

Aus der Klinik für Plastische-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie der

Medizinischen Hochschule Hannover

Direktor: Prof. Dr. med. Peter M. Vogt

**Quantifizierung der mikrozirkulären Durchblutung an gesunder
Haut sowie bei Patienten mit Diabetes mellitus und peripherer
arterieller Verschlusskrankheit mithilfe der kombinierten Laser-
Doppler-Flussmessung und Gewebespektrophotometrie (O2C®)**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

in der Medizinischen Hochschule Hannover

vorgelegt von

Mohammad Kabbani

aus Essen

Hannover 2014

Angenommen vom Senat der Medizinischen Hochschule Hannover am 11.11.2014

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Hochschule Hannover

Präsident:	Prof. Dr. med. Christopher Baum
Betreuer der Arbeit:	PD Dr. med. Robert Krämer
Referent:	PD Dr. med. Michael-Ulrich Brehm
Korreferent:	Prof. Dr. med. Bernd Rieck
Tag der mündlichen Prüfung:	11.11.2014
Prüfungsausschussmitglieder:	Prof. Dr. med. Tobias Welte
	Prof. Dr. med. Carlos Guzman
	PD Dr. med. Frank Gossé

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Für meine Eltern

Für meine Familie

INHALTSVERZEICHNIS

ORIGINALARBEIT „IMPACT OF DIABETES AND PERIPHERAL ARTERIAL OCCLUSIVE DISEASE ON THE FUNCTIONAL MICROCIRCULATION AT THE PLANTAR FOOT”	1
EINLEITUNG	9
MATERIAL UND METHODEN	12
ERGEBNISSE.....	16
DISKUSSION	20
LIMITATIONEN	21
ZUSAMMENFASSUNG	22
LITERATURVERZEICHNIS	23
LEBENS LAUF MOHAMMAD KABBANI.....	27
DANKSAGUNGEN	30



Impact of Diabetes and Peripheral Arterial Occlusive Disease on the Functional Microcirculation at the Plantar Foot

Mohammad Kabbani, MD*
 Robert Rotter, MD†
 Marc Busche, MD‡
 Waldemar Wuerfel, MD§
 Andreas Jokuszies, MD*
 Karsten Knobloch, MD||
 Peter M. Vogt, MD*
 Robert Kraemer, MD*

Background: Plastic and reconstructive surgeons are commonly faced with chronic ulcerations and consecutive wound infections of the feet as complications in patients with diabetes and/or peripheral arterial occlusive disease (PAOD). Microcirculatory changes seem to play an important role. However, the evaluation of functional changes in the soft tissue microcirculation at the plantar foot using combined Laser-Doppler and Photospectrometry System has not yet been performed in patients with DM or PAOD. **Methods:** A prospective, controlled cohort study was designed consisting of a total of 107 subjects allocated to 1 of 3 groups—group A: healthy subjects (57% males, 63.3 y); group B: patients with diabetes mellitus (DM) (53% males, 59.4 y); and group C: patients with PAOD (81% males, 66.1 y). Microcirculatory data were assessed using a combined Laser-Doppler and Photospectrometry System.

Results: Global cutaneous oxygen saturation microcirculation at the plantar foot of healthy individuals was 8.4% higher than in patients with DM and 8.1% higher than in patients with PAOD (both $P = 0.033$). Patients with diabetes did not show significant differences in global cutaneous blood flow when compared with either healthy subjects or patients suffering from PAOD.

Conclusions: Functional microcirculation at the plantar foot differs between healthy subjects and patients suffering from diabetes or PAOD of the same age. Patients with either diabetes or PAOD demonstrate deteriorated cutaneous oxygen saturation with equivalent blood perfusion at the plantar foot. More clinical studies have to be conducted to evaluate therapeutic methods that might ameliorate cutaneous oxygen saturation within diabetic foot disease and PAOD. (*Plast Reconstr Surg Glob Open* 2013;1:e48; doi:10.1097/GOX.0b013e3182a4b9cb; Published online 1 October 2013.)

Lower limb ischemia with poor wound healing is found in patients with diabetic foot disease and peripheral arterial occlusive disease (PAOD) and remains a major reason for lower limb amputa-

tions. Specifically, more than 60% of nontraumatic lower limb amputations in the United States are performed in patients with diabetes.¹ In addition, elderly patients with diabetes have a higher prevalence of

From the *Plastic, Hand and Reconstructive Surgery, Hannover Medical School, Hannover, Germany; †Department of Trauma and Reconstructive Surgery, University of Rostock, Rostock, Germany; ‡Plastic and Aesthetic Surgery, Hospital Essen Mitte, Essen, Germany; §Department of Otolaryngology, Hannover Medical School, Hannover, Germany; and ||Sport Practice, Hanover, Germany.

Received for publication February 18, 2013; accepted July 05, 2013.

Drs. Kabbani and Rotter contributed equally to this work.

Copyright © 2013 The Authors. Published by Lippincott Williams & Wilkins on behalf of The American Society of Plastic Surgeons. PRS Global Open is a publication of the American Society of Plastic Surgeons. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 3.0 License, where it is permissible to download and share the work provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially.

DOI: 10.1097/GOX.0b013e3182a4b9cb

PAOD (up to 6 times more) than patients without diabetes.² Functional changes in the microcirculation are found in patients with diabetes. These changes are considered to play an important role in the pathogenesis of diabetic foot syndrome.^{3,4} Even though the existence of a “small vessels disease”^{5,6} has been disproved,⁷ structural and functional changes within the microvasculature of the skin still persist and are thought to be causative of diabetic foot syndrome.^{8,9} Several theories regarding the pathogenesis are still in discussion.⁴ The hemodynamic hypothesis suggests that the onset of hyperglycemia in early stages of diabetes mediates blood flow dysregulations which result in an increased flow, capillary filtration capacity,¹⁰ and microvascular pressure.¹¹ It is thought that these changes lead to structural alterations of diabetic microangiopathy, for example, a thickened basement membrane with microvascular sclerosis. Transport processes through the capillary membrane and even the migration of leukocytes may also be impaired.³ In addition, the reduced elasticity of microvascular vessels due to the aforementioned changes impairs vasodilatation and may in combination with lost secretory functions of the endothelium result in a diminished hyperemic response in diabetic patients. This could limit nutrient supply to the tissue under conditions of stress.^{12–14} Another hypothesis, the “capillary steal syndrome,” suggests that the influence of autonomic neuropathy in patients with diabetes impedes sympathetic innervation of the microvasculature, causing a loss of vasoconstriction, thus directing blood away from the capillaries through arteriovenous shunts.^{15,16} Studies supporting this theory have shown an increased venous oxygenation in patients with diabetic foot disease and peripheral polyneuropathy.¹⁷

As PAOD also plays an important role in the development of chronic ulcerations and consecutive wound infections, investigations have been conducted to elucidate possible microcirculatory changes in patients with impeded macrovascular circulation. The pathogenesis of PAOD can be described with the development of atherosclerosis which involves changes in both the macro- and microcirculation.¹⁸ Even though Laser Doppler studies showed a nor-

mal baseline leg skin perfusion in stage II PAOD patients,^{19,20} impaired postischemic hyperemic reaction,¹⁹ an abnormal flowmotion pattern,²⁰ and impeded vascular reactivity^{21,22} have been shown.

To further evaluate the underlying mechanisms of impaired microcirculation in patients with diabetes and PAOD, a variety of techniques for in vivo assessment of microcirculatory effects have been developed. Combined Laser-Doppler and Photospectrometry has been shown to be a useful tool for quantitative, noninvasive tissue measurements,^{23–30} and studies published in the literature have investigated microcirculatory parameters in diabetic patients and patients with PAOD using this technique.^{23,30–33}

To our knowledge, no study has been published as of yet, mapping functional microcirculatory parameters at the plantar foot in healthy subjects and in patients with diabetes mellitus and PAOD using combined Laser-Doppler and Photospectrometry systems. Therefore, we hypothesized that the functional microcirculation at the plantar foot significantly differs between healthy subjects and patients with diabetes mellitus and/or PAOD.

SUBJECTS AND METHODS

Clinical Trial Registration

The trial was registered at ClinicalTrials.gov with the identifier number NCT01235312. The trial was performed in accordance with the Declaration of Helsinki (2000) of the World Medical Association. Institutional review board approval was granted through the local institutional review board committee. Written consent was obtained from each study subject before the start of the investigation.

Reporting Standards

Data are reported according to STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) guidelines.

Study Design and Setting

The study was designed as a prospective, controlled, and blinded cohort study. Data collection was performed between August 2011 and May 2012 using combined Laser-Doppler and Photospectrometry. For mapping of the microcirculatory parameters, 10 standardized measurement points were chosen equally distributed over the plantar foot (Fig. 1).

Participants

Study Population and Recruitment

Eligibility criteria were male and female subjects aged 18–75 years old either healthy or suffering from diabetes mellitus or PAOD.

Disclosure: All authors disclose receiving funding for this work from National Institutes of Health (NIH), Wellcome Trust, or Howard Hughes Medical Institute (HHMI). The Article Processing Charge was paid for by the German Research Foundation (DFG).



Fig. 1. Location of 10 measurement points at the plantar foot.

After inclusion in the trial, participants were assigned to 1 of 3 groups according to their medical history. Group A was the control group consisting only of healthy subjects. Group B included patients with nonischemic diabetes mellitus type I or II. Group C consisted of patients with a medical history of PAOD.

Eligibility criteria for the control group were healthy subjects excluding diabetes mellitus, Raynaud's disease, evident plantar malperfusion, soft tissue inflammation or osteomyelitis, vasculitis, PAOD, chronic kidney or liver disease, cardiac dysfunction, arterial hypotension, and any type of vasoactive medication, that is, β -blockers, calcium channel blockers, nitroglycerin, or equivalents.

Exclusion criteria for groups B and C were soft tissue inflammation or osteomyelitis, vasculitis, and liver disease. The study population was a consecutive series of participants defined by the aforementioned selection criteria.

Variables

Determination of Vital Parameters of Microcirculation

Hemoglobin and blood flow are measured concurrently in the Oxygen to see (O₂C) system. The standardization for measuring both parameters separately and together (blood flow by Laser-Doppler technique and hemoglobin oxygenation and hemoglobin concentration by photospectrometry) has been described in detail elsewhere.^{23–30} Specifically, the O₂C system measures these microcirculatory

parameters using an optical fiber probe. The fiber probe incorporates both the laser Doppler method and broadband light spectrometry. The probe used in this study assessed the following parameters at a depth of 8 mm:

- Cutaneous tissue oxygen saturation (%)
- Cutaneous relative postcapillary venous filling pressure (arbitrary units, AU)
- Cutaneous capillary blood flow (AU)

Microcirculatory data assessment using the O₂C system was performed by the same experienced examiner. Data were blinded for statistical analysis.

Bias

Structural measurement bias was avoided by standardization of environmental factors during assessment of microcirculatory data, that is, assessment by the same examiner, uniform positioning of the subject during measurement, and standardization of ambient light and temperature. Artifacts from microcirculatory measurements were avoided by fixation of each measurement probe on every position for at least 90 seconds.

Retrieval biases were prevented by an independent literature search through the National Library of Medicine. Funding bias was eliminated by the exclusion of any financial disclosure of any contributing author.

Statistical Analysis

One-way analysis of variance was performed for statistical analysis between groups for microcirculatory data, biometrical data, and patient's characteristics. To complete the multivariate hypothesis testing, significance of the diabetes group B and the PAOD group C was tested vs healthy group A by using Fisher's least significant difference and Bonferroni post hoc test. *P*-values less than 0.05 were considered to be statistically significant. The SPSS statistical software package 20 for Windows (IBM, NY) was used for statistical analysis.

RESULTS

Participants and Descriptive Data

A total of 107 patients met the inclusion and exclusion criteria and were included in the study after written informed consent was obtained.

