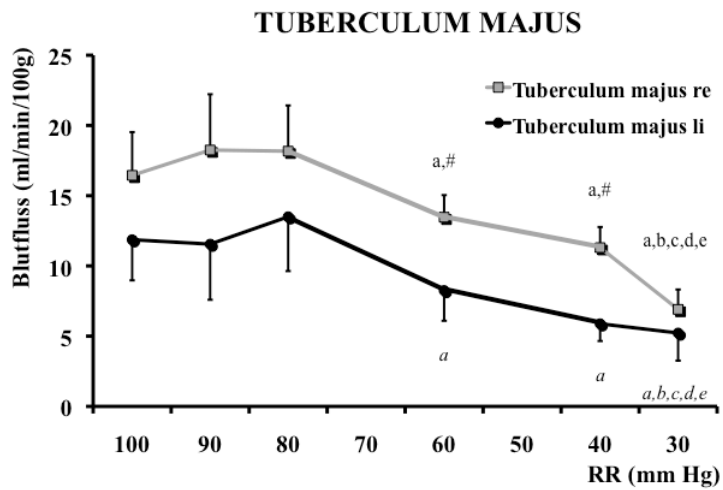


Abbildung 10b

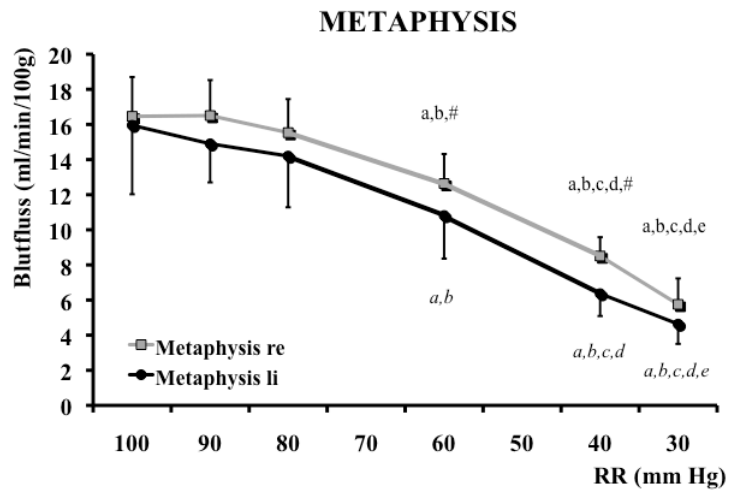


Abbildung 10c

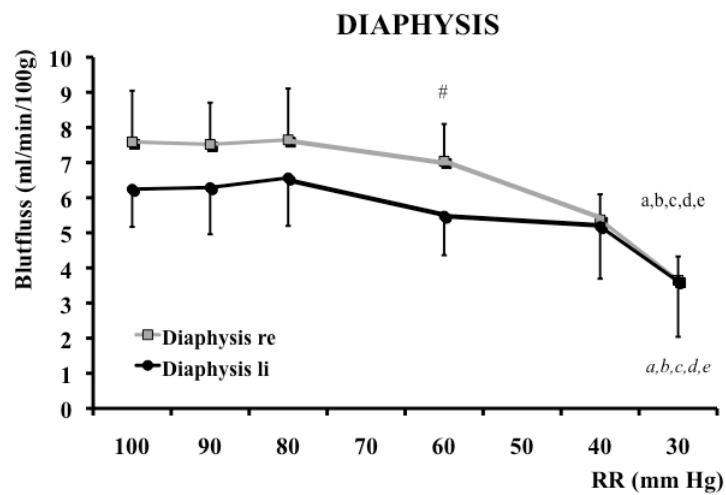


Abbildung 10d

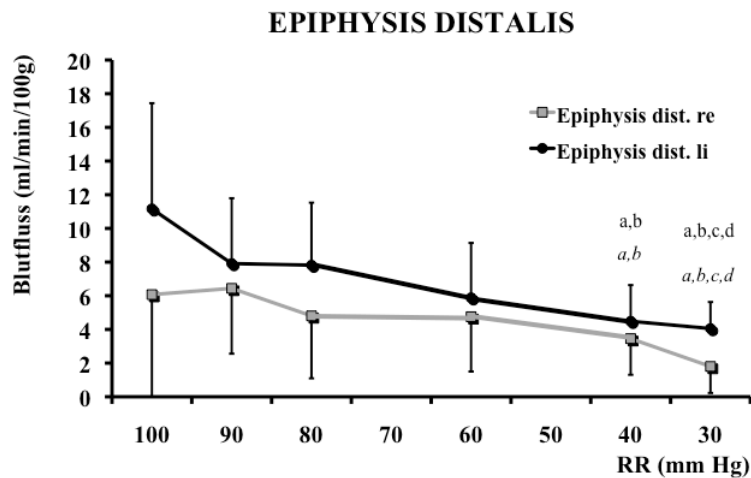


Abbildung 10e

Abbildung 10a-e: Blutfluss der einzelnen Regionen des Humerus in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 8$), bei MAD 100, 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg. Die Statistik für die linke Extremität ist kursiv angegeben, die der rechten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 40 mm Hg, [#] signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

3.1.3.5.2 RKBF des Femurs

Die höchsten Blutflüsse innerhalb des Femurs wurden zwischen 100 und 80 mm Hg im Trochanter major (zwischen $18,1 \pm 2,4$ und $19,6 \pm 1,9$ ml/min/100g MAD) und in der proximalen Metaphyse gemessen (zwischen $17,1 \pm 3,0$ und $14,3 \pm 2,9$ ml/min/100g). Das Caput femoris wies mit Werten zwischen $6,3 \pm 1,4$ ml/min/100g und $7,4 \pm 1,9$ ml/min/100g den niedrigsten Blutfluss auf. Der Blutfluss in der distalen Metaphyse lag zwischen $13,7 \pm 2,7$ und $15,6 \pm 4,3$ ml/min/100g, der im Condylus medialis zwischen $10,3 \pm 1,6$ und $9,7 \pm 1,5$ ml/min/100g und der im Condylus lateralis zwischen $7,6 \pm 1,8$ und $13,7 \pm 5,8$ ml/min/100g.

Die Durchblutung der einzelnen Regionen änderte sich zwischen 100 und 80 mm Hg MAD nicht und fiel anschließend konstant ab. Ein statistisch signifikanter Abfall der Durchblutung konnte für die meisten Regionen des Femurs bei 60 oder 40 mm Hg festgestellt werden (Abbildungen 11a-h). Der regionale Blutfluss der anatomischen Regionen des Femurs ist in Tabelle 6 aufgeführt.

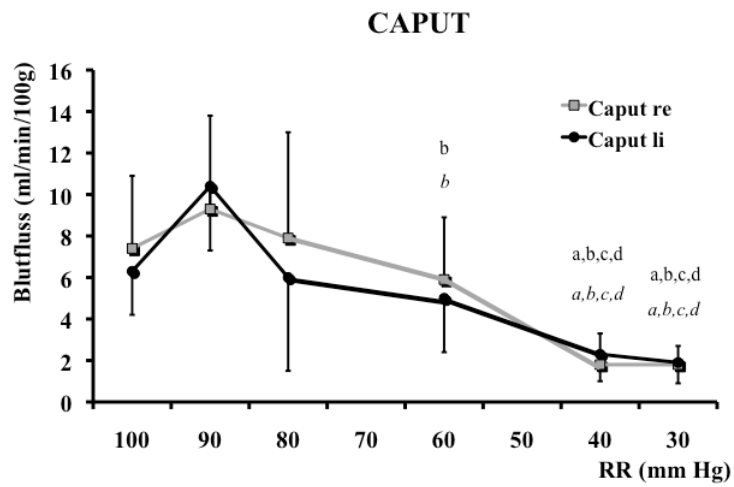


Abbildung 11a

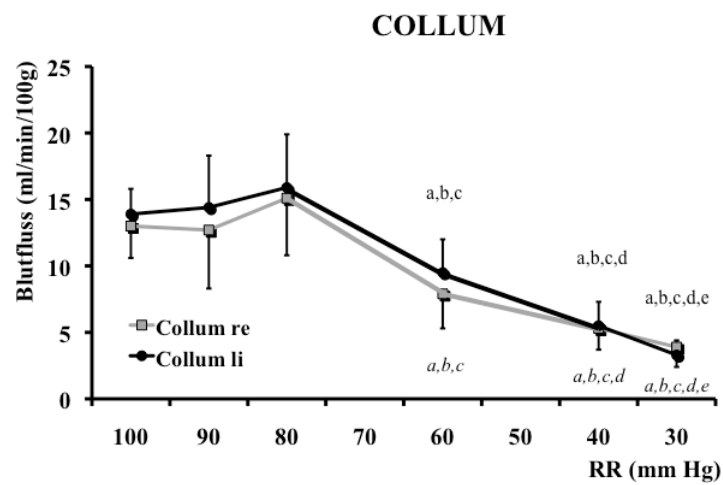


Abbildung 11b

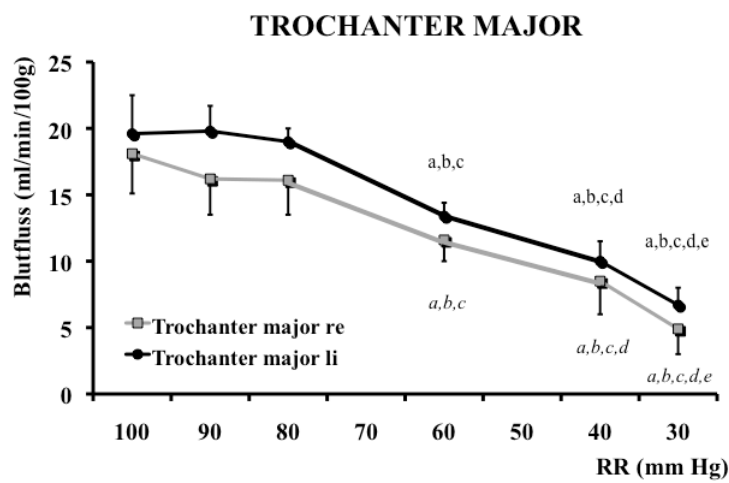


Abbildung 11c

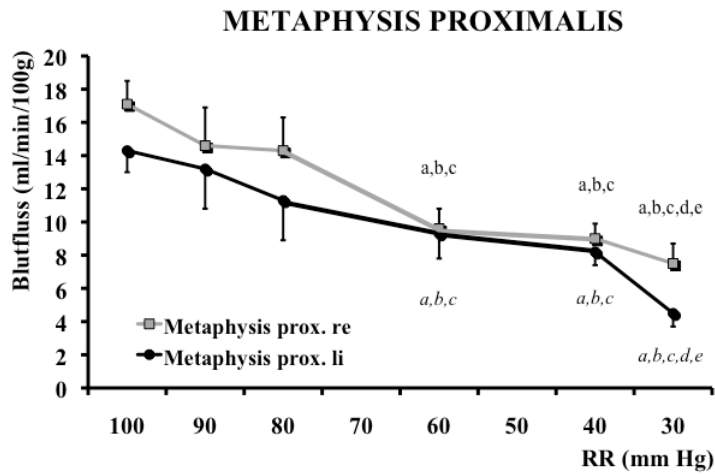


Abbildung 11d

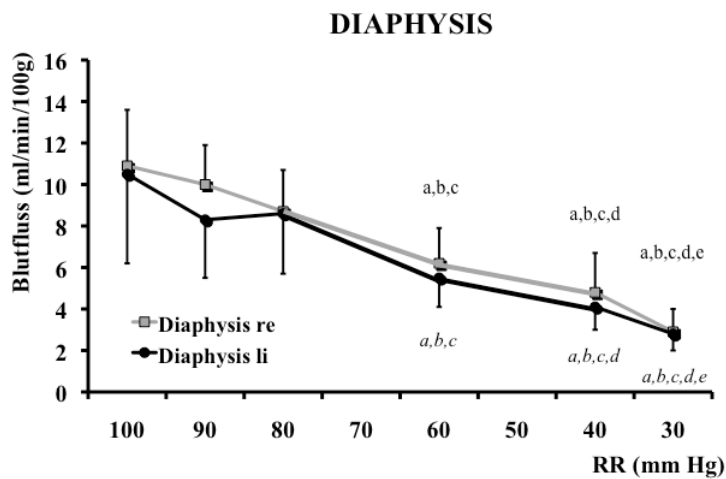


Abbildung 11e

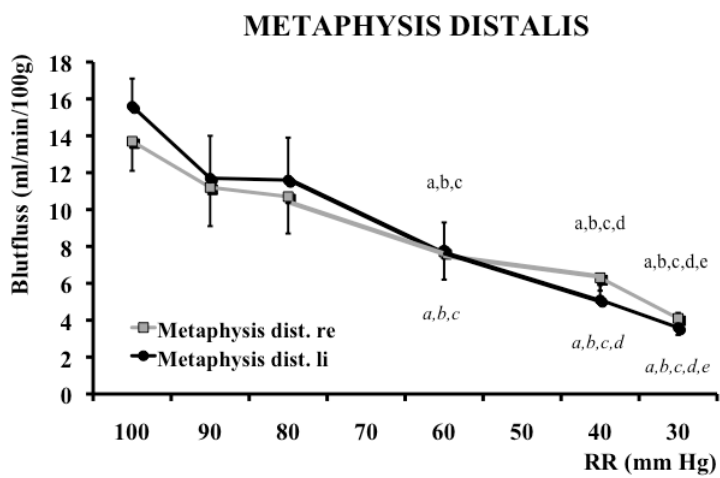


Abbildung 11f

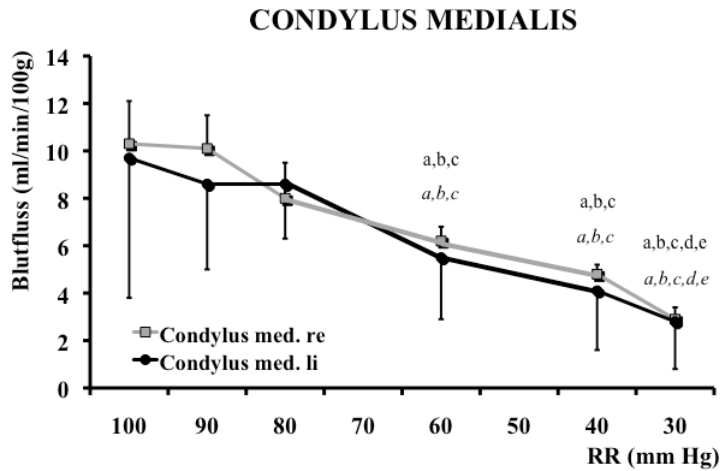


Abbildung 11g

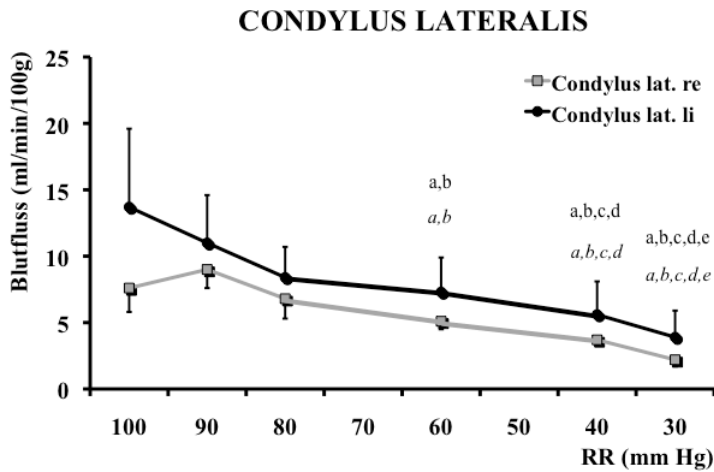


Abbildung 11h

Abbildung 11a-h: Blutflusswerte der einzelnen Regionen des Femurs, dargestellt in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 8$), bei MAD 100, 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg

Die Statistik für die linke Extremität ist kursiv angegeben, die der rechten Extremität regulär.
^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 40 mm Hg.

3.1.3.5.3 RKBF der Tibia

Innerhalb der Tibia ist die Durchblutung der proximalen Anteile deutlich höher als die der distalen Anteile. Der Blutfluss in der proximalen Metaphyse lag zwischen $11,1 \pm 1,8$ und $16,0 \pm 2,4$ ml/min/100g. Im Condylus medialis und Condylus lateralis wurden Werte zwischen $8,0 \pm 1,2$ und $9,9 \pm 1,8$ ml/min/100g gemessen. Der Blutfluss in der distalen Metaphyse lag zwischen $4,9 \pm 1,6$ und $4,6 \pm 1,4$ ml/min/100g und in der distalen Epiphyse zwischen $5,7 \pm 2,6$ und $3,9 \pm 1,1$ ml/min/100g.

Die Durchblutung der einzelnen Regionen blieb zwischen 100 und 80 mm Hg konstant und fiel anschließend statistisch signifikant ab ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Der Blutfluss aller Regionen der Tibia ist in Tabelle 7 aufgeführt.

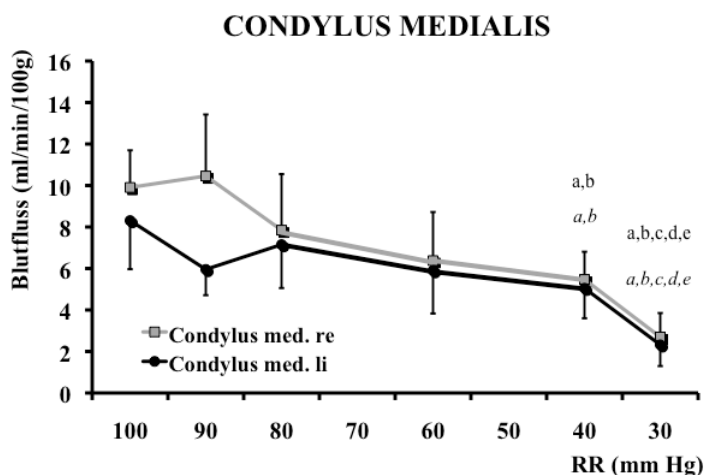


Abbildung 12a

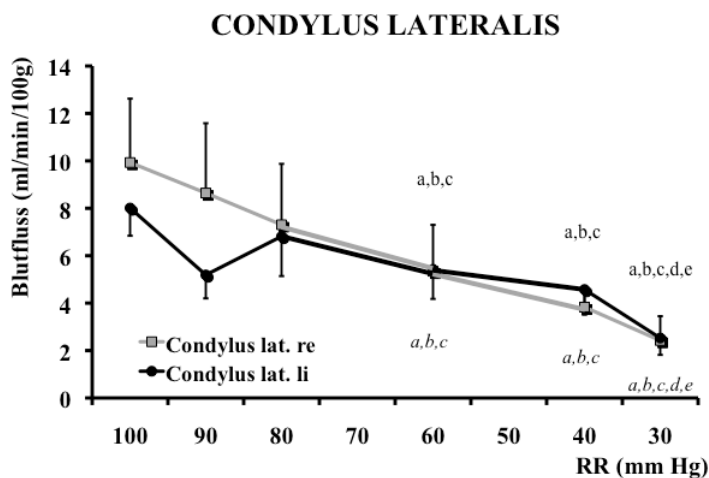


Abbildung 12b

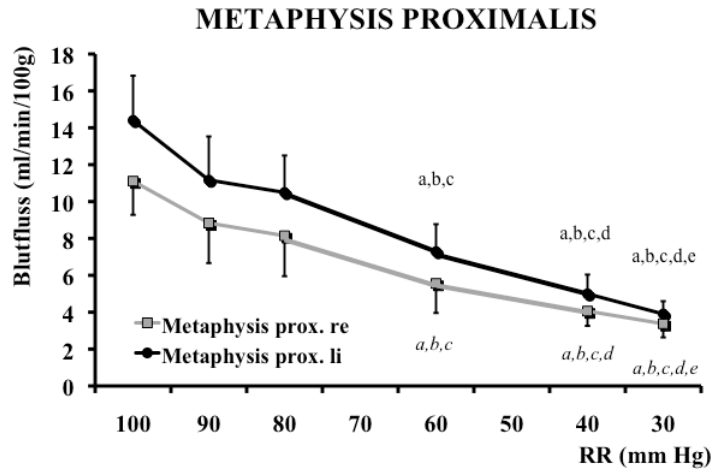


Abbildung 12c

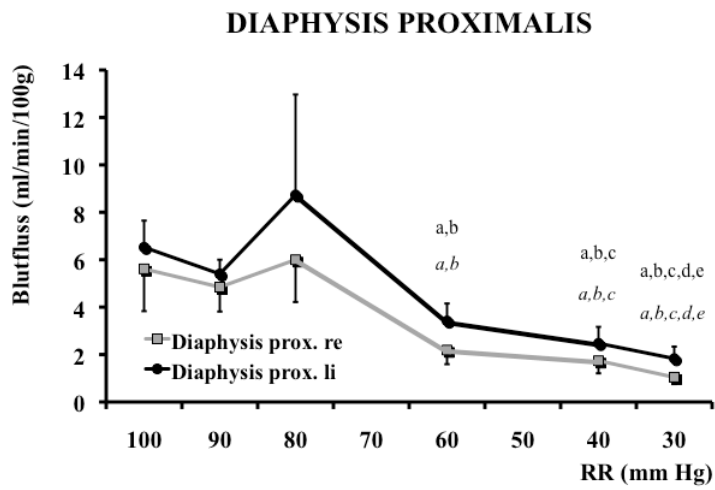


Abbildung 12d

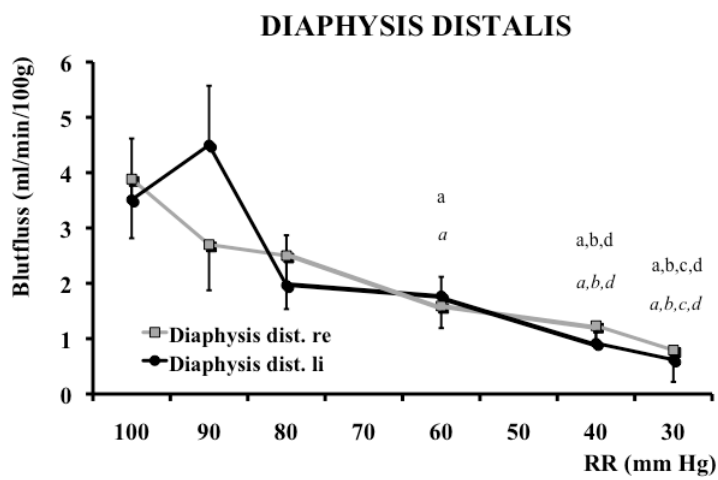


Abbildung 12e

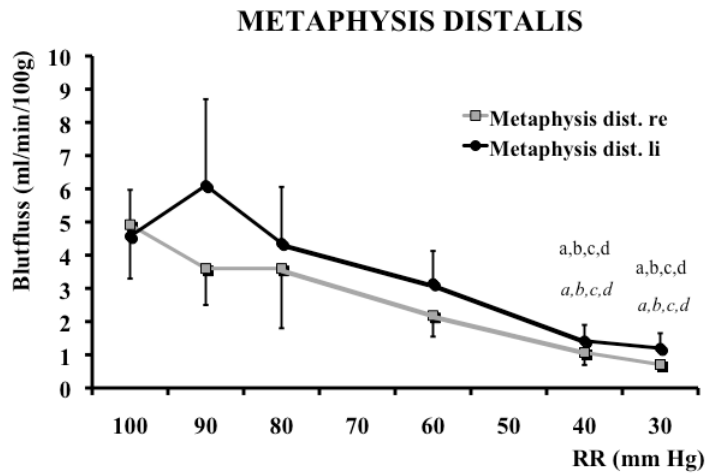


Abbildung 12f

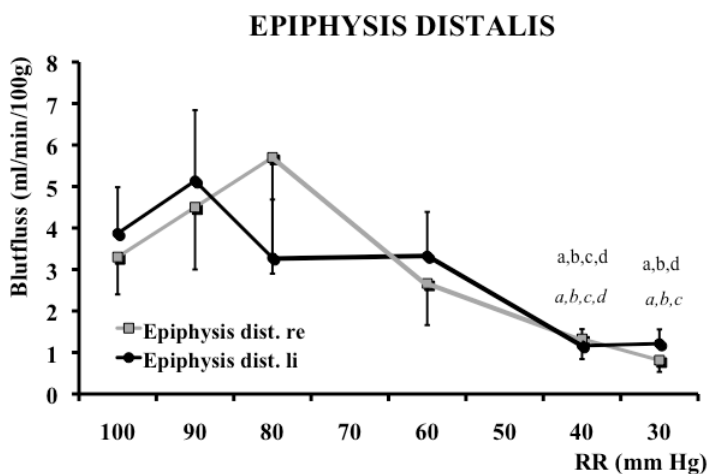


Abbildung 12g

Abbildung 12a-g: Blutfluss der einzelnen Regionen der Tibia in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 8$), bei MAD 100, 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg. Die Statistik für die linke Extremität ist kursiv angegeben, die der rechten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu MAD 40 mm Hg.

