

Aus der Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Visceral- und Thoraxchirurgie

Direktor: Prof. Dr. med. J.R. Izbicki

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

**Therapeutische Wirkung der isovolämischen Hämodilution mit
Hydroxyethylstärke plus der bovinen Hämoglobinlösung HBOC-301 auf
die Gewebsoxygenierung des Pankreas bei schwerer akuter
Pankreatitis im Großtiermodell**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

im Fachbereich Medizin der Universität Hamburg

vorgelegt von

Corinna Müller

aus Lüneburg

Hamburg, 2008

Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 19.12.2008

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. T. Strate
Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: PD Dr. M. Freitag
Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: Prof. Dr. E. Yekebas

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Pankreatitis	1
1.2. Stand der Forschung	2
1.3. „Künstliche“ Sauerstoffträger	3
1.4. Fragestellung	5
2. Material und Methodik	6
2.1. Prämedikation und Anästhesie	6
2.2. Präparation	7
2.3. Laparotomie	8
2.4. Pankreatitisinduktion	11
2.5. Gruppeneinteilung (Tabelle 1.)	11
2.6. Therapie	11
2.7. Postoperative Phase, Sektion und histologische Aufarbeitung	13
2.8. Versuchsablauf (schematisch)	14
2.8.1. Zusammenfassung der gemessenen und errechneten Parameter	15
2.9. Therapeutika	16
2.10. Datenerfassung	18
2.10.1. Hämodynamische Parameter	18
2.10.2. Herzzeitvolumen und Herzindices	18
2.10.3. Blutgasanalyse und Sauerstofftransport	19
2.10.4. Elektrolyte und Laktat	19
2.10.5. Gewebssauerstoffpartialdruck	20
2.10.6. Rheologie	20
2.11. Statistische Methoden	20

3. Resultate	22
3.1. Hämodynamik	22
3.1.1. Herzfrequenz	22
3.1.2. Pulmonal-arterieller Mitteldruck (PAP)	23
3.1.3. Mittlerer-arterieller Druck (MAP)	25
3.1.4. Zentralvenöser Druck (ZVD)	26
3.1.5. Cardiac Output (CO)	27
3.1.6. Cardiac Index (CI)	28
3.1.7. Systemischer Gefäßwiderstand (SVR)	29
3.1.8. Pulmonaler Gefäßwiderstand (PVR)	31
3.1.9. Sauerstofftransport	33
3.2. Elektrolyte und Laktat	41
3.3. Gewebssauerstoffpartialdruck (tPO ₂) des Pankreas	42
3.4. Rheologie	44
3.4.1. Plasmaviskosität	44
3.4.2. Kolloidosmotischer Druck (KOD)	46
3.5. Überleben	48
4. Diskussion	50
4.1. Methodenkritik	52
4.1.1. Therapieverfahren und verwendete Substanzen	52
4.1.2. Tiermodell	58
4.1.3. Messmethoden	59
4.1.4. Statistik	64
4.2. Ergebnisdiskussion	65
4.2.1. Hämodynamik	65
4.2.2. Gewebssauerstoffpartialdruck des Pankreas	68
4.2.3. Rheologie	69
4.2.4. Überleben	69
4.3. Gegenüberstellung mit gängigen und experimentellen Therapiestrategien	70
4.4. Aussicht	76

5. Zusammenfassung des Versuchs	77
6. Literaturverzeichnis	78
7. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	91
8. Abkürzungsverzeichnis	92
9. Lebenslauf	93
10. Eidesstattliche Versicherung	94
11. Danksagung	95

1. Einleitung

1.1. Pankreatitis

Die akute Pankreatitis ist eine Erkrankung, deren Verlauf sehr unterschiedlich sein kann. Er reicht von einer ödematösen spontan ausheilenden Form und geht bis zu einer äußerst schwer verlaufenden hämorrhagisch nekrotisierenden Form, wobei sich die schwer verlaufende Form in ca. 20% der Fälle als Komplikation aus der leicht verlaufenden Form entwickelt. Die Inzidenz der Pankreatitis ist in den vergangenen Jahrzehnten durch vermehrten Einfluss der am ehesten verantwortlich gemachten Noxen angestiegen [43]. Sie beträgt zum heutigen Zeitpunkt 10 Neuerkrankungen pro Jahr zu 100.000 Einwohnern in den westlichen Ländern unabhängig von Jahreszeit und Geschlecht [10,46,83,84].

Eine Pankreatitis kann viele Ursachen haben und es sind viele Versuche unternommen worden den Verlauf der Pankreatitis und den Progress zu verstehen.

Die Hauptursachen mit 80-90% sind in der Papilla Vateri impaktierte Gallensteine [85,139], die zu einem Rückstau von Gallenflüssigkeit und Pankreasproenzymen in das Pankreasgangsystem führen können und so eine Entzündung und Autodigestion bewirken können [151]. Starker Alkoholkonsum ist als zweithäufigste Genese zu nennen. Diese gewinnt allerdings durch weiter zunehmenden Alkoholkonsum einen immer größeren Anteil in der Statistik [33]. Andere seltenere Ursachen sind Virusinfektionen, Traumata (Unfälle oder iatrogen nach ERCP), Ischämie, Hyperlipidämie, Hyperkalzämie oder angeborene Pankreasanomalien, wie das Pankreas divisum [135].

