

Universität Hamburg  
Universitäts-Klinikum Hamburg Eppendorf

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie  
Direktor: Prof. Dr. J. Schulte am Esch

**Die periphere und zentrale Gewebeoxygenierung  
unter akuter isovolämer Hämodilution mit der  
bovinen Hämoglobinlösung HBOC-201 im  
Vergleich zu Hydroxyäthylstärke im Tiermodell**

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
dem Fachbereich der Medizin der Universität Hamburg

vorgelegt von

Patricia Radtke

Hamburg, 2001

Angenommen von dem Fachbereich Medizin  
der Universität Hamburg am: 25.03.2002

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs  
Medizin der Universität Hamburg

Sprecher: Prof. Dr. C. Wagener

Referent: Prof. Dr. T. Standl

Koreferent: Prof. Dr. J. Schulte am Esch

Meiner Mutter

Meinem Vater

Meinen Großeltern

## ABKÜRZUNGEN ..... 6

### 1. EINLEITUNG ..... 9

1.1. Grenzen und Alternativen der Transfusionsmedizin .....	9
1.2. Historie .....	10
1.3. Bedeutung des Sauerstoffs für den Organismus .....	12
1.4. Hämoglobin – Vehikel für den Sauerstoff .....	14
1.5. Klinisch verfügbare Volumenersatzmittel.....	17
1.6. Anforderungen an ein ideales Blutersatzmittel.....	18
1.7. Modifikation von Hämoglobinlösungen .....	19
1.7.1. BOVINES HÄMOGLOBIN .....	22
1.8. Perfluorcarbone (PFC).....	24
1.9. Ziel des Versuches .....	26

### 2. MATERIAL UND METHODIK ..... 27

2.1. Versuchstiere .....	27
2.2. Anästhesie und Monitoring.....	27
2.3. Chirurgische Präparation der Versuchstiere.....	28
2.4. Prüfsubstanz .....	30
2.5. Versuchsablauf .....	32
2.6. Parameter und Messmethoden.....	35
2.6.1. HÄMODYNAMISCHE PARAMETER.....	35
2.6.2. BLUTGASANALYSEN UND OXYMETRIE.....	37
2.6.3. HÄMATOLOGIE UND SAUERSTOFFTRANSPORTPARAMETER .....	39
2.6.4. ELEKTROLYT-, LAKTAT- UND BLUTZUCKERKONZENTRATIONEN .....	41
2.6.5. HÄMORHEOLOGIE .....	42
2.6.6. DER SAUERSTOFFPARTIALDRUCK IM GEWEBE.....	43
2.7. tpO <sub>2</sub> -Säulenhistogramme .....	47
2.8. Statistik.....	48

### 3. ERGEBNISSE ..... 49

3.1. Hämodynamik .....	49
3.2. Blutfluss in der A. poplitea und V. portae sowie Rheologie.....	51
3.3. Arterielle Blutgase und arterielle Oxymetrie .....	52
3.4. Hämatologie .....	55
3.5. Parameter des systemischen Sauerstofftransportes .....	56
3.6. Parameter des Sauerstofftransportes der Leber.....	58
3.7. Parameter des Sauerstofftransportes des Skelettmuskels.....	61
3.8. Sauerstoffspannung in Leber und Skelettmuskel.....	62
3.9. Klinische Chemie .....	68

<b><u>4. DISKUSSION.....</u></b>	<b><u>69</u></b>
4.1. Methodenkritik .....	69
4.2. Hämodynamik .....	72
4.3. Met-Hämoglobin.....	76
4.4. Isovoläme Hämodilution mit HBOC-201 und HES.....	76
4.5. Hämodynamik und Gewebeoxygenierung.....	80
4.6. Ausblick.....	82
<b><u>5. ZUSAMMENFASSUNG .....</u></b>	<b><u>86</u></b>
<b><u>6. LITERATUR.....</u></b>	<b><u>88</u></b>
<b><u>7. DANKSAGUNG.....</u></b>	<b><u>105</u></b>
<b><u>8. LEBENSLAUF .....</u></b>	<b><u>106</u></b>
<b><u>9. ERKLÄRUNG.....</u></b>	<b><u>107</u></b>

## Abkürzungen

A-ANH	Augmentierte akute normovoläme Hämodilution
AF	Atemfrequenz
AMV	Atemminutenvolumen
ANH	Akute normovoläme Hämodilution
ANOVA	Varianzanalyse
Art. BE	Basendefizit im arteriellen Blut
Art. Hb-O <sub>2</sub>	Oxygeniertes Hämoglobin im arteriellen Blut
Art. PCO <sub>2</sub>	Arterieller Kohlendioxidpartialdruck
Art. PO <sub>2</sub>	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
Art. SBic	Standardbicarbonat im arteriellen Blut
AvDO <sub>2</sub>	arteriovenöse Sauerstoffdifferenz
AvDO <sub>2</sub> Leb.	Arterieovenöse Sauerstoffdifferenz der Leber
AvDO <sub>2</sub> Mus.	Arterieovenöse Sauerstoffdifferenz im Skelettmuskel
BE	Basendefizit
BZ	Blutzuckerspiegel
CaO <sub>2</sub>	Arterieller Sauerstoffgehalt
CO	Kohlenmonoxid
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
CvO <sub>2</sub>	Venöser Sauerstoffgehalt
CvO <sub>2</sub> cava	Sauerstoffgehalt in der Vena Cava
CvO <sub>2</sub> popl.	Sauerstoffgehalt der Vena poplitea
CvO <sub>2</sub> port.	Sauerstoffgehalt in der Vena Portae
CvO <sub>2</sub> pulm.	Pulmonalarterieller Sauerstoffgehalt
DCLHb	humanes Diaspirin vernetztes Hämoglobin
DO <sub>2</sub>	Sauerstoffangebot
DO <sub>2</sub> Mus.	Sauerstoffangebot im Skelettmuskel
DO <sub>2</sub> Leb.	Sauerstoffverbrauch der Leber
EKG	Elektrokardiogramm
fHb	freie Hämoglobinkonzentration
FiO <sub>2</sub>	Inspiratorische Sauerstoffkonzentration
Flow popl.	Flussrate der Vena poplitea
Flow port.	Flussrate der Vena portae

H <sup>+</sup>	Wasserstoffionen
Hb	Hämoglobinkonzentration
HbA	adultes Hämoglobin
HbF	fetales Hämoglobin
HBOC-201	Hemoglobin based oxygen carrier 201
HD	Hämodilution
Hemolink	Humanes mit O-Raffinose polymerisiertes Hämoglobin
HES	Hydroxyäthylstärke
HF	Herzfrequenz
HI	Herzindex
Hkt	Hämatokrit
HZV	Herzzeitvolumen
K <sup>+</sup>	Kaliumionenkonzentration im Serum
KOD	Kolloidosmotischer Druck
MAD	Mittlerer arterieller Druck
Met-Hb	Methämoglobinkonzentration
MP	Messpunkt
Na <sup>+</sup>	Natriumionenkonzentration im Serum
NO	Stickstoffmonoxid
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
O <sub>2</sub> -Extr.	Sauerstoffextraktion
O <sub>2</sub> -Extr. Ges.	Systemische Sauerstoffextraktion
O <sub>2</sub> -Extr. Leb.	Sauerstoffextraktion der Leber
O <sub>2</sub> -Extr. Mus.	Sauerstoffextraktion im Skelettmuskel
Oxy-Hb	Oxygeniertes Hämoglobin
P <sub>50</sub>	Sauerstoffpartialdruck bei einer Sättigung von 50%
PAD	Pulmonalarterieller Mitteldruck
PCWP	Pulmonal-kapillärer Verschlussdruck
PFC	Perfluorcarbone
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
pO <sub>2</sub> cava	Sauerstoffpartialdruck in der Vena cava
pO <sub>2</sub> popl.	Sauerstoffpartialdruck in der Vena poplitea
pO <sub>2</sub> port.	Sauerstoffpartialdruck in der Vena Portae

Polyheme	Humanes mit Glutaraldehyd polymerisiertes Hämoglobin
PVR	Pulmonaler Gefäßwiderstand
SAD	Systolischer arterieller Druck
SBic	Standardbicarbonat
SFH	Stromafreies Hämoglobin
SV	Schlagvolumen
SVR	Systemischer Gefäßwiderstand
tHb	Gesamthämoglobin
tpO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck des Gewebes
VO <sub>2</sub>	Sauerstoffverbrauch
VO <sub>2</sub> ges.	Systemischer Sauerstoffverbrauch
VO <sub>2</sub> Leb.	Sauerstoffverbrauch der Leber
VO <sub>2</sub> Mus.	Sauerstoffverbrauch im Skelettmuskel
ZVD	Zentralvenöser Druck

# 1. Einleitung

## 1.1. Grenzen und Alternativen der Transfusionsmedizin

Die Transfusion von Blutprodukten bleibt in der modernen Medizin und vor allem im operativen Bereich nach wie vor unerlässlich. Hohe Qualitätsstandards konnten die Risiken und Komplikationen homologer Bluttransfusionen minimieren. Trotzdem bleibt die Gefahr der hämatogenen Übertragung von Krankheiten wie HIV [19,31,39,64,173], Hepatitis [1], Cytomegalie [3], HTLV sowie bakterieller Infektionen [20,131] bestehen. Weitere Komplikationen der Transfusionstherapie sind Immunsuppression [53,107], Verkürzung der rezidivfreien Intervalle nach Tumorresektion [15,161] sowie Unverträglichkeitsreaktionen [167], die auch bis heute nicht komplett eliminiert werden konnten. Es werden auch Fälle von ARDS (acute respiratory distress syndrom) mit allogenen Bluttransfusionen in Verbindung gebracht [86], die auf Antikörper des Spenders gegen Leukozyten des Empfängers zurückgeführt werden [145,146].

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, die Anwendung von homologen Bluttransfusionen und die damit verbundenen Risiken zu verringern. Es haben sich einige Methoden im klinischen Alltag etabliert. So wird die Transfusionstherapie in der operativen Medizin insbesondere durch autologe Transfusionstechniken, den Einsatz des Cell-Savers sowie die akute perioperative isovoläme Hämodilution ergänzt [34,38,69,114,117,165]. Pharmakologische Ansätze zur Reduzierung von Bluttransfusionen sind die präoperative Applikation von Erythropoetin [56,153] oder Aprotinin [24,94,126]. Neben den zugegeben geringen Gefahren, die die Bluttransfusion für den Patienten mit sich bringt, entstehen durch aufwändige Testverfahren immer höhere Kosten für Blutprodukte. Der wachsende Bedarf an Blutpräparaten verstärkt die Problematik der Spenderabhängigkeit, Lagerung und beschränkten Haltbarkeit dieser Produkte.

Der Fortschritt der operativen Medizin führt zu einem zunehmenden Bedarf an Blutprodukten, der durch die oben erwähnten perioperativen blutsparenden Maßnahmen und homologe Bluttransfusionen kaum gedeckt werden kann. Aufgrund der drohenden Verknappung von homologen Blutpräparaten sowie der

zunehmend kritischen Einstellung von Patienten und Ärzten gegenüber der Fremdbluttransfusion ist die Entwicklung sicherer und nebenwirkungsarmer Alternativpräparate dringend notwendig.

Die zwei potentiellen Alternativen zu den homologen Erythrozytenkonzentraten sind chemisch modifizierte Hämoglobinlösungen und die Perfluorocarbone (PFC) [63,76].

## **1.2. Historie**

Bereits Anfang des 17. Jahrhunderts wurden nach Beschreibung des Blutkreislaufes durch William Harvey die ersten Bluttransfusionen durchgeführt [17]. Die Patienten verstarben allerdings häufig an damals nicht erklärlichen Ursachen. 1862 isolierte Felix Hoppe-Seyler den wesentlichen Bestandteil der Erythrozyten durch Kristallisation, das Hämoglobin [139].

Es folgten weitere Versuche in den nächsten Jahrzehnten durch verschiedene Ärzte, Blut oder andere vermeintliche Blutersatzstoffe zu transfundieren. Die meisten scheiterten an einem unvollständigen Verständnis über Hämolyse, Koagulation und antiseptische Techniken. Die Entdeckung des AB0 Systems durch Karl Landsteiner 1901 und die Entdeckung des Rhesus Faktors durch Landsteiner und Wiener 1940 schafften die Voraussetzung für die Entwicklung der Transfusionsmedizin.

Freies Hämoglobin ist das älteste und am besten untersuchte Blutersatzmittel. 1916 hämolysierten Sellards und Minot Erythrozyten in destilliertem Wasser, fügten Salz hinzu, um die Lösung isotonisch zu machen und infundierten sie den Spendern. So wollten sie die unerwünschten Effekte von Hämoglobin während intravasaler Hämolyse untersuchen. Sie beobachteten nur wenig Nebenwirkungen [138]. Amberson stellte mit gleicher Technik eine bovine Hämoglobinlösung her und führte mit ihr Austauschtransfusionen an Katzen durch und bewies damit die Wirksamkeit von freiem Hämoglobin als sauerstofftransportierendem Blutersatzmittel [6]. Darüber hinaus führte er klinische Versuche an Patienten durch und berichtete über die auch heutzutage beschriebenen Probleme bei der Anwendung von freiem Hämoglobin, wie Bradykardie, Blutdruckanstieg und Oligurie bis zum Nierenversagen [5]. Diese

Toxizität wurde auf Stroma- und Membranfragmente der Erythrozyten zurückgeführt [51] und konnte durch das von Rabiner [122] entwickelte Filtrationsverfahren zur Reinigung des Hämoglobins von Zellresten wesentlich verringert werden. Es entstand der Begriff des „stromafreien“ Hämoglobins. Fortlaufende Bestrebungen um die Verbesserung des Purifikationsprozesses bei der Herstellung von Hämoglobinlösungen [163] zählten sich aus. Es konnte tierexperimentell belegt werden, dass selbst hohe Dosen ultrareinigter Hämoglobinlösungen keine organotoxischen Nebenwirkungen haben [91,158].

Ein weiteres Problem in der Anwendung von unmodifizierten Hämoglobinlösungen lag in der raschen Dissoziation der Hämoglobin-Tetramere in Dimere und der damit verbundenen kurzen intravasalen Verweildauer und der Erhöhung des kolloidosmotischen Druckes im Gefäßsystem. Nephrotoxische Eigenschaften der unmodifizierten Hämoglobinlösungen wurden auf die renale Filtration und Exkretion der Dimere in Verbindung mit Vasokonstriktion zurückgeführt. 1967 konnte Bunn [23] dieser Problematik durch die Entwicklung einer Methode zur Stabilisierung der Hämoglobintetramere durch Quervernetzung, dem intra- und intermolekularen Cross-Linking Abhilfe schaffen [169].

Ein weiterer limitierender Faktor in der Anwendung von früheren Hämoglobinlösungen war die hohe Sauerstoffaffinität dieser Präparate. Diese hatte eine verminderte Sauerstoffabgabe an das Gewebe und somit eine schlechte Oxygenierung zur Folge. Der Verlust von 2,3-Diphosphoglycerat in freiem Hämoglobin wurde dafür verantwortlich gemacht. Durch Besetzung der Bindungsstelle für 2,3-Diphosphoglycerat mit Pyridoxal-5-Phosphat konnte die Sauerstoffaffinität gesenkt und die Gewebeoxygenierung verbessert werden [10-12,61,136].

Derzeit befinden sich einige der nach der amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) bezeichneten hemoglobin-based oxygen carrier (HBOC) in klinischen Studien der Phasen I, II und III, wobei sich humane, bovine und rekombinante Hämoglobinlösungen unterscheiden lassen. Für HBOC-201 erfolgte im April 2001 die Zulassung in Südafrika für den perioperativen Einsatz bei Erwachsenen.

Weitere Substanzen, die als sauerstofftransportierende Blutersatzstoffe in Frage kommen, sind die synthetisch hergestellten Perfluorcarbone.

### 1.3. Bedeutung des Sauerstoffs für den Organismus

Die einzelne lebende Körperzelle benötigt für die Aufrechterhaltung ihrer Struktur, ihrer Funktionsbereitschaft und für die Durchführung ihrer Funktionen eine bestimmte Energiemenge, die sie unter Normalbedingungen vorrangig aus dem oxidativen Abbau der Nährstoffe gewinnt. Voraussetzung für die Energiegewinnung aus dem aeroben Stoffwechsel ist die Anwesenheit von Substraten wie Kohlenhydraten, Eiweißen und Fetten sowie von molekularem Sauerstoff in ausreichenden Konzentrationen in der Zelle [132].

Unter anaeroben Bedingungen kann die in den Geweben benötigte Energie lediglich durch die Glykolyse gewonnen werden. Dieser Stoffwechselweg ist jedoch gegenüber dem oxidativen sehr viel unökonomischer, da das hier entstehende Endprodukt Laktat noch einen sehr hohen Energiegehalt besitzt.

Die biologische Oxidation der Nährstoffe findet in den Mitochondrien statt. Neben den Enzymen des Citratcyclus, der Atmungskette und der oxidativen Phosphorylierung können in ihnen Enzyme für den Abbau der Fettsäuren und den Abbau verschiedener Aminosäuren nachgewiesen werden [93].

Unter pathophysiologischen Bedingungen, die zu einer Einschränkung der Sauerstoffversorgung führen, kann der Energiebedarf nur für kurze Zeit durch die in begrenzter Menge gespeicherten Energiereserven oder die anaerobe Glykolyse gedeckt werden. Es kommt zu einer steigenden Laktatkonzentration im Gewebe und im Blut mit konsekutiver metabolischer Azidose, die starke Veränderungen im Zellstoffwechsel auslöst, sobald der intrazelluläre pH-Wert den optimalen Bereich für die Funktion der Enzymsysteme unterschreitet. Der optimale pH-Wert des arteriellen menschlichen Blutes (37°C) liegt zwischen 7,37 und 7,43.

Störungen des Gasaustausches in der Lunge oder Störungen des Gastransportes im Blut führen zu einer Sauerstoffmangelversorgung der Organe. Es kommt zur Gewebhypoxie oder Gewebeanoxie. Unter den Ursachen einer Sauerstoffmangelversorgung stehen drei im Vordergrund. Zum einen die Erniedrigung des O<sub>2</sub>-Partialdruckes im arteriellen Blut (arterielle Hypoxie), als Folge einer alveolären Hypoventilation oder eines Ventilations-Perfusions-Missverhältnisses in der Lunge oder eines verminderten O<sub>2</sub>-Angebotes in der Atemluft. Eine weitere Ursache eines verminderten O<sub>2</sub>-Angebotes an die Organe

ist die Herabsetzung der Sauerstofftransportkapazität des Blutes (anämische Hypoxie), verursacht durch akute oder chronische Blutverluste oder eine mangelhafte Hämoglobinsynthese (Anämien) sowie eine Methämoglobinbildung oder eine CO-Vergiftung (funktionelle Anämie). Als dritter Hauptgrund ist die Einschränkung der Organdurchblutung durch Gefäßverschluss (ischämische Hypoxie) zu erwähnen.

Jede akute Gewebeanoxie führt nach einem kurzen freien Intervall, in dem die Zellfunktionen noch voll aufrecht erhalten werden können, zu einer Einschränkung des Stoffwechsels und damit ihrer Funktionen. Im weiteren Verlauf kommt es zur Lähmung der Zellfunktionen. Die Zelle kann ihre Struktur mit Hilfe der begrenzt vorhandenen Energiereserven je nach Höhe des Energiebedarfs noch über einige Minuten bis Stunden aufrecht erhalten. Solange ist der Schaden noch reversibel und eine erfolgreiche Wiederbelebung ist möglich. Dauert die Unterbrechung der Sauerstoffzufuhr jedoch über diesen Zeitpunkt hinaus an, kommt es zur irreversiblen Zellschädigung und zum Zelltod. Die verschiedenen Gewebe reagieren unterschiedlich sensibel auf O<sub>2</sub>-Mangel. So sind die hochdifferenzierten Zellen wie Neurone sehr empfindlich gegenüber einer Anoxie und es treten hier bereits nach zehn Minuten irreparable Schäden ein.

Das Sauerstoffangebot in den Organen ergibt sich aus dem Produkt der arteriellen Sauerstoffkonzentration und Durchblutungsgröße. Veränderungen der Durchblutung als Folge von Änderungen des peripheren Gefäßwiderstandes oder des arteriellen Mitteldruckes führen also auch zu einer unmittelbaren Veränderung des Sauerstoffangebotes in einem Gewebe. Und umgekehrt kann ein vermehrter O<sub>2</sub>-Bedarf über eine Steigerung der Durchblutung erreicht werden. Diese wird in erster Linie von der Größe des Herzzeitvolumens und der Höhe des Gefäßmuskeltonus in den der terminalen Strohmbahn vorgeschalteten Gefäßabschnitten bestimmt.

Auch für die Wundheilung ist eine ausreichende Oxygenierung des Gewebes notwendig. So konnte gezeigt werden, dass der perioperative Einsatz von Sauerstoff zur Senkung der Inzidenz von bakteriellen Infektionen der Operationswunde diene [66].

#### 1.4. Hämoglobin – Vehikel für den Sauerstoff

Eine wesentliche Aufgabe des Blutes besteht darin, den in der Lunge aufgenommenen Sauerstoff zu den Organen und Geweben zu transportieren und das hier durch den Zellstoffwechsel angefallene Kohlendioxid zurück zur Lunge zu befördern, wo es abgeatmet werden kann [132,162]. Diese Funktion wird von den Erythrozyten erfüllt. Der in ihnen enthaltene rote Blutfarbstoff Hämoglobin besitzt die Fähigkeit, den Sauerstoff aus den Lungenkapillaren aufzunehmen und in den Gewebekapillaren wieder abzugeben. Außerdem vermag es einen Teil des gebildeten Kohlendioxids zu binden und in der Lunge wieder freizusetzen.

Hämoglobin ist ein Chromoprotein mit einem Molekulargewicht von 64 500 Dalton. Das Molekül besteht aus vier Polypeptidketten, je zwei  $\alpha$  und zwei  $\beta$  Ketten, mit je einer Farbstoffkomponente, die als Häm bezeichnet wird und in deren Zentrum sich ein zweiwertiges Eisenatom befindet (Abb.1). Beim Sauerstofftransport wird  $O_2$  ohne Wertigkeitsveränderung des Eisenatoms locker koordinativ an dieses angelagert. Dieser Vorgang wird Oxygenation genannt, aus Hämoglobin entsteht hierbei Oxyhämoglobin. Entsprechend ist die  $O_2$ -Abgabe eine Desoxygenation. Außerdem kann auch eine echte Oxidation stattfinden, bei der das zweiwertige Eisen in dreiwertiges übergeht. Dann spricht man von Hämoglobin oder Met-Hämoglobin. Normalerweise enthält das menschliche Blut nur einen sehr geringen Anteil Hämoglobin, der allerdings unter Einwirkung gewisser Gifte oder bei bestimmten Erkrankungen gefährlich anwachsen kann. Gefährlich deshalb, weil in diesem Fall das Hämoglobin nicht mehr für den Sauerstofftransport zum Gewebe zur Verfügung steht.

1 mol Hämoglobin kann maximal 4 mol  $O_2$  binden und 1g Hb kann theoretisch 1,59 ml  $O_2$  transportieren. Bei der tatsächlichen Messung ergeben sich allerdings meist kleinere Werte von 1,34 ml  $O_2$  / g Hb. Diese Zahl bezeichnet man als Hüfnersche Zahl. Die maximale  $O_2$ -Bindungskapazität errechnet sich als Produkt aus der Hüfnerschen Zahl und der Hämoglobinkonzentration.

Nach dem Massenwirkungsgesetz hängt die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins von dem jeweiligen gegebenen  $O_2$ -Partialdruck ab. Graphisch lässt sich dieser Zusammenhang in der  $O_2$ -Bindungskurve darstellen (Abb. 2). Sie weist einen charakteristischen S-förmigen Verlauf auf. Ihre Steilheit kann am

einfachsten am  $O_2$ -Halbsättigungsdruck ( $P_{50}$ ) beschrieben werden. Das ist derjenige  $O_2$ -Partialdruck, bei dem 50% des Hb in oxygenierter Form vorliegen. Unter physiologischen Bedingungen ( $pH=7,4$ ; Temperatur= $37^\circ C$ ) beträgt der  $P_{50}$  etwa 26mmHg. Für die Sauerstoffabgabe im Gewebe erweist sich der steile Verlauf im Mittelteil der Kurve als günstig. Hier kann sich die  $O_2$ -Abgabe ohne große Änderungen des  $O_2$ -Partialdruckes dem Bedarf anpassen. Der flache Verlauf im Endteil der Kurve schützt vor einem stärkeren Abfall der Sättigung auch bei einem verminderten arteriellen  $O_2$ -Partialdruck bis ca. 60 mmHg, was insbesondere bei älteren Menschen oder bei Lungenfunktionsstörungen zu sehen ist. Die  $O_2$ -Affinität und damit der  $P_{50}$  kann durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. Eine Affinitätsabnahme geht mit einem Anstieg des  $P_{50}$  einher und führt zu einer Rechtsverschiebung der Kurve. Dies findet sich bei Zunahme der  $H^+$ -Konzentration (Erniedrigung des pH-Wertes), Anstieg der  $CO_2$ -Konzentration, Temperaturerhöhung sowie bei Zunahme der intraerythrozytären Konzentration an 2,3-Diphosphoglycerat. Die pH-Abhängigkeit des  $O_2$ -Bindungskurvenverlaufs wird als Bohr-Effekt bezeichnet.

Neben der Funktion als Sauerstoffvehikel kommt dem intraerythrozytären Hämoglobin eine große Bedeutung für die Pufferung und den  $CO_2$ -Transport im Blut zu. Als Endprodukt des oxidativen Zellstoffwechsels fällt Kohlendioxid an. Der überwiegende Teil wird zu Kohlensäure hydratisiert, die sofort in Bicarbonat und Wasserstoffionen dissoziiert. Diese Reaktion vollzieht sich im Erythrozyten in Anwesenheit der Carboanhydrase in 10 000 mal größerer Geschwindigkeit als im Plasma. Die freiwerdenden Bikarbonationen diffundieren im Austausch gegen Chloridionen in das Plasma. Dieser Austausch wird als Hamburger-Shift bezeichnet. Die ebenfalls anfallenden  $H^+$ -Ionen werden vom Hb gepuffert. Eine weitere Möglichkeit des Kohlendioxidabtransportes aus den Geweben besteht in der direkten Anlagerung an die Eiweißkomponente des Hämoglobins. Das Reaktionsprodukt wird als Carbaminohämoglobin bezeichnet.

Die  $CO_2$ -Bindungsfähigkeit ist abhängig vom  $O_2$ -Sättigungsgrad des Hämoglobins. Desoxygeniertes Blut besitzt gegenüber dem oxygenierten eine sehr viel höhere  $CO_2$ -Bindungskapazität. Die unterschiedliche Bindungsfähigkeit kommt dadurch zustande, dass Oxyhämoglobin stärker sauer reagiert als das desoxygenierte Hämoglobin. Die für die  $CO_2$ -Aufnahme notwendige Dissoziation der Kohlensäure wird umso mehr gefördert, je geringer die Sättigung des Hb mit

Sauerstoff ist. Außerdem kann desoxygeniertes Hb besser  $\text{CO}_2$  in Form von Carbamat binden. Die Abhängigkeit der  $\text{CO}_2$ -Bindung vom Oxygenierungsgrad des Hämoglobins wird als Christian-Douglas-Haldane-Effekt bezeichnet.

Das adulte menschliche Hämoglobin ist das HbA, das sich aus zwei  $\alpha$  und zwei  $\beta$  Ketten zusammensetzt. Während der Fetalzeit findet sich ein als HbF bezeichnetes Hämoglobin, das sich vom HbA dadurch unterscheidet, dass es statt  $\beta$ -Ketten  $\gamma$ -Ketten aufweist.

Im Laufe der Erythropoese verlieren die erythrozytären Vorläuferzellen ihre Zellkerne, was eine hohe Konzentration an intrazellulärem Hämoglobin ermöglicht. Durchschnittlich beträgt die Hämoglobinbeladung in einem Erythrozyten 26-36 pg. Der Vorteil von intraerythrozytärem Hb gegenüber freiem Hb liegt darin, dass der kolloidosmotische Druck im Blut physiologisch bleibt. Außerdem ist die Lebensdauer des Blutfarbstoffes verlängert, da er vor enzymatischem Abbau und Oxidation im Plasma geschützt ist.