3.2 Lokale Kühlung

Durch Hinzufügen von Eiswürfeln, regelmäßige Umverteilung des Wassers und Gradzahleinstellung am Wasserbad wurde die Zieltemperatur von 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur jeweils exakt erreicht. Für die gekühlte Extremität wurde bei 32°C Wassertemperatur eine intramuskuläre Temperatur von 32,9°C ± 0,2°C, bei 26° von 28,5°C ± 0,4°C, bei 20°C von 23,1°C ± 0,3°C, bei 14°C von 17,5°C ± 0,5°C, bei 8°C von 11,1°C ± 0,4°C und bei 2°C von 4,7°C ± 0,6°C gemessen (Abbildung 13).

Die Muskeltemperatur der Kontrollseite lag bei etwa 34 °C und blieb über den gesamten Versuchszeitraum konstant ($p > 0,05$; Friedman-Test). Die Temperatur der gekühlten Seite sowie der Kontrollextremität sind detailliert in Tabelle 8 aufgeführt.

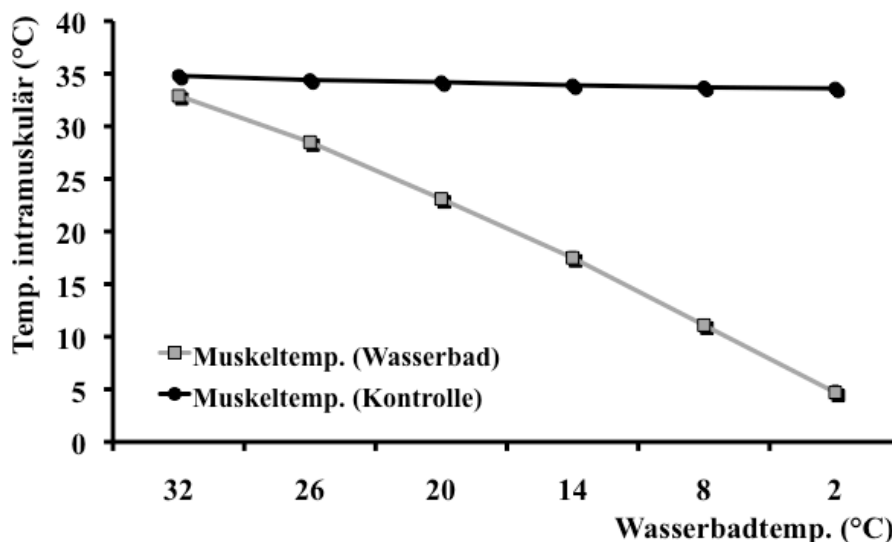


Abbildung 13: Dargestellt ist die Temperatur der gekühlten und ungekühlten Extremität (Kontrolle), gemessen zwischen *M. tibialis anterior* und anteriorer Tibiakante bei Wassertemperaturen von 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C. Dargestellt sind Mittelwert ± SEM, $n = 6$.

3.2.1 Gewicht der Proben

Zwischen den Gewichten gleicher rechter und linker Proben bestand statistisch kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$; Wilcoxon Test). Die Gewichte der Gewebeproben sind in Tabelle 9 dargestellt.

3.2.2 Blutflussmessung

3.2.2.1 Hämodynamische Parameter

Der mittlere arterielle Blutdruck und das Herzminutenvolumen blieben während der gesamten Versuchsdauer konstant. Im Gegensatz dazu fiel die Herzfrequenz bei einer Wassertemperatur von 26 Grad signifikant von $165,8 \pm 6,0$ Schlägen/min auf $136,8 \pm 4,6$ Schlägen/min ab ($p < 0,05$ Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Die erhobenen Blutgase (p_aO_2 , p_aCO_2) stiegen während des Versuchs statistisch signifikant an ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test), der Hämatokrit und der Hämoglobin Wert zeigten einen statistisch signifikanten Abfall ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Alle von uns erhobenen hämodynamischen Parameter sind in Tabelle 10 dargestellt.

3.2.2.2 Blutflusswerte in Nieren

Der Blutfluss in der rechten und linken Niere war zu jedem Messzeitpunkt gleich ($p > 0,05$; Wilcoxon Test). Im Verlauf des Versuchs kam es zu einem leichten, bei 2 °C Wassertemperatur zu einem statistisch signifikanten Abfall der Nierendurchblutung ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Bei 32 Grad Wassertemperatur betrug der Blutfluss der rechten Niere 162 ± 23 ml/min/100g (linke Niere: 159 ± 23 ml/min/100g). Die Durchblutung der rechten Niere betrug bei 2 Grad Wassertemperatur 127 ± 12 ml/min/100g, die Durchblutung der linken Niere 123 ± 12 ml/min/100g. Die Blutflusswerte beider Nieren sind in Tabelle 11 und Abbildung 14 dargestellt.

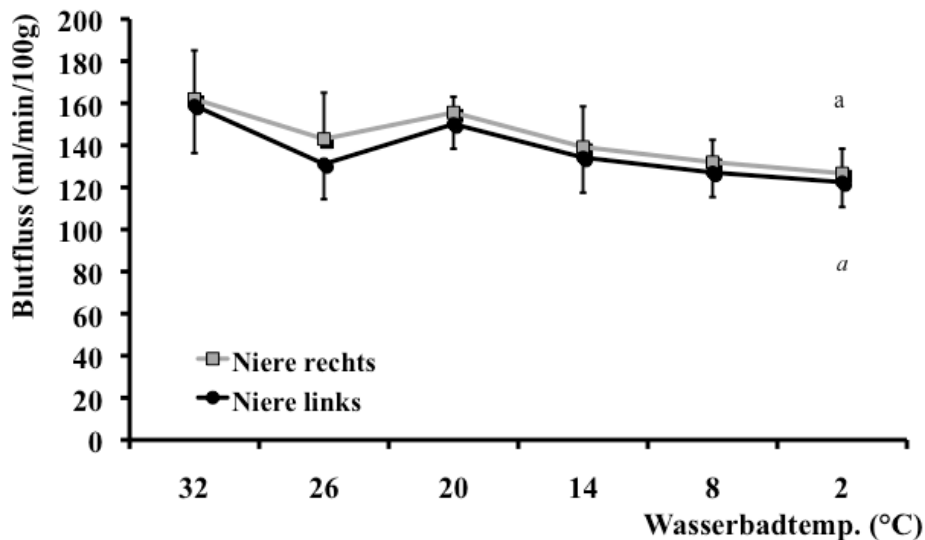


Abbildung 14: Nierendurchblutung in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur. Die Statistik für die linke Niere ist kursiv angegeben, die der rechten Niere regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C.

3.2.2.3 Blutfluss in Humerus, Femur, Tibia

Der Blutfluss im Humerus wurde unter Normalbedingungen gemessen und diente als Kontrolle. Bei einer Wassertemperatur von 32°C lag der Blutfluss im Humerus bei 13 ml/min/100g (rechts $13,0 \pm 1,5$ ml/min/100g; links $13,2 \pm 1,6$ ml/min/100g). Das Absenken der Wassertemperatur auf 20°C führte zu einem signifikanten Anstieg der Durchblutung um etwa 3 ml/min/100g (rechts $17,6 \pm 2,1$ ml/min/100g, links $16,4 \pm 1,8$ ml/min/100g) ($p < 0,05$, Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Im weiteren Verlauf blieb die Durchblutung des Humerus konstant.

Zu keinem Messzeitpunkt bestand ein Unterschied im Seitenvergleich ($p > 0,05$; Wilcoxon Test) (Abbildung 15).

Die Durchblutung des Humerus, des Femur, der Tibia und beider Unterschenkelmuskeln ist detailliert in Tabelle 11 aufgeführt.

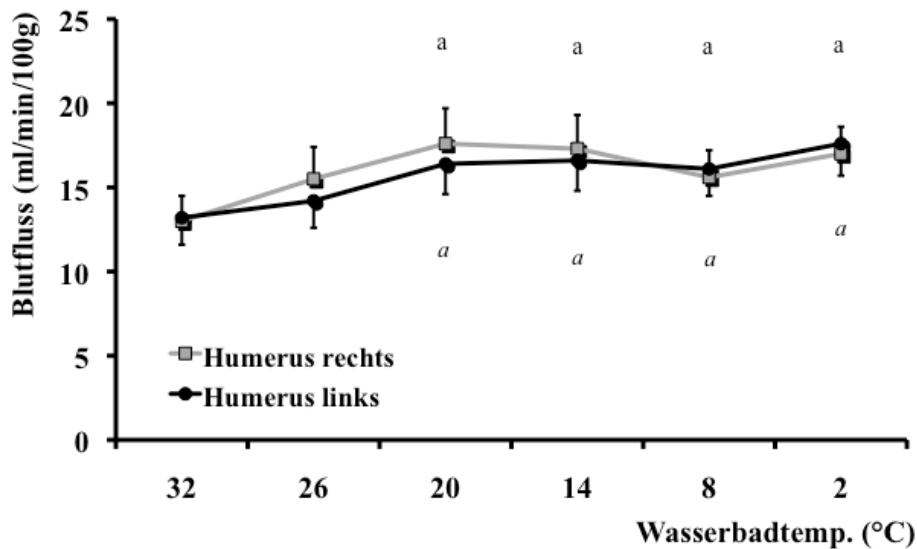


Abbildung 15: Blutfluss des Humerus in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur. Die Statistik für die linke Extremität ist kursiv angegeben, die der rechten Extremität regulär.
^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C.

Der Blutfluss des zur Hälfte im Wasserbad liegenden Femurs war bei 32°C $10,7 \pm 0,9$ ml/min/100g und blieb bis zu einer Abkühlung der Wassertemperatur auf 14°C konstant. Die weitere Abkühlung auf 8° und 2°C Wassertemperatur führte zu einem statistisch signifikanten Abfall der Durchblutung ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test).

Im Gegensatz dazu betrug der Blutfluss der nicht gekühlten Extremität (Kontrolle) bei 32°C $12,1 \pm 0,9$ ml/min/100g und stieg im weiteren Verlauf statistisch signifikant auf $17,5 \pm 1$ ml/min/100g an ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test).

Zu allen Messzeitpunkten bestand ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der gekühlten Extremität und der Kontrolle ($p < 0,05$; Wilcoxon Test) (Abbildung 16).

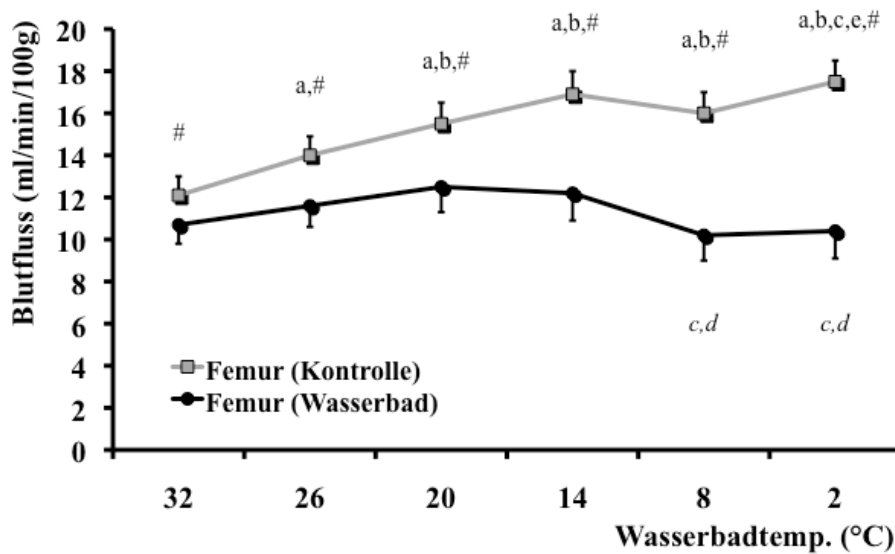


Abbildung 16: Blutfluss des Femurs in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur.

Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 14°C, ^e signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 8°C, # signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

Der Blutfluss in der Tibia war bei 32°C $6,5 \pm 0,6$ ml/min/100g. Die schrittweise Abkühlung des Wasserbads hatte eine statistisch signifikante Abnahme der Knochendurchblutung zur Folge ($p < 0,05$; Wilcoxon Test). Der Blutfluss in der Tibia betrug bei 2°C $1,1 \pm 0,1$ ml/min/100g, was einer Abnahme der Durchblutung um 91% entspricht.

Der Blutfluss in der nicht gekühlten Tibia (Kontrolle) betrug bei der ersten Messung $6,5 \pm 0,7$ ml/min/100g und stieg im weiteren Verlauf auf $8,4 \pm 0,9$ ml/min/100g an. Der Anstieg war ab einer Wassertemperatur von 14 Grad statistisch signifikant ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test).

Während bei der ersten Messung die Durchblutung noch gleich war, bestand ab der zweiten Messung ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen gekühlter und ungekühlter Tibia ($p < 0,05$; Wilcoxon Test) (Abbildung 17).

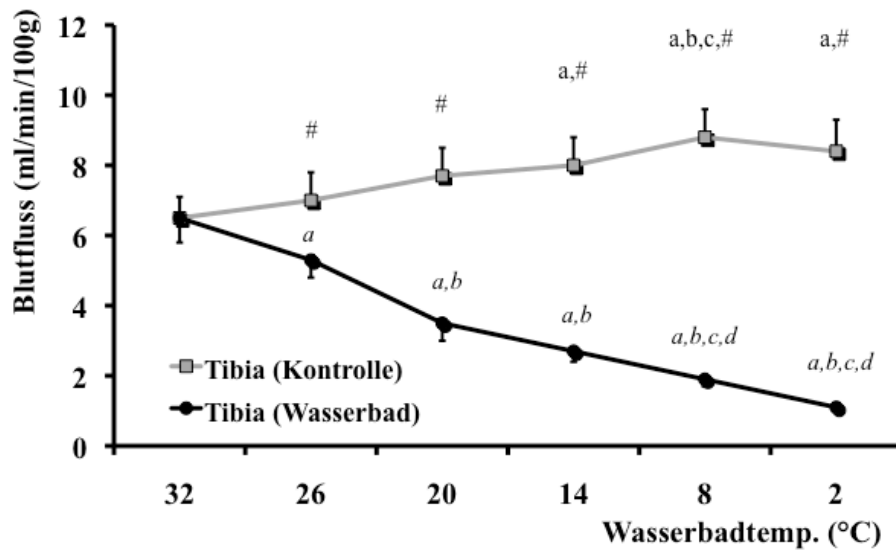


Abbildung 17: Blutfluss der Tibia in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur. Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär. ^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 14°C, ^e signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 8°C, [#] signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

3.2.2.4 Vaskulärer Widerstand

Der vaskuläre Widerstand beider Nieren blieb während des Versuchs konstant und lag bei $0,5 \pm 0,04$ mm Hg/(ml/min/100g).

Im Gegensatz dazu stieg der vaskuläre Widerstand nach Abkühlung der Röhrenknochen statistisch signifikant an ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Der vaskuläre Widerstand im gekühlten Femur stieg von $9,5 \pm 1,0$ auf $22,0 \pm 4,2$ mm Hg/(ml/min/100g), in der Tibia von $28,4 \pm 6,7$ (32°C) auf $87,9 \pm 11,3$ mm Hg/(ml/min/100g) (2°C) an.

Für die nicht gekühlte Kontrollextremität wurde ein statistisch signifikanter Abfall des Gefäßwiderstandes beobachtet ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Im Femur war der Abfall von $7,7 \pm 0,7$ auf $4,3 \pm 0,2$ mm Hg/(ml/min/100g), in der Tibia von $21,8 \pm 5,3$ auf $13,7 \pm 1,9$ mm Hg/(ml/min/100g). Der vaskuläre Widerstand des Humerus (nicht gekühlt) zeigte ebenfalls einen statistisch signifikanten Abfall von $10,3 \pm 2,6$ mm

Hg/(ml/min/100g) (links $10,5 \pm 2,5$ mm Hg/(ml/min/100g)) auf $5,5 \pm 0,7$ mm Hg/(ml/min/100g) (links $4,3 \pm 0,2$ mm Hg/(ml/min/100g)).

Der vaskuläre Widerstand beider Nieren und aller langer Röhrenknochen ist detailliert in Tabelle 12 dargestellt.

3.2.2.5 Regionaler Knochenblutfluss

3.2.2.5.1 RKBF des Humerus

Die höchsten Blutflusswerte im Humerus wurden im Tuberculum majus (zwischen $22,3 \pm 4$ ml/min/100g und $30,1 \pm 3,5$ ml/min/100g), der Metaphyse (zwischen $17,8 \pm 2,5$ ml/min/100g und $22,9 \pm 3,7$ ml/min/100g) und im Caput humeri (zwischen $13,4 \pm 2,1$ ml/min/100g und $21,4 \pm 2,1$ ml/min/100g) gemessen. Die Blutflusswerte der Diaphyse und Epiphyse waren signifikant niedriger und lagen zwischen $6,4 \pm 1,6$ ml/min/100g und $10,2 \pm 2,2$ ml/min/100g (Diaphyse) und $5 \pm 1,4$ ml/min/100g und $7,6 \pm 0,9$ ml/min/100g (Epiphyse).

Insgesamt konnte im Verlauf für alle Knochenregionen ein Anstieg der Durchblutung festgestellt werden (Abbildungen 18a-e). Ein statistisch signifikanter Anstieg der Durchblutung wurde in Caput humeri und Metaphyse festgestellt ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test).

Zu keinem Zeitpunkt lag ein Unterschied der Knochendurchblutung zwischen identischen rechten und linken Knochenproben vor ($p > 0,05$; Wilcoxon Test).

Die Blutflusswerte des Humerus sind in Tabelle 13 aufgelistet.

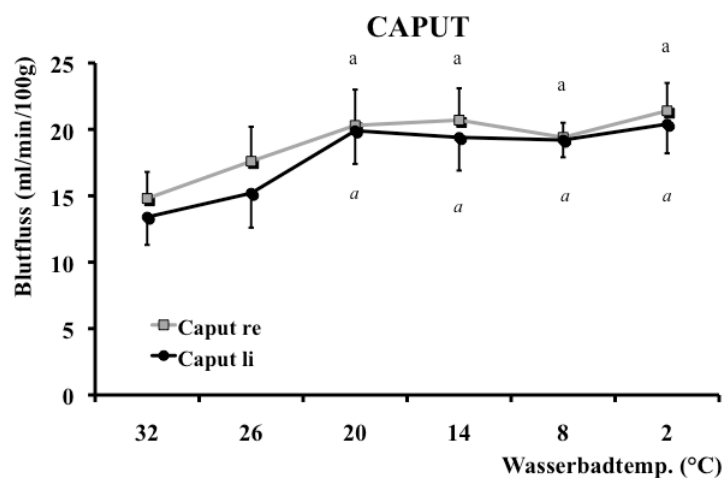


Abbildung 18a

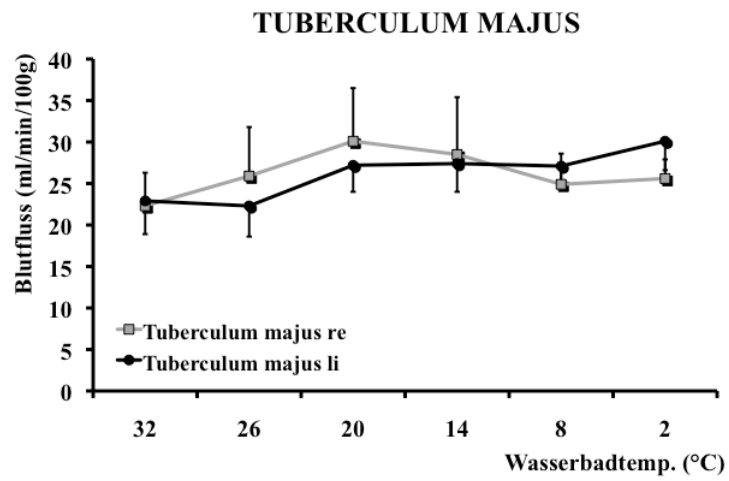


Abbildung 18b

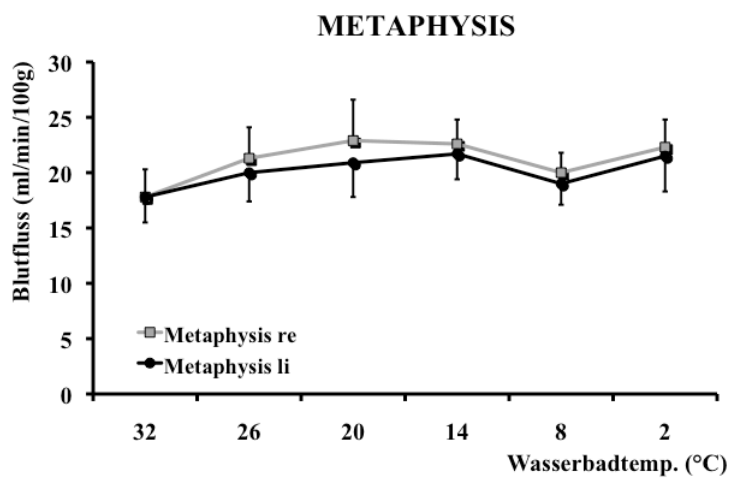


Abbildung 18c

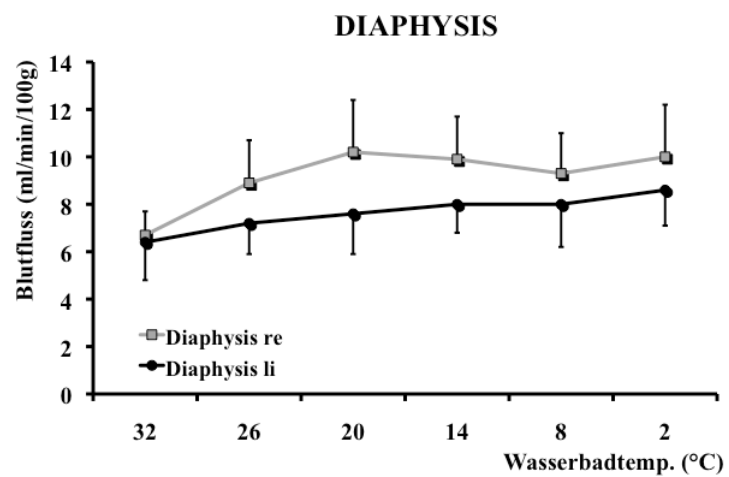


Abbildung 18d

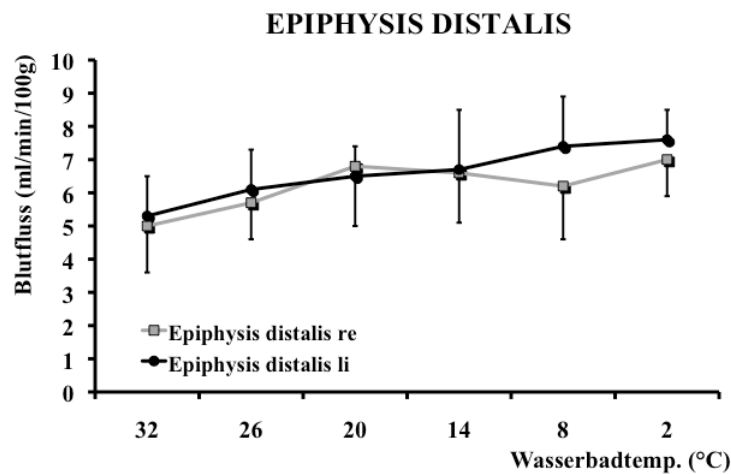


Abbildung 18e

Abbildung 18a-c: Blutfluss der verschiedenen Regionen des Humerus in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur.

