

Universität Hamburg
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie
Direktor: Prof. Dr. med. J. R. Izbicki

DISSERTATION

**Effekte der therapeutischen Gabe der zellfreien Hämoglobinlösung
HBOC-301 (Oxyglobin™) auf die Gewebsoxygenierung des Pankreas
bei schwerer akuter Pankreatitis im Großtiermodell**

zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg
vorgelegt von

Helen Maya Ameis

aus Starnberg

Hamburg, November 2006

Angenommen von der Medizinischen

Fakultät der Universität Hamburg am:

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen

Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende:

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in:

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in:

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Pathogenese und Ätiologie der akuten Pankreatitis	1
1.2	Fragestellung	3
2	Material und Methoden	4
2.1	Tierschutz	4
2.2	Versuchstiere	4
2.3	Anästhesie	5
2.4	Halsgefäßpräparation	6
2.5	Laparotomie und Präparation	8
2.6	Gemessene und errechnete Parameter	9
	2.6.1 Hämodynamische Parameter	9
	2.6.2 Laborparameter	9
	2.6.3 Errechnete Parameter	10
2.7	Induktion der akuten Pankreatitis	11
2.8	Randomisierung und Gruppenaufteilung	12
2.9	Therapiebeginn	12
	2.9.1 HBOC-301 Oxyglobin™	13
	2.9.2 HES	16
2.10	Messpunkte 3-8	16
2.11	Messung der Makrozirkulation	17
2.12	Messung des Gewebssauerstoffpartialdrucks (tpO ₂)	17
2.13	Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus	19
2.14	Fallzahlberechnung und statistische Methoden	20

3	Ergebnisse	22
3.1	Gewebssauerstoffpartialdruck (tpO ₂) des Pankreas	23
3.2	Überleben	25
3.3	Hämodynamische Parameter	27
3.3.1	Herzfrequenz (HF)	27
3.3.2	Mittlerer arterieller Druck (MAP)	28
3.3.3	Mittlerer pulmonalarterieller Druck (PAP)	30
3.3.4	Cardiac Output (CO)	32
3.3.5	Cardiac Index (CI)	33
3.3.6	Systemischer Widerstand (SVR)	34
3.3.7	Pulmonaler Widerstand (PVR)	35
3.4	Sauerstofftransport	36
3.4.1	Arterieller Sauerstoffgehalt (CaO ₂)	36
3.4.2	Gemischtvenöser Sauerstoffgehalt (CvO ₂)	37
3.4.3	Arteriovenöse Sauerstoffdifferenz (avDO ₂)	38
3.4.4	Sauerstoffangebot (DO ₂)	40
3.4.5	Sauerstoffverbrauch (VO ₂)	41
3.4.6	Sauerstoffextraktion (ERO ₂)	42
3.5	Blutgasanalysen	43
3.5.1	Hämoglobingehalt	43
3.6	Laborchemische Parameter	44
3.6.1	Rheologie	44
3.6.2	Elektrolyte	46
4	Diskussion	47
4.1	Methodenkritik	47
4.1.1	Pankreatitismodell	47
4.1.2	Messmethoden	50

4.1.3	Messung des Gewebssauerstoffpartialdrucks (tpO ₂)	51
4.1.4	Messsubstanzen	54
4.1.5	Statistik	57
4.2	Diskussion der Ergebnisse	58
4.2.1	Hämodynamik	58
4.2.2	Gewebsoxygenierung des Pankreas	62
4.2.3	Überleben	66
4.2.4	Begleiteffekte in der Anwendung von HBOC	67
4.3	Klinische Therapiestrategien bei schwerer akuter Pankreatitis	69
4.4	Experimentelle Therapiestrategien bei schwerer akuter Pankreatitis	73
4.5	Mögliche Indikationen für HBOC in der Zukunft	75
4.6	Ausblick für HBOC in der Behandlung der akuten Pankreatitis	76
5	Zusammenfassung	77
6	Literaturverzeichnis	79
7	Abkürzungen	96
8	Danksagung	98
9	Lebenslauf	99
10	Eidesstattliche Erklärung	100

1 Einleitung

1.1 Pathogenese und Ätiologie der akuten Pankreatitis

Die Inzidenz der akuten Pankreatitis beträgt 10-46 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner pro Jahr [109] und macht damit 2% des klinischen Krankenguts aus. Es handelt sich um eine Erkrankung mit multifaktorieller Ätiologie, deren Inzidenz in den letzten Jahren deutlich gestiegen ist.

Alkoholkonsum und Gallensteinleiden sind für 80% der akuten Pankreatitiden verantwortlich. Weitere mögliche Ursachen sind obstruktive Erkrankungen von Ductus pancreaticus major, Ductus pancreaticus minor oder der Papille, Autoimmunerkrankungen, Erkrankungen des Duodenums, medikamentös-toxische Einflüsse, Drogen und endogene metabolische Erkrankungen wie Hyperlipidämie, Hypercalcämie und Hyperparathyreoidismus.

Unabhängig von der jeweiligen Noxe ergibt sich für die Induktion der akuten Pankreatitis ein vergleichbarer Reaktionsverlauf. Trypsinogen wird nach Eindringen in zytoplasmatische Vakuolen, in denen Kathepsin B vorhanden ist, frühzeitig aktiviert und verursacht nach seiner Ausschüttung ins Zytoplasma und Aktivierung der Proenzyme eine Autodigestion [87,137]. Auch die Bildung von Sauerstoffradikalen trägt zur Entwicklung der akuten Pankreatitis bei [172]. Durch die Acinusschädigung werden proinflammatorische Zytokine wie TNF α , IL-1 und PAF freigesetzt. Dies wirkt chemotaktisch auf Leukozyten, die an exprimierte Adhäsionsmoleküle des Endothels adhärieren, ins Gewebe migrieren und damit die Sekretion weiterer Zytokine stimulieren. Es resultiert eine systemische Inflammation mit Fieber, Tachykardie und Hypotonie [68]. Die entstehenden Pankreasnekrosen dienen aus dem Intesti-

naltrakt translozierenden Bakterien als Replikationsort. Die Bakterien unterhalten die systemische Inflammation und tragen wesentlich zum sekundären Multiorganversagen bei [42].

Einer der zentralen Faktoren in der Pathogenese der schweren Verlaufsform der akuten Pankreatitis ist die gestörte pankreatische Mikrozirkulation. Sie bewirkt die Progredienz von der leichten, ödematösen hin zur schweren hämorrhagischen Form der akuten Pankreatitis [8]. Diese ist trotz Ausschöpfung aller intensivmedizinischen Maßnahmen mit einer Letalität von bis zu 40% behaftet [8,85,92,138,167]. Da die initiale Proteasenaktivierung und Zytokinfreisetzung bereits zum Zeitpunkt der klinischen Präsentation des Patienten irreversibel ist [72] und die Mikrozirkulationsstörung unabhängig von der Ätiologie der Pankreatitis zur Progredienz der Erkrankung führt, bietet die Aufrechterhaltung der Mikrozirkulation des Pankreas eine interessante therapeutische Option in der Behandlung der schweren nekrotisierenden Pankreatitis [168].

Eine zur Verbesserung der Mikrozirkulation geeignete therapeutische Substanz soll die Blutrheologie verbessern und einen optimierten Sauerstofftransport auch in ischämische Gewebsareale ermöglichen. Die ultragereinigte bovine Hämoglobinlösung HBOC-301 (Hemoglobin-Based-Oxygen-Carrier; Oxyglobin® Biopure, USA) gewährleistet durch Verbesserung der Rheologie und den plasmatischen Sauerstofftransport eine gesteigerte Oxygenierung von Gewebsarealen, deren zellulärer Sauerstofftransport nahezu vollständig zum Erliegen gekommen ist. Dieser Effekt der bovinen Hämoglobinlösung, auch minderperfundierte Gewebsareale (95% Stenose) ausreichend zu oxygenieren wurde bereits in umfangreichen Großtierversuchsreihen nachgewiesen [69,153,155].

1.2 Fragestellung

Die Fragestellung zur geplanten Versuchsreihe lautet: Hat die Gabe von HBOC-301 Oxyglobin™ positive Effekte auf den pankreatischen Gewebssauerstoffpartialdruck und die pankreatische Mikrozirkulation? Lässt sich durch Therapie mit HBOC-301 Oxyglobin™ ein Überlebensvorteil gegenüber einer Kontrollgruppe bei Versuchstieren mit akuter Pankreatitis erreichen?

Wenn sich durch die Gabe von HBOC-301 Oxyglobin™ ein Überlebensvorteil bei akuter Pankreatitis im Tiermodell nachweisen ließe, würde dies die klinische Einführung der Substanz zur Therapie von Patienten mit akuter Pankreatitis erheblich erleichtern. In Südafrika ist HBOC-201 bereits für die Therapie perioperativer Anämie Erwachsener zugelassen. HBOC-Lösungen sind von 2°C bis 30°C drei Jahre haltbar und lassen sich wie jede andere Infusionlösung handhaben. Der Mehraufwand neben der bereits etablierten Basistherapie der akuten Pankreatitis ist daher gering. Im Haupteffekt ergäbe sich ein Benefit durch eine für den Patienten wenig belastende und einfach durchzuführende Therapieoption.

2 Material und Methoden

2.1 Tierschutz

Die tierexperimentellen Untersuchungen dieser Versuchsreihe wurden entsprechend dem „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“ von 1996 des National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Science, durchgeführt [118]. Die Genehmigung für diese Versuche erfolgte durch die Behörde für Arbeit, Gesundheit und Soziales der Freien und Hansestadt Hamburg (Antragsnummer 34/03).

2.2 Versuchstiere

Für die Untersuchung wurden 39 Schweine aus dem Deutschen Hybrid-Zuchtprogramm (Züchtungszentrale Deutsches Hybridschwein GmbH) mit einem Körpergewicht von 25-30 kg verwendet. Die Tiere wurden artgerecht nach den Richtlinien des deutschen Tierschutzgesetzes in Gruppen von bis zu fünf Tieren in der Versuchstierhaltung des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf gehalten und der Gesundheitszustand der Tiere veterinärmedizinisch überwacht. Die Ernährung bestand aus einem nährstoff- und vitaminbilanziertem Futter für Schweine (Standarddiät für Schweine, Versuchstierhaltung UKE). Vor Versuchsbeginn wurde ein 36-stündiges Fasten der Tiere bei freiem Zugang zu Wasser und 20%iger Glukoselösung bis zwölf Stunden vor Operationsbeginn sichergestellt. Die Nüchternphase diente der Verbesserung der Präparationsbedingungen und gewährleistete standardisierte Ausgangsbedingungen der Pankreasstimulation.

2.3 Anästhesie

Die Tiere wurden am Morgen des Versuchstages gewogen und der Prämedikation unterzogen. Diese erfolgte mittels intramuskulärer Injektion von 10mg/kg KG Ketamin (Ketanest[®], Atarost GmbH, Twistingen), 4mg/kg KG Azaperon (Stresnil[®], Janssen-Cilag, Neuss) und 0,015mg/kg KG Atropinsulfat (Atropin[®], Braun, Melsung). Die Tiere wurden in den Operationssaal überführt. Dort wurden sie in Rückenlage fixiert (Abb. 1) und mit einem Sensor zur pulsoxymetrischen Messung der Sauerstoffsättigung (Marquette[®], Milwaukee, USA) ausgestattet. Während des gesamten Versuchs wurde strikt auf die Einhaltung der Normothermie von 38°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) der Tiere geachtet. Hierzu wurden Wärmelampen, Wärmedecken (Bair Hugger, Augustine Medical, Inc., Eden Prairie, USA, Stufe IV, 41°C) und angewärmte Infusionslösungen verwendet sowie die Raumtemperatur beständig auf ca. 30°C gehalten. Ein venöser Zugang wurde durch das Legen einer Venenverweilkanüle (Vasofix 1,1mm, Braun, Melsung) am Ohr geschaffen. Nach der Präoxygenierung mit 100% Sauerstoff wurde die Narkose durch intravenöse Injektion von 0,5mg/kg KG Midazolam (Dormicum[®], Hoffmann-LaRoche, Genzach-Wyhlen) und 0,05 mg/kg KG Fentanyl (Fentanyl-Janssen[®], Janssen-Cilag, Neuss) sowie 1mg/kg KG Pantolax induziert. Sodann wurde zum Zweck der mechanischen Ventilation (Romulus 800, Dräger, Lübeck) die endotracheale Intubation (Tubusgröße 6,0-7,0 Ch) vorgenommen. Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde die Ventilation mit Isofluran (Forene[®], Abbott, Wiesbaden) bei einem MAC von 1-1,5 sowie die kontinuierliche i.v. Injektion mittels Präzisionsperfusor (PerfusorSecua[®], Braun, Melsungen) von 0,05mg/kgKG/h Fentanyl gewährleistet. Hierbei wurden der FiO_2 konstant zwischen 0,3-0,4 und der endexpiratorische pCO_2 bei 38-40mmHg (Normocap CO_2 Monitor, Datex, Helsinki) gehalten. Zur Entlastung der oberen gastrointestinalen Abschnitte wurde eine Magensonde gelegt. Nach Rasur der Hals- und Bauchregion wurden EKG Elektroden und eine Nullelektrode für die Di-

athermie angebracht. Es folgte die Hautdesinfektion mit gefärbtem Cutasept® (Bodechemie, Hamburg).



Abb. 1: Anästhesie der Versuchstiere

2.4 Halsgefäßpräparation

Nach steriler Abdeckung der Hals- und Bauchregion wurde ein 10cm langer Hautschnitt entlang des rechten M. sternocleidomastoideus gesetzt. Das Platysma wurde durchtrennt und die Präparation und Anschlingung der Vv. jugulares externa und interna sowie der A. carotis communis vorgenommen. Die Arterie wurde zunächst kranial ligiert und anschließend zwecks Einlage eines Arterienkatheters (Vygon Leader Cath 18 G., 10cm, Braun, Melsungen) kanüliert. Dieser wurde in Seldinger Technik gelegt und an der Gefäßwand fixiert. Daraufhin wurde die Vena jugularis interna fischmaulartig eingeschnitten und eine Schleuse mit Ventil (8 F, Dispomedia, Hamburg) für die spätere Platzierung eines Thermodilutionskatheters (7 F, 110cm, 4 LG, Baxter Deutschland, München) vorgeschoben. Analog zur Vena jugularis interna wurde die Vena jugularis externa eingeschnitten und ein Sheldon

Katheter (12 F, Certofix Trio, SB 1225, Braun, Melsung) sowie ein zentraler Venenkatheter (14 G. Cavafix Certo 335, Braun, Melsungen) eingebracht (Abb. 2). Die Venen wurde kranial ligiert und die Katheter an den jeweiligen Gefäßwänden fixiert. Sodann wurde die Arterie mit dem Monitorsystem (Solar 7000, Maquette, Milwaukee, USA) konnektiert, um neben der regelmäßigen Blutentnahme zur Bestimmung arterieller Blutgase (BGA) sowie laborchemischer Parameter auch eine kontinuierliche Blutdruckmessung möglich zu machen. Der Thermodilutionskatheter wurde mittels Einschwemmtechnik platziert und ermöglichte über einen elektromechanischen Druckabnehmer eine online Registrierung des pulmonalarteriellen Mitteldrucks (PAP) und des zentralvenösen Drucks (ZVD). Zu den jeweiligen Messpunkten erfolgte die Registrierung des pulmonalarteriellen Okklusionsdruckes (PCWP). Aus der Pulmonalarterie wurde zu den entsprechenden Messpunkten eine gemischtvenöse BGA entnommen. Die Bestimmung des Herzzeitvolumens (CO) erfolgte nach der Thermodilutionsmethode. Aus vier Einzelmessungen des CO mit 10 ml NaCl (4°C) am Ende der Inspiration wurde der Mittelwert des jeweiligen Messpunktes berechnet. Messwerte, die mehr als 10% vom Mittelwert abwichen, wurden verworfen und wiederholt. Über den Sheldon Katheter wurde die Volumensubstitution mittels Ringer Infusionslösung (Böhringer, Ingelheim) vorgenommen. Dazu wurde der Volumenstatus der Tiere regelmäßig anhand des PCWP kontrolliert und dieser zwischen 8-12mmHg konstant gehalten und steril abgedeckt. Alle Drucksysteme wurden kontinuierlich mit 0,9% Kochsalzlösung perfundiert und vor jedem Messpunkt gegen einen Referenzwert (rechter Vorhof) auf 0 kalibriert. Nach der Fixierung aller eingebrachten Katheter an der Haut mittels Naht wurde das Wundgebiet gereinigt und die Haut provisorisch verschlossen.

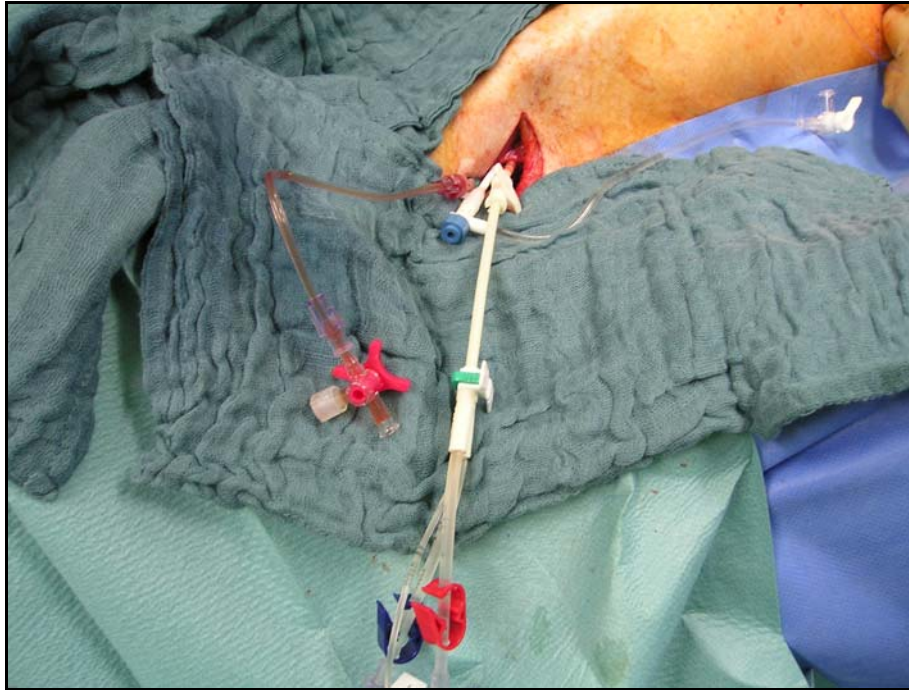


Abb. 2: Präparation der Halsgefäße

2.5 Laparotomie und Präparation

Unterhalb des zweiten Mamillenpaares wurde der Bauchraum durch eine quere Oberbauchlaparotomie eröffnet. Anschließend wurde eine Splenektomie zur Verhinderung von Blutpooling durchgeführt. Die Blasen Vorderwand wurde durch eine Stichinzision eröffnet und ein Blasen-katheter (16 Ch) eingebracht und mittels Tabaksbeutelnaht fixiert. Im weiteren Verlauf wurden Duodenum und Pankreas aufgesucht sowie der Ductus pancreaticus an der Mündung ins Duodenum freipräpariert.

In Pankreaskopf und Leber wurden zur Messung des Gewebssauerstoffpartialdruckes (tpO_2) Licox-Sonden (pO_2 Mikrosonde, GmS, Kiel) mit Hilfe von Enbucrilat Gewebekleber (Histoacryl®, Braun, Melsungen) fixiert. Zwei weitere Sonden wurden zur intraabdominellen Temperaturmessung über Venenverweilkanülen (Vasofix 1,1mm, Braun, Melsungen) durch die Bauchwand vorgeschoben. Der freipräparierte Ductus

pancreaticus wurde fischmaulartig eingeschnitten, um die Kanülierung mittels Venenverweilkanüle (Vasofix 0,8mm, Braun, Melsungen) zu ermöglichen. Zur abschließenden Vorbereitung auf den Messpunkt 0 wurde die Fixierung von Duodenum und Pankreas auf einem Hakensystem mittels Enbucrilat Gewebekleber zwecks späterer Messung der pankreatischen Mikrozirkulation vorgenommen und das Abdomen partiell mit Klemmen provisorisch verschlossen, um den Flüssigkeitsverlust zu minimieren.

2.6 Gemessene und errechnete Parameter

Zu jedem Messpunkt wurden die folgenden gemessenen und errechneten Parameter aufgenommen:

2.6.1 Hämodynamische Parameter

- Herzfrequenz (HF) (min^{-1})
- Mittlerer arterieller Druck (MAP) (mmHg)
- Pulmonalarterieller Druck (PAP) (mmHg)
- Zentralvenöser Druck (ZVD) (mmHg)
- Pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP) (mmHg)
- Cardiac Output (CO) (l/min)

Die hämodynamischen Parameter wurden kontinuierlich mit Hilfe eines Computerprogramms (Solar 2000 Data Logger Version 1.0) aufgezeichnet.

2.6.2 Laborparameter

- Blutgasanalysen (arteriell, gemischtvenös u. periphervenös): pH, pO_2 , pCO_2 , Basenüberschuss [BE], Standard-Bicarbonat [SB] mittels ABL 505 (Radiometer, Copenhagen)

- Hämatokrit [Hkt] nach 5 min Zentrifugation von arteriellem Blut (Haemofuge A, Heraeus Sepatech, FRG)
- Arterielltes Gesamthämoglobin [t-Hb] mittels OSM 3 (Radiometer, Copenhagen)
- Arterielltes freies Hämoglobin [f-Hb] nach 5 min Zentrifugation (Biofuge 17 RS, Heraeus Sepatech, FRG) im Serum mittels OSM 3 (Radiometer, Copenhagen)
- Hb im Urin [u-Hb] mittels OSM 3 (Radiometer, Copenhagen)
- Arterieller [CaO₂] und gemischtvenöser [CvO₂] Sauerstoffgehalt mittels OSM 3 (Radiometer, Copenhagen)
- Elektrolyte: Natrium, Kalium, ionisiertes Calcium und Glucose mittels ABL 505 (Radiometer, Copenhagen)
- Arterielltes Laktat mittels ABL 505 (Radiometer, Copenhagen)
- Kolloidosmotischer Druck [KOD] mittels Onkometer BMT 851 (Thomae, Biberach)
- Plasnaviskosität [Vis] mittels Rheomat (Fresenius, Oberursel)
- Temperatur (A. pulmonalis, Pankreas)

2.6.3 Errechnete Parameter

- Cardiac Index (CI) = CO/Körperoberfläche (l·min⁻¹·m⁻²)
- Systemischer Gefäßwiderstand

$$(SVR) = \frac{MAP - ZVD}{CO} \times 80 \text{ (dyne} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5}\text{)}$$
- Pulmonaler Gefäßwiderstand

$$(PVR) = \frac{PAP - PCWP}{CO} \times 80 \text{ (dyne} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5}\text{)}$$
- Arteriovenöse Sauerstoffdifferenz (avDO₂) = CaO₂ – CvO₂ (ml·dl⁻¹)

- Sauerstoffangebot (DO_2) = $\text{CO} \times \text{CaO}_2$ ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$)
- Sauerstoffverbrauch (VO_2) = $\text{CO} \times \text{AvDO}_2$ ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$)
- Sauerstoffextraktion (ERO_2) = $\text{VO}_2 / \text{DO}_2$ (%)

2.7 Induktion der akuten Pankreatitis

Die akute Pankreatitis wurde durch die intraduktale Injektion von 0,4ml/kg KG Glykodeoxycholsäure (GDOC, 10mmol/l, pH 8, Sigma, Steinheim) mittels Präzisionsperfusor (Braun, Melsungen) über einen Zeitraum von 10 Minuten bei einem maximalen Perfusionsdruck von 25mmHg induziert (Abb. 3). Zur pankreatischen Hyperstimulation wurde zur gleichen Zeit die Injektion von 5 μg /kg KG/h Cerulein (Takus[®], Pharmacia & Upjohn, Erlangen) über eine Stunde gestartet. Entsprechend dem von der Arbeitsgruppe um Schmidt [139] evaluierten Pankreatitismodell definierte die Injektion der Gallensäure und des Ceruleins den Anfang der Pankreatitis.

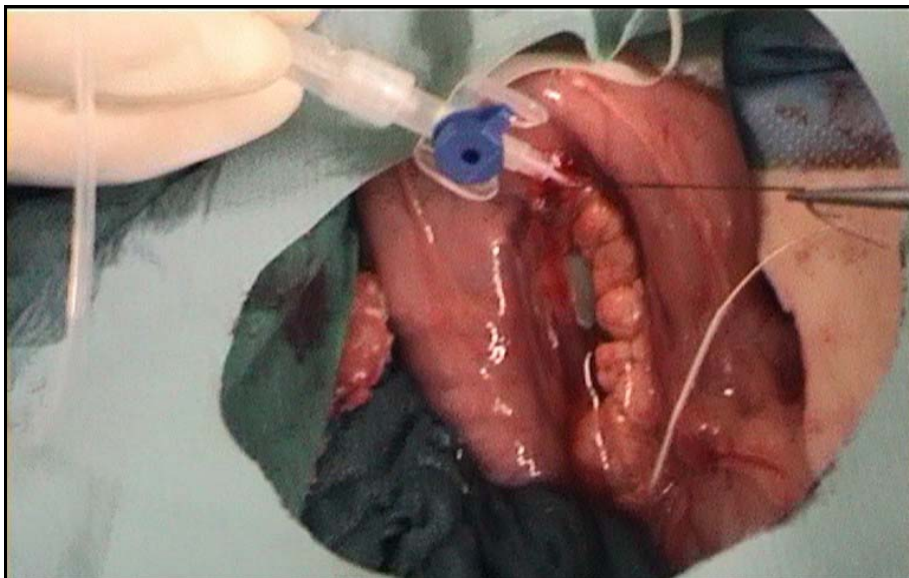


Abb. 3: Kanülierung des Pankreas zur Induktion der akuten Pankreatitis

2.8 Randomisierung und Gruppeneinteilung

Nach einer Äquilibrationsphase von 15 Minuten nach vollständiger Infusion des GDOC erfolgte der Messpunkt 1. Im Anschluss wurde die im Pankreasgang befindliche Kanüle entfernt und der Defekt verschlossen. Nach weiteren 60 Minuten wurde der Messpunkt 2 durchgeführt.