Trotz großer medizinischer Fortschritte hat die akute hämorrhagisch nekrotisierende Pankreatitis immer noch eine Letalität von 30-50% [13].

Unabhängig von der Genese kommt es bei der akuten Pankreatitis nun durch eine frühe intrazelluläre Trypsinogenaktivität, der Bildung von Sauerstoffradikalen und der Aktivierung von Verdauungsenzymen zu einem Azinuszellschaden [62]. Im entzündlichen Verlauf resultiert eine Aktivierung der

zellulären Immunabwehr mit Stimulierung von Granulozyten, Monozyten und Makrophagen und der folgenden Freisetzung von Entzündungsmediatoren und Interleukinen. Das inflammatorische Geschehen wird durch die Mikrozirkulationsstörung als zentraler, sekundärer Pathomechanismus unterhalten und führt zum Progress der ödematösen zur hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis [54,76,78,111,152,154,155].

Die Therapie der Mikrozirkulationsstörungen wäre somit in der Lage den Progress der Pankreatitis aufzuhalten und war der grundlegende Gedanke für diese Versuchsreihe.

1.2. Stand der Forschung

Im Jahr 1996 publizierten Schmidt und Klar einen Artikel, der nachwies, dass die Störung der Pankreasperfusion und der pankreatischen Mikrozirkulation einer der entscheidenden Schritte im Progress von der ödematösen in die hämorrhagisch nekrotisierende Form der Pankreatitis ist [130]. Es wurde gefolgert, dass die Verbesserung der Perfusion und der Mikrozirkulation des Organs diesen Prozess verhindern oder mindestens verringern müsste.

Es wurden Versuche mit hochmolekularen Dextranen bei akuter Pankreatitis durchgeführt [37,39,73,75,90,129]. In Studien ergaben sich geringere Sterberaten und deutlich geringere Azinuszellschädigungen unter der Therapie mit Dextranen als in der Vergleichsgruppe mit Ringerlösungen.

Klar et al. untersuchten die Wirkung der isovolämische Hämodilution auf den Verlauf der akuten alkoholinduzierten Pankreatitis. Sie wiesen nach, dass es mit einem Hämatokrit von 30%, durch die isovolämische Hämodilution, zu einem weniger drastischen Krankheitsverlauf der Patienten kam [72]. Vorangehend zeigten Klar et al. einen positiven Effekt einer alleinigen Hämodilution auf die pankreatische Mikrozirkulation am Hasenmodell [71,74].

Unter diesem Aspekt müssten Substanzen, welche die Sauerstoffabgabe ans Gewebe optimieren, in Kombination mit Veränderung der Rheologie des Blutes eine interessante Therapieoption darstellen.

Strate et al. untersuchten in dem Zusammenhang die Wirksamkeit der bovinen Hämoglobinlösung HBOC-301 bei akuter hämorrhagisch nekrotisierender Pankreatitis im Rattenmodell [153].

In Vorversuchen im Pankreatitismodell mit Ratten konnte außerdem gezeigt werden, dass die isovolämische Hämodilution mit zusätzlicher Gabe der bovinen Hämoglobinlösung HBOC-301 eine Verringerung der pankreatischen Mikro- und Makrozirkulationsstörungen mit Aufrechterhaltung der Kapillarperfusion erbrachte. Ebenso konnte die Verringerung des nachweisbaren Gewebeschadens des Pankreasgewebes nachgewiesen werden [155].

1.3. „Künstliche“ Sauerstoffträger

Blutkonserven sind teuer und aufwendig in Bearbeitung und Lagerung, der Bedarf ist steigend und es gibt gesundheitliche Vorbehalte wie die Gefahr der Infektion mit z.B. Hepatitisviren und multiplen Transfusionsreaktionen. Künstliche Blutersatzstoffe oder besser künstliche Sauerstoffträger können Alternativen sein, zum bloßen Ersatz bei Blutverlusten aber auch als therapeutische Option bei Verringerung der organspezifischen Mikrozirkulation und Gewebsoxygenierung im Rahmen einer Inflammation.

Die Forschung beschäftigt sich seit geraumer Zeit mit diesen sauerstofftransportierenden Substanzen.

Es wird derzeit an synthetisch hergestellten Perfluorcarbonen und Hämoglobinlösungen auf Basis von humanem, gentechnisch hergestelltem oder bovinem Hämoglobin geforscht.

Hämoglobin als Hauptbestandteil der Erythrozyten hat die Funktion des Sauerstoff- und Kohlendioxidtransports. Über die sogenannte Oxygenation wird molekularer Sauerstoff an das zweiwertige Hämeisen des Hämoglobinmoleküls reversibel angelagert um wieder an das Gewebe abgegeben zu werden. Im Gegenzug wird Kohlendioxid abtransportiert.