Detailed patients' characteristics such as age, height, weight, body mass index (BMI), concomitant diseases, and medication are reported in

Table 1. Patient Characteristics: Group A (Healthy Subjects) vs Group B (Diabetes Mellitus) vs Group C (PAOD)

	Group A Healthy Subjects (n = 36)	Group B Diabetes (n = 35)	Group C PAOD (n = 36)	P-value Between Groups after One-way ANOVA Test	P-value vs Healthy Subjects after Post Hoc LSD Test		P-value vs Diabetes after Post Hoc LSD Test
					Diabetes	PAOD	PAOD
Males	21 (57%)	19 (53%)	30 (81%)	0.0506	0.7222	0.0537	0.0238
Females	16 (43%)	17 (47%)	7 (19%)	0.0506	0.7222	0.0537	0.0238
Age	63.33 ± 12.22	59.44 ± 17.51	66.08 ± 11.25	0.1323	0.7176	1	0.1375
Height	1.73 ± 0.1	1.71 ± 0.08	1.71 ± 0.09	0.6697	1	1	1
Weight	80.89 ± 15.67	86.98 ± 19.0	80.25 ± 15.13	0.1858	0.3973	1	0.2905
BMI	27.09 ± 4.74	29.55 ± 6.18	27.39 ± 4.59	0.0990	0.1461	1	0.2504
Arterial hypertension	18 (49%)	31 (86%)	35 (95%)	0.0000	0.0001	0.0000	0.2020
Coronary heart disease	1 (3%)	12 (33%)	25 (68%)	0.0000	0.0015	0.0000	0.0007
Diabetes mellitus							
No diabetes	37 (100%)	0 (0%)	26 (70%)	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Type 1 diabetes	0 (0%)	10 (28%)	2 (5%)	0.0002	0.0001	0.4274	0.0014
Type 2 diabetes	0 (0%)	26 (72%)	9 (24%)	0.0000	0.0000	0.0040	0.0000
All subjects with diabetes	0 (0%)	36 (100%)	11 (30%)	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
PAOD stage							
Fontaine I	0 (0%)	0 (0%)	2 (5%)	0.1365	1.0000	0.0833	0.0854
Fontaine IIa	0 (0%)	2 (6%)	6 (16%)	0.0235	0.3527	0.0071	0.0761
Fontaine IIb	0 (0%)	2 (6%)	20 (54%)	0.0000	0.4624	0.0000	0.0000
Fontaine III	0 (0%)	0 (0%)	3 (8%)	0.0476	1.0000	0.0320	0.0332
Fontaine IV	0 (0%)	0 (0%)	6 (16%)	0.0016	1.0000	0.0017	0.0018
Interventional therapy or surgery (eg, angioplastic, arterial bypass for PAOD treatment only)	0 (0%)	2 (6%)	7 (19%)	0.0088	0.3741	0.0028	0.0341
All subjects with PAOD	0 (0%)	4 (11%)	37 (100%)	0.0000	0.0105	0.0000	0.0000
Chronic kidney disease	0 (0%)	11 (31%)	24 (65%)	0.0000	0.0011	0.0000	0.0003
Cerebral insult	1 (3%)	2 (6%)	7 (19%)	0.0347	0.6670	0.0151	0.0458

Significant P-values are presented in bold. ANOVA, analysis of variance; LSD, least significant difference.

Table 1. Subjects were allocated to groups A/B/C according to their medical history. Group A was the control group consisting of healthy subjects (57% male; 63.3 ± 12.2 y; BMI, 27.1 ± 4.7). Group B included patients with nonischemic diabetes mellitus with an average diabetes duration of 12.5 years (53% male; 59.4 ± 17.5 y; BMI, 29.6 ± 6.2). Group C consisted of patients with a medical history of PAOD (81% male; 66.1 ± 11.3 y; BMI, 27.4 ± 4.6). The average duration of PAOD of these patients is 4.75 years. Statistical analysis showed an equal distribution of patients between groups regarding gender, age, height, weight, and BMI.

The number of patients suffering from arterial hypertension, cardiac diseases, diabetes mellitus, PAOD, and chronic kidney diseases were significantly higher in groups B and C compared to group A (all parameters *P* < 0.05). A significantly higher prevalence of patients with cardiac diseases, PAOD, and chronic kidney disease were apparent in group C (PAOD) relative to group B (diabetes mellitus) and a significantly lower number of patients suffering from diabetes mellitus in group C vs group B (all *P* < 0.05)

Microcirculatory Analysis

The microcirculatory data of the plantar side of the foot were averaged and displayed as mean and standard deviation. Detailed microcirculatory data of all assessed measurement points are reported in Table 2.

Cutaneous Oxygen Saturation

Global cutaneous oxygen saturation microcirculation at the plantar foot of healthy individuals was 8.4% higher than in patients with diabetes mellitus and 8.1% higher than in patients with PAOD (*P* = 0.033) (group A vs group B: 70.0% ± 7.6% vs 64.1% ± 4.0%; *P* = 0.061; group A vs group C: 70.0% ± 10.9% vs 64.3% ± 3.7%; *P* = 0.076).

There was no statistically significant difference between subjects with diabetes mellitus and PAOD (64.1% ± 4.0% vs 64.3% ± 3.7%; *P* = 1.0).

Postcapillary Venous Filling Pressure

Global cutaneous postcapillary venous filling pressure at the plantar side of the foot of healthy subjects was not significantly different compared to patients with diabetes mellitus (47.4 ± 6.7 AU vs 44.7 ± 4.6 AU; *P* = 0.692) and compared to patients

Table 2. Global Cutaneous Oxygen Saturation, Global Cutaneous Postcapillary Venous Filling Pressure, and Global Cutaneous Capillary Blood Flow of Groups A (Healthy Subjects) vs B (Diabetes Mellitus) vs C (PAOD) at all 10 Measurement Points at the Plantar Side of the Foot

Measurement Point at the Plantar Foot	Global Microcirculatory Parameters			
	Group A	Group B	Group C	P
	Healthy Subjects (n = 36)	Diabetes Mellitus (n = 35)	PAOD (n = 36)	
Cutaneous oxygen saturation (%)	70.0 ± 7.6	64.1 ± 4.0	64.3 ± 3.7	0.033
Cutaneous postcapillary venous filling pressure (AU)	47.4 ± 6.7	44.7 ± 4.6	44.6 ± 2.6	0.365
Cutaneous capillary blood flow (AU)	145.6 ± 26.7	148.3 ± 31.1	142.3 ± 20.4	0.881

Significant *P*-value is presented in bold.

with PAOD (47.4 ± 6.7 AU vs 44.6 ± 2.6 AU, respectively; *P* = 0.638). Cutaneous postcapillary venous filling pressure at the plantar side of the foot was not statistically different between patients with diabetes mellitus and PAOD (44.7 ± 4.6 AU vs 44.6 ± 2.6 AU, respectively; *P* = 1.0).

Capillary Blood Flow

Global cutaneous capillary blood flow at the plantar side of the foot of healthy subjects was not different in patients with diabetes mellitus (group A: 145.6 ± 26.7 AU vs group B: 148.3 ± 31.1 AU; *P* = 1.0) and patients suffering from PAOD (group A: 145.6 ± 26.7 AU vs group C: 142.3 ± 20.4 AU; *P* = 1.0). Similar to postcapillary venous pressure, there was no difference between groups B and C (148.3 ± 31.1 AU vs 142.3 ± 20.4 AU, respectively; *P* = 1.0).

DISCUSSION

The aim of this investigation was to evaluate the functional cutaneous microcirculatory perfusion of the plantar foot in both males and females, to determine functional foot microcirculation relevant to altered wound healing processes. We therefore hypothesized that functional microcirculation at the plantar side of the foot differs between healthy patients and patients with diabetes or PAOD.

Our study assessed different parameters of functional microcirculation at the plantar foot between healthy subjects and patients with diabetes or PAOD. Patients with either diabetes or PAOD showed a global deterioration in cutaneous oxygen saturation, despite maintaining global blood perfusion and global postcapillary venous filling pressure at the plantar foot relative to healthy subjects. However, local sampling at various points of the plantar foot revealed no changes between healthy controls and patients with either diabetes or PAOD.

Despite confirming our hypothesis, the pathogenesis of the diabetic foot still remains controversial.³⁴ In addition to vasculopathy, there are additional pathways and risk factors that can lead to foot ulcer-

ations including peripheral neuropathy, foot trauma, foot deformity, lower limb ischemia, foot edema, and callus deformation. The combination of these findings, especially neuropathy, minor foot trauma, and foot deformity, is considered to be the leading cause of diabetic foot ulcers.³⁵ Structural changes seen within the microvasculature of patients with diabetes, for example thickened capillary basement membranes, reduced capillary size, and pericyte degeneration have also been documented in the current scientific literature.^{13,36–40} However, data and theorized mechanisms regarding the role of a functional microcirculation are still controversial and require new approaches for the assessment of microcirculatory alterations in patients with diabetes.⁴ Combined Laser-Doppler and Photospectrometry allows quantitative measurements of soft tissue microcirculation measuring simultaneously cutaneous oxygen saturation, cutaneous postcapillary venous filling pressure, and cutaneous capillary blood flow. We thus initiated the reassessment of these microcirculatory parameters in patients with diabetes to compare them with healthy volunteers and patients with PAOD.

Recent studies support the hemodynamic hypothesis in the pathogenesis of diabetic microangiopathy, demonstrating increased capillary blood pressure in diabetic patients.^{10,11,41} Beckert et al²³ could demonstrate a significant increase in capillary blood flow at the forefoot in diabetic foot ulcer patients compared to healthy controls, without demonstrating significant changes in cutaneous oxygen saturation using the same combined Laser-Doppler and Photospectrometry as we did in our study (O2C). However, their data are not fully comparable to our study because they had a different focus of investigation, by trying to distinguish between healing and non-healing diabetic foot ulcers. Microcirculatory parameters might be compounded due to inflammatory processes. Several other studies contradict the hemodynamic hypothesis by reporting increased capillary blood flow and/or increased capillary flow pressure in patients with diabetes.^{4,42,43} In concordance

to these results, we also could not detect significant changes in capillary blood flow in either diabetic patients or in PAOD patients. Iwase et al³¹ showed that transcutaneous oxygen pressure (TcPO₂) at the dorsal foot in patients with diabetes was reduced compared to healthy controls, whereas skin blood flow did not differ significantly. This is also in agreement with our results as we reported deteriorated cutaneous oxygen saturation with equivalent blood perfusion in patients with diabetes mellitus. Iwase et al suggested that these findings might be explained with sympathetic vascular dysfunction shunting the microcirculating blood away from nutritive capillaries through anastomotic arteriovenous shunts, which would in general confirm the “capillary steal syndrome” hypothesis.

One of the major advantages of the combined Laser-Doppler and Photospectrometry System that we used in our study is that it is capable of assessing the tissue oxygen saturation of nutritive capillaries by measuring the venular (postcapillary) oxygen saturation in the capillary bed.⁴⁴ As our findings demonstrated deteriorated cutaneous oxygen saturation in these nourishing capillaries of the skin with equivalent blood perfusion and equivalent postcapillary venous filling pressure in patients with diabetes compared to healthy controls, our results support the theory of the capillary steal syndrome.

Nagase et al⁴⁵ tried another approach to assess vascular alteration in nonulcer diabetic patients by taking images of the plantar foot using Infrared Thermographic Imaging in 129 diabetic patients and 32 healthy controls. They found a much higher variation in the plantar thermographic patterns in the diabetes group than in healthy controls. This established a new conceptual classification of the plantar patterns according to the plantar angiosomes and their own findings. The higher variations in plantar thermographic patterns of patients with diabetes may be one reason why current studies are not consistent with respect to a functional microcirculation in patients with diabetes. Nevertheless, a potential limitation of this study by Nagase et al may be related to age unmatched groups, a parameter controlled for in our study which may make our data more conclusive.

As most subjects in our PAOD group were stage II patients, capillary blood flow should have remained normal at rest, due to microcirculatory compensation, observations shown elsewhere.^{19,20} It therefore seems that the total amount of blood flow alone is not crucial for impeded microcirculation in patients with PAOD. In this regard, Bongard and Fagrell⁴⁶ reported that resting blood flow in the skin microcirculation in patients with PAOD was even increased,

but maldistributed. Moreover, through TcPO₂ measurements, reduced O₂ levels could be demonstrated in patients with PAOD,^{20,47} which is in line with our results as we found deteriorated cutaneous oxygen saturation with equivalent global blood perfusion in patients suffering from PAOD. In addition, studies have indicated that vascular reactivity is impeded in patients with PAOD^{21,22} and skin postischemic hyperemic reaction is also impaired.¹⁹ Furthermore, in patients with critical limb ischemia, a reduced local vasoconstrictor response during limb lowering, in addition to pain while at rest, showed an increase in blood flow,⁴⁸ implying a capillary hypertension with more filtration, which suggests a further compromise of the nutritive capillaries while increasing the oxygen diffusion distance.²⁰ These results and findings shown by vital capillaroscopy, for example, dilated papillary capillaries, indistinct capillaries, capillary hemorrhage with extravasation, and a reduced number of blood filled capillaries,⁴⁹ may be possible reasons for changes in functional microcirculation in patients with PAOD.

There is no doubt that microcirculatory changes seem to play a major role in patients with diabetes and PAOD. In recent studies, it has been shown that among patients with critical limb ischemia, the microcirculatory assessment was a powerful indicator to predict amputation,^{32,50} whereas Fontaine staging, ankle blood pressure, or the presence of diabetes mellitus did not.⁵⁰ Thus, it can be concluded that the microcirculation may have an even bigger impact on morbidity than an impeded macrovasculature. Moreover, Rajbhandari et al³³ demonstrated a decreased microvascular oxygen saturation as an early indicator of diabetic foot ulcers occurring with healing.

Therefore, improvement of microcirculation should be considered as one of the primary goals of treatment. Glycemic control and metformin administration in patients with diabetes have been shown to have a positive influence on microcirculation.^{51–53} Similarly, we have demonstrated that remote ischemic preconditioning in healthy volunteers can improve the cutaneous microcirculation.²⁷ Further studies are needed to elucidate whether this could also be useful for patients with diabetes mellitus or PAOD.