Nach Abschluss des Messpunktes 2 erfolgte die PC-gesteuerte Randomisierung und Gruppeneinteilung der Tiere. Die 39 Tiere wurden drei Versuchsgruppen mit 13 Tieren nach einer computergenerierten Randomisierungsliste (SPSS 11.0/ SPSS Inc., Chicago, IL, USA) zugeteilt.

Gruppe	Anzahl	Therapieform
1	13	HBOC und HES
2	13	HES
3	13	Ringer

2.9 Therapiebeginn

Die Tiere der Gruppe 1 erhielten nach dem Messpunkt 2 eine Infusion von HBOC-301 Oxyglobin™ bis zu einem Anstieg an freiem Hämoglobin im Plasma auf $0,6 \text{ g dl}^{-1}$ (Kontrolle mittels Blutgasanalyse, ABL 725, Radiometer, Kopenhagen). Die applizierte Menge von HBOC-301 Oxyglobin™ berechnete sich nach folgender Formel:

- HBOC-301 Oxyglobin™ (ml) = Körpergewicht x $0,6/0,13$ [99].

Zur Volumensubstitution wurde 10% HES 200.000/ 0,5 (HES-steril Fresenius, Bad Homburg) unter Konstanthaltung des PCWP (10mmHg) verwendet.

Die Tiere der Gruppe 2 wurden von Messpunkt 2-8 durch kontinuierliche Infusion von 10% HES 200.000/ 0,5 vor einem Flüssigkeitsdefizit

geschützt, unter Konstanthaltung des PCWP (10mmHg). Wenn trotz eines adäquaten Volumenstatus bei einem PCWP von 10mmHg der mittlere arterielle Druck unter 75mmHg sank, wurde dieser zusätzlich durch die Applikation von Noradrenalin (Arterenol® Aventis, Frankfurt am Main) via Perfusor (PerfusorSecua® Braun, Melsungen) über 75mmHg angehoben.

Bei den Tieren der Gruppe 3 wurden die anfallenden Flüssigkeitsverluste über die gesamte Versuchsdauer mit Infusion von Ringer-Lösung bei Konstanthaltung des PCWP kompensiert.

2.9.1 HBOC-301 Oxyglobin™

Bei der in diesem Versuch eingesetzten Substanz handelte es sich um die zellfreie ultragereinigte Hämoglobinlösung boviner Herkunft HBOC-301 Oxyglobin™ (Biopure, Cambridge, MA, USA) [71]. Das verwendete Produkt, das frei erhältlich ist, hat eine veterinärmedizinische Zulassung als Blutersatz bei Tieren. Die Herstellung von HBOC-301 Oxyglobin™ erfolgt, indem bovine Erythrozyten lysiert, filtriert und chromatographisch aufgetrennt werden. Das Hämoglobin wird mit Glutaraldehyd polymerisiert, wodurch Ketten aus durchschnittlich 15 Tetrameren entstehen. Die Lösung ist ultragereinigt, steril und endotoxinfrei und besitzt die in Tab. 1 dargestellte Zusammensetzung. Es unterscheidet sich in seiner Zusammensetzung nur durch einen höheren kolloidosmotischen Druck von dem in klinischen Phase-II/III-Studien beim Menschen eingesetzten Hemopure™ des gleichen Herstellers. Als Blutersatz bei Erwachsenen mit perioperativer Anämie besitzt Hemopure™ in Südafrika seit 2001 als einziger HBOC eine Zulassung.

Im Gegensatz zu Hämoglobinen anderer Spezies unterscheidet sich das bovine Hämoglobinmolekül von humanem Hämoglobinmolekül nur in 17 Aminosäuren der Alpha-Kette und in 24 Aminosäuren der Beta-Kette

[160]. Die geringe Antigenität des bovinen Hämoglobins beim Menschen kann dadurch erklärt werden, dass die zum humanen Hämoglobin unterschiedlichen Aminosäuren eher im Inneren des Hämoglobinmoleküls lokalisiert sind, während die nach außen weisenden Aminosäuren, die überwiegend die Antigene präsentieren, beim bovinen und humanen Hämoglobinmolekül fast identisch sind [60,61,160]. Von wesentlicher Bedeutung ist der Unterschied in der Beta-Kette des Hämoglobinmoleküls, die beim Rind um eine Aminosäure kürzer ist als beim Menschen. Diese Verkürzung verändert die Abhängigkeit der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins von der Konzentration an 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) [5]. Die Sauerstoffaffinität des HBOC wird infolge der verkürzten Beta-Kette hauptsächlich durch Chlorid und nicht wie beim Menschen durch 2,3-DPG reguliert [107]. Die hohe Konzentration an Chloridionen im menschlichen Blut bewirkt, dass die Sauerstoffaffinität von HBOC-301 Oxyglobin™ mit einem P_{50} von 36mmHg im Vergleich zum Menschen deutlich erniedrigt und so die Sauerstoffabgabe in das Gewebe erleichtert ist [162]. Zusätzlich ist der Bohr-Effekt unter Therapie mit HBOC besonders ausgeprägt, so dass insbesondere bei azidotischen Verhältnissen leichter Sauerstoff abgegeben werden kann.

Bei HBOC-301 Oxyglobin™ handelt es sich um ein Präparat mit einem niedrigen Anteil an Polymeren mit einem Molekulargewicht von weniger als 32.000 Da, so dass nahezu keine renale Ausscheidung erfolgt. Daher ist die intravasale Halbwertszeit gegenüber früher eingesetzten niedermolekularen Lösungen verlängert und beträgt laut Herstellerangaben 30 bis 40 Stunden. Die Ausscheidung von HBOC-301 Oxyglobin™ erfolgt linear nach einer Elimination erster Ordnung [70,162]. Gleichzeitig wird dadurch der kolloidosmotische Druck auf einem dem humanen Plasma entsprechenden Niveau gehalten, da die Anzahl der osmotisch wirksamen Teilchen begrenzt ist.

Zur Qualitätskontrolle wurde der Beutel direkt vor Verwendung der Lösung am Versuchstier auf Beschädigung kontrolliert (Abb. 4), und es wurde die Methämoglobinkonzentration gemessen (OSM 3, Radiometer,

Kopenhagen), um eine stattgefundenen Oxidation der Hämoglobinmoleküle mit konsekutiver Bildung von Methämoglobin auszuschließen. Bei einem Wert > 5% wäre die Lösung verworfen worden. Dieser Wert wurde jedoch im Rahmen der Versuchsreihe bei keinem Beutel erreicht.

Parameter	HBOC-301 (Oxyglobin™)
Hämoglobin (g/dl)	13,0 ± 1,0
Methämoglobin (%)	< 5
Oxyhämoglobin (%)	< 5
P50 (mmHg)	36
Natrium (mmol/l)	145 – 160
Kalium (mmol/l)	3,5 – 5,5
Chlorid (mmol/l)	105 – 120
Calcium (mmol/l)	0,5 – 1,5
KOD (mmHg)	17
Viskosität 37° (mPa x s)	1,3
pH	7,6 – 7,9
Osmolarität (mosm/kg)	290 – 310
Endotoxin (EU/ml)	< 0,05
Phospholipid (nM)	< 3
Sterilität	kein Koloniewachstum
Polymerisiertes Hämoglobin	
MGW>500 000 (%)	< 15
MGW~65 000 (%)	< 10
MGW<32 000 (%)	< 5
Freies Glutaraldehyd (µg/ml)	< 3,5
Partikel (Partikel/ml)	
> 10µ	< 50
> 25µ	< 5

Tab. 1: Spezifität der in den Versuchen verwendeten Hämoglobinlösung HBOC-301 Oxyglobin™ entsprechend den Herstellerangaben



Abb. 4: HBOC-301 Oxyglobin™

2.9.2 HES

Es kam eine 10% HES-Lösung mit einem Substitutionsgrad von 0,5 und einem mittlerem Molekulargewicht von 200.000 Dalton zum Einsatz, die mit einer dem HBOC-301 Oxyglobin™ vergleichbar langen Halbwertszeit und ähnlichen rheologischen Eigenschaften ausgestattet ist.

2.10 Messpunkte 3-8

60 Minuten nach dem Messpunkt 2 wurde der Messpunkt 3 durchgeführt. Von jetzt an folgten die Messpunkte 4-8 in stündlichen Abständen.

2.11 Messung der Makrozirkulation

Um signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen erfassen zu können, wurden als Parameter für die Makrozirkulation zu jedem Messpunkt HF, MAP, PAP und SVR aufgenommen.

2.12 Messung des Gewebssauerstoffpartialdrucks (tpO₂)

Die tpO₂ Messungen wurden mit den in Pankreaskopf und Leber fixierten elektrochemischen flexiblen Licox Siliconkathetern (Licox Medical Systems, GMS, Kiel) durchgeführt. Die tpO₂-Sonde ermittelte den Gewebssauerstoffpartialdruck im Pankreasgewebe nach dem polarographischen Messprinzip nahe der Spitze der Sonde in einem zylindrischen Gewebeareal, welches sich konzentrisch um die Längsachse des Mikrokatheters befand, in einem Abstand von 1mm. Das polarographische Messprinzip beruht auf der Reduktion aller zur Kathode diffundierenden Sauerstoffmoleküle nach Anlegen einer Polarisationsspannung (Abb. 5) Die Reduktion führt im alkalischen bzw. neutralen Milieu dazu, dass der pO₂ im Bereich der Kathode nach Anlage einer geeigneten Polarisationsspannung gleich Null ist und der Reduktionsstrom folglich allein von der Menge des nachdiffundierenden Sauerstoffs bestimmt wird. Somit ist bei konstanten Diffusionsbedingungen der gemessene Reduktionsstrom proportional der Sauerstoffmolekülkonzentration bzw. dem Sauerstoffpartialdruck. Die Genauigkeit der Messungen des tpO₂ mit den verwendeten Sonden wurde intensiv durch den Hersteller und in verschiedenen *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen belegt [10,88,97,106,162]. Die in diesem Versuch verwendete Sonde war 300mm lang, mit einem 5mm langem O₂-sensiblen Bereich (Abb. 6). Über einen Zeitraum von 10 min wurden zu jedem Messpunkt 120 Einzelmessungen erfasst (alle 5 Sekunden eine Messung) und über eine serielle Schnittstelle vom Licox Monitor in einen angeschlossenen Compu-

ter direkt übertragen. Die benutzte Version des Licox Systems erübrigte eine Kalibrierung des Gerätes, da die Messkatheter bereits vom Hersteller geeicht waren und die Eichwerte über eine spezielle Chipkarte dem Monitor für jeden eingesetzten Katheter während der Messung separat mitgeteilt wurden.

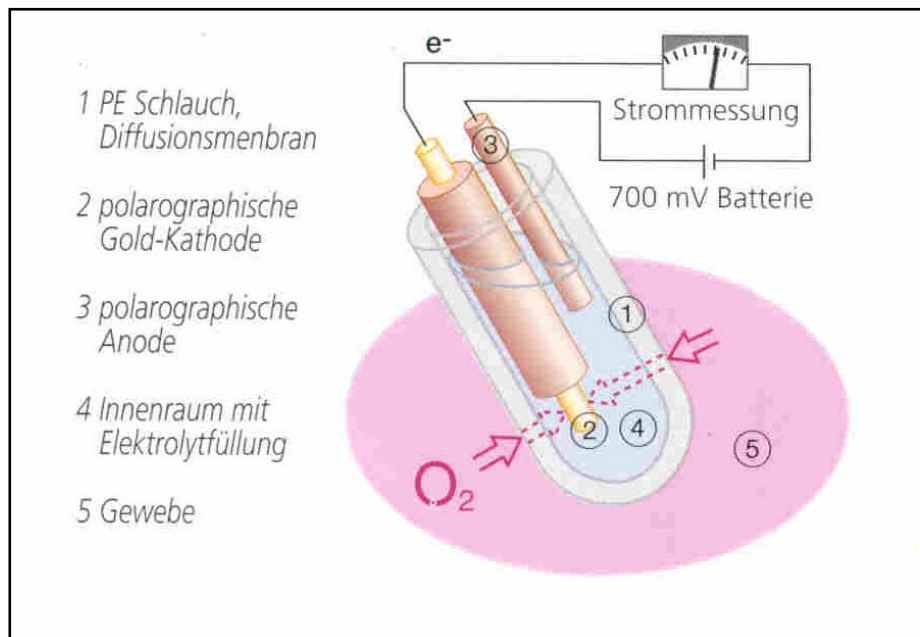


Abb. 5: Polarographisches Prinzip zur Messung des tpO₂

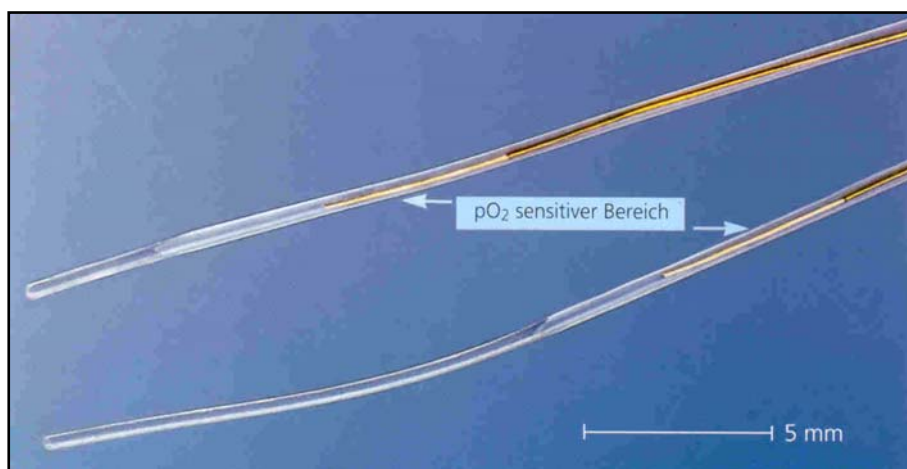


Abb. 6: Sauerstoffsensible Licox-Sonden

2.13 Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus

39 Versuchstiere

Prämedikation und Narkose (ca. 20 min.)

Präparation

Halsgefäßpräparation (ca. 15 min.)

Laparotomie (ca. 20 min.)

Splenektomie, Blasenkatheterisierung, Mobilisierung
und Kanülierung des Pankreas

Messpunkt 0

Induktion der akuten Pankreatitis

Messpunkte 1 und 2

Randomisierung und Gruppeneinteilung

Gruppe 1: HBOC-301 + HES, Gruppe 2: HES, Gruppe 3: Ringer

Therapiebeginn

Messpunkte 3-8

Ausleitung, Analgesie, Überwachung (1. - 6. postoperativer Tag)

Tötung und Sektion am 6. postoperativen Tag

Nach Beendigung des Messpunktes 8 wurden der ZVK an der dorsalen rechten Halsseite getunnelt ausgeleitet, die anderen Katheter entfernt, die Gefäße ligiert und die Halswunde verschlossen. Die Licox-Sonden wurden entfernt, das Duodenum vom Hakensystem gelöst und in den Bauchraum verbracht. Der Blasenkatheter wurde gezogen und der Gewebsdefekt mittels Einzelknopfnähten verschlossen. Nach ausgiebiger Spülung des Abdomens mittels angewärmter physiologischer Kochsalzlösung wurde der Bauchraum schichtweise verschlossen. Nach der Hautnaht und Aufbringung von Sprühpflasterverbänden (Beiersdorf, Hamburg) an Hals und Abdomen wurde die Narkose ausgeleitet und die Tiere bei suffizienter Spontanatmung sowie beginnenden Abwehrbewegungen extubiert. Nach Analgesie mit 22 mg Piritramid (Dipidolor®, Janssen-Cilag, Neuss) wurden die Tiere in den vorgewärmten Stall gebracht. Sie erhielten freien Zugang zu Wasser und ab dem 2. postoperativen Tag Ferkel-Aufzuchtfutter (UNA-HAKRA, Hamburg). Die Analgesie wurde nach Bedarf mit 22 mg Piritramid alle 6 Stunden durchgeführt. Die Tiere wurden viermal täglich visitiert, einmal täglich erfolgte eine Blutentnahme aus dem ZVK. Einmal täglich wurden das Befinden und die Aktivität des Tieres qualitativ bewertet und die postoperative Überlebenszeit der Versuchstiere in Stunden festgehalten. Die überlebenden Tiere wurden am sechsten postoperativen Tag wie zur Narkose prämediziert und mittels T61 ad us. vet. (Intervet, Unterschleißheim) getötet. Bei starker Verschlechterung des Allgemeinzustandes eines Tieres wurden die Prämedikation und Sakrifizierung im Rahmen der Visite schon vor Ablauf der sechs postoperativen Tage durchgeführt.

2.14 Fallzahlberechnung und statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte computergestützt mittels SPSS 11.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Als primärer Endpunkt wurde die Überlebensrate und als sekundärer Endpunkt die Gewebsoxygenierung des Pankreas definiert. Da Überlebensstudien zur Mortalität am Tier-

modell mit schwerer akuter Pankreatitis nicht existieren, wurde die Fahlzahl mit Hilfe des zu erwartenden Therapieeffektes auf den Anstieg des tpO₂ im Pankreas 75 Minuten nach Induktion der akuten Pankreatitis berechnet. Es wurde ein Anstieg des tpO₂ um 25% in den Gruppen mit HBOC-301 Oxyglobin™ Therapie im Vergleich zu den HES- bzw. Ringer-Gruppen angenommen. Hieraus ergab sich bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% (α -Fehler), einem β -Fehler von 20% (bei einer Power von 80%) eine Anzahl von 12 Tieren pro Gruppe, die komplett den Versuch durchlaufen müssten [37]. Für die deskriptive Analyse der parametrischen Daten dienten Mittelwert und Standardabweichung (SD). Ordinaldaten sind als Median und Spannweite angegeben. Die Normalverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov Test und Gruppenunterschiede mittels Kruskal-Wallis Test untersucht. Für die Überprüfung der statistischen Signifikanz wurde der Mann-Whitney-U Test für nicht-normal verteilte Daten und der ungepaarte Student-t-Test für normal verteilte Daten verwendet. Bei wiederholten Messungen wurden Gruppenunterschiede mit einer Varianzanalyse für wiederholte Messungen (ANOVA) untersucht. Fand sich ein Gruppeneffekt und keine Interaktion zwischen Zeit und Therapie (time by treatment interaction test), wurde ein paarweiser post-hoc Test (Tukey's HSD) angeschlossen, um Therapieunterschiede mittels Standardfehler (SE) und 95% Konfidenzintervall (CI) der Differenz zu beschreiben. Das Signifikanzniveau wurde dabei auf $p < 0,05$ festgesetzt. Wurden keine Gruppenunterschiede im Verlauf festgestellt, so kam der Student-t-Test zur Anwendung, um Inter-Gruppeneffekte zu verschiedenen Zeitpunkten zu beschreiben. Ein Signifikanzniveau wurde dabei nicht festgesetzt. Bei einer positiven Interaktion "time-by-treatment-interaction test" wurde zusätzlich die Fläche unter der Kurve berechnet und mittels one-way ANOVA und post hoc Test (Tukey's HSD) verglichen. Das Signifikanzniveau wurde wiederum bei $p < 0,05$ festgesetzt. Beginn der Berechnung der Fläche unter der Kurve war der Messpunkt 2, unmittelbar vor Beginn der Therapie.

3 Ergebnisse

Es waren keine Unterschiede zwischen den drei Gruppen in Bezug auf die demographischen Daten (Alter, Gewicht), das Blutvolumen und die Körperoberfläche zu finden. Körpertemperatur sowie die Dosis an Anästhetika und Relaxantien waren den gesamten Versuch über konstant und zeigten keine Differenz zwischen den Untersuchungsgruppen.

3.1 Gewebssauerstoffpartialdruck (tpO₂) des Pankreas

(mmHg)

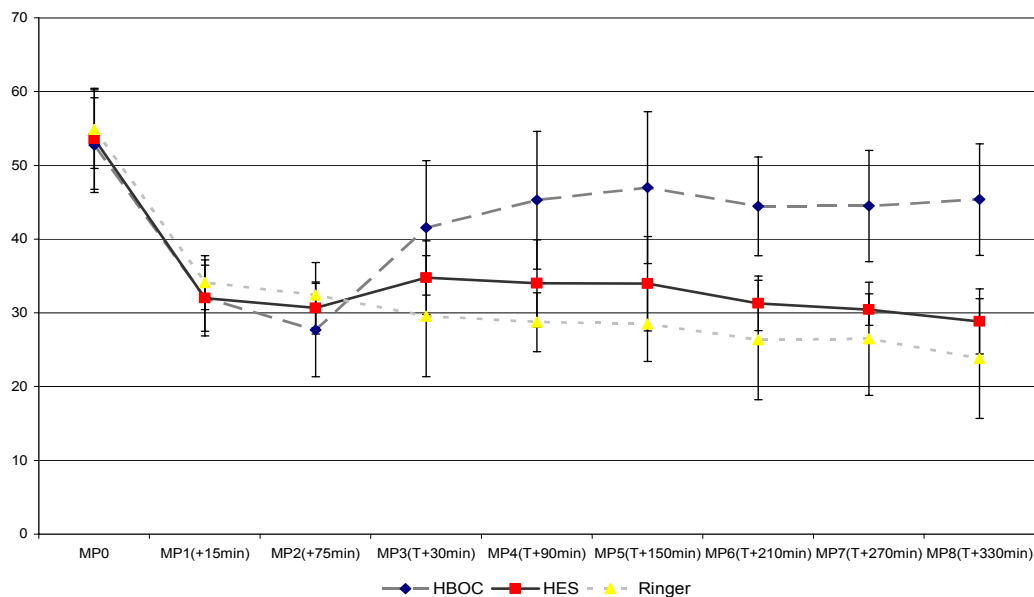


Abb. 7: Gewebssauerstoffpartialdruck über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in mmHg

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe:	259,3 (SD 45,5) CI 228,7; 289,8
HES-Gruppe:	194,2 (SD 23,3) CI 179,5; 209,1
Ringer-Gruppe:	167,7 (SD 23,1) CI 153,1; 182,4

Die Varianzanalyse für wiederholte Messungen zeigte bezüglich der tpO₂-Messung im Pankreas einen Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$) (Abb. 7). Zusätzlich wurde daher für jedes Tier die Fläche unter der Kurve für die Veränderung des tpO₂ (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP2) beginnend) berechnet. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). Die anschließende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte einen verbesserten tpO₂ in der HBOC-301 Gruppe im Verhältnis zur Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 91,6 (SE 13,3); one-way ANOVA $p < 0,001$). Im Vergleich mit der HES-Gruppe fand sich ebenso

ein erhöhter tpO_2 in der HBOC-301 Gruppe (mittlere Differenz 65,1 (SE 13,3); $p < 0,001$). Die Unterschiede zwischen der HES und Ringer-Gruppe waren nicht signifikant.

3.2 Überleben

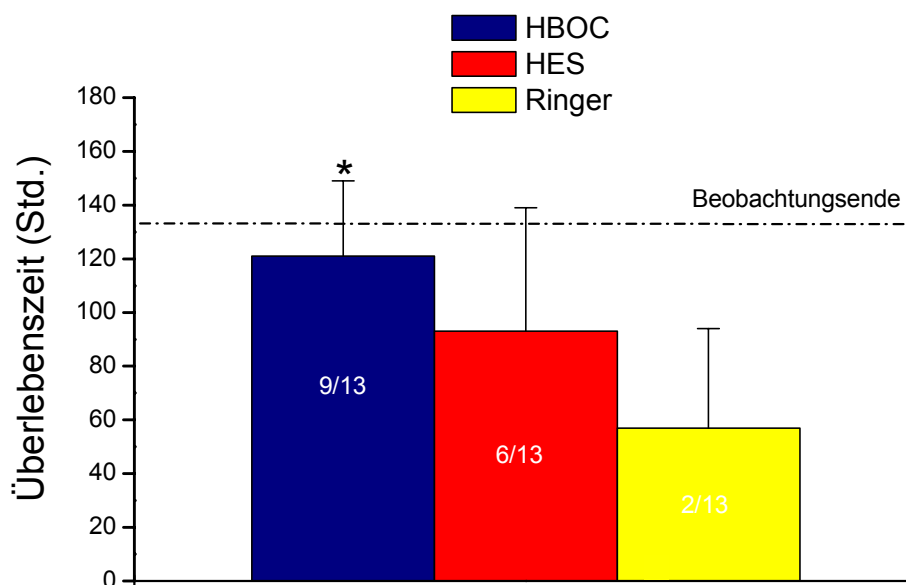


Abb. 8: Überlebenszeit in Stunden bis zum Beobachtungsende nach 144 Std. MW± SD; * $p < 0,05$ vs Ringer. Die Zahlen in den Säulen entsprechen der Anzahl der überlebenden Tiere über den Beobachtungszeitraum.

In der HBOC-301 Gruppe verstarb jeweils ein Tier am 2. bzw. 4. postoperativen Tag, während zwei Tiere am 5. Tag verstarben, aber neun Tiere den Beobachtungszeitraum überlebten.