Die Statistik für die linke Extremität ist kursiv angegeben, die der rechten Extremität regulär.
^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C.

3.2.2.5.2 RKBF des Femurs

Das Femur lag bis zur Diaphyse im Wasserbad. In den proximalen Regionen (Caput femoris, Trochanter major und Collum femoris) kam es zu einem Anstieg, in den distal gelegenen Regionen (Metaphysis proximalis, Diaphysis, Metaphysis distalis, Condylus medialis und lateralis) zu einem Abfall der Knochendurchblutung.

Bei einer Wassertemperatur von 32°C lag der Blutfluss im Caput femoris bei 8 ml/min/100g und stieg im weiteren Verlauf statistisch signifikant auf 14 ml/min/100g an ($p < 0,05$; Wilcoxon Test). Zu keinem Messzeitpunkt bestand ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen identischen rechten und linken Knochenproben ($p > 0,05$; Wilcoxon Test).

Den gleichen Verlauf konnten wir für das Collum femoris und den Trochanter major beobachten. Die Durchblutung im Collum femoris betrug bei 32°C 18 ml/min/100g und bei 2°C 22,5 ml/min/100g. Die Durchblutung des Trochanter major betrug bei 32°C 12 ml/min/100g und stieg auf 22 ml/min/100g (2°) an ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Der Blutfluss ist in Abbildung 19a-c dargestellt.

Der Werte des RKBF des Femur sind in Tabelle 14 aufgelistet.

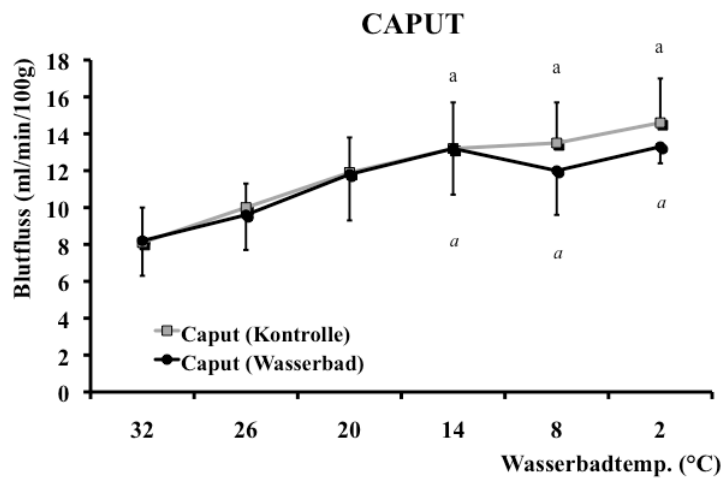


Abbildung 19a

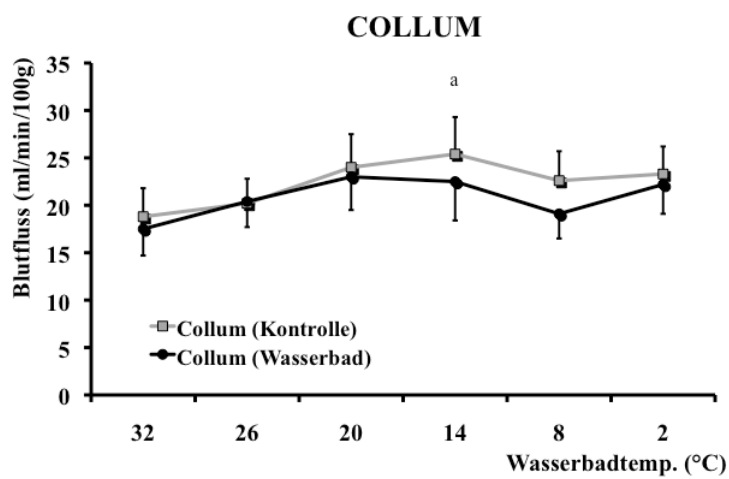


Abbildung 19b

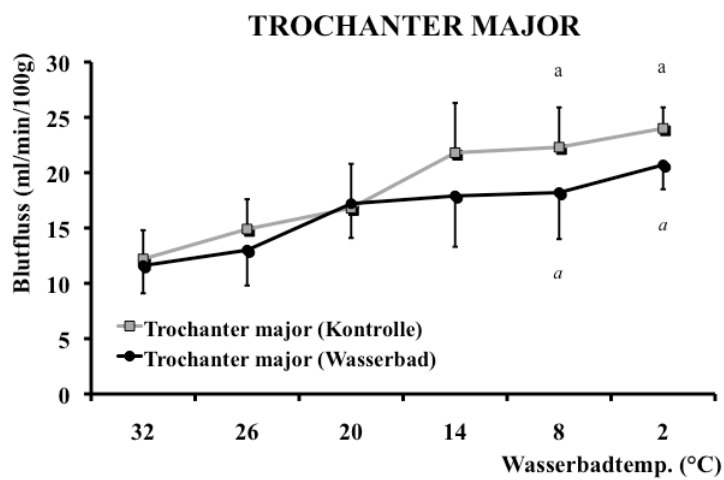


Abbildung 19c

Abbildung 19a-c: Blutfluss im Caput femoris, Collum femoris und Trochanter major in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur. Die Statistik für die linke Extremität ist kursiv angegeben, die der rechten Extremität regulär. ^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C.

In der proximalen Metaphyse des Femur blieb die Durchblutung gleich und lag zwischen $11,7 \pm 3,4$ und $16,3 \pm 4,1$ ml/min/100g ($p > 0,05$; Friedman-Test).

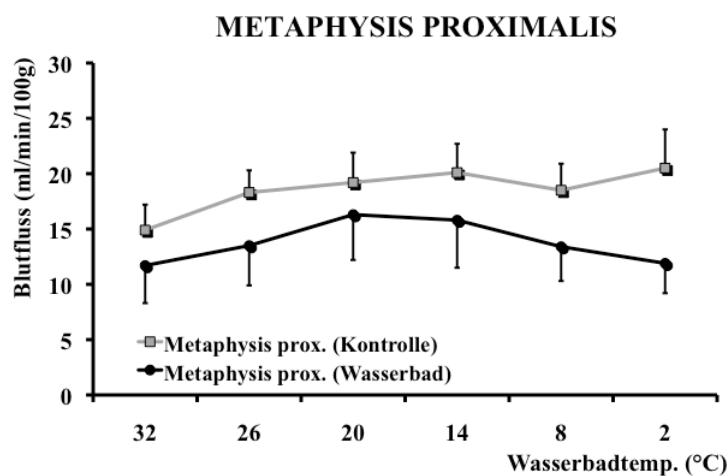


Abbildung 20: Blutfluss in der proximalen Metaphyse in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur.

In Diaphyse, der distalen Metaphyse, Condylus medialis und lateralis kam es zu einem unterschiedlich starken Abfall der Knochendurchblutung, in der Diaphyse von $9,2 \pm 1,8$ auf $7,3 \pm 1,6$ ml/min/100g, in der distalen Metaphyse von $11,2 \pm 2,2$ auf $5,5 \pm 2$ ml/min/100g, im Condylus medialis von $8,0 \pm 1,4$ auf $1,4 \pm 0,2$ ml/min/100g und im Condylus lateralis von $8,3 \pm 1,5$ auf $1 \pm 0,2$ ml/min/100g. Für Condylus medialis und lateralis wurde jeweils ab 14°C Wassertemperatur ein signifikanter Abfall der Durchblutung festgestellt ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test).

Auf der Kontrollseite blieb der Blutfluss während des Beobachtungszeitraums konstant. Es wurde jeweils ein leichter, statistisch nicht signifikanter Anstieg der Durchblutung gemessen, in der Diaphyse von $9,8 \pm 1,7$ auf $12,8 \pm 2,8$ ml/min/100g, in der distalen Metaphyse von $13,1 \pm 2,0$ auf $15,4 \pm 2,2$ ml/min/100g, im Condylus medialis von $9,8 \pm 1,8$ auf $14,2 \pm 1,4$

ml/min/100g und im Condylus lateralis von $10,4 \pm 1,7$ auf $15 \pm 1,6$ ml/min/100g ($p > 0,05$; Friedman-Test) (Abbildungen 21a-d).

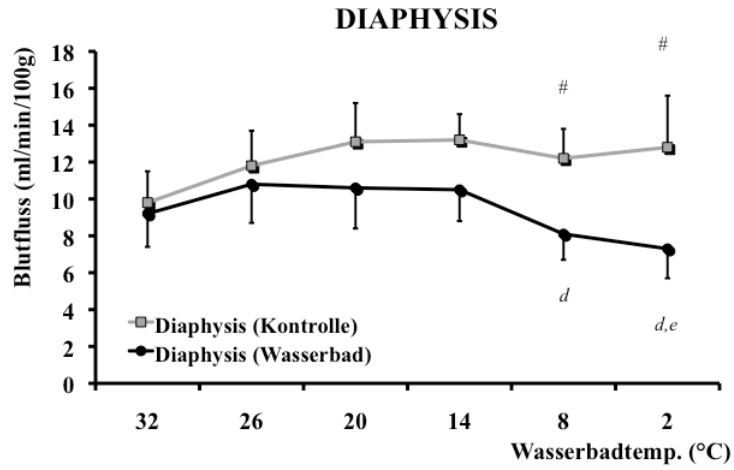


Abbildung 21a

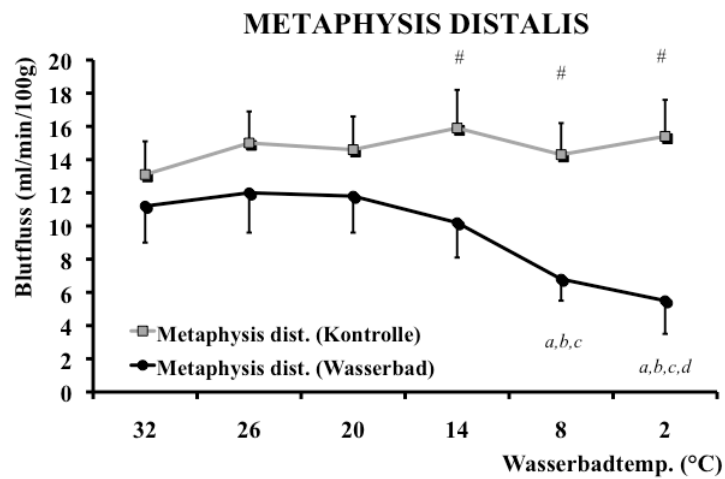


Abbildung 21b

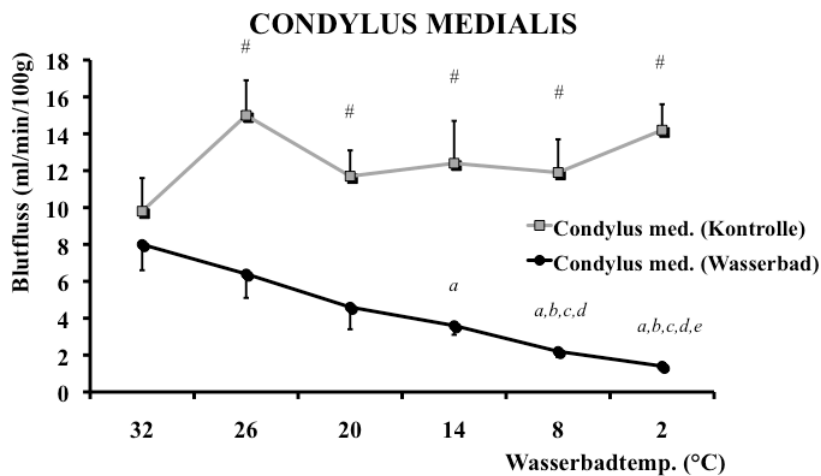


Abbildung 21c

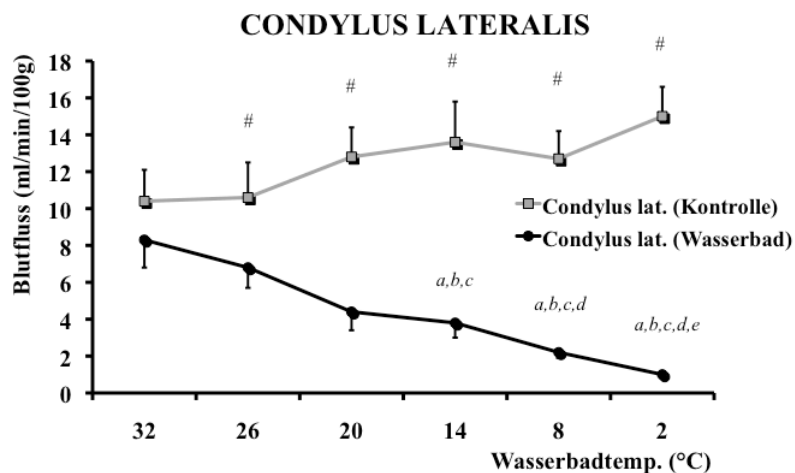


Abbildung 21d

Abbildung 21a-d: Blutfluss in der Diaphyse, distalen Metaphyse, im medialen und lateralen Femurcondylus in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur.

Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 14°C, ^e signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 8°C, # signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

3.2.2.5.3 RKBF der Tibia

Der Blutfluss der Tibia fiel mit sinkender Temperatur in allen Regionen statistisch signifikant ab ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test), während es auf der Kontrollseite in allen Regionen zu einem leichten Anstieg der Durchblutung kam.

Zu Beginn des Versuchs betrug der Blutfluss in beiden medialen Tibiakondylen 9,5 ml/min/100g. Während der Blutfluss auf der gekühlten Seite kontinuierlich bis auf $1,5 \pm 0,3$ ml/min/100g abfiel (2°C) ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test), wurde für die Kontrollseite ein statistisch signifikanter Anstieg der Durchblutung auf $13 \pm 2,3$ ml/min/100g während 8°C Wassertemperatur gemessen ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test).

Der Werte des RKBF der Tibia sind in Tabelle 15 aufgelistet.

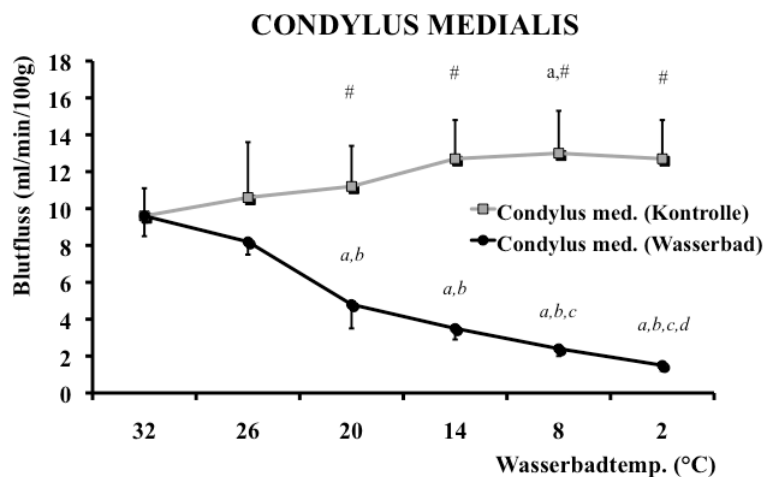


Abbildung 22: Blutfluss des medialen Tibiakondylus in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32° , 26° , 20° , 14° , 8° und 2°C Wassertemperatur.

Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C , ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 26°C , ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 20°C , ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 14°C , # signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

Für den lateralen Tibiakondylus konnten wir den gleichen Verlauf feststellen. Während der ersten Messung betrug die Durchblutung des gekühlten und ungekühlten Tibiakondylus 7 ml/min/100g. Die schrittweise Abkühlung führte zu einem statistisch signifikanten Abfall der Durchblutung auf $1,3 \pm 0,4$ ml/min/100g (2°C) ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Die Durchblutung der nicht gekühlten Extremität blieb bis zu einer Wassertemperatur von 8°C konstant ($p > 0,05$; Friedman-Test), bei einer Wassertemperatur von 2°C kam es zu einem statistisch signifikanten Anstieg der Durchblutung der Kontroll Extremität ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test) (Abbildung 23).

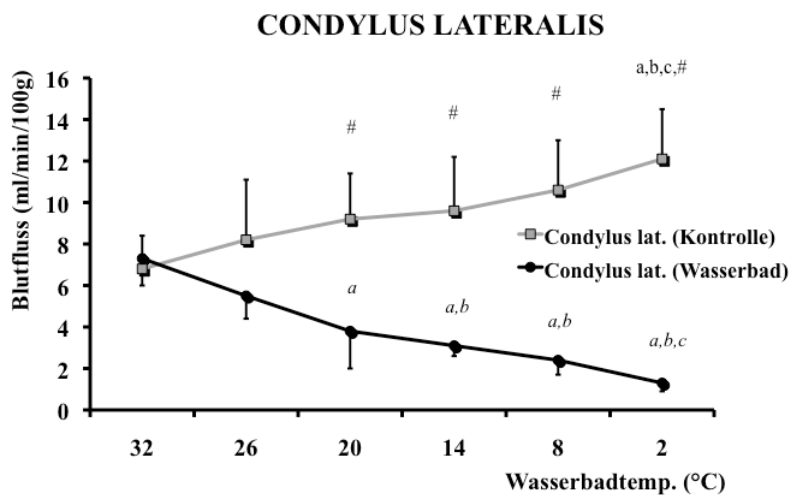


Abbildung 23: Blutfluss des lateralen Tibiakondylus in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32° , 26° , 20° , 14° , 8° und 2°C Wassertemperatur.

Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C , ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 26°C , ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 20°C , [#] signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

Der Blutfluss der proximalen Metaphyse sank statistisch signifikant von initial $12,9 \pm 1,4$ auf $1,8 \pm 0,4$ ml/min/100g (2°C) ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Die Durchblutung der Kontrollseite blieb im Versuchsverlauf konstant und lag zwischen $11,4 \pm 1,5$ ml/min/100g und $14,3 \pm 2,5$ ml/min/100g ($p > 0,05$; Friedman-Test) (Abbildung 24).

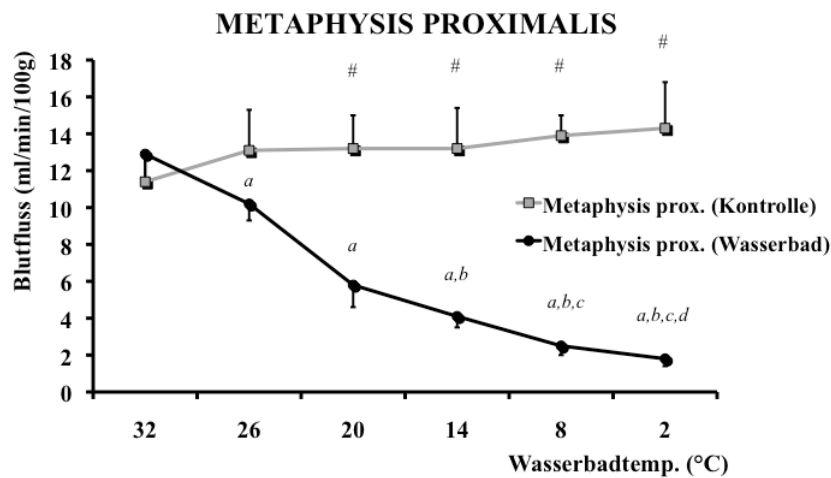


Abbildung 24: Blutfluss der proximalen Metaphyse in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur. Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 14°C, # signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

Der Blutfluss der proximalen Diaphyse fiel statistisch signifikant von $7,0 \pm 0,9$ (32°C) auf $1,1 \pm 0,3$ ml/min/100g (2°C) ($p < 0,05$; Friedman-Test, Wilcoxon Test). Die Durchblutung der Kontroll Extremität blieb mit $7,1 \pm 0,7$ ml/min/100g während der ersten Messung und $7,6 \pm 1,4$ ml/min/100g (2°C) konstant ($p > 0,05$; Friedman-Test) (Abbildung 25).