LIMITATIONS

There are 2 main limitations in our study. First, we did not match the microcirculatory findings in the diabetes group to either HbA_{1c} values or polyneuropathy status, which may be factors affecting the microcirculatory parameters.^{11,33,54} However, our diabetes study population had an average diabetes duration of 12.5 years, so that a relevant microcirculatory damage should be expected. As far as we know,

there are no studies suggesting these values above have any influence on microcirculatory parameters assessed using the O2C as a combined Laser-Doppler and Photospectrometry System.⁵⁴

Another limitation are the intraindividual changes during a time period with respect to skin blood flow or other microcirculatory parameters, especially in patients with PAOD, as there are reports of intraindividual variabilities and fluctuations in patients with PAOD when measuring oxygen saturation using the transcutaneous oxygen tension (TcPO₂) technique.⁵⁵ However, combined Laser-Doppler and photospectrometry as a relatively new technique revealed a high reproducibility,⁵⁶ even in patients with diabetes.³⁰

CONCLUSIONS

According to our findings, we can conclude that the “capillary steal syndrome” hypothesis might be one possible pathway for reduced capillary oxygen saturation with equivalent blood perfusion and equivalent postcapillary venous filling pressure at the plantar foot in patients with diabetes. However, further investigations have to be conducted to elucidate the entire mechanisms leading to foot ulcers, including the assessment of microcirculatory effects and their implications. Impaired tissue oxygen saturation seems to play an essential role in foot ulcers and wound healing as both patient groups showed a significant deterioration of tissue oxygen saturation at the plantar foot. This is most interesting in patients with PAOD; these data suggest that impaired microcirculation may have an even bigger influence on morbidity than an impeded macrocirculation.

Interestingly, we could show that venous stasis and blood flow did not show any significant alterations in patients suffering from diabetes mellitus or PAOD, which may imply a benefit of therapeutic options that ameliorate cutaneous tissue oxygen saturation at the feet of these patients.

Robert Kraemer, MD

Plastic, Hand and Reconstructive Surgery
Hannover Medical School
Carl-Neuberg-Strasse 1
Hannover 30625, Germany
E-mail: kraemer.robert@mh-hannover.de

REFERENCES

1. American Diabetes Association. Diabetes Statistics. Available at: <http://www.diabetes.org/diabetes-statistics.jsp>. Accessed January 27, 2013.
2. Meijer WT, Hoes AW, Rutgers D, et al. Peripheral arterial disease in the elderly: The Rotterdam Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18:185–192.
3. Flynn MD, Tooke JE. Aetiology of diabetic foot ulceration: a role for the microcirculation? *Diabet Med*. 1992;9:320–329.
4. Chao CYL, Cheing GLY. Microvascular dysfunction in diabetic foot disease and ulceration. *Diabetes Metab Res Rev*. 2009;25:604–614.
5. Goldenberg S, Alex M, Joshi RA, et al. Nonatheromatous peripheral vascular disease of the lower extremity in diabetes mellitus. *Diabetes* 1959;8:261–273.
6. Hile C, Veves A. Microcirculation of the diabetic foot. In: Johnstone MT, Veves A, eds. *Diabetes and Cardiovascular Disease*. 2005:403–418.
7. LoGerfo FW, Coffman JD. Vascular and microvascular disease of the foot in diabetes. *N Engl J Med*. 1984;311:1615–1619.
8. Ditzel J. Functional microangiopathy in diabetes mellitus. *Diabetes* 1968;17:388–397.
9. Dinh T, Veves A. Microcirculation of the diabetic foot. *Curr Pharm Des*. 2005;11:2301–2309.
10. Parving HH, Noer I, Deckert T, et al. The effect of metabolic regulation on microvascular permeability to small and large molecules in short-term juvenile diabetics. *Diabetologia* 1976;12:161–166.
11. Sandeman DD, Shore AC, Tooke JE. Relation of skin capillary pressure in patients with insulin-dependent diabetes mellitus to complications and metabolic control. *N Engl J Med*. 1992;327:760–764.
12. Tooke JE. Microvascular function in human diabetes. A physiological perspective. *Diabetes* 1995;44:721–726.
13. Tilton RG, Faller AM, Burkhardt JK, et al. Pericyte degeneration and acellular capillaries are increased in the feet of human diabetic patients *Diabetologia* 1985;28:895–900.
14. Singleton JR, Smith AG, Russell JW, et al. Microvascular complications of impaired glucose tolerance. *Diabetes* 2003;52:2867–2873.
15. Uccioli L, Mancini L, Giordano A, et al. Lower limb arterio-venous shunts, autonomic neuropathy and diabetic foot. *Diabetes Res Clin Pract*. 1992;16:123–130.
16. Krishnan S, Rayman G. Microcirculation and diabetic foot. In: *The Foot in Diabetes*. 2006:41–50.
17. Boulton AJ, Scarpello JH, Ward JD. Venous oxygenation in the diabetic neuropathic foot: evidence of arteriovenous shunting? *Diabetologia* 1982;22:6–8.
18. Ouriel K. Peripheral arterial disease. *Lancet* 2001;358:1257–1264.
19. del Guercio R, Leonardo G, Arpaia MR. Evaluation of postischemic hyperemia on the skin using laser Doppler velocimetry: study on patients with claudicatio intermitens. *Microvasc Res*. 1986;32:289–299.
20. Rossi M, Carpi A. Skin microcirculation in peripheral arterial obliterative disease. *Biomed Pharmacother*. 2004;58:427–431.
21. Harris LM, Faggioli GL, Shah R, et al. Vascular reactivity in patients with peripheral vascular disease. *Am J Cardiol*. 1995;76:207–212.
22. Rossi M, Cupisti A, Perrone L, et al. Acute effect of exercise-induced leg ischemia on cutaneous vasoreactivity in patients with stage II peripheral artery disease. *Microvasc Res*. 2002;64:14–20.
23. Beckert S, Witte MB, Königsrainer A, et al. The impact of the Micro-Lightguide O2C for the quantification of tissue ischemia in diabetic foot ulcers. *Diabetes Care* 2004;27:2863–2867.
24. Knobloch K, Tomaszek S, Lichtenberg A, et al. Long-term palmar microcirculation after radial artery harvesting: an observational study. *Ann Thorac Surg*. 2006;81:1700–1707.

25. Knobloch K, Grasmann R, Spies M, et al. Midportion achilles tendon microcirculation after intermittent combined cryotherapy and compression compared with cryotherapy alone: a randomized trial. *Am J Sports Med.* 2008;36:2128–2138.
26. Knobloch K, Grasmann R, Spies M, et al. Intermittent KoldBlue cryotherapy of 3×10 min changes mid-portion Achilles tendon microcirculation. *Br J Sports Med.* 2007;41:e4.
27. Kraemer R, Lorenzen J, Kabbani M, et al. Acute effects of remote ischemic preconditioning on cutaneous microcirculation—a controlled prospective cohort study. *BMC Surg.* 2011;11:32.
28. Kraemer R, Lorenzen J, Knobloch K, et al. Free flap microcirculatory monitoring correlates to free flap temperature assessment. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2011;64:1353–1358.
29. Ladurner R, Feilitzsch M, Steurer W, et al. The impact of a micro-lightguide spectrophotometer on the intraoperative assessment of hepatic microcirculation: a pilot study. *Microvasc Res.* 2009;77:387–388.
30. Forst T, Tarakci E, Forst S, et al. Reliability of lightguide spectrophotometry (O2C) for the investigation of skin tissue microvascular blood flow and tissue oxygen supply in diabetic and nondiabetic subjects. *J Diabetes Sci Technol.* 2008;2:1151.
31. Iwase M, Imoto H, Murata A, et al. Altered postural regulation of foot skin oxygenation and blood flow in patients with type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2007;115:444–447.
32. Harrison DK, McCollum PT, Newton DJ, et al. Amputation level assessment using lightguide spectrophotometry. *Prosthet Orthot Int.* 1995;19:139–147.
33. Rajbhandari SM, Harris ND, Tesfaye S, et al. Early identification of diabetic foot ulcers that may require intervention using the micro lightguide spectrophotometer. *Diabetes Care.* 1999;22:1292–1295.
34. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *Lancet.* 2005;366:1736–1743.
35. Dinh TL, Veves A. A review of the mechanisms implicated in the pathogenesis of the diabetic foot. *Int J Low Extrem Wounds.* 2005;4:154–159.
36. Malik RA, Newrick PG, Sharma AK, et al. Microangiopathy in human diabetic neuropathy: relationship between capillary abnormalities and the severity of neuropathy. *Diabetologia.* 1989;32:92–102.
37. Jaap AJ, Shore AC, Stockman AJ, et al. Skin capillary density in subjects with impaired glucose tolerance and patients with type 2 diabetes. *Diabetes Med.* 1996;13:160–164.
38. Rayman G, Malik RA, Sharma AK, et al. Microvascular response to tissue injury and capillary ultrastructure in the foot skin of type I diabetic patients. *Clin Sci (Lond).* 1995;89:467–474.
39. Cameron NE, Eaton SE, Cotter MA, et al. Vascular factors and metabolic interactions in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetologia.* 2001;44:1973–1988.
40. Tesfaye S, Malik RA, Ward JD. Vascular factors in diabetic neuropathy. *Diabetologia.* 1994;37:847–854.
41. Parving HH, Viberti GC, Keen H, et al. Hemodynamic factors in the genesis of diabetic microangiopathy. *Metabolism.* 1983;32:943–949.
42. Fagrell B, Hermansson IL, Karlander SG, et al. Vital capillary microscopy for assessment of skin viability and microangiopathy in patients with diabetes mellitus. *Acta Med Scand Suppl.* 1984;687:25–28.
43. Shore AC, Jaap AJ, Tooke JE. Capillary pressure in patients with NIDDM. *Diabetes.* 1994;43:1198–1202.
44. Krug A, Medizintechnik L, Schlüsselwörter G. Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes. *Phlebologie.* 2007;36:300–312.
45. Nagase T, Sanada H, Takehara K, et al. Variations of plantar thermographic patterns in normal controls and non-ulcer diabetic patients: novel classification using angiosome concept. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2011;64:860–866.
46. Bongard O, Fagrell B. Discrepancies between total and nutritional skin microcirculation in patients with peripheral arterial occlusive disease (PAOD). *Vasa.* 1990;19:105–111.
47. Wyss CR, Matsen FA III, Simmons CW, et al. Transcutaneous oxygen tension measurements on limbs of diabetic and nondiabetic patients with peripheral vascular disease. *Surgery.* 1984;95:339–346.
48. Eickhoff JH. Forefoot vasoconstrictor response to increased venous pressure in normal subjects and in arteriosclerotic patients. *Acta Chir Scand Suppl.* 1980;502:7–14.
49. Fagrell B. Vital capillary microscopy. *Scand J Clin Lab Invest.* 1973;31:1–50.
50. Ubbink DT, Spincemaille GH, Reneman RS, et al. Prediction of imminent amputation in patients with non-reconstructible leg ischemia by means of microcirculatory investigations. *J Vasc Surg.* 1999;30:114–121.
51. Reichard P, Nilsson BY, Rosenqvist U. The effect of long-term intensified insulin treatment on the development of microvascular complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1993;329:304–309.
52. Bailey CJ. Metformin: effects on micro and macrovascular complications in type 2 diabetes. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2008;22:215–224.
53. Wiernsperger NF. Review: 50 years later: is metformin a vascular drug with antidiabetic properties? *Br J Diabetes Vasc Dis.* 2007;7:204–210.
54. Stirban A, Salgin B, Koschinsky T, et al. *Differential Role of Type 2 Diabetes and Cardiovascular Autonomic Neuropathy in Impaired Control of Skin Microcirculation.* Poster Presentation at the Congress of American Diabetes Association in New Orleans, 2003.
55. Eickhoff JH, Engell HC. Transcutaneous oxygen tension (tcPO₂) measurements on the foot in normal subjects and in patients with peripheral arterial disease admitted for vascular surgery. *Scand J Clin Lab Invest.* 1981;41:743–748.
56. Ghazanfari M, Vogt L, Banzer W, et al. Reproducibility of non-invasive blood flow measurements using laser Doppler spectroscopy. *Phys Med Rehab Kuror.* 2002;12:330–336.

EINLEITUNG

Wundheilungsstörungen und Fußulzera sind ein häufig anzutreffendes Phänomen in der alltäglichen klinischen Arbeit. Neben traumatischen und iatrogenen Ursachen sind auch internistische Grunderkrankungen am Patienten als Ursache zu suchen [57]. Für die Wundheilung ist neben einer kompetenten Immunreaktion, einer funktionierenden Gerinnung auch eine physiologische Mikrozirkulation essentiell [34,57].

Zu den zwei wesentlichen Grunderkrankungen, die Wundheilungsstörungen und chronische Fußulzerationen verursachen, gehören vor allem Diabetes mellitus (DM) und die periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) [35,62].