In der HES-Gruppe überlebten sechs Tiere den Beobachtungszeitraum. Ein Tier verstarb am 3. postoperativen Tag und jeweils zwei Tiere verstarben an den Tagen 1, 2 und 4 nach der Intervention. In der Ringer-Gruppe überlebten lediglich zwei Tiere den gesamten Beobachtungszeitraum. Drei Tiere verstarben am 1. postoperativen Tag, sieben Tiere am 2. und ein Tier am 4. postoperativen Tag (Abb. 8).

Die Tiere der HBOC-301 Gruppe überlebten im Mittel 121 Stunden (SD 29,3; CI 102, 139) nach Induktion der Pankreatitis. Die Versuchstiere der HES-Gruppe verstarben im Mittel nach 93 Stunden (SD 49; CI 62, 124) und Tiere der Ringer-Gruppe überlebten im Mittel lediglich 57

Stunden (SD 39; CI 32, 82). Hinsichtlich des Überlebens fand sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p < 0,001$; One-Way ANOVA). Die anschließende post-hoc Analyse zeigte eine signifikante mittlere Differenz von 64 Stunden (SE 16; CI 23; 104) zwischen der HBOC-301 und der Ringer-Gruppe ($p < 0,001$). Die mittlere Differenz zwischen HBOC-301 und HES-Gruppe lag bei 27 Stunden (SE 16; CI -12, 67), und war nicht signifikant ($p = 0,227$). Zwischen den Tieren der HES und der Ringer-Gruppe fand sich kein signifikanter Unterschied. (mittlere Differenz 36 Stunden (SE 16; CI -3,6, 76,5), ($p = 0,081$).

3.3. Hämodynamische Parameter

3.3.1 Herzfrequenz (HF)

(min⁻¹)

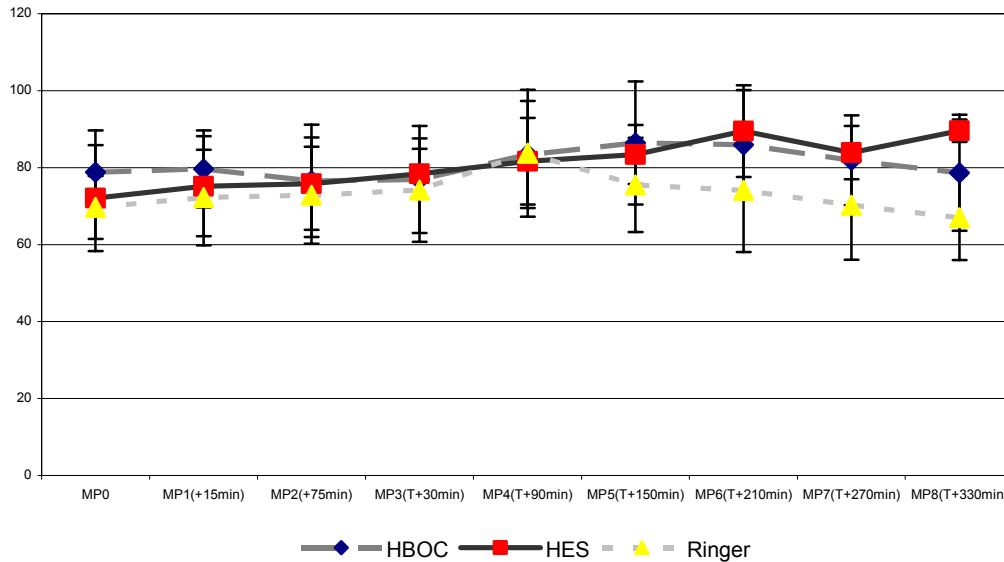


Abb. 9: Herzfrequenz über den Beobachtungszeitraum (MPO = vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in min⁻¹

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe:	492,2 (SD 80,3) CI 441,2; 543,2
HES-Gruppe:	492,2 (SD 80,3) CI 441,2; 543,2
Ringer-Gruppe:	447,7 (SD 68,3) CI 404,3; 491,07

Zwischen den Gruppen ergaben sich über den Beobachtungszeitraum im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA) (Abb. 9).

3.3.2 Mittlerer arterieller Druck (MAP)

(mmHg)

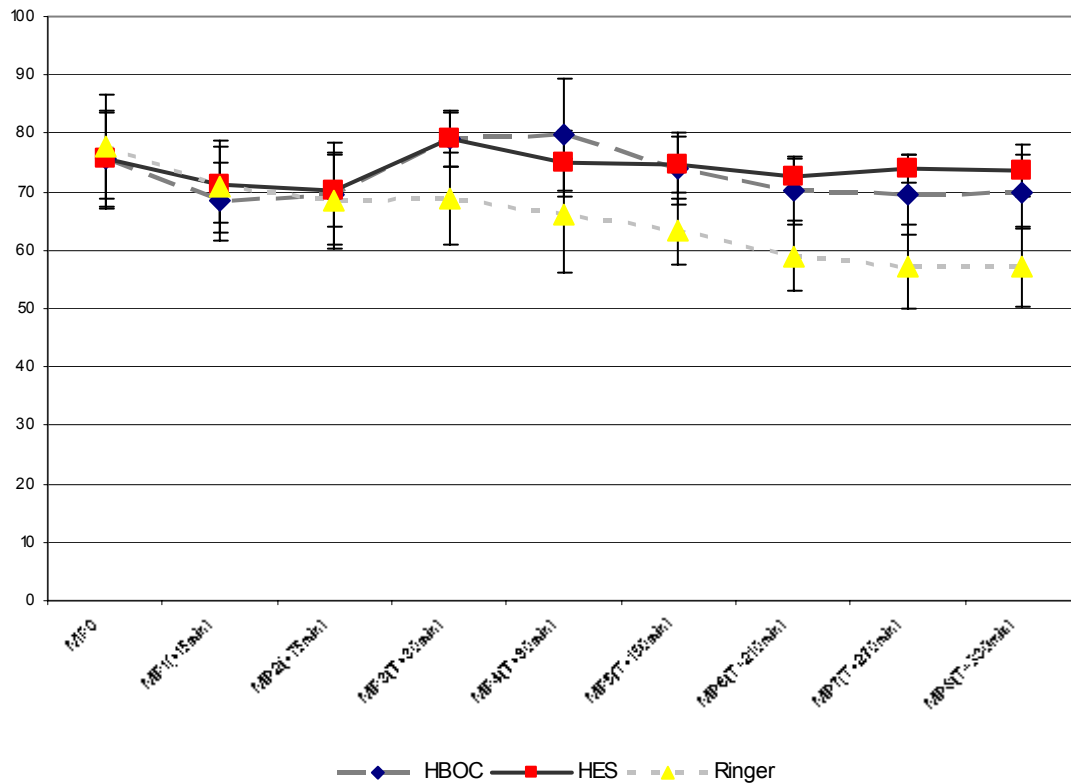


Abb. 10: Mittlerer Arterieller Druck über den Beobachtungszeitraum (MPO: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in mmHg

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe:	442,42 (SD 31,74) CI 421,4; 463,5
HES-Gruppe:	446,96 (SD 18,25) CI 434,8; 459,1
Ringer-Gruppe:	377,17 (SD 35,35) CI 353,7; 400,6

Durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen konnte ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$) detektiert werden (Abb. 10).

Zusätzlich wurde daher für jedes Tier die Fläche unter der Kurve für die Veränderung des MAP (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP 2) beginnend) berechnet.

Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$).

Die anschließende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte einen erhöhten MAP in der HBOC-301 Gruppe im Verhältnis zur Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 65,3; (SE 12,5); one-way ANOVA $p < 0,001$). Dieser Effekt war ebenfalls in der HES-Gruppe im Vergleich zu den Ringer Tieren nachzuweisen (mittlere Differenz 69,8 (SE 12,5); $p < 0,001$). Zwischen der HBOC und HES-Gruppe gab es keine signifikanten Unterschiede.

Zu beachten ist, dass in der HES-Gruppe der MAP bei Werten unter 75mmHg trotz eines adäquaten Volumenstatus ab dem Messpunkt 2 durch die Applikation von Noradrenalin über 75mmHg gehalten wurde (siehe auch Methodik). Die kumulativen Noradrenalin Dosen in der HES-Gruppe betragen in $\mu\text{g} \pm \text{SD}$: MP3 42,5 \pm 31, MP4 77,5 \pm 58, MP5 117 \pm 79, MP6 170 \pm 102, MP7 224 \pm 126, MP8 275 \pm 147.

3.3.3 Mittlerer pulmonalerarterieller Druck (PAP) (mmHg)

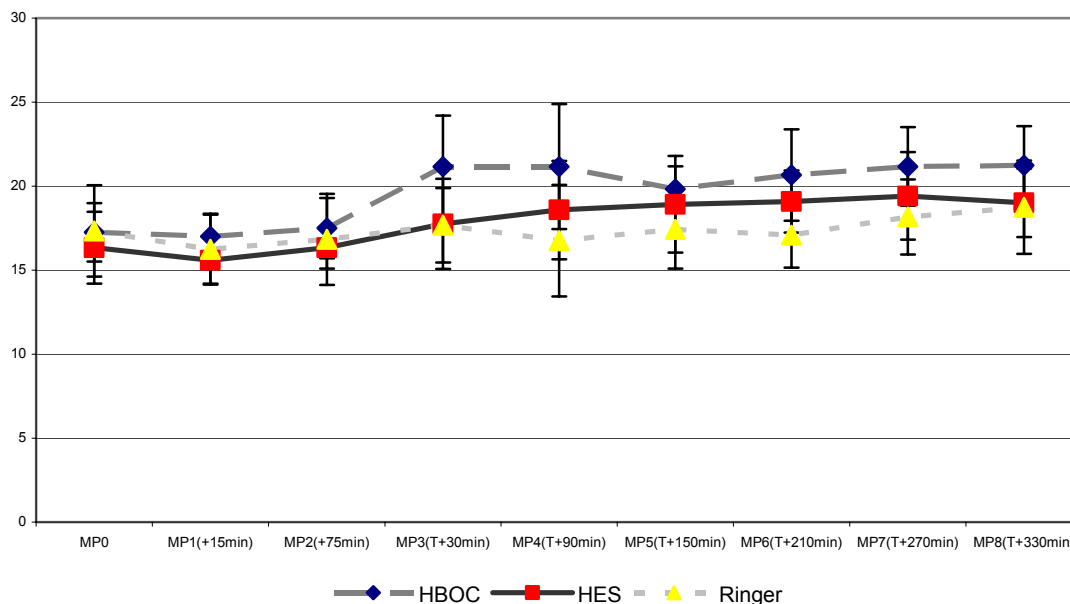


Abb. 11: Mittlerer pulmonalerarterieller Druck über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in mmHg

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe: 123,4 (SD 10,4) CI 116,8; 130,0

HES-Gruppe: 111,4 (SD 9,7) CI 105,2; 117,6

Ringer-Gruppe: 104,9 (SD 11,9) CI 97,3; 112,4

Durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen konnte ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p=0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p<0,001$) detektiert werden (Abb. 11).

Zusätzlich wurde daher für jedes Tier die Fläche unter der Kurve für die Veränderung des PAP (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP 2) beginnend) berechnet. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p<0,001$). Die anschließende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigt

te einen erhöhten PAP in der HBOC-Gruppe im Verhältnis zur Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 18,5 (SE 4,38); one-way ANOVA $p < 0,001$). Zwischen der HBOC und der HES sowie zwischen der HES und der Ringer-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

3.3.4 Cardiac Output (CO)

(l·min⁻¹)

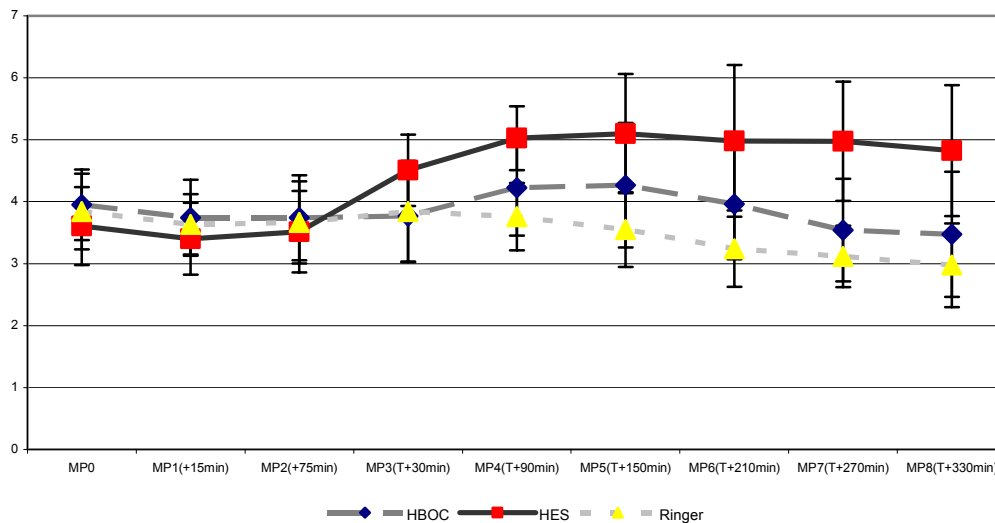


Abb. 12: Cardiac Output über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in l · min⁻¹

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe:	23,4 (SD 4,7) CI 20,4; 26,4
HES-Gruppe:	28,7 (SD 4,5) CI 25,9; 31,6
Ringer-Gruppe:	20,8 (SD 2,7) CI 19,1; 22,6

Erneut konnte durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$) detektiert werden (Abb. 12). Zusätzlich wurde daher für jedes Tier die Fläche unter der Kurve für die Veränderung des PAP (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP 2) beginnend) berechnet. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). Die anschließende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte einen erhöhten CO in der HES-Gruppe im Verhältnis zur HBOC-Gruppe und Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 5,4 (SE) 1,7 bzw. 7,9 (SE 1,7)) one-way ANOVA $p < 0,001$. Zwischen der HBOC und der Ringer-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

3.3.5 Cardiac Index (CI)

($l \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$)

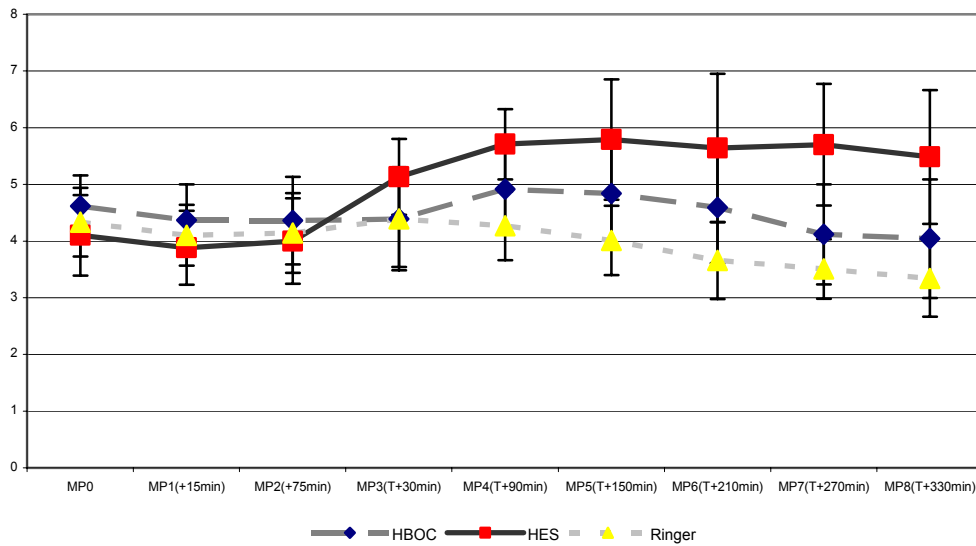


Abb. 13: Cardiac Index über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in $l \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe: 27,1 (SD 5,0) CI 23,9; 30,2

HES-Gruppe: 32,7 (SD 4,9) CI 29,6; 35,8

Ringer-Gruppe: 23,6 (SD 2,7) CI 21,9; 25,3

Durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen konnte ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$) detektiert werden (Abb. 13). Für jedes Tier wurde erneut die Fläche unter der Kurve für die Veränderung des CI (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP 2) beginnend) berechnet. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). Die anschließende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte einen erhöhten CI in der HES-Gruppe im Verhältnis zur HBOC-Gruppe und Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 5,7 (SE) 1,8 bzw. 9,1 (SE) 1,8); one-way ANOVA, $p < 0,001$. Zwischen der HBOC und der Ringer-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

3.3.6 Systemischer Widerstand (SVR)

(dyn·s·cm⁻⁵)

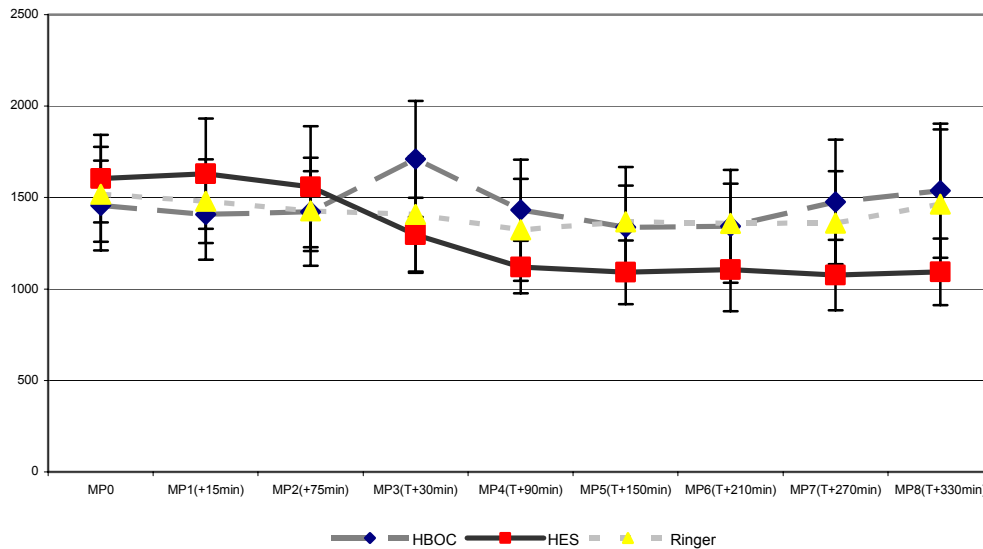


Abb. 14: Systemischer Widerstand über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in dyn·s·cm⁻⁵

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe:	8779,0 (SD 1562,3) CI 7786,4; 9771,7
HES-Gruppe:	7018,8 (SD 968,2) CI 6403,7; 7633,9
Ringer-Gruppe:	8263,8 (SD 1375,9) CI 7389,6; 9138,0

Erneut konnte durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$) detektiert werden (Abb. 14). Zusätzlich wurde daher für jedes Tier die Fläche unter der Kurve für die Veränderung des systemischen Widerstandes (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP 2) beginnend) berechnet. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). Die anschließende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte einen erhöhten SVR in der HBOC-Gruppe im Verhältnis zur HES-Gruppe (mittlere Differenz 1760,3 (SE 541,2); one-way ANOVA $p = 0,007$). Zwischen der HBOC und der Ringer-Gruppe sowie zwischen HES und Ringer-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

3.3.7 Pulmonaler Widerstand (PVR)

(dyn·s·cm⁻⁵)

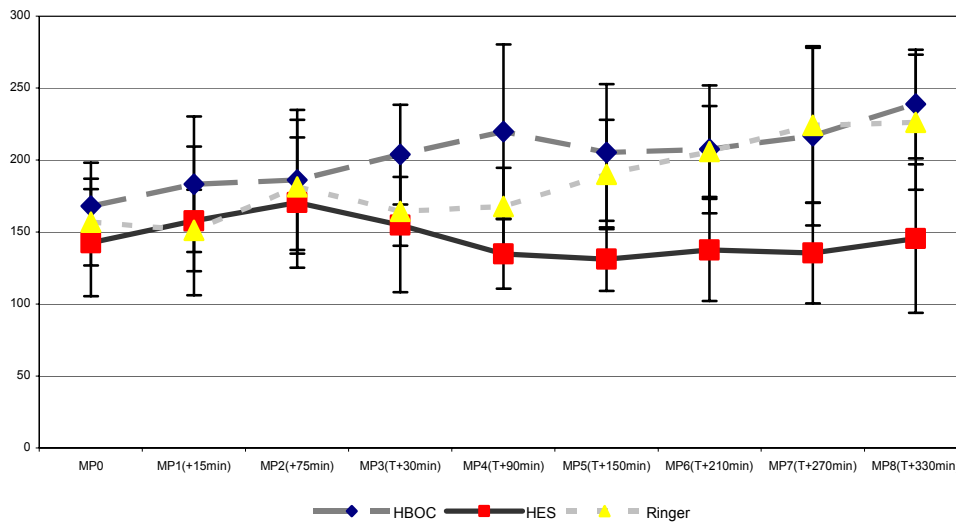


Abb. 15: Pulmonaler Widerstand über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in dyn · s · cm⁻⁵

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe:	1265,4 (SD 172,6) CI 1155,7; 1375,1
HES-Gruppe:	851,6 (SD 170,6) CI 743,3; 960,0
Ringer-Gruppe:	1155,9 (SD 143,9) CI 1064,4; 1247,3

Es ergab sich für den PVR durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$) (Abb. 15). Zusätzlich wurde daher für jedes Tier die Fläche unter der Kurve für die Veränderung des PVR (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP 2) beginnend) berechnet. Hinsichtlich der AUC fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). Die anschließende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte einen erhöhten PVR in der HBOC-Gruppe im Verhältnis zur HES-Gruppe (mittlere Differenz 413,8 (SE 66,5); one-way ANOVA $p < 0,001$). Zudem zeigte sich ein erhöhter PVR in der Ringer-Gruppe im Verhältnis zur HES-Gruppe (mittlere Differenz 304,3 (SE 66,5); one-way ANOVA $p < 0,001$). Zwischen der HBOC und der Ringer-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

3.4 Sauerstofftransport

3.4.1 Arterieller Sauerstoffgehalt (CaO₂)

(ml·dl⁻¹)

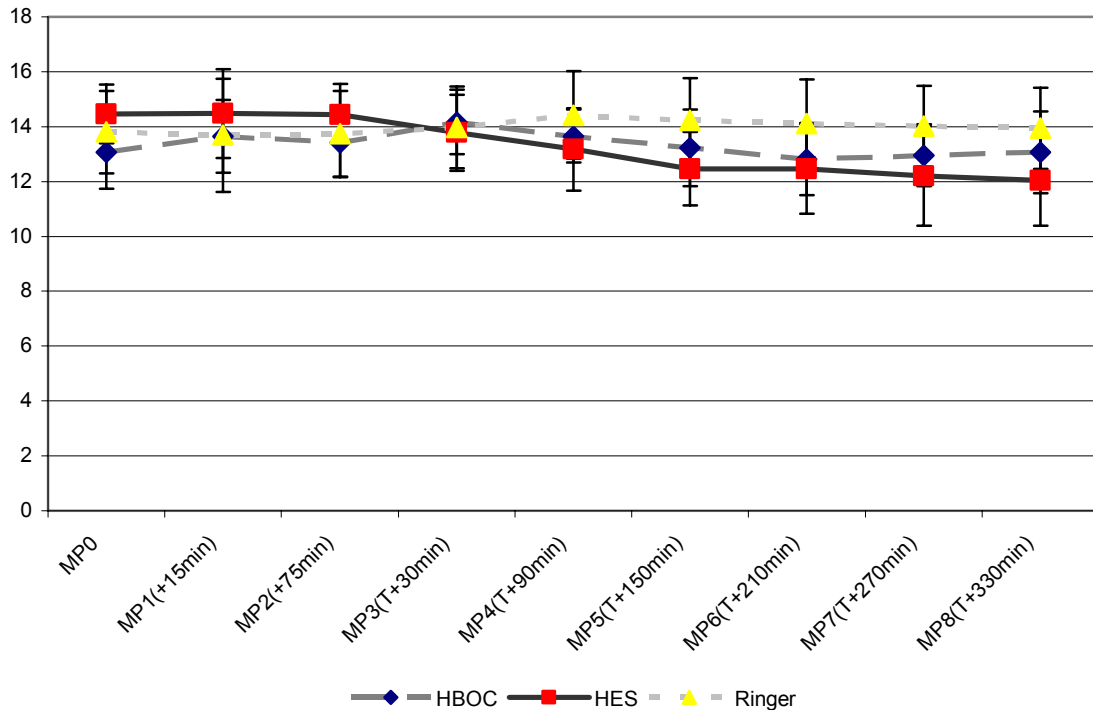


Abb. 16: Arterieller Sauerstoffgehalt über den Beobachtungszeitraum (MPO: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in ml · dl⁻¹

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe: 80,0 (SD 7,1) CI 75,6; 84,5

HES-Gruppe: 76,9 (SD 8,3) CI 71,6; 82,2

Ringer-Gruppe: 84,6 (SD 9,0) CI 78,9; 90,3

Zwischen den Gruppen ergaben sich über den Beobachtungszeitraum im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA)(Abb.16).