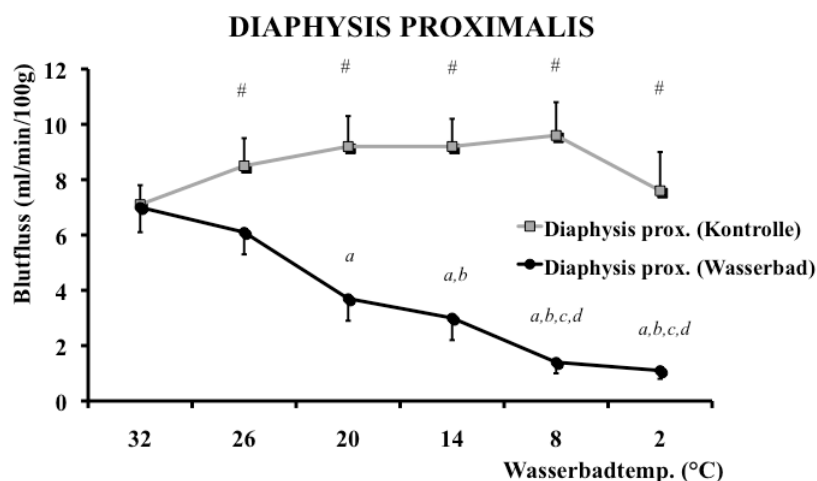


Abbildung 25: Blutfluss der proximalen Diaphyse in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur.

Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 14°C, [#] signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

Die Durchblutung der distalen Diaphyse betrug bei 32°C Wassertemperatur $2 \pm 0,5$ ml/min/100g und sank im Verlauf statistisch signifikant auf $0,5 \pm 0,2$ ml/min/100g ab ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Die Durchblutung der Kontroll Extremität lag zwischen $2,5 \pm 0,4$ ml/min/100g und $2,9 \pm 0,3$ ml/min/100 und blieb während des gesamten Versuchs konstant ($p > 0,05$; Friedman-Test) (Abbildung 26).

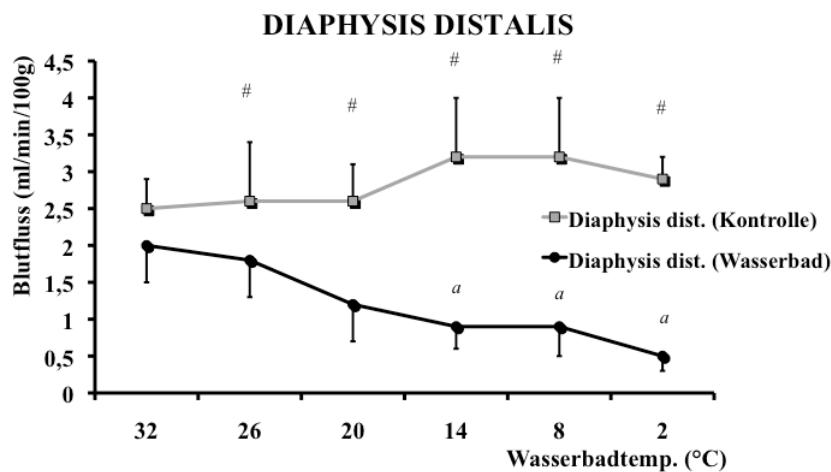


Abbildung 26: Blutfluss der distalen Diaphysis in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur.

Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C, [#] signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

Die Durchblutung der distalen Metaphyse betrug initial $3,5 \pm 1,2$ ml/min/100g und fiel dann linear ab. Bei einer Wassertemperatur von 2°C lag der Blutfluss bei $0,8 \pm 0,4$ ml/min/100g ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test).

Die Durchblutung der nicht gekühlten distalen Metaphyse blieb während der gesamten Versuchsdauer konstant ($p > 0,05$; Friedman-Test) (Abbildung 27).

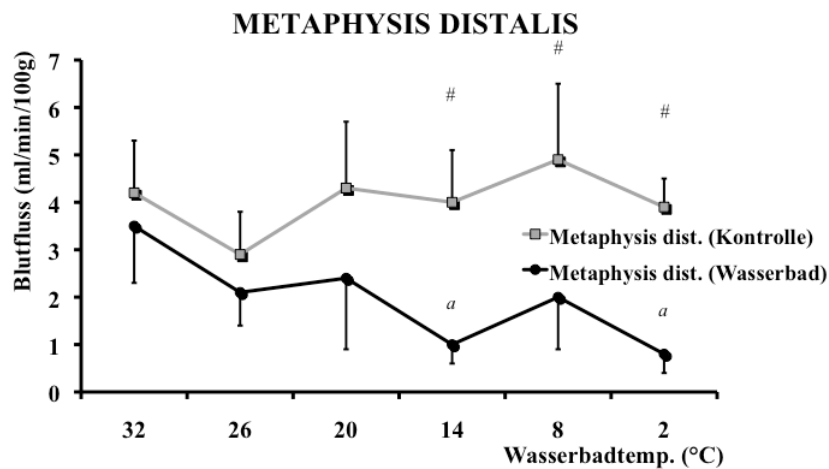


Abbildung 27: Blutfluss der distalen Metaphyse in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur.

Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C, # signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

Der Blutfluss der Epiphyse fiel statistisch signifikant von $3,2 \pm 1,2$ (32° C) auf $1,1 \pm 0,5$ ml/min/100g (2°C) ab ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test).

Für die Kontrollseite konnte ein statistisch signifikanter Anstieg der Durchblutung von $3,7 \pm 0,9$ ml/min/100g während der ersten Messung auf $6,5 \pm 1$ ml/min/100g bei der letzten Messung beobachtet werden ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test) (Abbildung 28).

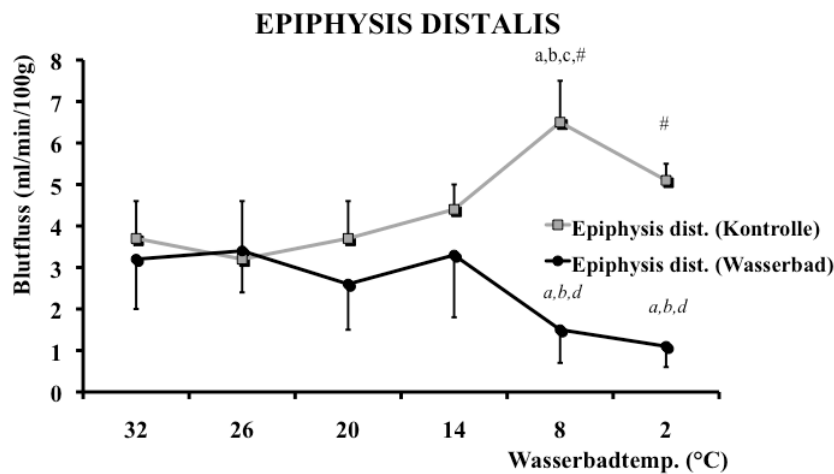


Abbildung 28: Blutfluss der distalen Epiphyse in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur.

Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 14°C, [#] signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

3.2.2.6 Muskeldurchblutung unter lokaler Kühlung

3.2.2.6.1 M. tibialis anterior

Der Blutfluss im M. tibialis anterior blieb trotz Abkühlung von 32° auf 8°C annähernd konstant und stieg bei weiterer Senkung der Temperatur auf 2°C statistisch signifikant an ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Bei der 1. Messung war die Muskeldurchblutung zwischen gekühlter Extremität und Kontroll Extremität gleich. Ab einer Wassertemperatur von 26°C bestand ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen identischen gekühlten und nicht gekühlten Proben ($p < 0,05$; Wilcoxon Test).

Der Blutfluss des ungekühlten M. tibialis anterior lag zwischen $7,8 \pm 0,7$ und $5,7 \pm 0,4$ ml/min/100g. Während der zweiten und dritten Messung (26 und 20°C Wassertemperatur) kam es vorübergehend zu einem statistisch signifikanten Abfall der Muskeldurchblutung ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test), anschließend blieb die Durchblutung konstant (Abbildung 29).

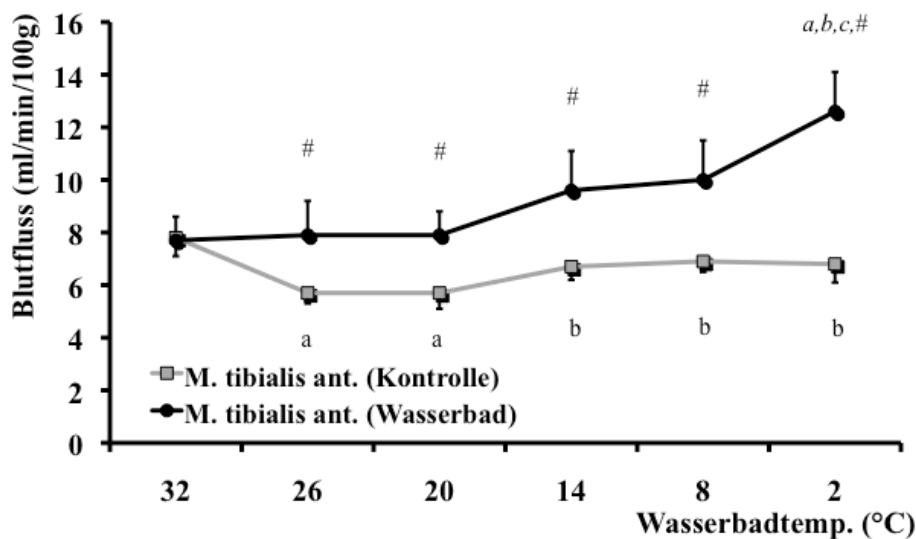


Abbildung 29: Blutfluss des *M. tibialis anterior* in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur.

Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 20°C, [#] signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

3.2.2.6.2 *M. gastrocnemius*

Der Blutfluss des gekühlten *M. gastrocnemius* blieb zwischen 32 auf 20°C konstant ($7,0 \pm 0,3$ versus $7,2 \pm 0,5$ ml/min/100g). Ab 14 °C wurde ein statistisch signifikanter Anstieg der Durchblutung festgestellt ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Bei 14°C lag der Blutfluss bei $8,5 \pm 0,6$ ml/min/100g, bei 2°C bei $9,1 \pm 0,4$ ml/min/100g.

Der Blutfluss des ungekühlten *M. gastrocnemius* lag zwischen $5,1 \pm 0,3$ ml/min/100g und $6,1 \pm 0,3$ ml/min/100g. Ähnlich der Durchblutung des *M. tibialis anterior* kam es während der zweiten und dritten Messung (26 und 20°C Wassertemperatur) zu einem statistisch signifikanten Abfall der Durchblutung ($p < 0,05$; Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Anschließend erreichte der Blutfluss wieder das Ausgangsniveau und blieb konstant.

Ab einer Wassertemperatur von 20°C bestand ein statistisch signifikanter Unterschied der Muskeldurchblutung zwischen identischen Proben der gekühlten Extremität und der Kontrollgruppe ($p < 0,05$; Wilcoxon Test) (Abbildung 30).

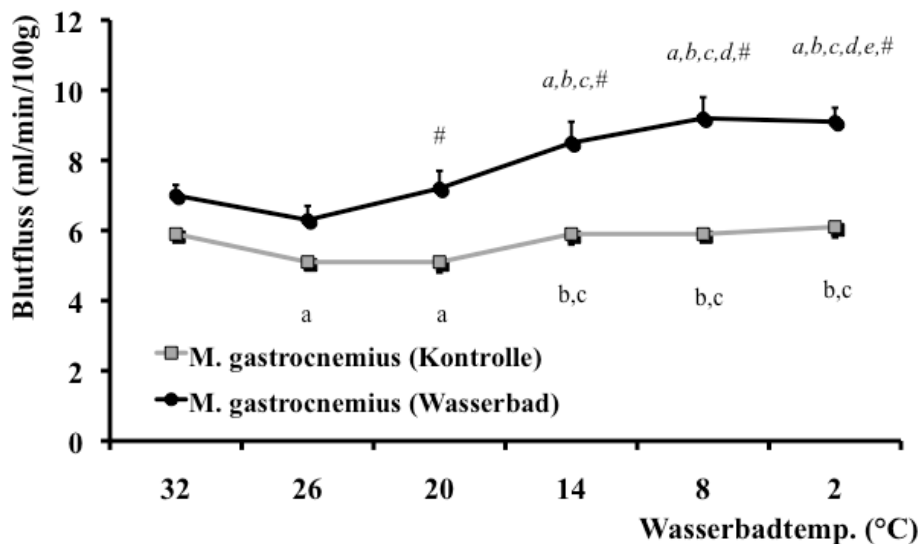


Abbildung 30: Blutfluss des *M. gastrocnemius* in ml/min/100g (Mittelwert \pm SEM, $n = 6$) bei 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C Wassertemperatur.

Die Statistik für die gekühlte Extremität ist kursiv angegeben, die der ungekühlten Extremität regulär.

^a signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 14°C, ^e signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu 8°C, # signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Seitenvergleich.

3.2.2.6.3 Vaskulärer Widerstand

Für beide gekühlten Muskeln konnte ein statistisch signifikanter Abfall des vaskulären Widerstands festgestellt werden ($p < 0,05$ Friedman-Test, Nachfolgetest Wilcoxon Test). Der vaskuläre Widerstand des *M. gastrocnemius* fiel von $11,5 \pm 0,6$ auf $7,7 \pm 0,7$ mm Hg/(ml/min/100g), der des *M. tibialis anterior* von $11,0 \pm 1,1$ auf $6,4 \pm 0,7$ mm Hg/(ml/min/100g).

Der vaskuläre Widerstand der ungekühlten Muskulatur blieb während des Versuchs konstant ($p > 0,05$; Friedman-Test).

Eine detaillierte Darstellung des vaskulären Widerstands findet sich in Tabelle 12.

4 DISKUSSION

Über die Knochendurchblutung und deren mögliche Steuerungsmechanismen ist im Vergleich zu anderen Organen nur wenig bekannt. Die Höhe der Organdurchblutung ist von systemischen und lokalen hämodynamischen Bedingungen abhängig. Die Knochendurchblutung hängt hauptsächlich vom Perfusionsdruck (systemischen Blutdruck) ab (Yu, Shim et al. 1972; Gross, Heistad et al. 1979; Syftestad and Boelkins 1980). Zusätzlich wird die Höhe der Knochendurchblutung lokal durch hormonelle, metabolische und nervale Faktoren beeinflusst (Shim, Copp et al. 1966; Gross, Heistad et al. 1979; Davis, Jones et al. 1987; Ferrell, Khoshbaten et al. 1990). Eine lokale Modulation der Knochendurchblutung ist über die Gefäßkonstriktion und Gefäßdilatation möglich, da die Gefäßwände der Aa. nutriciae aus glatten Muskelzellen bestehen (Duncan and Shim 1977; Thurston 1982; Brookes and Revell 1998).

An verschiedenen Organen wie z.B. Niere (Cupples and Braam 2007), Gastrointestinaltrakt (Lundgren 1989) und Gehirn (Greisen 2005) gibt es zum Schutz einer Minderdurchblutung den Autoregulationsmechanismus, d.h. die Fähigkeit von Organen die Durchblutung trotz Blutdruckabfall konstant zu halten (Guyton, Carrier et al. 1964).

Im Rahmen einer Validierungsstudie zur Messung der Knochendurchblutung unter Hypotension wurde von ANETZBERGER et al. vermutet, dass Knochen über einen Autoregulationsmechanismus verfügen (Anetzberger, Thein et al. 2003b). In diesem Versuchsaufbau wurden aber lediglich drei Messungen bei 90, 70 und 50 mm Hg MAD durchgeführt, so dass keine sichere Aussage über das Vorhandensein eines Autoregulationsmechanismus getroffen werden kann. Eine Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es daher, im Rahmen einer Hypotensionsstudie mit 6 Messungen zu prüfen, ob Knochen über einen Autoregulationsmechanismus der Durchblutung verfügen.

Wir konnten zeigen, dass der Blutfluss in den langen Röhrenknochen trotz erheblicher Blutdruckschwankungen zwischen 100 und 80 mm Hg MAD konstant bleibt und es erst ab 60 mm Hg zu einem signifikanten, linearen Abfall der Knochendurchblutung kommt (ANETZBERGER et al. zeigten einen konstanten Knochenblutfluss bis 70 mm Hg MAD; Anetzberger, Thein et al. 2003b). Wir können durch die vorliegenden Ergebnisse belegen, dass der Knochen ebenfalls wie andere Organe über einen Autoregulationsmechanismus der Durchblutung verfügt.

Weiterhin deuten klinische Studien darauf hin, dass Organe unter lokaler Kühlung unterschiedlich reagieren. Während es im Knochen und im Weichteilgewebe unter initialer Kühlung zu einem Abfall der Durchblutung kommt (Ho, Coel et al. 1994), zeigen einige Organe unter prolongierter Kühlung eine sekundäre Vasodilatation (Naidu and Sachdeva 1993) und einen Anstieg der Durchblutung. WILSON et al. stellten fest, dass Kühlung der Körperoberfläche von 14 Probanden zu einem Abfall des vaskulären Widerstands der Haut, der Niere und intestinaler Gefäße führt und daraus ein Anstieg der Durchblutung resultiert (Wilson, Sauder et al. 2007).

Diese Untersuchungen waren Grundlage unserer zweiten Untersuchung. Nach Operationen wird routinemäßig Eis auf das Operationsgebiet aufgelegt. Die lokale Kühlung müsste über eine Vasokonstriktion zu einem Anstieg des peripheren vaskulären Widerstands und in der Folge zu einem Abfall der Knochen- und Muskeldurchblutung führen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass Knochen- und Muskelgewebe unterschiedlich auf eine schrittweise Abkühlung reagieren. Während es im Knochen zu einem erheblichen Abfall der Durchblutung kommt, steigt der Blutfluss des M. gastrocnemius und des M. tibialis anterior an. Darüber hinaus zeigen die verschiedenen Regionen eines langen Röhrenknochens nach Abkühlung einen ähnlichen Abfall der Durchblutung. Es konnten keine Regionen identifiziert werden, bei denen bereits eine geringe Kühlung zu einem erheblichen Abfall der Durchblutung geführt hätte. Die anatomischen Regionen zeigten einen identischen Verlauf entsprechend des jeweils gesamten Röhrenknochens.

4.1 Die Mikrosphärenmethode – mögliche Fehlerquellen

Die Messung der Knochendurchblutung ist im Vergleich zu anderen Organen mit technischen Schwierigkeiten verbunden, was vor allem an der kompakten Knochensubstanz liegt. In den letzten Jahrzehnten sind unterschiedliche Verfahren zur Messung der Knochendurchblutung beschrieben und auf ihre Anwendbarkeit, Funktionalität und Validität überprüft worden. Die Mikrosphärenmethode gilt als derzeit beste Methode zur Messung der Knochendurchblutung (Anetzberger, Thein et al. 2004b). Diese Methode beruht auf dem Prinzip, dass 15 µm große sphärische Mikropartikel in den linken Ventrikel des Herzens injiziert werden. Aufgrund der turbulenten Strömung innerhalb des linken Ventrikels kommt es zu einer homogenen Verteilung der MS im Blut. Anschließend gelangen die MS in die Peripherie und bleiben auf Grund ihres größeren Durchmessers in den Gefäßen der Endstrombahn hängen. Die Anzahl der festgehaltenen Mikrosphären in den Organen ist aufgrund der homogenen Verteilung im

Blut direkt proportional zum Blutfluss. Somit kann der relative Blutfluss in allen Organen zum Zeitpunkt der Injektion berechnet werden.

Durch Ergänzung der Methode über eine Referenzblutentnahme erhält man absolute Blutflusswerte.

Im Vergleich zu anderen Verfahren hat diese Methode mehrere entscheidende Vorteile. Ein Vorteil besteht darin, dass wiederholbare Messungen am selben Tier möglich sind, da Mikrosphären mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen erhältlich sind. Im Gegensatz zu anderen Methoden ist keine chirurgische Präparation am Knochen notwendig, wodurch eine lokale Beeinflussung der Mikrozirkulation durch Manipulation am Knochen ausgeschlossen ist. Neben der absoluten Blutflussmessung kann die Heterogenität der Durchblutung innerhalb eines Röhrenknochens untersucht werden. Weitere Vorteile der Methode sind die gleichzeitige Bestimmung des HMV zur Beurteilung der hämodynamischen Situation während der Injektion. Während einer Injektion kann gleichzeitig die Durchblutung aller Organe bestimmt werden. Man erhält dadurch Referenzorgane, zusätzlich kann die Durchblutung verschiedener Organe miteinander verglichen werden.

Die MS-Methode wurde in der Vergangenheit von vielen Untersuchern auf ihre Zuverlässigkeit überprüft (Buckberg, Luck et al. 1971; Dole, Jackson et al. 1982; Glenny, Bernard et al. 1993; Anetzberger, Thein et al. 2003b). Um valide Messwerte zu erhalten und Fehler zu vermeiden, ist eine exakte Versuchsplanung und korrekte Versuchsdurchführung notwendig. Folgende Voraussetzungen wurden in unseren Versuchen berücksichtigt:

(1) ausreichende Menge an MS in den Gewebeproben

Eine wesentliche Voraussetzung der MS-Methode ist das Vorhandensein einer großen Anzahl von Mikrosphären in den Organproben. Laut BUCKBERG et al. (Buckberg, Luck et al. 1971) ist für eine valide Messung der Durchblutung eine Mindestanzahl von 384 Mikrosphären pro Probe anzustreben. Um die geforderte Anzahl von 384 Sphären pro Probe zu erreichen, wurden im Rahmen unseres Versuchsaufbaus standardisiert 1 Million Sphären pro Kilogramm Körpergewicht injiziert (Anetzberger, Thein et al. 2003b; Anetzberger, Thein et al. 2004b).

Für das von uns angewendete Dissektionsschema langer Röhrenknochen wurde von ANETZBERGER et al. (Anetzberger, Thein et al. 2003c) nachgewiesen, dass bei der Injektion von 1 Million MS in den Einzelproben ausreichend MS vorhanden sind.

Andere Autoren konnten zudem zeigen, dass je nach Gewebetyp auch weniger als 384 Sphären pro Probe akzeptable Werte lieferten. RIGGI et al. wiesen darauf hin, dass in

Bändern und Nerven 100-200 Sphären pro Probe ausreichend sind (Riggi, Wood et al. 1990). POLISSAR et al. konnten zeigen, dass weniger als 100 Sphären notwendig sind, um Flussänderungen in der Lunge von Kaninchen zu erfassen (Polissar, Stanford et al. 2000).

(2) Injektionsort der Mikrosphären

Die homogene Verteilung der Mikrosphären im Blut ist Voraussetzung dafür, dass die in der Endstrombahn der Organe festgehaltenen Sphären proportional zum Blutfluss sind. Die standardisierte Vorbereitung mittels Schütteln und Ultraschallbad dient der homogenen Durchmischung der Mikrosphären in der zu injizierenden Lösung. Die MS wurden in den linken Ventrikel injiziert, da ausschließlich hier aufgrund der turbulenten Strömung eine homogene Durchmischung der MS im Blut gewährleistet ist (Buckberg, Luck et al. 1971; Buckberg 1975; Bhattacharya and Beilin 1980; Kobrin, Kardon et al. 1984; Anetzberger, Thein et al. 2003b).

Eine seitengleiche Nierendurchblutung kann als Kontrollmöglichkeit für eine homogene Verteilung der MS herangezogen werden (Bhattacharya and Beilin 1980).

Da sich bei keiner unserer Versuchsreihen ein Unterschied zwischen dem Blutfluss der rechten und linken Niere ergab, ist ein methodischer Fehler auf Grund einer inhomogenen Verteilung unwahrscheinlich.