Bei zunehmender Inzidenz in Deutschland und weltweit [58] stellt Diabetes mellitus in der westlichen Welt wie z.B. in den USA die Hauptursache für atraumatische Amputationen an der unteren Extremität [1]. Auch in Deutschland gehen ca. 70% aller Fuß- und Beinamputationen mit einer Diabeteserkrankung einher [59] – was in absoluten Zahlen ausgedrückt mehr als 43.000 Amputationen pro Jahr sind [59]. Das diabetische Fußsyndrom, was letztlich die Ursache dieser Amputationen ist, stellt zudem die häufigste Komplikation bei Diabetikern dar [34,35,59,60]. Sowohl makro- wie auch mikrozirkulatorische Einschränkungen werden für diesen Syndromkomplex mitverantwortlich gemacht [3,4,8,9,34]. Während strukturelle Veränderungen in der Mikrozirkulation, wie eine verdickte Basalmembran, beim Diabetes mellitus schon recht früh entdeckt wurden [3,4], sind funktionelle Störungen der Mikrozirkulation immer noch Gegenstand von gegenwärtigen wissenschaftlichen Diskussionen [4]. Wie in der aktuellen Literatur beschrieben, werden in der wissenschaftlichen Welt beim Diabetes mellitus unter anderem zwei mögliche Konzepte der Veränderung in der Mikrozirkulation beschrieben: Die hämodynamische Hypothese und die Capillary Steal Hypothese. Für beide Hypothesen gibt es Argumente in der Literatur [4].

Bei der hämodynamischen Hypothese wird davon ausgegangen, dass eine eingeschränkte Stickstoff(NO)-Synthese durch das Auftreten von Hyperglykämien in frühen Stadien der Diabeteserkrankung zu Blutflussdysregulationen führt [10], die mit einem erhöhten mikropillären Blutfluss und einem erhöhten kapillären Füllungsdruck einhergehen [11]. Diese Steigerung der Mikrozirkulation wird als chronische Inflammation im Endothel angesehen, die die Entstehung der bekannten strukturellen Veränderungen, wie einer verdickten Basalmembran, verursachen könnte. Sowohl Transportprozesse durch die Kapillarmembran, als auch die Elastizität der mikropillären Gefäße können so eingeschränkt werden, dass bei erhöhtem Bedarf des Gewebes für Nährstoffe keine ausreichende Versorgung durch die Mikrozirkulation gegeben ist [3,12 - 14].

Allerdings zeigten jedoch andere Untersuchungen, dass der mikrozirkulatorische Fluss bei Diabetikern nicht erhöht war [15,16,61]. Bei der Capillary Steal Hypothese wird daher davon ausgegangen, dass im Rahmen einer autonomen Neuropathie der Gefäße der Sympathikotonus der Widerstandsgefäße vermindert wird, sodass sauerstoffreiches Blut durch arteriovenöse Shunts der Thermoregulation am Kapillarbett vorbei fließt [15,16]. Studien, die für diese Theorie sprechen, zeigten zur Bestätigung unter anderem eine erhöhte venöse Sauerstoffsättigung der Makrozirkulation bei Patienten mit diabetischem Fußsyndrom und peripherer Polyneuropathie [17].

Neben dem Diabetes mellitus, gilt auch die periphere arterielle Verschlusskrankheit als eine wesentliche Ursache für Fußulzera und Wundheilungsstörungen, und kann sowohl mit, wie auch ohne Diabetes mellitus auftreten [62]. Per definitionem ist die periphere arterielle Verschlusskrankheit eine chronische Gefäßkrankheit, die hauptsächlich durch zunehmende Arteriosklerose in den versorgenden Arterien der unteren Extremität auftritt [18]. Zu den Risikofaktoren der pAVK gehören unter anderem Rauchen, Erkrankung an Diabetes mellitus, arterieller Bluthochdruck und Fettstoffwechselstörungen. Etwa 1,8 Millionen Deutsche leiden an einer symptomatischen pAVK [62]. Kennzeichnend in der Klinik ist die Claudicatio intermittens, die in der gängigen klinischer Praxis nach Fontaine eingeteilt wird (Stadium I: keine Symptome; IIa: beschwerdefreie Gehstrecke > 200 m; IIb: beschwerdefreie Gehstrecke < 200 m; Stadium III: Ruheschmerz; Stadium IV: Nekrosen, Ulzera, Gangrän). Auch bei der pAVK treten zusätzlich zu den Einschränkungen der Makrozirkulation mikrozirkulatorische Veränderungen auf. Obwohl in Untersuchungen bei Patienten mit pAVK im Stadium II nach Fontaine eine normale Ruheperfusion der Haut gemessen wurde [19,20], so konnte dennoch gezeigt werden, dass die reaktive postischämische Hyperämie eingeschränkt [19] und das Blutflussmuster bei Patienten mit pAVK unregelmäßig ist [20], sodass davon ausgegangen wird, dass diese mikrozirkulatorischen Veränderungen einen Einfluss für die Anfälligkeit von Wundheilungsstörungen und Ulzera bei Patienten mit pAVK haben können [18-22].

Um die mikrozirkulatorischen Veränderungen an der Fußsohle sowohl bei Patienten mit Diabetes mellitus als auch bei Patienten mit pAVK weitergehend und quantifizierend zu untersuchen, haben wir mithilfe der kombinierten Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrophotometrie (O2C®) die mikrozirkulatorischen Parameter gemessen und diese mit gesunden Probanden als Kontrollen verglichen. Mithilfe der kombinierten Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrophotometrie (O2C®) ist es möglich, nichtinvasiv und in-vivo mikrozirkulatorische Parameter zu erfassen.

Die wesentlichen Fragen dieser Arbeit lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Bestehen zwischen Gesunden und an Diabetes mellitus, bzw. an pAVK erkrankten Probanden Differenzen hinsichtlich der Parameter der Mikrozirkulation an der Fußsohle?
2. Welche Rückschlüsse lassen sich hierzu in Bezug zur Hämodynamischen und Capillary Steal Hypothese bei Patienten mit DM, bzw. zu mikrozirkulatorischen Störungen bei Patienten mit pAVK ziehen?
3. Welche therapeutischen Implikationen wären bei Veränderungen der Mikrozirkulation bei Patienten mit Diabetes mellitus oder pAVK denkbar?

Die Ergebnisse dieser Studie sind in der Zeitschrift der Amerikanischen Gesellschaft für Plastische Chirurgie, dem „Plastic and Reconstructive Surgery – Global Open (PRS GO)“ unter dem Titel „Impact of Diabetes and Peripheral Arterial Occlusive Disease on the Functional Microcirculation at the Plantar Foot“ veröffentlicht worden und werden mit dieser Dissertation näher erläutert.

MATERIAL UND METHODEN

- **Probandendatenerhebung**

Es wurden 107 Patienten untersucht, davon 36 in der gesunden Kontrollgruppe A, 35 in der Diabetes Gruppe B sowie 36 in der pAVK Gruppe C. Patientencharakteristika wurden sowohl anamnestisch, wie auch aus klinischen Vorbefunden entnommen. Das Durchschnittsalter lag in der gesunden Kontrollgruppe bei 63.33 a \pm 12.22 a, in der Diabetesgruppe bei 59.44 a \pm 17.51 a sowie bei 66.08 a \pm 11.25 a in der pAVK Gruppe und war dabei ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Patienten in der Kontrollgruppe hatten durchschnittlich 17 Packyears, in der Diabetesgruppe 22 Packyears und 30 Packyears in der pAVK Gruppe geraucht. Alle Probanden der Diabetes- wie auch der pAVK-Gruppe waren in Behandlung in der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) aus diversen Gründen. Die Probanden aus der gesunden Kontrollgruppe bestanden sowohl aus Patienten in der MHH wie auch aus gesunden Studenten und Mitarbeitern der MHH. Bei chirurgischen Patienten wurde die Messung stets präoperativ durchgeführt. Einschlusskriterien waren für alle Gruppen einwilligungsfähige männliche und weibliche Probanden im Alter zwischen 18-75 Jahren. Einschlusskriterien waren in Gruppe B Erkrankung an Diabetes mellitus, in Gruppe C Erkrankung an peripherer arterieller Verschlusskrankheit. Ausschlusskriterien für alle Gruppen waren Weichteilinfekte im Messgebiet, chronisch venöse Insuffizienz (CVI), Osteomyelitis, Vaskulitiden, Lebererkrankungen und schwere systemische (Akut-)Erkrankungen. Ausschlusskriterien für die gesunde Kontrollgruppe A waren Erkrankung an Diabetes mellitus und/oder pAVK.

Bei Probanden in der Diabetesgruppe betrug die durchschnittliche Erkrankungsdauer 12,5 Jahre (11% Diabetesdauer unbekannt, 11% 0 – 1 Jahr, 11% 1 – 2 Jahre, 14 % 2 – 5 Jahre, 8% 5 – 10 Jahre, 14% 10 – 15 Jahre, 14% 15 – 20 Jahre, 17% länger als 20 Jahre).

Bei allen Probanden in der pAVK Gruppe wurde die Erkrankung nachweislich entweder mit einer Doppler-Sonografie oder (CT-)Angiografie diagnostiziert. Außerdem lag in dieser Gruppe der Fuß-Arm-Index ärztlich diagnostiziert unterhalb von 0,9. Bei Patienten mit pAVK wurde die Messung der Mikrozirkulationsparameter auf der Fußseite mit der relevanten Arterienstenose / Arterienverschluss durchgeführt. Die durchschnittliche Dauer der pAVK Erkrankung seit Diagnosestellung betrug in der pAVK Gruppe 4,75 Jahre (5% pAVK Dauer unbekannt, 38% 0 – 1 Jahr, 14% 1 – 2 Jahr, 30% 2 – 5 Jahre, 5% mehr als 10 Jahre).

Alle Probanden wurden über die Studie und über den Beschluss der Ethikkommission schriftlich, wie auch mündlich aufgeklärt.

Bei Einhaltung der Einschlusskriterien und schriftlicher Zustimmung der Probanden zur Teilnahme an der Studie wurden die klinische Untersuchung und die apparativen Messungen durchgeführt.

Zur verbesserten Übersicht wurden in der Originalarbeit die Patientencharakteristika tabellarisch dargestellt (Table 1).

- **Klinische Untersuchung der Probanden**

Es wurde vor jeder Messung eine Inspektion am Fuß zur Begutachtung von potentiellen Läsionen (Nekrosen, Ulzera) durchgeführt. Es wurde zudem bei allen Probanden im Seitenvergleich die Fußpulse getastet. Probanden in der Kontrollgruppe mit einer Rekapillarierungszeit > 2 sek. an den Zehen, bzw. nicht tastbaren Fußpulsen der A. dorsalis pedis / A. tibialis posterior wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Patienten in der pAVK Gruppe wurden zur klinischen Einteilung nach Fontaine gezielt nach Fußläsionen, Ulzera, Nekrosen am Fuß/Unterschenkel untersucht, anamnestisch nach Ruheschmerz gefragt sowie die Gehstrecke, soweit möglich, am Patienten überprüft.

- **Apparative Diagnostik mit der kombinierten Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrophotometrie (O2C®)**

Das O2C® (Oxygen-To-See, O2C-System, LEA Medizintechnik Gießen) kombiniert sowohl eine Weißlichtquelle (Gewebespektrophotometrie), wie auch eine Laser-Doppler-Flussmessung zur nicht invasiven Erfassung der Gewebesauerstoffsättigung, des postkapillären venösen Füllungsdrucks und des kapillären Blutflusses. Mithilfe der Weißlichtquelle (Wellenlänge 500-800 nm) des O2C werden die Parameter Gewebesauerstoffsättigung und relativer, postkapillärer venöser Füllungsdruck erfasst; mithilfe des Laserlichts der Wellenlänge 830 nm und einer maximalen Leistung von < 30 mW

der relative kapilläre Blutfluss, woraus sich wiederum die relative Blutflussgeschwindigkeit errechnen lässt.



Abbildung 1: Das O2C Gerät, sowie die Flachsonde, wie sie bei den Messungen verwendet wurde. Abbildung mit freundlicher Genehmigung von LEA Medizintechnik GmbH [64].

Das O2C ist in der Lage, diese Parameter mithilfe der von uns verwendeten Flachsonde sowohl in 2 mm wie auch in 8 mm Gewebetiefe zu messen. Da die von uns untersuchten Probanden ein z.T. erheblich unterschiedliches Maß an Verschwiellung plantarseitig aufwiesen, haben wir in unserer Studie ausschließlich die mikrozirkulatorischen Parameter in 8 mm tiefe berücksichtigt.

Zu den weiteren klinischen Fragestellungen, die mithilfe des O2C bereits untersucht worden sind gehören unter anderem, die Beurteilung zwischen heilenden und nicht heilenden diabetischen Ulzera [23], die palmare Mikrozirkulation nach Radialisentnahme [24], Achillessehnentendinopathien [25-26], Evaluierung der ischämischen Fernkonditionierung [27], postoperative Beurteilung von freien Lappenplastiken [28], die intraoperativen Beurteilung der Lebermikrozirkulation [29].