3.4.2 Gemischtvenöser Sauerstoffgehalt (CvO₂)

(ml·dl⁻¹)

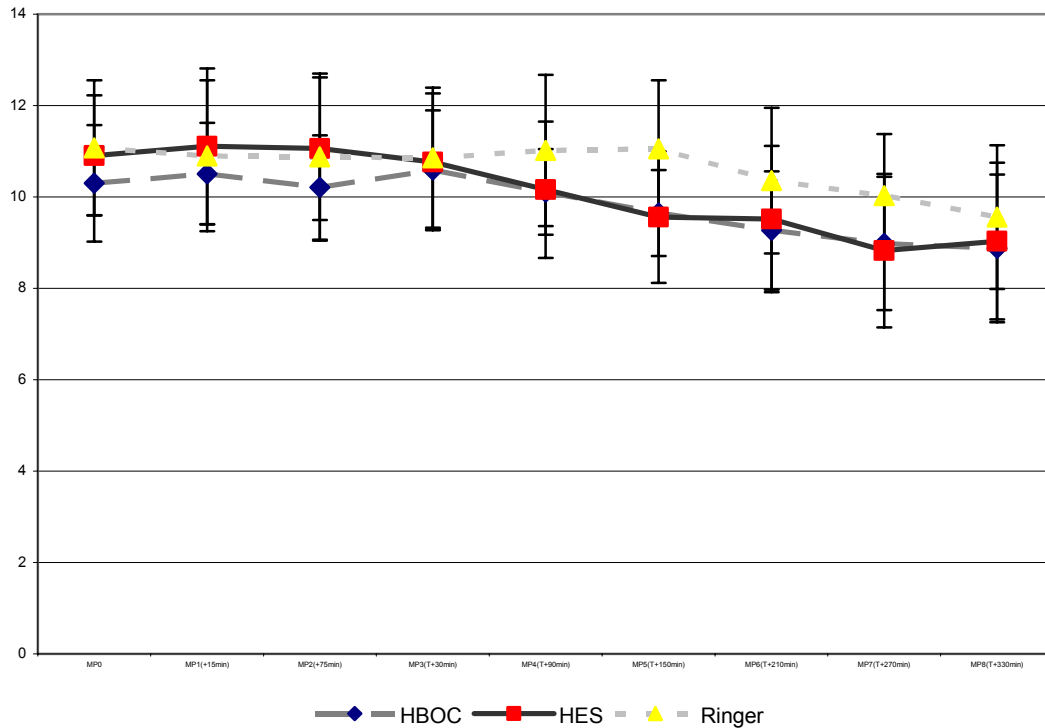


Abb. 17: Gemischtvenöser Sauerstoffgehalt über den Beobachtungszeitraum (MPO: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in ml · dl⁻¹

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe: 58,1 (SD 6,7) CI 53,9; 62,4
HES-Gruppe: 58,9 (SD 9,4) CI 52,9; 64,8
Ringer-Gruppe: 63,5 (SD 9,1) CI 57,7; 69,3

Zwischen den Gruppen ergaben sich über den Beobachtungszeitraum im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA) (Abb. 17).

3.4.3 Arteriovenöse Sauerstoffdifferenz (avDO₂)

(ml·dl⁻¹)

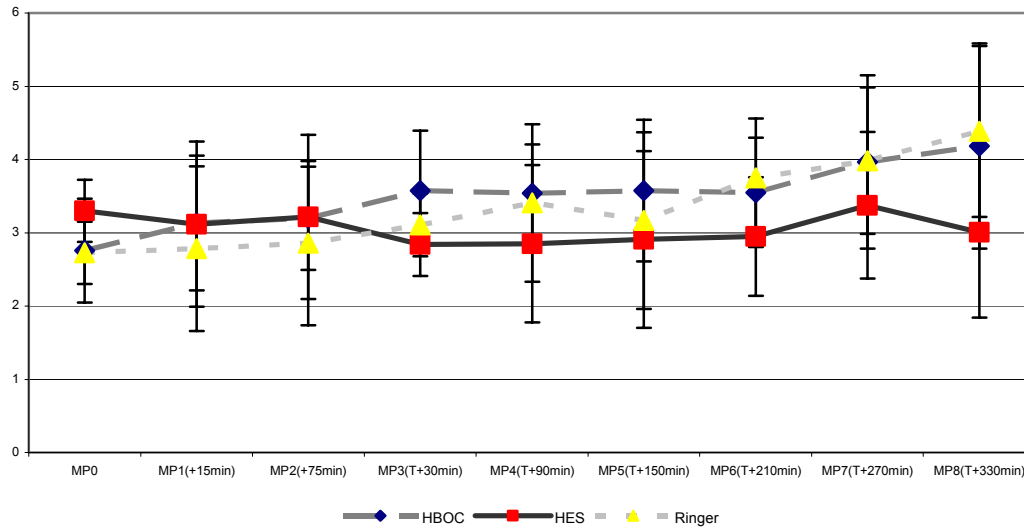


Abb. 18: Arteriovenöse Sauerstoffdifferenz über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in ml · dl⁻¹

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe:	21,9 (SD 4,8) CI 18,8; 24,9
HES-Gruppe:	18,0 (SD 3,7) CI 15,6; 20,4
Ringer-Gruppe:	21,0 (SD 4,4) CI 18,2; 23,8

Die Varianzanalyse für wiederholte Messungen ergab einen Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,05$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,05$) (Abb. 18) für die AvDO₂. Zusätzlich wurde daher für jedes Tier die Fläche unter der Kurve für die Veränderung der AvDO₂ (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP 2) beginnend) berechnet. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). Die anschließende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte eine erhöhte AvDO₂ in der HBOC-Gruppe im Verhältnis zur Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 0,487 (SE 0,188); one-way ANOVA $p = 0,037$). Zudem zeigte sich eine er-

höhte AvDO_2 in der Ringer-Gruppe im Verhältnis zur HES-Gruppe (mittlere Differenz 0,621 (SE 0,1919); one-way ANOVA $p < 0,007$).

Zwischen der HBOC und der HES-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

3.4.4 Sauerstoffangebot (DO₂)

(ml·min⁻¹)

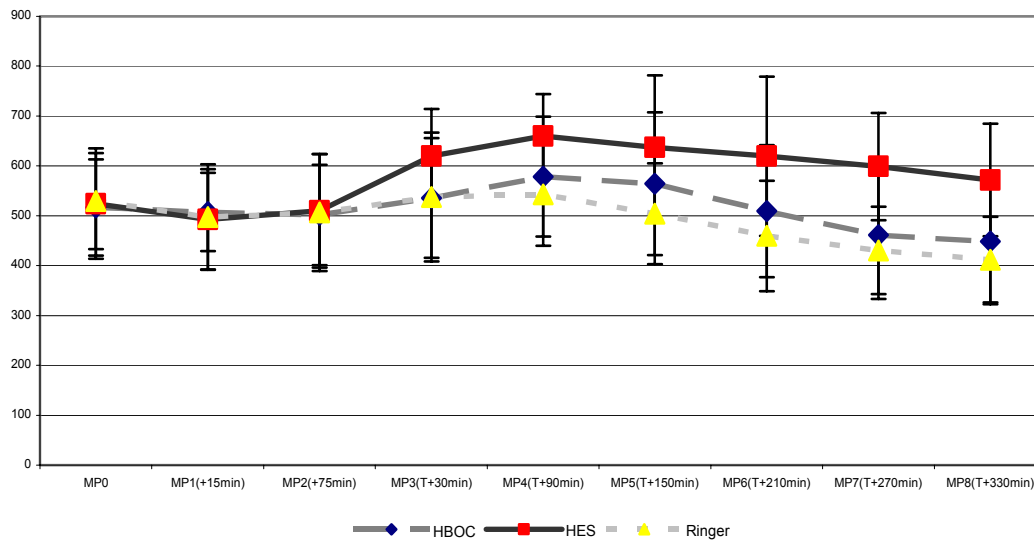


Abb. 19: Sauerstoffangebot über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in ml · min⁻¹

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe:	3123,6 (SD 727,7) CI 2661,3; 3586,0
HES-Gruppe:	3658,7 (SD 656,3) CI 3241,7; 4075,7
Ringer-Gruppe:	2932,4 (SD 537,2) CI 2591,1; 3273,8

Durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen konnte ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$) detektiert werden (Abb. 19). Zusätzlich wurde daher für jedes Tier die Fläche unter der Kurve für die Veränderung der DO₂ (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP 2) beginnend) berechnet. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). Die anschließende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte einen erhöhten DO₂ in der HES-Gruppe im Verhältnis zur Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 726,3 (SE 263,4); one-way ANOVA $p < 0,001$). Zwischen der HBOC und der Ringer-Gruppe sowie der HBOC und der HES-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

3.4.5 Sauerstoffverbrauch (VO₂)

(ml·min⁻¹)

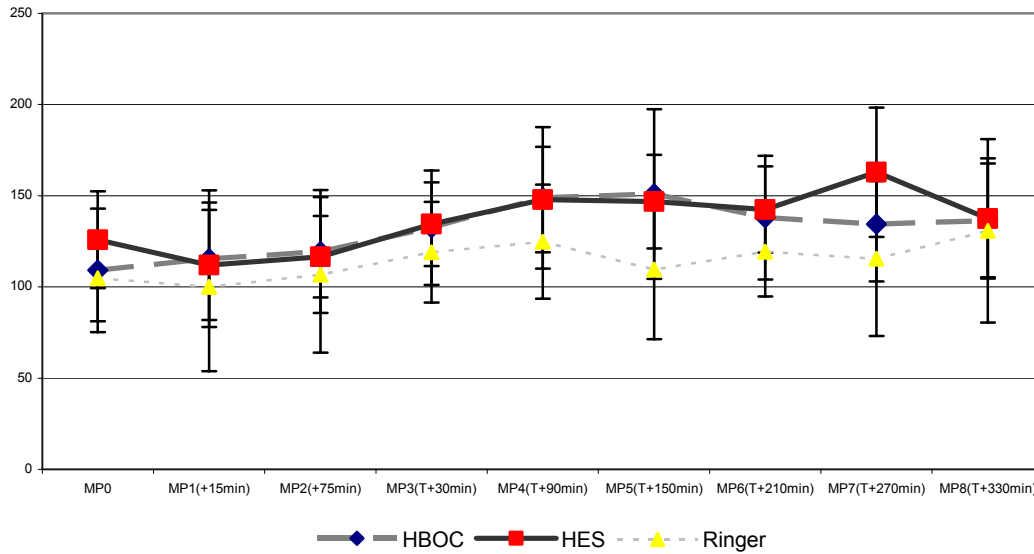


Abb. 20: Sauerstoffverbrauch über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in ml · min⁻¹

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe: 832,7 (SD 204) CI 702; 962

HES-Gruppe: 844,9 (SD 147) CI 751; 938

Ringer-Gruppe: 706,9 (SD 177) CI 593; 820

Zwischen den Gruppen ergaben sich über den Beobachtungszeitraum im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA) (Abb. 20).

3.4.6 Sauerstoffextraktion (ERO₂)

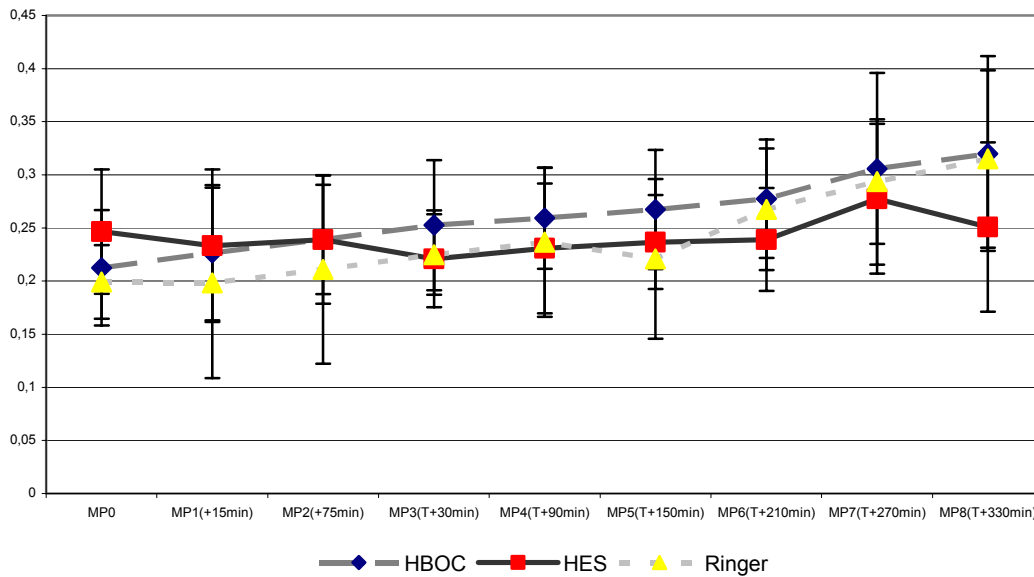


Abb. 21: Sauerstoffextraktion über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben als Quotient

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe: 1,6 (SD 0,3) CI 1,4; 1,9
HES-Gruppe: 1,4 (SD 0,3) CI 1,2; 1,6
Ringer-Gruppe: 1,5 (SD 0,3) CI 1,3; 1,7

Zwischen den Gruppen ergaben sich über den Beobachtungszeitraum im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA) (Abb. 21).

3.5 Blutgasanalysen

3.5.1 Hämoglobingehalt

(g·dl⁻¹)

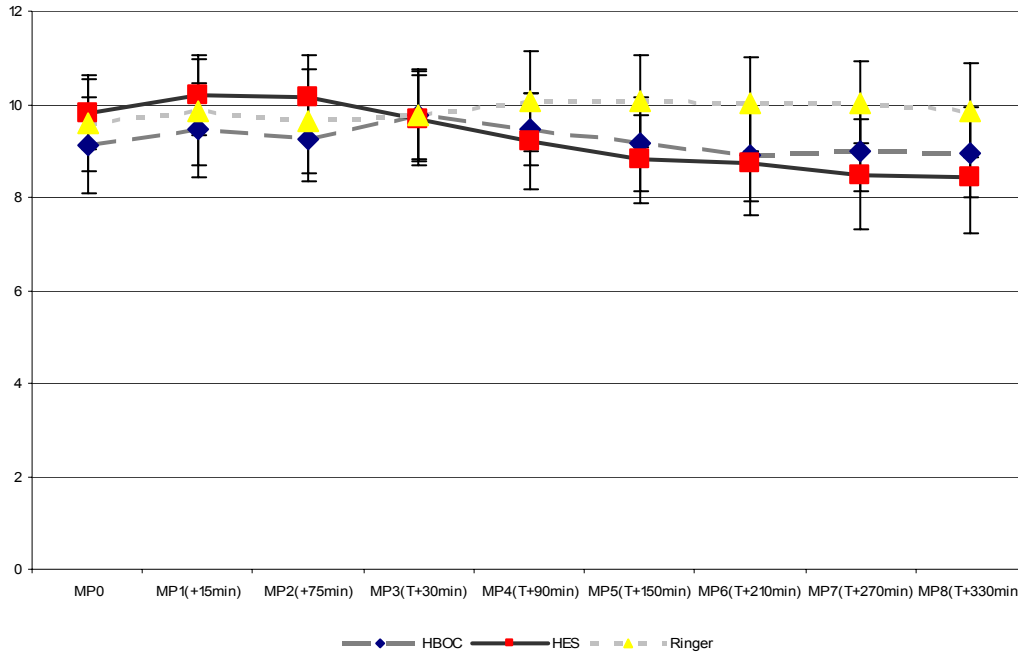


Abb. 22: Hämoglobingehalt über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in g · dl⁻¹

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe: 55,4 (SD 5,4) CI 52,0; 58,8

HES-Gruppe: 54,2 (SD 6,3) CI 50,2; 58,2

Ringer-Gruppe: 59,7 (SD 6,0) CI 55,9; 63,5

Zwischen den Gruppen ergaben sich über den Beobachtungszeitraum im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA) (Abb. 22).

3.6 Laborchemische Parameter

3.6.1 Rheologie

Viskosität

(mPa·s)

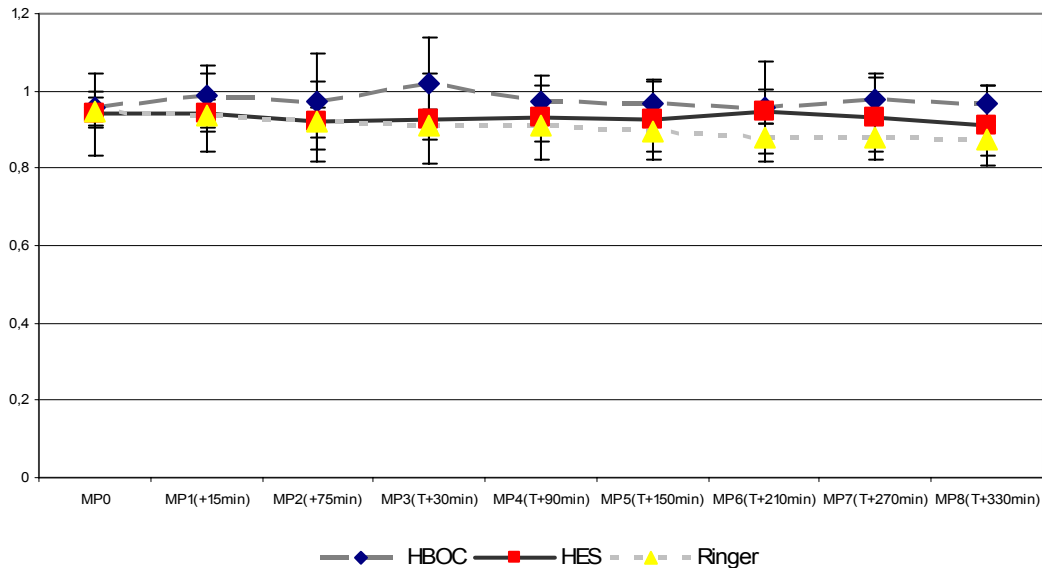


Abb. 23: Viskosität über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in mPa · s

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe: 5,9 (SD 0,3) CI 5,7; 6,1

HES-Gruppe: 5,6 (SD 0,7) CI 5,2; 6,0

Ringer-Gruppe: 5,4 (SD 0,2) CI 5,2; 5,5

Zwischen den Gruppen ergaben sich über den Beobachtungszeitraum im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA) (Abb. 23).

Kolloidosmotischer Druck (KOD)

(mmHg)

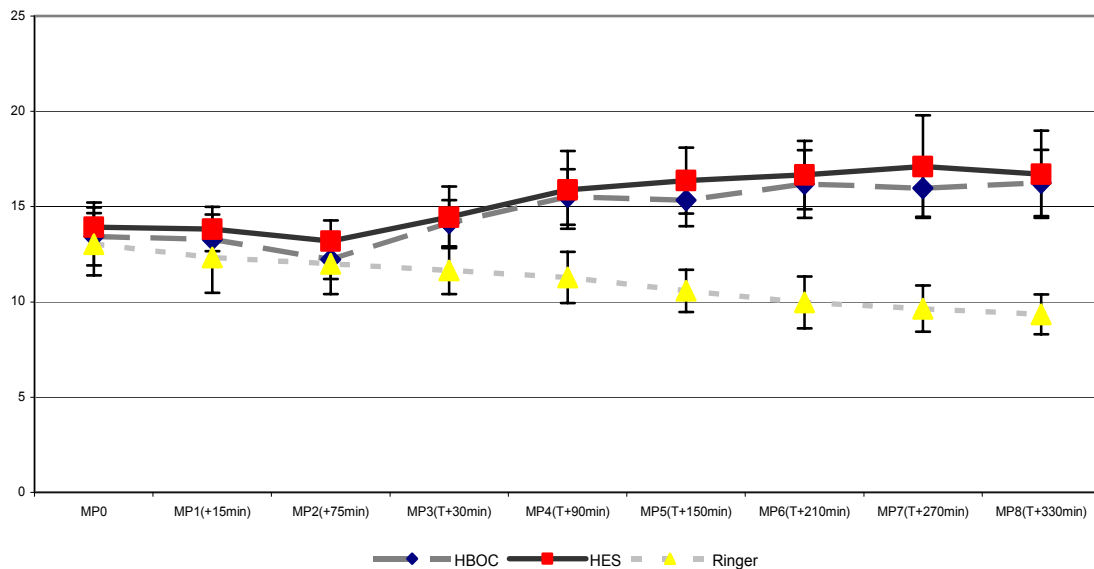


Abb. 24: Kolloidosmotischer Druck über den Beobachtungszeitraum (MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 0,5-5,5 Stunden nach Therapie; Mittelwerte und SD); Angaben in mmHg

Fläche unter der Kurve:

HBOC-301 Gruppe:	91,4 (SD 7,4) CI 88,7; 96,1
HES-Gruppe:	95,4 (SD 11,3) CI 88,3; 102,3
Ringer-Gruppe:	63,8 (SD 63,8) CI 59,2; 68,5

Erneut konnte durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$) detektiert werden (Abb. 24). Zusätzlich wurde daher für jedes Tier die Fläche unter der Kurve für die Veränderung des KOD (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP2) beginnend) berechnet. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). Die anschließende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte einen erhöhten KOD in der HBOC-Gruppe und HES-Gruppe im Verhältnis zur Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 27,6 (SE 3,6) bzw. 31,6 (SE 3,6); one-way ANOVA $p < 0,001$). Zwischen der HBOC und der HES-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

3.6.2 Elektrolyte

Für die Konzentrationen der gemessenen Elektrolyte Natrium, Kalium und Calcium ergaben sich zwischen den Gruppen über den Beobachtungszeitraum im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA).

4 Diskussion

Im vorliegenden Versuch wurde der therapeutische Einfluss der Hämoglobinlösung HBOC-301 Oxyglobin™ auf die Gewebsoxygenierung des Pankreas bei schwerer akuter Pankreatitis im Schweinemodell untersucht. Hierzu wurde HBOC-301 Oxyglobin™ im Vergleich zu nicht sauerstofftransportierenden Infusionslösungen untersucht, und es wurde überprüft, ob sich in den verschiedenen Therapiegruppen in einem festgelegten Nachuntersuchungszeitraum ein Überlebensvorteil ergibt.

4.1 Methodenkritik

4.1.1 Pankreatitismodell

Zur Entstehung der akuten Pankreatitis existieren verschiedene Theorien, auf denen die Modelle zur Erzeugung einer akuten Pankreatitis basieren. Der amerikanische Pathologe Opie stellte 1901, nachdem er bei zwei Patienten einen die Öffnung des Ductus pancreaticus verschließenden Gallenstein vorgefunden hatte, die Theorie auf, dass durch ein Ganghindernis der Rückstau der Gallenwegsflüssigkeit in das Pankreasgangsystem eine Pankreatitis auslösen kann [123]. Die Modelle von Seidel [142] und Pfeffer [129] basieren auf Versuchen, bei denen das Duodenum oberhalb und unterhalb der Mündung des Ductus pancreaticus ligiert wurde und sich so der Reflux aus dem Duodenum als Ursache für die Aktivierung von Pankreasenzymen nachweisen ließ. Durch Injektion von Wachskugeln in Pankreasarterien zeigte Pannum 1862, dass die experimentelle Auslösung einer akuten Pankreatitis durch die Unterbrechung der Blutzufuhr zum Pankreas möglich ist [125]. Diese vaskuläre Theorie wurde durch klinische Beobachtungen des Auftretens der aku-

ten Pankreatitis nach Schock [165], Bypassoperation [34], Aortenaneurysmaoperation [57] und arterieller Embolie [136] bestätigt.

Die experimentelle Erzeugung einer akuten Pankreatitis ist auf verschiedenen Wegen möglich. Hierzu wurden verschiedene Tiermodelle entwickelt, welche das gemeinsame Ziel verfolgen, das Krankheitsbild Pankreatitis zur Evaluierung von Therapiemaßnahmen zu simulieren. Die gängigsten Modelle werden hier kurz dargestellt.

1. Infusion von Natrium-Taurocholat in den Pankreasgang

Ein Modell stellt die Injektion von Natrium-Taurocholat intraductal [94,135] dar. In Abhängigkeit von der verwendeten Dosis kommt die pankreatische Mikrozirkulation früh und irreversibel zum Stillstand. Die Verwendung dieses Modells erscheint bei der Fragestellung der vorliegenden Arbeit zur möglichen Verbesserung der Mikrozirkulation nicht sinnvoll.

2. Cholin-defiziente Ethionin-supplementierte Diät

Auch durch diätetische Maßnahmen (Cholin-defizientes Ethionin Supplement) oder Zufuhr von Alkohol ist die Induktion einer akuten Pankreatitis möglich [48,119]. Beide Verfahren sind sehr zeitaufwendig. Außerdem ist der Zeitpunkt der Intervention nur ungenau abzuschätzen.

3. Hormonelle Hyperstimulation mittels Cerulein

Einen anderen Ansatz bietet die Hyperstimulation des Pankreas mittels Cerulein [8,113]. Dabei wird das Pankreas nur wenig geschädigt. Es kommt zur ödematösen Pankreatitis, an welcher die Tiere nur in den seltensten Fällen versterben. Dies entspricht nicht der für den Versuch notwendigen Induktion einer schweren akuten Pankreatitis.

4. Gangverschluss des Ductus pancreaticus an der Mündung ins Duodenum

Durch Ligatur des Pankreasganges lässt sich die Pathophysiologie der Steinpassage als Auslöser der akuten Pankreatitis simulieren [144]. Die Kombination von galligem Reflux, welcher das Gangepithel zerstört, verbunden mit einer gleichzeitigen pankreatischen Hyperstimulation, löst eine schwere akute Pankreatitis aus [139,144]. Dieses Modell fand im vorliegenden Versuch Verwendung. Es erlaubt, die Pankreatitis graduiert auszulösen, wobei der Zeitpunkt der Intervention genau definierbar ist. Es lässt sich eine schwere akute Pankreatitis induzieren, ohne dass es bei Beginn der Therapie bereits zu einem irreversiblen Zusammenbruch der Mikrozirkulation kommt. Die Erkrankung ist schwer genug, dass die Tiere ohne Therapie versterben und auch mit Behandlung eine relativ hohe Sterblichkeit aufweisen, dass aber auch Tiere durch die Therapie überleben.

Die Injektion von chemischen Substanzen in das Pankreas führt leicht zu einer druckbedingten Schädigung der Gangepithelien, wenn der bei der Injektion aufgebaute intraduktale Druck 20-30mmHg überschreitet. Die Folge dieses Barotraumas kann eine Totalnekrose des betroffenen Areals sein, für die in der Humanmedizin kein pathophysiologisches Korrelat besteht. Dieses Problem wurde in dieser Untersuchungsreihe durch die Verwendung eines druckbegrenzten Präzisionsperfusors vermieden.