(3) Entnahmeort der arteriellen Referenz

Nach Injektion der Mikrosphären in den linken Ventrikel, kann die Entnahme der arteriellen Referenz über die A. carotis oder eine periphere Arterie, z.B. die A. auricularis, erfolgen. Der Entnahmeort hat keinen Einfluss auf die Messung (Buckberg, Luck et al. 1971; Syftestad and Boelkins 1980; Anetzberger, Thein et al. 2003b).

Da in der Versuchsreihe Hypotension durch Vasokonstriktion peripherer Gefäße ein möglicher Fehler durch eine periphere Entnahme nicht auszuschließen ist, wurde die Referenzblutprobe zentral über die A. carotis entnommen.

(4) Indikatorverlust

Um den systematischen Fehler durch einen Indikatorverlust zu minimieren, wurde im Institut für Chirurgische Forschung in München Großhadern eine spezielle Technik zur Probenrückgewinnung entwickelt.

Über ein automatisiertes Robotersystem (Thein, Raab et al. 2000) wird unter Verwendung eines speziellen Filtersystems, Sample Processing Unit (SPU), (Raab, Thein et al. 1999) eine

vollständige Filtration der Digestionslösung (verdaute Gewebeprobe) garantiert. Die SPU Filter bestehen aus einem ultrafeinen Filter und einem Auffanggefäß und gewährleisten eine vollständige Rückgewinnung aller Mikrosphären aus Knochen- Muskel- und Referenzblutproben. Die Fluoreszenzfarbstoffe werden durch Cellosolve, ein organisches Lösungsmittel, aus den Mikrosphären herausgelöst und im Fluoreszenzphotospektrometer gemessen. Ein systematischer Fehler, bedingt durch Überlappung benachbarter Farbspektren, kann laut SCHIMMEL et al. bei der Verwendung von sieben Farben mit unterschiedlichen Farbspektren ausgeschlossen werden (Schimmel, Frazer et al. 2001). Die Farbe Scarlet wurde jedoch nur in der Versuchsreihe „lokale Kühlung“ eingesetzt.

Einige Autoren beschrieben einen größeren Messfehler bei der Verwendung von FM, die mit der Farbe Scarlett markiert wurden (Powers, Schimmel et al. 1999; Schimmel, Frazer et al. 2001; Anetzberger 2003b); die Autoren vermuten eine Interferenz von Scarlett während des Extraktionsprozesses.

(5) Katheterfehllage

Durch eine Fehllage des Katheters zur Injektion der Mikrosphären kann es zu einer nicht homogenen Durchmischung der Mikrosphären im Blut kommen. Die permanente online Kontrolle der Lage der Katheterspitze im rechten Ventrikel schließt eine Fehllage des Katheters in unseren Versuchen aus.

(6) Shunten von MS

Das sog. „Shunten“ von Mikrosphären beschreibt die Möglichkeit, dass Sphären über arteriovenöse Anastomosen in das venöse Gefäßbett übertreten. Ein „Shunten“ von Sphären im Knochen hat eine Unterschätzung der tatsächlichen Knochendurchblutung zur Folge. Mikrosphären, die nach dem „Shunten“ anderer Organe rezirkulieren und sich anschließend im Knochengewebe verfangen führen zu einer Überschätzung der tatsächlichen Knochendurchblutung. UTLEY et al. (Utley, Carlson et al. 1974) untersuchten bereits 1974 Mikrosphären mit unterschiedlichen Durchmessern auf ihre „Shuntrate“. Sie fanden heraus, dass die „Shuntrate“ mit steigendem Durchmesser der Sphären sinkt. Für die von uns verwendeten MS mit einem Durchmesser von 15 µm liegt die „Shuntrate“ im Knochen bei etwa 1 - 4% (Gross, Heistad et al. 1979; Gregg and Walder 1980; Syftestad and Boelkins 1980; Gross, Marcus et al. 1981; Hansen, He et al. 1992; McGrory, Moran et al. 1994). Ein möglicher Messfehler durch rezirkulierende Mikrosphären ist unwahrscheinlich, da alle

Mikrosphären im Kapillarbett der Lunge festgehalten werden (Kaihara, Van Heerden et al. 1968; Wagner, Rhodes et al. 1969; Archie, Fixler et al. 1973).

Der Messfehler für die FM-Methode unter Vermeidung der möglichen Fehler und Verwendung der automatischen Probenverarbeitung liegt bei $7,5 \pm 1,5\%$ und ist vergleichbar mit anderen Organen (Anetzberger, Thein et al. 2003b).

4.2 Blutflussmessung

4.2.1 Hypotension

4.2.1.1 Knochenblutfluss unter Hypotension

Knochen erfüllen innerhalb des Organismus eine Stützfunktion. Ständige Umbauprozesse gewährleisten eine optimale Funktion, erfordern aber auch eine ständige Versorgung mit Nährstoffen über Blutgefäße. Darüber hinaus sind Knochen wesentlich an der Blutbildung beteiligt, weshalb zur Aufrechterhaltung der Organfunktion eine konstante Blutversorgung essentiell ist.

Obwohl Knochenzellen im Vergleich zu anderen Geweben gegenüber Ischämie wenig empfindlich sind (McCarthy 2006), ist ein Autoregulationsmechanismus sinnvoll.

In der Vergangenheit wurde ein Autoregulationsmechanismus der Durchblutung für die Niere (Navar 1978; Cupples and Braam 2007), den Gastrointestinaltrakt (Lundgren 1989) und das Gehirn (Greisen 2005) nachgewiesen. ANETZBERGER et al. beobachteten, dass die Knochendurchblutung unter leichter Hypotension konstant blieb (MAD 70 mm Hg im Vergleich zu MAD 90 mm Hg), wohingegen es bei weiterer Reduktion des MAD auf 50 mm Hg zu einem signifikanten Abfall der Durchblutung kam (Anetzberger, Thein et al. 2003b). Sie vermuteten daher, dass ein Autoregulationsmechanismus zugrunde liegt. Bei lediglich drei Messungen zwischen 90 und 50 mm Hg konnte dieser Verdacht jedoch lediglich geäußert und nicht abschließend nachgewiesen werden.

Zum Nachweis der Autoregulation wurde in unserem Versuchsaufbau der mittlere arterielle Blutdruck schrittweise von 100 mm Hg auf 30 mm Hg durch Entnahme von Blut gesenkt. Die während des Versuchs bestimmten hämodynamischen Parameter zeigen die typische Reaktion des Organismus auf einen akuten hypovolämischen Schock. Während zwischen 100 und 80 mm Hg die Herzfrequenz leicht anstieg und das HMV konstant blieb, kam es ab einem MAD

von 60 mm Hg zu einem statistisch signifikanten Abfall des HMV um etwa 45 % des Ausgangswertes.

Zur Überprüfung des Versuchsaufbaus wurde die Durchblutung beider Nieren gemessen. Der Blutfluss in beiden Nieren blieb trotz Senkung des MAD von 100 mm Hg auf 60 mm Hg gleich.

Erst die weitere Senkung des MAD auf 40 und 30 mm Hg hatte einen statistisch signifikanten Abfall der Nierendurchblutung zur Folge. Der Kurvenverlauf spiegelt den typischen Autoregulationsmechanismus wieder und bestätigt den korrekten Versuchsaufbau. Auch am Knochen fanden wir den gleichen Kurvenverlauf wie an der Niere.

Die Durchblutung der Röhrenknochen blieb während mäßiger Hypotension (Senkung des MAD von 100 auf 80 mm Hg) gleich. Erst eine weitere Senkung des MAD auf 60 mm Hg hatte einen statistisch signifikanten Abfall der Knochendurchblutung im Humerus, Femur und in der Tibia zur Folge. Es ist naheliegend, dass die Durchblutung über die Regulation des Gefäßwandtonus der im Knochen verlaufenden Gefäße gesteuert wird. Dafür spricht, dass der periphere vaskuläre Widerstand zwischen 100 und 80 mm Hg MAD abfiel. Die konstante Blutversorgung des Knochens wird durch eine Vasodilatation der Gefäße gewährleistet.

Diese Beobachtungen stellen eine Erweiterung der bisherigen Kenntnisse dar. MICHELSEN stellte 1968 fest, dass die Knochen versorgenden Arterien lediglich über eine schwache autoregulatorische Potenz verfügen. Diese Aussage wurde damit begründet, dass es mit steigendem Perfusionsdruck zu einer Zunahme des Blutflusses und des intramedullären Drucks kam. MICHELSEN stellte fest, dass der vaskuläre Widerstand abhängig von der Präparation der Gefäße einer großen Varianz unterworfen ist (Michelsen 1968). Da diese Untersuchungen durch direkte Blutflussmessung über Perfusion der A. nutritia durchgeführt wurden, ist eine Manipulation durch die chirurgische Präparation wahrscheinlich und die Aussagekraft der Studie speziell hinsichtlich der Autoregulationspotenz des Knochens begrenzt. Unsere Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass der Knochendurchblutung ein Autoregulationsmechanismus zugrunde liegt.

Die eingangs gestellten Fragen beantworten wir wie folgt:

(1) Die Durchblutung langer Röhrenknochen bleibt trotz leichter Blutdruckschwankungen konstant. Bei einem MAD von 100, 90 und 80 mm Hg bleibt der Blutfluss in Humerus, Femur und Tibia gleich. Erst ab einem MAD von 60 mm Hg kommt es zu einem signifikanten Abfall der Knochendurchblutung. Die Ergebnisse zeigen, dass die Knochendurchblutung neben dem Perfusionsdruck auch von lokalen Regulationsmechanismen abhängt.

(2) Die unter schrittweiser Hypotension beschriebenen Blutflussänderungen eines Röhrenknochens treffen auch für die verschiedenen Regionen innerhalb eines Knochens zu. Trotz Senkung des MAD von 100 auf 80 mm Hg bleibt die Durchblutung in allen Regionen gleich. Ab einem MAD von 60 mm Hg kommt es zu einem signifikanten Abfall der Knochendurchblutung in allen Regionen innerhalb eines Röhrenknochens. Besonders vulnerable Regionen, in denen der Blutfluss bereits bei geringem Blutdruckabfall sinkt, existieren nicht.

4.2.2 Lokale Kühlung

4.2.2.1 Knochendurchblutung unter lokaler Kühlung

In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass in vielen Organen ein Zusammenhang zwischen Umgebungstemperatur und Höhe des Blutflusses besteht (Hafner, Brauer et al. 2007; Petrofsky, Lohman et al. 2007; Breger Stanton, Lazaro et al. 2009). So konnten HO et al. während lokaler Kühlung der Kniegelenke an 21 Probanden mittels Kühlkissen eine Abnahme der Knochendurchblutung feststellen. Der Knochenblutfluss wurde indirekt mittels Szintigraphie gemessen.

Obwohl in der Klinik in der frühen postoperativen Phase routinemäßig Eis auf das Operationsgebiet aufgelegt wird, gibt es keine Studien über die Folgen der Abkühlung auf die Muskel- und Knochendurchblutung. In der vorliegenden Arbeit wurde daher erstmals die Auswirkung einer schrittweisen Absenkung der Temperatur von 32 auf 2°C auf die Knochen- und Muskeldurchblutung untersucht.

Hierzu wurde der Hinterlauf des Versuchstieres in ein Wasserbad gelegt und schrittweise durch Hinzufügen von Eis abgekühlt. Um einen möglichen Seiteneinfluss auszuschließen wurde der Hinterlauf zufällig per Münzwurf ausgewählt. Die Gegenseite diente als Kontrolle. Der Blutfluss wurde in beiden Femora, beiden Tibiae, beiden Mm. gastrocnemii und Mm. tibiales anteriores gemessen. Zusätzlich wurde zur Kontrolle der Blutfluss in beiden Humeri und beiden Nieren bestimmt.

Die Messungen erfolgten bei einer Wassertemperatur von 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C. Zu jedem Messzeitpunkt wurde die intramuskuläre Temperatur mit Hilfe einer Messsonde gemessen. Die Temperatur im Muskel lag im Mittel etwa 3 Grad über der des Wasserbades.

Der MAD und das Herzminutenvolumen blieben während der Versuchsdauer konstant. Makrohämodynamische Auswirkungen bedingt durch den Versuchsaufbau (Kühlung einer Extremität im Wasserbad) können somit ausgeschlossen werden.

Durch Abkühlung im Wasserbad kam es zu einem signifikanten Abfall der Durchblutung des Femur und der Tibia. Bei detaillierter Betrachtung konnte festgestellt werden, dass die Änderung der Durchblutung in den verschiedenen Regionen unterschiedlich ausfiel. Dies ist darauf zurück zu führen, dass es im Versuchsaufbau nicht möglich war den ganzen Hinterlauf der Versuchstiere im Wasserbad zu lagern. Durch Vermessung der Länge des Hinterlaufs und Markierung der Mitte wurde das Femur standardisiert zur Hälfte gekühlt. Die Regionen des Femurs, die vollständig im Wasserbad lagen zeigten einen statistisch signifikanten Abfall des Blutflusses zwischen 66% (Epiphysis distalis) und 88% (Condylus lateralis). Im Gegensatz dazu stieg die Durchblutung des proximalen Femurs (Caput und Collum femoris, Trochanter major) im Verlauf an. Die Durchblutung im Bereich der proximalen Metaphyse blieb konstant, der Blutfluss in der Diaphyse und distalen Metaphyse fiel leicht ab. Der Anstieg der Durchblutung in den nicht gekühlten proximalen Regionen des Femur ist möglicherweise Ausdruck einer reflektorischen Vasodilatation.

Die Tibia und alle Regionen innerhalb der Tibia hingegen zeigten einen linearen Abfall der Durchblutung.

Wir konnten somit erstmals zeigen, dass die Knochendurchblutung proportional mit dem Ausmaß lokaler Kühlung sinkt. Für alle gekühlten Knochenregionen wurde ein linearer Abfall der Durchblutung festgestellt. Während lokaler Kühlung kam es zu einem Anstieg des peripheren vaskulären Widerstands, höchstwahrscheinlich bedingt durch eine Vasokonstriktion der betroffenen Gefäße. Diese Ergebnisse bestätigen unsere Hypothese eines reduzierten Knochenblutflusses während lokaler Kühlung.

Der Blutfluss der ungekühlten Kontrollextremität stieg im Versuchsverlauf an. Der erhobene Abfall des peripheren vaskulären Widerstands ist vermutlich auf eine reflektorische Gegenregulation (Vasodilatation) ungekühlter Körperregionen zurück zu führen.

Die eingangs gestellten Fragen beantworten wir folgendermaßen:

(3) Unter schrittweiser Kühlung kommt es im Femur und der Tibia zu einem linearen Abfall der Durchblutung. Diese ist höchstwahrscheinlich Folge einer Vasokonstriktion der intraossären Gefäße. In den nicht gekühlten Knochenregionen kommt es vermutlich als Folge einer Vasodilatation zu einem leichten Anstieg der Durchblutung.

(4) Innerhalb der langen Röhrenknochen kommt es in allen Regionen zu einem linearen Abfall der Durchblutung, besonders vulnerablen Regionen innerhalb des Femur oder der Tibia gibt es nicht.

4.2.2.2 Muskeldurchblutung unter lokaler Kühlung

Über die Veränderung der absoluten Muskeldurchblutung während lokaler Kühlung ist unseres Wissens bisher in der Literatur nichts bekannt.

Lokale Abkühlung durch Eisapplikation wird zur Therapie akuter Weichteilverletzungen und Kontusionen eingesetzt. Die Abkühlung bewirkt eine Verringerung des enzymatischen Stoffwechsels und eine Reduktion der Nervenleitungsgeschwindigkeit (Drinkwater 2008). THORLACIUS et al. beschreiben, dass Kühlung des Skelettmuskels in einer Abnahme des arteriellen Gefäßdurchmessers sowie unveränderten venösen und kapillaren Gefäßdurchmessern resultiert (Thorlacius, Vollmar et al. 1998). Ferner steigt der Anteil nicht durchbluteter Kapillaren. Dies führt letztlich zu einer Abnahme der Durchblutung.

Somit stehen die Ergebnisse von THORLACIUS et al. im Widerspruch zu unseren Ergebnissen da wir unter Kühlung einen Anstieg der Muskeldurchblutung feststellen konnten. Die Durchblutung des M. gastrocnemius bleibt nach Abkühlung des Hinterlaufs auf 20°C im Vergleich zur Kontrolle zunächst konstant. Ab einer Wassertemperatur von 14°C kommt es zu einem statistisch signifikanten Anstieg der Durchblutung um etwa 30%. Auch die Durchblutung im M. tibialis anterior zeigt den gleichen Kurvenverlauf. Der Blutfluss der nicht gekühlten Muskeln bleibt im Gegensatz dazu nach einem geringen Abfall auf dem Ausgangsniveau.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Muskel- und Knochengewebe unterschiedlich auf lokale Kühlung reagieren. Unter Kühlung konnten wir im Muskel – im Gegensatz zum Knochen – einen Abfall des vaskulären Widerstands als Zeichen einer Vasodilatation der Muskel versorgenden Gefäße feststellen.

Als Erklärung der Mehrdurchblutung der Muskulatur bei gleichzeitig reduzierter Knochendurchblutung kommen 2 Modelle in Frage:

a) eine Vasokonstriktion großer Gefäße inklusive der Knochen versorgenden Gefäße bei konsekutiver Dilatation der Muskelgefäße. Zusätzlich ist eine Rekrutierung nicht durchbluteter Kapillaren denkbar.

b) eine Vasodilatation großer Gefäße bei gleichzeitiger Vasokonstriktion der Gefäße im Knochen und Dilatation der Gefäße im Muskel.

Da die von uns verwendete Mikrosphärenmethode keinen detaillierten Rückschluss auf die Gefäßwandregulation zulässt, kann der zugrunde liegende vasomotorische Mechanismus im Rahmen dieser Arbeit nicht abschließend geklärt werden.

Die gefundene Mehrdurchblutung der Muskulatur stellt vermutlich einen Schutzmechanismus des Gewebes dar, um eine Gefährdung des Muskelstoffwechsels durch Minderdurchblutung zu vermeiden. Da die Muskulatur direkt subkutan liegt bedarf sie unter Umständen eines größeren Schutzes vor Kälte als tiefer gelegenes Knochengewebe. Darüber hinaus sind Muskelzellen gegenüber Ischämie empfindlicher als Knochenzellen (McCarthy 2006). Andere Autoren konnten zudem zeigen, dass es nach kurzer Ischämiedauer bereits zu strukturellen Schäden in der Skelettmuskulatur kommt (Gonchar and Mel'man 1989; Xing, Guo et al. 1997). Die durch Kälte induzierte Vasodilatation ist ein wirksames physiologisches Prinzip zum Schutz der Muskelzelle vor einer kälteinduzierten Minderdurchblutung. Dies konnten auch BERGERSEN et al. im Rahmen einer klinischen Untersuchung an 21 Probanden zeigen. Eine 30-45 Minuten andauernde Kühlung der Finger bei 3°C führte zu einer Vasodilatation (Bergersen, Hisdal et al. 1999).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Hypothese geprüft, ob lokale Kühlung zu einer Abnahme der Muskeldurchblutung führt. Im Gegensatz zum Knochen konnten wir jedoch im Muskel keinen Abfall der Durchblutung feststellen. Vielmehr kam es in unserem Versuchsaufbau zu einem Anstieg der Durchblutung.

Somit kann die Hypothese einer reduzierten Muskeldurchblutung während lokaler Kühlung nicht bestätigt werden.

Die zu Beginn formulierten Fragen können abschließend wie folgt beantwortet werden:

(5) Im Muskel kommt es unter schrittweiser Kühlung zu einem signifikanten Anstieg der Durchblutung. In der Kontrollextremität kam es während moderater Kühlung (26-20°C Wassertemperatur) zu einem Abfall der Durchblutung. Bei weiterer Kühlung erreichte die Muskeldurchblutung wieder das Ausgangsniveau.

(6) Die Durchblutung des M. gastrocnemius und des M. tibialis anterior verhielt sich unter Kühlung im Wasserbad identisch. Beide Muskeln zeigten einen Anstieg der Durchblutung während Kühlung im Wasserbad.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Es ist nahe liegend, dass die Knochendurchblutung sowohl vom Blutdruck als auch von der Temperatur abhängt. Vorangegangene Untersuchungen zur Knochendurchblutung unter veränderten hämodynamischen Bedingungen lassen vermuten, dass Knochen über einen Autoregulationsmechanismus verfügen, d.h. die Durchblutung auch bei Blutdruckänderungen gleich bleibt. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, die Hypothese zu prüfen, dass Knochen einen Autoregulationsmechanismus der Durchblutung besitzen.

Postoperativ wird routinemäßig aufgrund eines analgetischen Effektes Eis auf das Operationsgebiet gelegt. Obwohl die Kühlung sicher auch die Knochen- und Muskeldurchblutung beeinflusst, gibt es nur wenige experimentelle Studien, die sich mit dieser Thematik befassen.

Von anderen Geweben weiß man, dass eine Kühlung zu einem Abfall der Organdurchblutung führt. Daher wurde die Hypothese aufgestellt, dass die schrittweise Abkühlung einer Extremität im Wasserbad einen Abfall der Durchblutung im Knochen- und Muskelgewebe zur Folge hat. In der ersten Versuchsreihe wurde bei 8 New Zealand Kaninchen der mittlere arterielle Blutdruck (MAD) initial auf 100 mm Hg angehoben und anschließend durch Blutentnahme auf Zielwerte von 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg eingestellt. Die Messungen erfolgten zu den jeweiligen Blutdruckwerten mittels fluoreszierender Mikrosphären. In der zweiten Versuchsreihe wurde bei 6 New Zealand Kaninchen ein Hinterlauf in einem Wasserbad von 32° auf 2°C abgekühlt. Die Gegenseite diente als Kontrolle.

Nach Versuche wurden beide Humeri, Femora und Tibiae und als Referenzorgan die Niere entnommen und nach festgelegtem Dissektionsschema in Proben aufgeteilt. In Versuchsreihe 2 wurden zusätzlich beide Mm. tibiales und gastrocnemii entnommen. Die Anzahl der Sphären in den einzelnen Organproben und in der arteriellen Referenzprobe wurde indirekt über die automatisierte Messung der Fluoreszenzintensität mittels Robotersystem bestimmt. Abschließend wurde der Blutfluss für jede Probe berechnet und die Daten statistisch ausgewertet.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass der Blutfluss in Femur, Tibia und Humerus trotz einer Senkung des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAD) von 100 auf 80 mm Hg gleich bleibt. Bei weiterer Senkung des Blutdrucks kommt es dann zu einem Abfall der Durchblutung in allen Röhrenknochen. Die Niere, die als Kontrollorgan herangezogen wurde, zeigt den

gleichen Verlauf. Somit können wir erstmals belegen, dass auch der Knochen zur Aufrechterhaltung seiner Funktion einen Autoregulationsmechanismus besitzt der die konstante Durchblutung bei Blutdruckschwankungen garantiert.