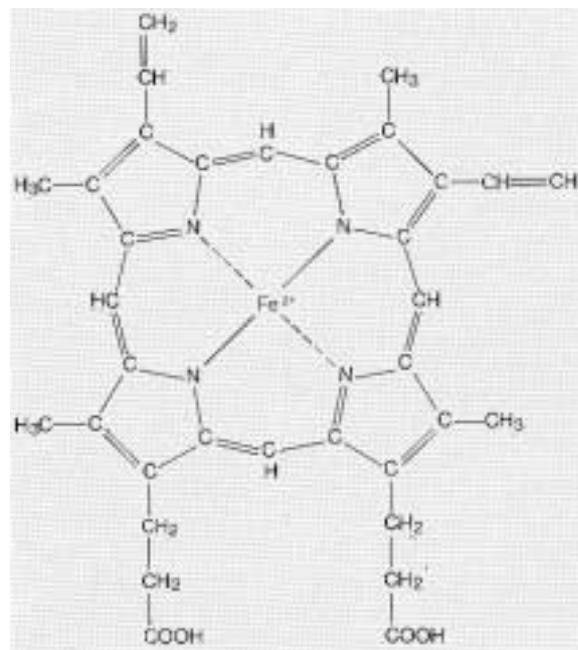


Abbildung 1: Chemische Struktur des Häm

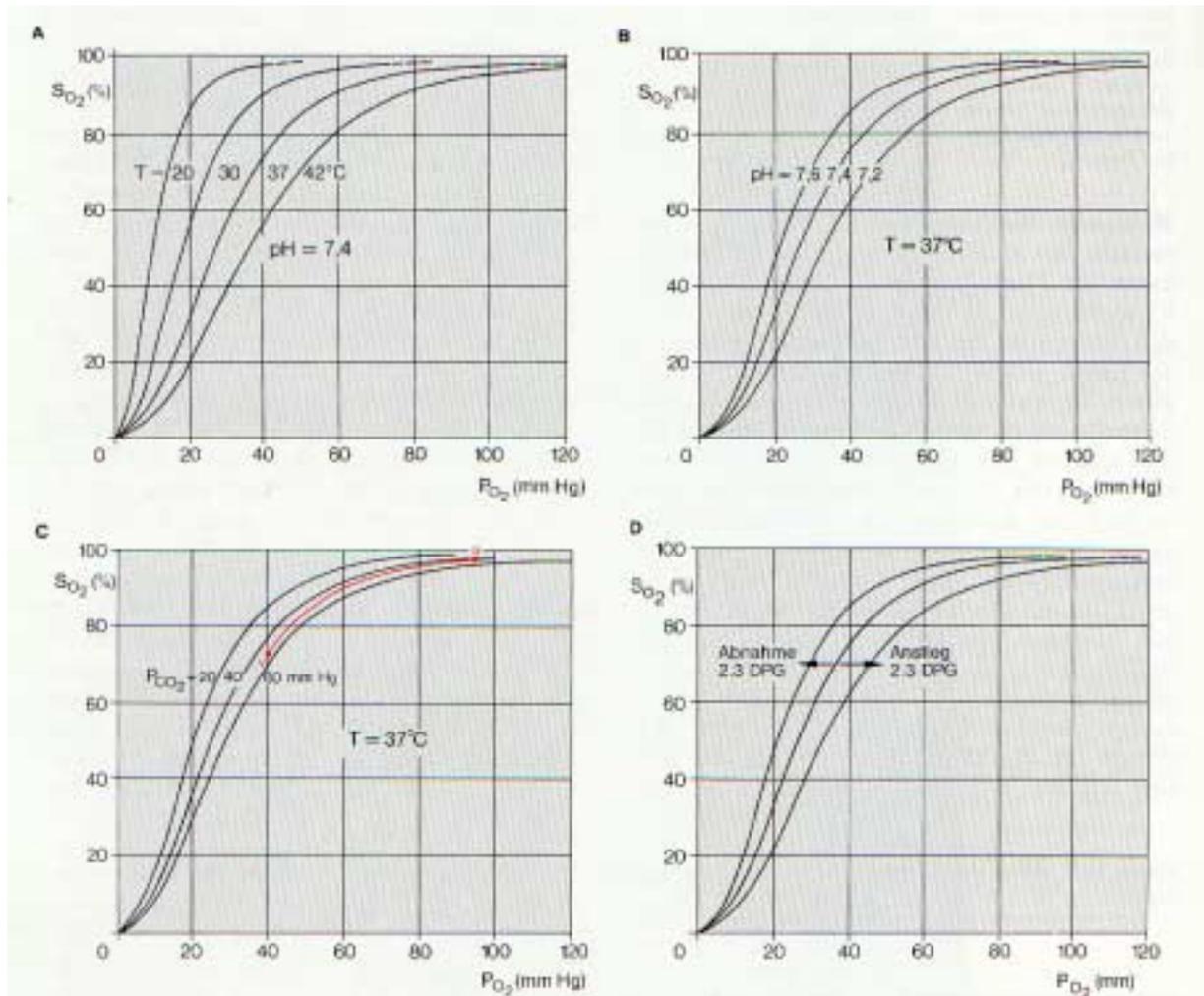


Abbildung 2: Sauerstoffbindungskurve in Abhängigkeit von verschiedenen Parametern: A: Temperaturabhängigkeit, B: pH-Abhängigkeit, C: Abhängigkeit vom CO<sub>2</sub>-Partialdruck, D: Abhängigkeit von der intraerythrozytären Konzentration des 2,3-Diphosphoglycerats (2,3-DPG).

### 1.5. Klinisch verfügbare Volumenersatzmittel

Im klinischen Gebrauch als Volumenersatzmittel sind derzeit kristalloide und kolloidale Lösungen. Isotone Vollelektrolytlösungen, wie zum Beispiel Ringer-Laktat werden zur Standardflüssigkeitssubstitution verwendet. Bei den kolloidalen Lösungen handelt es sich um onkotisch wirksame Substanzen. Dazu zählen Flüssigkeiten wie Gelatine, Dextrane und Hydroxyäthylstärke. Sie ermöglichen einen schnellen Volumenersatz bei akuten Verlusten von Plasma und Blut, Schock oder Sepsis unter Aufrechterhaltung und Stabilisierung der Herz-Kreislauf-Funktion sowie Gewährleistung der Perfusion lebenswichtiger Organe.

Zwei wesentliche Eigenschaften machen diese Substanzen aus: 1. ihr Wasserbindungsvermögen, das heißt sie „halten Flüssigkeit im Intravasalraum“. Es handelt sich hierbei um hypertone Lösungen, die Wasser aus dem Interstitium in den Intravasalraum ziehen können. Sie werden deshalb als Plasmaexpander bezeichnet. Außerdem besitzen sie eine geringe transkapilläre Permeabilität, so dass sie längere Zeit im Plasma verweilen [133]. Ihre unbegrenzte und sofortige Verfügbarkeit sind ein großer Vorteil, jedoch wird ihr Einsatz durch Auslösung von anaphylaktischen Reaktionen, Beeinträchtigung der Blutgerinnung, Hemmung der Albuminsynthese sowie eine mögliche Immunsuppression nach repetitiver Gabe hoher Dosen begrenzt [37,71,99,119,133]. Der größte limitierende Faktor im Einsatz dieser Substanzen besteht allerdings darin, dass sie die Hauptfunktionen des Blutes wie die Gerinnung und insbesondere den Sauerstofftransport nicht übernehmen können.

### **1.6. Anforderungen an ein ideales Blutersatzmittel**

Ein ideales Blutersatzmittel sollte möglichst die Aufrechterhaltung des aeroben Zellstoffwechsels im Gewebe gewährleisten. Um einen suffizienten Sauerstofftransport und eine ausreichende Gewebeoxygenierung zu erzielen, ist eine ausreichende O<sub>2</sub>-Aufnahme in der Lunge, eine adäquate O<sub>2</sub>-Bindung und Transport sowie eine suffiziente O<sub>2</sub>-Abgabe in den Geweben erforderlich. Zudem sollte es eine ausreichend lange intravasale Verweildauer, günstige rheologische Eigenschaften und eine adäquate intravasale Volumenwirkung besitzen. Natürlich sollte es möglichst frei von Nebenwirkungen sein, das heißt, weder infektiöses, noch allergenes oder immunogenes Potential aufweisen. Logistische Aspekte sind unbegrenzte Verfügbarkeit, problemlose Lagerung und lange Haltbarkeit. Zusätzlich sollte es kostengünstig sein.

Folgende Kriterien sollten erfüllt sein, bevor Hämoglobinlösungen als Sauerstoffträger beim Menschen eingesetzt werden können:

Die Substanz muß auch in Abwesenheit von intraerythrozytärem 2,3-Diphosphoglycerat in ausreichendem Maße Sauerstoff an das Gewebe abgeben.

Die Substanz muss nebenwirkungsarm sein.

Die Hämoglobin-Lösungen müssen chemisch so modifiziert werden, dass sie stabil und eine ausreichende intravasale Verweildauer gewährleisten.

### **1.7. Modifikation von Hämoglobinlösungen**

Um diese Kriterien zu erfüllen, wurden im Herstellungsverfahren von Hämoglobinlösungen Purifikationsprozesse und chemische Modifikationsvorgänge entwickelt.

Nach Hämolyse der Erythrozyten in destilliertem Wasser oder Phosphatpuffer [6], werden die Erythrozyten gewaschen und durch Zentrifugation von Stroma- und Membranresten getrennt [70]. Durch Kristallisation, Filtration sowie chromatographische oder elektrophoretische Auftrennung werden die Lösungen weiter gereinigt [36]. Um die Hämoglobinkonzentration zu erhöhen und die Elektrolytkonzentration der Lösungen anzugleichen wurden Dialyseverfahren angewandt [70,122]. Eine genaue Untersuchung der Sicherheit von steril hergestellten stromafreien Hämoglobinlösungen führten Savitsky et al. 1978 [130] an acht freiwilligen Testpersonen durch. Die Teilnehmer entwickelten Bradykardie, Hypertension und Oligurie. Eine Erklärung für die immer wieder beobachteten Blutdruckanstiege nach Applikation von Hämoglobinlösungen ist die NO-Bindungstheorie. Stickstoffmonoxid (NO) ist ein Vasodilatator, der aufgrund seiner starken Affinität zu zweiwertigen Eisenatomen durch Hämoglobinlösungen gebunden wird und so keine Gefäßerweiterung mehr bewirken kann, so dass es zu Anstiegen des systemischen und pulmonalen Gefäßwiderstandes kommt [4,104,111,141,168]. Die rasche Dissoziation der Hämoglobin-Tetramere in Dimere und deren anschließende renale Filtration und Exkretion erhöht die im Tierversuch beobachtete Hämoglobinurie, die zusätzlich zu einem raschen Wirkungsverlust mit toxischen Reaktionen an der Niere führt [8]. In einer Studie von Smith et al. wurde die Organotoxizität einer Hämoglobinlösung an Leber und Niere untersucht. Hier korrelierte das Ausmaß der Organschädigung direkt mit dem Grad der Hämoglobinurie [150].

Durch intra- und intermolekulares Cross-linking sowie Konjugation mit Makromolekülen wie Polyethylenglykol oder Glutaraldehyd konnte die Stabilität der Hämoglobinmoleküle deutlich erhöht und somit die Halbwertszeit verlängert werden [9,14,79,152,169]. Intramolekulares Cross-linking beschreibt die

chemische Verbindung von zwei  $\alpha$ -Ketten oder von einer  $\alpha$ - mit einer  $\beta$ -Kette. Als intermolekulares Cross-linking bezeichnet man die Quervernetzung oder Polymerisierung von mehreren Tetrameren. Ein weiter Vorteil der Polymerisierung der Hämoglobinlösungen bestand darin, dass die Anzahl der osmotisch wirksamen Teilchen stark sank, und sich die ehemals hyperosmolar wirkende Lösung dem physiologischen kolloidosmotischen Druck des Blutes annäherte [60,135].

Ein weiteres Problem zeigte sich in der Sauerstoffaffinität von humanem freiem Hämoglobin. Das extraerythrozytäre Hämoglobin hat eine sehr viel höhere Sauerstoffaffinität als intrazelluläres. Dieses Phänomen erklärt sich durch den Verlust des intrazellulär vorhandenen 2,3-Diphosphoglycerat, das die Sauerstoffaffinität im Erythrozyten regelt. So konnte unverändertes freies Hämoglobin nur unzureichende Mengen an Sauerstoff an das Gewebe abgeben und eine suffiziente Gewebeoxygenierung nicht ausreichend gewährleisten. Die Sauerstoffversorgung des Gewebes ist ein entscheidendes Kriterium für die Effektivität eines künstlichen Sauerstoffträgers. Deswegen suchte man nach Verfahren, die Fähigkeit der Sauerstoffabgabe der Hämoglobinlösungen zu beeinflussen. Durch Anlagerung von Pyridoxalphosphaten an das Hämoglobin konnte dies erreicht werden. So wurde der  $P_{50}$  (=der Sauerstoffpartialdruck, bei dem 50% des Hämoglobins mit Sauerstoff gesättigt sind) von 12 mmHg auf 22 bis 24 mmHg angehoben. Normales Blut hat einen  $P_{50}$  von ca. 27 mmHg [12,65,90,136].

Bei gentechnisch hergestellten Hämoglobinmolekülen kann auf molekularer Ebene durch Austausch einzelner Aminosäuren die Sauerstoffaffinität reguliert werden [125].

Folgende modifizierte Hämoglobinlösungen wurden oder werden zur Zeit in klinischen Studien Phase I bis III erprobt:

Humanes Diaspirin-vernetztes Hämoglobin (DCLHb): Studien derzeit gestoppt

Humanes mit Glutaraldehyd polymerisiertes Hämoglobin (Polyheme)

Humanes mit o-Raffinose konjugiertes Hämoglobin (HemoLink)

Bovines mit Polyethylenglykol konjugiertes Hämoglobin (PEG-Hb)

Bovines mit Glutaraldehyd polymerisiertes Hämoglobin (HBOC-201)

Rekombinantes Hämoglobin: Studien derzeit gestoppt  
Humanes mit Polyoxyethylen konjugiertes Hämoglobin

### 1.7.1. Humane Hämoglobinlösungen

Humanes Hämoglobin wird durch Lyse von Erythrozyten aus abgelaufenen Erythrozytenkonzentraten aus den Blutbanken gewonnen. Hier zeigt sich schon das erste Problem, denn der Bedarf an sauerstofftransportierenden Blutersatzmitteln wird nicht aus abgelaufenen Blutkonserven zu decken sein.

Es schließen sich eine Reihe von Reinigungs- und Filtrationsvorgängen an, die alle Stromareste vom Hämoglobin trennen sollen, so dass die resultierende Lösung als stromafreies Hämoglobin (SFH) bezeichnet werden kann. Da die Antigene auf den Membranen lokalisiert sind, ist SFH universell kompatibel und kann ohne Rücksicht auf die Blutgruppe des Empfängers transfundiert werden [60,125].

Da die Sauerstoffaffinität des humanen Hämoglobins über das im Erythrozyten enthaltene 2,3-Diphosphglycerat geregelt wird und dies bei freiem Hämoglobin verloren geht, kommt es zu einer erhöhten Sauerstoffaffinität und verschlechterten Sauerstoffabgabe im Gewebe (siehe oben). Durch Bindung des Hämoglobins an Pyridoxalphosphat wurde dem Abhilfe geschaffen.

Allerdings besteht bei menschlichen Hämoglobin-Präparaten die Gefahr einer Virusübertragung. Spezielle Filtrationsvorgänge und Erhitzungsprozesse der Präparate konnten zwar die Keimzahlen (Hepatitis B und A, HIV) stark senken, jedoch nicht vollständig entfernen, so dass ein Restrisiko der Virusübertragung bestehen bleibt [7,137].

In einer Studie von Gould et al. wurde bei traumatisierten Patienten die Effektivität der Transfusion einer humanen polymerisierten Hämoglobinlösung (Polyheme) im Vergleich zu Erythrozytenkonzentraten untersucht [58]. Die Transfusionen der Hämoglobinlösungen wurden gut vertragen und es traten keine relevanten Nebenwirkungen auf. Die mit Polyheme erreichten Gesamthämoglobinwerte entsprachen denen der durch Erythrozytentransfusion erzielten Werte. Außerdem konnte die Anzahl transfundierter Erythrozytenkonzentrate um 3 Einheiten gesenkt werden.

Johnson et al. [80] gelang es, nachzuweisen, dass Transfusionen von Polyheme sich nicht negativ auf den systemischen und pulmonalen Widerstand sowie den Sauerstofftransport auswirken, wie es in anderen Versuchen beschrieben wurde [73,75]. Dazu verglichen sie traumatisierte, transfusionspflichtige Patienten, die entweder Erythrozytenkonzentrate oder polymerisierte zellfreie Hämoglobinlösungen (Polyheme) erhielten [80].

Am besten erprobt ist derzeit das humane Diaspirin-vernetzte Hämoglobin (DCLHb).

Im Tiermodell wurde die Effektivität der Therapie eines hämorrhagischen Schocks mit verschiedenen Dosierungen von DCLHb im Vergleich zu Ringer-Laktat und einer unbehandelten Gruppe untersucht. Höhere Dosierungen von DCLHb resultierten in einem stärkeren Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks als in der unbehandelten oder der mit Ringer-Laktat behandelten Gruppe. DCLHb verbesserte den Base Excess und die Laktatkonzentration, beides Indikatoren für die globale Gewebepfusion und Sauerstoffversorgung, schneller und besser als in den Kontrollgruppen. Es konnte ein günstiger Effekt auf Blutdruck und Gewebepfusion im hämorrhagischen Schockmodell durch Transfusion von DCLHb belegt werden [102].

In einem weiteren Versuch konnte die Behandlung mit DCLHb nach großen Blutverlusten eine bessere mikrovaskuläre Oxygenierung gewährleisten. Es wurde die Behandlung mit DCLHb, Ringer-Laktat und modifizierter Gelatine im Schweinemodell verglichen. DCLHb stellte sich als der bessere und längerfristige Sauerstofflieferant heraus [170].

Eine Multicenter-Studie an Patienten, die eine Bypass-Operation am Herzen erhalten hatten, konnte belegen, dass die Anwendung von DCLHb die Notwendigkeit von Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten um 19% senkt [88].

### 1.7.1. Bovines Hämoglobin

Durch Lyse, Chromatografie, und Ultrafiltration werden bovine Hämoglobinlösungen aus Rinderblut gewonnen. Die Regulation der Sauerstoffaffinität des bovines Hämoglobins unterliegt nicht, wie beim

menschlichen Hämoglobin, der Anwesenheit von 2,3-Diphosphoglycerat. Sie wird hauptsächlich über Chloridionen gesteuert [22]. Die hohe Konzentration an Chloridionen im menschlichen Plasma resultiert in einem ausgezeichneten Sauerstofftransport boviner Hämoglobinlösungen [172].

Freies unmodifiziertes bovines Hämoglobin hat einen  $P_{50}$  von etwa 30 mmHg und liegt damit deutlich über dem des unmodifizierten extraerythrozytären menschlichen Hämoglobinmoleküls, das einen  $P_{50}$  von 12-14 mmHg aufweist [125].

Außerdem weist bovines Hämoglobin eine stärkere pH-Abhängigkeit der Sauerstoffaffinität (Bohr-Effekt) auf [52]. Dies resultiert im Falle einer Azidose in einer verbesserten Sauerstoffabgabe an das Gewebe.

Bovines Hämoglobin scheint auch aufgrund seiner nahezu unbegrenzten Verfügbarkeit und geringen Kosten eine höchst interessante Alternative zum menschlichen Hämoglobinmolekül zu sein.

Das bovine Hämoglobin ist im Gegensatz zu Hämoglobinen anderer Spezies dem humanen in seiner Struktur sehr ähnlich und besitzt deshalb wahrscheinlich eine sehr geringe antigene Potenz [26,72].

Polymerisation mit Glutaraldehyd oder Konjugation mit Polyethylen verbesserte die Stabilität der bovinen Hämoglobinmoleküle und sorgte für eine ausreichend lange intravasale Verweildauer.

Aktuell wird die Anwendung von bovinem Hämoglobin durch das Transmissionsrisiko von boviner spongiformer Enzephalopathie limitiert. Da HBOC-201 aber ausschließlich aus dem Blut nordamerikanischer streng überwachter Rinder gewonnen wird, kann eine Übertragung von Prionen, die mit dem Auslösen der Creutzfeld-Jakob-Erkrankung in Verbindung gebracht wurden, nahezu ausgeschlossen werden.

Tierexperimentell wurde im hämorrhagischen Schockmodell ultra-gereinigte bovine Hämoglobinlösung verabreicht. Die Kontrollgruppen erhielten homologes Blut oder Humanalbumin. Durch Verabreichung der Hämoglobinlösung konnte eine stabile Hämodynamik und eine Korrektur der metabolischen Azidose erreicht werden. Der Erfolg war vergleichbar mit dem der Therapie mit homologen Erythrozyten. Außerdem erwies sich der Sauerstofftransport effizienter als in der Humanalbumin Gruppe. Signifikante kardiopulmonale Toxizität oder unerwünschte Nebenwirkungen blieben aus [72].

In einer anderen Studie wurde bei Hunden eine 30%ige und 50%ige Austauschtransfusion mit bovinem Hämoglobin durchgeführt. Alle Tiere überlebten 14 Tage. Es kam zu keinen wesentlichen Veränderungen im Verhalten der Tiere. Nebenwirkungen auf Hämatologie, Koagulation, Hämodynamik oder Nierenfunktion blieben aus. Die Blutgasanalysen waren stabil und innerhalb der physiologischen Grenzen [143].

Polymerisiertes bovines Hämoglobin (HBOC-201, Hemopure) wurde in Phase II und III Studien an Patienten mit orthopädischen, herzchirurgischen, urologischen Operationen sowie Patienten mit Leberteilresektion getestet [156]. Auch an Patienten mit Sichelzellanämie wurde es erfolgreich und ohne Nebenwirkungen angewandt [44,125,159].

Den direkten Beweis für einen guten Sauerstofftransport und eine effiziente Sauerstoffabgabe ans Gewebe lieferten Standl et al [160] im Tiermodell. Sie führten bei Hunden eine isovoläme Hämodilution mit bovinem Hämoglobin im Vergleich zu Hydroxyäthylstärke durch. Der im Skelettmuskel gemessene  $tpO_2$  war bei den Tieren, die mit der Hämoglobinlösung behandelt wurden signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Bei histologischen Untersuchungen an Leber und Niere wurden keine wesentlichen Veränderungen nach Austauschtransfusionen mit bovinem Hämoglobin gefunden [158].

In einem weiteren Tierversuch konnte belegt werden, dass kleinere Dosen boviner Hämoglobinlösungen (HBOC-201) nach isovolämer Hämodilution höhere Sauerstoffpartialdrücke in peripheren Organen wie dem Skelettmuskel bewirkten, als eine Transfusion mit autologen gelagerten Erythrozyten oder perioperativ gewonnenem Frischblut [157].

## **1.8. Perfluorcarbone (PFC)**

Perfluorcarbone sind chemisch synthetisierte fluorierte Kohlenwasserstoffmoleküle. Makroskopisch sind Perfluorcarbone bei Raumtemperatur klare, geruchlose, flüchtige Flüssigkeiten, die wasserunlöslich sind. Dies bedingt bei ihrer intravasalen Anwendung den Einsatz von Emulgatoren. Die Atombindung zwischen Kohlenstoff und Fluor ist aufgrund ihrer extremen Polarität die stabilste Bindung von Kohlenstoff mit einem anderen

Element. Deshalb sind PFC-Moleküle außerordentlich stabil und vollkommen inert gegenüber chemischen und biologischen Reaktionspartnern, so dass eine Metabolisierung weder im tierischen noch im humanen Organismus nachgewiesen werden konnte [149]. Die Elimination der Substanz aus dem Körper erfolgt durch Exhalation über die Lunge.

Der erste Sauerstofftransportnachweis von PFC erfolgte 1966 an einer Maus, die 10 Stunden in einer mit Sauerstoff gesättigten Fluorkohlenstofflösung überlebte [28]. Weitere Experimente an anderen Spezies folgten und bestätigten den Nachweis [109,110]. Zusätzlich wurden Versuche durchgeführt, in denen isolierte Gehirne und andere Organe unter PFC Perfusion ihre Funktion aufrecht erhalten konnten [148].

Eine medizinisch wichtige Eigenschaft der PFC ist ihre enorme Kapazität, Gase (hydrophobe Substanzen), insbesondere Sauerstoff und Kohlendioxid in physikalischer Form zu lösen. Die Menge an physikalisch gelöstem Gas (z.B. Sauerstoff) ist dabei direkt proportional dem herrschenden Partialdruck. Die Menge des transportierten Sauerstoffs ist mit diesen Lösungen unter den Normalbedingungen mit atmosphärischer Luft, d.h. bei einer inspiratorischen O<sub>2</sub>-Konzentration von 21% nur unzureichend. Demnach werden die PFC klinisch erst sinnvoll in Verbindung mit höheren inspiratorischen Sauerstoffkonzentrationen. Höhere Blutkonzentrationen der Präparate selber sind nur beschränkt möglich, da sie die Blutviskosität erhöhen [29,40,76].

Die bekannteste kommerziell entwickelte PFC Emulsion der ersten Generation, das Fluosol DA 20 (The Green Cross Corp., Osaka, Japan), ist eine Mischung aus Perfluorotripropylamin und Perfluorodecalin in Pluronic emulgiert und mußte bei -20°C gelagert werden [113]. Klinische Erfahrungen an zahlreichen Patienten aus Japan und den Vereinigten Staaten beinhalteten Berichte über signifikante Toxizität, allergische Reaktionen, sowie Zwischenfälle von Brochospasmus und pulmonaler Hypertension. Es wurde angenommen, dass der Emulgator durch Komplementaktivierung für diese Reaktionen verantwortlich war [108,171].

In einer klinischen Studie in den Vereinigten Staaten wurde acht Patienten, die während eines chirurgischen Eingriffs eine ausgeprägte Anämie entwickelten und Bluttransfusionen aus religiösen Gründen abgelehnt hatten, Fluosol als Blutersatz verabreicht. Sechs von acht Patienten starben, denn Fluosol konnte selbst bei zusätzlicher Sauerstoffgabe den Sauerstoffbedarf im Gewebe nicht dauerhaft

decken. Die klinisch sinnvolle Anwendbarkeit von Fluosol bleibt limitiert durch die relativ niedrigen Blutkonzentrationen, die mit der maximal zulässigen Dosis des Präparates erreicht werden können und durch die kurze intravasale Halbwertszeit von max. 24 Stunden [62]. Weitere klinische Untersuchungen bestätigten, dass Fluosol keinen Einfluss auf die Überlebensrate bei hämorrhagischen Patienten hatte [155].

Bei den neueren Emulsionen wurde Ei-Lecithin als Emulgator eingesetzt, eine metabolisierbare Substanz natürlicher Herkunft. Diese Emulsionen sind stabil bei Raumtemperatur und brauchen daher nicht eingefroren werden. Sie können mehrere Monate gelagert werden.

Die sogenannten PFC der zweiten Generation weisen eine bis zu viermal höhere Sauerstofflösungskapazität als Fluosol auf [127-129]. Die Problematik der kurzen intravasalen Halbwertszeit sowie die notwendige hohe inspiratorische Sauerstoffkonzentration bleibt aber auch bei der neuen Generation der PFC bestehen.

### **1.9. Ziel des Versuches**

Nach dem erfolgreichen Einsatz von HBOC-201 in früheren Versuchen zum Blutaustausch, zur isovolämen Hämodilution und zur Untersuchung der Oxygenierung des Skelettmuskels sollte in der vorliegenden Studie die Oxygenierung des Gewebes der Leber im Vergleich zum Skelettmuskel unter akuter isovolämer Hämodilution mit HBOC-201 im Vergleich zu HES untersucht werden. So konnten die Auswirkungen der Hämodilution sowie der Hämoglobinlösung HBOC-201 auf die Oxygenierung des Gewebes eines zentralen Organs einerseits untersucht und des weiteren direkt mit den bereits bekannten Veränderungen auf den  $tpO_2$  des Skelettmuskels als peripherem Organ verglichen werden. Durch die Verfügbarkeit flexibler  $tpO_2$ -Messsonden konnte die Gewebesauerstoffspannung in der Leber in vivo direkt gemessen und so festgestellt werden, ob es bei Applikation von HBOC-201 zu einer weiteren Zunahme der Sauerstoffabgabe an die inneren Organe kommt im Vergleich zu den bekannten Auswirkungen der Hämodilution.

## 2. Material und Methodik

### 2.1. Versuchstiere

Tab.1: Demographische Daten

	Ringer-Gruppe	HES-Gruppe	HBOC-201-Gruppe
Anzahl (n)	6	6	6
Geschlecht (m/w)	3/3	3/3	3/3
Alter (Monate)	16 +/- 3	16 +/- 3	17 +/- 3
Körpergewicht (Kg)	30 +/- 2	32 +/- 5	31 +/- 3
Kerntemperatur (°C) <sup>1</sup>	37,3 +/- 0,8	37,2 +/- 1,1	37,3 +/- 0,5
Blutvolumen (l)	2,42 +/- 0,44	2,53 +/- 0,44	2,46 +/- 0,21
Körperoberfläche(m <sup>2</sup> ) <sup>2</sup>	1,16 +/- 0,04	1,20 +/- 0,13	1,18 +/- 0,06

<sup>1</sup>Die Kerntemperatur wurde durch eine Kontaktsonde an der Membrana tympani gemessen.

<sup>2</sup>Die Körperoberfläche wurde nach der Formel  $0,12 \times (\text{Körpergewicht})^{2/3}$  berechnet.

### 2.2. Anästhesie und Monitoring

Die mit 2mg/kg Xylazine und 5mg/kg Ketamin-Hydrochlorid prämedizierten Tiere trafen nach 12h Nahrungskarenz aus der Versuchstierhaltung des UKE im Tier-OP ein.

Die Narkoseeinleitung erfolgte nach Insertion einer peripheren intravenösen Verweilkanüle mit 5mg/kg KG Thiopental. Zur initialen Relaxierung wurde Rocuronium in einer Dosierung von 0,5mg /kg KG verabreicht.