Die Evaluation neuer Therapieverfahren bei akuter Pankreatitis beim Menschen wäre aufgrund der geringen Inzidenz nur in Multicenterstudien, idealerweise in kontrollierten randomisierten Therapiestudien möglich. Neben dem großen organisatorischen und finanziellen Aufwand käme es durch die Unterschiede der einzelnen Patienten in Geschlecht, Alter, Gesundheitszustand und Schwere der Pankreatitis hinsichtlich der Vergleichbarkeit zu großen Problemen. In Tierversuchen lässt sich bei vergleichsweise geringen Kosten durch geeignete Selektion eine sehr gute

Homogenität und Vergleichbarkeit erreichen. Es kann über eine größere Anzahl von Individuen gleichen Alters (idealerweise aus demselben Zuchtstamm) verfügt werden. Zudem kann das Experiment bei jedem Tier unter den gleichen standardisierten Bedingungen durchgeführt und zu einem definierten Zeitpunkt nach Krankheits- bzw. Therapiebeginn beendet werden. Durch das oben beschriebene Pankreatitismodell mit exakter Steuerbarkeit der Krankheitsschwere ist die Übertragbarkeit und Umsetzung experimenteller Forschungsergebnisse auf Patienten in der Klinik durchaus gegeben [43].

4.1.2 Messmethoden

Die Versuchsreihe wurde an kardiopulmonal gesunden Tieren unter standardisierten Bedingungen, also ohne Veränderung von Beatmungsparametern durchgeführt. Durch Konstanthaltung des Wedge-Drucks (PCWP, Pulmonary Capillary Wedge Pressure) wurde die Aufrechterhaltung der intravasalen Isovolämie gewährleistet. Der PCWP beschreibt jenen Druck, welcher beim vorübergehenden Blocken der Pulmonalarterie mittels eines Ballonkatheters (Swan-Ganz-Katheter) distal des geblockten Ballons gemessen wird. Der Wedge-Druck entspricht dem Druck im linken Vorhof des Herzens und beschreibt den aktuellen Volumenstatus des Patienten. Wenn das linksventrikuläre enddiastolische Volumen zunimmt, steigt auch der enddiastolische Druck, was sich durch Zunahme des PCWP äußert. Eine noch genauere Bestimmung des linksventrikulären enddiastolischen Füllungsvolumens wäre mittels echokardiographischer Darstellung möglich gewesen. In Parallelvergleichen konnte jedoch im Hunde- und Schweinmodell eine gute Korrelation des PCWP mit der Höhe der intrakardialen Füllungsvolumina nachgewiesen werden [46,54]. Da in der vorliegenden Versuchsreihe vor allem signifikante Änderungen des Volumenstatus der Tiere vermieden werden sollten, wurde weniger großer Wert auf die Absolutwerte des PCWP als vielmehr auf die relativen Änderungen des Parameters geachtet. Es kann also angenommen werden, dass sich mittels des PCWP in unserem Versuchsaufbau

eine repräsentative Aussage über den intravasalen Volumenstatus treffen lässt und der Wedge-Druck damit als Überwachungsparameter der Isovolumämie geeignet ist.

4.1.3 Messung des Gewebssauerstoffpartialdrucks (tpO_2)

Die Sauerstoffaufnahme aus dem Blut ins periphere Gewebe findet, ebenso wie die Kohlendioxidabgabe, durch Diffusion statt. Der Sauerstoff wird aus den intrakapillären Erythrozyten in das umliegende Gewebe und von dort weiter in die intrazellulär liegenden Mitochondrien transportiert. Die suffiziente Diffusion hängt neben dem Herzzeitvolumen bzw. Blutfluss zu den Organen und Geweben, der Sauerstoffbindungskapazität des Blutes und der lokalen kapillären Durchblutung des Pankreas auch von der Kapillardichte und der Differenz in der Sauerstoffkonzentration zwischen dem Kapillarblut und den sauerstoffverbrauchenden Mitochondrien in den umgebenden Gewebszellen ab. Eine Verringerung der Sauerstoffnachlieferung führt zum Sauerstoffmangel im Gewebe und zu einer Einschränkung des oxidativen Zellstoffwechsels.

Das bekannteste Modell zur Darstellung der Bedingungen des Gasaustausches in den Geweben ist der von Krogh 1918 [90,91] beschriebene Gewebszylinder (Abb. 25). Nach diesem Modell versorgt eine Kapillare mit dem Radius R^1 einen sie umgebenden koaxialen Gewebszylinder mit dem Radius R^2 (Krogh-Zylinder), wobei jede Einheit Kapillare/ Zylinder unabhängig von allen anderen ist. Weitere Annahmen sind:

1. Die Kapillaren beginnen und enden parallel in der gleichen Ebene.
2. Die Kapillaren werden in der gleichen Richtung durchströmt.
3. Der Sauerstoffpartialdruck nimmt entlang des Zylinders linear ab, wenn die Kapillare von Plasma durchströmt wird.
4. Die axiale Diffusion ist vernachlässigbar.
5. Die Sauerstoffaufnahme und der Sauerstofflöslichkeitskoeffizient sollen im Kroghschen Gewebezylinder gleich sein.

Wird die Kapillare von Blut durchströmt, fällt die Sauerstoffsättigung nicht linear, sondern entsprechend der Sauerstoffbindungskurve ab. Die in das Gewebe transportierte Sauerstoffmenge ist proportional dem Sauerstoffpartialdruckabfall zwischen Kapillare und Zylinderwand. Hieraus ergibt sich, dass die Sauerstoffversorgung der Gewebezellen umso schlechter wird, je näher sie am Ende der Kapillare liegen und je weiter sie von der Kapillare entfernt sind. Zur Berechnung des Sauerstoffpartialdrucks kann die Krogh-Erlang-Gleichung herangezogen werden:

$$\Delta pO_2 = A \times R^2 / \alpha \times D$$

ΔpO_2 = Sauerstoffpartialdruckdifferenz

A = Gewebeatmung (ml/ 100g x min)

R^2 = Zylinderradius

α = Löslichkeitskoeffizient (ml O₂/ ml Atm)

D = Diffusionskoeffizient

Aus der Gleichung ergibt sich, dass die Sauerstoffpartialdruckdifferenz ΔpO_2 , die für den Transport der benötigten Sauerstoffmenge erforderlich ist, linear von der Gewebeatmung A abhängt. Der Sauerstoffpartialdruckabfall steigt bei einer Vergrößerung des Zylinderradius mit dem Quadrat des Radius an, d.h. bei einer Verdopplung des Radius steigt die ΔpO_2 auf das Vierfache. Je größer das Produkt aus Löslichkeitskoeffizient α und Diffusionskoeffizient D ist, desto niedriger ist die für den Transport benötigte Druckdifferenz ΔpO_2 . Anders als im Modell verlaufen die Kapillaren im Körper nicht gerade, der Sauerstoffverbrauch variiert innerhalb der Gewebe, es ergibt sich daher eine weitaus komplexere Situation als im Krogh-Modell dargestellt. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es während des Sauerstofftransportes aus dem Blut bis zu den sauerstoffverbrauchenden Zellorganellen zu einem Abfall des Sauerstoffpartialdrucks von 150mmHg in der Inspirationsluft auf wenige mmHg in den Mitochondrien kommt.

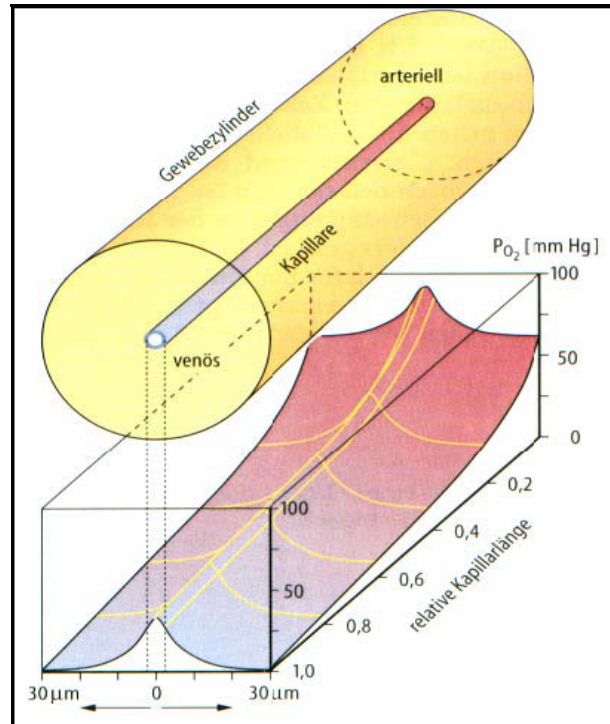


Abb. 25 Krogh'scher Zylinder

Durch die 1993 von der Firma GMS (Kiel) entwickelte polarographische Licox Sauerstoffsonde ist es möglich, den Sauerstoffpartialdruck (tpO_2) als repräsentativen Parameter für den Sauerstoffmetabolismus in einem umschriebenen Gewebsareal zu messen [19,105]. Der Einzugsbereich einer Elektrode kann allerdings Sauerstoffpartialdruckfelder verschiedener Versorgungsgebiete umfassen. Weiterhin variiert der Sauerstoffpartialdruck physiologischerweise in einem Gewebeabschnitt stark, so dass eine Interpretation keinesfalls auf Einzelmessungen beruhen darf. Zur Beurteilung der Gewebsoxygenierung müssen die tpO_2 Werte zu allen ermittelten Messpunkten miteinander verglichen werden.

Die geschichtliche Entwicklung der polarographischen Messung des Gewebesauerstoffdruckes wurde von Lübbers [103] ausführlich dargestellt. Die von Clark [18] beschriebene und von Kessler [82,83] weiterentwickelte Möglichkeit, die Messung mittels einer Oberflächenelektrode durchzuführen, hat den Nachteil, dass der tpO_2 nicht in tieferen Zellschichten, sondern nur an der Organoberfläche ermittelt wird. Der tpO_2 oberflächli-

cher und tiefer Gewebsschichten stimmt nur bedingt in den einzelnen Organen überein [101,102]. Es müsste also, um exakte Daten der tiefen Gewebsschichten zu erhalten, eine Präparation bis in diese Areale vorgenommen werden. Dies würde eine Traumatisierung mit eventueller Nekrosenbildung des Gewebes nach sich ziehen, was die Genauigkeit der Messung negativ beeinflussen könnte. Im Gegensatz dazu ist mit den Licox Siliconkathetern keine Präparation der Organoberfläche nötig. Auch Fleckenstein stellte die Vorteile der Feinnadelsonde gegenüber der Oberflächelektrode [35,36] heraus. Hauttemperatur und Änderungen der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration beeinflussen die Messungen der Feinnadelsonde in geringerem Maße als die der Oberflächelektrode. Es lässt sich also festhalten, dass die Messung des tpO_2 mit Hilfe der Licox Sonde im Vergleich zu der Oberflächelektrode wesentlich weniger empfindlich gegenüber Störungen ist.

4.1.4 Messsubstanzen

Entwicklung von Hämoglobinlösungen

Schon zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurden die ersten Hämoglobinlösungen am Menschen getestet. 1949 brachte der Amerikaner William Amberson den ersten prinzipiellen Nachweis einer effektiven Gewebsoxygenierung mit einer humanen Hämoglobinlösung bei schwerer Anämie [3].

Die Infusion von ungereinigtem isoliertem Hämoglobin hat mehrere unerwünschte Effekte:

- Es erfolgt ein spontaner Zerfall des isolierten Hämoglobintetramers außerhalb des Erythrozyten in seine dimeren und monomeren Unterheiten, was eine Verkürzung der intravasalen Halbwertszeit des Hämoglobins auf weniger als 1,5 Stunden nach sich zieht. Die glomeruläre Filtration und Präzipitation von Hämoglobindi- und -mono-

meren in der Henle-Schleife resultiert in einer deutlichen Nephrotoxizität.

- Bei Anwesenheit von freiem, insbesondere desoxygeniertem Hämoglobin kommt es zu einer gesteigerten Oxydierung des Eisenions im Hämoglobin von Fe^{2+} zu Fe^{3+} . Hämoglobin mit oxydiertem d.h. dreiwertigem Eisen wird als Methämoglobin bezeichnet. Es kann keinen Sauerstoff binden oder transportieren und führt außerdem zur Produktion unerwünschter radikaler Sauerstoffspezies (Superoxidationen, Wasserstoffperoxid). Erwachsene besitzen das Enzym Methämoglobinreduktase, welches Methämoglobin wieder zum Teil zu Hämoglobin reduziert.
- Die Sauerstoffaffinität von freiem Hämoglobin ist aufgrund der fehlenden regulatorischen Kontrolle durch 2,3-Diphosphoglyzerat (2,3-DPG) deutlich erhöht. 2,3-DPG wird bei der Glykolyse vor allem in Erythrozyten gebildet. Es vermindert durch allosterische Wirkung die Bindung von Sauerstoff an das Hämoglobin. Extraerythrozytär ist nur wenig 2,3-DPG vorhanden, es kommt zu einer Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve und damit zu einer erschwerten Abgabe von Sauerstoff an das Gewebe. Der P_{50} (Sauerstoffpartialdruck, bei dem 50% des Hämoglobins mit Sauerstoff gesättigt sind) fällt bei freiem Hämoglobin auf 12-15mmHg, während er unter physiologischen Bedingungen 26-28mmHg beträgt.

Hämoglobinmodifikationen

Durch verschiedene intra- und intermolekulare Modifikationen am isolierten Hämoglobin konnten die unerwünschten Wirkungen abgeschwächt und die Sauerstofftransporteigenschaften des Hämoglobins verbessert werden.

- Kopplung der Moleküluntereinheiten aneinander: Intramolekulares Crosslinking z.B. durch Diaspirin-Bindung zwischen beiden alpha-Ketten des Hämoglobinmoleküls.

- Polymerisation zu Makromolekülen: Intermolekulares Crosslinking des Hämoglobins zu Einheiten von 10-15 Tetrameren durch Glutaraldehyd.
- Konjugation: chemische Bindung mehrerer Hämoglobinmoleküle an Makromoleküle wie Dextran oder Polyethylenglykol.
- Einfügen des 2,3-DPG-Analogons Pyridoxal-5'-Phosphat (PLP)
- Verkapselung von zellfreiem Hämoglobin in Liposomen. Hierbei ist das Hinzufügen von 2,3-DPG möglich, dadurch ist die Oxydation von Hämoglobin zu Methämoglobin verzögert und die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins erniedrigt.

Ziel dieser Modifikationen ist eine reduzierte spontane Dissoziation des Tetramers und damit verzögerte glomeruläre Filtration, gesteigerte intravasale Halbwertszeit und eine verringerte Nephrotoxizität. Des Weiteren soll die Sauerstoffaffinität in den Hämoglobinmolekülen reduziert und so die Sauerstoffabgabe ans Gewebe erleichtert werden. Durch Austausch einzelner Aminosäuren innerhalb der Proteinketten kann die Tertiär- und Quartärstruktur des Moleküls so verändert werden, dass die Bindung von Stickstoffmonoxid unmöglich wird [27]. Prinzipiell existieren heute zwei verschiedene Gruppen von ‚hemoglobin based oxygen carrier‘ (HBOC): Die humanen und die bovinen Hämoglobinlösungen.

Bovine Hämoglobinlösungen

Moderne HBOC sind durch Ultrapurifikation und spezielle Absorptionstechniken (HPLC) frei von Erythrozytenmembranbestandteilen. Demzufolge liegt keine ABO-Antigenität vor, es muss keine Austestung auf Blutgruppenverträglichkeit erfolgen. Polymerisierte HBOC scheinen eine geringere Inzidenz von Nebenwirkungen zu haben als intramolekular vernetzte Hämoglobinpräparate. In diesem Versuch kam die ultrageereinigte, mit Glutaraldehyd polymerisierte bovine Hämoglobinlösung HBOC-301 (Oxyglobin™, Biopure Inc., Cambridge, Massachusetts, USA)

zum Einsatz. HBOC-301 Oxyglobin™ ist nach wie vor die einzige zellfreie Hämoglobinlösung, die eine Zulassung zur Behandlung der perioperativen Anämie bei Erwachsenen hat (Südafrika). Hämoglobinlösungen bovinen Ursprungs stellen eine viel versprechende Alternative zu humanen und gentechnologisch gewonnenen Hämoglobinlösungen dar. HBOC-301 Oxyglobin™ ist frei von gravierenden toxischen Nebenwirkungen, die intravasale Verweildauer beträgt etwa 16 Stunden. Die Lösung ist bei Raumtemperatur ohne Wirkungsverlust über 2 Jahre haltbar. Die Herstellung von Hämoglobinlösungen auf Basis von Rinderhämoglobin hat den Vorteil, dass der P_{50} (Sauerstoffpartialdruck, bei dem die Hälfte des Hämoglobins mit Sauerstoff gesättigt ist) ähnlich hoch wie bei humanem intraerythrozytärem Hämoglobin, dabei aber nahezu unabhängig von der 2,3-DPG-Konzentration ist. Hierbei spielen Chloridionen die Hauptrolle in der Regulation der Sauerstoffaffinität. HBOC erweisen sich als hochpotente Sauerstofflieferanten durch erleichterte Sauerstofffreisetzung aus HBOC selbst und eine erhöhte Sauerstoffextraktion aus benachbarten Erythrozyten sowie durch plasmatischen Sauerstofftransport [58,59].

4.1.5 Statistik

Da es sich sowohl bei der Mikro- und Makrozirkulation als auch bei den tpO_2 -Werten um Verlaufsparameter handelt, sind diese mit einer Varianzanalyse für wiederholte Messungen (ANOVA) zu vergleichen. Fand sich dort kein Unterschied ($p \leq 0,05$) zwischen den Gruppen, so lag keine Signifikanz vor. Allerdings fand sich im vorliegenden Versuch häufig der Fall, dass sich ein signifikanter Gruppenunterschied nachweisen ließ, wobei aber ein Zeit-Therapie-Effekt (time by treatment interaction test) auftrat. Dieser Effekt tritt auf, wenn die einzelnen Gruppenverläufe nicht parallel zueinander sind. Analysiert man die Graphen dieser Parameter, stellt man fest, dass sich die Gruppen im Verlauf offensichtlich deutlich voneinander unterscheiden. Als Beschreibungsversuch wurde die Fläche

unter der Kurve (area under the curve, AUC) gewählt, welche den Verlauf einer Kurve charakterisieren kann und mit der derartige Unterschiede statistisch herausgearbeitet werden können. Hierbei kann die Zweidimensionalität (Ausprägung der Merkmale, zeitlicher Verlauf) zu einer Dimension zusammengefasst werden. Dies ist aber nur dann sinnvoll, wenn zwei Kurven nicht gegensinnig zueinander verlaufen. Lägen in einer Gruppe ansteigende Werte vor, während die Werte der anderen Gruppe abfielen, wäre die Fläche unter der Kurve gleich groß ist und würde damit fälschlicherweise einen gleichen Kurvenverlauf suggerieren. Dieser Fall trat allerdings bei keinem der Verlaufsparameter ein (siehe Abbildungen). Nachteil der Beschreibung durch die AUC ist die eingeschränkte klinische Interpretierbarkeit. So kann man kann zwar einen Unterschied im Gewebesauerstoffpartialdruck z.B. von 20mmHg klinisch einordnen, einen Unterschied der AUC des tpO₂ von 60mmHg dagegen nicht. Dieses ist allerdings auch nicht erforderlich, da es sich bei der Versuchsreihe um experimentell erhobene Daten handelt und die beschriebenen Unterschiede am besten graphisch dargestellt werden können. Die aus dem Tierexperiment erhobenen Daten bedürfen in jedem Fall einer Anpassung, wenn sie mit humanmedizinischen Werten verglichen werden sollen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Hämodynamik

Die Makrozirkulation wird durch Veränderungen der Mikrozirkulation, die durch die akute Pankreatitis hervorgerufen wurde, verändert. So kommt es nach Induktion der akuten Pankreatitis und der folgenden Applikation von HBOC-301 Oxyglobin™ zu einer Erhöhung des arteriellen Mitteldruckes und des systemischen Gefäßwiderstandes. Dementsprechend ist es eines der Ziele bei der Therapie der akuten Pankreatitis,

die Makrozirkulation zu verbessern, um hierdurch die Mikrozirkulation günstig zu beeinflussen. Die mittleren arteriellen Drücke der HBOC- und HES-Gruppen lagen signifikant über denen der Ringer-Gruppe. Aus der Applikation von HBOC-301 Oxyglobin™ resultierte in unserer Untersuchung keine Reduktion des CO bzw. CI. Bei nahezu allen tierexperimentellen Untersuchungen kam es entweder zu einer Erhöhung des MAP oder des PAP bei konstantem CO [56,80,152,166] oder zu einer Reduktion des CO bei unverändertem MAP [33,132,158].

Die PCWP-gesteuerte Volumensubstitution erwies sich oft als schwierig, da die Volumenaufnahme besonders der mit Ringer therapierten Tiere beträchtlich war. Letzten Endes konnte jedoch in allen Gruppen durch suffiziente Volumentherapie der Mitteldruck auf Werten von über 50mmHg gehalten werden. Somit wurde ein isovolämischer Zustand erreicht, der über die gesamte Versuchsdauer ein ausreichender Perfusionsdruck der Organe aufrechterhalten werden konnte. Durch verschiedene Studien wurde belegt, dass Hämoglobinlösungen den mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) um 30-80% steigern können [16,,63,77,158]. Der Reinheitsgrad und chemische Aufbau der Hämoglobinlösung haben Einfluss auf die Intensität der vasokonstriktorisches Reaktion [53,163]. Bei den HBOC-Lösungen der ersten Generation kam es durch Verunreinigung mit Endotoxinen zu einer Erhöhung des mittleren arteriellen Drucks. Bei den inzwischen zur Verfügung stehenden, ultrahochgereinigten Lösungen liegt dieser Effekt unter der Nachweisgrenze. Die vasokonstriktorisches Effekte von HBOC-Lösungen werden auf die direkte vasokonstriktorisches Wirkung durch NO-scavenging, also eine rasche Bindung des Vasodilatators NO an freies Hämoglobin zurückgeführt [24,78]. Diese führt zu einem deutlich erhöhten Gefäßtonus der großen Gefäße, zur Erhöhung des systemischen Gefäßwiderstandes (SVR) und damit zu gesteigertem mittlerem arteriellen Druck [166].

Bei den Überlegungen zur Hämodynamik muss die untersuchte Tierspezies mit ihren Eigenschaften mit einbezogen werden. In Versuchen an Ratten wurden besonders deutliche vasokonstriktorische Veränderungen nachgewiesen [49,56,141], während die Modifikation bei Hunden, Schafen und Schweinen unter Anwendung von Hämoglobinlösungen als geringer beschrieben wurden [47,65,152,158,162]. Die Versuchsreihen müssen zudem danach unterschieden werden, ob es sich um in vivo oder in vitro Experimente handelt. Die stärksten vasokonstriktorischen Effekte wurden bei in vitro Versuchen an isolierten Organen beobachtet [116].

Eine systemische Vasokonstriktion bedeutet nicht unbedingt einen verschlechterten regionalen Blutfluss in Organen und Geweben oder eine reduzierte Mikrozirkulation. Gulati et. al führten Durchblutungsmessungen an den einzelnen Organen von Ratten bei Verwendung von 0,4 g/kg Diaspirin-vernetztem Hämoglobin durch; hierbei war keine Veränderung der Leber- und Nierendurchblutung nachweisbar, während bei Gabe einer unmodifizierten Hämoglobinlösung die Perfusion der Organe abnahm [56]. In unserer Versuchsreihe kam es trotz nachgewiesener Vasokonstriktion zu einer verbesserten Gewebsoxygenierung nach Gabe von HBOC.

Die Steigerung des systemischen Gefäßwiderstandes (SVR) durch HBOC ist ebenfalls in verschiedenen Studien belegt worden [56,80,145,146]. Hess et al. untersuchten die Wirkung einer humanen Hämoglobinlösung im Schweinemodell bei einer Hämorrhagie von 25 ml/kg KG und fanden eine Verdoppelung des SVR im Vergleich zur Kolloid- und Ringer-Gruppe [63]. Bei Patienten, die präoperativ HBOC erhielten, fanden Standl et. al eine Steigerung des SVR um 42% [154]. Sharma et al. wiesen unter Applikation von 400 mg/kg KG der Hämoglobinlösung DCLHb an Ratten einen Anstieg des SVR um 45% nach [147].

Zusätzlich zur dargestellten Erhöhung von MAP und SVR durch Applikation von HBOC-301 Oxyglobin™ nach Induktion der akuten Pankreatitis kam es zu einer Steigerung des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) bzw. des pulmonalen Widerstandes (PVR) als berechnetem Parameter. Dieser steigernde Effekt von HBOC-301 auf den PAP ist mehrfach vorbeschrieben [15] und beruht ebenfalls auf der NO-Bindungstheorie. Der PAP stieg in der HES-Gruppe nach Noradrenalingabe aufgrund der Stimulation von α -Rezeptoren. Die Argumentation, derzufolge die ausgeprägte vasokonstriktorische Wirkung von Noradrenalin einen zu ausgeprägten alphaadrenergen Einfluss auch im Splanchnikusbereich und im Pankreas hat, wurde in neueren Untersuchungen nicht bestätigt [111,112]. In klinischen Studien an septischen Patienten konnte überwiegend ein günstiger Einfluss des Katecholamins auf die regionale Oxygenierung nachgewiesen werden [108,133].