Unter lokaler Abkühlung kam es in den Röhrenknochen zu einem signifikanten Abfall der Durchblutung und zu einem Anstieg des peripheren vaskulären Widerstands. Das gleiche gilt für alle Regionen innerhalb eines Röhrenknochens. Die ungekühlte Gegenseite zeigte einen Anstieg der Durchblutung und einen Abfall des peripheren vaskulären Widerstands. Während der Blutfluss im Knochen mit sinkender Temperatur abfällt, bleibt der Blutfluss in der Muskulatur zunächst gleich und steigt dann trotz weiterer Senkung der Temperatur signifikant an. Der Blutfluss in den ungekühlten Muskeln der Gegenseite zeigt initial einen kurzzeitigen Abfall, gefolgt von einem Wiederanstieg auf Ausgangsniveau.

Schlussfolgerung: Wir konnten erstmals nachweisen, dass die Knochendurchblutung einem Autoregulationsmechanismus unterliegt. Während leichter Blutdruckschwankungen (mäßiger Hypotension) kann der Knochenblutfluss unabhängig vom systemischen Blutdruck konstant gehalten werden. Unter forcierter Hypotension (Schock) kommt es in Abhängigkeit vom Perfusionsdruck zu einem linearen Abfall des Knochenblutflusses.

Auch die Temperatur beeinflusst die Knochen- und Muskeldurchblutung. Unter Abkühlung sinkt der Blutfluss im Knochen, wohingegen es im Muskelgewebe zu einem signifikanten Anstieg der Durchblutung kommt. Die Mehrdurchblutung dient einerseits zum Schutz der Muskulatur, die sehr empfindlich auf eine kältebedingte Ischämie reagiert, andererseits trägt die Mehrdurchblutung der Muskulatur möglicherweise zur Aufrechterhaltung der Körperkerntemperatur unter Kühlung bei.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- Aalto, K. and P. Slati (1984). "Blood flow in rabbit osteotomies studied with radioactive microspheres." Acta Orthop.Scand. **55**: 637-639.
- Albinus, B. S. (1754). *Academicarum Annotationum Liber III*, Leiden, J & H Verbeek.
- Albrektsson, T. (1985). "Microvascular anatomy and function of bone." Acta Orthop.Scand. **56**: 167-168.
- Amarasekera, H. W., Costa, M. L., Foguet, P., Krikler, S. J., Prakash, U., Griffin, D. R. (2008). "The blood flow to the femoral head/neck junction during resurfacing arthroplasty: a comparison of two approaches using Laser Doppler flowmetry." J.Bone Joint Surg.[Br.] **90**: 442-445.
- Anetzberger, H. (2003a). Messung der regionalen Knochendurchblutung mit Hilfe fluoreszierender Mikrosphären - Validierung und Etablierung der Methode am Knochen im Akut- und Langzeitversuch. Habilitationsschrift.
- Anetzberger, H., Thein, E., Loffler, G., Messmer, K. (2003b). "Validity of fluorescent microspheres method for bone blood flow measurement during intentional arterial hypotension." J.Appl.Physiol. **95**: 1153-1158.
- Anetzberger, H., Thein, E., Walli, A. K., Messmer, K. (2003c). "Determination of regional bone blood flow by means of fluorescent microspheres using an automated sample-processing procedure." Eur.Surg.Res. **35**: 337-345.
- Anetzberger, H., Thein, E., Loffler, G., Messmer, K. (2004a). "Fluorescent microsphere method is suitable for chronic bone blood flow measurement: a long-term study after meniscectomy in rabbits." J.Appl.Physiol. **96**: 1928-1936.
- Anetzberger, H., Thein, E., Maier, M., Birkenmaier, C., Messmer, K. (2004b). "Fluorescent microspheres are reliable for serial bone blood flow measurements." Clin.Orthop.Relat.Res. **427**: 241-248.

- Archie, J. P., Jr, Fixler, D. E., Ulliyot, D. J., Hoffman, J. I., Utley, J. R., Carlson, E. L. (1973). "Measurement of cardiac output with and organ trapping of radioactive microspheres." J.Appl.Physiol. **35**: 148-154.
- Arrica, M., Bissonnette, B. (2007). "Therapeutic hypothermia." Semin.Cardiothorac.Vasc.Anesth. **11**: 6-15.
- Aukland, K., Bower, B. F., Berlinger, R. W. (1964). "Measurement of local blood flow with hydrogen gas." Circ.Res. **14**: 10-22.
- Bergersen, T. K., Hisdal, J., Walloe, L. (1999). "Perfusion of the human finger during cold-induced vasodilatation." Am.J.Physiol. **276**: 731-737.
- Bhattacharya, J., Beilin, L. J. (1980). "Left ventricular cannulation for microsphere estimation of rabbit renal blood flow." Am.J.Physiol. **238**: 736-739.
- Breger Stanton, D. E., Lazaro, R., Macdermid, J. C. (2009). "A systematic review of the effectiveness of contrast baths." J.Hand Ther. **22**: 57-70.
- Brookes, M., Revell W. J. (1998). Blood supply of bone, Springer Verlag, London.
- Buckberg, G. D., Luck, J. C., Payne, D. B., Hoffmann, J. I., Archie, J. P., Fixler, D. E. (1971). "Some sources of error in measuring regional blood flow with radioactive microspheres." J.Appl.Physiol. **31**: 598-604.
- Buckberg, G. D. (1975). "Studies of regional coronary flow using radioactive microspheres." Ann.Thorac.Surg. **20**: 46-51.
- Cina-Tschumi, B. (2007). "Evidence-based impact of cryotherapy on postoperative pain, swelling, drainage and tolerance after orthopedic surgery." Pflege **20**: 258-267.
- Cofield, R. H., Bassingthwaighe, J. B., Kelly, P. (1975). "Strontium-85 extraction during transcapillary passage in tibial bone." J.Appl.Physiol **39**: 596-602.

- Copp, T. H., Shim, S. S. (1965). "Extraction ratio and bone clearance of Sr 85 as a measure of effective bone blood flow." Circ.Res. **16**: 461-467.
- Cumming, J. D. (1962). "A study of blood flow to bone and marrow by a method of venous effluent collection." J.Physiol. **162**: 13-20.
- Cupples, W. A., Braam B. (2007). "Assessment of renal autoregulation." Am.J.Physiol.Renal Physiol. **292**: 1105-1123.
- Davis, R. F., Jones, L. C., Hungerford D. S. (1987). "The effect of sympathectomy on blood flow in bone. Regional distribution and effect over time." J.Bone Joint Surg.[Am.] **69**: 1384-1390.
- Davis, S. L., Shibasaki, M., Low, D. A., Cui, J., Keller, D. M., Purdue, G. F., Hunt, J. L., Amoldo, B. D., Kowalske, K. J., Crandall, C. G (2008). "Cutaneous vasoconstriction during whole-body and local cooling in grafted skin five to nine months postsurgery." J.Burn Care Res. **29**: 36-41.
- De Bruyn, P. P., Breen, P. C., Thomas, T. B. (1970). "The microcirculation of the bone marrow." Anat.Rec. **168**: 55-68.
- Deussen, A. (2007). "Hyperthermia and hypothermia. Effects on the cardiovascular system." Anaesthesist **56**: 907-911.
- Dines, K. C., Mizisin, A. P., Jorge, M. C., Nunag, K. D., Kalichman, M. W. (1997). "Effects of body and hindlimb temperature on laser Doppler blood flow and vascular conductance in rat sciatic nerve and skeletal muscle." J.Neurol.Sci. **148**: 7-13.
- Dole, W. P., Jackson, D. L., Rosenblatt, J. I., Thompson, W. L. (1982). "Relative error and variability in blood flow measurements with radiolabeled microspheres." Am.J.Physiol. **243**: 371-378.
- Domenech, R. J., Hoffman, J. I. E., Noble, M. I. M., Saunders, K. B., Henson, J. R., Subijanto, S. (1968). "Total and regional coronary blood flow measured by radioactive microspheres in conscious and anesthetized dogs." Circ.Res. **25**: 581-596.

- Drinkwater, E. (2008). "Effects of peripheral cooling on characteristics of local muscle." Med.Sport Sci. **53**: 74-88.
- Duncan, C. P., Shim, S. S. (1977). "J. Edouard Samson Address: the autonomic nerve supply of bone. An experimental study of the intraosseous adrenergic nervi vasorum in the rabbit." J.Bone Joint Surg.[Br.] **59**: 323-330.
- Ferrell, W. R., Khoshbaten, A., Angerson, W. J. (1990). "Responses of bone and joint blood vessels in cats and rabbits to electrical stimulation of nerves supplying the knee." J.Physiol. **431**: 677-687.
- Freedman, R. R., Sabharwal, S. C., Moten, M., Migaly, P. (1992). "Local temperature modulates alpha 1- and alpha 2-adrenergic vasoconstriction in men." Am.J.Physiol. **263**: 1197-1200.
- Frick, H., Leonhardt, H., Starck, D. (1992). Taschenlehrbuch der gesamten Anatomie Band 1. Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag.
- Glenny, R. W., Bernard, S., Brinkley, M (1993). "Validation of fluorescent-labeled microspheres for measurement of regional organ perfusion." J.Appl.Physiol. **74**: 2585-2597.
- Gonchar, M. G., Mel'man, E. P. (1989). "Morphologic changes in limb muscles under conditions of acute experimental ischemia and recirculation." Arkh.Patol. **51**: 64-70.
- Gregg, P. J., Walder, D. N. (1980). "Regional distribution of circulating microspheres in the femur of the rabbit." J.Bone Joint Surg.[Br.] **62**: 222-226.
- Greisen, G. (2005). "Autoregulation of cerebral blood flow in newborn babies." Early Hum.Dev. **81**: 423-428.
- Gross, P. M., Heistad, D. D., Marcus, M. L. (1979). "Neurohumoral regulation of blood flow to bones and marrow." Am.J.Physiol. **237**: 440-448.

- Gross, P. M., Marcus, M. L., Heistad, D. D. (1981). "Measurement of blood flow to bone and marrow in experimental animals by means of the microsphere technique." J.Bone Joint Surg.[Am.] **63**: 1028-1031.
- Guyton, A. C., Carrier, O., Jr., Walker, J. R. (1964). "Evidence for Tissue Oxygen Demand as the Major Factor Causing Autoregulation." Circ.Res. **15**: SUPPL:60-69.
- Hackenbroich, C., Wagner, S., Windhagen, H., Meyer-Lindenberg, A. (2008). "Continual measurement of intramedullary blood perfusion with laser Doppler flowmetry in intact and osteotomized tibiae of rabbits." Lab.Anim. **42**: 305-319.
- Hafner, H. M., Brauer K., Eichner, M., Koch, I., Heinle, H., Rocken, M., Strolin, A. (2007). "Wavelet analysis of skin perfusion in healthy volunteers." Microcirculation **14**: 137-144.
- Hale, S. L., Alker, K. J., Kloner, R. A. (1988). "Evaluation of non radioactive, colored microspheres for measurement of regional myocardial blood flow in dogs." Circulation **78**: 428-434.
- Hansen, E. S., He, S. Z., Hjortdal, V. E., Kjolseth, D., Soballe, K. (1992). "Distribution of blood flow in normal and arthritic joints. Role of arteriovenous shunting studied in growing dogs." Am.J.Physiol. **262**: 38-46.
- Havers, C. (1691). *Osteologia Nova, or some New Observations of the Bones, communicated to the Royal Society in several Disorders.* London.
- Hildebrand, F., van Griensven, M., Giannoudis, P., Schreiber, T., Frink, M., Probst, C., Grotz, M., Krettek, C., Pape, H. C. (2005). "Impact of hypothermia on the immunologic response after trauma and elective surgery." Surg.Technol.Int. **14**: 41-50.
- Ho, S. S., Coel, M. N., Kagawa, R., Richardson, A. B. (1994). "The effects of ice on blood flow and bone metabolism in knees." Am.J.Sports Med. **22**: 537-540.

- Hodges, G. J., Kosiba, W. A., Zhao, K., Alvarez, G. E., Johnson, J. M. (2007). "The role of baseline in the cutaneous vasoconstrictor responses during combined local and whole body cooling in humans." Am.J.Physiol.Heart Circ.Physiol. **293**: 3187-3192.
- Hubler, M., Souders, J. E., Shade, E. D., Hlastala, M. P., Polissar, N. L., Glenny, R. W. (1999). "Validation of fluorescent-labeled microspheres for measurement of relative blood flow in severely injured lungs." J.Appl.Physiol. **87**: 2381-2385.
- Huet, O., Kinirons, B., Dupic, L., Lajeunie, E., Mazoit, J. X., Benhamou, D., Vicaut, E., Duranteau, J. (2007). "Induced mild hypothermia reduces mortality during acute inflammation in rats." Acta Anaesthesiol.Scand. **51**: 1211-1216.
- Hupel, T. M., Schemitsch, E. H., Kowalski, M. J., Swiontkowski, M. F. (1999). "In vitro evaluation of a Laser Doppler Flowmetry implantable fibre system: the effect of flow velocity and concentration on perfusion assessment." Int.J Surg.Investig. **1**: 29-37.
- Johnson, J. M., Yen, T. C., Zhao, K., Kosiba, W. A. (2005). "Sympathetic, sensory, and nonneuronal contributions to the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling." Am.J.Physiol.Heart Circ.Physiol. **288**: 1573-1579.
- Jong De, M. K., Van den Bos, G. C., Elzinga, G. (1977). "Changes of microsphere density with time in myocardial infarcts in dogs." Bibl.Anat. **15**: 147-150.
- Kaihara, S., Van Heerden, P. D., Migita, T., Wagner, H. N., Jr. (1968). "Measurement of distribution of cardiac output." J.Appl.Physiol. **25**: 696-700.
- Kane, W. J. (1968). "Fundamental concepts in bone-blood flow studies." J.Bone Joint Surg.[Am.] **50**: 801-811.
- Kellogg, D. L., Jr. (2006). "In vivo mechanisms of cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans during thermoregulatory challenges." J.Appl.Physiol. **100**: 1709-1718.

- Kelly, P. J., Janes, J. M., Peterson, L. F. A. (1959). "The effect of arterio-venous fistulae on the vascular pattern of the femora of immature dogs: a micro-angiographic study." J.Bone Joint Surg.[Am.] **41**: 1101-1108.
- Kiaer, T., Dahl, B., Lausten, G. S. (1993). "The relationship between inert gas wash-out and radioactive tracer microspheres in measurement of bone blood flow: effect of decreased arterial supply and venous congestion on bone blood flow in an animal model." J.Orthop.Res. **11**: 28-35.
- Kobrin, I., Kardon, M. B., Oigman, W., Pegram, B. L., Frohlich, E. D. (1984). "Role of site of microsphere injection and catheter position on systemic and regional hemodynamics in rat." Am.J.Physiol. **247**: 35-39.
- Koc, M., Tez, M., Yoldas, O., Dizen, H., Gocmen, E. (2006). "Cooling for the reduction of postoperative pain: prospective randomized study." Hernia **10**: 184-186.
- Kowallik, P., Schulz, R., Guth, B. D., Schade, A., Paffhausen, W., Gross, R., Heusch, G. (1991). "Measurement of regional myocardial blood flow with multiple colored microspheres." Circulation **83**: 974-982.
- Lausten, G. S., Kiaer, T., Dahl, B. (1993). "Laser Doppler flowmetry for estimation of bone blood flow: studies of reproducibility and correlation with microsphere technique." J.Orthop.Res. **11**: 573-580.
- Lundgren, O. (1989). "Autoregulation of intestinal blood flow: physiology and pathophysiology." J.Hypertens.Suppl. **7**: 79-84.
- Makowski, E. L., Meschia, G., Droegemueller, W., Battaglia, F. C. (1968). "Measurement of umbilical arterial blood flow to the sheep placenta and fetus in utero. Distribution to cotyledons and the intercotyledonary chorion." Circ.Res. **23**: 623-631.
- McCarthy, I. (2006). "The physiology of bone blood flow: a review." J.Bone Joint Surg.[Am.] **88** 4-9.

- McCuskey, R. S., McClugage, S. G., Younker, W. J. (1971). "Microscopy of living bone marrow in situ." Blood **38**: 87-95.
- McGrory, B. J., Moran, C. G., Bronk, J., Weaver, A. L., Wood, M. B. (1994). "Canine bone blood flow measurements using serial microsphere injections." Clin.Orthop. **303**: 264-279.
- Melnyk, M., Henke, T., Claes, L., Augat, P. (2008). "Revascularisation during fracture healing with soft tissue injury." Arch.Orthop.Trauma Surg. **128**: 1159-1165.
- Michelsen, K. (1968). "Hemodynamics of the bone marrow circulation." Acta Physiol.Scand. **73**: 264-280.
- Naidu, M., Sachdeva, U. (1993). "Effect of local cooling on skin temperature and blood flow of men in Antarctica." Int.J.Biometeorol. **37**: 218-221.
- Navar, L. G. (1978). "Renal autoregulation: perspectives from whole kidney and single nephron studies." Am.J.Physiol. **234**: 357-370.
- Neutze, J. M., Wyler, F., Rudolph, A. M. (1968). "Use of radioactive microspheres to assess distribution of cardiac output in rabbits." Am.J.Physiol. **215**: 486-495.
- Notzli, H. P., Swiontkowski, M. F., Thaxter, S. T., Carpenter, G. K., Wyatt, R. (1989). "Laser Doppler flowmetry for bone blood flow measurements: helium-neon laser light attenuation and depth of perfusion assessment." J.Orthop.Res. **7**: 413-424.
- Petrofsky, J., Lohman, E., 3rd, Lee, S., de la Cuesta, Z., Labial, L., Iouciulescu, R., Moseley, B., Korson, R., Al Maly, A. (2007). "Effects of contrast baths on skin blood flow on the dorsal and plantar foot in people with type 2 diabetes and age-matched controls." Physiother.Theory Pract. **23**: 189-197.
- Polissar, N. L., Stanford, D. C., Glenny, R. W. (2000). "The 400 microsphere per piece "rule" does not apply to all blood flow studies." Am.J.Physiol. Heart Circ.Physiol. **278**: 16-25.

- Powers, K. M., Schimmel, C., Glenny, R. W., Bernards, C. M. (1999). "Cerebral blood flow determinations using fluorescent microspheres: variations on the sedimentation method validated." J.Neuroscience Methods **87**: 159-165.
- Prinzen, F. W., Glenny, R. W. (1994). "Developments in non-radioactive microsphere techniques for blood flow measurement." Cardiovasc.Res. **28**: 1467-1475.
- Raab, S., Thein, E., Harris, A. G., Messmer, K. (1999). "A new sample-processing unit for the fluorescent microsphere method." Am.J.Physiol. **276**: 1801-1806.
- Riggi, K., Wood, M. B., Ilstrup, D. M. (1990). "Dose-dependent variations in blood flow evaluation of canine nerve, nerve grafts, tendon, and ligament tissue by the radiolabelled microsphere technique." J.Orthop.Res. **8**: 909-916.
- Rogers, W. M., Gladstone, H. (1950). "Vascular foramina and arterial supply of the distal end of the femur." J.Bone Joint Surg.[Am.] **32**: 867-874.
- Rudolph, A. M., Heymann, M. A. (1967). "The circulation of the fetus in utero. Methods for studying distribution of blood flow, cardiac output and organ blood flow." Circ.Res. **21**: 163-184.
- Rutherford, R. B., Kaihara, S., Schwentker, E. P., Wagner, H. N., Jr. (1968). "Regional blood flow in hemorrhagic shock by the distribution of labeled microspheres." Surg.Forum **19**: 14-15.
- Schimmel, C., Frazer, D., Huckins, S. R., Glenny, R. W. (2000). "Validation of automated spectrofluorimetry for measurement of regional organ perfusion using fluorescent microspheres." Comput.Methods Programs Biomed. **62**: 115-125.
- Schimmel, C., Frazer, D., Glenny, R. W. (2001). "Extending fluorescent microsphere methods for regional organ blood flow to 13 simultaneous colors." Am.J.Physiol.Heart Circ.Physiol. **280**: 2496-2506.

- Schmitt, K. R., Diestel, A., Lehnardt, S., Schwartlander, R., Lange, P. E., Berger, F., Ullrich, O., Abdul-Khaliq, H. (2007). "Hypothermia suppresses inflammation via ERK signaling pathway in stimulated microglial cells." J.Neuroimmunol. **189**: 7-16.
- Schoutens, A., Bergmann, P., Verhas, M (1979). "Bone blood flow measured by 85 Sr microspheres and bone seeker clearances in the rat." Am.J.Physiol. **236**: 1-6.
- Schröder, D., Pässler, H. H. (1994). "Combination of cold and compression after knee surgery. A prospective randomized study." Knee Surg.Sports Traumatol.Arthrosc. **2**: 158-165.
- Shim, S. S., Copp, D. H., Patterson, F. P. (1966). "Bone blood flow in the limb following complete sciatic nerve section." Surg.Gynecol.Obstet. **123**: 333-335.
- Shim, S. S., Copp, D. H., & Patterson, F. P. (1967). "An indirect method of bone blood-flow measurement based on the bone clearance of a circulating bone-seeking radioisotope." J.Bone Joint Surg.[Am.] **49**: 693-702.
- Shymkiw, R. C., Zernicke, R. F., Forrester, K. R., Bray, R. C. (2001). "Evaluation of laser-Doppler perfusion imaging for measurement of blood flow in cortical bone." J.Appl.Physiol. **90**: 1314-1318.
- Spalteholz, K. W. (1914). Über das Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten und seine theoretischen Bedingungen. Nebst Anh.: Über Knochenfärbung. 2. erw. Aufl., Leipzig, Hirzel S.
- Staikou, C., Paraskeva, A., Drakos, E., Anastassopoulou, I., Papaioannou, E., Donta, I., Kontos, M. (2011). "Impact of Graded Hypothermia on Coagulation and Fibrinolysis." J.Surg.Res. **167**: 125-130
- Sugimoto, H., Monafu, W. W., Shimazaki, S. (1987). "Elevated regional sciatic nerve blood flow in hypothermic anesthetized rats." Exp.Neurol. **97**: 383-390.
- Swiontkowski, M. F., Tepic, S., Perren, S. M., Moor, R., Ganz, R., Rahn, B. A. (1986). "Laser Doppler flowmetry for bone blood flow measurement: correlation with microsphere

- estimates and evaluation of the effect of intracapsular pressure on femoral head blood flow." J.Orthop.Res. **4**: 362-371.
- Swiontkowski, M. F., Schlehr, F., Collins, J. C., Sanders, R., Pou, A. (1988). "Comparison of two laser Doppler flowmetry systems for bone blood flow analysis." Calcif.Tissue Int. **43**: 103-107.
- Syftestad, G. T., Boelkins, J. N. (1980). "Effect of hemorrhage on blood flow to marrow and osseous tissue in conscious rabbits." Am.J.Physiol. **238**: 360-364.
- Tan, W., Riggs, K. W., Thies, R. L., Rurak, D. W. (1997). "Use of an automated fluorescent microsphere method to measure regional blood flow in the fetal lamb." Can.J.Physiol.Pharmacol. **75**: 959-968.
- Thein, E., Raab, S., Harris, A. G., Messmer, K. (2000). "Automation of the use of fluorescent microspheres for the determination of blood flow." Comput.Methods Programs Biomed. **61**: 11-21.
- Thein, E., Raab, S., Harris, A. G., Kleen, M., Habler, O., Meisner, F., Messmer, K. (2002). "Comparison of regional blood flow values measured by radioactive and fluorescent microspheres." Eur.Surg.Res. **34**: 215-223.
- Thorlacijs, H., Vollmar, B., Westermann, S., Torkvist, L., Menger, M. D. (1998). "Effects of local cooling on microvascular hemodynamics and leukocyte adhesion in the striated muscle of hamsters." J.Trauma **45**: 715-719.
- Thurston, T. J. (1982). "Distribution of nerves in long bones as shown by silver impregnation." J.Anat. **134**: 719-728.
- Tothill, P., Hooper, G., McCarthy, I. D., Hughes, S. P. (1985). "The variation with flow-rate of the extraction of bone-seeking tracers in recirculation experiments." Calcif.Tissue Int. **37**: 312-317.
- Trueta, J., Harrison, M. H. M. (1953). "The normal vascular anatomy of the femoral head in adult man." J.Bone Joint Surg.[Br.] **35**: 442-461.