Da die Weißlichtquelle des O2C nicht dem nur in der Theorie vorhandenen „idealen“ Licht mit gleichmäßiger Intensität aller Wellenlängen entspricht, wurde vor jeder Messung ein



Weißabgleich durchgeführt. Die Messungen erfolgten unter standardisierten Bedingungen: sowohl das Umgebungslicht, wie auch die Umgebungstemperatur (Zimmertemperatur) waren bei allen Messungen gleich und konstant. Um einen temporären vasokonstriktorischen Effekt zu vermeiden haben alle Probanden mindestens 6 Stunden zuvor nicht geraucht oder sonst in irgendeiner Form Nikotin konsumiert. Alle Probanden waren vor jeder Messung mindestens 15 min lang in körperlicher Ruhe.

Die Messungen wurden an 10 Punkten plantarseitig am Fuß vorgenommen, um so an ein Gesamtbild der Mikrozirkulation der Fußsohle zu gelangen (Abbildung 2). In der statistischen Auswertung wurden diese dann als globale Mikrozirkulationsparameter zusammengefasst.

Abbildung 2: Messpunkte an der Fußsohle Die drei globalen Mikrozirkulationsparameter sind:

1.) *kutane Gewebesauerstoffsättigung [%]*

Mithilfe der Gewebespektrophotometrie wird die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins gemessen. Bekanntlich ist das sauerstoffreiche Hämoglobin hellrot, während das sauerstoffarme Hämoglobin bläulich-violette Töne annimmt. Diese farbliche Eigenschaft des Hämoglobins wird quantitativ mithilfe der Gewebespektrophotometrie erfasst. Da das sichtbare Licht der Weißlichtquelle in Gefäßen größer als 100 µm nahezu vollständig absorbiert wird, wird so nur die Sauerstoffsättigung der mikrozirkulatorischen Gefäße unter 100 µm und damit im zu versorgenden Gewebe gemessen. Somit wird also nur die nutritive Blutversorgung

erfasst, sodass relevante Gewebehypoxien, bzw. Minderversorgungen damit untersucht werden können. Da 75% der Mikrozirkulation in den postkapillären Venolen stattfindet, liegt das Augenmerk der Messungen vor allem in diesem Bereich.

2.) kutaner, postkapillärer venöser Füllungsdruck [relative Einheiten, rE]

Ebenso wird mithilfe der Gewebespektrophotometrie der relative postkapilläre venöse Füllungsdruck erfasst, der die relative Hämoglobinmenge in der post-kapillären Mikrozirkulation angibt. Er ist somit ein Marker für die Stase in den Venolen. Erhöhte Werte sprechen folglich für einen verschlechterten venösen Abfluss von Stoffwechselprodukten. Außerdem wird bei zunehmenden venösen Füllungsdruck der Venolen das Gleichgewicht von Filtration und Resorption zunehmend auf Seiten der Filtration liegen, sodass es zu einem vermehrten Gewebeödem kommt.

3.) kutaner Blutfluss [rE]

Bei der Erfassung des Blutflusses gelangt Laserlicht mit einer speziellen Frequenz als Lichtvektor in das Kapillarnetz. Bewegte Erythrozyten verändern diese Frequenz, welche von dem O2C erfasst werden („Doppler-Effekt“). Die dabei zugrunde liegende „heterodyne Lichtschwebungstechnik“ überlagert reflektiertes, nicht-frequenzverschobenes Licht mit dem von Erythrozyten reflektierten, frequenzverschobenen Licht. Die dabei entstehenden Schwebungsfrequenzen werden anschließend frequenzanalysiert. Hieraus kann ein Maß für die relative Anzahl der bewegten Erythrozyten in den nutritiven Kapillaren hergeleitet werden. Rechnerisch kann zudem aus dem relativen Blutfluss die Blutflussgeschwindigkeit hergeleitet werden.

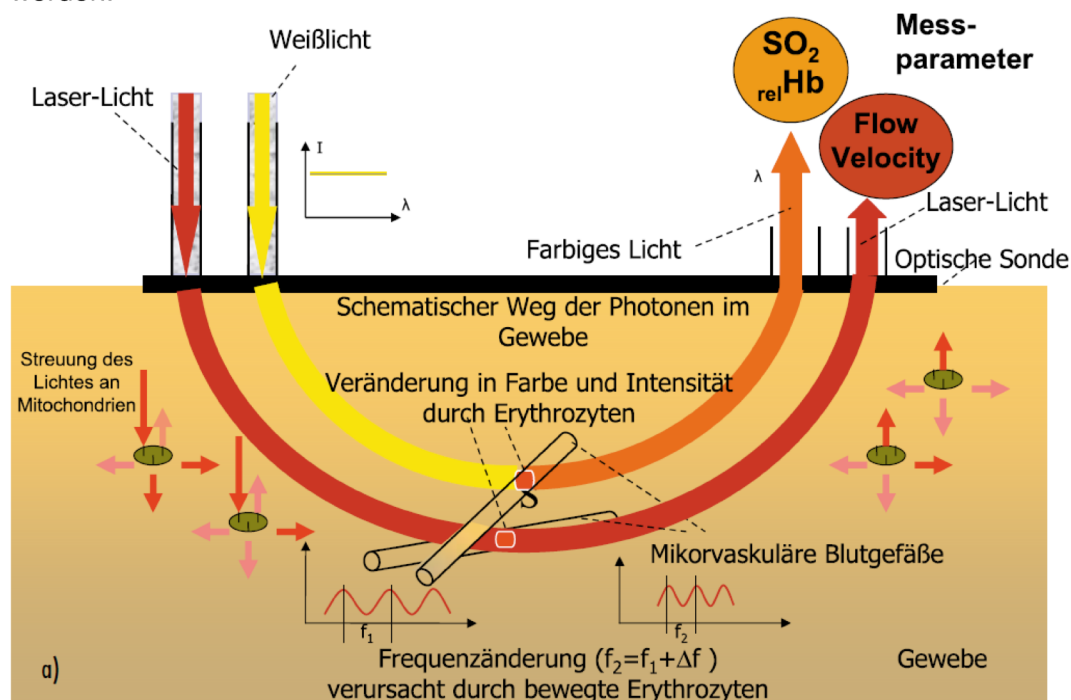


Abbildung 3: Messprinzip der Weißlichtquelle und des Laserlichts des O2C. Abbildung mit freundlicher Genehmigung von LEA Medizintechnik GmbH I641.

- **Statistische Auswertung**

Die univariate Analyse der Varianzen (ANOVA) zwischen den Gruppen wurde zur statistischen Auswertung der Mikrozirkulationsparameter, biometrischer Daten sowie der Patientencharakteristika durchgeführt. Zur Vervollständigung wurde zusätzlich die multivariate Hypothesentestung der Diabetes Gruppe B und der pAVK Gruppe C gegenüber der gesunden Kontrollgruppe A mithilfe des Bonferroni post-hoc Tests und des Fisher-least significant difference Tests auf Signifikanz getestet. P-Werte kleiner als 0,05 wurden als signifikant gewertet. In der deskriptiven Statistik wurden mikrozirkulatorische Messparameter, biometrische Daten sowie die Patientencharakteristika, soweit möglich, als Mittelwerte und deren Standardabweichung (\pm) angegeben. Eine statistische Poweranalyse wurde durchgeführt. Die Poweranalyse ergab im a priori t-test ($1-\beta$ Fehler = 0,8) für die kutane Sauerstoffsättigung eine Probengröße von 18 Probanden pro Gruppe – sodass für die gesamte Studie 54 Probanden benötigt würden. Zur statistischen Analyse benutzten wir das Programm SPSS Statistical Software Package 20 (IBM, NY, USA). Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe des Instituts für Biometrie der MHH.

ERGEBNISSE

In der statistischen Analyse wurden die 10 lokalen Messpunkte als Mittelwerte für die globale Mikrozirkulation der Fußsohle zusammengefasst (Tabelle 1).

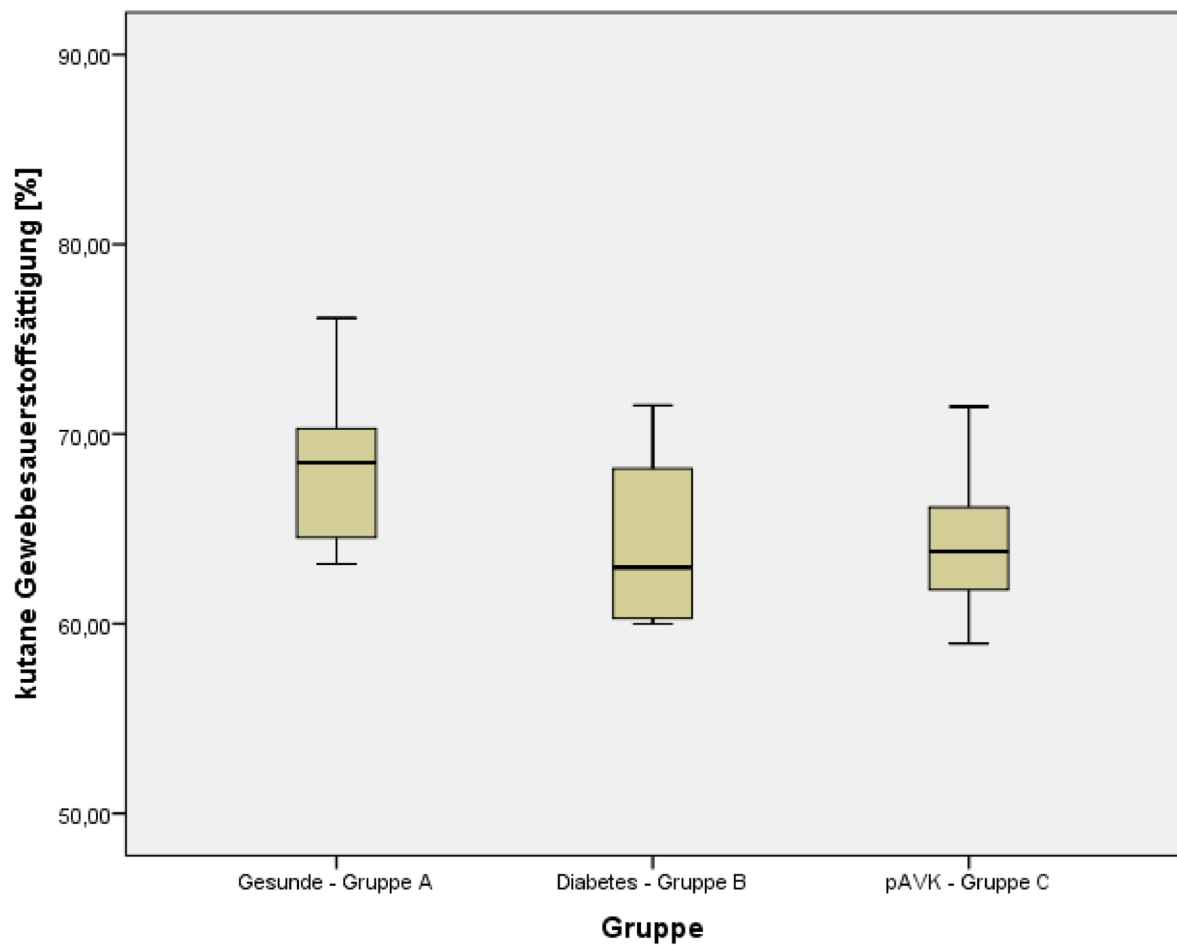
Globale Mikrozirkulationsparameter

	Gruppe A Gesunde Kontrollgruppe pe (n = 36)	Gruppe B Diabetes mellitus (n = 35)	Gruppe C pAVK (n = 36)	p-Wert
kutane Gewebesauerstoffsättigung [%]	70,0 \pm 7,6	64,1 \pm 4,0	64,3 \pm 3,7	0,033
kutaner, postkapillärer venöser Füllungsdruck [relative Einheiten]	47,4 \pm 6,7	44,7 \pm 4,6	44,6 \pm 2,6	0,365
kutaner Blutfluss [relative Einheiten]	145,6 \pm 26,7	148,3 \pm 31,1	142,3 \pm 20,4	0,881

Tabelle 1: Ergebnisse der globalen Mikrozirkulationsparameter

Globale Gewebesauerstoffsättigung [%]