Der Vergleich der Makrohämodynamik mit der pankreatischen Gewebs-oxygenierung zwischen den Gruppen mit und ohne HBOC Gabe zeigt, dass trotz des normalen MAP in der HES-Gruppe mit Noradrenalingabe ein erniedrigter Perfusionsdruck nicht die Ursache für die unterschiedlichen tpO_2 Werte gewesen sein kann. Trotz gleicher Perfusionsdrücke im Vergleich der HBOC-301 Oxyglobin™ und HES-Gruppe war der tpO_2 , wie bereits oben dargestellt, in der HBOC-301 Gruppe deutlich verbessert.

Zusammenfassend wird in unserer Versuchsreihe angenommen, dass nicht die Gabe von Noradrenalin in der HES-Gruppe den Unterschied zur HBOC-301 Gruppe ausgemacht hat, sondern dass die pankreatische Oxygenierung trotz der dargestellten vasokonstriktorischen Nebenwirkungen durch die erhöhte Sauerstoffextraktionsrate des HBOC und den plasmatischen Sauerstofftransport gesteigert wurde.

4.2.2 Gewebsoxygenierung des Pankreas

Der Sauerstofftransport im Blut erfolgt unter Normalbedingungen vorwiegend durch die chemische Bindung von Sauerstoff an das Hämoglobin in den Erythrozyten. Dabei bindet 1g Hämoglobin 1,36 ml Sauerstoff (Hüfner Zahl). Eine vernachlässigbar geringe Sauerstoffmenge wird physikalisch im Blut gelöst transportiert. Bei Atmung von Luft (1 bar, 21% O₂, 78% N₂) beträgt der gemessene arterielle Sauerstoffpartialdruck (pO₂) 80-100mmHg. Die Sauerstoffversorgung erfolgt im Bereich der Gewebe über Diffusion und Konvektion aus den Kapillargefäßen, wobei die Diffusionsstrecke für Sauerstoff begrenzt ist und durch den Partialdruckgradienten von der Kapillare zum Gewebe wesentlich mitbestimmt wird. Um die Oxygenierung eines Gewebes sicher zu stellen, ist die Kapillardichte im Normalfall dem Bedarf des Gewebes angepasst.

Der zentrale pathogenetische Schritt in der Entstehung einer nekrotisierenden Pankreatitis aus einer milden Form der Erkrankung ist die gestörte Mikrozirkulation des Pankreas mit einer damit einhergehenden Verschlechterung der Gewebsoxygenierung. Durch die Beeinträchtigung der Kapillaren, beispielsweise durch mechanische Schädigung wie durch das beginnende Ödem nach Induktion der akuten Pankreatitis, wird die Mikrozirkulation gestört; es kommt zur Gewebshypoxie. Da die initiale Proteasenaktivierung und Zytokinfreisetzung bereits zum Zeitpunkt der klinischen Präsentation des Patienten irreversibel ist [72], stellt die Aufrechterhaltung der pankreatischen Gewebsoxygenierung eine therapeutische Option in der Behandlung der schweren nekrotisierenden Pankreatitis dar [168].

Ein vorteilhafter Effekt des HBOC-301 Oxyglobin™ liegt in der niedrigeren Sauerstoffaffinität des bovinen Hämoglobins (p50 von 36mmHg) im Vergleich zu zellulärem humanem Hämoglobin (p50 von 26mmHg). Verglichen mit humanem Hämoglobin ist die Sauerstoffbindungskurve des HBOC-301 Oxyglobin™ nach rechts verschoben, was die leichtere Sauer-

stoffabgabe in das sauerstoffdefiziente Gewebe in der Peripherie erklärt. Bei Patienten mit schwerer akuter Pankreatitis könnte diese Tatsache von großer Bedeutung sein. Verschiedene tierexperimentelle Modelle konnten bereits vorteilhafte Effekte bei Therapie mit HBOC nachweisen. Beispielsweise konnte durch prophylaktische Applikation von HBOC-201 bei Hunden mit akuter Anämie (Hb 7,5 g dl⁻¹) und 90%iger Stenose der linken Koronararterie ein Abfall des myokardialen tpO₂ verhindert und die linksventrikuläre Kontraktilität im versorgungsabhängigen Myokard erhalten werden [156]. Durch die Gabe von HBOC-301 Oxyglobin™ vor koronarer Okklusion und anschließender Reperfusion bei Ratten wurde das Ausmaß der histologischen Gewebsschädigung sowie die Inzidenz schwerer Herzrhythmusstörungen signifikant reduziert [14]. Des Weiteren konnten der höhere Sauerstoffdiffusionskoeffizient des HBOC im Vergleich zu Blut [13] und die erhöhte Sauerstofffreisetzung aus Erythrozyten in Anwesenheit von HBOC [124] durch Studien belegt werden. Für HBOC konnte eine Oxygenierungspotenz von 3:1 im Vergleich zu Warmblut und drei Wochen alten autologen Erythrozytenkonzentraten (EK) errechnet werden [155,157]. Besonders extrem niedrige tPO₂-Werte wurden durch die Gabe von HBOC schneller und effektiver beseitigt als durch Erythrozytenkonzentrate.

Die im Rahmen der Pankreatitis auftretende Gewebsazidose führt zu einer Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve und erschwert so die über 2-3-DPG regulierte Abgabe von Sauerstoff an das Gewebe. Die Sauerstoffabgabe wird beim HBOC-301 Oxyglobin™ durch Chloridionen gesteuert, die auch im azidotischen Gewebe genügend vorhanden sind. Zusätzlich bewirkt HBOC-301 Oxyglobin™ einen starken Haldane- und Bohr-Effekt im azidotischen Gewebe [158], der dazu führt, dass sich die Gewebsoxygenierung, anders als durch Therapie mit humanem Hämoglobin, deutlich verbessert lässt. HBOC-301 Oxyglobin™ verbessert die Perfusion auf mikrozirkulatorischer Ebene.

Die erhöhte Sauerstoffextraktion in Anwesenheit von HBOC scheint ein besonderes und charakteristisches Merkmal der modernen chemisch modifizierten zellfreien Hämoglobinlösungen zu sein. Es gibt Hinweise darauf, dass der vasokonstiktive Effekt durch HBOC, der an den großen Arterien und Arteriolen nachweisbar ist, an den kleineren Gefäßen weniger stark ausgeprägt ist und keinen negativen Einfluss auf die Mikrozirkulation hat. Im Gegenteil scheint die Vasokonstriktion durch die erhöhte Sauerstofffreisetzung aus HBOC und die damit erfolgende Verbesserung des für die Gewebsoxygenierung wichtigeren diffusiven Sauerstofftransports, mehr als ausgeglichen zu werden. HBOC-301 Oxyglobin™ bewirkt eine erhöhte Sauerstofffreisetzung ins Gewebe. Schlechter perfundierte oder oxygenierte Gewebsareale scheinen mehr durch die Gabe von HBOC zu profitieren als Gewebsbezirke mit besserer Perfusion. Durch eine erhöhte Sauerstoffextraktion sowie den sogenannten plasmatischen Sauerstofftransport ist die Verbesserung der poststenotischen Gewebsoxygenierung möglich [69]. Dies bedeutet, dass HBOC den Sauerstoff wie eine Art Shuttle von verbleibenden Erythrozyten aufnimmt und ihn ans Gewebe weitergibt. Sauerstoff wird vom Erythrozyten über die HBOC-301 Oxyglobin™ Moleküle in das Gewebe transportiert. Nach einer Studie von Federspiel scheint es, dass freies, plasmatisch gelöstes Hämoglobin die Sauerstoffabgabe an das Gewebe durch funktionelle Verkleinerung des Intrakapillarraumes steigert und so die Sauerstoffdiffusion zwischen Erythrozyten und Endothel zusätzlich erleichtert [32]. Eine Veranschaulichung des plasmatischen Sauerstofftransports bietet (Abb. 26). Eine Verminderung der Durchblutung durch ödematöse Schwellung des Gefäßendothels geht mit einer Einengung des Gefäßlumens einher, was im Rahmen der akuten Pankreatitis zu einer Verschlechterung der pankreatischen Mikrozirkulation führt. Das verengte Gefäßlumen kann ab einem bestimmten Innendurchmesser nicht mehr von Erythrozyten, deren Durchmesser bei etwa 7,5 µm liegt, passiert werden. Der Durchmesser eines Hämoglobintetramers liegt bei weniger als 10 nm, so dass diese Moleküle auch maximal eingeengte Gefäße noch

durchströmen können, solange ein Plasmafluss vorhanden ist. Durch diesen plasmatischen Sauerstofftransport können Gewebsareale oxyniert werden, die von Erythrozyten gar nicht mehr durchflossen werden können. Die Abb. 26 zeigt einen Querschnitt durch ein Nierengefäß, in dem zwei Erythrozyten dargestellt sind, die von plasmatisch gelösten Hämoglobinmolekülen umgeben sind. In diesem Gefäßabschnitt erleichtert HBOC-301 Oxyglobin™ die Sauerstoffabgabe durch sogenanntes Sauerstoff-Bridging. Da die Hämoglobinlösungen die Kapillaren homogen ausfüllen, ermöglichen sie eine geringe Diffusionsstrecke [30,100], so dass der Sauerstoff vom Erythrozyten über die HBOC-301 Oxyglobin™ Moleküle zum Gewebe transportiert werden kann.



Abb. 26: Elektronenmikroskopische Aufnahme einer renalen Kapillare: Zwei Erythrozyten werden homogen von HBOC Molekülen umgeben (aus Lipfert et al. [100])

Zur Bestimmung der Gewebsoxygenierung wurde der Gewebssauerstoffpartialdruck (tpO_2) herangezogen. Durch die Verfügbarkeit flexibler tpO_2 -Messsonden wurde die Gewebesauerstoffspannung im Pankreas in vivo direkt gemessen und dargestellt, dass es durch Applikation von HBOC zu einer Zunahme der Sauerstoffabgabe an das Pankreas kommt. Der

Sauerstoff aus dem Gewebe diffundiert aus einem Bereich von ca. 1,2 cm in das Lumen des flexiblen Silikon-Katheters, in dem dann der tpO₂ als Mittelwert gemessen wird. Der polarographisch gemessene tpO₂ ist derzeit der wohl verlässlichste Index für die Gewebsoxygenierung [45]. Es handelt sich um das Verhältnis zwischen Sauerstoffangebot und -nachfrage zu einem gegebenen Zeitpunkt. Bei stabilem Sauerstoffverbrauch drückt der tpO₂ die Gewebserfusion präziser aus als beispielsweise MAP oder CO. Unter Therapie mit HBOC-301 Oxyglobin™ kam es im Vergleich zu den mit Ringer und HES versorgten Tieren zu signifikant höheren tpO₂-Werten. Nach deutlichem Abfall des tpO₂ nach Induktion der Pankreatitis konnte der Gewebssauerstoffpartialdruck durch die Gabe der zellfreien Hämoglobinlösung nahezu auf das ursprüngliche Niveau angehoben werden. Dies lässt sich durch den plasmatischen Sauerstofftransport und die erhöhte Sauerstoffextraktion von HBOC-301 Oxyglobin™ bei insuffizienter pankreatischer Mikrozirkulation erklären.

4.2.3 Überleben

Neben der Fragestellung nach dem tpO₂ des Pankreas galt ein weiteres Interesse in dieser Versuchsreihe dem Nachweis von möglichen Überlebensvorteilen durch die therapeutische Anwendung von HBOC-301 Oxyglobin™ in einem definierten Nachuntersuchungszeitraum. Die Überlebenszeit in Stunden wurde definiert als die Zeit vom Ende der Anästhesie bis zur Feststellung des Todes. Hierbei überlebten die Tiere in der HBOC-Gruppe deutlich länger als in der Kontroll-Gruppe. Auch lag die Mortalität in der HBOC-Gruppe deutlich niedriger. So lebten aus der HBOC-Gruppe bei Ablauf der sechstägigen postoperativen Überwachung noch neun der dreizehn Tiere, während sechs Tiere aus der HES-Gruppe und nur zwei Tiere aus der Ringer-Gruppe die vollständige Überwachungszeit überlebten. Zu jedem Messpunkt lebten in der HBOC-Gruppe noch mehr Tiere als in der HES-Gruppe und in dieser

wiederum deutlich mehr als in der Ringer-Gruppe. Bei deutlicher Verschlechterung des Allgemeinzustandes eines Tieres wurde die Tötung durch den Veterinärmediziner angeordnet und dann vor Ablauf der sechs postoperativen Tage durchgeführt. Bei tot aufgefundenen Tieren wurde der Todeszeitpunkt mit Hilfe der Körpertemperatur auf zwei Stunden genau bestimmt. Die Tatsache, dass sich kein signifikanten Unterschied zwischen der HBOC-Gruppe und HES-Gruppe trotz verbesserten Gewebsoxygenierung nachweisen ließ, könnte entweder dadurch erklärt werden, dass es keinen Unterschied gab oder aber dass die statistische Power zu niedrig war. Um zu einer statistischen Signifikanz in der Untersuchung der Überlebensraten zu gelangen, müssten die Größe jeder Gruppe auf 165 Tiere (5% α Fehler, 80% power) gesteigert werden [37], was praktisch nicht durchführbar ist.

4.2.4 Begleiteffekte in der Anwendung von HBOC

Die Hauptnebenwirkung aller HBOC ist eine systemische Vasokonstriktion der großen Widerstandsgefäße. Ursächlich hierfür ist die Bindung des zellfreien oxydierten Hämoglobins nach Passage durch die Endothelbarriere der glatten Gefäßmuskulatur und Transzytose in die Gefäßmedia an den endogenen Vasodilatator NO, dessen vasodilatatorischer Effekt dadurch eliminiert wird; das HBOC-301 Oxyglobin™ wirkt somit indirekt vasokonstriktorisch [1,2,159]. Das Stickstoffmonoxid wird somit an seiner relaxierenden (vasodilatierenden) Wirkung an der Gefäßmuskulatur gehindert [117]. Der Vorgang wird als NO-scavenging bezeichnet. Eine systemische Vasokonstriktion bedeutet jedoch nicht zwangsläufig einen reduzierten regionalen Blutfluss in Organen und Geweben oder eine verschlechterte Mikrozirkulation [56,148]. Trotz Vasokonstriktion kommt es nach Gabe von HBOC-301 Oxyglobin™ zu einer gesteigerten Gewebsoxygenierung sogar im poststenotischen Gewebe. Das scheint darin begründet, dass diese Lösungen im Gegensatz zu Erythrozyten Be-

zirke jenseits von kritischen Stenosen erreichen können. HBOC-301 Oxyglobin™ verbessern also die Perfusion auf mikrozirkulatorischer Ebene. Es gibt Hinweise dafür, dass der vasokonstriktive Effekt durch HBOC an den kleineren Gefäßen weniger stark ausgebildet ist und somit keinen negativen Einfluss auf die Mikrozirkulation hat. Zahlreiche tierexperimentelle Studien der letzten Jahre haben gezeigt, dass mit HBOC-301 Oxyglobin™ ein suffizienter Volumenersatz nach hämorrhagischem Schock oder Verbrennungsschock sowie eine Wiederherstellung eines physiologischen KOD und einer normalen Organperfusion und –sauerstoffversorgung, auch unter Bedingungen eines nahezu kompletten Blutaustausches möglich ist [50,61,81,150,158,162]. Schlechter perfundierte Areale scheinen mehr von der Anwesenheit des HBOC-301 Oxyglobin™ zu profitieren als Areale mit guter Perfusion [155].

Ein weiteres Problemfeld bei der Gabe von HBOC-301 Oxyglobin™ stellt die Oxygenierung von plasmatischem Hämoglobin zu Methämoglobin dar. Bei Anwesenheit von freiem, insbesondere desoxygeniertem Hämoglobin kommt es zu einer gesteigerten Oxydierung des Eisenions im Hämoglobin von Fe^{2+} zu Fe^{3+} . Dieses Methämoglobin nimmt nicht mehr am Sauerstofftransport teil. Erwachsene besitzen das Enzym Methämoglobinreduktase, das zur Reduktion von Methämoglobin zu Hämoglobin fähig ist. Da in den Hämoglobinlösungen diese sonst intraerythrozytär bestehenden Enzymsysteme zur Reduktion fehlen, kann es bei Therapie mit HBOC-301 Oxyglobin™ zu einem persistierenden Anstieg der Methämoglobinkonzentration im Serum kommen. Vor der Gabe von HBOC-301 Oxyglobin™ wurde in unserem Versuch die Methämoglobinkonzentration in der Lösung bestimmt, bei Überschreiten des Grenzwertes von $> 5\%$ wurde die Lösung verworfen, was jedoch nie der Fall war. Nach Applikation des HBOC-301 Oxyglobin™ kam es nachweislich zu keinem Anstieg der Methämoglobinkonzentration im Serum. Die Konzentrationen lagen zu jeder Zeit der Versuche unter $0,5\%$.

In einigen tierexperimentellen Untersuchungen kam es nach Gabe von zellfreiem artfremdem Hämoglobin zu Immunreaktionen, die sich beispielsweise in nachweisbaren Erhöhungen von IgG äußerten [17,20,62]. Trotz der guten Verträglichkeit moderner Hämoglobinlösungen darf eine mögliche Immunisierung mit Antikörperbildung nicht außer Acht gelassen werden. Auch die Tatsache, dass die Elimination von zellfreiem Hämoglobin über das retikuloendotheliale System erfolgt, wirft die Frage nach einem möglichen immunsuppressiven Effekt von zellfreiem Hämoglobin auf [171]. Durch die Veränderung der sterischen Konfiguration, beispielsweise durch eine Verlagerung antigenpräsentierender Stellen von der Oberfläche hinein ins weniger reaktive Zentrum des Hämoglobinmoleküls, besteht die Möglichkeit, die Immunisierung zu minimieren. In einer experimentellen Studie von Estep et al. wurde nach intravenöser Gabe von humanem α - α vernetztem Hämoglobin bei Primaten keine Erhöhung von spezifischem IgG oder IgM nach Injektion nachgewiesen [29]. In einer experimentellen Versuchsreihe an Schafen tauschten Vlahakes et al. fast 95% des zirkulierenden Blutvolumens mit einer bovinen Hämoglobinlösung aus [162]. Alle Tiere überlebten und konnten durch zweimalige Nachinfusion der Hämoglobinlösung den Zeitraum bis zur Neubildung einer ausreichenden Anzahl an Retikulo- und Erythrozyten überbrücken. Eine endgültige Beurteilung möglicher immunmodulierender Nebeneffekte von HBOC-301 Oxyglobin™ ist zum gegenwärtigen Stand der Kenntnisse noch nicht möglich.

4.3 Klinische Therapiestrategien bei schwerer akuter Pankreatitis

Es existiert keine etablierte kausale Standardtherapie der akuten Pankreatitis. Patienten, die an einer milden Verlaufsform erkranken, erholen sich oft innerhalb weniger Tage. Dahingegen sind Patienten mit schwerer Pankreatitis von einer hohen Komplikationsrate und signifikanten Mortalität betroffen. Schon bald nach Beginn der Erkrankung

sind es nicht mehr nur die aktivierten Pankreasenzyme, sondern Mikrozirkulationsstörungen und damit eine Gefährdung der Gewebsoxygenierung, die als wegweisende Parameter für den Verlauf der Erkrankung hinzugezogen werden müssen [87]. Die Therapie der schweren akuten Pankreatitis erfolgt unter intensivmedizinischen Bedingungen. Ein primäres Ziel der zunächst konservativen Basistherapie ist die suffiziente Schmerztherapie. Gleichzeitig gilt es, eine kardiozirkulatorische, pulmonale, renale oder metabolische Dekompensation durch kontinuierliches Monitoring rechtzeitig zu erkennen und eine therapeutische Beeinflussung dieser Komplikationen möglich zu machen. Eine möglichst frühe Erkennung des Schweregrades der akuten Pankreatitis ist unabdingbar, um systemische Komplikationen zu vermeiden. Der Volumenbedarf bei schwerer akuter Pankreatitis kann extreme Ausmaße von über 500 ml/h annehmen und ist häufig mit alleiniger Gabe von Kristalloiden nicht suffizient zu kompensieren [25]. Zur Aufrechterhaltung der Mikrozirkulation sind Kolloide ausgesprochen hilfreich und zudem in der Lage, die Morbidität und Mortalität zu senken [140]. Entwickelt sich trotz einer medikamentös unterstützten Diurese und bei suffizienter Hämodynamik ein Nierenversagen, muss frühzeitig der Einsatz von Nierenersatzverfahren erfolgen [115,134]. Ein engmaschiges, gegebenenfalls invasives hämodynamisches Monitoring ist von großer Wichtigkeit. Ist auch durch rasche Volumenzufuhr keine Stabilisierung der Hämodynamik zu erreichen, ist die Gabe von Katecholaminen indiziert. Besteht ein Organversagen für länger als 48 Stunden, steigt die Mortalität auf über 50%, wohingegen Patienten ohne anhaltendes Organversagen kein erhöhtes Mortalitätsrisiko aufweisen [115]. Neben der Volumen- und Katecholamintherapie muss regelmäßig die Indikation von Transfusionen, Kortisontherapie, intensivierter Insulintherapie, lungenprotektiver Beatmung und Antibiose überprüft werden.

Im Falle der biliär induzierten akuten Pankreatitis sprechen sich einige Studien für eine frühzeitige Intervention mittels ERCP und ggf. Papillo-

tomie und Steinextraktion aus [31,143]. Andere Arbeitsgruppen sind zurückhaltender und befürworten die ERCP nur bei Persistenz der Cholestase bzw. elektiv nach Abklingen der akuten Pankreatitis [44,121].

Die fehlende enterale Nahrungszufuhr stellt ein großes Problem bei schwerer akuter Pankreatitis dar. Es kommt zu einer Störung der Darmmukosabarriere und daraus resultierend zu einer Atrophie der intestinalen Mukosa, bakteriellen Fehlbesiedlung und möglichen bakteriellen Translokation in das nekrotische pankreatische Gewebe mit nachfolgender Infektion der Pankreasnekrosen. Durch Darmbakterien infizierte Pankreasnekrosen stellen die häufigste Todesursache bei schwerer akuter Pankreatitis dar. Wegen der besseren Durchblutung und der nicht gesteigerten intestinalen Permeabilität besteht ein theoretischer Vorteil für die enterale Ernährung [76,151], was sich klinisch jedoch noch nicht überall durchgesetzt hat. Mehrere Studien konnten zeigen, dass eine frühe enterale Ernährung im Vergleich zur parenteralen Ernährung den Verlauf einer schweren akuten Pankreatitis günstig beeinflusst und die Komplikationsrate senkt [131,161]. Powell et al. untersuchten an 27 Patienten mit schwerer akuter Pankreatitis, ob sich die Entzündungsantwort und die intestinale Permeabilität durch enterale Ernährung positiv beeinflussen lassen. Hinsichtlich der IL6-, TNF-Rezeptor1- und CRP-Konzentrationen war kein Effekt nachweisbar. In der Gruppe der enteral ernährten Patienten fand sich jedoch eine niedrigere Komplikationsrate mit verringerter Morbidität und Mortalität. Durch die enterale Ernährung kann demnach die Integrität der Darmmukosa gewahrt werden, wodurch die bakterielle Translokation massiv reduziert werden kann [4,23,110,151].

Um den Darm als wahrscheinlichste Quelle der Superinfektion der Pankreasnekrosen auszuschalten, wird die prophylaktische Gabe von Antibiotika diskutiert [75,114]. Die meisten der Infektionen sind durch gramnegative Erreger wie E. coli, Pseudomonas, Klebsiellen oder Entero-

kokken verursacht. Große randomisierte Studien belegten den Vorteil einer intravenösen Antibiose [52,104,128,130]. Es besteht jedoch die Gefahr, dass bei häufiger Anwendung der Antibiotika vermehrt Antibiotikaresistenzen auftreten. So wiesen Gloor et al. in einer prospektiven Beobachtungsstudie bei 21% der Patienten, die bei nekrotisierender Pankreatitis prophylaktisch ein Antibiotikum erhielten, Resistenzen gegen das eingesetzte Antibiotikum nach [51].

Das therapeutische Fenster für den Einsatz spezifischer Medikamente, die sich gegen die initiale Aktivierung der Enzymkaskade richten, ist sehr klein. Hieraus erklärt sich, dass alle Untersuchungen mit sekretionshemmenden Substanzen wie Atropin oder Somatostatin, aber auch mit Proteaseinhibitoren wie Mesilat keinen Erfolg zeigten [115].

Es existieren derzeit keine klinisch kontrollierten Studien zur chirurgischen Therapie der akuten Pankreatitis [120]. Pankreasnekrosen korrelieren eng mit einem Multiorganversagen [73,87] und sind als wichtigster prognostischer Risikofaktor für den letalen Ausgang der Pankreatitis anzusehen [12]. Um die Gefahr septischer Komplikationen im Rahmen infizierter Gewebsnekrosen zu bannen, kann eine chirurgische Intervention erforderlich sein [134]. Patienten mit Verdacht auf Pankreasnekrosen sollten eine kontrastmittelangereicherte Computertomographie innerhalb der ersten 72 h erhalten [96], da nur so die genaue Ausdehnung von Pankreasnekrosen und damit wertvolle Informationen für oder gegen die Entscheidung zur chirurgischen Intervention gewonnen werden. Beim Auftreten von konservativ nicht zu beherrschenden Organkomplikationen bzw. fortschreitendem Multiorganversagen wird die Indikation zur chirurgischen Intervention (Nekrosektomie und Lavage) gestellt [6,12]. Es liegen auch Studien vor, nach denen die chirurgische Intervention unabhängig von Ausmaß oder bakteriellem Status der Nekrosen als notwendig erachtet wird [127]. Langzeitstudien zeigten, dass die perkutane Drainage von infizierten Pankreasnekrosen eine Alternative zur chirurgi-

schen Intervention darstellen könnte [28]. Auch durch die laparoskopische Drainage der Bauchhöhle, gegebenenfalls mit Revision des retroperitonealen Kompartments ist eine chirurgische Versorgung der akuten Pankreatitis möglich [7,126].