- Trueta, J. (1963). "The role of the vessels in osteogenesis." J.Bone Joint Surg.[Br.] **45**: 402-418.
- Tucker, F. R. (1949). "Arterial supply to the femoral head and its clinical importance." J.Bone Joint Surg.[Br.] **31**: 82-93.
- Utley, J., Carlson, E. L., Hoffman, J. I., Martinez, H. M., Buckberg, G. D. (1974). "Total and regional myocardial blood flow measurements with 25 micron, 15 micron, 9 micron, and filtered 1-10 micron diameter microspheres and antipyrine in dogs and sheep." Circ.Res. **34**: 391-405.
- Van den Brande, P., De Coninck, A., Lievens, P. (1997). "Skin microcirculation responses to severe local cooling." Int.J.Microcirc.Clin.Exp. **17**: 55-60.
- Van Oosterhout, M. F., Prinzen, F. W., Sakurada, S., Glenny, R. W., Hales, J. R. (1998). "Fluorescent microspheres are superior to radioactive microspheres in chronic blood flow measurements." Am.J.Physiol. **275**: 110-115.
- Volkman, A. W. (1828). *Dissertatio de animi affectionibus*. Habilitationsschrift. Leipzig, Breitkopf, Härtel
- Wagner, H. N., Jr., Rhodes, B. A., Sasaki, Y., Ryan, J. P. (1969). "Studies of the circulation with radioactive microspheres." Invest.Radiol. **4**: 374-386.
- Walter, B., Bauer, R., Gaser, E., Zwiener, U. (1997). "Validation of the multiple colored microsphere technique for regional blood flow measurements in newborn piglets." Basic Res.Cardiol. **92**: 191-200.
- Warren, D. J., Ledingham, J. G. G. (1974). "Measurement of cardiac output distribution using microspheres. Some practical and theoretical considerations." Cardiovasc.Res. **8**: 570-581.
- Whiteside, L. A., Lesker, P. A., Simmons, D. J. (1977). "Measurement of regional bone and bone marrow blood flow in the rabbit using the hydrogen washout technique." Clin.Orthop. **122**: 340-346.

- Wilson, T. E., Sauder, C. L., Kearney, M. L., Kuipers, N. T., Leuenberger, U. A., Monahan, K. D., Ray, C. A. (2007). "Skin-surface cooling elicits peripheral and visceral vasoconstriction in humans." J.Appl.Physiol. **103**: 1257-1262.
- Winet, H. (1989). "A horizontal intravital microscope-plus-bone chamber system for observing bone microcirculation." Microvasc.Res. **37**: 105-114.
- Winet, H. (1996). "The role of microvasculature in normal and perturbed bone healing as revealed by intravital microscopy." Bone **19**: 39-57.
- Xing, X., Guo, E., Xu, F. (1997). "Influence of reperfusion following ischemia on microvessels and microcirculation of skeletal muscle." Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke.Za Zhi. **11**: 242-246.
- Yu, W., Shim, S. S., Hawk, H. E. (1972). "Bone circulation in hemorrhagic shock. An experimental study." J.Bone Joint Surg.[Am.] **54**: 1157-1166.

7 TABELLEN

Probe	Gewicht [g] re	Gewicht [g] li
Caput humeri	0,84 ± 0,07	0,91 ± 0,08
Tuberculum majus	0,91 ± 0,09	1,05 ± 0,08
Metaphysis	1,05 ± 0,09	1,05 ± 0,09
Diaphysis	1,05 ± 0,13	1,73 ± 0,11
Epiphysis distalis	1,73 ± 0,05	1,71 ± 0,06

Tabelle 1a

Probe	Gewicht [g] re	Gewicht [g] li
Caput femoris	0,46 ± 0,02	0,51 ± 0,02
Collum femoris	0,47 ± 0,05	0,47 ± 0,06
Trochanter major	0,73 ± 0,02	0,79 ± 0,05
Metaphysis proximalis	2,10 ± 0,09	2,06 ± 0,16
Diaphysis	3,35 ± 0,21	3,13 ± 0,18
Metaphysis distalis	1,91 ± 0,09	1,89 ± 0,09
Condylus medialis	1,63 ± 0,07	1,67 ± 0,09
Condylus lateralis	1,67 ± 0,09	1,66 ± 0,06

Tabelle 1b

Probe	Gewicht [g] re	Gewicht [g] li
Condylus medialis	1,07 ± 0,06	1,04 ± 0,06
Condylus lateralis	1,04 ± 0,07	1,12 ± 0,07
Metaphysis distalis	1,12 ± 0,09	1,16 ± 0,08
Diaphysis proximalis	1,16 ± 0,08	1,68 ± 0,09
Diaphysis distalis	1,68 ± 0,14	1,60 ± 0,09
Metaphysis distalis	1,60 ± 0,12	2,56 ± 0,07
Epiphysis distalis	2,56 ± 0,04	2,54 ± 0,05

Tabelle 1c

Tabelle 1a-c. Probengewichte beider Humeri (a), Femora (b) und Tibiae (c).

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SEM, (n = 8). Statistisch besteht kein Unterschied zwischen rechten und linken Gewebeproben.

Parameter	MAD 100 mm Hg	MAD 90 mm Hg	MAD 80 mm Hg	MAD 60 mm Hg	MAD 40 mm Hg	MAD 30 mm Hg
MAD (mm Hg)	97 ± 3	89 ± 1 ^a	80 ± 0 ^{a,b}	60 ± 1 ^{a,b,c}	40 ± 0 ^{a,b,c}	30 ± 1 ^{a,b,c}
HF (min ⁻¹)	164 ± 11	174 ± 14	166 ± 17	156 ± 21 ^b	153 ± 16 ^{b,c}	138 ± 20 ^{b,c,d,e}
HMV (ml x min ⁻¹ x kg ⁻¹)	219 ± 64	202 ± 46	169 ± 47	139 ± 47 ^b	96 ± 24 ^{b,c,d}	65 ± 42 ^{b,c,d}
Hb (g/dl)	9,2 ± 2,1	8,3 ± 2,1	7,9 ± 1,7	7,9 ± 2,0 ^c	7,5 ± 1,6 ^d	6,9 ± 1,4 ^{c,d,e}
Hct (%)	26 ± 6	22 ± 6	22 ± 6	23 ± 7 ^c	21 ± 5 ^d	19 ± 4 ^{c,d,e}
P _a O ₂ (mmHg)	122 ± 27	110 ± 26 ^a	127 ± 26	111 ± 21	112 ± 15	112 ± 17
P _a CO ₂ (mmHg)	24 ± 6	29 ± 7	26 ± 7	29 ± 6	29 ± 7	30 ± 5

Tabelle 2. Hämodynamische Parameter unter arterieller Hypotension.

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SEM, (n = 8).

MAD, mittlerer arterieller Druck; HF, Herzfrequenz; HMV, Herzminutenvolumen; Hb, Hämoglobin; Hct, Hämatokrit; P_aO₂ und P_aCO₂, arterielle Blutgase von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid.

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 80 mm Hg,

^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 40 mm Hg.

Organ	MAD 100 mm Hg	MAD 90 mm Hg	MAD 80 mm Hg	MAD 60 mm Hg	MAD 40 mm Hg	MAD 30 mm Hg
Niere re	299 ± 43	305 ± 36	329 ± 39	228 ± 25	153 ± 18 ^{a,b}	91 ± 19 ^{a,b}
Niere li	295 ± 39	298 ± 35	323 ± 35	233 ± 26	146 ± 18 ^{a,b}	85 ± 19 ^{a,b}
Humerus re	11,8 ± 1,3	12 ± 1,4	11,4 ± 1,3	9,4 ± 0,9 ^{a,b,c}	7,1 ± 0,7 ^{a,b,c,d}	4,3 ± 0,5 ^{a,b,c,d,e}
Humerus li	11 ± 1,6	10,3 ± 1,3	10,0 ± 1,3	7,4 ± 1 ^{a,b,c}	5,3 ± 0,6 ^{a,b,c,d}	4 ± 0,6 ^{a,b,c,d,e}
Femur re	12,2 ± 0,9	11,6 ± 1	10,9 ± 1,0	7,6 ± 0,7 ^{a,b,c}	5,6 ± 0,6 ^{a,b,c,d}	3,8 ± 0,5 ^{a,b,c,d,e}
Femur li	13 ± 1,2	12,2 ± 1,2	11,3 ± 1,1	7,9 ± 0,8 ^{a,b,c}	5,5 ± 0,6 ^{a,b,c,d}	3,6 ± 0,4 ^{a,b,c,d,e}
Tibia re	6,7 ± 0,8	6,4 ± 0,9	6,0 ± 0,9	3,7 ± 0,6 ^{a,b,c}	2,7 ± 0,3 ^{a,b,c,d}	1,7 ± 0,3 ^{a,b,c,d,e}
Tibia li	7,0 ± 0,8	6,4 ± 0,7	6,3 ± 0,9	4,4 ± 0,5 ^{a,b,c}	3 ± 0,4 ^{a,b,c,d}	2 ± 0,3 ^{a,b,c,d,e}

Tabelle 3. Blutfluss unter Hypotension.

Die Tabelle zeigt die Blutflusswerte in ml/min/100g beider Nieren, Humeri, Femora und Tibiae bei einem MAD von 100, 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg. Dargestellt sind Mittelwert ± SEM (n=8).

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 40 mm Hg.

Organ	MAD 100 mm Hg	MAD 90 mm Hg	MAD 80 mm Hg	MAD 60 mm Hg	MAD 40 mm Hg	MAD 30 mm Hg
Niere re	0,33 ± 0,038	0,30 ± 0,026	0,24 ± 0,025 ^a	0,26 ± 0,036 ^a	0,26 ± 0,024 ^a	0,33 ± 0,071 ^{c,d,e}
Niere li	0,34 ± 0,034	0,30 ± 0,028	0,25 ± 0,024 ^a	0,26 ± 0,031 ^a	0,27 ± 0,031 ^a	0,35 ± 0,091 ^{c,d,e}
Humerus re	8,5 ± 1,1	7,5 ± 2,1	7,0 ± 2,5	6,4 ± 1,8	5,6 ± 1,7	7,0 ± 1,4
Humerus li	9,1 ± 1,1	8,7 ± 2,4	8,0 ± 2,6	8,1 ± 2,7	7,5 ± 1,5	7,5 ± 2,3
Femur re	8,2 ± 1,0	7,8 ± 1,8	7,3 ± 1,8	7,9 ± 1,6	7,1 ± 2,8	7,9 ± 2,6
Femur li	7,7 ± 1,3	7,4 ± 2,0	7,1 ± 2,5	7,6 ± 1,8	7,3 ± 2,4	8,3 ± 2,7
Tibia re	14,9 ± 2,4	14,0 ± 1,5	13,2 ± 2,2	16,2 ± 2,3	14,8 ± 2,4	17,6 ± 2,9
Tibia li	14,3 ± 2,3	14,1 ± 1,9	12,7 ± 2,0	13,6 ± 1,9	13,3 ± 2,0	15,0 ± 2,3

Tabelle 4. Vaskulärer Widerstand unter Hypotension.

Die Tabelle zeigt Werte des vaskulären Widerstands, mm Hg • ml⁻¹ • min • 100g⁻¹, beider Nieren, Humeri, Femora und Tibiae bei einem MAD von 100, 90, 80, 60, 40 und 30 mm Hg. Dargestellt sind Mittelwert ± SEM (n=8).

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 40 mm Hg.

Region	MAD 100 mm Hg	MAD 90 mm Hg	MAD 80 mm Hg	MAD 60 mm Hg	MAD 40 mm Hg	MAD 30 mm Hg
Caput humeri	11,7 ± 2,4 9,7 ± 2	11,5 ± 3,2 10,2 ± 3	11,5 ± 3,4 9,6 ± 2,9	9 ± 2,6 ^{b,c,#} 6,2 ± 2,4 ^{b,c}	7,1 ± 1,7 ^{a,b,c,#} 4,5 ± 1,2 ^{a,b,c}	3,7 ± 0,6 ^{a,b,c,d,e} 2,8 ± 0,8 ^{a,b,c,d,e}
Tuberculum majus	16,4 ± 3,1 11,9 ± 2,9	18,2 ± 4 14,0 ± 4	18,2 ± 3,3 13,5 ± 3,9	13,5 ± 1,6 ^{a,#} 8,3 ± 2,2 ^a	11,3 ± 1,5 ^{a,#} 5,9 ± 1,2 ^a	6,9 ± 1,4 ^{a,b,c,d,e} 5,2 ± 2 ^{a,b,c,d,e}
Metaphysis	16,5 ± 2,2 16 ± 3,9	16,5 ± 2 14,9 ± 2,2	15,5 ± 1,9 14,2 ± 2,9	12,6 ± 1,7 ^{a,b,#} 10,8 ± 2,5 ^{a,b}	8,5 ± 1,1 ^{a,b,c,d,#} 6,4 ± 1,3 ^{a,b,c,d}	5,8 ± 1,5 ^{a,b,c,d,e} 4,6 ± 1,1 ^{a,b,c,d,e}
Diaphysis	7,6 ± 1,5 6,2 ± 1,1	7,5 ± 1,2 6,3 ± 1,3	7,6 ± 1,5 6,6 ± 1,4	7 ± 1,1 [#] 5,5 ± 1,1	5,4 ± 0,7 5,2 ± 1,5	3,6 ± 0,7 ^{a,b,c,d,e} 3,6 ± 1,6 ^{a,b,c,d,e}
Epiphysis distalis	6,1 ± 1,1 11,2 ± 6,3	6,4 ± 2,3 7,9 ± 3,9	4,8 ± 1,3 7,8 ± 3,7	4,8 ± 1,5 5,9 ± 3,3	3,5 ± 0,6 ^{a,b} 4,5 ± 2,1 ^{a,b}	1,8 ± 0,6 ^{a,b,c,d} 4,1 ± 1,6 ^{a,b,c,d}

Tabelle 5. Regionaler Blutfluss im Humerus unter Hypotension.

Dargestellt sind Blutflusswerte (Mittelwert ± SEM, n = 8) für alle Knochenproben in ml/min/100g zu jedem Messzeitpunkt (oberer Wert rechte Seite, unterer Wert linke Seite).

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 40 mm Hg, [#] signifikanter Unterschied (p < 0,05) im Seitenvergleich.

Region	MAD 100 mm Hg	MAD 90 mm Hg	MAD 80 mm Hg	MAD 60 mm Hg	MAD 40 mm Hg	MAD 30 mm Hg
Caput femoris	7,4 ± 1,9	9,3 ± 4,7	7,9 ± 2,7	5,9 ± 2,4 ^b	1,8 ± 1,2 ^{a,b,c,d}	1,8 ± 1,1 ^{a,b,c,d}
	6,3 ± 1,4	10,4 ± 4,3	6 ± 2,2	5 ± 2,2 ^b	2,3 ± 1 ^{a,b,c,d}	1,9 ± 0,9 ^{a,b,c,d}
Collum femoris	13,0 ± 2,2	12,7 ± 3,1	15,1 ± 4,5	7,9 ± 2,6 ^{a,b,c}	5,3 ± 1,3 ^{a,b,c,d}	3,9 ± 1 ^{a,b,c,d,e}
	13,9 ± 3,6	14,4 ± 4,5	15,9 ± 5,1	9,5 ± 3 ^{a,b,c}	5,5 ± 1,5 ^{a,b,c,d}	3,3 ± 0,9 ^{a,b,c,d,e}
Trochanter major	18,1 ± 2,4	16,2 ± 4,4	16,1 ± 4,3	11,6 ± 2,7 ^{a,b,c}	8,5 ± 1,6 ^{a,b,c,d}	4,9 ± 1,5 ^{a,b,c,d,e}
	19,6 ± 1,9	19,8 ± 3,9	19,0 ± 4	13,4 ± 2,5 ^{a,b,c}	10 ± 1,8 ^{a,b,c,d}	6,7 ± 1,1 ^{a,b,c,d,e}
Metaphysis proximalis	17,1 ± 3	14,6 ± 2,7	14,3 ± 2,6	9,6 ± 1,6 ^{a,b,c}	9 ± 2,5 ^{a,b,c}	7,5 ± 1,9 ^{a,b,c,d,e}
	14,3 ± 2,9	13,2 ± 1,9	11,3 ± 1	9,3 ± 1 ^{a,b,c}	8,2 ± 1,5 ^{a,b,c}	4,5 ± 1,3 ^{a,b,c,d,e}
Diaphysis	10,9 ± 1,4	10 ± 2,3	8,7 ± 2	6,5 ± 1,2 ^{a,b,c}	5 ± 0,9 ^{a,b,c,d}	3,3 ± 1,2 ^{a,b,c,d,e}
	10,5 ± 1,3	8,3 ± 2,4	8,6 ± 2,4	4,7 ± 1,5 ^{a,b,c}	3,2 ± 0,8 ^{a,b,c,d}	2 ± 0,8 ^{a,b,c,d,e}
Metaphysis distalis	13,7 ± 2,7	11,2 ± 1,9	10,7 ± 2	7,7 ± 1,7 ^{a,b,c}	6,3 ± 1,9 ^{a,b,c,d}	4,1 ± 1,1 ^{a,b,c,d,e}
	15,6 ± 4,3	11,7 ± 2,8	11,6 ± 2,9	7,8 ± 1,4 ^{a,b,c}	5,1 ± 1,1 ^{a,b,c,d}	3,6 ± 0,8 ^{a,b,c,d,e}
Condylus medialis	10,3 ± 1,6	10,1 ± 2,1	8 ± 2	6,2 ± 1,5 ^{a,b,c}	4,8 ± 0,7 ^{a,b,c}	2,9 ± 0,9 ^{a,b,c,d,e}
	9,7 ± 1,5	8,6 ± 2,3	8,6 ± 2,3	5,5 ± 1,5 ^{a,b,c}	4,1 ± 0,8 ^{a,b,c}	2,8 ± 0,8 ^{a,b,c,d,e}
Condylus lateralis	7,6 ± 1,8	9 ± 1,4	6,8 ± 1,5	5,1 ± 0,6 ^{a,b}	3,7 ± 0,4 ^{a,b,c,d}	2,2 ± 0,5 ^{a,b,c,d,e}
	13,7 ± 5,9	11 ± 3,6	8,4 ± 2,3	7,3 ± 2,6 ^{a,b}	5,6 ± 2,5 ^{a,b,c,d}	3,9 ± 2 ^{a,b,c,d,e}

Tabelle 6. Regionaler Blutfluss im Femur unter Hypotension.

Dargestellt sind Blutflusswerte (Mittelwert ± SEM, n = 8) für alle Knochenproben in ml/min/100g zu jedem Messzeitpunkt (oberer Wert rechte Seite, unterer Wert linke Seite).

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 40 mm Hg.

Region	MAD 100 mm Hg	MAD 90 mm Hg	MAD 80 mm Hg	MAD 60 mm Hg	MAD 40 mm Hg	MAD 30 mm Hg
Condylus medialis	9,9 ± 1,8	10,5 ± 3	7,8 ± 2,7	6,4 ± 2,3	5,5 ± 1,3 ^{a,b}	2,7 ± 1,2 ^{a,b,c,d,e}
	8,3 ± 2,3	6 ± 1,2	7,2 ± 2,1	5,9 ± 2,1	5 ± 1,4 ^{a,b}	2,3 ± 1 ^{a,b,c,d,e}
Condylus lateralis	9,9 ± 2,7	8,6 ± 2,9	7,3 ± 2,6	5,3 ± 2 ^{a,b,c}	3,8 ± 0,8 ^{a,b,c}	2,4 ± 1 ^{a,b,c,d,e}
	8 ± 1,2	5,2 ± 1	6,8 ± 1,7	5,4 ± 1,2 ^{a,b,c}	4,6 ± 1,1 ^{a,b,c}	2,5 ± 0,7 ^{a,b,c,d,e}
Metaphysis proximalis	11,1 ± 1,8	8,8 ± 2,2	8,1 ± 2,2	5,6 ± 1,6 ^{a,b,c}	4,1 ± 0,8 ^{a,b,c,d}	3,4 ± 0,7 ^{a,b,c,d,e}
	14,4 ± 2,3	11,2 ± 2,4	10,5 ± 2	7,3 ± 1,5 ^{a,b,c}	5 ± 1 ^{a,b,c,d}	3,9 ± 0,7 ^{a,b,c,d,e}
Diaphysis proximalis	5,6 ± 1,8	4,8 ± 1	6,0 ± 1,9	2,2 ± 0,6 ^{a,b}	1,7 ± 0,5 ^{a,b,c}	1 ± 0,3 ^{a,b,c,d,e}
	6,5 ± 1,1	5,4 ± 0,6	8,7 ± 4,2	3,4 ± 0,7 ^{a,b}	2,5 ± 0,7 ^{a,b,c}	1,8 ± 0,5 ^{a,b,c,d,e}
Diaphysis distalis	3,9 ± 1,1	2,7 ± 0,9	2,5 ± 1,1	1,6 ± 0,4 ^a	1,2 ± 0,4 ^{a,b,d}	0,8 ± 0,6 ^{a,b,c,d}
	3,5 ± 1,1	4,5 ± 1,1	2 ± 0,9	1,8 ± 0,3 ^a	0,9 ± 0,2 ^{a,b,d}	0,6 ± 0,2 ^{a,b,c,d}
Metaphysis distalis	4,9 ± 1,6	3,6 ± 1,1	3,6 ± 1,8	2,2 ± 0,6	1,1 ± 0,4 ^{a,b,c,d}	0,7 ± 0,2 ^{a,b,c,d}
	4,6 ± 1,4	6,1 ± 2,6	4,4 ± 1,7	3,1 ± 1	1,4 ± 0,5 ^{a,b,c,d}	1,2 ± 0,5 ^{a,b,c,d}
Epiphysis distalis	3,3 ± 0,9	4,5 ± 1,5	5,7 ± 2,8	2,7 ± 1	1,3 ± 0,5 ^{a,b,c,d}	0,8 ± 0,3 ^{a,b,d}
	3,9 ± 1,1	5,1 ± 1,7	3,3 ± 1,4	3,3 ± 1,1	1,2 ± 0,4 ^{a,b,c,d}	1,2 ± 0,3 ^{a,b,d}

Tabelle 7. Regionaler Blutfluss der Tibia unter Hypotension.