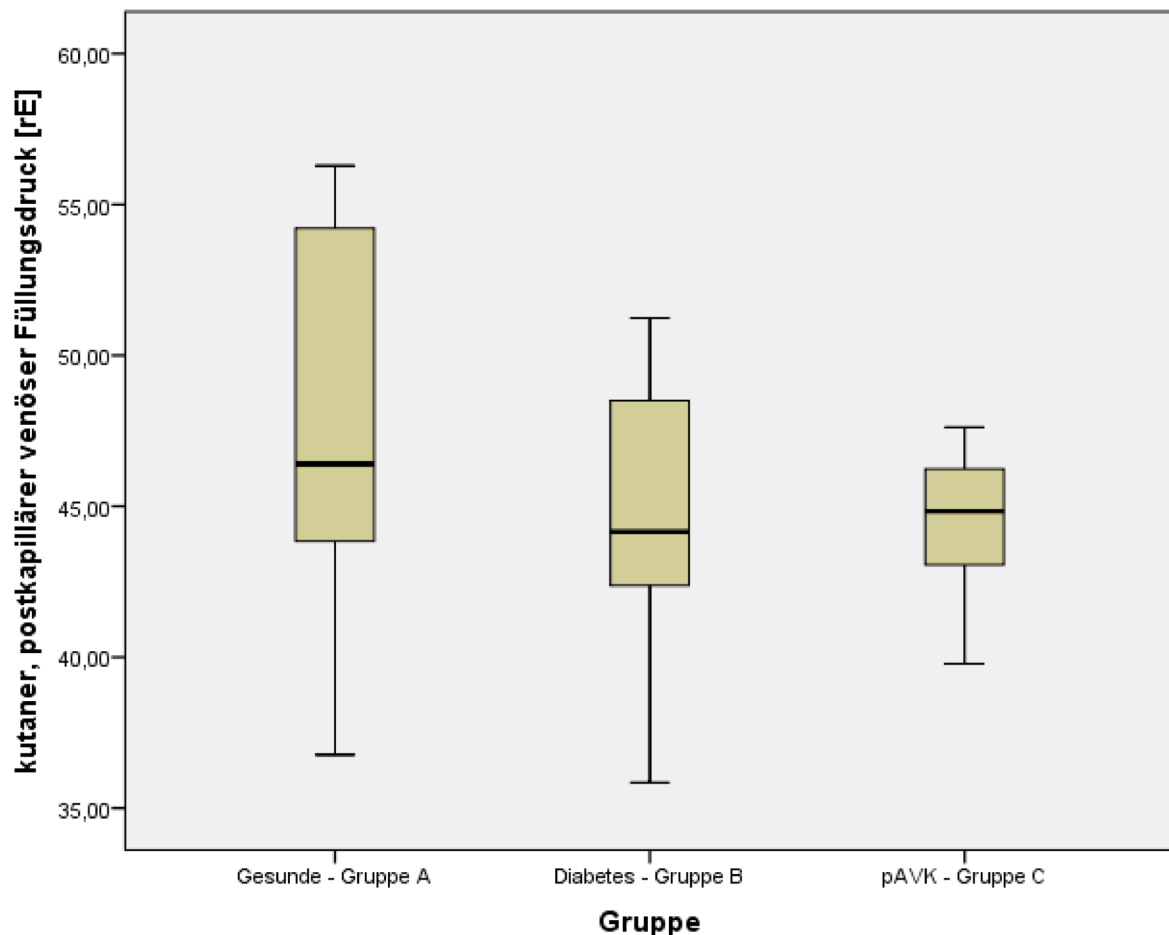
Die globale kutane Sauerstoffsättigung an der Fußsohle von gesunden Probanden ist statistisch signifikant um 8,4% höher als bei Patienten mit Diabetes mellitus und um 8,1% höher als bei Patienten mit PAVK (Gruppe A vs. Gruppe B vs. Gruppe C: $70,0\% \pm 7,6\%$ vs. $64,1\% \pm 4,0\%$ vs. $64,3\% \pm 3,7\%$, $p = 0,033$). Es gibt keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit Diabetes mellitus und pAVK ($64,1\% \pm 4,0\%$ vs. $64,3\% \pm 3,7\%$, $p = 1,0$).



Boxplot: Kutane Gewebesauerstoffsättigung im Vergleich

Postkapillaren venöser Füllungsdruck [rE]

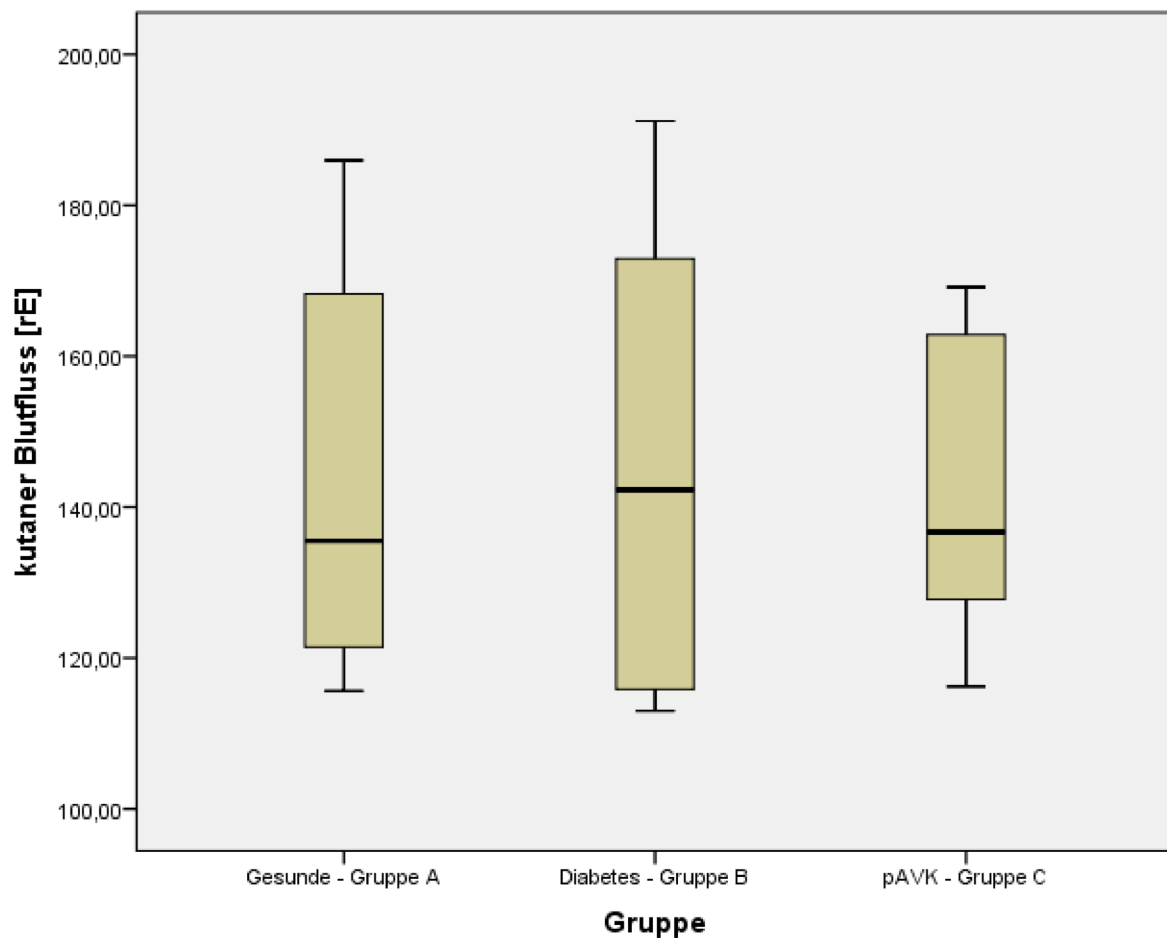
Der globale postkapillare venöse Füllungsdruck an der Fußsohle von gesunden Probanden unterscheidet sich nicht signifikant im Vergleich zwischen Patienten mit Diabetes mellitus (Gruppe A vs. Gruppe B: $47,4 \pm 6,7$ vs. $44,7 \pm 4,6$ AU, $p = 0,692$) und Patienten mit pAVK (Gruppe A vs. Gruppe C: $47,4 \pm 6,7$ rE vs. $44,6 \pm 2,6$ rE; $p = 0,638$). Der globale postkapillare venöse Füllungsdruck an der Fußsohle unterscheidet sich nicht statistisch signifikant zwischen Patienten mit Diabetes mellitus und pAVK (Gruppe B vs. Gruppe C: $44,7 \pm 4,6$ rE vs. $44,6 \pm 2,6$ rE, bzw. $p = 1,0$).



Boxplot: Kutaner, postkapillärer venöser Füllungsdruck im Vergleich

Globaler kapillärer Blutflusses [rE]

Der globale kapilläre Blutfluss der Fußsohle von gesunden Probanden unterscheidet sich nicht statistisch signifikant von Patienten mit Diabetes mellitus (Gruppe A vs. Gruppe B: $145,6 \pm 26,7$ rE vs. $148,3 \pm 31,1$ rE; $p = 1,0$) und Patienten mit PAVK (Gruppe A vs. Gruppe C: $145,6 \pm 26,7$ rE vs. $142,3 \pm 20,4$ rE, $p = 1,0$). Auch gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit Diabetes mellitus und Patienten mit PAVK (Gruppe B vs. Gruppe C: $148,3 \pm 31,1$ rE vs. $142,3 \pm 20,4$ rE, $p = 1,0$).



Boxplot: Kutaner Blutfluss im Vergleich

DISKUSSION

In unserer Arbeit haben wir untersucht, ob zwischen gesunden Probanden und Patienten mit Diabetes mellitus oder pAVK Unterschiede in der funktionellen Mikrozirkulation am Fuß vorhanden sind. Mithilfe der kombinierten Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrophotometrie (O2C®) waren wir in der Lage, nicht invasiv und in vivo quantitativ die Mikrozirkulation am Fuß zu untersuchen und zu zeigen, dass weder der globale mikrozirkulatorische Blutfluss noch der globale postkapilläre venöse Füllungsdruck bei Patienten mit Diabetes mellitus oder pAVK signifikant gegenüber gesunden Probanden verändert ist. Hingegen ist die globale Sauerstoffsättigung im nutritiven Kapillarbett am Fuß bei Patienten mit Diabetes mellitus oder pAVK signifikant erniedrigt und damit auch im lokal versorgten Gewebe.

Hiermit sind neben den bekannten strukturellen Veränderungen der Blutgefäße in der Mikrozirkulation (u.a. verdickte Basalmembran, verminderte Kapillargröße, Perizytendegeneration bei Patienten mit Diabetes mellitus [13,36-40]) auch funktionelle Parameter der Mikrozirkulation bei Patienten mit pAVK oder Diabetes mellitus verändert. Bei Patienten mit Diabetes mellitus sprechen unsere Befunde nicht für die hämodynamische Hypothese, da in unseren Messungen der mikrozirkulatorische Blutfluss nicht signifikant erhöht war. Der unveränderte mikrozirkuläre Blutfluss und insbesondere die von uns gemessene erniedrigte Sauerstoffsättigung in der Mikrozirkulation von Patienten mit Diabetes mellitus gegenüber gesunden Kontrollen sind Argumente für die Capillary Steal Hypothese [4,15-17,61], wonach sauerstoffreiches Blut das Kapillarbett umgeht, in dem ein Teil des Blutflusses durch arteriovenöse Shunts fließt. Befunde in anderen Studien zeigten in diesem Zusammenhang u.a. eine erhöhte venöse Sauerstoffsättigung bei Patienten mit diabetischem Fußsyndrom und peripherer Polyneuropathie [17]. In Übereinstimmung mit unseren Befunden, wurde mit anderen Techniken ebenfalls eine erniedrigte Sauerstoffsättigung im Gewebe, bei gleichbleibendem kapillären Blutfluss gemessen [51,61]. Dass sich die Erfassung von mikrozirkulatorischen Parametern bei Patienten mit Diabetes mellitus auch therapeutische Implikationen ergeben können, wurde bereits zuvor in Studien gezeigt, die u.a. die Heilungstendenz von diabetischen Fußulzera untersucht haben [23, 33]. Womöglich eignet sich mit der kombinierten Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrophotometrie (O2C®) ein Verfahren zur quantitativen Erfassung des Therapieerfolgs bei Patienten mit Diabetes mellitus in Bezug auf die mikrovaskuläre Komponente. Es könnte so als ein Mittel der Risikostratifizierung dienen, um zu überprüfen, welche diabetischen Patienten besonders gefährdet sind, an Fußulzera, bzw. an einem diabetischen Fußsyndrom zu leiden. Weitergehende prospektive Validierungsstudien müssten allerdings hierzu durchgeführt werden. Unlängst wurde bereits gezeigt, dass eine gute glykämische Kontrolle, wie auch die Therapie mit Metformin die Mikrozirkulation bei Patienten mit Diabetes mellitus günstig

beeinflusst [51-53]. In einer weiteren Studie von uns haben wir die Auswirkungen der ischämischen Fernkonditionierung an der Haut bei gesunden Probanden untersucht. Hierbei zeigte sich vor allem eine Erhöhung der kutanen Gewebesauerstoffsättigung, neben der Verbesserung weiterer Mikrozirkulationsparameter [27]. Auch dieser Ansatz könnte auf Patienten mit Diabetes mellitus untersucht und weiter evaluiert werden.