Nach endotrachealer Intubation mit einem Oral Lo-Contour TM Tubus mit Manschette (8,5mm, Mallinckrodt Medical) wurden die Tiere kontrolliert mit 30% Sauerstoff in Luft normoventiliert, so dass das endexpiratorische CO<sub>2</sub> zwischen 34-38 mm Hg lag. Nachfolgend wurde die Narkose als intravenöse Anästhesie über Perfusor in nachfolgender Dosierung fortgeführt:

Fentanylhydrogencitrat (Fentanyl<sup>®</sup>, Janssen, FRG): 25µg/kg/h

Midazolam (Dormicum<sup>®</sup>, Hoffmann-LaRoche, FRG): 0,4mg/kg/h

Rocuroniumbromid (Esmeron<sup>®</sup>, Organon, FRG): 1mg/kg/h

Die inspiratorische Sauerstoffkonzentration ( $FiO_2$ ) (Pocket-O<sub>2</sub>-Monitor, Hoyer, Bremen, FRG) und der endexpiratorische  $pCO_2$  (Normocap CO<sub>2</sub> Monitor, Datex, Helsinki, SF) wurden kontinuierlich überwacht und die Beatmungsparameter so gewählt, dass die Sauerstoffkonzentration der Beatmungsluft 30% und der endexpiratorische  $pCO_2$  34-38mmHg betragen. Zusätzlich dienten die arteriellen Blutgasanalysen zur Sicherstellung einer Normoventilation.

Zur Basisflüssigkeitssubstitution erhielten die Tiere intravenös 1000ml/h Ringerlösung über einen peripheren venösen Zugang.

Es wurde ein 6-poliges Brustwand-EKG (Tram 200A, Marquette Electronics, Milwaukee, USA) am rasierten Thorax der Tiere platziert und kontinuierlich abgeleitet. Es diente zu den verschiedenen Messpunkten zur Bestimmung der Herzfrequenz und zur ST-Analyse.

Es erfolgte eine transurethrale Kathetereinlage (Foley Katheter, Thiemann<sup>2</sup>, 14G, Porges, France) zur Harnableitung und Ausfuhrbilanzierung.

Eine pulsoxymetrische Sauerstoffmessung wurde an der Zunge der Tiere befestigt und kontinuierlich abgeleitet (Pulse Oximeter<sup>®</sup>, Nellcor, Hayward, CA).

### **2.3. Chirurgische Präparation der Versuchstiere**

Die aseptische chirurgische Präparation und Insertion der Katheter wurde in rechter Halbseitenlage der Tiere durchgeführt.

Zunächst erfolgte die Präparation der rechten Leiste. Dort wurden die A. und V. femoralis freigelegt. Als erstes wurde die A. femoralis dextra zur kontinuierlichen direkten arteriellen Blutdruckmessung, sowie zur Entnahme der arteriellen Blutproben (s.u.) katheterisiert. Während des gesamten Versuchablaufs konnten hier arterielle Blutproben gewonnen werden zur Kontrolle der Blutgase, der Elektrolyte sowie der Hämoglobinkonzentration.

Über die V. femoralis dextra wurde ein Pulmonalkatheter (Intrathermodin<sup>®</sup>, 7F, 110cm, 4-lumig, Ballon Thermodilutionskatheter, intra special Catheters, Rehlingen) in die A. pulmonalis eingeschwenkt. Über diesen Katheter erfolgte

später die Gewinnung gemischt-venöser Blutproben und die Erhebung der hämodynamischen Daten (s.u.).

Pulmonalis- und A. femoralis-Katheter wurden an Drucksysteme angeschlossen, die nach Blutprobengewinnung und vor Messwerterhebung mit einem Druck von 200-300 mmHg mit einer heparinisierten isotonischen Kochsalzlösung gespült wurden. So wurden kontinuierlich die arterielle Druckkurve, der zentrale Venendruck und die Druckkurve der A. pulmonalis abgeleitet und über Monitor überwacht.

Im Bereich der linken Leiste wurden die V. poplitea, die A. poplitea sowie der Musculus vastus lateralis chirurgisch freigelegt.

An der proximalen A. poplitea sinistra (Übergang zur A. femoralis) wurde zur Messung des arteriellen Blutflusses (Cliniflow IIC<sup>®</sup>, Model FM 701 D Elektromagnetic Flowmeter) ein Flowsensor angebracht (Blood-Flow.Probe 8-11mm, Caroline Medical inc., USA).

In die linke V. poplitea wurde ein peripherer Katheter 3 cm nach distal geschoben (Leadercath<sup>®</sup>, 20G, 8cm, Vygon, France), über den venöse Blutproben gewonnen wurden.

Außerdem wurde über die V. poplitea ein großlumiger Katheter (2,4 mmID) nach zentral eingeführt und bis in die V. cava inferior vorgeschoben. Über diesen erfolgte die Blutentnahme während der Hämodilution sowie die HBOC-201<sup>®</sup> Applikation nach Blutentzug. Zusätzlich diente er als zentraler Zugang für eine zügige Volumensubstitution während des ganzen Versuches. Zu den verschiedenen Messpunkten wurden hier zentral-venöse Blutproben entnommen. Am M. vastus lateralis sin. erfolgte die Insertion einer polarographischen Feinnadelmesssonde des Gewebs-pO<sub>2</sub>-Histographen. Hiermit wurde der periphere Gewebssauerstoffpartialdruck aufgezeichnet.

Die Körpertemperatur wurde am M. vastus lateralis sin. peripher und über den Pulmonaliskatheter sowie eine Tympanon-Kontaktsonde (Mon-A-Therm, Mallinckrodt Medical) an der Membrana tympani zentral gemessen.

Mittels einer Wärmedecke, der ständig gewärmte Luft von einem Gebläse zugeführt wurde (Bair Hugger, Augustine Medical, Inc., Eden Prairie, Stufe IV, 41°C) und durch Erwärmen aller Infusionslösungen wurde eine Körpertemperatur von 37–37,7°C aufrechterhalten.

Da die Milz der Hunde als wesentliches Blutreservoir dient, welches unter isovolämer Hämodilution Erythrozyten freisetzen kann, erschien es notwendig eine Splenektomie vor der kontrollierten Hämodilution durchzuführen.

Nach Mittellinienlaparotomie wurde zunächst die Milz durch schrittweise Unterbindung und Durchtrennung der zu- und abführenden Gefäße entfernt.

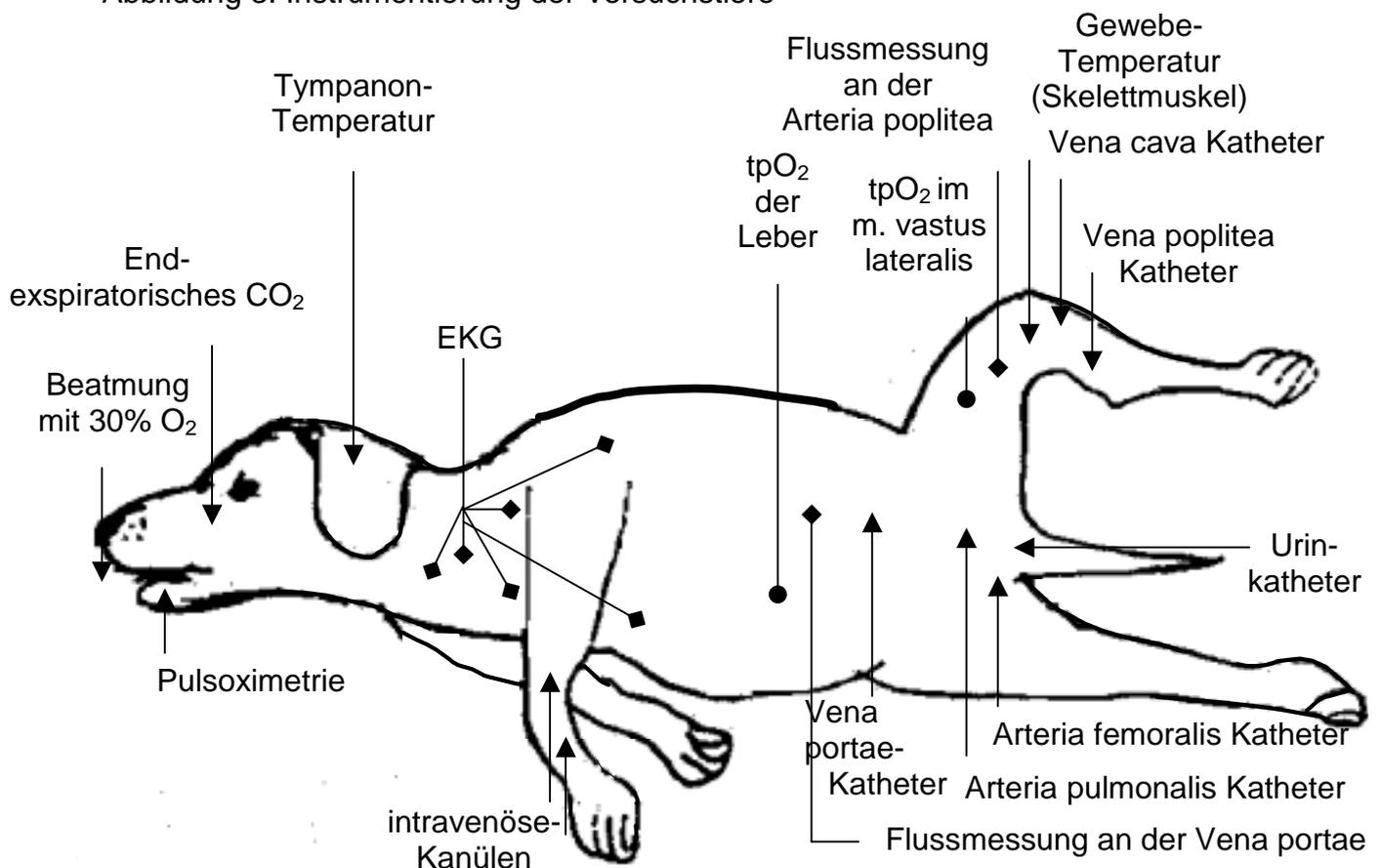
Zur Katheterisierung der V. portae wurde eine der Milzvenen im Rahmen der Splenektomie freipräpariert. Der Katheter wurde dann bis in die V. portae vorgeschoben. Hier erfolgten im weiteren Versuchsverlauf die Entnahmen von Blutproben aus dem Pfortaderblut.

Es folgte die Plazierung eines flexiblen polarographischen Messkatheters im linken Leberlappen, um den hepatischen Sauerstoffpartialdruck zu messen (Licox CMP<sup>®</sup>Tissue Oxygen Pressure Monitor, GMS).

Als nächstes erfolgte die Plazierung eines Flowmessers an der V. portae zur Bestimmung des zentralen Blutflusses (Cliniflow II<sup>®</sup>, Model FM 701 D Elektromagnetic Blood Flowmeter).

Anschließend wurde die Bauchdecke wieder adaptiert und damit ein weitgehender Verschluss der Bauchhöhle erzielt.

Abbildung 3. Instrumentierung der Versuchstiere



## 2.4. Prüfsubstanz

Tab. 2: Bovine Hämoglobinlösung HBOC-201\*

Hb (g /dl)	13,0±1,0
Molekulargewicht (D)	32.000-500.000
Polymere zwischen 32.000 und 65.000D	< 10%
Kolloidosmotischer Druck (mmHg)	17
Viskosität (mPa·s)	1,3
Osmolalität (mOsm / kg)	293-307
P 50 (mmHg) <sup>1</sup>	36
PH	7,6-7,9
Natrium (mmol / l)	152-168
Kalium (mmol / l)	3,5-5,5
Chlorid (mmol / l)	111-127
Kalzium (mmol / l)	0,8-1,5
Intravasale Halbwertszeit (Std)	36
Met-Hämoglobin (%)	<10
Oxyhämoglobin (%)	<5

\* Hersteller Biopure Corp., Cambridge, MA, USA

<sup>1</sup> Bestimmung bei pH 7,4, einer Temperatur von 37°C und einer Chloridionen Konzentration von 105-120 mmol / l mit dem Hemox Analyser B (TCS Medical Products, USA)

## 2.5. Versuchsablauf

Die jeweiligen Messzeitpunkte, zu denen die einzelnen Messparameter erhoben wurden, werden als MP1 bis MP4 bezeichnet.

Nach Beendigung der Präparation folgte eine Äquilibrationsphase. Es wurde Stabilität hinsichtlich Hämodynamik, Beatmungsparametern, Volumensituation, Säure-, Basenstatus, Elektrolyte und Blutgasen angestrebt und eventuelle Abweichungen wurden vor Bestimmung der Ausgangswerte (MP1=Ausgangswerte) korrigiert.

MP1: Ausgangswerte vor isovolämer Hämodilution

Es wurden die Ausgangswerte aller Parameter bestimmt. Die Blutproben wurden aus den fünf katheterisierten Gefäßen gewonnen und wie unter 2.6. beschrieben verarbeitet.

MP2: 20 min. nach Hämodilution

Die Hämodilution erfolgte durch Austausch des aus der V. cava inf. gewonnenen Eigenblutes gegen Ringer-Laktat (HBOC-201-Gruppe) oder Hydroxyäthylstärke (Rheohes®, Braun, Melsungen) (HES-Gruppe), welche über einen peripheren Zugang infundiert wurden. Die dritte Gruppe (Ringer-Gruppe) fungierte als Kontrolle und wurde nicht hämodiluiert. Sie erhielt lediglich 1000ml Ringer-Laktat pro Stunde zur Flüssigkeitssubstitution. Ziel der Hämodilution war ein HKT von 25% bei einem tHb von 7,5 +/- 0,2 mg/dl unter konstantem PCWP als Parameter der Isovolämie.

Nach Erreichen der Zielwerte unter Isovolämie folgte eine 20minütige Adaptationsphase, bevor alle Parameter zum MP2 neu erhoben wurden.

MP3: 60 min. nach Hämodilution

Entsprechend der Randomisierung wurde Tieren der HBOC-201-Gruppe HBOC-201 gemäß der Formel 0,6g/kg KG über den V. cava inf. Katheter innerhalb von 5 min. zugeführt, während Tieren der HES-Gruppe in gleicher Menge Ringer-Laktat infundiert wurde. Die Kontrollgruppe erhielt weiterhin 1000ml Ringer-Laktat. In allen drei Gruppen wurde Isovolämie angestrebt, indem der PCWP und ZVD konstant gehalten und, falls erforderlich, durch Volumengabe (Ringerlösung)

korrigiert wurden. Nach einer Äquilibrationsphase wurden 60 min. nach HD wiederum alle Messparameter bestimmt (MP3).

MP4: 100 min post HD

Die Tiere aller drei Gruppen wurden durch Flüssigkeitssubstitution mit Ringer-Laktat auf einem konstanten Volumenniveau gehalten. 100 min nach HD erfolgte erneut die Erhebung aller Messdaten.

Im Verlauf des gesamten Versuches wurden metabolische oder respiratorische Azidosen oder Alkalosen, sowie Hypokaliämien und Hypoglykämien durch Infusion von Natriumbicarbonat 8,4% bzw. Glukose 5% ausgeglichen. Die Konstanthaltung der Körpertemperatur wurde wie unter 2.3. erläutert erreicht.

Abb. 4: Protokollschema

Ringer-Gruppe	HES-Gruppe	HBOC-201-Gruppe
---------------	------------	-----------------

Anästhesie / Präparation

*Äquilibration*

**MP1: Ausgangswerte vor HD**

Randomisierung

Isovoläme Hämodilution

Keine	1,5 ml HES / ml Blutentnahme Ziel Hkt 25%	3 ml R / ml Blutentnahme Ziel Hkt 25%
-------	---	--

*Äquilibration*

**MP2: 20 min nach HD**

Substitution

1000 ml R / h	1 ml R / ml HBOC-201	0,6 g/kg HBOC-201
---------------	----------------------	-------------------

*Äquilibration*

**MP3: 60 min nach HD**

Substitution

1000 ml R / h	1000 ml R / h	1000 ml R / h
---------------	---------------	---------------

*Äquilibration*

**MP4: 100 min nach HD**

## 2.6. Parameter und Messmethoden

### 2.6.1. Hämodynamische Parameter

Alle unten aufgeführten (nicht errechneten) Werte wurden kontinuierlich abgeleitet und auf einem Monitor (Marquette, USA) angezeigt. Die mit einem \* versehenen Parameter sind errechnet und wurden nur zu den jeweiligen Messpunkten erfaßt.

Tab. 3: Gemessene und errechnete hämodynamische Parameter

Parameter	Einheit
Herzfrequenz (HF)	b/min
Arterieller systolischer Druck (SAP)	mmHg
Arterieller Mitteldruck (MAP)	mmHg
Arterieller diastolischer Druck (DAP)	mmHg
Pulmonalarterieller systolischer Druck (PSP)	mmHg
Pulmonalarterieller Mitteldruck (PAP)	mmHg
Pulmonalarterieller diastolischer Druck (PDP)	mmHg
Pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP)	mmHg
Zentralvenöser Druck (ZVD)	mmHg
Systemischer Gefäßwiderstand (SVR)*	dyne s cm <sup>-5</sup>
Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR)*	dyne s cm <sup>-5</sup>
Herzzeitvolumen (HZV)*	l·min <sup>-1</sup>
Schlagvolumen (SV)*	ml
Herzindex (HI)*	l·(min·m <sup>2</sup> ) <sup>-1</sup>
Blutfluss (Flow)	ml·min <sup>-1</sup>

\*=errechnete Parameter

**Herzfrequenz und EKG** wurden kontinuierlich abgeleitet und auf dem Monitor (Marquette, USA) angezeigt. Die Frequenz wurde zu den Messpunkten notiert.

Die gesamten **Blutdrücke** wurden invasiv und kontinuierlich bestimmt, und zu den Messpunkten dokumentiert. Die Katheter des Hoch- und Niederdrucksystems (A. femoralis dextra und A. pulmonalis) wurden über einen Transducer an den Monitor angeschlossen. Dieser wandelt mechanische Energie in elektrische um. Der Druck, der durch das vom Herzen ausgeworfene Blut entsteht, wird über den Katheter auf die Membran des Druckaufnehmers übertragen, der es in ein elektrisches Signal umwandelt, und als Kurve sowie digital als Druckwerte in mmHg auf dem Monitor anzeigt.

Um den **pulmonalkapillären Verschlussdruck (PCWP)** zu messen, wurde der in einer der peripheren Lungenarterien platzierte Pulmonalkatheterballon mit etwa 1,5ml Luft insuffliert. Er blockiert den Blutzufuss zu diesem Gefäß, wodurch eine statische Flüssigkeitssäule distal der Katheterspitze entsteht. Diese erstreckt sich auf die venöse Seite des Lungenkreislaufs. Es wird der Druck distal der Blutsäule, d.h. in den Lungenvenen gemessen (PCWP). Da zwischen den Lungenvenen und dem linken Vorhof praktisch kein Druckgradient besteht, entspricht der Lungenkapillaren-Verschlussdruck dem linken Vorhofdruck und bei geöffneter Mitralklappe dem linksventrikulären enddiastolischen Druck.

Der **zentrale Venendruck (ZVD)** wurde über das proximale Lumen des PA-Katheters in der V. cava sup. registriert und zu den jeweiligen Messpunkten festgehalten.

**Der systemische Gefäßwiderstand (SVR)** wurde mittels folgender Formel berechnet:

$$\text{SVR} = \frac{\text{MAD} - \text{ZVD}}{\text{CO}} \times 80$$

**Der pulmonalarterielle Widerstand (PVR)** wurde berechnet nach:

$$\text{PVR} = \frac{\text{PAP} - \text{ZVD}}{\text{CO}} \times 80$$

Das **Herzzeitvolumen (HZV)** wurde anhand der Thermodilutionsmethode, mit Hilfe des Pulmonalkatheters bestimmt (Oximetrix 3 SO<sub>2</sub> Abbott, Wiesbaden). Kälte dient bei dieser Methode als Indikator. Durch Injektion einer definierten Menge kalter (4-8°C) Kochsalzlösung (hier 10ml) in den rechten Vorhof wird das Blut kurzzeitig abgekühlt. Der Temperaturwechsel wird in seinem zeitlichen Verlauf vom Thermistor an der Spitze des Katheters in der A. pulmonalis registriert. Das Herzzeitvolumen ist dabei umgekehrt proportional zur Fläche unter der Temperaturkurve [89]. Es wurden jeweils drei Einzelmessungen durchgeführt, und das arithmetische Mittel dieser drei Messungen ging in das Protokoll ein.

Das **Schlagvolumen (SV)** ist der Quotient aus Herzzeitvolumen und Herzfrequenz.

Der **Herzindex (HI)** wurde nach folgender Formel berechnet und protokolliert:

$$HI = HZV / \text{Körperoberfläche}$$

Mit einem elektromagnetischen Flussmesser (Cliniflow II FM 701 D , Carolina Medical Electronics, USA) wurde die **Blutflussgeschwindigkeit** in der A. poplitea sin. und in der V. portae erhoben. Der Flussmesser berechnet die Geschwindigkeit anhand des aktuellen Hämatokrits und der aktuellen Körpertemperatur.

### 2.6.2. Blutgasanalysen und Oxymetrie

Zu jedem Messzeitpunkt wurden arterielle, venöse und gemischt-venöse Blutproben aus den fünf katheterisierten Gefäßen zur Bestimmung folgender Parameter mittels ABL 505 (Radiometer Copenhagen; DK) gewonnen.

Tab. 4: Parameter der Blutgasanalysen

	Einheit
Sauerstoffpartialdruck ( $pO_2$ )	mmHg
Kohlendioxidpartialdruck ( $pCO_2$ )	mmHg
pH-Wert	
Base Excess (BE)	mmol·l <sup>-1</sup>
Standardbicarbonat (SBic)	mmol·l <sup>-1</sup>

Bei sämtlichen Blutentnahmen wurden zunächst 10ml Blut entnommen, um Verdünnungseffekte durch Rückstände im Entnahmekatheter zu vermeiden. Es wurde anschließend mit einer zweiten Spritze 1ml Blut in eine Spritze mit Heparinzusatz als Antikoagulanzen aufgezogen, luftdicht verschlossen und durch Kippen mit dem Zusatz vermischt. Danach wurden die Proben unmittelbar in den Radiometer eingegeben. Der **Sauerstoffpartialdruck ( $pO_2$ )** wird hier mit einer amperometrischen Elektrode bestimmt.

Der **Kohlendioxidpartialdruck ( $pCO_2$ )** wird im ABL 505 Acid-Base Laboratory (Radiometer, Copenhagen, DK) mit einer kombinierten Glaselektrode und Ag/AgCl-Bezugselektrode gemessen.

Mittels einer Glaselektrode wird der **pH-Wert** im ABL 505 (Radiometer, Copenhagen, DK) ermittelt.

**Base Excess und Standardbicarbonat (BE und SBic)** berechnet ebenfalls der ABL 505 (Radiometer, Copenhagen, DK).

Aus den selben Blutproben wurden mittels Oximetrie (OSM 3, Radiometer, Copenhagen) folgende Daten erhoben.

Tab. 5: Oxymetrische Parameter

	Einheit
Met-Hb	mmol·l <sup>-1</sup>
Oxy-Hb	mmol·l <sup>-1</sup>
O <sub>2</sub> -Sat	%

## 2.6.3. Hämatologie und Sauerstofftransportparameter

Tab. 6: Parameter des O<sub>2</sub>-Transportes

	Einheit
Hämatokrit (Hkt)	%
Hämoglobin (gesamt) (tHb)	g·dl <sup>-1</sup>
Hämoglobin (plasmatisch gelöst) (fHb)	g·dl <sup>-1</sup>
Arterieller Sauerstoffgehalt, A. femoralis (CaO <sub>2</sub> )	ml·dl <sup>-1</sup>
Venöser Sauerstoffgehalt, V. portae, V. poplitea, V. cava inf. (CvO <sub>2</sub> )	ml·dl <sup>-1</sup>
Gemischt-venöser Sauerstoffgehalt, A. pulmonalis(CvO <sub>2</sub> )	ml·dl <sup>-1</sup>
Systemische arteriovenöse O <sub>2</sub> -Differenz (avDO <sub>2</sub> gesamt)*	ml·dl <sup>-1</sup>
Zentrale arteriovenöse O <sub>2</sub> -Differenz (avDO <sub>2</sub> Leber)*	ml·dl <sup>-1</sup>
Periphere arteriovenöse O <sub>2</sub> -Differenz (avDO <sub>2</sub> Muskel)*	ml·dl <sup>-1</sup>
Systemisches Sauerstoffangebot (DO <sub>2</sub> gesamt)*	ml·min <sup>-1</sup>
Zentrales Sauerstoffangebot (DO <sub>2</sub> Leber)*	ml·min <sup>-1</sup>
Peripheres Sauerstoffangebot (DO <sub>2</sub> Muskel)*	ml·min <sup>-1</sup>
Systemischer Sauerstoffverbrauch (VO <sub>2</sub> gesamt)*	ml·min <sup>-1</sup>
Zentraler Sauerstoffverbrauch (VO <sub>2</sub> Leber)*	ml·min <sup>-1</sup>
Peripherer Sauerstoffverbrauch (VO <sub>2</sub> Muskel)*	ml·min <sup>-1</sup>
Systemische Sauerstoffextraktionsrate (O <sub>2</sub> Extr. gesamt)*	%
Zentrale Sauerstoffextraktionsrate (O <sub>2</sub> Extr. Leber)*	%
periphere Sauerstoffextraktionsrate (O <sub>2</sub> Extr. Muskel)*	%

\*=errechnete Parameter

Heparinisiertes Blut wurde in eine Kapillare aufgezogen und fünf Minuten bei 10000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Biofuge 17RS, Heraeus Sepatech). Der Anteil an zellulären Bestandteilen, der **Hämatokrit (Hkt)**, wurde an einer Skala in % abgelesen und dokumentiert.

Die Bestimmung der **Gesamt-Hämoglobin-Konzentration (tHb)** erfolgte mittels der arteriellen heparinisierten Blutprobe photometrisch im Oxymeter OSM 3 (Radiometer, Copenhagen).

Zur Messung des **plasmatisch gelösten freien Hämoglobins (fHb)** wurden zunächst 2ml Blut aus der A. femoralis dex. in eine mit Ethylendiamin-Tetraessigsäure (EDTA) angereicherte Spritze abgezogen, durch Kippen mit dem Zusatz vermischt und anschließend 5 Minuten bei 5000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Labofuge A, Heraeus). Die Konzentration des plasmatisch gelösten Hämoglobins wurde dann mittels Oxymeter photometrisch aus dem Überstand bestimmt.

Der **Sauerstoffgehalt (CO<sub>2</sub>)** wurde aus einem arteriellen (A. femoralis), einem gemischt-venösen (A. pulmonalis) und den venösen Gefäßen (V. portae, V. poplitea und V. cava) mittels LEX-O<sub>2</sub>-CON (Lexington Instruments, USA) gemessen. Es wurden die gleichen Blutproben, die zur Blutgasanalyse und zur Oxymetrie verwendet wurden benutzt. 20µl des mit Heparin versetzten Blutes wurden mit einer speziellen Spritze mit µl-Skalierung abgezogen und in die O<sub>2</sub>-spezifische Messzelle gespritzt. Mit dieser ist es möglich den Sauerstoffgehalt im Blut direkt zu bestimmen. Bei der Methode wird der in der Blutprobe vorhandene Sauerstoff durch ein Gemisch an Gasen (97% N<sub>2</sub>, 2% H<sub>2</sub> und 1% CO) aus dem Blut ausgetrieben und an einer galvanischen Messzelle vorbeigeleitet. An dieser wird der Sauerstoff oxidiert ( $O_2 \rightarrow 2 O^{2-} + 4e^-$ ), so dass für jedes O<sub>2</sub>-Molekül vier Elektronen entstehen, die einen Stromfluss erzeugen. Die O<sub>2</sub>-Konzentration ist damit proportional zum Stromfluss.