4.4 Experimentelle Therapiestrategien bei schwerer akuter Pankreatitis

Trotz einer Reihe experimenteller Untersuchungen zur Prophylaxe und Therapie der akuten Pankreatitis haben die folgenden Therapieansätze bislang noch keinen Einzug in die Klinik gehalten. Das interzelluläre Adhäsionsmolekül-1 (ICAM-1) und der plättchenaktivierende Faktor (PAF) zählen zu den Markern, anhand derer sich der Schweregrad der akuten Pankreatitis abschätzen lässt. ICAM-1 wird auf Endothelzellen exprimiert und vermittelt die feste Adhäsion von Leukozyten am Endothel der Mikrozirkulation und die Migration der Leukozyten durch das Endothel ins Gewebe. Damit spielt ICAM-1 eine tragende Rolle in der Entstehung von Mikrozirkulationsstörungen [9,93,122,170]. Untersuchungen bei Patienten mit schwerer akuter Pankreatitis konnten eine erhöhte Konzentration an zirkulierendem ICAM-1 Molekülen nachweisen [79,98], die mit der Schwere der Erkrankung korrelierte. Foitzik et al. konnten durch Gabe von ICAM-1 Antikörpern nachweislich die Mikrozirkulation bei akuter Pankreatitis verbessern und den Flüssigkeitsverlust in den dritten Raum verringern [9]. PAF ist ein potenter Mediator der Entzündungsreaktion, welcher auf dem pankreatischen Gefäßendothel lokalisiert ist [38]. Die therapeutische Wirkung von PAF-Antagonisten wurde experimentell verfolgt und belegt [21,22,40,95]. Die Ergebnisse der klinischen Untersuchungen sind jedoch weit weniger viel versprechend. In einer randomisierten Phase-III-Studie konnte nach Gabe des PAF-Antagonisten Lexipafant zwar eine niedrigere Rate an septischen Komplikationen,

jedoch weder ein Überlebensvorteil gegenüber der Placebogruppe noch eine geringere Rate von Multiorganversagen ermittelt werden [74,84].

Auch bei Endothelin-1 handelt es sich um ein vasoaktives Peptid, welches sich im Endothel von Gefäßwänden befindet und bei schwerer akuter Pankreatitis die Entzündungsantwort vermittelt. Die Gabe von Endothelin-1-Blockern verringert den histologischen Schaden bei milder Pankreatitis [89]. Hinsichtlich der Reduktion von Leukozytenadhärenz und Verringerung des kapillären Lecks ist die Endothelin-Rezeptorblockade sogar noch effektiver als die PAF Rezeptoren-Blockade [26,40]. Im Rattenversuch konnte die Letalität durch Gabe des Endothelin-Rezeptor Antagonisten LU-135252 von 42% auf 12% ($p < 0,05$) gesenkt werden [26,39,40].

Bradykininantagonisten wurden ebenfalls umfangreich experimentell untersucht [55,64,67]. Bradykinin ist ein biologisch aktives Peptid, dass den Reperfusionsschaden am Rattenpankreas verstärkt [66]. Es fördert die akute Entzündungsreaktion und führt zu Vasodilatation mit Hypotension, vermehrter kapillärer Permeabilität und Leukozytenaktivierung [11,149]. Es wurde weiterhin gezeigt, dass sich die funktionelle Kapillardichte bei schwerer akuter Pankreatitis im Rattenmodell durch Verwendung des Bradykininantagonisten Icatibant aufrechterhalten und dabei die Leukozytenadhärenz gleichzeitig verringern ließ [8].

In einer weiteren Studie am Rattenmodell konnte nachgewiesen werden, dass die Gabe von Glucocorticoiden (0,5 mg/kgKG Dexametason) bei Pankreatitis zu einer Senkung der Serumkonzentration der Mediatoren IL6, TXB2 und 6-keto-PGI1alpha führte und einen Überlebensvorteil mit sich brachte [164].

In einer Studie der Arbeitsgruppe um Foitzik wurde die selektive Inhibition der Cyclooxygenase-2 bei akuter Pankreatitis durch COX-2-Hemmer

untersucht. Prostaglandine und ihre Derivate sind dafür bekannt, dass sie bei systemischen Entzündungsreaktionen, wie im Rahmen der akuten Pankreatitis, eine entscheidende Rolle spielen. Durch die selektive COX-2 Inhibition konnte der Prostaglandinspiegel im Serum gesenkt werden [41].

Werner et al. konnten durch Gabe eines Stickstoffmonoxyddonators bei experimenteller akuter Rattenpankreatitis den Verlauf einer schweren Pankreatitis abschwächen [169].

4.5 Mögliche Indikationen für HBOC in der Zukunft

Die poststenotische Gewebsoxygenierung mit HBOC könnte im Rahmen von akuten Myokardinfarkten oder Schlaganfällen von großem Vorteil sein. Im Hinblick auf die fortschreitende Verknappung an Fremdblut könnten zukünftig HBOC als Sauerstoffträger bei intraoperativen Blutungen oder im Notfall zum Einsatz kommen, solange noch keine homologen Erythrozytenkonzentrate zur Verfügung stehen. Besonders für Entwicklungs- und Schwellenländer, in denen keine ausreichende Anzahl von Blutbanken existiert, stellen HBOC eine Option für eine flächendeckende Versorgung mit Sauerstoffträgern dar. In der Sepsistherapie könnten sich die vasokonstriktorisches Eigenschaften durch das sogenannte NO scavenging in Kombination mit einer verbesserten Gewebsperfusion und einer erhöhten Sauerstoffabgabe in der Mikrozirkulation nutzen lassen [84,86].

4.6 Ausblick für HBOC in der Behandlung der akuten Pankreatitis

Die bisherigen tierexperimentellen Untersuchungen mit ihren ermutigenden Ergebnissen sollten Anlass zu einer klinischen Untersuchung von HBOC bieten. Sinnvollerweise wäre eine klinische Studie zur Untersuchung der Wirksamkeit von HBOC bei Patienten mit schwerer akuter Pankreatitis als Multicenterstudie durchzuführen, da die Patientengenerierung bei der relativ geringen Inzidenz der Erkrankung in einer Klinik zu lange dauern würde.

5 Zusammenfassung

Die schwere akute Pankreatitis ist trotz eingehender Forschung nach wie vor mit einer hohen Mortalität behaftet, obgleich die Intensivmedizin bereits große Fortschritte in der Therapie der Erkrankung vorweisen kann. Es erscheint sinnvoll, therapeutische Strategien zur Verbesserung der Mikrozirkulation des Pankreas zu entwickeln, da der Zusammenbruch der pankreatischen Mikrozirkulation unabhängig vom auslösenden Trigger durch die Verschlechterung der Gewebsoxygenierung des Pankreas die Progression einer leichten ödematösen hin zu einer schweren akuten Pankreatitis bewirkt. In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss der bovinen Hämoglobinlösung HBOC-301 Oxyglobin™ mit seinen Eigenschaften eines plasmatischen Sauerstoffträgers in Hinblick auf die Mikrozirkulation des Pankreas, den tpO_2 und das Überleben bei schwerer akuter Pankreatitis im Tiermodell untersucht. Die Untersuchung wurde prospektiv und randomisiert am Schweinemodell als Überlebensversuch mit einem postoperativen Beobachtungszeitraum von sechs Tagen durchgeführt. Der Eingriff erfolgte in balancierter Allgemeinanästhesie mit kontrollierter Beatmung. Nach der Laparotomie wurde der Ductus pancreaticus kanüliert und die Induktion der akuten Pankreatitis mittels Glycodeoxycholsäure und Cerulein vorgenommen. Die Messung des tpO_2 im Pankreas erfolgte mit einem Licox Siliconkatheter. Die therapeutische Intervention begann 75 Minuten nach Pankreatitisinduktion als Substitution mit HBOC-301 Oxyglobin™ oder HES 200.000/0,5 oder Ringerlösung, wobei in der HES-Gruppe der mittlere arterielle Druck mittels Noradrenalin auf das Niveau der HBOC-Gruppe gehoben wurde. Bis zur Randomisierung 75 Minuten nach Induktion der akuten Pankreatitis konnten keine Unterschiede in Bezug auf Demographie und Ausgangswerte nachgewiesen werden. Sechs Stunden nach Therapieinduktion wurden die Tiere extubiert, die überlebenden Tiere wurden nach sechs Tagen getötet.

In der HBOC-Gruppe überlebten neun Tiere den Beobachtungszeitraum, während nur zwei Tiere der Ringer-Gruppe nach sechs Tagen am Leben waren ($p < 0,001$). In der HES-Gruppe überlebten sechs Tiere. Zunächst fiel der tpO_2 im Pankreas in allen Gruppen. Nach Induktion der Therapie konnte er in der HBOC-Gruppe als signifikant verbessert gegenüber der Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 91,6 (SE 13,3); one-way ANOVA; $p < 0,001$) und gegenüber der HES-Gruppe (mittlere Differenz 65,1 (SE 13,3); $p < 0,001$) nachgewiesen werden. Die Unterschiede zwischen der HES und Ringer-Gruppe waren nicht signifikant.

Zusammenfassend führt die therapeutische Applikation von HBOC bei schwerer akuter Pankreatitis zu einer Verbesserung sowohl der Mikrozirkulation als auch der Gewebsoxygenierung des Pankreas und hat damit einen positiven Einfluss auf den Verlauf einer schweren akuten Pankreatitis. Dies zeigte sich in einem Überlebensvorteil der HBOC-Gruppen gegenüber den Kontrollgruppen. Ob sich durch die Applikation von HBOC-301 Oxyglobin™ zur Optimierung des Sauerstofftransports möglicherweise eine Therapieoption für die schwere akute Pankreatitis entwickeln lässt, sollte im Rahmen einer klinischen Studie bei Patienten mit schwerer akuter Pankreatitis weitergehend untersucht werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Alayash AI, Cashon RE. Reactions of nitric oxide and hydrogen peroxide with hemoglobin-based blood substitutes. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 738:378-381.
2. 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(3):373-386.
3. Amberson WR, Jennings JJ, Rhode CM. Clinical experience with hemoglobin-saline solutions. *J Appl Physiol* 1:469-489 1949.
4. Ammori BJ. Role of the gut in the course of severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2003; 26(2):122-129.
5. Baudin V, Bihoreau MT, Kister J, Marden M, Pagnier J, Poyart C. Functional properties of beta (NA1) Val-deleted, (NA2) His-->Met hemoglobin synthesized in *Escherichia coli*. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1994; 22(3):739-745.
6. Beger HG, Rau B, Isenmann R. Necrosectomy or anatomically guided resection in acute pancreatitis. *Chirurg* 2000; 71(3):274-280.
7. Bismar HA, Al Salamah SM. Outcome of laparoscopic cholecystectomy in acute biliary pancreatitis. *Saudi Med J* 2003; 24(6):660-664.
8. Bloechle C, Kusterer K, Kuehn RM, Schneider C, Knoefel WT, Izbiccki JR. Inhibition of bradykinin B-2 receptor preserves microcirculation in experimental pancreatitis in rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 1998; 37(1):G42-G51.
9. Bochner BS, Luscinskas FW, Gimbrone MA, Jr., Newman W, Sterbinsky SA, Derse-Anthony CP, Klunk D, Schleimer RP. Adhesion of human basophils, eosinophils, and neutrophils to interleukin 1-activated human vascular endothelial cells: contributions of endothelial cell adhesion molecules. *J Exp Med* 1991; 173(6):1553-1557.
10. Boekstegers P, Fleckenstein W, Rosport A, Ruschewsky W, Braun U. Monitoring the oxygen supply of skeletal muscle and total oxygen uptake in coronary surgery interventions. *Anaesthesist* 1988; 37(5):287-296.

11. Briner VA, Tsai P, Schrier RW. Bradykinin: potential for vascular constriction in the presence of endothelial injury. *Am J Physiol* 1993; 264(2 Pt 2):F322-F327.
12. Buchler MW, Gloor B, Muller CA, Friess H, Seiler CA, Uhl W. Acute necrotizing pancreatitis: treatment strategy according to the status of infection. *Ann Surg* 2000; 232(5):619-626.
13. Budhiraja V, Hellums JD. Effect of hemoglobin polymerization on oxygen transport in hemoglobin solutions. *Microvasc Res* 2002; 64(2):220-233.
14. Burmeister MA, Rempf C, Standl TG, Rehberg S, Bartsch-Zwemke S, Krause T, Tuszyński S, Gottschalk A, Schulte Am EJ. Effects of prophylactic or therapeutic application of bovine haemoglobin HBOC-200 on ischaemia-reperfusion injury following acute coronary ligation in rats. *Br J Anaesth* 2005; 95(6):737-745.
15. Caron A, Malfatti E, Aguejof O, Faivre-Fiorina B, Menu P. Vasoconstrictive response of rat mesenteric arterioles following infusion of cross-linked, polymerized, and conjugated hemoglobin solutions. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 2001; 29(1):19-30.
16. Caron A, Menu P, Faivre-Fiorina B, Labrude P, Alayash AI, Vigneron C. Cardiovascular and hemorheological effects of three modified human hemoglobin solutions in hemodiluted rabbits. *J Appl Physiol* 1999; 86(2):541-548.
17. 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(1-3):205-215.
18. Clark LC, Wolf R, Granger D, Taylor Z. Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography. *J Appl Physiol* 6:189-193; 1953.
19. Collingridge DR, Piepmeier JM, Rockwell S, Knisely JP. Polarographic measurements of oxygen tension in human glioma and surrounding peritumoural brain tissue. *Radiother Oncol* 1999; 53(2):127-131.
20. Cunnington PG, Jenkins SN, Tam SC, Wong JT. Oxygen-binding and immunological properties of complexes between dextran and animal haemoglobins. *Biochem J* 1981; 193(1):261-266.

21. Dabrowski A, Gabryelewicz A, Chyczewski L. The effect of platelet activating factor antagonist (BN 52021) on cerulein-induced acute pancreatitis with reference to oxygen radicals. *Int J Pancreatol* 1991; 8(1):1-11.
22. de Souza LJ, Sampietre SN, Assis RS, Knowles CH, Leite KR, Jancar S, Monteiro Cunha JE, Machado MC. Effect of platelet-activating factor antagonists (BN-52021, WEB-2170, and BB-882) on bacterial translocation in acute pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2001; 5(4):364-370.
23. Dervenis C, Smailis D, Hatzitheoklitos E. Bacterial translocation and its prevention in acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2003; 10(6):415-418.
24. Doherty DH, Doyle MP, Curry SR, Vali RJ, Fattor TJ, Olson JS, Lemon DD. Rate of reaction with nitric oxide determines the hypertensive effect of cell-free hemoglobin. *Nat Biotechnol* 1998; 16(7):672-676.
25. Donaldson LA, Schenk WG, Jr. The effect of Trasylol and vasopressin on experimental pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 1980; 150(5):657-660.
26. Eibl G, Forgacs B, Hotz HG, Buhr HJ, Foitzik T. Endothelin A but not endothelin B receptor blockade reduces capillary permeability in severe experimental pancreatitis. *Pancreas* 2002; 25(2):e15-e20.
27. Eich RF, Li T, Lemon DD, Doherty DH, Curry SR, Aitken JF, Mathews AJ, Johnson KA, Smith RD, Phillips GN, Jr., Olson JS. Mechanism of NO-induced oxidation of myoglobin and hemoglobin. *Biochemistry* 1996; 35(22):6976-6983.
28. Endlicher E, Volk M, Feuerbach S, Scholmerich J, Schaffler A, Messmann H. Long-term follow-up of patients with necrotizing pancreatitis treated by percutaneous necrosectomy. *Hepatogastroenterology* 2003; 50(54):2225-2228.
29. Estep TN, Gonder J, Bornstein I, Aono F. Immunogenicity of dapsirin cross-linked human hemoglobin solutions. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* 1992; 20(2-4):603-609.
30. Faivre-Fiorina B, Caron A, Fassot C, Fries I, Menu P, Labrude P, Vigneron C. Presence of hemoglobin inside aortic endothelial cells after cell-free hemoglobin administration in guinea pigs. *Am J Physiol* 1999; 276(2 Pt 2):H766-H770.

31. Fan ST, Lai EC, Mok FP, Lo CM, Zheng SS, Wong J. Early treatment of acute biliary pancreatitis by endoscopic papillotomy. *N Engl J Med* 1993; 328(4):228-232.
32. Federspiel WJ. Pulmonary diffusing capacity: implications of two-phase blood flow in capillaries. *Respir Physiol* 1989; 77(1):119-134.
33. 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(5):399-408.
34. Fernandez-del Castillo C, Harringer W, Warshaw AL, Vlahakes GJ, Koski G, Zaslavsky AM, Rattner DW. Risk factors for pancreatic cellular injury after cardiopulmonary bypass. *N Engl J Med* 1991; 325(6):382-387.
35. Fleckenstein W, Schäfer A, Heinrich R, Petersen C, Günderroth-Palmowski M, Nollert G. On the differences between muscle pO₂ measurements obtained with hypodermic needle probes and with multiwire surface probes. Part 1: Differences between tissue pO₂ and tissue surface pO₂ observed in dog gracilis muscle. In Ehrly AM, Hauss J, Huch R (Eds.): *Clinical Oxygen Pressure Measurement*. Blackwell Ueberreuter Wissenschaft, Berlin 256-257; 1990.
36. Fleckenstein W, Schäfer A, Heinrich R, Nollert G. On the differences between muscle pO₂ measurements obtained with hypodermic needle probes and with multiwire surface probes. Part 2: Systemic diffusion error of the multiwire surface pO₂ probe when applied on the tissue. In: Ehrly AM, Fleckenstein W, Hauss J, Huch R (Eds): *Clinical. Oxygen Pressure Measurement* Blackwell Ueberreuter Wissenschaft, Berlin 268-278; 1990.
37. Fleiss JL. *Statistical methods for rates and proportions*. 2 ed John Wiley & Sons, New York, pp 33-49 1981.
38. Flickinger BD, Olson MS. Localization of the platelet-activating factor receptor to rat pancreatic microvascular endothelial cells. *Am J Pathol* 1999; 154(5):1353-1358.
39. Foitzik T, Eibl G, Hotz HG, Faulhaber J, Kirchengast M, Buhr HJ. Endothelin receptor blockade in severe acute pancreatitis leads to systemic enhancement of microcirculation, stabilization of capillary permeability, and improved survival rates. *Surgery* 2000; 128(3):399-407.

40. Foitzik T, Hotz HG, Eibl G, Hotz B, Kirchengast M, Buhr HJ. Therapy for microcirculatory disorders in severe acute pancreatitis: effectiveness of platelet-activating factor receptor blockade vs. endothelin receptor blockade. *J Gastrointest Surg* 1999; 3(3):244-251.
41. Foitzik T, Hotz HG, Hotz B, Wittig F, Buhr HJ. Selective inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) reduces prostaglandin E2 production and attenuates systemic disease sequelae in experimental pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2003; 50(52):1159-1162.
42. Foitzik T, Hotz HG, Schmidt J, Klar E, Warshaw AL, Buhr HJ. Effect of Microcirculatory Perfusion on Distribution of Trypsinogen Activation Peptides in Acute Experimental Pancreatitis. *Digestive Diseases and Sciences* 1995; 40(10):2184-2188.
43. Foitzik T, Klar E, Buhr HJ. Conversion of experimental research findings to treatment of acute pancreatitis. *Chirurg* 1998; 69(4):423-431.
44. Folsch UR, Nitsche R, Ludtke R, Hilgers RA, Creutzfeldt W. Early ERCP and papillotomy compared with conservative treatment for acute biliary pancreatitis. The German Study Group on Acute Biliary Pancreatitis. *N Engl J Med* 1997; 336(4):237-242.
45. Freitag M, Standl TG, Gottschalk A, Burmeister MA, Rempf C, Horn EP, Strate T, Schulte Am EJ. Enhanced central organ oxygenation after application of bovine cell-free hemoglobin HBOC-201. *Can J Anaesth* 2005; 52(9):904-914.
46. Freitag M, Standl TG, Gottschalk A, Burmeister MA, Rempf C, Horn EP, Strate T, Schulte Am EJ. Enhanced central organ oxygenation after application of bovine cell-free hemoglobin HBOC-201. *Can J Anaesth* 2005; 52(9):904-914.
47. Freitag M, Standl TG, Kleinhans H, Gottschalk A, Mann O, Rempf C, Bachmann K, Gocht A, Petri S, Izbicki JR, Strate T. Improvement of impaired microcirculation and tissue oxygenation by hemodilution with hydroxyethyl starch plus cell-free hemoglobin in acute porcine pancreatitis. *Pancreatology* 2006; 6(3):232-239.
48. Gilliland L, Steer ML. Effects of ethionine on digestive enzyme synthesis and discharge by mouse pancreas. *Am J Physiol* 1980; 239(5):G418-G426.
49. Gilroy D, Shaw C, Parry E, Odling-Smee W. Detection of a vasoconstrictor factor in stroma-free haemoglobin solutions. *J Trauma* 1988; 28(9):1312-1316.

50. Glasgow SC, Shah AS, Noone RB, Jr., Gottfried MR, Eachempati SR, Talarico TL, Vaslef SN. Comparison of various hemoglobin polyoxyethylene conjugate solutions as resuscitative fluids after hemorrhagic shock. *J Trauma* 2000; 48(5):884-892.
51. Gloor B, Muller CA, Worni M, Stahel PF, Redaelli C, Uhl W, Buchler MW. Pancreatic infection in severe pancreatitis: the role of fungus and multiresistant organisms. *Arch Surg* 2001; 136(5):592-596.
52. Golub R, Siddiqi F, Pohl D. Role of antibiotics in acute pancreatitis: A meta-analysis. *J Gastrointest Surg* 1998; 2(6):496-503.
53. 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(6):586-591.
54. Greim CA, Broscheit J, Kortlander J, Roewer N, Schulte Am EJ. Effects of intra-abdominal CO₂-insufflation on normal and impaired myocardial function: an experimental study. *Acta Anaesthesiol Scand* 2003; 47(6):751-760.
55. Griesbacher T, Lembeck F. Effects of the bradykinin antagonist, HOE 140, in experimental acute pancreatitis. *Br J Pharmacol* 1992; 107(2):356-360.
56. 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(10):827-837.
57. Gullo L, Cavicchi L, Tomassetti P, Spagnolo C, Freyrie A, D'Addato M. Effects of ischemia on the human pancreas. *Gastroenterology* 1996; 111(4):1033-1038.
58. Habler O, Kleen M, Hutter J, Podtschaske A, Tiede M, Kemming G, Welte M, Corso C, Batra S, Keipert P, Faithfull S, Messmer K. IV perflubron emulsion versus autologous transfusion in severe normovolemic anemia: effects on left ventricular perfusion and function. *Res Exp Med (Berl)* 1998; 197(6):301-318.
59. Habler O, Kleen M, Messmer K. Clinical potential of intravenously administered perfluorocarbons. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 1997; 111:256-258.

60. Hamilton RG, Kelly N, Gawryl MS, Rentko VT. Absence of immunopathology associated with repeated IV administration of bovine Hb-based oxygen carrier in dogs. *Transfusion* 2001; 41(2):219-225.
61. 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(12):649-654.
62. Hertzman CM, Keipert PE, Chang TM. Serum antibody titers in rats receiving repeated small subcutaneous injections of hemoglobin or polyhemoglobin: a preliminary report. *Int J Artif Organs* 1986; 9(3):179-182.
63. Hess JR, Macdonald VW, Gomez CS, Coppes V. Increased vascular resistance with hemoglobin-based oxygen carriers. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1994; 22(3):361-372.
64. Hirata M, Hayashi I, Yoshimura K, Ishii K, Soma K, Ohwada T, Kakita A, Majima M. Blockade of bradykinin B(2) receptor suppresses acute pancreatitis induced by obstruction of the pancreaticobiliary duct in rats. *Br J Pharmacol* 2002; 135(1):29-36.
65. Hobbhahn J, Vogel H, Kothe N, Brendel W, Peter K, Jesch F. Hemodynamics and oxygen transport after partial and total blood exchange with pyridoxalated polyhemoglobin in dogs. *Acta Anaesthesiol Scand* 1985; 29(5):537-543.
66. Hoffmann TF, Steinbauer M, Waldner H, Messmer K. Exogenous bradykinin enhances ischemia reperfusion injury of pancreas in rats. *Journal of Surgical Research* 1996; 62(1):144-151.
67. Hoffmann TF, Waldner H, Messmer K. The bradykinin antagonist CP-0597 can limit the progression of postischemic pancreatitis. *Immunopharmacology* 1996; 33(1-3):243-246.
68. Holm JL, Chan DL, Rozanski EA. Acute pancreatitis in dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2003; 13(4):201-213.
69. Horn P, Standl T, Wilhelm S, Schulte am Esch J. Bovine Hämoglobinlösung verbessert den Gewebs-pO₂ des Skelettmuskels bei 95%iger arterieller Stenosierung im Vergleich zu 6% Hydroxyethylstärke 200.000/0,5. *Anaesthesist* 1995; 44 (Suppl.):902-903.