Ebenso konnten wir bei Patienten mit pAVK zeigen, dass die Sauerstoffsättigung im Gewebe erniedrigt ist bei gleichbleibendem mikrozirkulatorischen Blutfluss im Vergleich zu gesunden Probanden. Somit scheint auch bei Patienten mit pAVK die mikrozirkuläre Störung nicht mit Veränderungen in der Blutflussmenge einherzugehen, wohl aber in der Sauerstoffsättigung in den Kapillaren. Dies ist übereinstimmend mit anderen Befunden, bei der bei Patienten mit pAVK im Vergleich zu gesunden Probanden ein äquivalenter mikrozirkulärer Blutfluss gezeigt wurde [19,20], der allerdings ungleich verteilt war [46]. Ein interessanter Ansatz bei der Evaluation mikrozirkulatorischer Parameter ist bei Patienten mit pAVK eine drohende Amputation frühzeitig vorherzusagen um diese ggfs. durch therapeutische Maßnahmen zu verhindern. Hierzu konnte u.a. gezeigt werden, dass mikrozirkulatorische Veränderungen bei Patienten mit kritischer Extremitätenischämie im Rahmen einer pAVK eine drohende Amputation besser vorhersagen können als der Knöchel-Arm-Index oder die Einteilung nach Fontaine [32,50] – woraus man herleiten könnte, dass mikrozirkulatorische Veränderungen bei Patienten mit pAVK womöglich einen größeren Einfluss auf die Morbidität haben könnten als die eingeschränkte Makrozirkulation. Mithilfe des O2C könnte potenziell eine einfache und zuverlässige Methode gegeben sein, diese in die Verlaufs- und Standarddiagnostik bei Patienten mit pAVK einzuführen um potenzielle mikrozirkulatorische Veränderungen frühzeitig zu erkennen, die auf eine drohende Amputation oder signifikante Aggravation der Erkrankung hindeuten können – allerdings wären auch hierzu weitere Studien zur Validierung vonnöten.

LIMITATIONEN

Unsere Studie hat zwei wesentliche Einschränkungen, die es zu erwähnen gilt. Wir haben in unserer Studie bei Patienten mit Diabetes mellitus weder Daten des Hba1c-Werts, noch den Polyneuropathie-Status erhoben, welches jedoch Faktoren sind, die die Mikrozirkulation beeinflussen könnten [11,33,54,61]. Dieser Einschränkung ist entgegenzusetzen, dass wir in unserer Studie Patienten mit Diabetes mellitus eingeschlossen haben, bei der die durchschnittliche Erkrankungsdauer insgesamt 12,5 Jahren betrug – und somit relevante mikrozirkulatorische Veränderungen zu erwarten sind. Des Weiteren konnte in einer aktuellen Studie [61] gezeigt werden, dass zwar Patienten mit Diabetes mellitus mit Polyneuropathie gegenüber gesunden Probanden eine geringfügig stärker verringerte Sauerstoffsättigung im Gewebe aufweisen (bei gleichbleibenden mikrozirkulären Blutfluss) als bei Diabetespatienten ohne Polyneuropathie - allerdings war diese erniedrigte Sauerstoffsättigung zwischen

diabetischen Patienten mit und ohne Polyneuropathie nicht signifikant. Dem Argument des nicht erfassten Hba1c Wert ist entgegenzusetzen, dass dieser vom Hämoglobin beeinflusst wird, wobei ein entscheidender Faktor die Halbwertszeit des Hämoglobins im Körper (ca. 120 Tage) ist. Der Hba1c bildet demnach nur für eine relativ kurze Zeit die glykämische Kontrolle bei Patienten Diabetes mellitus ab. Die Diabetesdauer stellt nachweislich einen eigenen, von glykämischer Kontrolle unabhängigen Risikofaktor dar, der Einfluss auf die Morbidität und vor allem auch auf die Mortalität hat [63]. Wir gehen daher davon aus, dass ein relevanter mikrozirkulärer Schaden bei unseren untersuchten Probanden zu erwarten ist.

Die zweite wesentliche Einschränkung in unserer Studie ist, dass bei Untersuchungen der Mikrozirkulation bei Patienten mit pAVK intraindividuelle Schwankungen beschrieben worden sind [47,55]. Dieses haben wir in unserer Studie nicht weitergehend untersucht und könnte womöglich unsere Messergebnisse ebenfalls beeinflussen, und müssten getrennt in einer Studie weitergehend analysiert werden. Allerdings konnte an gesunden, nicht gefäßerkrankten Probanden gezeigt werden, dass sich die kombinierte Laser-Doppler-Spektroskopie und Gewebespektrometrie als zuverlässige und reproduzierbare Messmethode zur Erfassung von Mikrozirkulationsparametern eignet [56], dies konnte auch für Patienten mit Diabetes mellitus gezeigt werden [30].

ZUSAMMENFASSUNG

In unserer Studie haben wir die Mikrozirkulation mithilfe der kombinierten Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrophotometrie (O2C®) an Patienten mit Diabetes mellitus, pAVK und gesunden Probanden quantitativ an der Fußsohle untersucht und anschließend vergleichend analysiert. Ziel war es, etwaige funktionelle mikrozirkulatorische Veränderung bei Patienten mit Diabetes mellitus oder pAVK gegenüber gesunden Kontrollen zu zeigen.

Hierzu haben wir 107 Probanden untersucht, die wir in drei Gruppen eingeteilt haben: Gruppe A (gesunden Probanden, 57% männlich, Durchschnittsalter 63,3 Jahre), Gruppe B (Patienten mit Diabetes mellitus, 53% männlich, Durchschnittsalter 59,4 Jahre, durchschnittliche Erkrankungsdauer 12,5 Jahre) und Gruppe C (Patienten mit pAVK 81% männlich, Durchschnittsalter 66,1 Jahre, durchschnittliche Erkrankungsdauer 4,75 Jahre). Erhoben haben wir an den Studienteilnehmern die globalen kutanen mikrozirkulatorischen Parameter der Gewebesauerstoffsättigung, des postkapillären venösen Füllungsdruckes und des mikrozirkulären Blutflusses an 10 Messpunkten der Fußsohle in 8 mm Gewebetiefe.

Hierbei konnte gezeigt werden, dass weder der globale kutane mikrozirkuläre Blutfluss, noch der postkapilläre venöse Füllungsdruck an der Fußsohle bei Patienten mit pAVK oder Diabetes

mellitus gegenüber der gesunden Kontrollgruppe verändert war. Hingegen war die globale kutane Sauerstoffsättigung sowohl bei Patienten mit pAVK um 8,1% wie auch mit Diabetes mellitus um 8,4% gegenüber der gesunden Kontrollgruppe signifikant ($p = 0,033$) erniedrigt (Gruppe A vs. Gruppe B vs. Gruppe C: $70,0\% \pm 7,6\%$ vs. $64,1\% \pm 4,0\%$ vs. $64,3\% \pm 3,7\%$).

Damit konnte gezeigt werden, dass funktionelle mikrozirkulatorische Einschränkungen in Form von erniedrigter Gewebesauerstoffsättigung vorhanden sind bei Patienten mit Diabetes mellitus und pAVK. Dies könnte als (Teil-)Erklärung dafür dienen, weshalb diese beiden Patientengruppen besonders anfällig sind für Fußulzera und Wundheilungsstörungen. Ob therapeutische Maßnahmen zur Verbesserung der Gewebesauerstoffsättigung bei Patienten mit pAVK und/oder Diabetes mellitus entsprechend unserer Ergebnisse zu einer Senkung der Morbidität bei Wundheilungsstörungen führen, verbleibt Gegenstand weiterer wissenschaftlicher Untersuchungen.

LITERATURVERZEICHNIS

- In der Arbeit „Impact of Diabetes and Peripheral Arterial Occlusive Disease on the functional Microcirculation at the Plantar Foot“ verwendete Literatur

1. American Diabetes Association. Diabetes Statistics. Aus: <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/statistics/>. Letzter Zugriff am 18.03.2014.
2. Meijer WT, Hoes AW, Rutgers D, et al. Peripheral arterial disease in the elderly: The Rotterdam Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:185–192.
3. Flynn MD, Tooke JE. Aetiology of diabetic foot ulceration: a role for the microcirculation? *Diabet Med.* 1992;9: 320–329.
4. Chao CYL, Cheing GLY. Microvascular dysfunction in diabetic foot disease and ulceration. *Diabetes Metab Res Rev.* 2009;25:604–614.
5. Goldenberg S, Alex M, Joshi RA, et al. Nonatheromatous peripheral vascular disease of the lower extremity in diabetes mellitus. *Diabetes* 1959;8:261–273.
6. Hile C, Veves A. Microcirculation of the diabetic foot. In: Johnstone MT, Veves A, eds. *Diabetes and Cardiovascular Disease.* 2005:403–418.
7. LoGerfo FW, Coffman JD. Vascular and microvascular disease of the foot in diabetes. *N Engl J Med.* 1984;311: 1615–1619.
8. Ditzel J. Functional microangiopathy in diabetes mellitus. *Diabetes* 1968;17:388–397. 9. Dinh T, Veves A. Microcirculation of the diabetic foot. *Curr Pharm Des.* 2005;11:2301–2309.
10. Parving HH, Noer I, Deckert T, et al. The effect of metabolic regulation on microvascular permeability to small and large molecules in short-term juvenile diabetics. *Diabetologia* 1976;12:161–166.
11. Sandeman DD, Shore AC, Tooke JE. Relation of skin capillary pressure in patients with insulin-dependent diabetes mellitus to complications and metabolic control. *N Engl J Med.* 1992;327:760–764.

12. Tooke JE. Microvascular function in human diabetes. A physiological perspective. *Diabetes* 1995;44:721–726.
13. Tilton RG, Faller AM, Burkhardt JK, et al. Pericyte degeneration and acellular capillaries are increased in the feet of human diabetic patients *Diabetologia* 1985;28:895–900.
14. Singleton JR, Smith AG, Russell JW, et al. Microvascular complications of impaired glucose tolerance. *Diabetes* 2003;52:2867–2873.
15. Uccioli L, Mancini L, Giordano A, et al. Lower limb arterio-venous shunts, autonomic neuropathy and diabetic foot. *Diabetes Res Clin Pract.* 1992;16:123–130.
16. Krishnan S, Rayman G. Microcirculation and diabetic foot. In: *The Foot in Diabetes.* 2006:41–50.
17. Boulton AJ, Scarpello JH, Ward JD. Venous oxygenation in the diabetic neuropathic foot: evidence of arteriovenous shunting? *Diabetologia* 1982;22:6–8.
18. Ouriel K. Peripheral arterial disease. *Lancet* 2001;358:1257–1264.
19. del Guercio R, Leonardo G, Arpaia MR. Evaluation of postischemic hyperemia on the skin using laser Doppler velocimetry: study on patients with claudicatio intermittens. *Microvasc Res.* 1986;32:289–299.
20. Rossi M, Carpi A. Skin microcirculation in peripheral arterial obliterative disease. *Biomed Pharmacother.*2004;58:427–431.
21. Harris LM, Faggioli GL, Shah R, et al. Vascular reactivity in patients with peripheral vascular disease. *Am J Cardiol.* 1995;76:207–212.
22. Rossi M, Cupisti A, Perrone L, et al. Acute effect of exercise-induced leg ischemia on cutaneous vasoreactivity in patients with stage II peripheral artery disease. *Microvasc Res.* 2002;64:14–20.
23. Beckert S, Witte MB, Königsrainer A, et al. The impact of the Micro-Lightguide O2C for the quantification of tissue ischemia in diabetic foot ulcers. *Diabetes Care* 2004;27:2863–2867.
24. Knobloch K, Tomaszek S, Lichtenberg A, et al. Long-term palmar microcirculation after radial artery harvesting: an observational study. *Ann Thorac Surg.* 2006;81:1700–1707.
25. Knobloch K, Grasemann R, Spies M, et al. Midportion achilles tendon microcirculation after intermittent combined cryotherapy and compression compared with cryotherapy alone: a randomized trial. *Am J Sports Med.* 2008;36:2128–2138.
26. Knobloch K, Grasemann R, Spies M, et al. Intermittent KoldBlue cryotherapy of 3 × 10 min changes mid-portion Achilles tendon microcirculation. *Br J Sports Med.* 2007;41:e4.
27. Kraemer R, Lorenzen J, Kabbani M, et al. Acute effects of remote ischemic preconditioning on cutaneous microcirculation— a controlled prospective cohort study. *BMC Surg.* 2011;11:32.
28. Kraemer R, Lorenzen J, Knobloch K, et al. Free flap microcirculatory monitoring correlates to free flap temperature assessment. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2011;64:1353–1358.
29. Ladurner R, Feilitzsch M, Steurer W, et al. The impact of a micro-lightguide spectrophotometer on the intraoperative assessment of hepatic microcirculation: a pilot study. *Microvasc Res.* 2009;77:387–388.