Die Berechnung der **arteriovenösen Sauerstoffdifferenz (avDO<sub>2</sub>)** erfolgte durch Subtraktion des venösen Sauerstoffgehaltes (C<sub>v</sub>O<sub>2</sub>) vom arteriellen Sauerstoffgehalt (C<sub>a</sub>O<sub>2</sub>). Es wurde die periphere (avDO<sub>2</sub> Muskel), die zentrale (avDO<sub>2</sub> Leber) als auch die systemische arteriovenöse Differenz (avDO<sub>2</sub> gesamt) errechnet.

$$\text{avDO}_2 \text{ gesamt} = C_a\text{O}_2 \text{ (A. fem.)} - C_v\text{O}_2 \text{ (A. pulm.)}$$

$$\text{avDO}_2 \text{ Muskel} = C_a\text{O}_2 \text{ (A. fem.)} - C_v\text{O}_2 \text{ (V. popl.)}$$

Es ist näherungsweise davon auszugehen, dass die Blutzufuhr zur Leber zu einem Drittel arteriell ist und zu zwei Drittel aus der Pfortader kommt [16]. Die arteriovenöse Sauerstoffdifferenz der Leber wurde wie folgt berechnet:

$$avDO_2 \text{ Leber} = (1/3 \text{ art.-}O_2) + (2/3 \text{ port.-}O_2) - (C_vO_2)$$

Das **Sauerstoffangebot (DO<sub>2</sub>)** ist das Produkt aus Herzzeitvolumen (HZV) bzw. arterieller Blutflussgeschwindigkeit (Flow) und arteriellem Sauerstoffgehalt (C<sub>a</sub>O<sub>2</sub>). Es wurden Sauerstoffangebot im Gesamtorganismus, im M. quadrizeps und in der Leber berechnet.

$$DO_2 \text{ gesamt} = CO \times C_aO_2 \text{ (A. fem.)}$$

$$DO_2 \text{ Muskel} = \text{Flow} \times C_aO_2 \text{ (A. fem.)}$$

$$DO_2 \text{ Leber} = (1/3 \text{ art.-}O_2) + (2/3 \text{ port.-}O_2) \times 1\frac{1}{2} \text{ Flow-port.}$$

Die Größe des **Sauerstoffverbrauches (VO<sub>2</sub>)** ergibt sich aus dem Produkt von Herzzeitvolumen (CO) bzw. arterieller Blutflussgeschwindigkeit (Flow) und der arteriovenösen Sauerstoffdifferenz (avDO<sub>2</sub>), wobei der Sauerstoffverbrauch des Gesamtorganismus, des M. quadrizeps und der Leber errechnet wurde.

$$VO_2 \text{ gesamt} = CO \times avDO_2 \text{ gesamt}$$

$$VO_2 \text{ Muskel} = \text{Flow (A. fem.)} \times avDO_2 \text{ Muskel}$$

$$VO_2 \text{ Leber} = avDO_2 \text{ Leber} \times 1\frac{1}{2} \text{ Flow-Port}$$

Die **Sauerstoffextraktionsrate (O<sub>2</sub>Extr.)** errechnet sich als Quotient aus Sauerstoffverbrauch (VO<sub>2</sub>) und Sauerstoffangebot (DO<sub>2</sub>).

$$O_2\text{Extr. Gesamt} = VO_2 \text{ ges.} \times DO_2 \text{ ges.}^{-1}$$

$$O_2\text{Extr. Muskel} = VO_2 \text{ Musk.} \times DO_2 \text{ Musk.}^{-1}$$

$$O_2\text{Extr. Leber} = VO_2 \text{ Leber} \times DO_2 \text{ Leber}^{-1}$$

#### 2.6.4. Elektrolyt-, Laktat- und Blutzuckerkonzentrationen

Aus den oben beschriebenen arteriellen Blutproben (aus der A. femoralis) wurden sowohl die Elektrolyte als auch die Laktat- und die Blutglukosekonzentration zu den jeweiligen Messpunkten bestimmt.

Tab. 7: Elektrolyt-, Laktat- und Blutzuckerkonzentrationen

Parameter	Einheit
Natrium (Na <sup>+</sup> )	mmol l <sup>-1</sup>
Kalium (K <sup>+</sup> )	mmol l <sup>-1</sup>
Ionisiertes Calcium (Ca <sup>++</sup> )	mmol l <sup>-1</sup>
Laktat	mmol l <sup>-1</sup>
Glukose	mmol l <sup>-1</sup>

Die Konzentrationen von **Natrium (Na<sup>+</sup>)**, **Kalium (K<sup>+</sup>)** und **ionisiertes Calcium (Ca<sup>++</sup>)** wurden im ABL 505 mit ionenselektiven Elektroden (Radiometer, Copenhagen, DK) bestimmt.

Die Konzentration von arteriellem **Laktat** und der **Blutglukose** wurden mit dem ABL 625 ( Radiometer, Copenhagen, DK) gemessen.

#### 2.6.5. Hämorheologie

Die Blutproben zur Bestimmung der hämorheologischen Parameter wurden aus dem in der A. femoralis plazierten Katheter entnommen. Die ersten 10ml des entzogenen Blutes wurden nicht zur Messung verwendet, um Rückstände aus dem Entnahmekatheter sowie Verdünnungseffekte zu vermeiden. Anschließend wurden

2 ml Blut in ein steriles Röhrchen abgezogen, mit dem Zusatz vorsichtig vermischt und stabilisiert. Die Proben wurden gekühlt gelagert und innerhalb der nächsten zwei Stunden ausgewertet.

Tab. 8: Rheologische Parameter

Parameter	Einheit
Kolloidosmotischer Druck (KOD)	mmHg
Plasmaviskosität ( $\eta$ )	mPa s

Der **kolloidosmotische Druck (KOD)** wurde nach dem Prinzip der Osmometrie mit dem Onkometer BMT 851 (Thomae, FRG) in der arteriellen Blutprobe zu den jeweiligen Messpunkten bestimmt. Das Verfahren der Osmometrie (Kryometrie) dient zur Bestimmung der Osmolalität bzw. Osmolarität von Lösungen und beruht auf dem Prinzip der Gefrierpunktniedrigung. Das Messprinzip beruht auf der Tatsache, dass Lösungen z.B. Blut einen tieferen Gefrierpunkt haben als reine Lösungsmittel. Die Gefrierpunktniedrigung einer Lösung verhält sich proportional zur Anzahl der gelösten Teilchen in einer Volumeneinheit. Der KOD ist eine biophysikalische Kenngröße, die sich aus der Konzentrationsdifferenz nicht membranpermeierender Makromoleküle getrennter Flüssigkeitskompartimente ableitet.

Die **Plasmaviskosität ( $\eta$ )** beschreibt die innere Reibung oder Zähigkeit des Blutplasmas. Sie wurde mit Hilfe des Kapillarschlauch-Plasmaviskosimeters Rheomat (Fresenius, Düsseldorf) bestimmt. Zur Plasmagewinnung wurde die mit ETDA stabilisierte arterielle Blutprobe 10 min. mit 3500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Labofuge A, Heraeus, FRG). 1ml des Plasmas wurde abpipettiert und für die Messung verwendet. Das Prinzip der Plasmaviskositätsmessung mit dem Kapillarrisosimeter basiert auf der gemessenen Ausflusszeit, die ein Plasmabolus benötigt, um eine definierte Strecke bei definiertem Druck zurückzulegen. Mit Hilfe des Hagen-Poiseuilleschen Gesetzes errechnete das Gerät aus der Messzeit die dynamische Viskosität und zeigte sie auf dem Display an.

#### 2.6.6. Der Sauerstoffpartialdruck im Gewebe

Die  $tpO_2$ -Messung im M. quadriceps erfolgte in unserer Untersuchung entsprechend den vorangegangenen Studien [157,160] nach Fleckenstein et al. (Eppendorf Gerätebau Sigma-  $pO_2$ -Histogramm/KIMOC, Bedienerhandbuch) [45-49] mit einer polarographischen Messsonde und dem  $pO_2$ -Histogramm (KIMOC 6650, Eppendorf, FRG).

### 2.6.6.1. Das polarographische Messverfahren

Bei der polarographischen  $pO_2$ -Messung wird eine konstante Polarisationsspannung zwischen einer Kathode und einer Anode angelegt. So wird ein elektrisches Spannungsfeld erzeugt. Beide Elektroden sind durch eine semipermeable Membran von einem sauerstoffhaltigen Messmedium getrennt. Alle zur Kathode diffundierenden  $O_2$ -Moleküle werden gemäß folgender Reaktionsgleichung reduziert:



Obige Gleichung führt dazu, dass der Sauerstoffpartialdruck an der Kathodenoberfläche gleich Null wird. Der Reduktionsstrom wird folglich allein von der Menge des nachdiffundierenden Sauerstoffes bestimmt. Vorausgesetzt, dass sowohl die Diffusionsbedingungen als auch die angelegte Polarisationsspannung konstant bleiben, ist die Anzahl der pro Zeiteinheit an der Elektrodenoberfläche reduzierten Sauerstoffmoleküle proportional zum gemessenen Reduktionsstrom. Anhand der Größe des Reduktionsstromes kann auf die Konzentration der  $O_2$ -Moleküle und damit auf den Sauerstoffpartialdruck im Messmedium geschlossen werden [55].

### 2.6.6.2. Messung des peripheren Sauerstoffpartialdruckes

Die polarographische Feinnadelsonde des  $tpO_2$ -Histographen (KIMOC 6650, Eppendorf) wird von einem abbruchsicheren Edelmantel umgeben, dessen Spitze lanzettenförmig angeschliffen ist. Der Außendurchmesser der Sonde beträgt ca. 280  $\mu m$ . Im Anschliff der Sonde liegt die membranbedeckte Gold-Mikrokathode, deren Durchmesser ca. 12,5  $\mu m$  beträgt. Die Messfläche ist von einer teflonähnlichen, sauerstoffselektiven Membran überzogen. Die Sauerstoffpartialdruckmessung erfolgt nach Anlegen einer Polarisationsspannung zwischen Gold-Mikrokathode und der Ag/AgCl-Gegenelektrode, die in der Nähe der Einstichstelle in der Haut plaziert wird. Der im Gewebe gemessene Strom ist proportional zum gemessenen Sauerstoffpartialdruck an der Sondenspitze.

Die Feinnadelsonde ist in der Halterung des Stativarms fixiert. In einem Winkel von 20-30° zur Oberfläche des M. quadrizeps wurde die Sondenspitze positioniert

und in den freipräparierten Muskel eingeführt. Etwa 10 cm neben der Einstichstelle wurde die Referenzelektrode (Ag/AgCl-Anode) subkutan plziert. Im sog. Pilgerschrittverfahren wird die Sonde mikroprozessorgesteuert durch das Gewebe geführt. Ein Pilgerschritt besteht aus einer Vorwärtsbewegung von 0,7 mm und einer Rückwärtsbewegung von 0,3 mm. Dieses Verfahren dient der Gewebeentlastung. Die Gesamteinstichtiefe betrug 20 bis 30 mm. Pro Einstichkanal wurden 20 Einzelmessungen durchgeführt. Danach wurde die Sondenspitze automatisch in die Ausgangsposition zurückgezogen und ein neuer Messkanal durch geringe Winkeländerung oder durch eine Drehung der Sonde und einen 2mm langen Vorschub aufgesucht. Insgesamt wurden 200 tpO<sub>2</sub>-Einzelwerte innerhalb 4-6 min. in einem kegelförmigen Gewebeareal (2-3 cm<sup>3</sup>) erfasst. Dadurch wird ein sehr genaues O<sub>2</sub>-Histogramm erstellt, welches sowohl den Sauerstoffpartialdruck des Gewebes nahe als auch entfernt von Kapillaren beinhaltet. Bei diesem Messverfahren kann erfasst werden, in welchem Bezirk eines Gewebes niedrigere tpO<sub>2</sub>-Werte vorliegen (Bestimmung der 10%-Perzentilen). Sprunghafte Anstiege der Messwerte wurden als akzidentelle Punktion von Arteriolen oder Kapillaren betrachtet. In diesem Fall wurde die Messung gestoppt, die letzten 50 Messungen gelöscht, die Sondenposition korrigiert und die Messung nach Positionierung der Sonde fortgeführt. Dadurch wurden Überschätzungen der Sauerstoffsättigung durch intraarterielle oder kapilläre Messungen vermieden.

Um vergleichbare Werte zu erhalten, muss die Sonde nach jeder Messreihe neu kalibriert werden. Dazu wurde die Sonde in eine sterile Eichkammer eingebracht, die mit ca. 4 ml physiologischer Kochsalzlösung (0,9% NaCl; pH 7,8) gefüllt ist und wechselweise von gereinigter Raumluft (21% O<sub>2</sub>) und 100% Stickstoff (0% O<sub>2</sub>) durchströmt wurde. Unter Berücksichtigung von Gewebetemperatur und Luftdruck ergeben sich zwei Punkte, die durch Interpolation eine Eichgerade darstellen lassen. Aus dem Eichdiagramm kann die Eignung der Sonde für die nächste Messung ermittelt werden. Bei inakzeptablen Driftwerten wurde eine Nachkalibrierung durchgeführt.

Einsatzfähigkeit der Sonde besteht wenn folgende Parameter erfüllt sind:

- bei Raumluft gemessene Stromstärken liegen unter 2nA

- das Verhältnis der Messwerte des Stroms bei reinem Stickstoff zu Werten bei Raumluft soll unter 10% liegen
- die Driftwerte sollen kleiner als  $0,2\% \text{ min}^{-1}$  sein
- negative Messwerte dürfen nicht auftreten

### 2.6.6.3. Messung des zentralen Sauerstoffpartialdruckes

Die Messung des zentralen  $tpO_2$  erfolgte in der Leber mittels der Licox Silikonkatheterelektrode (Licox Medical Systems, GMS, Kiel). Da sich die Organe während des Versuches durch die Beatmung bewegen konnte hier die  $tpO_2$ -Messsonde nach Fleckenstein nicht angewandt werden. Die Bestimmung des Sauerstoffpartialdruckes erfolgte hier auch nach dem polarographischem Messverfahren (s.o.). Die im Versuch benutzte neueste Version des Licox Systems erübrigt eine Kalibrierung des Gerätes, da die Katheter bereits vom Hersteller geeicht sind und die Eichwerte über eine spezielle Chipkarte dem Monitor für jeden eingesetzten Katheter während der Messung separat mitgeteilt werden. Es wurde ein 3mm dicker flexibler Silikon-Katheter in das Lebergewebe eingebracht und dort für die Dauer der Messung belassen. Der Sauerstoff aus dem Gewebe diffundiert aus einem Bereich von ca. 1,2 cm in das Lumen des Katheters, in dem dann der  $tpO_2$  als Mittelwert gemessen wird. Wie bei der Messsonde nach Fleckenstein wurden über einen Zeitraum von 10 min zu jedem Messpunkt 200 Einzelmessungen erhoben. Die daraus gewonnenen Histogramme repräsentieren aber nicht eine Varianz von Werten entsprechend der Verteilung der  $tpO_2$ -Werte im Gewebe, sondern die Varianz der  $tpO_2$ -Werte an einem umschriebenen Messpunkt über den Messzeitraum von 10 min.

Deshalb entsprechen die 10%-Perzentilen der  $tpO_2$ -Werte der Leber nicht den niedrigsten Werten im Gewebe, sondern den niedrigsten Werten im 10minütigen Messintervall. Dennoch besitzen beide Messverfahren eine ausreichend hohe Messgenauigkeit. Sie repräsentieren den  $tpO_2$  von jeweils 1,2-2,5cm<sup>3</sup> Gewebe und sind miteinander vergleichbar. Zu den einzelnen Messpunkten wurden über einen Zeitraum von 10 min 200 Einzelmessungen erfasst (alle 3 sec eine Messung) und über eine serielle Schnittstelle vom Licox Monitor in einen angeschlossenen Computer direkt übertragen.

## 2.7. tpO<sub>2</sub>-Säulenhistogramme

Die Darstellung der lokalen Sauerstoffpartialdrücke erfolgte in Säulenhistogrammen, weil einzelne Messwerte keine Aussage über die Gewebeoxygenierung zulassen. Die tpO<sub>2</sub>-Histogramme repräsentieren die prozentuale Verteilung der lokalen Sauerstoffpartialdrücke im untersuchten Gewebsareal und ermöglichen qualitative und quantitative Aussagen über die lokale Sauerstoffversorgung. Die Höhe des lokalen Sauerstoffpartialdruckes, die Konfiguration der tpO<sub>2</sub>-Histogramme sowie die relative Häufigkeit niedriger tpO<sub>2</sub>-Werte gelten als Beurteilungskriterien der Sauerstoffversorgung eines Gewebes. In einem tpO<sub>2</sub>-Säulenhistogramm findet man auf der Abszisse die pO<sub>2</sub>-Klassen und auf der Ordinate die relative Häufigkeiten in Prozent. Ein normal konfiguriertes Histogramm ist annähernd glockenförmig mit einem Maximalwert im Bereich des Mittelwertes und einem minimalen Anteil in den Klassen nahe Null.

## 2.8. Statistik

Die Verarbeitung der ermittelten Daten erfolgte durch manuelle zweimalige Eingabe in ein Datenverarbeitungsprogramm eines PC (F&A, Symantic) oder durch direkte Überspielung der Daten vom Monitor zum PC. Anschließend folgte die Plausibilitätsprüfung der doppelt eingegebenen Daten und bei Abweichungen die Korrektur entsprechender Werte mit Hilfe der primären Versuchsprotokolle. Die statistische Analyse zwischen den Gruppen erfolgte durch Varianzanalyse (ANOVA) und den Scheffe F-Test. Messpunkte innerhalb der Gruppen im Verlauf wurden mit ANOVA für wiederholte Messungen und Scheffe F-Test analysiert. Der Mann-Whitney U-Test und der Wilcoxon-Test wurden für die Vergleiche der  $tpO_2$ -Werte angewandt, da diese Daten nicht normal verteilt sind. Statistisch signifikante Unterschiede wurde bei einem  $p < 0,05$  angenommen. Die Darstellung der Daten erfolgt in den Tabellen und Graphiken als Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD).

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Hämodynamik

Der PCWP, ein Parameter für die Isovolämie, wurde in allen Gruppen über den gesamten Versuchszeitraum durch gezielte Infusionstherapie bei Werten um 11 mmHg konstant gehalten.

Der mittlere pulmalarterielle Druck (MPAD) sowie der pulmonale Gefäßwiderstand (PVR) waren während Hämodilution und bei Applikation von HBOC-201 zwischen den Gruppen und zu den Ausgangswerten nicht unterschiedlich. Auch die Herzfrequenz (HF) veränderte sich über den gesamten Versuchsablauf in keinem signifikantem Maße und es konnten keine Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen festgestellt werden.

Der Zentralvenöse Druck (ZVD) war lediglich einmalig nach Hämodilution zum zweiten Messpunkt in der HES-Gruppe signifikant höher als in der HBOC-201-Gruppe, wies aber im Verlauf und im Vergleich zur Ringer-Gruppe keine Veränderungen auf (Tab. 9).

Der mittlere arterielle Blutdruck (MAD) fiel nach Hämodilution mit Ringerlösung in der HBOC-201-Gruppe sowie in der HES-Gruppe 60 und 100 min nach Hämodilution (MP3 und MP4) im Vergleich zur Ringer-Gruppe ab. Nach Applikation von HBOC-201 in einer Dosierung von 0,6g/kg KG stieg der MAD wieder an und war dann vergleichbar mit dem MAD der Ringer-Gruppe, aber höher als in der HES-Gruppe (Tab. 9).

Der Herzindex (HI) stieg nach Hämodilution nur in der HBOC-201-Gruppe an, während er in den anderen Gruppen über den Versuchszeitraum konstant war (Tab. 10).

Das Herzzeitvolumen (HZV) stieg nach Hämodilution nur in der HES-Gruppe an, blieb über den gesamten Versuchsablauf erhöht und lag auch nach 60 min

deutlich höher als in der HBOC-201-Gruppe. Nach HBOC-201-Applikation wurde eine Abnahme des HZV beobachtet, die aber im Vergleich zu Ausgangswerten nicht signifikant war. Die Ringer-Gruppe zeigte im Verlauf keine Schwankungen des HZV (Tab. 10).

Das Schlagvolumen (SV) nahm unter Hämodilution lediglich in der HES-Gruppe zu und lag zu den Messpunkten 3 und 4 deutlich höher als in der HBOC-201-Gruppe (Tab. 10).

Der systemische Gefäßwiderstand (SVR) blieb in der Ringer-Gruppe konstant und lag nach Hämodilution in der HES-Gruppe niedriger. Nach HBOC-201-Applikation stieg der SVR wieder an und war nach 60 und 100 min höher als in der HES-Gruppe, unterschied sich aber nicht von der Ringer-Gruppe (Tab. 10).

Tabelle 9: Hämodynamik

	<b>HF</b> (b·min <sup>-1</sup> )	<b>MAD</b> (mm Hg)	<b>MPAD</b> (mm Hg)	<b>PCWP</b> (mm Hg)	<b>ZVD</b> (mm Hg)
<b>Ringer-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	75±24	141±23	21±5	12±3	7,6±3,4
20 min	76±27	140±28	20±4	12±3	6,4±4,0
60 min	75±27	141±25	20±5	12±4	6,3±3,5
100min	79±30	139±27	19±5	10±3	5,4±2,9
<b>HES-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	64±12	123±14	18±6	11±4	7,8±2,0
Hämodilution	78±21	124±21	19±3	13±1	9,2±2,1
60 min	73±12	115±11 *	17±3	11±2	7,2±1,5
100 min	72±11	109±14 *	16±4	10±3	6,1±1,0
<b>HBOC-201-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	89±21 §	133±25	16±4	10±6	4,7±3,3
Hämodilution	95±18	107±22 *	16±6	10±5	5,4±3,1
+HBOC-201	80±25	140±20 §#	17±8	11±5	6,4±2,9
100 min	74±21	127±19	19±6	11±4	6,6±3,9

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe.

§=p<0,05 im Vergleich zur HES-Gruppe

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution.

MW±Standardabweichung

Tabelle 10: Hämodynamik

	<b>HI</b> (l·min <sup>-1</sup> ·m <sup>-2</sup> )	<b>HZV</b> (l·min <sup>-1</sup> )	<b>SV</b> (ml·b <sup>-1</sup> )	<b>SVR</b> (dyne·s <sup>-1</sup> ·cm <sup>-5</sup> )	<b>PVR</b> (dyne·s <sup>-1</sup> ·cm <sup>-5</sup> )
<b>Ringer-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	2,8±0,7	2,9±0,8	41±14	3808±703	256±167
20 min	3,0±0,6	3,3±0,9	45±14	3485±568	227±135
60 min	3,2±0,8	3,4±1,0	47±13	3096±698	229±146
100 min	3,3±0,8	3,6±1,25	46±11	3177±572	242±145
<b>HES-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	2,2±0,4	2,5±0,5	40±8	3794±565	224±164
Hämodilution	3,5±0,4	4,1±1,1 †	54±12 †	2278±591 *†	97±69
60 min	3,3±1,2	4,1±0,8 †	57±13 †	2274±714 *†	93±70
100 min	3,2±1,0	3,9±0,7 †	55±6 †	2103±318 *†	141±99
<b>HBOC-201-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	3,2±1,0	3,5±0,8 §	40±10	2966±995	174±76
Hämodilution	4,0±1,3 †	4,3±1,2	47±12	1934±630 †*	114±50
+HBOC-201	2,9±0,9	3,1±0,6 §#	40±9 §	3644±720 §#	171±80
100 min	3,0±0,9	3,3±0,7	45±8 §	2995±875 §	206±90

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

§=p<0,05 im Vergleich zur HES-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution

MW±Standardabweichung

### 3.2. Blutfluss in der A. poplitea und V. portae sowie Rheologie

Der Blutfluss in der A. poplitea sowie in der V. portae (Flow popl. und Flow port.) war lediglich in der HES-Gruppe nach 100 min im Vergleich zu den Ausgangswerten erhöht, während er in der Ringer-Gruppe und in der HBOC-201-Gruppe konstant blieb und sich auch zwischen den Gruppen nicht unterschied (Tab. 11).

Der kolloidosmotische Druck (KOD) stieg nach Hämodilution in der HES-Gruppe an, während er in der HBOC-201-Gruppe abfiel. Er blieb auch nach HBOC-201-Applikation signifikant unter den Werten der HES-Gruppe. In der Ringer-Gruppe war der KOD nach 60 min ebenfalls unter den Ausgangswert gesunken (Tab. 11).

Die Plasmaviskosität zeigte keinen Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen und veränderte sich nicht über den gesamten Versuchszeitraum (Tab. 11).

Tabelle 11: Blutfluss (A. poplitea und V. portae) sowie Rheologie

	<b>Flow A. popl.</b> (ml·min <sup>-1</sup> )	<b>Flow V. port.</b> (ml·min <sup>-1</sup> )	<b>KOD</b> (mm Hg)	<b>Viskosität</b> (mPa·s <sup>-1</sup> )
<b>Ringer-Gruppe</b>				
Ausgangswerte	38±13	111±62	9,2±1,2	0,7±1,3
20 min	49±20	94±49	8,9±0,8	0,74±0,24
60 min	50±20	96±63	7,8±1,1 †	0,68±0,12
100 min	57±25	90±37	8,4±0,8	0,67±0,14
<b>HES-Gruppe</b>				
Ausgangswerte	41±21	67±37	10,6±2,0	0,72±0,16
Hämodilution	69±23	69±37	19,0±4,7 *†	0,82±0,11
60 min	70±28	67±35	15,3±3,5 * †	0,75±0,11
100 min	73±26 †	76±33	12,5±2,9 *	0,74±0,13
<b>HBOC-201-Gruppe</b>				
Ausgangswerte	43±27	65±22	10,6±4,4	0,75±0,06
Hämodilution	75±66	99±45	5,6±1,2 *†§	0,72±0,18
+HBOC-201	53±19	97±42	6,2±1,2 *†§	0,69±0,05
100 min	60±18	80±38	6,2±0,7 *†§	0,70±0,09

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

§=p<0,05 im Vergleich zur HES-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution

MW±Standardabweichung

### 3.3. Arterielle Blutgase und arterielle Oxymetrie

Der arterielle pO<sub>2</sub> und der arterielle Base excess (BE) waren in allen drei Gruppen gleich und unterlagen während des gesamten Versuches keinen signifikanten Veränderungen (Tab. 12).

Der arterielle pCO<sub>2</sub> war nach 60 min in der HES-Gruppe im Vergleich zu den Ausgangswerten etwas erniedrigt und in der HBOC-201-Gruppe stieg er nach Hämodilution im Vergleich zur Ringer-Gruppe an (Tab. 12).

Der arterielle pH-Wert fiel nach Hämodilution in der HBOC-201-Gruppe und war auch nach 20 min niedriger als in den beiden anderen Gruppen (Tab. 12).

Die arterielle Standardbikarbonatkonzentration (art. SBIC) veränderte sich nicht nach Hämodilution und HBOC-201-Applikation. Lediglich nach 100 min war sie in der HBOC-201-Gruppe niedriger als in den beiden anderen Gruppen (Tab. 12).

In keinem Fall hatten die vor der Verabreichung von HBOC-201 untersuchten Chargen der Hämoglobinlösungen einen Anteil von mehr als 5 % Methämoglobin (Met-Hb) am Gesamthämoglobin. Met-Hb konnte im Plasma aller Tiere gemessen werden und lag in der HES-Gruppe nach 100 min signifikant höher als in der Ringer-Gruppe. In der HBOC-201-Gruppe stieg das Met-Hb nach Gabe von HBOC-201 an und lag zu diesem Zeitpunkt höher als in der Ringer- und HES-Gruppe (Tab. 13).

Die fraktionelle Sauerstoffsättigung im arteriellen Blut (Art. Hb-O<sub>2</sub>) blieb in allen Gruppen zu allen Zeitpunkten konstant und unterschied sich auch nicht in den einzelnen Gruppen (Tab. 13).

Tabelle 12: Arterielle Blutgase

	Art. PO <sub>2</sub> (mmHg)	Art. PCO <sub>2</sub> (mmHg)	pH	Art. BE	Art. SBIC
Ringer-Gruppe					
Ausgangswerte	147±27	37±3	7,36±0,07	-3,9±4,4	21,5±3,8
20 min	148±28	36±3	7,35±0,03	-5,1±2,1	20,5±1,6
60 min	149±33	38±3	7,34±0,06	-5,9±2,1	20,6±3,5
100 min	145±31	38±5	7,34±0,03	-4,7±1,8	20,6±1,4
HES-Gruppe					
Ausgangswerte	122±32	43±5	7,36±0,05	-1,2±5,7	23,4±4,6
Hämodilution	128±34	38±5	7,38±0,06	-2,0±3,7	23±3,1
60 min	141±32	37±2 †	7,37±0,05	-3,0±3,2	22,1±2,6
100 min	126±42	37±3	7,36±0,03	-4,5±2,0	20,8±1,6
HBOC-201-Gruppe					
Ausgangswerte	140±46	39±4	7,36±0,05	-2,9±5,7	22,2±4,9
Hämodilution	151±45	40±4 *	7,31±0,02*§†	-5,6±2,6	19,8±2,1
+HBOC-201	145±43	39±4	7,32±0,06	-5,3±4,6	20,0±3,9
100 min	145±46	39±4	7,30±0,04§	-6,0±4,7	18,0±1,2 *§

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

§=p<0,05 im Vergleich zur HES-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution

MW±Standardabweichung

Tabelle 13: Arterielle Oxymetrie

	Met-Hb (%)	Art. Hb-O <sub>2</sub> (%)
Ringer-Gruppe		
Ausgangswerte	0,17±0,08	97±1
20 min	0,14±0,05	97±1
60 min	0,21±0,07	97±1
100 min	0,19±0,07	97±1
HES-Gruppe		
Ausgangswerte	0,13±0,08	96±1
Hämodilution	0,20±0,11	97±1
60 min	0,17±0,05	98±1
100 min	0,35±0,08 *†	97±1
HBOC-201-Gruppe		
Ausgangswerte	0,23±0,09	94±8
Hämodilution	0,17±0,13	94±9
+HBOC-201	0,54±0,28 *†§#	91±7
100 min	0,46±0,35	92±6

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

§=p<0,05 im Vergleich zur HES-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution

MW±Standardabweichung

### 3.4. Hämatologie

Die Ausgangswerte für Hb, Hkt und f-Hb waren in allen drei Gruppen vergleichbar. Hb und Hkt blieben in der Ringer-Gruppe über den Versuchszeitraum konstant. In der HES-Gruppe fiel der Hb nach Hämodilution von 14,9±1,3 g/dl auf 7,8±1,0 g/dl und in der HBOC-201-Gruppe von 12,4±2,8 g/dl auf 7,4±1,0 g/dl. Der Hkt sank in den Gruppen jeweils von 47,3±4,3 % auf 27,7±2,7 % bzw. von 42,0±9,2 % auf 26,9±3,6 % (Tab. 6).