70. Hughes GS, Francom SF, Antal EJ, Adams WJ, Locker PK, Yancey EP, Jacobs EE. Effects of a novel hemoglobin-based oxygen carrier on percent oxygen saturation as determined with arterial blood gas analysis and pulse oximetry. *Ann Emerg Med* 1996; 27(2):164-169.
71. Hughes GS, Jr., Yancey EP, Albrecht R, Locker PK, Francom SF, Orringer EP, Antal EJ, Jacobs EE, Jr. Hemoglobin-based oxygen carrier preserves submaximal exercise capacity in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 58(4):434-443.
72. Isemann M, Büchler M, Uhl W, Malhertheiner P, et al. Pancreatic necrosis develops within 96 hours. *Digestion* 1990; 46:145.
73. Isenmann R, Rau B, Beger HG. Bacterial infection and extent of necrosis are determinants of organ failure in patients with acute necrotizing pancreatitis. *Br J Surg* 1999; 86(8):1020-1024.
74. Johnson CD, Kingsnorth AN, Imrie CW, McMahon MJ, Neoptolemos JP, McKay C, Toh SK, Skaife P, Leeder PC, Wilson P, Larvin M, Curtis LD. Double blind, randomised, placebo controlled study of a platelet activating factor antagonist, lexipafant, in the treatment and prevention of organ failure in predicted severe acute pancreatitis. *Gut* 2001; 48(1):62-69.
75. Juvonen PO, Alhava EM, Takala JA. Gut permeability in patients with acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35(12):1314-1318.
76. Kalfarentzos F, Kehagias J, Mead N, Kokkinis K, Gogos CA. Enteral nutrition is superior to parenteral nutrition in severe acute pancreatitis: results of a randomized prospective trial. *Br J Surg* 1997; 84(12):1665-1669.
77. Kasper SM, Walter M, Grune F, Bischoff A, Erasmi H, Buzello W. Effects of a hemoglobin-based oxygen carrier (HBOC-201) on hemodynamics and oxygen transport in patients undergoing pre-operative hemodilution for elective abdominal aortic surgery. *Anesth Analg* 1996; 83(5):921-927.
78. Katsuyama SS, Cole DJ, Drummond JC, Bradley K. Nitric oxide mediates the hypertensive response to a modified hemoglobin solution (DCLHb) in rats. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1994; 22(1):1-7.
79. Kaufmann P, Tilz GP, Smolle KH, Demel U, Krejs GJ. Increased plasma concentrations of circulating intercellular adhesion molecule-1 (cICAM-1) in patients with necrotizing pancreatitis. *Immunobiology* 1996; 195(2):209-219.

80. Keipert PE, Gonzales A, Gomez CL, Macdonald VW, Hess JR, Winslow RM. Acute changes in systemic blood pressure and urine output of conscious rats following exchange transfusion with dextran-crosslinked hemoglobin solution. *Transfusion* 1993; 33(9):701-708.
81. Kerger H, Tsai AG, Saltzman DJ, Winslow RM, Intaglietta M. Fluid resuscitation with O₂ vs. non-O₂ carriers after 2 h of hemorrhagic shock in conscious hamsters. *Am J Physiol* 1997; 272(1 Pt 2):H525-H537.
82. Kessler M, Grunewald W. Possibilities of measuring oxygen pressure fields in tissue by multiwire platinum electrodes. *Progr Resp Res* 3:147-152; 1969.
83. Kessler M, Lübbers DW. Bestimmung des kritischen Sauerstoffdruckes an isolierten Lebermitochondrien. *Pflügers Arch* 281:50 1964.
84. Kingsnorth AN, Galloway SW, Formela LJ. Randomized, double-blind phase II trial of Lexipafant, a platelet-activating factor antagonist, in human acute pancreatitis. *Br J Surg* 1995; 82(10):1414-1420.
85. Klar E, Schrott W, Foitzik T, Buhr H, et al. Impact of microcirculatory flow pattern changes on the development of acute edematous and necrotizing pancreatitis in rabbit pancreas. *Dig Dis Sci* 39:2639 1994.
86. Klar E. Etiology and pathogenesis of acute pancreatitis. *Helv Chir Acta* 1992; 59(1):7-16.
87. Klar E, Werner J. New pathophysiologic knowledge about acute pancreatitis. *Chirurg* 2000; 71(3):253-264.
88. Knudson MM, Lee S, Erickson V, Morabito D, Derugin N, Manley GT. Tissue oxygen monitoring during hemorrhagic shock and resuscitation: a comparison of lactated Ringer's solution, hypertonic saline dextran, and HBOC-201. *J Trauma* 2003; 54(2):242-252.
89. Kogire M, Inoue K, Higashide S, Takaori K, Echigo Y, Gu YJ, Sumi S, Uchida K, Imamura M. Protective effects of endothelin-1 on acute pancreatitis in rats. *Dig Dis Sci* 1995; 40(6):1207-1212.
90. Krogh A. *Anatomie und Physiologie der Kapillaren*. Springer Berlin 1929.
91. Krogh A. The number and distribution of capillaries in muscle with calculation of the oxygen pressure head necessary for supplying the tissue. *J Physiol* 52:409-415; 1918.

92. Kusterer K, Poschmann T, Friedemann A, Enghofer M, et al. Arterial constriction, ischemia-reperfusion, and leukocyte adherence in acute pancreatitis. *Am J Physiol* 265:G165 1993.
93. Kusterer K, Bojunga J, Enghofer M, Heidenthal E, Usadel KH, Kolb H, Martin S. Soluble ICAM-1 reduces leukocyte adhesion to vascular endothelium in ischemia-reperfusion injury in mice. *Am J Physiol* 1998; 275(2 Pt 1):G377-G380.
94. Kusterer K, Enghofer M, Zendler S, Blochle C, Usadel KH. Microcirculatory changes in sodium taurocholate-induced pancreatitis in rats. *Am J Physiol* 1991; 260(2 Pt 1):G346-G351.
95. Lane JS, Todd KE, Gloor B, Chandler CF, Kau AW, Ashley SW, Reber HA, McFadden DW. Platelet activating factor antagonism reduces the systemic inflammatory response in a murine model of acute pancreatitis. *J Surg Res* 2001; 99(2):365-370.
96. Lankisch PG, Struckmann K, Assmus C, Lehnick D, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Do we need a computed tomography examination in all patients with acute pancreatitis within 72 h after admission to hospital for the detection of pancreatic necrosis? *Scand J Gastroenterol* 2001; 36(4):432-436.
97. Lee SK, Morabito D, Hemphill JC, Erickson V, Holcroft JJ, Derugin N, Knudson MM, Manley GT. Small-volume resuscitation with HBOC-201: effects on cardiovascular parameters and brain tissue oxygen tension in an out-of-hospital model of hemorrhage in swine. *Acad Emerg Med* 2002; 9(10):969-976.
98. Leser HG, Gross V, Scheibenbogen C, Heinisch A, Salm R, Lausen M, Ruckauer K, Andreesen R, Farthmann EH, Scholmerich J. Elevation of serum interleukin-6 concentration precedes acute-phase response and reflects severity in acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1991; 101(3):782-785.
99. Liard JF, Kunert MP. Hemodynamic changes induced by low blood oxygen affinity in dogs. *Am J Physiol* 1993; 264(2 Pt 2):R396-R401.
100. Lipfert B, Standl T, Dullmann J, Helmchen U, Schulte Am EJ, Lorke DE. Histology and ultrastructure of liver and kidney following blood exchange with ultrapurified, polymerised bovine hemoglobin in comparison with hydroxyethyl starch. *Lab Invest* 1999; 79(5):573-582.
101. Lübbers DW. The meaning of the tissue oxygen distribution curve and its measurement by means of Pt electrodes. *Progr Resp Res* 3:112-123; 1969.

102. Lübbers DW. Die Bedeutung des lokalen Gewebesauerstoffdruckes und des pO₂-Histogrammes für die Beurteilung der Sauerstoffversorgung eines Organes. *Prakt Anästh* 12:184-193; 1977.
103. Lübbers DW. Methods of measuring oxygen tensions of blood and organ surfaces In A Symposium on oxygen measurements and their significance. Payne, J P, Hill, D 1996.
104. Luiten EJ, Hop WC, Lange JF, Bruining HA. Controlled clinical trial of selective decontamination for the treatment of severe acute pancreatitis. *Ann Surg* 1995; 222(1):57-65.
105. Lyng H, Tanum G, Evensen JF, Rofstad EK. Changes in oxygen tension during radiotherapy of head and neck tumours. *Acta Oncol* 1999; 38(8):1037-1042.
106. Manley GT, Pitts LH, Morabito D, Doyle CA, Gibson J, Gimbel M, Hopf HW, Knudson MM. Brain tissue oxygenation during hemorrhagic shock, resuscitation, and alterations in ventilation. *J Trauma* 1999; 46(2):261-267.
107. Manning JM. Preparation of hemoglobin derivatives selectively or randomly modified at amino groups. *Methods Enzymol* 1994; 231:225-246.
108. Marik PE, Mohedin M. The contrasting effects of dopamine and norepinephrine on systemic and splanchnic oxygen utilization in hyperdynamic sepsis. *JAMA* 1994; 272(17):1354-1357.
109. Mayerle J, Simon P, Kraft M, Meister T, Lerch MM. [Conservative treatment of acute pancreatitis]. *Med Klin (Munich)* 2003; 98(12):744-749.
110. Meier R, Beglinger C, Layer P, Gullo L, Keim V, Laugier R, Friess H, Schweitzer M, Macfie J. ESPEN guidelines on nutrition in acute pancreatitis. European Society of Parenteral and Enteral Nutrition. *Clin Nutr* 2002; 21(2):173-183.
111. Meier-Hellmann A. Standards in the diagnosis and treatment of sepsis. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2003; 38(2):107-133.
112. Meier-Hellmann A, Reinhart K, Bredle DL, Sakka SG. Therapeutic options for the treatment of impaired gut function. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12 Suppl 17:S65-S69.
113. Mithoefer K, Castillo CF, Frick TW, Lewandrowski KB, Rattner DW, Warshaw AL. Subcellular kinetics of early trypsinogen activation in acute rodent pancreatitis. *Am J Physiol* 274, G71-G79 1998.

114. Moody FG, Haley-Russell D, Muncy DM. Intestinal transit and bacterial translocation in obstructive pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1995; 40(8):1798-1804.
115. Mossner J, Keim V. [Therapy of acute pancreatitis]. *Internist (Berl)* 2003; 44(12):1508-1514.
116. Motterlini R, Macdonald VW. Cell-free hemoglobin potentiates acetylcholine-induced coronary vasoconstriction in rabbit hearts. *J Appl Physiol* 1993; 75(5):2224-2233.
117. Motterlini R, Vandegriff KD, Winslow RM. Hemoglobin-nitric oxide interaction and its implications. *Transfus Med Rev* 1996; 10(2):77-84.
118. National Research Council IoLAR, Commission on Life Sciences. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington, D.C. National Academy Press 1996.
119. Niederau C, Luthen R, Niederau MC, Grendell JH, Ferrell LD. Acute experimental hemorrhagic-necrotizing pancreatitis induced by feeding a choline-deficient, ethionine-supplemented diet. *Methodology and standards. Eur Surg Res* 1992; 24 Suppl 1:40-54.
120. Nieuwenhuijs VB, Besselink MGH, Van Minnen LP, Gooszen HG. Surgical management of acute necrotizing pancreatitis: a 13-year experience and a systematic review. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2003; 38:111-116.
121. Nitsche R, Folsch UR. Role of ERCP and endoscopic sphincterotomy in acute pancreatitis. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 1999; 13(2):331-343.
122. Nolte D, Hecht R, Schmid P, Botzlar A, Menger MD, Neumueller C, Sinowatz F, Vestweber D, Messmer K. Role of Mac-1 and ICAM-1 in ischemia-reperfusion injury in a microcirculation model of BALB/C mice. *Am J Physiol* 1994; 267(4 Pt 2):H1320-H1328.
123. Opie FL. The relation of cholelithiasis to disease of the pancreas and to fat necrosis. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1901; 12:19-21 1901.
124. Page TC, Light WR, Hellums JD. Prediction of microcirculatory oxygen transport by erythrocyte/hemoglobin solution mixtures. *Microvasc Res* 1998; 56(2):113-126.

125. Pannum PL. Experimentelle Beiträge zur Lehre von der Embolie. Virchows Archiv Pathologie Anatomie; 25:308 1862.
126. Pavars M, Irmejs A, Maurins U, Gardovskis J. Severe acute pancreatitis: role for laparoscopic surgery. Zentralbl Chir 2003; 128(10):858-861.
127. Paye F, Rotman N, Radier C, Nouira R, Fagniez PL. Percutaneous aspiration for bacteriological studies in patients with necrotizing pancreatitis. Br J Surg 1998; 85(6):755-759.
128. Pederzoli P, Bassi C, Vesentini S, Campedelli A. A randomized multicenter clinical trial of antibiotic prophylaxis of septic complications in acute necrotizing pancreatitis with imipenem. Surg Gynecol Obstet 1993; 176(5):480-483.
129. Pfeffer RB, Stasior O, Hinton JW. The clinical picture of the sequential development of acute hemorrhagic pancreatitis in the dog. Surg Forum 1957; 8:248-251.
130. Powell JJ, Miles R, Siriwardena AK. Antibiotic prophylaxis in the initial management of severe acute pancreatitis. Br J Surg 1998; 85(5):582-587.
131. Powell JJ, Murchison JT, Fearon KC, Ross JA, Siriwardena AK. Randomized controlled trial of the effect of early enteral nutrition on markers of the inflammatory response in predicted severe acute pancreatitis. Br J Surg 2000; 87(10):1375-1381.
132. Rabinovici R, Rudolph AS, Ligler FS, Smith EF, III, Feuerstein G. Biological responses to exchange transfusion with liposome-encapsulated hemoglobin. Circ Shock 1992; 37(2):124-133.
133. Reinelt H, Radermacher P, Kiefer P, Fischer G, Wachter U, Vogt J, Georgieff M. Impact of exogenous beta-adrenergic receptor stimulation on hepatosplanchnic oxygen kinetics and metabolic activity in septic shock. Crit Care Med 1999; 27(2):325-331.
134. Runzi M, Layer P, Buchler MW, Beger HG, Ell C, Folsch UR, Goebell H, Hopt UT, Lankisch PG, Schmidt WE, Schmiegel W, Scholmerich J. [The therapy of acute pancreatitis. General guidelines. Working group of the Society for Scientific-Medical Specialties]. Z Gastroenterol 2000; 38(7):571-581.
135. Ruud TE, Aasen AO, Kierulf P, Stadaas J, Aune S. Studies on the plasma kallikrein-kinin system in peritoneal exudate and plasma during experimental acute pancreatitis in pigs. Scand J Gastroenterol 1985; 20(7):877-882.

136. Sakorafas GH, Tsiotos GG, Bower TC, Sarr MG. Ischemic necrotizing pancreatitis. Two case reports and review of the literature. *Int J Pancreatol* 1998; 24(2):117-121.
137. Saluja AK, Steer ML. Pathophysiology of Pancreatitis. *Digestion* 1999; 60:27-33.
138. Schmidt J, Ebeling D, Ryschich E, Werner J, Gebhard MM, Klar E. Pancreatic capillary blood flow in an improved model of necrotizing pancreatitis in the rat. *Journal of Surgical Research* 2002; 106(2):335-341.
139. Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, Compton CC, Mandavilli U, Knoefel WT, Warshaw AL. A Better Model of Acute-Pancreatitis for Evaluating Therapy. *Annals of Surgery* 1992; 215(1):44-56.
140. Schmidt J, Werner J. Acute pancreatitis: reliable and prospective conservative therapy. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* 1998; 115:434-438.
141. Schultz SC, Grady B, Cole F, Hamilton I, Burhop K, Malcolm DS. A role for endothelin and nitric oxide in the pressor response to diaspirin cross-linked hemoglobin. *J Lab Clin Med* 1993; 122(3):301-308.
142. Seidel H. Bemerkungen zu meiner Methode der experimentellen Erzeugung der akuten hämorrhagischen Pankreatitis. *Zentralbl Chir*; 37:1601-1604 1910.
143. Senninger N, Baas J. Pathophysiologically oriented therapy of acute pancreatitis. *Zentralbl Chir* 2001; 126(1):1-3.
144. Senninger N, Moody FG, Coelho JC, Van Buren DH. The role of biliary obstruction in the pathogenesis of acute pancreatitis in the opossum. *Surgery* 1986; 99(6):688-693.
145. Sharma AC, Gulati A. Effect of diaspirin cross-linked hemoglobin and norepinephrine on systemic hemodynamics and regional circulation in rats. *J Lab Clin Med* 1994; 123(2):299-308.
146. 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(3):593-602.
147. 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(4 Pt 2):H1379-H1388.

148. Sherman IA, Dlugosz JA, Perelman V, Hsia CJ, Wong LT, Condie RM. 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(4):537-551.
149. Shimamoto K, Nakao T, Ura N, Tanaka S, Ando T, Nishimiya T, Mita T, Kondo M, Nakagawa M, Iimura O. The role of the renal kallikrein-kinin system in sodium metabolism in normal and low renin essential hypertension. *Jpn Circ J* 1983; 47(10):1210-1215.
150. 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(2):199-212.
151. Sigurdsson G. Enteral or parenteral nutrition? Pro-enteral. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 1997; 110:143-147.
152. Slanetz PJ, Lee R, Page R, Jacobs EE, Jr., Laraia PJ, Vlahakes GJ. Hemoglobin blood substitutes in extended preoperative autologous blood donation: an experimental study. *Surgery* 1994; 115(2):246-254.
153. Standl T. Artificial Oxygen Carriers: Cell-free Hemoglobin Solutions - Current Status 2004. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 40: 38-45 2005.
154. Standl T, Burmeister MA, Horn EP, Wilhelm S, Knoefel WT, Schulte Am EJ. Bovine haemoglobin-based oxygen carrier for patients undergoing haemodilution before liver resection. *Br J Anaesth* 1998; 80(2):189-194.
155. Standl T, Freitag M, Burmeister MA, Horn EP, Wilhelm S, Am Esch JS. Hemoglobin-based oxygen carrier HBOC-201 provides higher and faster increase in oxygen tension in skeletal muscle of anemic dogs than do stored red blood cells. *J Vasc Surg* 2003; 37(4):859-865.
156. Standl T, Horn EP, Bangert K, Reiter B, Jacobs EE, Schulte am Esch J, . Bovine hemoglobin restores myocardial tissue tension in dogs with acute critical coronary stenosis and extended hemodilution. *Anesthesiology* 1999; 1999, 90:A697.
157. Standl T, Horn P, Wilhelm S, Greim C, Freitag M, Freitag U, Sputtek A, Jacobs E, Schulte Am EJ. Bovine haemoglobin is more potent than autologous red blood cells in restoring muscular tissue oxygenation after profound isovolaemic haemodilution in dogs. *Can J Anaesth* 1996; 43(7):714-723.

158. Standl TG, Reeker W, Redmann G, Kochs E, Werner C, Schulte Am EJ. Haemodynamic changes and skeletal muscle oxygen tension during complete blood exchange with ultrapurified polymerized bovine haemoglobin. *Intensive Care Med* 1997; 23(8):865-872.
159. 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(5):2348-2354.
160. van Kempen LH, Breepoel PM, Kreuzer F. The carbamate equilibrium of bovine hemoglobin at 37 degrees C. *Respir Physiol* 1975; 23(2):223-241.
161. Villet S, Chioloro RL, Bollmann MD, Revely JP, Cayeux RNM, Delarue J, Berger MM. Negative impact of hypocaloric feeding and energy balance on clinical outcome in ICU patients. *Clin Nutr* 2005; 24(4):502-509.
162. Vlahakes GJ, Lee R, Jacobs EE, Jr., 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(3):379-388.
163. Vogel WM, Dennis RC, Cassidy G, Apstein CS, Valeri CR. Coronary constrictor effect of stroma-free hemoglobin solutions. *Am J Physiol* 1986; 251(2 Pt 2):H413-H420.
164. Wang ZF, Pan CE, Lu Y, Liu SG, Zhang GJ, Zhang XB. The role of inflammatory mediators in severe acute pancreatitis and regulation of glucocorticoids. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003; 2(3):458-462.
165. Warshaw AL, O'Hara PJ. Susceptibility of the pancreas to ischemic injury in shock. *Ann Surg* 1978; 188(2):197-201.
166. Waschke K, Krieter H, Albrecht DM, van Ackern K, Kuschinsky W. Modified hemoglobin as a blood substitute in a rat model. *Anaesthesist* 1993; 42(2):90-95.
167. Werner J, Dragotakes SC, del Castillo CF, Rivera JA, Ou JR, Rattner DW, Fischman AJ, Warshaw AL. Technetium-99m-labeled white blood cells - A new method to define the local and systemic role of leukocytes in acute experimental pancreatitis. *Annals of Surgery* 1998; 227(1):86-94.
168. Werner J, Klar E. Therapeutische Beeinflussung des Schweregrads der akuten Pankreatitis. *Chir Gastroenterologie* 1999; 15:328-333.

169. Werner J, Rivera J, Fernandez-del Castillo C, Lewandrowski K, Adrie C, Rattner DW, Warshaw AL. Differing roles of nitric oxide in the pathogenesis of acute edematous versus necrotizing pancreatitis. *Surgery* 1997; 121(1):23-30.
170. Werner J, Z'graggen K, Fernandez-del Castillo C, Lewandrowski KB, Compton CC, Warshaw AL. Specific therapy for local and systemic complications of acute pancreatitis with monoclonal antibodies against ICAM-1. *Ann Surg* 1999; 229(6):834-840.
171. White CT, Murray AJ, Smith DJ, Greene JR, Bolin RB. Synergistic toxicity of endotoxin and hemoglobin. *J Lab Clin Med* 1986; 108(2):132-137.
172. Zeybek N, Gorgulu S, Yagci G, Serdar M, Simsek A, Kaymakcioglu N, Deveci S, Ozcelik H, Tufan T. The effects of ginkgo biloba extract (EGb 761) on experimental acute pancreatitis. *Journal of Surgical Research* 2003; 115(2):286-293.

7 Abkürzungen

2,3-DPG	2,3-Diphosphoglycerat
ANOVA	Analysis of Variance
AUC	area under the curve
avDO ₂	Arteriovenöse Sauerstoffdifferenz
BE	Base Excess
BZ	Blutzuckerkonzentration
CaO ₂	Arterieller Sauerstoffgehalt
CI	Cardiac Index, Konfidenzintervall
CO	Cardiac Output
COHb	Carboxyhämoglobin
CRP	C-reaktives Protein
CvO ₂	Gemischtvenöser Sauerstoffgehalt
Da	Dalton
DO ₂	Sauerstoffangebot
EKG	Elektrokardiogramm
ERCP	Endoskopische retrograde Cholangiopankreaticographie
ERO ₂	Sauerstoffextraktion
fHb	Freies Hämoglobin
FiO ₂	Fraktion des inspirierten Sauerstoffs
GDOC	Glykodeoxycholsäure
HES	Hydroxyethylstärke
Hb	Hämoglobin
HBOC	hemoglobin based oxygen carrier
Hkt	Hämatokrit
HF	Herzfrequenz
ICAM-1	Interzelluläre Adhäsionsmolekül-1
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M

IL	Interleukin
K ⁺	Kalium
KOD	Kolloidosmotischer Druck
MAP	Mittlerer arterieller Druck
MetHb	Methämoglobin
NO	Stickstoffmonoxid
PAP	Mittlerer pulmonalarterieller Druck
PCWP	pulmonalarterieller Okklusionsdruck
PVR	Pulmonaler Widerstand
PLP	Pyridoxal-5'-Phosphat
SB	Standard Bicarbonat
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler
SVR	Systemischer Widerstand
Temp	Temperatur
TNF	Tumornekrosefaktor
tpO ₂	Gewebssauerstoffpartialdruck
VO ₂	Sauerstoffverbrauch
ZVD	Zentralvenöser Druck
ZVK	Zentraler Venenkatheter

8 Danksagung

- Herrn Professor Dr. med. J. R. Izbicki danke ich für die freundliche Überlassung des Themas, welche diese Doktorarbeit erst ermöglicht hat.
- Besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Tim Strate für seine hervorragende Betreuung und tatkräftige Unterstützung.
- Herrn Dr. med. Marc Freitag danke ich für seine kompetente Einarbeitung und unermüdliche Motivation sowie für die kritische Durchsicht dieser Arbeit.
- Das Erlernen der chirurgischen Instrumentierung und Operationstechnik verdanke ich Herrn Dr. med. Oliver Mann und Herrn Dr. med. Helge Kleinhans.
- Hendrik Lohalm und Johannes Rau, die im Rahmen dieses Forschungsprojektes ebenfalls ihre Dissertationen erarbeiten, möchte ich für die exzellente Zusammenarbeit und den aufopferungsvollen Einsatz bei der Durchführung der Experimente danken.
- Meinen Eltern danke ich für die langjährige liebevolle Unterstützung, die mein Studium und diese Arbeit überhaupt erst möglich machten.
- Ganz wesentlich zum Gelingen der vorliegenden Promotionsarbeit hat das persönliche Stipendium der Werner Otto Stiftung in Hamburg beigetragen. Hierfür bin ich der Stiftung sehr verbunden.
- Zur Erstellung dieser Promotionsschrift haben mehr Menschen beigetragen, als ich hier namentlich nennen kann. Es ist mir ein besonderes Anliegen, auch diesen Freunden und Kollegen aufrichtig für ihre Mithilfe zu danken.

9 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Helen Maya Ameis
geboren	6. September 1980 in Starnberg
Familienstand	ledig
Anschrift	Lohbekstieg 8 22529 Hamburg

Schulbildung

1986-1989	Grundschule Flurstraße, München
1989-1990	Grundschule Döhrnstraße, Hamburg
1990-1999	Wilhelm Gymnasium, Hamburg
Juli 1999	Abitur

Studium

1999-2002	Studium an der med. Fakultät der Universität Aachen
2002-2006	Studium an der med. Fakultät der Univers. Hamburg
August 2001	Physikum
August 2002	1. Staatsexamen
März 2005	2. Staatsexamen
Mai 2006	3. Staatsexamen

Stipendien

2004-2006	Doktorandenstipendium der Werner Otto Stiftung
-----------	--

10 Eidesstattliche 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 (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, 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, November 2006