30. Forst T, Tarakci E, Forst S, et al. Reliability of lightguide spectrophotometry (O2C) for the investigation of skin tissue microvascular blood flow and tissue oxygen supply in diabetic and nondiabetic subjects. *J Diabetes Sci Technol*. 2008;2:1151.
31. Iwase M, Imoto H, Murata A, et al. Altered postural regulation of foot skin oxygenation and blood flow in patients with type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007;115:444–447.
32. Harrison DK, McCollum PT, Newton DJ, et al. Amputation level assessment using lightguide spectrophotometry. *Prosthet Orthot Int*. 1995;19:139–147.
33. Rajbhandari SM, Harris ND, Tesfaye S, et al. Early identification of diabetic foot ulcers that may require intervention using the micro lightguide spectrophotometer. *Diabetes Care* 1999;22:1292–1295.
34. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *Lancet* 2005;366:1736–1743.
35. Dinh TL, Veves A. A review of the mechanisms implicated in the pathogenesis of the diabetic foot. *Int J Low Extrem Wounds* 2005;4:154–159.
36. Malik RA, Newrick PG, Sharma AK, et al. Microangiopathy in human diabetic neuropathy: relationship between capillary abnormalities and the severity of neuropathy *Diabetologia* 1989;32:92–102.
37. Jaap AJ, Shore AC, Stockman AJ, et al. Skin capillary density in subjects with impaired glucose tolerance and patients with type 2 diabetes. *Diabetes Med*. 1996;13:160–164.
38. Rayman G, Malik RA, Sharma AK, et al. Microvascular response to tissue injury and capillary ultrastructure in the foot skin of type I diabetic patients. *Clin Sci (Lond)*. 1995;89:467–474.
39. Cameron NE, Eaton SE, Cotter MA, et al. Vascular factors and metabolic interactions in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetologia* 2001;44:1973–1988.
40. Tesfaye S, Malik R, Ward JD. Vascular factors in diabetic neuropathy. *Diabetologia* 1994;37:847–854.
41. Parving HH, Viberti GC, Keen H, et al. Hemodynamic factors in the genesis of diabetic microangiopathy. *Metabolism* 1983;32:943–949.
42. Fagrell B, Hermansson IL, Karlander SG, et al. Vital capillary microscopy for assessment of skin viability and microangiopathy in patients with diabetes mellitus. *Acta Med Scand Suppl*. 1984;687:25–28.
43. Shore AC, Jaap AJ, Tooke JE. Capillary pressure in patients with NIDDM. *Diabetes* 1994;43:1198–1202.
44. Krug A. Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes. *Phlebologie* 2007;36:300–312.
45. Nagase T, Sanada H, Takehara K, et al. Variations of plantar thermographic patterns in normal controls and non-ulcer diabetic patients: novel classification using angiosome concept. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2011;64:860–866.
46. Bongard O, Fagrell B. Discrepancies between total and nutritional skin microcirculation in patients with peripheral arterial occlusive disease (PAOD). *Vasa* 1990;19:105–111.
47. Wyss CR, Matsen FA III, Simmons CW, et al. Transcutaneous oxygen tension measurements on limbs of diabetic and nondiabetic patients with peripheral vascular disease. *Surgery* 1984;95:339–346.

48. Eickhoff JH. Forefoot vasoconstrictor response to increased venous pressure in normal subjects and in arteriosclerotic patients. *Acta Chir Scand Suppl.* 1980;502:7–14.
49. Fagrell B. Vital capillary microscopy. *Scand J Clin Lab Invest.* 1973;31:1–50.
50. Ubbink DT, Spincemaille GH, Reneman RS, et al. Prediction of imminent amputation in patients with nonreconstructible leg ischemia by means of microcirculatory investigations. *J Vasc Surg.* 1999;30:114–121.
51. Reichard P, Nilsson BY, Rosenqvist U. The effect of longterm intensified insulin treatment on the development of microvascular complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1993;329:304–309.
52. Bailey CJ. Metformin: effects on micro and macrovascular complications in type 2 diabetes. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2008;22:215–224.
53. Wiernsperger NF. Review: 50 years later: is metformin a vascular drug with antidiabetic properties? *Br J Diabetes Vasc Dis.* 2007;7:204–210.
54. Stirban A, Salgin B, Koschinsky T, et al. Differential Role of Type 2 Diabetes and Cardiovascular Autonomic Neuropathy in Impaired Control of Skin Microcirculation. Poster Presentation at the Congress of American Diabetes Association in New Orleans, 2003.
55. Eickhoff JH, Engell HC. Transcutaneous oxygen tension (tcPO₂) measurements on the foot in normal subjects and in patients with peripheral arterial disease admitted for vascular surgery. *Scand J Clin Lab Invest.* 1981;41:743–748.
56. Ghazanfari M, Vogt L, Banzer W, et al. Reproducibility of non-invasive blood flow measurements using laser Doppler spectroscopy. *Phys Med Rehab Kuror.* 2002;12:330–336
- Über die Originalarbeit hinaus verwendete Literatur
57. Weise, K., and M. Schäffer. "Behandlungsstrategien bei Wundheilungsstörungen." *Der Unfallchirurg* 103.2 (2000): 100-109.
58. Hauner, Hans, and Else Kröner-Fresenius-Zentrum für Ernährungsmedizin. "Diabetesepidemie und Dunkelziffer." *Deutscher Gesundheitsbericht* (2008): 7.
59. Trautner C, Haastert B, Mauckner P et al (2007) Reduced incidence of lower-limb amputations in the diabetic population of a German city, 1990–2005: results of the Leverkusen Amputation Reduction Study (LARS). *Diabetes Care* 30(10):2633–26379
60. Heller, G., C. Günster, and E. Swart. "Über die Häufigkeit von Amputationen unterer Extremitäten in Deutschland." *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift* 130.28/29 (2005): 1689-1690.
61. Greenman, Robert L., et al. "Early changes in the skin microcirculation and muscle metabolism of the diabetic foot." *The Lancet* 366.9498 (2005): 1711-1717.
62. Dohmen, Arndt, et al. "Chronische kritische Extremitätenischämie." *Dtsch Arztebl* 109 (2012): 95-101.
63. Fox, Caroline S., et al. "The Significant Effect of Diabetes Duration on Coronary Heart Disease Mortality The Framingham Heart Study." *Diabetes Care* 27.3 (2004): 704-708.
64. LEA Medizintechnik GmbH. O₂C (oxygen to see). Aus: <http://www.lea.de/deu/indexd.html>. Letzter Zugriff am 12.11.2014.

Lebenslauf Mohammad Kabbani

Persönliche Daten Mohammad Kabbani,
geb. am 22.07.1987 in Essen,
verheiratet mit Ghina Zinou, 1 Sohn
Mutter: Dr. med. dent. Nahla Besata
Vater: Dr. med. Mazen Kabbani

Schulbildung

1994 – 1995 Donatusschule Ertstadt-Liblar
1995 – 1998 Grundschule Am Sonnenbrink Stadthagen
1998 – 2000 Orientierungsstufe Hinter der Burg Stadthagen
2000 – 2007 Ratsgymnasium Stadthagen
2007 Abitur

Hochschulstudium

2007-2013 Studium der Humanmedizin
Medizinische Hochschule Hannover
2009 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/2012 – 04/2012 Division of Plastic and Reconstructive Surgery (Universität Stellenbosch, Tygerberg, Südafrika)
04/2012 – 05/2012 Department of Otolaryngology – Head & Neck Surgery (University of California - Irvine, USA)
05/2012 – 06/2012 Aesthetic and Plastic Surgery Institute (University of California - Irvine, USA)
2012-2013 Praktisches Jahr:
Medizinische Hochschule Hannover, Zentrum Chirurgie
Medizinische Hochschule Hannover, Urologie
Medizinische Hochschule Hannover, Zentrum Innere Medizin
2013 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Approbation als Arzt

Beruflicher Werdegang

12/2013 – 02/2014 Tumormarkerforschung/Proteomforschung als Arzt bei Mosaiques Diagnostics GmbH Hannover, Prof. Mischak
Seit 03/2014 Assistenzarzt in der Klinik für **Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie**, Prof. Manns, Medizinische Hochschule Hannover

Stipendien / Zertifikate

2011/2013 Kongressreisestipendien: GlaxoSmithKline-Stiftung, DAAD, Deutsche Gesellschaft für Chirurgie (DGCH)
2012 Klinische Reisestipendien: Deutscher Akademischer Austausch Dienst (DAAD)

2011-2012 Deutschlandstipendium der Med. Hochschule Hannover
2012 - 2014 Studienstiftung des deutschen Volkes
2013 BMEP – Biomedical Exchange Program
2013 TOEFL Zertifikat

bisherige Publikationen

- 10/2013 **Kabbani, M**; Rotter, R; Busche, M; Wuerfel, W; Jokuszies, A; Knobloch, K; Vogt, P M.; Kraemer, R. Impact of Diabetes and Peripheral Arterial Occlusive Disease on the Functional Microcirculation at the Plantar Foot. Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open 1(7):e48, October 2013 (PMID: 25289243)
- 07/2012 Kraemer R, **Kabbani M**, Sorg H, Herold C, Branski L, Vogt PM, Knobloch K. Diabetes and peripheral arterial occlusive disease impair the cutaneous tissue oxygenation in dorsal hand microcirculation of elderly adults: implications for hand rejuvenation. Dermatologic Surgery (Impact Factor 1,798) (PMID: 22759249)
- 11/2011 Kraemer R, Lorenzen J, **Kabbani M**, Herold C, Busche M, Vogt PM, Knobloch K. Acute effects of remote ischemic preconditioning on cutaneous microcirculation - a controlled prospective cohort study.), BioMed Central Surgery (Impact Factor 1,33) (PMID: 22111972)
- 10/2011 Kraemer R, Lorenzen J, Knobloch K, Papst S, **Kabbani M**, Koennecker S, Vogt PM. Free flap microcirculatory monitoring correlates to free flap temperature assessment. Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery (Impact Factor 1,494) (PMID: 21664205)

Kongressbeiträge

- 05/2013 Postervortrag: 130. Kongress Deutsche Gesellschaft für Chirurgie „Einfluss von Diabetes mellitus (DM) und periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) auf die funktionelle Mikrozirkulation an der Fußsohle“
- 05/2011 Postervortrag: 128. Kongress Deutsche Gesellschaft für Chirurgie „Remote ischemic preconditioning verbessert präoperativ die kutane Mikrozirkulation adipokutaner Lappenplastiken“

.....
(Ort und Datum)

.....
(Unterschrift)

Erklärung nach § 2 Abs. 2 Nrn. 6 und 7 der Promotionsordnung der Medizinischen Hochschule Hannover

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Hochschule Hannover zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

Quantifizierung der mikrozirkulären Durchblutung an gesunder Haut sowie bei Patienten mit Diabetes mellitus und peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK) mithilfe der kombinierten Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrophotometrie (O2C®)

in der Klinik für Plastische-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie der Medizinischen Hochschule Hannover unter Betreuung von

PD Dr. Robert Krämer

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Die Gelegenheit zum vorliegenden Promotionsverfahren ist mir nicht kommerziell vermittelt worden. Insbesondere habe ich keine Organisation eingeschaltet, die gegen Entgelt Betreuerinnen und Betreuer für die Anfertigung von Dissertationen sucht oder die mir obliegenden Pflichten hinsichtlich der Prüfungsleistungen für mich ganz oder teilweise erledigt. Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Weiterhin versichere ich, dass ich den beantragten Titel bisher noch nicht erworben habe.

Ergebnisse der Dissertation wurden in folgenden Publikationsorganen veröffentlicht:

Plastic and Reconstructive Surgery – Global Open, Dermatologic Surgery, Kongress der deutschen Gesellschaft für Chirurgie 2011 und 2013.

Hannover, den

(Unterschrift Mohammad Kabbani)

DANKSAGUNGEN

Mein persönlicher Dank geht an Prof. Dr. med. Peter M. Vogt, der mir mit der Möglichkeit der Benutzung des O2C (Oxygen-To-See) sowie seiner Motivation für meine Arbeit meine wissenschaftliche Karriere eingeleitet hat. Auch danke ich allen Patienten und Probanden, die sich bereit erklärt haben, als Studienteilnehmer an meiner wissenschaftlichen Arbeit mitzuwirken.

Insbesondere danke ich PD Dr. med. Robert Krämer, der mich bei meiner Arbeit und auch darüber hinaus unterstützt hat. Ohne seine wissenschaftlichen Diskussionen, seiner Anregungen und seiner Denkansätze zur Umsetzbarkeit wäre diese Dissertation in dieser Form nicht zustande gekommen. Auch in schwierigen Zeiten konnte ich durch seine Motivation meine Arbeit wieder weiter voranbringen und letztendlich, durch seine Hilfe, diese auch vollenden.

Weiterhin danke ich auch Prof. med. Karsten Knobloch, der mir in vielerlei Hinsicht geholfen hat bei der Ausarbeitung dieser Dissertation sowie mich in meiner beruflichen Laufbahn besonders gefördert hat.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Bernhard Vaske vom Institut für Biometrie der Medizinischen Hochschule Hannover für dessen Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Dissertation.

Besonderen Dank geht an meinem Bruder, cand. med. Abdul-Rahman Kabbani für seine Ideen und seine innovativen Gedanken zu dieser Arbeit.

Besonderer Dank geht auch an meine Frau Ghina, die mich vor allem in der letzten Phase der Dissertation den nötigen Ansporn gegeben hat, meine Arbeit zu vollenden.

Mein größter Dank geht jedoch an meine Eltern, Dr. med. dent. Nahla Besata und Dr. med. Mazen Kabbani, die meine größten Förderer Zeit meines Lebens sind und mich mit größter Fürsorge und Unterstützung begleiten und begleitet haben. Uneigennützig und in voller Liebe und Geduld haben Sie ihr ganzes Leben darauf ausgerichtet, eine wesentliche Stütze meines Daseins zu sein. Ohne meine Eltern wäre nicht nur die Fertigstellung dieser Dissertation fraglich gewesen.

Sie können sich meiner Loyalität und meiner Unterstützung, egal welcher Natur, auch für die Zukunft ganz gewiss sein.