Freies plasmatisches Hämoglobin (f-Hb) wurde mit maximal 1,0±0,21 g/dl nur in der HBOC-Gruppe nach Transfusion des bovinen Hämoglobins gemessen. Der Anteil am Gesamthämoglobin betrug damit ca. 0,14% (Tab. 6).

Tabelle 14: Hämatologische Parameter

	<b>Hb</b> (g·dl <sup>-1</sup> )	<b>Hkt</b> (Vol.-%)	<b>f-Hb</b> (g·dl <sup>-1</sup> )
<b>Ringer-Gruppe</b>			
Ausgangswerte	14,5±1,5	46,6±4,9	0,0±0,0
20 min	14,3±1,5	45,1±5,3	0,0±0,0
60 min	13,8±1,3	45,1±4,9	0,0±0,0
100 min	14,0±1,1	45,7±4,1	0,0±0,0
<b>HES-Gruppe</b>			
Ausgangswerte	14,9±1,3	47,3±4,3	0,0±0,0
Hämodilution	7,8±1,0 * †	27,7±2,7 * †	0,0±0,0
60 min	7,6±0,8 * †	27,5±3,6 * †	0,0±0,0
100 min	7,2±0,3 * †	25,3±2,1 * †	0,0±0,0
<b>HBOC-201-Gruppe</b>			
Ausgangswerte	12,4±2,8	42,0±9,2	0,0±0,0
Hämodilution	7,4±1,0 * †	26,9±3,6 * †	0,0±0,0
+ HBOC-201	7,7±1,6 * †	25,4±4,4 * †	1,00±0,21 * § † #
100 min	7,6±1,2 * †	24,0±3,8 * †	0,90±0,23 * § † #

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

§=p<0,05 im Vergleich zur HES-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution

MW±Standardabweichung

### 3.5. Parameter des systemischen Sauerstofftransportes

Zu allen Messpunkten war der arterielle Sauerstoffpartialdruck (pO<sub>2</sub>), sowie der systemische Sauerstoffverbrauch (VO<sub>2</sub> ges.) konstant. Beide Parameter zeigten auch zwischen den Gruppen keine Unterschiede. In der Ringer-Gruppe unterlag die arteriovenöse Sauerstoffdifferenz (av-DO<sub>2</sub>), das Sauerstoffangebot (DO<sub>2</sub>), der arterielle (CaO<sub>2</sub> fem.) und pulmonale (CvO<sub>2</sub> pulm.) Sauerstoffgehalt, der pulmonale Sauerstoffpartialdruck (pO<sub>2</sub> pulm.), der Sauerstoffverbrauch (VO<sub>2</sub>) sowie die Sauerstoffextraktion (O<sub>2</sub>-Extr. ges.) keiner Veränderung, während in der HES- und HBOC-201-Gruppe der arterielle und pulmonale Sauerstoffgehalt (CaO<sub>2</sub> fem. bzw. CvO<sub>2</sub> pulm.) sowie die arteriovenöse Sauerstoffdifferenz (avDO<sub>2</sub>) nach Hämodilution abfielen und unter den Werten der Ringer-Gruppe lagen. Der arterielle und pulmonale Sauerstoffgehalt (CaO<sub>2</sub> fem. bzw. CvO<sub>2</sub> pulm.) blieben auch zu den beiden letzten Messpunkten unter den Ausgangswerten und niedriger als in der Ringer-Gruppe. Der pulmonale Sauerstoffpartialdruck (pO<sub>2</sub>

pulm.) war in der HBOC-201-Gruppe nach HBOC-201 Applikation und nach 100 min niedriger als in der Ringer-Gruppe, unterschied sich aber nicht von der HES-Gruppe. Das Sauerstoffangebot ( $DO_2$ ) lag in der HBOC-201-Gruppe nach Hämodilution zu jedem Zeitpunkt unter dem Ausgangswert und unter den Werten der Ringer-Gruppe. Nach HBOC-201 Applikation fiel in dieser Gruppe das Sauerstoffangebot ( $DO_2$ ) weiter ab und blieb niedriger als in der HES-Gruppe (Tab. 15).

Die systemische Sauerstoffextraktion ( $O_2$ -Extr. ges.) lag zu Beginn des Versuches in allen Gruppen bei ca. 25 % und stieg in der HES- und HBOC-201-Gruppe nach Hämodilution auf ca. 35 % an. Nach HBOC-201-Infusion stieg die Extraktion in der HBOC-201-Gruppe weiter an und lag nach 100 min höher als in der Ringer- und der HES-Gruppe (Tab. 15).

Tabelle 15: Parameter des Sauerstofftransportes für den Gesamt-Organismus

	CaO <sub>2</sub> fem. (ml·dl <sup>-1</sup> )	CvO <sub>2</sub> pulm. (ml·dl <sup>-1</sup> )	Av-DO <sub>2</sub> (ml·dl <sup>-1</sup> )	DO <sub>2</sub> (ml·dl <sup>-1</sup> )	VO <sub>2</sub> (ml·dl <sup>-1</sup> )	O <sub>2</sub> -Extr. ges. (%)
<b>Ringer-Gruppe</b>						
Ausgangswerte	21,2±2,2	15,7±2,5	5,5±0,8	612±172	155±30	26,1±4,7
20 min	20,5±1,9	15,9±2,3	4,6±0,7	677±241	150±46	22,7±4,8
60 min	20,1±2,1	15,3±2,4	4,8±1,2	689±229	156±36	24,2±6,7
100 min	20,2±1,4	14,8±1,5	5,5±1,0	728±271	194±70	27,0±4,5
<b>HES-Gruppe</b>						
Ausgangswerte	22,0±2,2	15,9±1,3	6,1±1,4	554±90	152±27	27,7±4,6
Hämodilution	13,0±3,2* †	9,8±3,4*†	3,2±0,5 *†	518±108	130±44	25,8±8,6
60 min	11,9±1,9* †	7,6±0,8*†	4,4±1,6	487±122	176±70	36,0±8,3 *
100 min	10,5±1,1* †	6,9±1,4*†	3,5±1,1 *†	412±85 *†	136±41	34,0±10,2
<b>HBOC-201-Gruppe</b>						
Ausgangswerte	18,2±3,9	13,8±4,2	4,4±0,8*§	611±102	153±45	25,6±8,1
Hämodilution	10,7±1,6* †	7,2±1,3*†	3,5±0,7 *†	458±112*†	151±42	33,1±5,9 *
+HBOC-201	10,4±2,3* †	6,4±2,3*†	4,0±0,7	320±87 *†§#	123±29	40,0±10,8 *†
100 min	10,4±2,1* †	5,7±1,1*†	4,7±1,3	332±63 *†	150±6	45,1±5,2§*†

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

§=p<0,05 im Vergleich zur HES-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution

MW±Standardabweichung

### 3.6. Parameter des Sauerstofftransportes der Leber

In der Ringer-Gruppe waren mit Ausnahme des Sauerstoffpartialdruckes in der V.portae (pO<sub>2</sub> port.) und des Sauerstoffgehaltes der V.portae (CvO<sub>2</sub> port.) alle Parameter über den Versuchszeitraum konstant. Diese beiden Parameter fielen nach 100 min im Vergleich zu den Ausgangswerten ab. Der Blutfluss in der V. portae (flow-port.) veränderte sich über den Versuchszeitraum in keiner Gruppe. Die Gruppen zeigten in diesem Parameter auch keinen Unterschied untereinander. Der Sauerstoffgehalt der V. portae und der V. cava (CvO<sub>2</sub> port. bzw. CvO<sub>2</sub> cava) fielen in der HES- und in der HBOC-201-Gruppe nach

Hämodilution unter die Ausgangswerte ab. Nur in der HBOC-201-Gruppe fiel der Sauerstoffpartialdruck der V.portae nach Hämodilution mit Ringerlösung ab. In der V.cava lag der Sauerstoffpartialdruck in der HES- und HBOC-201-Gruppe nach Hämodilution unter dem der Ringer-Gruppe (Tab. 16). Die arteriovenöse Sauerstoffdifferenz der Leber ( $avDO_2$  Leb.) fiel lediglich in der HES-Gruppe nach Hämodilution signifikant ab und war in der HBOC-201-Gruppe nach HBOC-201-Applikation deutlich größer als in der HES-Gruppe (Tab. 17). Das Sauerstoffangebot der Leber ( $DO_2$  Leb.) veränderte sich im Verlauf in keiner der Gruppen signifikant, lag in der HES- und in der HBOC-201-Gruppe nach Hämodilution aber deutlich niedriger als in der Ringer-Gruppe. Der Sauerstoffverbrauch der Leber war zu allen Messpunkten konstant und es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Tab. 17).

In der Leber veränderte sich die Sauerstoffextraktion nicht signifikant nach Hämodilution, war in der HES-Gruppe 40 min nach Hämodilution und in der HBOC-201-Gruppe nach Transfusion von 0,6 mg/kg KG HBOC-201 aber größer als in der Ringer-Gruppe. In der HBOC-201-Gruppe stieg die Sauerstoffextraktion der Leber 40 min nach HBOC-201 Applikation an und lag über der HES-Gruppe.

Tabelle 16: Parameter des Sauerstofftransportes der Leber

	<b>PO<sub>2</sub> port.</b> (mmHg)	<b>PO<sub>2</sub> cava</b> (mmHg)	<b>CvO<sub>2</sub> port.</b> (ml·dl <sup>-1</sup> )	<b>CvO<sub>2</sub> cava</b> (ml·dl <sup>-1</sup> )
Ringer-Gruppe				
Ausgangswerte	64±8	55±5	18,9±1,6	17,8±2,0
20 min	61±7	53±7	18,4±1,7	17,1±2,2
60 min	59±11	58±10	17,8±2,3	16,5±2,7
100 min	53±4†	52±5	16,7±1,9†	15,9±2,4
HES-Gruppe				
Ausgangswerte	68±14	51±5	18,7±3,0	16,4±2,7
Hämodilution	62±9	48±3	10,7±1,9	9,7±1,5*†
60 min	68±16	44±6*	10,0±0,8	8,3±1,3*†
100 min	55±16	44±5*	8,8±1,5*†	7,4±1,6*†
HBOC-201-Gruppe				
Ausgangswerte	62±9	49±9	16,3±4,1	14,1±4,7
Hämodilution	51±7*†§	50±3	8,9±1,9*†	8,1±1,6*†
+HBOC-201	49±13§	42±8*	8,6±2,3*†	7,1±2,3*†
100 min	52±12	42±6*#	7,9±1,4*†	5,7±1,3*†

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

§=p<0,05 im Vergleich zur HES-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution

MW±Standardabweichung

Tabelle 17: Parameter des Sauerstofftransportes der Leber

	avDO <sub>2</sub> Leb. (ml·dl <sup>-1</sup> )	DO <sub>2</sub> Leb. (ml·min <sup>-1</sup> )	VO <sub>2</sub> Leb. (ml·min <sup>-1</sup> )	O <sub>2</sub> -Extr. Leb. (%)	Flow-port. (ml·min <sup>-1</sup> )
<b>Ringer-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	1,8±1,6	33,2±19,4	3,8±5,8	9,2±7,5	111±62
20 min	2,0±0,7	27,0±13,9	2,7±1,3	10,9±3,9	94±49
60 min	2,0±0,8	26,7±17,6	2,7±1,5	11,2±5,6	96±63
100 min	2,0±1,2	23,9±8,6	3,1±3,0	11,6±7,2	90±37
<b>HES-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	3,4±1,6	20,2±12,5	3,5±2,8	17,3±8,0	67±37
Hämodilution	1,8±0,8 †	11,5±5,7*	1,7±0,8	14,7±3,8	69±37
60 min	2,4±0,9	10,5±5,4	2,5±1,9	22,4±8,8*	67±35
100 min	2,0±0,8	10,3±3,7 *	2,2±1,3	21,8±9,0*	76±33
<b>HBOC-201-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	2,9±2,8	16,9±8,5	2,9±3,0	17,5±14,0	65±22
Hämodilution	1,3±0,8	14,7±7,7	2,0±1,4	13,8±6,6	99±45
+HBOC-201	2,2±1,2	13,7±7,9	3,3±2,9	24,1±12,0*	97±42
100 min	3,1±0,6 §	10,8±5,7 *	3,8±2,2	35,4±5,9§*†	80±38

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

§=p<0,05 im Vergleich zur HES-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution

MW±Standardabweichung

### 3.7. Parameter des Sauerstofftransportes des Skelettmuskels

In der V. poplitea unterlagen der Sauerstoffpartialdruck (pO<sub>2</sub> pol.) und -gehalt (CvO<sub>2</sub> popl.) in der Ringer-Gruppe keinen Veränderungen, fielen im Vergleich dazu nach Hämodilution in der HES- und der HBOC-Gruppe ab. Die arteriovenöse Sauerstoffdifferenz (avDO<sub>2</sub> Mus.) sowie der Sauerstoffverbrauch (VO<sub>2</sub> Mus.) des Skelettmuskels waren nahezu konstant und nicht unterschiedlich zwischen den jeweiligen Gruppen. Im Skelettmuskel war das Sauerstoffangebot nach HBOC-201-Infusion in der HBOC-Gruppe niedriger als in der Ringer- und HES-Gruppe. Die Sauerstoffextraktion lag in der HBOC-201-Gruppe nach Hämodilution über der der Ringer-Gruppe und war nach HBOC-201-Infusion im Vergleich zu den Ausgangswerten erhöht (Tab. 18).

Tabelle 18: Parameter des Sauerstofftransportes des Skelettmuskels

	PO <sub>2</sub> popl.(mmHg)	CvO <sub>2</sub> popl. (ml·dl <sup>-1</sup> )	AvDO <sub>2</sub> M. (ml·dl <sup>-1</sup> )	DO <sub>2</sub> M. (ml·min <sup>-1</sup> )	VO <sub>2</sub> M. (ml·min <sup>-1</sup> )	O <sub>2</sub> -Extr.M. (%)
Ringer-Gruppe						
Ausgangswerte	44±8	14,5±2,3	6,6±2,2	7,9±2,6	2,3±0,6	31,3±9,6
20 min	46±9	15,7±2,5	4,8±1,5	10,1±4,9	2,1±0,7	23,6±7,8
60 min	48±10	14,8±2,5	5,3±1,2	10,0±4,4	2,5±0,8	26,9±7,2
100 min	53±8	14,7±1,5	5,5±1,4	11,5±5,2	3,0±1,3	27,2±6,4
HES-Gruppe						
Ausgangswerte	39±15	12,7±3,7	9,3±4,8	8,9±4,4	3,2±1,5	41,5±18,9
Hämodilution	41±7	8,2±2,0*†	4,8±1,8	8,7±2,6	3,0±0,9	36,3±10,2*
60 min	41±14	6,7±1,9*†	5,2±2,4	8,2±2,7	3,2±1,2	42,9±17,6*
100 min	38±9*	6,4±1,9*†	4,1±1,3†	7,6±2,8	2,8±0,7	39,7±15,2
HBOC-201-Gruppe						
Ausgangswerte	48±12	13,1±4,2	5,1±2,7	7,2±3,2	2,5±2,6	28,7±16,8
Hämodilution	39±6	6,4±1,2*†	4,3±1,2	7,5±6,0	2,9±1,9	39,6±8,7*
+HBOC-201	35±10*†	5,6±2,2*†	4,8±1,5	5,2±1,1*§	2,4±0,5	46,9±13,3*†
100 min	38±10*	5,5±1,5*†	5,9±2,0	6,0±0,8*	2,8±0,9	46,9±12,5*†

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

§=p<0,05 im Vergleich zur HES-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution

MW±Standardabweichung

### 3.8. Sauerstoffspannung in Leber und Skelettmuskel

Die Ausgangswerte der Sauerstoffspannung (tpO<sub>2</sub>) der Leber waren in allen drei Gruppen vergleichbar. In der Kontroll-Gruppe waren die 10%-, 50%- und 90%-Perzentile über den gesamten Beobachtungszeitraum konstant, während in der HES-Gruppe nach Hämodilution ein deutlicher Anstieg der Sauerstoffspannung in der 50%-Perzentile zu verzeichnen war. In der HBOC-201-Gruppe war nach Hämodilution mit Ringer-Lösung kein signifikanter Anstieg der Sauerstoffspannung zu vermerken, aber nach HBOC-201-Transfusion stieg der tpO<sub>2</sub> signifikant um ca. 15 mm Hg an, und die 10%- und 50%-Perzentilen des tpO<sub>2</sub> lagen zu diesem Messpunkt deutlich höher als in der Ringer- und HES-Gruppe (Tab. 19).

In der Ringer-Gruppe war die Sauerstoffspannung im Skelettmuskel über den Beobachtungszeitraum konstant. Nach Hämodilution stieg die 50%-Perzentile des  $tpO_2$  in der HES- sowie in der HBOC-201-Gruppe signifikant von ca. 20 mm Hg auf ca. 30 mm Hg an und lag damit über der Ringer-Gruppe. In der HBOC-201-Gruppe kam es nach HBOC-201-Applikation zu einem weiteren Anstieg des  $tpO_2$  auf ca. 40 mm Hg, so dass die  $tpO_2$ -Werte in dieser Gruppe dann auch im Vergleich zur HES-Gruppe höher waren (Tab. 20).

Die Histogramme des Gewebesauerstoffpartialdruckes der Leber zeigten in der HES-Gruppe nach der Hämodilution eine Rechtsverschiebung zu höheren  $tpO_2$ -Werten, die bis zum Versuchsende über den Ausgangswerten lagen. Die Applikation von HBOC-201 resultierte ebenfalls in einer Rechtsverschiebung der Histogramme zu höheren Werten. Der mittlere  $tpO_2$  stieg in der HBOC-201-Gruppe insgesamt um 44% im Vergleich zu den Ausgangswerten an und lag damit über dem 37%igen Anstieg in der HES-Gruppe (Abb. 5). Im Histogramm der  $tpO_2$ -Werte des Skelettmuskels kam es in der HES- und in der HBOC-201-Gruppe nach Hämodilution zu einer Rechtsverschiebung zu höheren Werten. Nach Applikation von HBOC-201 verschob sich das Histogramm noch weiter nach rechts und die  $tpO_2$ -Werte waren bis zum Versuchsende höher als die Ausgangswerte. Durch Zufuhr von HBOC-201 wurde ein Anstieg des  $tpO_2$  im Skelettmuskel um 105% im Vergleich zu den Ausgangswerten erzielt. Damit war die Zunahme des  $tpO_2$  deutlich höher als in der HES-Gruppe (Abb. 6).

Tabelle 19: Sauerstoffspannung der Leber

	<b>10%-Perzentile</b> (mm Hg)	<b>50%-Perzentile</b> (mm Hg)	<b>90%-Perzentile</b> (mm Hg)
<b>Ringer-Gruppe</b>			
Ausgangswerte	43,9	47,8	51,1
20 min	49,7	52,2	55,6
60 min	43,0	48,1	54,4
100 min	48,3	52,2	55,2
<b>HES-Gruppe</b>			
Ausgangswerte	44,0	45,4	48,9
Hämodilution	59,0	60,3†	62,4
60 min	58,0	59,7†	61,2
100 min	60,1	62,3†	65,7
<b>HBOC-201-Gruppe</b>			
Ausgangswerte	41,0	47,7	52,4
Hämodilution	50,6 †	53,6	58,3
+HBOC-201	63,4 *†#	67,7 *†#	70,9 †
100 min	65,5†#	68,6†#	73,1 †#

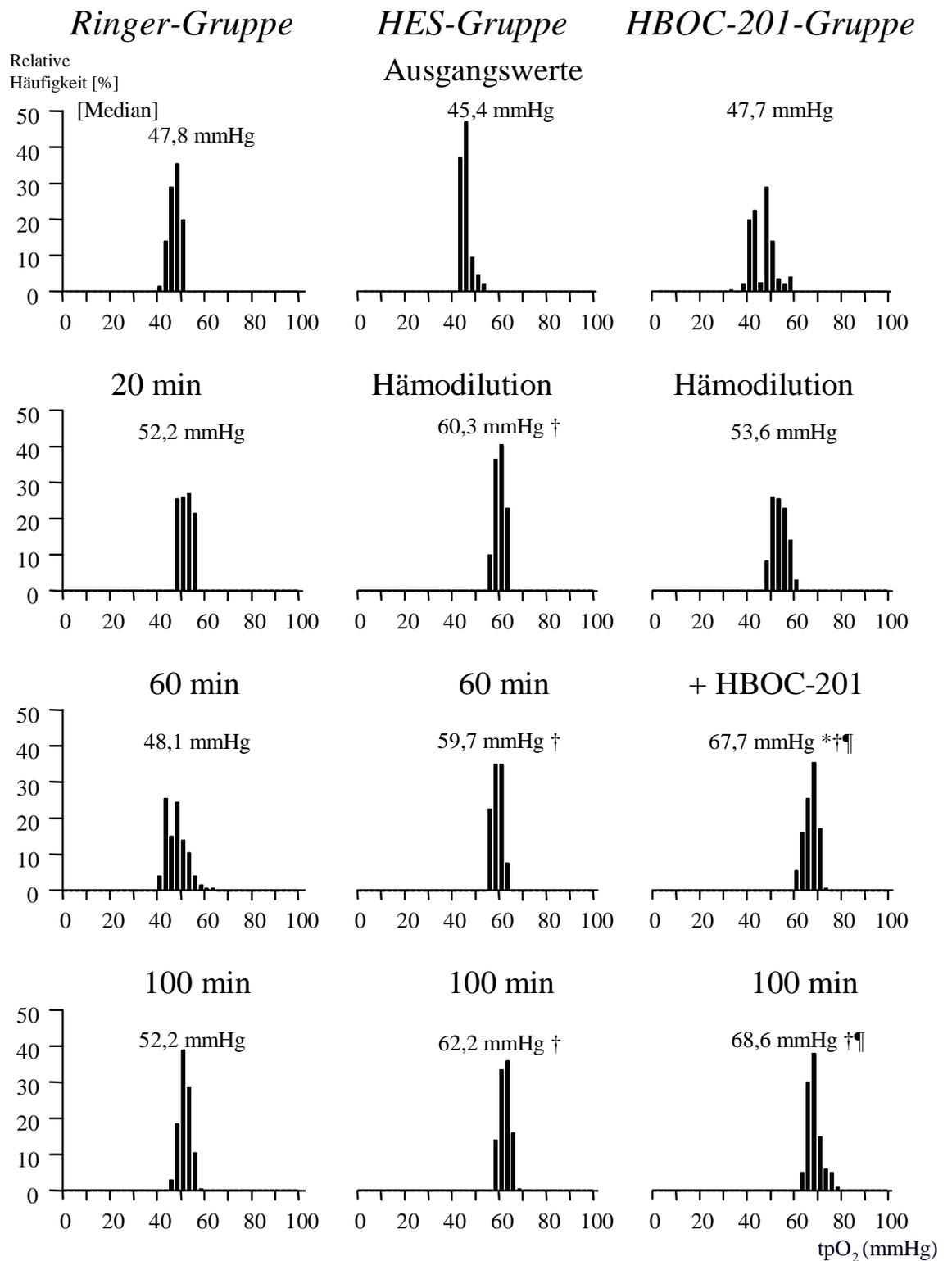
10%-Perzentile = 10% der tpO<sub>2</sub>-Messungen waren niedriger als dieser Wert;  
 50%-Perzentile = 50% der tpO<sub>2</sub>-Messungen waren höher als dieser Wert; 90%-  
 Perzentile = 10% der tpO<sub>2</sub> -Messungen waren höher als dieser Wert.

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution

Darstellung der Werte als Median



\* =  $p < 0,05$  im Vergleich zur Ringer-Gruppe; † =  $p < 0,05$  im Vergleich zu den Ausgangswerten; ¶ =  $p < 0,05$  im Vergleich zur Hämodilution

**Abbildung 5:** Histogramme des Gewebe-pO<sub>2</sub> der Leber

Tabelle 20: Sauerstoffspannung des Skelettmuskels

	<b>10%-Perzentile</b> (mm Hg)	<b>50%-Perzentile</b> (mm Hg)	<b>90%-Perzentile</b> (mm Hg)
<b>Ringer-Gruppe</b>			
Ausgangswerte	2,3	17,2	48,4
20 min	2,9	19,8	43,8
60 min	4,6	21,5	47,5
100 min	5,7	16,1	34,3 †
<b>HES-Gruppe</b>			
Ausgangswerte	6,7	22,8	42,2
Hämodilution	10,2*	30,1 * †	56,4
60 min	9,6	32,6 * †	61,1 †
100 min	14,6	32,5 * †	53,3*
<b>HBOC-201-Gruppe</b>			
Ausgangswerte	3,4	19,3	45,2
Hämodilution	10,7* †	31,9* †	52,9
+HBOC-201	16,7* †	42,2* § † #	72,4 * †
100 min	25,4* †	39,5* †	66,1*

10%-Perzentile = 10% der tpO<sub>2</sub>-Messungen waren niedriger als dieser Wert;  
 50%-Perzentile = 50% der tpO<sub>2</sub>-Messungen waren höher als dieser Wert; 90%-  
 Perzentile = 10% der tpO<sub>2</sub> –Messungen waren höher als dieser Wert.

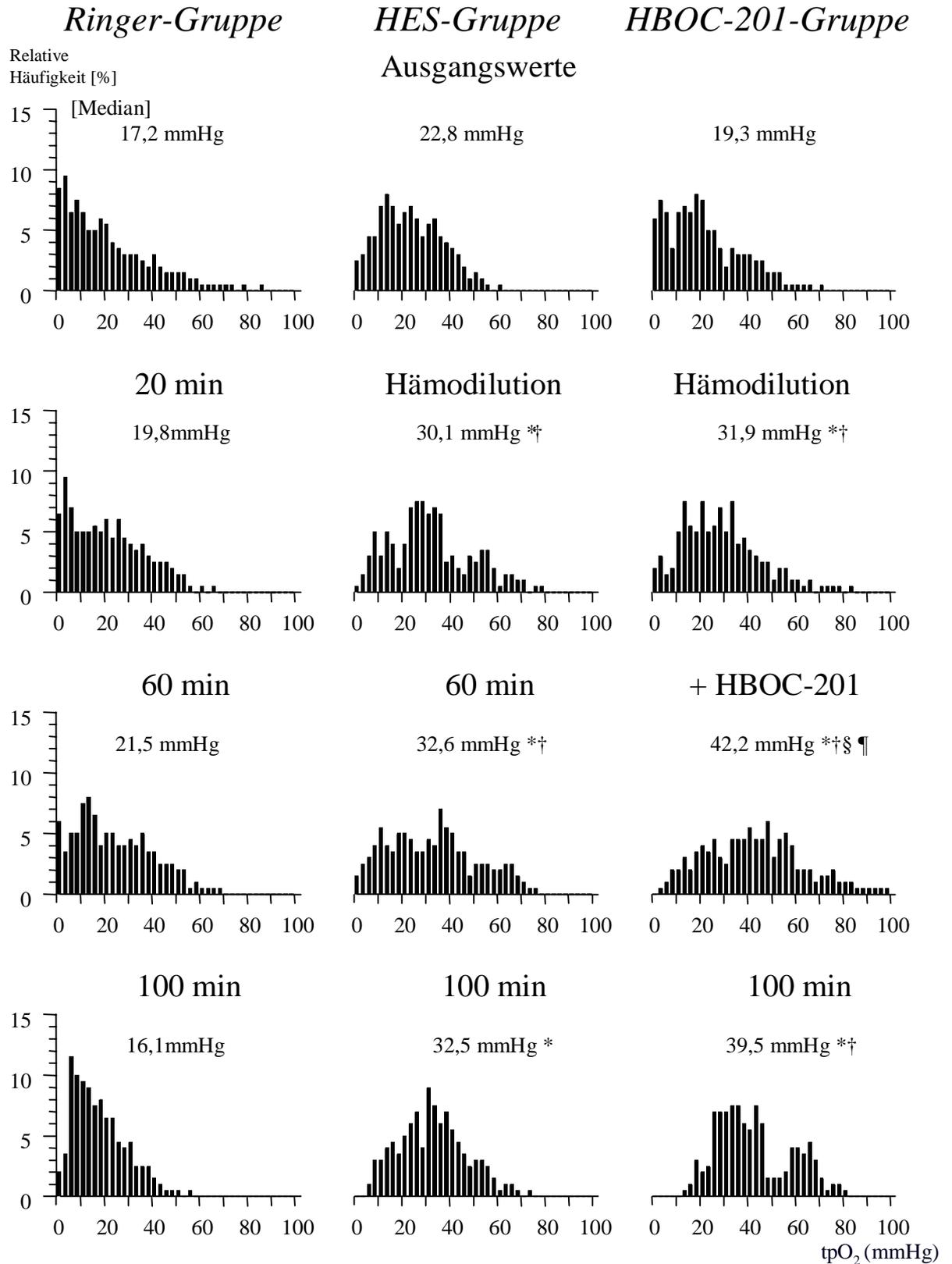
\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

§=p<0,05 im Vergleich zur HES-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

#=p<0,05 im Vergleich zur Hämodilution

Darstellung der Werte als Median



\* =  $p < 0,05$  im Vergleich zur Ringer-Gruppe; § =  $p < 0,05$  im Vergleich zur HES-Gruppe;

† =  $p < 0,05$  im Vergleich zu den Ausgangswerten; ¶ =  $p < 0,05$  im Vergleich zur Hämodilution

**Abbildung 6:** Histogramme des Gewebe-pO<sub>2</sub> des Skelettmuskels

### 3.9. Klinische Chemie

Die Laktat-, die Kalium- sowie die Natriumkonzentration unterlagen während des Versuchszeitraums keinen Schwankungen und unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen. Die Kalziumkonzentration fiel in der HES-Gruppe nach Hämodilution unter die Ausgangswerte und war niedriger als in der Ringer-Gruppe. Die Blutglukosekonzentration war in der HES-Gruppe nach Hämodilution höher als in der Ringer-Gruppe, sonst aber unverändert und vergleichbar in den Gruppen (Tab.11).