Dargestellt sind Blutflusswerte (Mittelwert ± SEM, n = 8) für alle Knochenproben in ml/min/100g zu jedem Messzeitpunkt (oberer Wert rechte Seite, unterer Wert linke Seite).

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 100 mm Hg, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 90 mm Hg, ^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 80 mm Hg, ^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 60 mm Hg, ^e signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu MAD 40 mm Hg.

Extremität	Wassertemperatur					
	32°C	26° C	20° C	14° C	8° C	2° C
gekühlt	32,9 ± 0,2 [#]	28,5 ± 0,4 ^{a,#}	23,1 ± 0,3 ^{a,b,#}	17,5 ± 0,5 ^{a,b,c,#}	11,1 ± 0,4 ^{a,b,c,d,#}	4,7 ± 0,6 ^{a,b,c,d,e,#}
ungekühlt	34,8 ± 0,2	34,4 ± 0,1	34,2 ± 0,3	33,9 ± 0,3	33,7 ± 0,3	33,6 ± 0,2

Tabelle 8. Intramuskuläre Temperatur der gekühlten und nicht gekühlten Extremität in °C.

Werte sind Mittelwerte ± SEM, (n = 6).

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 14°C, ^e signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 8°C, [#] signifikanter Unterschied (p < 0,05) im Seitenvergleich

Probe	Gewicht [g] re	Gewicht [g] li
Caput humeri	1,19 ± 0,07	1,11 ± 0,06
Tuberculum majus	0,99 ± 0,10	0,79 ± 0,04
Metaphysis	1,35 ± 0,06	1,41 ± 0,08
Diaphysis	1,54 ± 0,10	1,51 ± 0,11
Epiphysis distalis	0,96 ± 0,04	0,97 ± 0,06

Tabelle 9a

Probe	Gewicht [g] re	Gewicht [g] li
Caput femoris	0,47 ± 0,02	0,47 ± 0,02
Collum femoris	0,33 ± 0,02	0,33 ± 0,02
Trochanter major	0,70 ± 0,04	0,76 ± 0,04
Metaphysis proximalis	1,91 ± 0,10	1,90 ± 0,09
Diaphysis	2,49 ± 0,06	2,40 ± 0,07
Metaphysis distalis	1,84 ± 0,05	1,89 ± 0,07
Condylus medialis	1,54 ± 0,05	1,61 ± 0,08
Condylus lateralis	1,67 ± 0,08	1,60 ± 0,05

Tabelle 9b

Probe	Gewicht [g] re	Gewicht [g] li
Condylus medialis	1,21 ± 0,05	1,13 ± 0,04
Condylus lateralis	0,91 ± 0,04	0,96 ± 0,05
Metaphysis distalis	1,16 ± 0,06	1,17 ± 0,07
Diaphysis proximalis	2,53 ± 0,12	2,62 ± 0,13
Diaphysis distalis	1,66 ± 0,05	1,69 ± 0,07
Metaphysis distalis	0,71 ± 0,04	0,70 ± 0,03
Epiphysis distalis	0,75 ± 0,03	0,74 ± 0,04

Tabelle 9c

Probe	Gewicht [g] re	Gewicht [g] li
M. gastrocnemius	14,98 ± 0,32	15,08 ± 0,28
M. tibialis anterior	6,77 ± 0,09	6,62 ± 0,07

Tabelle 9d

Tabelle 9a-d. Probengewichte beider Humeri (a), Femora (b), Tibiae (c) und beider Unterschenkelmuskeln (d).

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SEM, (n = 6). Statistisch besteht kein Unterschied zwischen rechten und linken Gewebeproben.

Parameter	Wassertemperatur					
	32° C	26° C	20° C	14° C	8° C	2° C
MAD (mm Hg)	71,5 ± 5,0	66,5 ± 3,6	62,7 ± 2,8	63,0 ± 2,7	60,7 ± 1,9	65,2 ± 3,5
HF (min ⁻¹)	165,8 ± 6,0	146,7 ± 6,3 ^a	136,8 ± 4,6 ^{a,b}	126,7 ± 7,6 ^{a,b}	115,8 ± 9,1 ^{a,b,c}	118,3 ± 4,1 ^{a,b,c}
HMV (ml x min ⁻¹ x kg ⁻¹)	110,9 ± 21,9	112,6 ± 17,9	123,8 ± 13,0	110,4 ± 12,0	118,4 ± 23,0	105,2 ± 16,9
Hb (g/dl)	9,2 ± 0,3	9,3 ± 0,5	8,2 ± 0,3 ^{a,b}	8,0 ± 0,5 ^{a,b}	7,5 ± 0,5 ^{a,b}	7,5 ± 0,4 ^{a,b}
Hct (%)	25,4 ± 3,0	25,1 ± 4,1	22,3 ± 3,6 ^a	25,9 ± 3,1 ^a	18,7 ± 4,1 ^a	20,6 ± 3,6 ^a
P_aO₂ (mm Hg)	141,8 ± 6,5	142,7 ± 8,6	149,9 ± 8,0	159,4 ± 7,3 ^{a,b,c}	167,6 ± 5,3 ^{a,b,c,d}	170,4 ± 7,9 ^{a,b,c,d}
P_aCO₂ (mm Hg)	32,2 ± 3,4	43,8 ± 1,8 ^a	41,9 ± 2,3	41,9 ± 1,8	43,0 ± 1,3 ^a	40,8 ± 1,9

Tabelle 10. Häodynamische Parameter unter lokaler Kühlung.

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SEM, (n = 6) bei Wasserbadtemperaturen von 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C.

MAD, mittlerer arterieller Druck; HF, Herzfrequenz; HMV, Herzminutenvolumen; Hb, Hämoglobin; Hct, Hämatokrit; P_aO₂ und P_aCO₂, arterielle Blutgase von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid.

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 26°C,

^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 14°C.

Organ	Wassertemperatur					
	32°C	26° C	20° C	14° C	8° C	2° C
Niere re	162 ± 23,1	143 ± 22	155,6 ± 7,5	139,2 ± 19,3	132 ± 10,6	126,7 ± 11,7 ^a
Niere li	158,9 ± 22,6	131,1 ± 16,7	150,1 ± 11,7	134,2 ± 16,7	127,1 ± 11,7	122,5 ± 11,8 ^a
Humerus re	13 ± 1,5	15,5 ± 1,9	17,6 ± 2,1 ^a	17,3 ± 2 ^a	15,6 ± 1,6 ^a	17 ± 1,6 ^a
Humerus li	13,2 ± 1,6	14,2 ± 1,6	16,4 ± 1,8 ^a	16,6 ± 1,8 ^a	16,1 ± 1,6 ^a	17,6 ± 1,9 ^a
Femur (Kontrolle)	12,1 ± 0,9 [#]	14 ± 0,9 ^{a,#}	15,5 ± 1 ^{a,b,#}	16,9 ± 1,1 ^{a,b,#}	16 ± 1 ^{a,b,#}	17,5 ± 1 ^{a,b,c,e,#}
Femur (Wasserbad)	10,7 ± 0,9	11,6 ± 1	12,5 ± 1,2	12,2 ± 1,3	10,2 ± 1,2 ^{c,d}	10,4 ± 1,3 ^{c,d}
Tibia (Kontrolle)	6,5 ± 0,6	7 ± 0,8 [#]	7,7 ± 0,8 [#]	8 ± 0,8 ^{a,#}	8,8 ± 0,8 ^{a,b,c,#}	8,4 ± 0,9 ^{a,#}
Tibia (Wasserbad)	6,5 ± 0,7	5,3 ± 0,5 ^a	3,5 ± 0,5 ^{a,b}	2,7 ± 0,3 ^{a,b}	1,9 ± 0,2 ^{a,b,c,d}	1,1 ± 0,1 ^{a,b,c,d}
M. gastrocnemius (Kontrolle)	5,9 ± 0,2	5,1 ± 0,2 ^a	5,1 ± 0,3 ^{a,#}	5,9 ± 0,3 ^{b,c,#}	5,9 ± 0,2 ^{b,c,#}	6,1 ± 0,3 ^{b,c,#}
M. gastrocnemius (Wasserbad)	7,0 ± 0,3	6,3 ± 0,4	7,2 ± 0,5	8,5 ± 0,6 ^{a,b,c}	9,2 ± 0,6 ^{a,b,c,d}	9,1 ± 0,4 ^{a,b,c,d,e}
M. tibialis anterior (Kontrolle)	7,8 ± 0,7	5,7 ± 0,4 ^{a,#}	5,7 ± 0,6 ^{a,#}	6,7 ± 0,5 ^{b,#}	6,9 ± 0,4 ^{b,#}	6,8 ± 0,7 ^{b,#}
M. tibialis anteroir (Wasserbad)	7,7 ± 0,9	7,9 ± 1,3	7,9 ± 0,9	9,6 ± 1,5	10,0 ± 1,5	12,6 ± 1,5 ^{a,b,c}

Tabelle 11. Blutfluss unter lokaler Kühlung.

Die Tabelle zeigt die Blutflusswerte in ml/min/100g beider Nieren, Humeri, Femora, Tibiae, Mm. gastrocnemici und Mm. tibiales anterior bei Wasserbadtemperaturen von 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C. Dargestellt sind Mittelwert ± SEM (n=6).

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 14°C, ^e signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 8°C, [#] signifikanter Unterschied (p < 0,05) im Seitenvergleich.

Organ	Wassertemperatur					
	32°C	26° C	20° C	14° C	8° C	2° C
Niere	0,4 ± 0,06	0,5 ± 0,05	0,4 ± 0,02	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,04	0,5 ± 0,06
Niere	0,04 ± 0,07	0,5 ± 0,05	0,4 ± 0,03	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,06
Humerus	10,3 ± 2,6	7,1 ± 1 ^a	7,2 ± 6,7	6,1 ± 1,1 ^a	6,7 ± 1,4 ^a	5,7 ± 0,9 ^a
Humerus	10,5 ± 2,5	7,3 ± 0,9 ^a	6,7 ± 1,3	7,8 ± 2,4 ^a	7,1 ± 1,9 ^a	5,5 ± 0,7 ^a
Femur (Kontrolle)	7,7 ± 0,7	5,8 ± 0,4 ^{a, x}	5 ± 0,3 ^{a, #}	4,5 ± 0,3 ^{a, #}	4,5 ± 0,3 ^{a, #}	4,3 ± 0,2 ^{a, #}
Femur (Wasserbad)	9,5 ± 1	9,6 ± 1,3	9,7 ± 1,4	9,9 ± 1,3	13,3 ± 1,9 ^{a, b, c, d}	22 ± 4,2 ^{a, b, c, d, e}
Tibia (Kontrolle)	21,8 ± 5,3	24,5 ± 5,9	27,9 ± 12,6 [#]	13,8 ± 1,8 ^{a, b, c, #}	23,4 ± 9,6 [#]	13,7 ± 1,9 ^{a, b, c, e, #}
Tibia (Wasserbad)	28,4 ± 6,7	29,8 ± 7,8	67,5 ± 5,9 ^{a, b}	54,3 ± 12,8 ^{a, b}	57,4 ± 0,8 ^{a, b}	87,9 ± 11,3 ^{a, b}
M. gastrocnemius (Kontrolle)	13,3 ± 0,6 [#]	13,8 ± 0,5 [#]	13,9 ± 0,5 [#]	12,0 ± 0,7 [#]	11,5 ± 0,6 [#]	12,2 ± 0,7 [#]
M. gastrocnemius (Wasserbad)	11,5 ± 0,6	11,5 ± 0,6	10,5 ± 0,5	9,5 ± 0,7 ^{a, b, c}	7,9 ± 0,5 ^{a, b, c, d}	7,7 ± 0,7 ^{a, b, c, d}
M. tibialis anterior (Kontrolle)	11,6 ± 1,5	12,3 ± 0,9 [#]	12,3 ± 0,9 [#]	10,4 ± 0,8 [#]	11,8 ± 1,3 [#]	11,7 ± 1,5 [#]
M. tibialis anterior (Wasserbad)	11,0 ± 1,1	9,0 ± 1,1	8,4 ± 0,8 ^a	8,1 ± 1,0 ^a	7,4 ± 1,0 ^{a, b}	6,4 ± 0,7 ^{a, b, c}

Tabelle 12. Vaskulärer Widerstand unter lokaler Kühlung.

Die Tabelle zeigt Werte des vaskulären Widerstands, mm Hg • ml⁻¹ • min • 100g⁻¹, beider Nieren, Humeri, Femora, Tibiae, Mm. gastrocnemici und Mm. tibiales anterior bei Wasserbadtemperaturen von 32°, 26°, 20°, 14°, 8° und 2°C. Dargestellt sind Mittelwert ± SEM (n=6).

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 14°C, ^e signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 8°C, [#] signifikanter Unterschied (p < 0,05) im Seitenvergleich.

Region	Wassertemperatur					
	32°C	26° C	20° C	14° C	8° C	2° C
Caput humeri	14,8 ± 2 13,4 ± 2,1	17,6 ± 2,6 15,2 ± 2,6	20,3 ± 2,7 ^a 19,9 ± 2,5 ^a	20,7 ± 2,4 ^a 19,4 ± 2,5 ^a	19,4 ± 1,1 ^a 19,2 ± 1,3 ^a	21,4 ± 2,1 ^a 20,4 ± 2,2 ^a
Tuberculum majus	22,3 ± 4 22,9 ± 4	25,9 ± 5,9 22,3 ± 3,7	30,1 ± 6,4 27,2 ± 3,2	28,5 ± 6,9 27,4 ± 3,4	24,9 ± 3,7 27,1 ± 2,1	25,6 ± 2,3 30,1 ± 3,5
Metaphysis	17,8 ± 2,5 17,8 ± 2,3	21,3 ± 2,8 20 ± 2,6	22,9 ± 3,7 20,9 ± 3,1	22,6 ± 2,2 21,7 ± 2,3	20 ± 1,8 19 ± 1,9	22,3 ± 2,5 21,5 ± 3,2
Diaphysis	6,7 ± 1 6,4 ± 1,6	8,9 ± 1,8 7,2 ± 1,3	10,2 ± 2,2 7,6 ± 1,7	9,9 ± 1,8 8 ± 1,2	9,3 ± 1,7 8 ± 1,8	10 ± 2,2 8,6 ± 1,5
Epiphysis distalis	5 ± 1,4 5,3 ± 1,2	5,7 ± 1,1 6,1 ± 1,2	6,8 ± 1,8 6,5 ± 0,9	6,6 ± 1,5 6,7 ± 1,8	6,2 ± 1,6 7,4 ± 1,5	7 ± 1,1 7,6 ± 0,9

Tabelle 13. Regionaler Blutfluss im Humerus.

Dargestellt sind Blutflusswerte (Mittelwert ± SEM, n = 6) für alle Knochenproben in ml/min/100g zu jedem Messzeitpunkt (oberer Wert rechte Seite, unterer Wert linke Seite). Der Humerus als Teil der oberen Extremität wurde während der Studie „lokale Kühlung“ nicht gekühlt.

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 32°C.

Region	Wassertemperatur					
	32°C	26°C	20°C	14°C	8°C	2°C
Caput femoris	8,1 ± 1,9	10 ± 1,3	11,9 ± 1,9	13,2 ± 2,5 ^a	13,5 ± 2,2 ^a	14,6 ± 2,4 ^a
	8,2 ± 1,9	9,6 ± 1,9	11,8 ± 2,5	13,2 ± 2,5 ^a	12 ± 2,4 ^a	13,3 ± 0,9 ^a
Collum femoris	18,8 ± 3	20,2 ± 2,6	24 ± 3,5	25,4 ± 3,9 ^a	22,6 ± 3,1	23,3 ± 2,9
	17,5 ± 2,8	20,4 ± 2,7	23 ± 3,5 ^a	22,5 ± 4,1	19,1 ± 2,6	22,2 ± 3,1
Trochanter major	12,2 ± 2,6	14,9 ± 2,7	16,8 ± 4	21,8 ± 4,5	22,3 ± 3,6 ^a	24 ± 1,9 ^a
	11,6 ± 2,5	13 ± 3,2	17,2 ± 3,1	17,9 ± 4,6	18,2 ± 4,2 ^a	20,7 ± 2,2 ^a
Metaphysis proximalis	14,9 ± 2,3	18,3 ± 2	19,2 ± 2,7	20,1 ± 2,6	18,5 ± 2,4	20,5 ± 3,5
	11,7 ± 3,4	13,5 ± 3,6	16,3 ± 4,1	15,8 ± 4,3	13,4 ± 3,1	11,9 ± 2,7
Diaphysis	9,8 ± 1,7	11,8 ± 1,9	13,1 ± 2,1	13,2 ± 1,4	12,2 ± 1,6 [#]	12,8 ± 2,8 [#]
	9,2 ± 1,8	10,8 ± 2,1	10,6 ± 2,2	10,5 ± 1,7	8,1 ± 1,4 ^d	7,3 ± 1,6 ^{d,e}
Metaphysis distalis	13,1 ± 2	11,8 ± 2,3	14,6 ± 2	15,9 ± 2,3 [#]	14,3 ± 1,9 [#]	15,4 ± 2,2 [#]
	11,2 ± 2,2	12 ± 2,4	11,8 ± 2,2	10,2 ± 2,1	6,8 ± 1,3 ^{a,b,c}	5,5 ± 2 ^{a,b,c,d}
Condylus medialis	9,8 ± 1,8	15 ± 1,9 [#]	11,7 ± 1,4 [#]	12,4 ± 2,3 [#]	11,9 ± 1,8 [#]	14,2 ± 1,4 [#]
	8 ± 1,4	6,4 ± 1,3	4,6 ± 1,2	3,6 ± 0,5 ^a	2,2 ± 0,3 ^{a,b,c,d}	1,4 ± 0,2 ^{a,b,c,d,e}
Condylus lateralis	10,4 ± 1,7	10,6 ± 1,9 [#]	12,8 ± 1,6 [#]	13,6 ± 2,2 [#]	12,7 ± 1,5 [#]	15 ± 1,6 [#]
	8,3 ± 1,5	6,8 ± 1,1	4,4 ± 1	3,8 ± 0,8 ^{a,b,c}	2,2 ± 0,3 ^{a,b,c,d}	1 ± 0,2 ^{a,b,c,d,e}

Tabelle 14. Regionaler Blutfluss im Femur.

Dargestellt sind Blutflusswerte (Mittelwert ± SEM, n = 6) für alle Knochenproben in ml/min/100g zu jedem Messzeitpunkt (oberer Wert zeigt die Kontrollextremität, unterer Wert zeigt die gekühlte Extremität). Das gekühlte Femur wurde ab der Diaphyse im Wasserbad gekühlt.

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 14°C, ^e signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 8°C, [#] signifikanter Unterschied (p < 0,05) im Seitenvergleich.

Region	Wassertemperatur					
	32°C	26°C	20°C	14°C	8°C	2°C
Condylus medialis	9,6 ± 1,5	10,6 ± 3	11,2 ± 2,2 [#]	12,7 ± 2,1 [#]	13 ± 2,3 ^{a,#}	12,7 ± 2,1 [#]
	9,6 ± 1,1	8,2 ± 0,7	4,8 ± 1,3 ^{a,b}	3,5 ± 0,6 ^{a,b}	2,4 ± 0,4 ^{a,b,c}	1,5 ± 0,3 ^{a,b,c,d}
Condylus lateralis	6,8 ± 1,6	8,2 ± 2,9	9,2 ± 2,2 [#]	9,6 ± 2,6 [#]	10,6 ± 2,4 [#]	12,1 ± 2,4 ^{a,b,c,#}
	7,3 ± 1,3	5,5 ± 1,1	3,8 ± 1,8 ^a	3,1 ± 0,5 ^{a,b}	2,4 ± 0,7 ^{a,b}	1,3 ± 0,4 ^{a,b,c}
Metaphysis proximalis	11,4 ± 1,5	13,1 ± 2,2	13,2 ± 1,8 [#]	13,2 ± 2,2 [#]	13,9 ± 1,1 [#]	14,3 ± 2,5 [#]
	12,9 ± 1,4	10,2 ± 0,9 ^a	5,8 ± 1,2 ^a	4,1 ± 0,6 ^{a,b}	2,5 ± 0,5 ^{a,b,c}	1,8 ± 0,4 ^{a,b,c,d}
Diaphysis proximalis	7,1 ± 0,7	8,5 ± 1 [#]	9,2 ± 1,1 [#]	9,2 ± 1 [#]	9,6 ± 1,2 [#]	7,6 ± 1,4 [#]
	7 ± 0,9	6,1 ± 0,8	3,7 ± 0,8 ^a	3 ± 0,8 ^{a,b}	1,4 ± 0,4 ^{a,b,c,d}	1,1 ± 0,3 ^{a,b,c,d}
Diaphysis distalis	2,5 ± 0,4 [#]	2,6 ± 0,8 [#]	2,6 ± 0,5 [#]	3,2 ± 0,8 [#]	3,2 ± 0,8 [#]	2,9 ± 0,3 [#]
	2 ± 0,5	1,8 ± 0,5	1,2 ± 0,5	0,9 ± 0,3 ^a	0,9 ± 0,4 ^a	0,5 ± 0,2 ^a
Metaphysis distalis	4,2 ± 1,1	2,9 ± 0,9	4,3 ± 1,4	4 ± 1,1 [#]	4,9 ± 1,6 [#]	3,9 ± 0,6 [#]
	3,5 ± 1,2	2,1 ± 0,7	2,4 ± 1,5	1 ± 0,4 ^a	2 ± 1,1	0,8 ± 0,4 ^a
Epiphysis distalis	3,7 ± 0,9	3,2 ± 1,4	3,7 ± 0,9	4,4 ± 0,6	6,5 ± 1 ^{a,b,c,#}	5,1 ± 0,4 [#]
	3,2 ± 1,2	3,4 ± 1	2,6 ± 1,1	3,3 ± 1,5	1,5 ± 0,8 ^{a,b,d}	1,1 ± 0,5 ^{a,b,d}

Tabelle 15. Regionaler Blutfluss der Tibia.

Dargestellt sind Blutflusswerte (Mittelwert ± SEM, n = 6) für alle Knochenproben in ml/min/100g zu jedem Messzeitpunkt (oberer Wert zeigt die Kontroll Extremität, unterer Wert zeigt die gekühlte Extremität). Die gekühlte Tibia befand sich mit allen Knochenregionen im Wasserbad.

^a signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 32°C, ^b signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 26°C, ^c signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 20°C, ^d signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu 14°C, [#] signifikanter Unterschied (p < 0,05) im Seitenvergleich.