Tabelle 21: Klinische Chemie

	<b>Laktat</b> (mg·dl <sup>-1</sup> )	<b>K<sup>+</sup></b> (mmol·l <sup>-1</sup> )	<b>Na<sup>+</sup></b> (mmol·l <sup>-1</sup> )	<b>Ca<sup>2+</sup></b> (mmol·l <sup>-1</sup> )	<b>BZ</b> (mg·dl <sup>-1</sup> )
<b>Ringer-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	1,1±0,5	4,4±0,7	154±3	1,51±0,08	94±23
20 min	0,9±0,4	4,1±0,5	153±2	1,53±0,06	89±23
60 min	0,8±0,2	4,1±0,3	153±2	1,54±0,09	105±48
100 min	0,8±0,2	3,9±0,3	153±1	1,53±0,05	89±18
<b>HES-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	1,1±0,6	4,0±0,6	156±4	1,50±0,13	103±12
Hämodilution	0,8±0,3	4,1±0,5	155±2	1,36±0,08 *†	116±12*
60 min	0,7±0,4	3,8±0,5	154±2	1,43±0,08 *	111±9
100 min	0,8±0,2	4,0±0,5	153±3	1,50±0,06	102±8
<b>HBOC-201-Gruppe</b>					
Ausgangswerte	1,0±0,6	4,1±0,5	153±6	1,40±0,17	112±40
Hämodilution	0,8±0,5	4,1±0,5	152±4	1,42±0,24	91±29
+HBOC-201	0,8±0,4	4,2±0,5	152±3	1,48±0,10	96±23
100 min	0,9±0,4	3,9±0,3	152±7	1,49±0,17	93±23

\*=p<0,05 im Vergleich zur Ringer-Gruppe

†=p<0,05 im Vergleich zu den Ausgangswerten

MW±Standardabweichung

## 4. Diskussion

Ziel der vorliegenden tierexperimentellen Studie an Hunden war es, die Effekte der isovolämen Hämodilution mit HES oder der bovinen Hämoglobinlösung HBOC-201 auf die Sauerstoffversorgung des Gewebes zu untersuchen. Zum zweiten sollten die Auswirkungen der Hämodilution unter Anwendung von Hydroxyäthylstärke im Vergleich zu HBOC-201 dargestellt werden. Drittens sollte eine Vergleichbarkeit der Veränderungen der Sauerstoffversorgung nach Hämodilution mit HBOC-201 zwischen einem peripheren (Skelettmuskel) und einem zentralen Organ (Leber) hergestellt werden. Als Beurteilungskriterium der Sauerstoffversorgung des Gewebes wurden die Sauerstoffpartialdruckwerte gewählt.

Die Ergebnisse zeigen, dass bei den untersuchten Tieren durch isovoläme Hämodilution die Sauerstoffpartialdrücke im Vergleich zur Kontrollgruppe anstiegen. Es konnte belegt werden, dass die Infusion von HBOC-201 eine weitere Erhöhung der Sauerstoffpartialdrücke sowohl im Skelettmuskel als auch in der Leber bewirkt im Vergleich zu den Effekten durch die isovoläme Hämodilution alleine.

### 4.1. Methodenkritik

Für die isovoläme Hämodilution wurde ein Tier benötigt, welches ein ausreichendes und gut kalkulierbares Blutvolumen besitzt. Dies und die Präparationsbedingungen mit guten Voraussetzungen zur peripheren  $tpO_2$ -Messung aufgrund ausgeprägter Skelettmuskulatur waren bei den für diesen Versuch ausgewählten Foxhounds gegeben.

Der Hund bietet bei Untersuchungen zur Hämodynamik und Gewebeoxygenierung sehr gute Voraussetzungen, da er dem Menschen ein sehr ähnliches Herz-Kreislaufsystem besitzt und über eine fast identische Sauerstoffbindungskurve verfügt.

Die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins bei Hunden wird, wie die des Menschen, über 2,3-Diphosphoglycerat reguliert und die  $p_{50}$ -Werte des Hämoglobins beim Hund und beim Menschen weichen kaum voneinander ab. Das ist für die

Bewertung der Gewebeoxygenierung und des Sauerstofftransportes von Bedeutung. Deshalb ist der Hund gegenüber anderen Säugetieren hinsichtlich der Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen ein sehr gutes Versuchsmodell.

Im Gegensatz zum Menschen verfügt der Hund über einen sehr großen Speicher für Blut, die verhältnismäßig sehr große Milz. Um während der Hämodilution die Mobilisation von zusätzlichen Erythrozyten aus diesem Pool zu verhindern, wurde die Milz vor Durchführung der Versuche operativ entfernt.

Die Anästhesie wurde während der Untersuchungsperiode als totale intravenöse Anästhesie durchgeführt. Mit der Kombination aus einem Opioid und einem Benzodiazepinderivat wurde ein Narkoseverfahren gewählt, welches die hämodynamischen Parameter wie Blutdruck, Systemwiderstand und Herzzeitvolumen wenig beeinflusst. Außerdem führte dieses Anästhesieverfahren durch die rasche Anpassungsfähigkeit der Dosis der Anästhetika an den Narkosebedarf zu einer hämodynamischen Stabilität, sodass es bei den Tieren während der Untersuchung nicht zu anästhesiebedingten hämodynamischen Schwankung kam.

Einen wichtigen Parameter in diesem Versuch stellte der Sauerstoffverbrauch dar. Dieser hängt sowohl von der Muskelaktivität als auch von der Temperatur ab. Durch die kontinuierliche Relaxierung der Hunde kann davon ausgegangen werden, dass der Muskeltonus auf einem konstant niedrigen Niveau gehalten wurde und es nicht durch Schwankungen des Muskeltonus zu einer Erhöhung des Sauerstoffverbrauches und zum Anstieg der Laktatproduktion gekommen ist. Gleiches gilt für die Körpertemperatur, die durch eine Wärmedecke konstant gehalten und während des Versuches kontinuierlich zentral und peripher gemessen wurde. So kann davon ausgegangen werden, dass Änderungen der Oxygenierung des Gewebes durch Änderungen des Sauerstofftransportes zum Gewebe, bzw. durch Änderungen der Sauerstoffaufnahme im Gewebe hervorgerufen und nicht durch Schwankungen der Körpertemperatur oder -aktivität bewirkt wurden.

Obwohl die hämodynamischen Auswirkungen des HBOC-201 beim Mensch und beim Hund in früheren Untersuchungen ähnlich waren, wird angenommen, dass die vasokonstriktorische Komponente von zellfreiem Hämoglobin bei diesen beiden Spezies unterschiedlicher Natur ist. Bei tierexperimentellen

Untersuchungen wurde vor allem über einen Anstieg des pulmonalen Widerstandes berichtet [78,160], während beim Menschen eine Erhöhung des systemischen Gefäßwiderstandes im Vordergrund zu stehen scheint [81,82,159]. Blutdruckanstiege wurden immer wieder auf die Bindung von NO an das Eisenatom in den Hämoglobinlösungen zurückgeführt, da es so nicht mehr als Vasodilatator fungieren kann [4,103,141,168].

Die verschiedenen Methoden der isovolämen Hämodilution einmal mit Hydroxyäthylstärke (HES-Gruppe) und einmal mit Ringer-Lösung (HBOC-201-Gruppe) wurden deshalb gewählt, weil im Anschluss an die Hämodilution in der HBOC-201-Gruppe die Verabreichung des bovinen Hämoglobins erfolgte, welches aufgrund seines kolloidosmotischen Druckes bei vorheriger Hämodilution mit Hydroxyäthylstärke im Vergleich zur HES-Gruppe zu einer Hypervolämie hätte führen können. Außerdem sollte die Applikation zweier unterschiedlicher Kolloide in einer Gruppe vermieden werden. In den beiden Hämodilutionsgruppen sollten vergleichbare kolloidosmotische Drücke und Isovolumämie vorliegen, um die Effekte des HBOC-201 auf den Sauerstofftransport zum Gewebe und die Gewebeoxygenierung peripherer und zentraler Organe zu erfassen. Aus den Ergebnissen des Versuches geht hervor, dass trotz Verwendung eines unterschiedlichen Volumenersatzes in beiden Hämodilutionsgruppen Isovolumämie bewahrt werden konnten. Der entscheidende Parameter für diese Aussage war der pulmonalkapilläre Verschlussdruck, der in den beiden Gruppen über den gesamten Versuchszeitraum konstant blieb. Der kolloidosmotische Druck war in der HBOC-201-Gruppe im Vergleich zur HES-Gruppe sogar signifikant niedriger, sodass nicht ein Volumeneffekt für die Verbesserung der Gewebeoxygenierung im Skelettmuskel und in der Leber nach Applikation von HBOC-201 verantwortlich gemacht werden kann.

Die Messung der Sauerstoffkonzentration im Leber- und Skelettmuskelgewebe erfolgte durch zwei verschiedene Messverfahren. Zur Messung der Sauerstoffsättigung in der Leber wurde der flexible Licox-Katheter (Licox Medical Systems, GMS, Kiel) verwendet. Da sich die inneren Organe wie die Leber während des Versuches durch die Beatmung bewegten, konnte hier nicht die starre Messsonde nach Fleckenstein eingesetzt werden.

Zur  $tpO_2$ -Messung hätten alternativ auch weniger invasive Oberflächenelektroden [30,84,85] verwendet werden können. Allerdings kann die Bindegewebsschicht,

welche die Oberfläche von Organen bzw. Geweben überzieht, zu einer Verfälschung der  $tpO_2$ -Messung führen. Beim Abpräparieren dieser Grenzschicht käme es jedoch unvermeidlich zur Traumatisierung des Gewebes, außerdem wäre eine komplette Entfernung dieser Schicht nur unzureichend möglich. Durch lokale Blutung, Ödem- und Nekrosebildung entstünden Messungenauigkeiten. Bei Verwendung der Stichelektrode ist keine Präparation der Organoberfläche nötig und Nekrosen oder Perfusionstörungen sind durch das angewandte Pilgerschrittverfahren nicht zu erwarten. Außerdem kann bei den invasiven, in diesem Versuch verwendeten flexiblen Sonden, eine Aussage über  $tpO_2$ -Werte in der Tiefe des jeweiligen Organs gemacht werden. Zusätzlich würden die Ergebnisse bei der oberflächlichen Messung deutlich mehr durch die Raumtemperatur beeinflusst.

#### **4.2. Hämodynamik**

Während der Hämodilution konnte Isovolumie bei den Tieren bewahrt werden. Das belegt der während des gesamten Versuchszeitraums durch adäquate Flüssigkeitssubstitution konstant gehaltene pulmonalkapilläre Verschlussdruck. Es kam während der Hämodilution zu keinem Unterschied der hämodynamischen Effekte nach Applikation von HBOC-201 oder Hydroxyäthylstärke. Die Herzfrequenz und der mittlere pulmonalarterielle Blutdruck zeigten nach Transfusion von 0,6 g/kg HBOC-201 keine Änderungen. Lediglich der systemische Gefäßwiderstand waren in der HBOC-201-Gruppe teilweise erhöht. Herzindex, Schlagvolumen und Herzzeitvolumen stiegen während der Hämodilution sowohl bei den Tieren der HES- als auch der HBOC-201-Gruppe um ca. 20-50% an. Dies repräsentiert eine physiologische Antwort auf die kritische Herabsetzung der Sauerstofftransportkapazität durch den sinkenden Hämoglobingehalt. Durch die Steigerung der Herzleistung wird versucht, den Verlust der Sauerstoffträger zu kompensieren. Durch diesen Mechanismus konnte bei den Tieren in dieser Untersuchung ein deutlicher Abfall des Sauerstoffangebotes unter Hämodilution verhindert werden. Nach Applikation von HBOC-201 sank das HZV wieder auf seinen Ausgangswert und das errechnete Sauerstoffangebot war vermindert, da der oben beschriebene Mechanismus zur

Aufrechterhaltung der Sauerstoffversorgung bei einem reduzierten Hämoglobingehalt durch Steigerung des Herzminutenvolumens nicht vollständig kompensiert wurde. Der mittlere arterielle Blutdruck fiel nach Hämodilution ab, stieg aber nach Gabe von HBOC-201 wieder um 30% an und erreichte dadurch rasch wieder seinen Ausgangswert. Anstiege des mittleren arteriellen Blutdruckes über den Ausgangswert hinaus wurden nach HBOC-201-Infusion nicht beobachtet.

In nahezu allen tierexperimentellen Studien wird unter HBOC-Gabe eine Erhöhung des arteriellen und pulmonalarteriellen Mitteldruckes oder eine Reduktion des Herzzeitvolumens beschrieben [43,68,83,174]. Nach 30%iger Austauschtransfusion mit humanem Hämoglobin im Schweinmodell zeigte sich eine Reduktion des Herzzeitvolumens, ein Anstieg des arteriellen und pulmonalarteriellen Mitteldruckes über den Ausgangswert. Systemischer und pulmonalarterieller Gefäßwiderstand stiegen an, während das errechnete Sauerstoffangebot an den Organismus unverändert blieb [75].

Die Austauschtransfusion mit einer pyridoxilierten Hämoglobinlösung führte bei Hunden zu einem Abfall des Herzzeitvolumens um 27% [115]. Nach Verabreichung von bovinem Hämoglobin sank das Herzzeitvolumen bei Hunden um 30% [87]. Beim Affen führte die Verabreichung einer Polyhämoglobinlösung zu keiner Änderung des Herzzeitvolumens [95]. Beim Menschen wiederum wurde nach Applikation von HBOC-201 eine Senkung des Herzzeitvolumens um 28% beschrieben [81]. Gewisse Unterschiede der hämodynamischen Effekte unter Applikation von Hämoglobinlösungen scheinen durch die jeweilige Spezies und das Präparat bzw. dessen chemische Modifikation begründet zu sein. So scheint bei Ratten die vasokonstriktorische Komponente der Hämoglobinlösungen besonders stark ausgeprägt zu sein, während bei Schafen und bei Hunden diese Veränderungen moderater ausfallen [54,77,134,147,172].

Trotz spezies- und versuchsbedingter Unterschiede mit unterschiedlichen Hämoglobinlösungen konnte in fast allen tierexperimentellen Studien ein vasokonstriktorisches Effekt nachgewiesen werden. Dabei haben auch Purifikationsgrad und chemische Modifikation der Hämoglobinlösungen einen Einfluss auf das Ausmaß der Vasokonstriktion [25,57]. So führte die Transfusion von 400 mg/kg Diaspirin-vernetzten Hämoglobins bei Ratten für eine Stunde zu einem Anstieg des mittleren arteriellen Blutdruckes um 80% [140], während

andere polymerisierte Hämoglobine diesen Effekt weniger ausgeprägt zeigten [2]. Keine relevanten hämodynamischen Schwankungen hingegen fanden im Rattenmodell nach 30%iger Austauschtransfusion mit einer modifizierten bovinen Hämoglobinlösung statt [33]. Ähnliches gilt auch für einige Untersuchungen mit HBOC-201 am Hund [157,160]. Ebenfalls zu einem nur moderaten Anstieg des mittleren arteriellen Blutdruckes kam es bei Patienten nach Applikation von 0,4 g/kg bovinen Hämoglobins [159].

Die Ergebnisse dieser Untersuchung bekräftigen somit die Aussage früherer Studien mit HBOC-201. Nach Applikation von 0,6 g/kg bovinen Hämoglobins kommt es nicht zu ausgeprägten oder insbesondere nachteiligen hämodynamischen Veränderungen.

Alle zellfreien Hämoglobinlösungen bewirken speziesspezifisch eine Erhöhung des Gefäßwiderstandes, der in den einzelnen Organbezirken unterschiedlich stark ausgeprägt ist [83,134]. Als Ursache hierfür kommen verschiedene pathophysiologische Mechanismen in Frage. Eine derzeit in der Literatur akzeptierte Erklärung der vasokonstriktischen Effekte von Hämoglobinlösungen stellt die NO-Bindungstheorie dar. Stickstoffmonoxid (NO) ist ein starker Vasodilatator, der vom Endothelium freigesetzt wird [111]. Da NO eine starke Affinität zu zweiwertigen Eisenatomen besitzt, wird es durch Hämoglobinlösungen gebunden und kann nicht mehr als Gefäßdilator fungieren [4,103,104,141,168]. Bei Schafen kam es bei fast kompletter Austauschtransfusion mit einer Hämoglobinlösung zu einem Anstieg des systemischen und pulmonalen Gefäßwiderstandes um 44% bzw. 200% [92].

Es wird angenommen, dass die vasokonstriktischen Effekte von Hämoglobinlösungen beim Menschen im Vergleich zu anderen Spezies unterschiedlich sind, da in einigen Patientenstudien, im Gegensatz zu tierexperimentellen Untersuchungen, keine Erhöhung des pulmonalen Gefäßwiderstandes beobachtet werden konnte, wohl aber ein Anstieg des systemischen Gefäßwiderstandes zu vermerken war [81,82,159]. Der Anstieg des systemischen Gefäßwiderstandes muss aber nicht zwangsläufig nur als negativer Effekt betrachtet werden, da diese „Nebenwirkung“ der freien Hämoglobine bei bestimmten Erkrankungen durchaus positive Auswirkungen für den Organismus mit sich bringen kann. Dazu zählen der akute Blutverlust und die hyperdynamische Phase im septischen Schock, wo die exzessive Produktion von Stickstoffmonoxid

eine zentrale Rolle für die hämodynamische Instabilität dieser Patienten einnimmt. So konnte bei septischen Schafen durch niedrige Dosen von pyridoxyliertem Hämoglobin die hyperdynamische Phase durchbrochen werden [18], und Diaspirin-vernetztes Hämoglobin normalisierte bei septischen Ratten den Blutdruck, verbesserte die regionale Perfusion im Splanchnikusgebiet, Herzen und Gehirn und konnte die Mortalität senken [112]. Polymerisiertes bovines Hämoglobin konnte bei Ratten im endotoxischen Schock die kardiovaskuläre und renale Funktion wieder herstellen [74]. In einem Ratten-Schock-Modell nach Verbrennung war Diaspirin-vernetztes Hämoglobin der Transfusion von Frischblut in der Wiederherstellung einer stabilen hämodynamischen Situation (SVR, HZV, SV) überlegen [151].

Eine andere Ursache für die Vasokonstriktion könnte eine Beeinflussung des Endothelinstoffwechsels sein [134]. An Endothelzellen des Schweins konnte gezeigt werden, dass freies Hämoglobin durch Endo- oder Transzytose in diese aufgenommen wird und somit auch intrazellulär mit Stickstoffmonoxid und Endothelin-1 interferieren könnte [41].

Weiterhin konnten verschiedene Arbeitsgruppen tierexperimentell einen Zusammenhang zwischen dem Reinheitsgrad der Hämoglobinderivate und dem Ausmaß kardiovaskulärer Nebenwirkungen nachweisen [101]. Matsuda fand neben anderen Substanzen insbesondere Phospholipide, die aus zerstörten Zellmembranen der Erythrozyten stammen, Lysophosphatidcholin in Hämoglobinlösungen. Dies ist eine Substanz, welche die durch Acetylcholin induzierte Vasodilatation hemmt und somit zu einer Erhöhung des Gefäßwiderstandes führt [105].

Es ist auch denkbar, dass nach Transfusion von Hämoglobinlösungen ein Sauerstoffüberangebot mit konsekutiver Hyperoxie die Ursache für eine Vasokonstriktion ist. Hyperoxisches Gewebe löst physiologischer Weise eine Vasokonstriktion in den vorgeschalteten Arteriolen aus [96], wodurch eine weitere Zufuhr von Sauerstoff durch Erythrozyten reduziert wird. Wird der Sauerstoff, wie in unserem Versuch, durch Hämoglobinlösungen transportiert, greift dieser Regelkreis offenbar nicht, da durch Vasokonstriktion der plasmatische Sauerstofftransport nicht in gleichen Maße reduziert werden kann wie der zelluläre. Da es allerdings bereits nach Applikation von nur geringen Mengen von Hämoglobinlösungen zur Vasokonstriktion kam, die nicht mit einer Hyperoxie

assoziiert war, ist die reaktive Zunahme des Gefäßtonus von Arteriolen bei Hyperoxie sicher nicht die einzige Erklärung für den Anstieg des systemischen Gefäßwiderstandes nach Verabreichung von Hämoglobinlösungen.

Frühere Hämoglobinlösungen waren hyperonkotisch und führten zu einer intravasalen Volumenzunahme [60]. Bei der hier eingesetzten Hämoglobinlösung beträgt der kolloidosmotische Druck 17 mm Hg. Während der Hämodilution mit HBOC-201 fiel kolloidosmotische Druck auf  $6 \pm 1$  mm Hg ab und war damit niedriger als in der Ringer- und HES-Gruppe. Die eingesetzte bovine Hämoglobinlösung zeigte demnach keine hyperosmolaren oder hypervolämischen Effekte.

### **4.3. Met-Hämoglobin**

Da allen Hämoglobinlösungen die zellulären Enzyme zur Reduktion von Sauerstoff fehlen, könnten größere Mengen an Met-Hämoglobin entstehen. Die oxidierte Form des Hämoglobins gibt aber keinen Sauerstoff an das Gewebe ab und würde somit die Gewebeoxygenierung nicht verbessern oder gar beeinträchtigen. Während des geschilderten Versuchszeitraums von wenigen Stunden kam es in der HBOC-201-Gruppe nur zu einem geringfügigen Anstieg des Met-Hämoglobins auf 0,68%. In diesen Konzentrationen und der kurzen Zeitspanne ist nicht mit einer Einschränkung der Effektivität bezüglich des Sauerstofftransportes zu rechnen. Bei höheren und repetitiven Dosen sowie langer Anwendungs- bzw. Messzeit müsste man wahrscheinlich von einer vermehrten Met-Hämoglobinbildung mit Einschränkung der Sauerstofftransportkapazität ausgehen.

### **4.4. Isovolumäre Hämodilution mit HBOC-201 und HES**

Schwerpunkt des vorliegenden Versuchs war die Untersuchung der Effektivität einer isovolämischen Hämodilution mit der bovinen Hämoglobinlösung HBOC-201 im Vergleich zu Hydroxyäthylstärke im Hinblick auf die Gewebeoxygenierung. Dabei

wurden die Auswirkungen der Hämoglobinlösung auf die Gewebeoxygenierung im peripheren Gewebe (Skelettmuskel) denen in einem zentral gelegenen Organ (Leber) gegenüber gestellt.

In früheren Untersuchungen konnte bereits belegt werden, dass es unter isovolämer Hämodilution mit einer bovinen Hämoglobinlösung zu einem Anstieg des  $tpO_2$  im Skelettmuskel kam [157,160]. Ob sich dieser Effekt auch in lebenswichtigen, inneren Organen reproduzieren lässt, oder vom Muskel auf Organe übertragen lässt, war bisher ungeklärt und wird kritisch diskutiert. Im Vergleich zum Skelettmuskel hat die Leber unter Ruhebedingungen wie einer Allgemeinanästhesie einen wesentlich höheren Energieumsatz und Sauerstoffbedarf. Aus diesem Grund ist in diesem Organ schneller als in der Muskulatur eine Hypoxie bei einem niedrigen Sauerstoffangebot zu erwarten. Allerdings hat die Leber eine abgesichert hohe Perfusionsrate, da sie über die A. hepatica sowie die V. Portae mit Blut versorgt wird.

Bereits 1982 konnte im Tiermodell gezeigt werden, dass eine 75% Austauschtransfusion mit stromafreiem Hämoglobin nicht zu histopathologischen Veränderungen an der Leber führte, während die Tiere der Kontrollgruppe, die Albumin erhalten hatte, hypoxische Nekrosen der Leber aufwies [50]. Dies ließ vermuten, dass die Infusion von Hämoglobinlösungen zu einer ausreichenden Gewebeoxygenierung führten und so hypoxische Zellschäden vermeiden konnte. Bestätigung für diese Theorie fand man in verschiedenen Untersuchungen. So konnte im Schockmodell am Hund durch Transfusion einer Hämoglobinlösung ein hypoxischer Leberzellschaden verhindert werden, während die Transfusion von Erythrozyten oder Kolloiden zu einer Organnekrose der Leber führte [144]. In einem klinischen Modell an Ratten mit chirurgischem Trauma und definiertem Blutverlust ergab sich nach Volumentherapie mit modifiziertem humanem Hämoglobin, im Gegensatz zu Frischblut, eine vermehrte Hepatozytenproliferation sowie eine Reduktion intestinaler Schäden [175]. Am Patienten wurde die klinische Effektivität von humanem polymerisiertem Hämoglobin als Blutersatz nach akutem Trauma und bei Notfalloperationen untersucht [59]. Es wurde keine Einschränkung der Leberfunktion oder anderer innerer Organe beobachtet.

Außerdem können Hämoglobinlösungen die Mikrozirkulation innerer Organe verbessern und somit die Geweboxygenierung günstig beeinflussen. Im

Hamstermodell wurden die Effekte auf die Mikrozirkulation der Leber einer 33%igen Austauschtransfusion mit einer unmodifizierten zellfreien Hämoglobinlösung und mit der einer Raffinose-vernetzten Hämoglobinlösung verglichen. Die unmodifizierte Lösung resultierte in einer signifikanten Reduktion der Leberperfusion, während sich bei der Verwendung des modifizierten Hämoglobins keine Veränderung im Durchmesser von Lebervenen oder der Strömungsgeschwindigkeit in sinusoidalen Gefäßen zeigte [142]. Durchblutungsmessungen an einzelnen Organen erbrachten an Ratten beim Einsatz von Diaspirin-vernetztem Hämoglobin keine Veränderung der Leber- und Nierendurchblutung sowie eine Steigerung der Milzperfusion, während bei unmodifiziertem Hämoglobin die Perfusion aller drei Organe abnahm [68]. Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass hinsichtlich der Beeinträchtigung der Mikrozirkulation innerer Organe nach Transfusion von Hämoglobinlösungen der Purifikation und chemischen Modifikation der verwendeten Substanz eine große Bedeutung zukommt. Es konnte nach Verabreichung von Hämoglobinlösungen eine Umverteilung des Blutflusses zugunsten des Herzens, Gehirns, Gastrointestinaltraktes, der Leber und Niere beobachtet werden [67,68]. Dies sind Organe, die während eines Schockes besonders durch Ischämie und Hypoxie gefährdet werden. Direkte Blutflussmessungen der Koronarien am Hund ergaben eine Zunahme des Sauerstoffmetabolismus nach Applikation einer bovinen polymerisierten Hämoglobinlösung [100]. Im Gegensatz zu Kristalloiden verbesserte die Zufuhr einer humanen Hämoglobinlösung im unkontrollierten Schock die zerebrale Perfusion und konnte so das Ausmaß der hypoxischen Hirnläsion reduzieren [116].

In unserem Versuch kam es nach HBOC-201 Zufuhr bei konstanter Flussrate in der Pfortader sowie der Poplitealarterie und sinkendem Herzzeitvolumen trotzdem zu einem Anstieg des Sauerstoffpartialdruckes im Leber- und Skelettmuskelgewebe, obgleich man aufgrund der oben beschriebenen hämodynamischen Parameter von einem geringeren Sauerstoffangebot an diese Gewebe ausgehen muss. Dieser Effekt lässt sich durch eine erhöhte Sauerstoffextraktionsrate nach HBOC-201-Applikation erklären. Die isovoläme Hämodilution bis zu einem Hämatokrit von 25% resultierte zunächst durch eine Steigerung der Herzleistung in einer Zunahme des Sauerstoffpartialdruckes im Skelettmuskel um etwa 50%. Im Histogramm des Skelettmuskels ist dieser Effekt

gut an der Rechtsverschiebung der Histogramme zu höheren  $tpO_2$ -Werten in der HES- und der HBOC-201-Gruppe zu erkennen. Der Sauerstoffpartialdruck im Lebergewebe stieg nach isovolämer Hämodilution ebenfalls um 33% an.

Nach HBOC-201 Infusion stieg der Sauerstoffpartialdruck im Skelettmuskel um weitere 32% (10 mmHg) und in der Leber um 28% (15 mmHg) an. Damit konnte eine Erhöhung der Sauerstoffspannung nach HBOC-201 Applikation peripherer und zentraler Organe in gleichem Masse beobachtet werden. Dies zeigte sich in einer weiteren Rechtsverschiebung der  $tpO_2$ -Histogramme des Skelettmuskels und der Leber zu höheren Werten. Es ist also davon auszugehen, dass es unter ausgedehnter Hämodilution bei zusätzlicher Applikation einer relativ kleinen Menge der Hämoglobinlösung nicht zu einer unzureichenden Sauerstoffversorgung der untersuchten Organe kommt, da diese zu keinem Zeitpunkt nachweisbare hypoxische Bezirke zeigten. Über den gesamten Versuchszeitraum war die Steigerung des Sauerstoffpartialdruckes im Skelettmuskel relativ höher als in der Leber. Im Muskel kam es zu einem Anstieg des  $tpO_2$  um +120% (20 mmHg), während es in der Leber zu einer Zunahme des  $tpO_2$  um 44% (20mmHg) kam. Dies kann durch einen relativ größeren Anstieg der Kapillarperfusion des Muskels mit HBOC-201 im Vergleich zur wesentlich besser perfundierten Leber möglicherweise erklärt werden.

#### 4.5. Hämodynamik und Gewebeoxygenierung

Die ausschlaggebenden Faktoren für eine ausreichende Sauerstoffversorgung in den Geweben sind die Hämoglobinkonzentration, die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins sowie das Herzzeitvolumen bzw. der Blutfluss in einzelnen Organen. Eine Steigerung der Sauerstoffversorgung wird normalerweise durch eine Erhöhung des Herzzeitvolumens, entweder durch Expansion des intravasalen Volumens oder inotropische Therapie erreicht, oder durch Erhöhung des arteriellen Sauerstoffgehaltes. Dies sind aber nicht die einzigen Faktoren der Gewebeoxygenierung.

Deshalb ist entscheidend, die Veränderungen der Hämodynamik nach der Zufuhr der Hämoglobinlösung in Verbindung mit den Auswirkungen auf die Sauerstoffpartialdrücke zu betrachten. Interpretiert man nur die hämodynamischen Effekte würden die Abnahme des Herzzeitvolumens sowie der Anstieg des systemischen Gefäßwiderstandes nach HBOC-201-Gabe sicher als nachteilig ausgelegt werden. Von Bedeutung ist aber letztendlich nicht allein die Makrohämodynamik, sondern die Mikrozirkulation und die Gewebeoxygenierung. Das systemische Sauerstoffangebot ( $DO_2$ ) fiel in der HBOC-201-Gruppe nach Hämodilution signifikant ab und war nach Transfusion der Hämoglobinlösung deutlich niedriger als in der HES-Gruppe. In der Leber war kein Unterschied zwischen der HES- und der HBOC-201-Gruppe im Sauerstoffangebot zu registrieren. Da die Sauerstoffaufnahme ( $VO_2$ ) (systemisch, hepatisch und muskulär) in der HBOC-201-Gruppe nach Hämodilution und HBOC-201 Infusion nicht reduziert war, kam es nicht zu einer Verschlechterung der Gewebeoxygenierung, was sich aus den gemessenen  $tpO_2$ -Werten ablesen lässt. Die systemische Sauerstoffausschöpfung ( $av-DO_2$ ) blieb nach HBOC-201 Applikation konstant. Es kam durch die hämodynamischen Veränderung also nicht zu einer erhöhten globalen Sauerstoffausschöpfung. In der Leber war die Sauerstoffausschöpfung nach HBOC-201 Zufuhr höher als in der HES-Gruppe. In Verbindung mit einer erhöhten Sauerstoffextraktion nach HBOC-201 Zufuhr erklärt sich hierdurch die Rechtsverschiebung der  $tpO_2$ -Werte zu höheren Sauerstoffpartialdrücken in der Leber. Die Erhöhung der hepatischen arteriovenösen Sauerstoffdifferenz ist demnach nicht die Konsequenz einer Hypoxie bei reduzierter Kreislauftsituation.

Es konnte somit belegt werden, dass die Verabreichung von HBOC-201 nach isovolämer Hämodilution die Gewebeoxygenierung der Leber als zentrales Organ verbessern konnte. Trotz sinkendem Herzzeitvolumen und steigendem systemischen Widerstand führte die Zufuhr der bovinen Hämoglobinlösung zu einem Anstieg der Sauerstoffpartialdrücke in diesem Organ. Die Verbesserung der Oxygenierung resultierte aus der steigenden Sauerstoffextraktion der Leber nach HBOC-201-Applikation. Der Anstieg der Sauerstoffextraktion erklärt sich durch eine effektive Sauerstoffabgabe der bovinen Hämoglobinlösung an das Gewebe, die in einer geringen Sauerstoffaffinität der Substanz begründet ist. HBOC-201 hat einen höheren P50 von 38mmHg, verglichen mit dem physiologischen P50 von 30 mmHg von caninem Hämoglobin, wodurch die Sauerstoffabgabe an das Gewebe erleichtert wird. Dies beschreibt Page in einer in-vitro-Untersuchung [118].

Zusätzlich zu der niedrigen Sauerstoffaffinität fördert der plasmatische Sauerstofftransport eine hohe Sauerstofffreisetzung im Gewebe. Durch plasmatischen Sauerstofftransport können auch potentielle vasokonstriktorische Effekte der Widerstandsgefäße z.B. als Reaktion auf Hyperoxie im Gewebe auf mikrozirkulatorischer Ebene überwunden werden. Die bessere Sauerstoffabgabe von HBOC-201 könnte somit auch bei einer Gewebehypoxie, die durch einen geringeren Blutfluss hervorgerufen wird, vorteilhaft sein. Beispiele sind hier arterielle Stenosen sowie cerebrale oder myokardiale Infarkte [32,106]. Befürchtungen, dass der Einsatz von Hämoglobinlösungen den drohenden Reperfusionsschaden nach arterieller Stenose aggravieren könnte, da freies Hämoglobin keine Reduktionsenzyme zum Abbau von freien Sauerstoffradikalen besitzt, die während einer Ischämie kumulieren, konnten mehrfach widerlegt werden [106,120]. D'Agnillo entwickelte eine Polyhämoglobinlösung, die Superoxid-Dismutase-Katalase bindet und dadurch sogar eine antioxidative Wirkung besitzt [35].

Eine weitere Theorie für den Anstieg des Sauerstoffpartialdruckes nach HBOC-201 Gabe beschreibt Federspiel [42]. Die Geschwindigkeit der kapillären Sauerstoffdiffusion zum Gewebe hängt vom Abstand der Erythrozyten zum Gefäßendothel und vom Abstand untereinander ab. Hämoglobinlösungen füllen im Gegensatz zu korpuskulären Sauerstoffträgern das Lumen der Kapillaren sehr homogen aus und stehen so in direktem Kontakt zum Kapillarendothel. So wird

durch eine verkürzte Diffusionsstrecke eine schnellere Sauerstoffabgabe ermöglicht. Denkbar wäre auch eine sog. Brückenfunktion des freien Hämoglobins zwischen den Erythrozyten, die den Transport von Sauerstoff durch die Hämoglobinlösung von zentral im Lumen der Kapillare gelegenen Erythrozyten zur Kapillarwand beschleunigt. Da die nicht korpuskulären Sauerstoffträger in der Lage sind die Kapillare zu verlassen, können sie den Sauerstoff auch direkt zum Gewebe transportieren.

Zusammenfassend konnte belegt werden, dass die Applikation von 0,6 g/ kg einer bovinen Hämoglobinlösung nach isovolämer Hämodilution die Gewebeoxygenierung zentraler (Leber) und peripherer (Skelettmuskel) Gewebe im Vergleich zur Infusion von Hydroxyäthylstärke durch eine Steigerung der Sauerstoffextraktionsrate zusätzlich erhöhen konnte.

Außerdem konnte ein paralleler Anstieg des Sauerstoffpartialdrucks im Skelettmuskel und in der Leber gezeigt werden. Damit kann möglicherweise von leichter zu erreichenden Kompartimenten, wie dem Skelettmuskel - unter stabilen hämodynamischen und isovolämen Bedingungen - auf Veränderungen des  $tpO_2$  zentraler Organe geschlossen werden.

#### **4.6. Ausblick**

Der Vorteil der Hämoglobinlösung im Vergleich zu herkömmlichen Volumenersatzmitteln wie Hydroxyäthylstärke, Dextrane oder Gelatine besteht in ihrer Fähigkeit Sauerstoff zu transportieren und an das Gewebe abzugeben. Im Gegensatz zu Vollblut oder Erythrozytenkonzentraten bieten sie den Vorteil, dass sie universell und ohne zeitraubende Kreuzproben verabreicht werden können. Weiterhin sind sie in großen Mengen verfügbar, unabhängig von Blutspenden. Es besteht auch nicht das Problem der Haltbarkeit wie bei herkömmlichen Blutbestandteilen. HBOC-201 ist bei einer Temperatur von 2-30°C stabil und mehr als zwei Jahre haltbar. Prinzipiell besteht auch nicht das Risiko einer Virus- oder Bakterienübertragung, das bei der Transfusion anderer Blutbestandteile immer wieder zur Verunsicherung der Patienten und Ärzte führt. Mögliche Indikationen für die Transfusion von Hämoglobinlösungen, die zur Zeit weiterer Forschung unterliegen, beinhalten den hämorrhagischen Schock, Traumata,

perioperative Blutverluste, die augmentierte akute normovoläme Hämodilution (A-ANH), die Sepsis, den septischen Schock sowie den Myokardinfarkt, den Schlaganfall, den Herzstillstand, die Organtransplantation und Tumorerkrankungen.

#### *Trauma, Hämorrhagischer Schock, perioperativer Blutverlust und A-ANH*

Neben den bereits erwähnten Vorzügen der Hämoglobinlösungen ist ihre Zufuhr mit hämodynamischen Veränderungen verbunden, die bei der initialen Notfalltherapie einer akuten Blutung und Trauma vorteilhaft sein können. Natürlich werden Blutersatzstoffe nicht das gesamte zirkulierende Blutvolumen ersetzen können. Sie sollen vielmehr als Brücke dienen, bis Bluttransfusionen möglich sind oder die Transfusion von Blut vermeiden, wenn der Blutverlust überschaubar ist. Während perioperativer Blutverluste können Hämoglobinlösungen wertvoll sein, wenn die Sauerstofftransportkapazität des Patienten erhöht werden soll und kalkulierbare chirurgische Blutungen kompensiert werden sollen. In diesem Zusammenhang muss man auch die A-ANH (augmentierte akute normovoläme Hämodilution) in Betracht ziehen. Das Konzept der A-ANH umfasst drei Phasen: die präoperative erweiterte ANH, der intraoperative Einsatz eines künstlichen Sauerstoffträgers und die postoperative Rücktransfusion des Eigenblutes. Normovolämie wird in allen Phasen aufrecht erhalten. Die präoperative Eigenblutspende liefert einen Erythrozytenvorrat, der zu einem späteren Zeitpunkt bei vorhandenen Transfusionstriggern oder zur postoperativen Retransfusion gebraucht werden kann.

Der Patient verliert nach der ANH während der Operation verdünntes Blut und somit weniger Erythrozyten und Hämoglobin. Da Normovolämie gewährleistet werden muss, kommt es zu einem weiteren Abfall der Hämoglobinkonzentration. Um wegen der sinkenden Hämoglobinwerte das Risiko einer unzureichenden Sauerstoffversorgung zu verhindern, werden intraoperativ künstliche Sauerstoffträger eingesetzt. So kann eine erythrozytäre Hämoglobinkonzentration von  $5,5 \pm 1$  g/dl toleriert werden, ohne den Patienten zu gefährden. Bei größeren intraoperativen Blutverlusten kann der Hämoglobinspiegel weiter absinken, was dann zur Rücktransfusion des Eigenblutes führt. Postoperativ kann der Patient dann mit seinem Eigenblut soweit auftransfundiert werden, bis ein minimal benötigter Hämoglobinspiegel erreicht ist. Durch diese Verfahren können

Fremdbluttransfusionen reduziert oder ganz vermieden werden, da präoperativ größere Mengen an Eigenblut entnommen werden können, ohne die Risiken einer akuten Anämie in Kauf zu nehmen [154].

Das hier dargestellte Versuchsmodell ist weitgehend mit den ersten zwei Phasen der normovolämen Hämodilution konform. Die Ergebnisse unsere Studie geben deshalb Grundlage zu der Aussage, dass HBOC-201 sicher in dieser klinischen Situation eingesetzt werden kann, und eine Organhypoxie bei erweiterter isovolämer Hämodilution vermieden werden kann. Die Applikation von HBOC-201 führte zu einer Steigerung der Oxygenierung zentraler und peripherer Gewebe, sodass eine Sauerstoffmangelversorgung und ischämische Schäden innerer Organe durch ausgedehnte Hämodilution durch den Einsatz von HBOC-201 unwahrscheinlich werden.

#### *Sepsis und septischer Schock*

Mit ihrer hohen Sauerstofftransportfähigkeit, ihren rheologischen Eigenschaften und ihrer leichten Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve verglichen mit menschlichem Blut, vermögen zellfreie Hämoglobinlösungen die Geweboxygenierung und Sauerstoffextraktion bei Sepsis zu erhöhen. Während des septischen Schocks kommt es durch ausgeprägte Veränderungen der Mikrozirkulation, verursacht durch eine vermehrte NO Produktion, zu einer dramatisch instabilen Kreislaufsituation mit Tachykardie, Hypotension und einer Beeinträchtigung der Sauerstoffversorgung des Organismus. Zellfreies Hämoglobin bindet NO und kann so den Blutdruck erhöhen und die Geweboxygenierung verbessern. Erste klinische Studien an septischen Patienten zeigten einen positiven Effekt auf die hämodynamische Stabilität und einen verbesserten pH-Wert des Magens nach Zufuhr von Hämoglobinlösungen [123,124].

#### *Schlaganfall und Myokardinfarkt*

Hämoglobinlösungen können bei der Behandlung von regionalen ischämischen Ereignissen vorteilhaft sein. Verbesserte zerebrale und myokardiale Perfusion wurden in verschiedenen Studien beschrieben [13,21,27]. Während diagnostischen oder therapeutischen Eingriffen an den Koronarien

(Koronarangiographie und Ballondilatation) könnten Hämoglobinlösung zur Vermeidung von Ischämien eingesetzt werden. McKenzie et al. [106] zeigten, dass die Infusion von Diaspirin-vernetztem Hämoglobin durch den Angioplastikkatheter während Ballonokklusion die kardiale Funktion verbesserte und die ST-Strecken Senkung geringer ausfiel. Cole et al. [32] demonstrierten in einem experimentellen Modell der fokalen zerebralen Ischämie an Ratten, dass Hämodilution mit einer Hämoglobinlösung effektiver den ischämischen Schaden reduzieren konnte als Albumin.

### *Herzstillstand*

Hämoglobinlösungen könnten das Outcome nach Herzstillstand und kardiopulmonaler Reanimation verbessern, da sie den koronaren Perfusionsdruck erhöhen und die myokardiale Oxygenierung steigern [27].

### *Organtransplantation*

Die verbesserte Organperfusion könnte Hämoglobinlösungen zu wertvollen Substanzen für die Organpreservation bei Transplantationsorganen machen. In einem Lebertransplantationsmodell an Ratten konnte demonstriert werden, dass die Supplementierung der Konservierungslösung mit Hämoglobinlösungen die Lebensfähigkeit des Spenderorgans verbessern konnte [164]. Auch in einem Herztransplantationsmodell an der Ratte wurde eine Hämoglobinlösung erfolgreich als Spüllösung zur Organpreservation eingesetzt [121].

Ein kompletter Blutaustausch mit Hämoglobinlösungen könnte sinnvoll zur Entfernung von Xenograft Antikörpern vor einer Xenotransplantation sein [98,115].

### *Tumorbehandlung*

Durch Limitierung der Tumorphypoxie bzw. -anoxie könnten Hämoglobinlösungen die Effektivität der Chemotherapeutika oder der Bestrahlungstherapie erhöhen, da diese von der Konzentration des im Gewebe vorhandenen Sauerstoffes abhängig ist [97,166].

## 5. Zusammenfassung

In der vorliegenden prospektiven randomisierten tierexperimentellen Studie wurden die Effekte von HBOC-201 auf die Hämodynamik sowie die periphere und zentrale Gewebeoxygenierung unter isovolämer Hämodilution im Vergleich zu Hydroxyäthylstärke untersucht.

18 Foxhounds wurden in diesen Versuch eingeschlossen. Zunächst wurden die Tiere narkotisiert und chirurgisch präpariert. Die Anästhesie wurde als totale intravenöse Anästhesie mit Midazolam, Fentanyl und Rocuronium aufrecht erhalten. Die Tiere wurden kontrolliert normoventiliert ( $FiO_2:0,3$ ) und mit Kathetern zur Bestimmung der Hämodynamik und Blutgase instrumentiert. Nach einer Ruhephase von 45 min erfolgte die Messung der Ausgangswerte. Die Messung des Sauerstoffpartialdruckes des Skelettmuskels erfolgte im M. quadrizeps femoris lateralis mit der Feinnadelektrode nach Fleckenstein. In der Leber wurde die Bestimmung der Gewebeoxygenierung mit einer flexiblen polarographischen Messsonde durchgeführt.

Anschließend wurden die Hunde randomisiert und in drei Gruppen eingeteilt. Tiere der ersten Gruppe (Ringer-Gruppe) dienten als Kontrollgruppe und erhielten über den Versuchszeitraum lediglich eine Ringerinfusion, ohne hämodiluiert zu werden. Ein 2., 3. und 4. Messpunkt wurde nach jeweils 20, 40 und 100 min durchgeführt. In der zweiten Gruppe (HES-Gruppe) wurde im Anschluss an die Messung der Ausgangswerte eine isovoläme Hämodilution mit Hydroxyäthylstärke durchgeführt bis der Hämatokrit 25% betrug. Ein zweiter Messpunkt wurde nach Beendigung der Hämodilution durchgeführt, sowie ein 3. und 4. Messpunkt jeweils nach 40 und 100 min. Bei den Tieren der dritten Gruppe (HBOC-201-Gruppe) wurde wie in der HES-Gruppe eine isovoläme Hämodilution durchgeführt. Allerdings erhielten diese Tiere Ringerlösung als Volumenersatz. Nach der Hämodilution wurde der zweite Messpunkt durchgeführt. Anschließend wurde diesen Tieren 0,6g/kg HBOC-201 appliziert und der 3. Messpunkt durchgeführt. Nach 100 min wurden die Werte des 4. Messpunktes aufgenommen. In allen drei Gruppen wurde die Infusionsmenge von Ringerlösung oder Hydroxyäthylstärke so gewählt, dass der pulmonalkapilläre Verschlussdruck als Maß für Isovolumie konstant blieben.

Während der Hämodilution konnte in beiden Untersuchungsgruppen Isovolämie bewahrt werden. Nach Applikation von HBOC-201 kam es zu einem Anstieg der pulmonalen und systemischen Gefäßwiderstände. Herzindex, Schlagvolumen und Herzzeitvolumen stiegen unter Hämodilution mit Hydroxyäthylstärke an. Nach Hämodilution stiegen die Sauerstoffpartialdrücke im Skelettmuskel und in der Leber gleichermaßen an. Eine weitere Steigerung der Gewebeoxygenierung konnte durch HBOC-201-Infusion erzielt werden. Die Sauerstoffpartialdrücke, die nach Hydroxyäthylstärkebehandlung erzielt wurden, waren niedriger als in der HBOC-201-Gruppe. Nach HBOC-201 Infusion kam es zu einer höheren Sauerstoffextraktionsrate im Gewebe als nach Infusion von Hydroxyäthylstärke.

Es konnte gezeigt werden, dass die Tiere unter isovolämer Hämodilution mit Hydroxyäthylstärke und HBOC-201 hämodynamisch stabil waren. Nach zusätzlicher Infusion von 0,6g/kg HBOC-201 kam es zu einer erhöhten Sauerstoffextraktion, was in höheren Sauerstoffpartialdrücken im Gewebe zentraler (Leber) und peripherer Organe (Skelettmuskel) resultierte.

## 6. Literatur

1. Aach RD, Stevens CE, Hollinger FB, Mosley JW, Peterson DA, *et al.*: Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis. An analysis with first- and second-generation assays. *N Engl J Med* 1991; 325: 1325-9.
2. Abassi Z, Kotob S, Pieruzzi F, Abouassali M, Keiser HR, *et al.*: Effects of polymerization on the hypertensive action of diaspirin cross-linked hemoglobin in rats. *J Lab Clin Med* 1997; 129: 603-10.
3. Adler SP: Transfusion-associated cytomegalovirus infections. *Rev Infect Dis* 1983; 5: 977-93.
4. Alayash AI, Ryan BA, Fratantoni JC, Cashon RE: Redox reactivity of modified hemoglobins with hydrogen peroxide and nitric oxide: toxicological implications. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1994; 22: 373-86.
5. Amberson WRJ, J.J.; Rhode, C.M.: Clinical Experience with hemoglobin-saline solutions. *J. Appl. Physiol.* 1949; 1: 469-489
6. Amberson WRM, A.G.; Steggerds, F.R.: Mammalian life without red blood corpuscles. *Science* 1933; 78: 106-107
7. Azari M, Ebeling A, Baker R, Burhop K, Camacho T, *et al.*: Validation of the heat treatment step used in the production of diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb) for viral inactivation. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1998; 26: 577-82.
8. Azhigirova MA, Vashkevich MG, Kontuganov NN, Loginova LN: [The effect of the degree of hemoglobin polymerization on its interaction with the body]. *Biull Eksp Biol Med* 1990; 109: 262-4.
9. Azhigirova MA, Viazova EP, Vashkevich MG, Fetisova LV, Kontuganov NN: [Biochemical properties of intramolecularly cross-linked hemoglobin]. *Biull Eksp Biol Med* 1988; 106: 302-4.
10. Benesch R, Benesch RE: Intracellular organic phosphates as regulators of oxygen release by haemoglobin. *Nature* 1969; 221: 618-22
11. Benesch R, Benesch RE: Preparation and properties of hemoglobin modified with derivatives of pyridoxal. *Methods Enzymol* 1981; 76: 147-59.

12. Benesch RE, Benesch R, Renthal RD, Maeda N: Affinity labeling of the polyphosphate binding site of hemoglobin. *Biochemistry* 1972; 11: 3576-82.
13. Biro GP, Beresford-Kroeger D: The effect of hemodilution with stroma-free hemoglobin and dextran on collateral perfusion of ischemic myocardium in the dog. *Am Heart J* 1980; 99: 64-75.
14. Bleeker WK, Berbers GA, den Boer PJ, Agterberg J, Rigter G, *et al.*: Effect of polymerization on clearance and degradation of free hemoglobin. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* 1992; 20: 747-50.
15. Blumberg N, Chuang-Stein C, Heal JM: The relationship of blood transfusion, tumor staging, and cancer recurrence. *Transfusion* 1990; 30: 291-4.
16. Blumgart LHM, R.T.; Nagorney, D.M.: Liver blood flow: physiology, measurement and clinical relevance, *Surgery of the liver and the biliary tract*. Edited by Blumgart LH, Churchill Livingstone
17. Blundell J: Experiments on the transfusion of blood by the syringe. *Med. Chir. Trans.* 1818; 9: 56-92
18. Bone HG, Schenarts PJ, Booke M, McGuire R, Harper D, *et al.*: Oxalated pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene conjugate normalizes the hyperdynamic circulation in septic sheep. *Crit Care Med* 1997; 25: 1010-8.
19. Bove JR: Transfusion-associated hepatitis and AIDS. What is the risk? *N Engl J Med* 1987; 317: 242-5.
20. Bove JR: Transfusion-transmitted diseases other than AIDS and hepatitis. *Yale J Biol Med* 1990; 63: 347-51.
21. Bowes MP, Burhop KE, Zivin JA: Diaspirin cross-linked hemoglobin improves neurological outcome following reversible but not irreversible CNS ischemia in rabbits. *Stroke* 1994; 25: 2253-7.
22. Breepoel PM, Kreuzer F, Hazevoet M: Interaction of organic phosphates with bovine hemoglobin. I. Oxylabile and phosphate-labile proton binding. *Pflugers Arch* 1981; 389: 219-25.
23. Bunn HF, Jandl JH: The renal handling of hemoglobin. *Trans Assoc Am Physicians* 1968; 81: 147-52.

24. Capdevila X, Calvet Y, Biboulet P, Biron C, Rubenovitch J, *et al.*: Aprotinin decreases blood loss and homologous transfusions in patients undergoing major orthopedic surgery. *Anesthesiology* 1998; 88: 50-7.
25. Caron A, Menu P, Faivre-Fiorina B, Labrude P, Alayash AI, *et al.*: Cardiovascular and hemorheological effects of three modified human hemoglobin solutions in hemodiluted rabbits. *J Appl Physiol* 1999; 86: 541-8.
26. Chang TM, Varma R: Immunological and systemic effects of transfusions in rats using pyridoxylated hemoglobin and polyhemoglobin from homologous and heterogeneous sources. *Biomater Artif Cells Artif Organs* 1988; 16: 205-15.
27. Chappell JE, McBride WJ, Shackford SR: Diaspirin cross-linked hemoglobin resuscitation improves cerebral perfusion after head injury and shock. *J Trauma* 1996; 41: 781-8.
28. Clark LC, Jr., Gollan F: Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science* 1966; 152: 1755-6.
29. Clark LC, Jr., Wesseler EP, Kaplan S, Miller ML, Becker C, *et al.*: Emulsions of perfluorinated solvents for intravascular gas transport. *Fed Proc* 1975; 34: 1468-77.
30. Clark LCW, D; Taylor, Z.: Continuous recording of blood oxygen tensions by polarographie. *J. Appl. Physiol.* 1953; 6: 189-193
31. Cohen ND, Munoz A, Reitz BA, Ness PK, Frazier OH, *et al.*: Transmission of retroviruses by transfusion of screened blood in patients undergoing cardiac surgery. *N Engl J Med* 1989; 320: 1172-6.
32. Cole DJ, Schell RM, Drummond JC, Reynolds L: Focal cerebral ischemia in rats. Effect of hypervolemic hemodilution with diaspirin cross-linked hemoglobin versus albumin on brain injury and edema. *Anesthesiology* 1993; 78: 335-42
33. Conover CD, Linberg R, Gilbert CW, Shum KL, Shorr RG: Effect of polyethylene glycol conjugated bovine hemoglobin in both top-load and exchange transfusion rat models. *Artif Organs* 1997; 21: 1066-75.

34. Cutler BS: Avoidance of homologous transfusion in aortic operations: the role of autotransfusion, hemodilution, and surgical technique. *Surgery* 1984; 95: 717-23.
35. D'Agnillo F, Chang TM: Polyhemoglobin-superoxide dismutase-catalase as a blood substitute with antioxidant properties. *Nat Biotechnol* 1998; 16: 667-71.
36. De Venuto F, Zuck TF, Zegna AI, Moores WY: Characteristics of stroma-free hemoglobin prepared by crystallization. *J Lab Clin Med* 1977; 89: 509-16.
37. Dietrich W: [The effect of colloid volume substitution on blood coagulation]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1998; 33: 266-8.
38. Dietrich W, Barankay A, Dilthey G, Mitto HP, Richter JA: Reduction of blood utilization during myocardial revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 97: 213-9.
39. Dodd RY: The risk of transfusion-transmitted infection. *N Engl J Med* 1992; 327: 419-21.
40. Faithfull NS: Oxygen delivery from fluorocarbon emulsions--aspects of convective and diffusive transport. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* 1992; 20: 797-804.
41. Faivre-Fiorina B, Caron A, Fassot C, Fries I, Menu P, *et al.*: Presence of hemoglobin inside aortic endothelial cells after cell-free hemoglobin administration in guinea pigs. *Am J Physiol* 1999; 276: H766-70.
42. Federspiel WJ, Popel AS: A theoretical analysis of the effect of the particulate nature of blood on oxygen release in capillaries. *Microvasc Res* 1986; 32: 164-89.
43. Feola M, Gonzalez H, Canizaro PC, Bingham D, Periman P: Development of a bovine stroma-free hemoglobin solution as a blood substitute. *Surg Gynecol Obstet* 1983; 157: 399-408.
44. Feola M, Simoni J, Angelillo R, Lühruma Z, Kabakele M, *et al.*: Clinical trial of a hemoglobin based blood substitute in patients with sickle cell anemia. *Surg Gynecol Obstet* 1992; 174: 379-86.

45. Fleckenstein W, Heinrich R, Grauer W, Schomerus H, Dolle W, *et al.*: Fast local regulations of muscle pO<sub>2</sub>-fields in patients suffering from cirrhosis of the liver. *Adv Exp Med Biol* 1984; 180: 687-94.
46. Fleckenstein W, Weiss C: A comparison of Po<sub>2</sub> histograms from rabbit hind-limb muscles obtained by simultaneous measurements with hypodermic needle electrodes and with surface electrodes. *Adv Exp Med Biol* 1984; 169: 447-55.
47. Fleckenstein WS, A.;Heinrich, R.; Nollert, G.: On the difference between muscle pO<sub>2</sub> measurements obtained with hypodermic needle probes and with multiwire surface probes. Part 2: Systemic diffusion error of the multiwire surface pO<sub>2</sub> probe when applied on the tissue. Berlin, Blackwell Überreuter Wissenschaft, 1990
48. Fleckenstein WS, A; Heinrich, R.; Petersen, C.; Gründerroth-Palmowsky, M; Nollert, G.: On the difference between muscle pO<sub>2</sub> measurements obtained with hypodermic needle probes and with multiwire surface probes. Part 1: Differences between tissue pO<sub>2</sub> and tissue surface pO<sub>2</sub> observed in dog gracilis muscle. Berlin, Blackwell Überreuter Wissenschaft, 1990
49. Fleckenstein WW, C.; Heinrich, R.; Schomerus, H.; Kersting, T: A new method for the bed-side recording of tissue pO<sub>2</sub>-histograms. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 1984; 90: 439-443
50. Friedman HI, DeVenuto F: Morphological effects of transfusions with hemoglobin solutions. *Crit Care Med* 1982; 10: 288-93.
51. Friedman HI, DeVenuto F, Zuck TF, Mellick P, Lollini L: Histologic and ultrastructural effects of stroma-free hemoglobin solutions on rat liver, kidney, and brain. *Surg Forum* 1977; 28: 3-5.
52. Fronticelli C, Bucci E, Orth C: Solvent regulation of oxygen affinity in hemoglobin. Sensitivity of bovine hemoglobin to chloride ions. *J Biol Chem* 1984; 259: 10841-4.
53. Galandiuk S, George CD, Pietsch JD, Byck DC, DeWeese RC, *et al.*: An experimental assessment of the effect of blood transfusion on susceptibility to bacterial infection. *Surgery* 1990; 108: 567-71.

54. Gilroy D, Shaw C, Parry E, Odling-Smee W: Detection of a vasoconstrictor factor in stroma-free haemoglobin solutions. *J Trauma* 1988; 28: 1312-6.
55. Gleichmann UL, D.W.: Die Messung des Sauerstoffpartialdruckes in Gasen und Flüssigkeiten mit der pt-Elektrode unter besonderer Berücksichtigung der Messung im Blut. *Pflugers Arch ges Physiol* 1960; 271: 431-444
56. Goodnough LT, Monk TG, Andriole GL: Erythropoietin therapy. *N Engl J Med* 1997; 336: 933-8.
57. Gotoh K, Matsumura H, Morioka T, Nishi K: Effects of pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene conjugate and stroma free hemoglobin on pulmonary vascular responsiveness to vasoactive substances in isolated perfused rat lungs. *Artif Organs* 1992; 16: 586-91.
58. Gould SA, Moore EE, Hoyt DB, Burch JM, Haenel JB, *et al.*: The first randomized trial of human polymerized hemoglobin as a blood substitute in acute trauma and emergent surgery. *J Am Coll Surg* 1998; 187: 113-20; discussion 120-2.
59. Gould SA, Moore EE, Moore FA, Haenel JB, Burch JM, *et al.*: Clinical utility of human polymerized hemoglobin as a blood substitute after acute trauma and urgent surgery. *J Trauma* 1997; 43: 325-31; discussion 331-2.
60. Gould SA, Moss GS: Clinical development of human polymerized hemoglobin as a blood substitute. *World J Surg* 1996; 20: 1200-7.
61. Gould SA, Rosen A, Sehgal L, Noud G, Sehgal H, *et al.*: The effect of altered hemoglobin-oxygen affinity on oxygen transport by hemoglobin solution. *J Surg Res* 1980; 28: 246-51.
62. Gould SA, Rosen AL, Sehgal LR, Sehgal HL, Langdale LA, *et al.*: Fluosol-DA as a red-cell substitute in acute anemia. *N Engl J Med* 1986; 314: 1653-6.
63. Gould SA, Rosen AL, Sehgal LR, Sehgal HL, Rice CL, *et al.*: Red cell substitutes: hemoglobin solution or fluorocarbon? *J Trauma* 1982; 22: 736-40.

64. Gould SA, Sehgal LR, Rosen AL, Sehgal HL, Moss GS: The development of polymerized pyridoxylated hemoglobin solution as a red cell substitute. *Ann Emerg Med* 1986; 15: 1416-9.
65. Greenburg AG, Hayashi R, Siefert I, Reese H, Peskin GW: Intravascular persistence and oxygen delivery of pyridoxalated, stroma-free hemoglobin during gradations of hypotension. *Surgery* 1979; 86: 13-6.
66. Greif R, Akca O, Horn EP, Kurz A, Sessler D, *et al.*: Supplemental perioperative oxygen to reduce the incidence of surgical-wound infection. Outcomes Research Group [see comments]. *N Engl J Med* 2000; 342: 161-7
67. Gulati A, Sen AP: Dose-dependent effect of diaspirin cross-linked hemoglobin on regional blood circulation of severely hemorrhaged rats. *Shock* 1998; 9: 65-73.
68. Gulati A, Sharma AC, Burhop KE: Effect of stroma-free hemoglobin and diaspirin cross-linked hemoglobin on the regional circulation and systemic hemodynamics. *Life Sci* 1994; 55: 827-37.
69. Haberkern M, Dangel P: Normovolaemic haemodilution and intraoperative auto-transfusion in children: experience with 30 cases of spinal fusion. *Eur J Pediatr Surg* 1991; 1: 30-5.
70. Hamilton PBF, L.E.; Hiller, A.; van Slyke, D.D.: Preparation of hemoglobin solutions for intravenous infusion. *J Exp Med* 1947; 86: 455-463
71. Harke H, Pieper C, Meredig J, Rahman S, Russler P: [Rheological and clotting investigations after the infusion of HES 200/0.5 and dextran 40. A comparative clinical trial (author's transl)]. *Anaesthesist* 1980; 29: 71-7.
72. Harringer W, Hodakowski GT, Svizzero T, Jacobs EE, Jr., Vlahakes GJ: Acute effects of massive transfusion of a bovine hemoglobin blood substitute in a canine model of hemorrhagic shock. *Eur J Cardiothorac Surg* 1992; 6: 649-54; discussion 654
73. Hauser CJ, Shoemaker WC: Hemoglobin solution in the treatment of hemorrhagic shock. *Crit Care Med* 1982; 10: 283-7.

74. Heneka MT, Loschmann PA, Osswald H: Polymerized hemoglobin restores cardiovascular and kidney function in endotoxin-induced shock in the rat. *J Clin Invest* 1997; 99: 47-54
75. Hess JR, MacDonald VW, Brinkley WW: Systemic and pulmonary hypertension after resuscitation with cell-free hemoglobin. *J Appl Physiol* 1993; 74: 1769-78.
76. Hess JR, Reiss RF: Resuscitation and the limited utility of the present generation of blood substitutes. *Transfus Med Rev* 1996; 10: 276-85.
77. Hobbhahn J, Vogel H, Kothe N, Brendel W, Peter K, *et al.*: Hemodynamics and oxygen transport after partial and total blood exchange with pyridoxalated polyhemoglobin in dogs. *Acta Anaesthesiol Scand* 1985; 29: 537-43.
78. Horn EP, Standl T, Wilhelm S, Jacobs EE, Freitag U, *et al.*: [Bovine hemoglobin. HBOC-201 prevents a reduction of the oxygen partial pressure in poststenotic skeletal muscle]. *Anaesthesist* 1998; 47: 116-23
79. Hughes GS, Antal EJ, Locker PK, Francom SF, Adams WJ, *et al.*: Physiology and pharmacokinetics of a novel hemoglobin-based oxygen carrier in humans. *Crit Care Med* 1996; 24: 756-64.
80. Johnson JL, Moore EE, Offner PJ, Haenel JB, Hides GA, *et al.*: Resuscitation of the injured patient with polymerized stroma-free hemoglobin does not produce systemic or pulmonary hypertension. *Am J Surg* 1998; 176: 612-7.
81. Kasper SM, Grune F, Walter M, Amr N, Erasmi H, *et al.*: The effects of increased doses of bovine hemoglobin on hemodynamics and oxygen transport in patients undergoing preoperative hemodilution for elective abdominal aortic surgery. *Anesth Analg* 1998; 87: 284-91
82. Kasper SM, Walter M, Grune F, Bischoff A, Erasmi H, *et al.*: Effects of a hemoglobin-based oxygen carrier (HBOC-201) on hemodynamics and oxygen transport in patients undergoing preoperative hemodilution for elective abdominal aortic surgery. *Anesth Analg* 1996; 83: 921-7.
83. Keipert PE, Gonzales A, Gomez CL, MacDonald VW, Hess JR, *et al.*: Acute changes in systemic blood pressure and urine output of

- conscious rats following exchange transfusion with diaspirin-crosslinked hemoglobin solution. *Transfusion* 1993; 33: 701-8.
84. Kessler MG, W: Possibilities of measuring oxygen pressure fields in tissue by multiwire platinum electrodes. *Prog Resp Res* 1969; 3: 147-152
  85. Kessler ML, D.W.: Bestimmung des kritischen Sauerstoffdruckes an isolierten Lebermitochondrien. *Pflugers Arch* 1964; 281: 50
  86. Kopko PM, Holland PV: Transfusion-related acute lung injury. *Br J Haematol* 1999; 105: 322-9.
  87. Krieter H, Hagen G, Waschke KF, Kohler A, Wenneis B, *et al.*: Isovolemic hemodilution with a bovine hemoglobin-based oxygen carrier: effects on hemodynamics and oxygen transport in comparison with a nonoxygen-carrying volume substitute. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1997; 11: 3-9.
  88. Lamy ML, Daily EK, Brichant JF, Larbuisson RP, Demeyere RH, *et al.*: Randomized trial of diaspirin cross-linked hemoglobin solution as an alternative to blood transfusion after cardiac surgery. The DCLHb Cardiac Surgery Trial Collaborative Group. *Anesthesiology* 2000; 92: 646-56.
  89. Larsen R: *Anästhesie*, 5 Edition, Urban, Schwarzenberg, 1995
  90. Laver MB, Jackson E, Scherperel M, Tung C, Tung W, *et al.*: Hemoglobin-O<sub>2</sub> affinity regulation: DPG, monovalent anions, and hemoglobin concentration. *J Appl Physiol* 1977; 43: 632-42.
  91. Lee R, Atsumi N, Jacobs EE, Austen WG, Vlahakes GJ: Ultrapure, stroma-free, polymerized bovine hemoglobin solution: evaluation of renal toxicity. *J Surg Res* 1989; 47: 407-11.
  92. Lee R, Neyra K, Svizzero TA, Vlahakes GJ: Limitations of the efficacy of hemoglobin-based oxygen-carrying solutions. *J Appl Physiol* 1995; 79: 236-42
  93. Lehninger AI: *Bioenergetik. Molekulare Grundlagen der biologischen Energieumwandlung*, 2 Edition. Stuttgart, Thieme, 1974
  94. Lentschener C, Benhamou D, Mercier FJ, Boyer-Neumann C, Naveau S, *et al.*: Aprotinin reduces blood loss in patients undergoing elective liver resection. *Anesth Analg* 1997; 84: 875-81.

95. Lenz G, Junger H, van den Ende R, Brotman B, Prince AM: Hemodynamic effects after partial exchange transfusion with pyridoxylated polyhemoglobin in chimpanzees. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* 1991; 19: 709-18.
96. Liard JF, Kunert MP: Hemodynamic changes induced by low blood oxygen affinity in dogs. *Am J Physiol* 1993; 264: R396-401.
97. Linberg R, Conover CD, Shum KL, Shorr RG: Increased tissue oxygenation and enhanced radiation sensitivity of solid tumors in rodents following polyethylene glycol conjugated bovine hemoglobin administration. *In Vivo* 1998; 12: 167-73.
98. Liu H, Agishi T, Suga H, Hayasaka Y, Teraoka S, *et al.*: The effect of total blood exchange with PHP solution on cardiac xenotransplantation. *Artif Organs* 1995; 19: 324-7.
99. Ljungström KG: Colloid safety: fact and fiction. *Baillieres Clinical Anaesthesiology* 1997; 11: 163-177
100. Loke KE, Forfia PR, Recchia FA, Xu X, Osorio JC, *et al.*: Bovine polymerized hemoglobin increases cardiac oxygen consumption and alters myocardial substrate metabolism in conscious dogs: role of nitric oxide. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000; 35: 84-92.
101. Macdonald VW, Winslow RM, Marini MA, Klinker MT: Coronary vasoconstrictor activity of purified and modified human hemoglobin. *Biomater Artif Cells Artif Organs* 1990; 18: 263-82.
102. Marchand G, Dunlap E, Farrell L, Nigro C, Burhop K: Resuscitation with increasing doses of diaspirin crosslinked hemoglobin in swine. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1996; 24: 469-87.
103. Martin W, Villani GM, Jothianandan D, Furchgott RF: Blockade of endothelium-dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation of rabbit aorta by certain ferrous hemoproteins. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 233: 679-85.
104. Martin W, Villani GM, Jothianandan D, Furchgott RF: Selective blockade of endothelium-dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 232: 708-16.

105. Matsuda N, Nakai K, Amano M, Takahashi TA, Ohta T, *et al.*: The quality control of stroma-free hemoglobin: lysophosphatidylcholine, a component of stromal phospholipids, as candidate vasoconstrictive factor. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1994; 22: 939-44.
106. McKenzie JE, Cost EA, Scandling DM, Ahle NW, Savage RW: Effects of diaspirin crosslinked haemoglobin during coronary angioplasty in the swine. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1188-92.
107. Mezrow CK, Bergstein I, Tartter PI: Postoperative infections following autologous and homologous blood transfusions. *Transfusion* 1992; 32: 27-30.
108. Mitsuno T, Ohyanagi H, Naito R: Clinical studies of a perfluorochemical whole blood substitute (Fluosol-DA) Summary of 186 cases. *Ann Surg* 1982; 195: 60-9.
109. Modell JH, Calderwood HW, Ruiz BC, Tham MK, Hood CI: Liquid ventilation of primates. *Chest* 1976; 69: 79-81.
110. Modell JH, Newby EJ, Ruiz BC: Long-term survival of dogs after breathing oxygenated fluorocarbon liquid. *Fed Proc* 1970; 29: 1731-6.
111. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-42.
112. Mourelatos MG, Enzer N, Ferguson JL, Rypins EB, Burhop KE, *et al.*: The effects of diaspirin cross-linked hemoglobin in sepsis. *Shock* 1996; 5: 141-8.
113. Naito R, Yokoyama K: An improved perfluorodecalin emulsion. *Prog Clin Biol Res* 1978; 19: 81-9.
114. Ness PM, Bourke DL, Walsh PC: A randomized trial of perioperative hemodilution versus transfusion of preoperatively deposited autologous blood in elective surgery. *Transfusion* 1992; 32: 226-30.
115. Ning J, Anderson PJ, Biro GP: Resuscitation of bled dogs with pyridoxalated-polymerized hemoglobin solution. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* 1992; 20: 525-30.
116. Novak L, Shackford SR, Bourguignon P, Nichols P, Buckingham S, *et al.*: Comparison of standard and alternative prehospital resuscitation in uncontrolled hemorrhagic shock and head injury. *J Trauma* 1999; 47: 834-44.

117. Owings DV, Kruskall MS, Thurer RL, Donovan LM: Autologous blood donations prior to elective cardiac surgery. Safety and effect on subsequent blood use. *Jama* 1989; 262: 1963-8.
118. Page TC, Light WR, McKay CB, Hellums JD: Oxygen transport by erythrocyte/hemoglobin solution mixtures in an in vitro capillary as a model of hemoglobin-based oxygen carrier performance. *Microvasc Res* 1998; 55: 54-64
119. Petroianu GA, Liu J, Maleck WH, Mattinger C, Bergler WF: The effect of In vitro hemodilution with gelatin, dextran, hydroxyethyl starch, or Ringer's solution on Thrombelastograph. *Anesth Analg* 2000; 90: 795-800.
120. Pickelmann S, Nolte D, Leiderer R, Schutze E, Messmer K: Attenuation of postischemic reperfusion injury in striated skin muscle by diaspirin-cross-linked Hb. *Am J Physiol* 1998; 275: H361-8
121. Pristoupil TI, Sterbikova J, Vrana M, Havlickova J, Matejckova M, *et al.*: Heart protection by cardioplegic solutions containing oxyhemoglobin pretreated by carbontetrachloride and freeze-drying with sucrose. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* 1992; 20: 709-20.
122. Rabiner SF, Helbert JR, Lopas H, Friedman LH: Evaluation of a stroma-free hemoglobin solution for use as a plasma expander. *J Exp Med* 1967; 126: 1127-42.
123. Reah G: Diaspirin crosslinked haemoglobin improves gastric intramucosal ph in critically ill patients. *Intensive Care Med* 1996; 22: S441
124. Reah G, Bodenham AR, Mallick A, Daily EK, Przybelski RJ: Initial evaluation of diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb) as a vasopressor in critically ill patients. *Crit Care Med* 1997; 25: 1480-8.
125. Remy B, Deby-Dupont G, Lamy M: Red blood cell substitutes: fluorocarbon emulsions and haemoglobin solutions. *Br Med Bull* 1999; 55: 277-98.
126. Rich JB: The efficacy and safety of aprotinin use in cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 1998; 66: S6-11; discussion S25-8.

127. Riess JG: Reassessment of criteria for the selection of perfluorochemicals for second-generation blood substitutes: analysis of structure/property relationships. *Artif Organs* 1984; 8: 44-56.
128. Riess JG, Krafft MP: Elaboration of fluorocarbon emulsions with improved oxygen-carrying capabilities. *Adv Exp Med Biol* 1992; 317: 465-72.
129. Riess JG, Postel M: Stability and stabilization of fluorocarbon emulsions destined for injection. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* 1992; 20: 819-30.
130. Savitsky JP, Doczi J, Black J, Arnold JD: A clinical safety trial of stroma-free hemoglobin. *Clin Pharmacol Ther* 1978; 23: 73-80.
131. Sazama K: Reports of 355 transfusion-associated deaths: 1976 through 1985. *Transfusion* 1990; 30: 583-90.
132. Schmidt RFT, G.: *Physiologie des Menschen*, 24. Edition, Springer-Lehrbuch, 1990
133. Schulte am Esch JK, E.; Bause, H.: *Anästhesie und Intensivmedizin*, 1 Edition. Stuttgart, Thieme, 2000
134. Schultz SC, Grady B, Cole F, Hamilton I, Burhop K, *et al.*: A role for endothelin and nitric oxide in the pressor response to diaspirin cross-linked hemoglobin. *J Lab Clin Med* 1993; 122: 301-8
135. Sehgal LR, Rosen AL, Gould SA, Sehgal HL, Moss GS: Preparation and in vitro characteristics of polymerized pyridoxylated hemoglobin. *Transfusion* 1983; 23: 158-62.
136. Sehgal LR, Rosen AL, Noud G, Sehgal HL, Gould SA, *et al.*: Large-volume preparation of pyridoxylated hemoglobin with high P50. *J Surg Res* 1981; 30: 14-20.
137. Sekiguchi S, Ito K, Kobayashi M, Ototake N, Kosuda M, *et al.*: Preparation of virus-free pyridoxylated hemoglobin from the blood of HBV or HTLV-I healthy carriers. *Biomater Artif Cells Artif Organs* 1988; 16: 113-21.
138. Sellards A, Minot G: Injection of Haemoglobin in man and its relation to blood destruction, with especial reference to the anaemias. *J Med Res* 1916; 34: 469-494

139. Severinghaus JW, Astrup PB: History of blood gas analysis. VI. Oximetry. *J Clin Monit* 1986; 2: 270-88.
140. Sharma AC, Rebello S, Gulati A: Regional circulatory and systemic hemodynamic effects of diaspirin cross-linked hemoglobin in the rat. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1994; 22: 593-602.
141. Sharma AC, Singh G, Gulati A: Role of NO mechanism in cardiovascular effects of diaspirin cross-linked hemoglobin in anesthetized rats. *Am J Physiol* 1995; 269: H1379-88.
142. Sherman IA, Dlugosz JA, Perelman V, Hsia CJ, Wong LT, *et al.*: Systemic hemodynamic and hepatic microvascular responses to a 33% blood volume exchange with whole blood, stroma-free hemoglobin, and oxypolyhemoglobin solutions. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* 1993; 21: 537-51.
143. Shum KL, Leon A, Viau AT, Pilon D, Nucci M, *et al.*: The physiological and histopathological response of dogs to exchange transfusion with polyethylene glycol-modified bovine hemoglobin (PEG-Hb). *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1996; 24: 655-83.
144. Siegel JH, Fabian M, Smith JA, Costantino D: Use of recombinant hemoglobin solution in reversing lethal hemorrhagic hypovolemic oxygen debt shock. *J Trauma* 1997; 42: 199-212.
145. Silliman CC, Paterson AJ, Dickey WO, Stroneck DF, Popovsky MA, *et al.*: The association of biologically active lipids with the development of transfusion-related acute lung injury: a retrospective study. *Transfusion* 1997; 37: 719-26.
146. Silliman CC, Voelkel NF, Allard JD, Elzi DJ, Tudor RM, *et al.*: Plasma and lipids from stored packed red blood cells cause acute lung injury in an animal model. *J Clin Invest* 1998; 101: 1458-67.
147. Slanetz PJ, Lee R, Page R, Jacobs EE, Jr., LaRaia PJ, *et al.*: Hemoglobin blood substitutes in extended preoperative autologous blood donation: an experimental study. *Surgery* 1994; 115: 246-54.
148. Sloviter HA: Perfusion of the brain and other isolated organs with dispersed perfluoro compounds. *Prog Clin Biol Res* 1978; 19: 27-39.
149. Smart BE: Physical and physiochemical properties. Washington DC, American Chemical Society, 1995

150. Smith CD, Schuschereba ST, Hess JR, McKinney LA, Bunch D, *et al.*: Liver and kidney injury after administration of hemoglobin cross-linked with bis(3,5-dibromosalicyl) fumarate. *Biomater Artif Cells Artif Organs* 1990; 18: 251-61.
151. Soltero RG, Hansbrough JF: Comparison of resuscitation with diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb) vs fresh blood in a rat burn shock model. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1999; 27: 135-52.
152. Song D, Olano M, Wilson DF, Pastuszko A, Tammela O, *et al.*: Comparison of the efficacy of blood and polyethylene glycol-hemoglobin in recovery of newborn piglets from hemorrhagic hypotension: effect on blood pressure, cortical oxygen, and extracellular dopamine in the brain. *Transfusion* 1995; 35: 552-8.
153. Sowade O, Warnke H, Scigalla P, Sowade B, Franke W, *et al.*: Avoidance of allogeneic blood transfusions by treatment with epoetin beta (recombinant human erythropoietin) in patients undergoing open-heart surgery. *Blood* 1997; 89: 411-8.
154. Spahn DR, Willmann PF, Faithfull NS: [The effectiveness of augmented acute normovolemic hemodilution (A-ANH)]. *Anaesthesist* 2001; 50: S49-54.
155. Spence RK, Norcross ED, Costabile J, McCoy S, Cernaianu AC, *et al.*: Perfluorocarbons as blood substitutes: the early years. Experience with Fluosol DA-20% in the 1980s. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1994; 22: 955-63.
156. Standl T, Burmeister MA, Horn EP, Wilhelm S, Knoefel WT, *et al.*: Bovine haemoglobin-based oxygen carrier for patients undergoing haemodilution before liver resection. *Br J Anaesth* 1998; 80: 189-94
157. Standl T, Horn P, Wilhelm S, Greim C, Freitag M, *et al.*: Bovine haemoglobin is more potent than autologous red blood cells in restoring muscular tissue oxygenation after profound isovolaemic haemodilution in dogs [see comments]. *Can J Anaesth* 1996; 43: 714-23
158. Standl T, Lipfert B, Reeker W, Schulte am Esch J, Lorke DE: [Acute effects of complete blood exchange with ultra-purified hemoglobin solution or hydroxyethyl starch on liver and kidney in the animal model]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1996; 31: 354-61

159. Standl T, Wilhelm S, Horn EP, Burmeister M, Gundlach M, *et al.*: [Preoperative hemodilution with bovine hemoglobin. Acute hemodynamic effects in liver surgery patients ]. *Anaesthesist* 1997; 46: 763-70
160. Standl TG, Reeker W, Redmann G, Kochs E, Werner C, *et al.*: Haemodynamic changes and skeletal muscle oxygen tension during complete blood exchange with ultrapurified polymerized bovine haemoglobin. *Intensive Care Med* 1997; 23: 865-72
161. Stephenson KR, Steinberg SM, Hughes KS, Vetto JT, Sugarbaker PH, *et al.*: Perioperative blood transfusions are associated with decreased time to recurrence and decreased survival after resection of colorectal liver metastases. *Ann Surg* 1988; 208: 679-87.
162. Stryer L: *Biochemistry*, 1988
163. Takahashi T, Iwasaki K, Malchesky PS, Harasaki H, Emoto H, *et al.*: Effects of single-dose infusion of pyridoxalated-hemoglobin-polyoxyethylene conjugate solution on canine renal function. *Artif Organs* 1991; 15: 462-73.
164. Tanaka J, Takino H, Malchesky PS, Walsh RM: Does oxygen supply improve graft viability in liver preservation? *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* 1992; 20: 545-8.
165. Tector AJ, Gabriel RP, Matericka WE, Oparah SS, Flemma RJ, *et al.*: Reduction of blood usage in open heart surgery. *Chest* 1976; 70: 454-7.
166. Teicher BA, Dupuis NP, Emi Y, Ikebe M, Kakeji Y, *et al.*: Increased efficacy of chemo- and radio-therapy by a hemoglobin solution in the 9L gliosarcoma. *In Vivo* 1995; 9: 11-8.
167. Thaler M, Shamiss A, Orgad S, Huszar M, Nussinovitch N, *et al.*: The role of blood from HLA-homozygous donors in fatal transfusion-associated graft-versus-host disease after open-heart surgery. *N Engl J Med* 1989; 321: 25-8.
168. Thompson A, McGarry AE, Valeri CR, Lieberthal W: Stroma-free hemoglobin increases blood pressure and GFR in the hypotensive rat: role of nitric oxide. *J Appl Physiol* 1994; 77: 2348-54.

169. Urbaitis BK, Razynska A, Corteza Q, Fronticelli C, Bucci E: Intravascular retention and renal handling of purified natural and intramolecularly cross-linked hemoglobins. *J Lab Clin Med* 1991; 117: 115-21.
170. van Iterson M, Sinaasappel M, Burhop K, Trouwborst A, Ince C: Low-volume resuscitation with a hemoglobin-based oxygen carrier after hemorrhage improves gut microvascular oxygenation in swine. *J Lab Clin Med* 1998; 132: 421-31.
171. Vercellotti GM, Hammerschmidt DE, Craddock PR, Jacob HS: Activation of plasma complement by perfluorocarbon artificial blood: probable mechanism of adverse pulmonary reactions in treated patients and rationale for corticosteroids prophylaxis. *Blood* 1982; 59: 1299-1304.
172. Vlahakes GJ, Lee R, Jacobs EE, LaRaia PJ, Austen WG: Hemodynamic effects and oxygen transport properties of a new blood substitute in a model of massive blood replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 100: 379-88.
173. Ward JW, Holmberg SD, Allen JR, Cohn DL, Critchley SE, *et al.*: Transmission of human immunodeficiency virus (HIV) by blood transfusions screened as negative for HIV antibody. *N Engl J Med* 1988; 318: 473-8.
174. Waschke K, Krieter H, Albrecht DM, van Ackern K, Kuschinsky W: [Modified hemoglobin as a blood substitute in a rat model]. *Anaesthesist* 1993; 42: 90-5.
175. Xu L, Sun L, Rollwagen FM, Li Y, Pacheco ND, *et al.*: Cellular responses to surgical trauma, hemorrhage, and resuscitation with diaspirin cross-linked hemoglobin in rats. *J Trauma* 1997; 42: 32-41.

## 7. Danksagung

Herrn Prof. J. Schulte am Esch möchte ich für die Überlassung des Themas und für die Ermöglichung der Teilnahme an diesem Versuch danken.

Herrn Prof. Standl danke ich für die ständige Unterstützung während der Versuchsdurchführung sowie der Gliederung und der kritischen Durchsicht der Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank und meine Anerkennung gelten Herrn Dr. Burmeister, der mich beim experimentellen sowie beim schriftlichen Teil der Arbeit mit viel Engagement betreut hat und jeder Zeit für Fragen und Hilfestellung zur Verfügung stand.

Frau Dr. Bangert, Herrn Dr. Horn, und Frau Karaka möchte ich für die freundliche und unkomplizierte Zusammenarbeit bei der Durchführung des Versuches danken. Sie hatten zu jeder Zeit ein offenes Ohr für mich und standen mir mit Rat und Tat zur Seite.

Herrn Stefan Grieben danke ich für die praktische Hilfe im Umgang mit dem Computer.

Meiner Familie danke ich nicht nur, sondern ihr ist diese Arbeit gewidmet.

## 8. Lebenslauf

Michaela Patricia Radtke  
 Uhlenhorster Weg 24  
 22085 Hamburg

geb. am  
 22.08.72  
 in München  
 ledig

---

### Beruf

Seit Aug. 2000      Ärztin im Praktikum in der Klinik und Poliklinik für  
 Anästhesiologie des Universitätsklinikums Hamburg-  
 Eppendorf

### Studium

1993 bis 2000      Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg  
 März 1995          Vorärztliche Prüfung  
 März 1996          Ärztlich Prüfung, 1. Abschnitt  
 Oktober 1997      1. Amerikanisches Staatsexamen (USMLE Step 1)  
 August 1998      Ärztliche Prüfung, 2. Abschnitt  
 Juni 2000          Ärztliche Prüfung, 3. Abschnitt

### Schul- und Berufsbildung

1978-1982          Grundschule in Hamburg  
 1982-1990          Gymnasium, Deutsche Schule Lissabon, Portugal  
 1990-1992          Ausbildung zur Industriekauffrau, Stammhauslehre im  
 Hause Siemens, Hamburg

## 9. Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Hamburg, im Jahre 2001

Patricia Radtke