Hämoglobinlösungen sind heutzutage in der Lage einige Funktionen des menschlichen Blutes zu übernehmen. Durch jahrelange Forschung und

Modifikation ist es gelungen, die Nebenwirkungen der frühen Hämoglobinlösungen zu minimieren.

Die in dieser Versuchsreihe verwendete Hämoglobinlösung HBOC-301 (hemoglobin based oxygen carrier, Oxyglobin, Biopure®, Boston, USA) ist eine bovine Hämoglobinlösung. Die bessere Sauerstofftransportkapazität und – abgabe an das Gewebe, als entscheidender Vorteil gegenüber Dextranen und anderen Plasmaexpandern, macht es möglich Gewebe ausreichend zu perfundieren und oxygenieren.

Es erscheint demnach sinnvoll die Hypothese der Verbesserung der Mikro- und Makrozirkulation, einer verbesserten Sauerstofftransportkapazität und damit einer besseren Gewebsoxygenierung durch Veränderung der Rheologie des Blutes in Kombination mit der Gabe der bovinen Hämoglobinlösung HBOC-301 bei der akuten Pankreatitis zu erforschen. Das Tiermodell am Schwein im Gegensatz zum Kleintiermodell wurde gewählt, um eine bessere Übertragung der Ergebnisse auf den Menschen vornehmen zu können.

1.4. Fragestellung

In der vorliegenden Untersuchung sollte die Frage beantwortet werden, welchen Einfluss die therapeutische Applikation der Hämoglobinlösung HBOC-301 auf die Gewebsoxygenierung des Pankreas bei schwerer akuter porciner Pankreatitis im Vergleich zu nicht O₂-transportierenden Infusionslösungen hat.

Hierbei wurde mit der isovolämischen Hämodilution (IHD) eine bis in die Phase III Studien etablierte Therapieform aufgegriffen. Außerdem sollte überprüft werden, ob sich durch die verschiedenen Therapieregime ein Überlebensvorteil in einem definierten Nachuntersuchungszeitraum ergibt.

2. Material und Methodik

Nach Genehmigung durch die Behörde für Arbeit, Gesundheit und Soziales der Freien und Hansestadt Hamburg gingen 39 Hybrid Mini-Pigs (Züchtungszentrale Deutsches Hybridschwein GmbH) mit einem Gewicht von 25-30 kg in den Versuch ein. (Genehmigungsnummer: 65/00)

2.1. Prämedikation und Anästhesie

Die Versuchstiere wurden 36 Stunden vor Versuchbeginn einer Nahrungskarenz bei freiem Zugang zu Wasser und 20%iger Glukoselösung unterworfen. In den letzten 12 Stunden vor Versuchsbeginn wurden die Tiere komplett nüchtern belassen.

An Morgen des Versuchsbeginns erfolgte die intramuskuläre Prämedikation mit 10mg/kg KG Ketamin (Ketanest®, Atarost GmbH, Twistringen), 4mg/kg KG Azaperon (Stresnil®, Janssen-Cilag, Neuss) und 0,015 mg/kg KG Atropinsulfat (Atropin®, Braun, Melsungen). Es wurden Körpergewicht und Schnauzen-Schinken-Länge bestimmt.

Dann folgte die Überführung des Versuchstiers in den Operationssaal sowie die Anlage eines Oberflächen-EKG mit fünf Elektroden zur Überwachung der Herzaktivität. Zur Überwachung der peripheren Sauerstoffsättigung wurde ein SpO₂-Sensor am Ohr platziert. Es erfolgte die Punktion einer Ohrvene mit einer Venenverweilkanüle (Vasofix 1,1mm, Braun, Melsungen). Die Narkoseeinleitung erfolgte i.v. mit 0,5mg/kg KG Midazolam (Dormicum®, Hoffmann-LaRoche, Grenzach-Wyhlen) und 0,1 mg/kg KG Fentanyl (Fentanyl-Janssen®, Janssen-Cilag, Neuss). Es erfolgte dann die endotracheale Intubation mit Tubengrößen von 6,0-7,0 mm und anschließende kontrollierte Beatmung mittels Beatmungsgerät (Romulus 800, Dräger, Lübeck). Über den Tubus wurde ein Anteil von 30% Sauerstoff inhaliert und zusätzlich 1 Vol% Isofluran (Forene®, Abbott, Wiesbaden) zur balancierten Narkose verabreicht, wobei der FiO₂ bei Bedarf leicht hochreguliert werden konnte, um den arteriellen pO₂ konstant auf 90mmHg zu halten (Blutgasanalysen alle 30 min.; ABL 725,

Radiometer, Kopenhagen). Außerdem wurde eine Magensonde als zusätzlicher Aspirationsschutz eingeführt und mit einem Ablaufbeutel verbunden.

Die Beatmungsparameter wurden so eingestellt, dass der endexpiratorische pCO₂ auf 35-40mmHg gehalten wurde (Normocap CO₂ Monitor, Datex, Helsinki), Zusätzlich wurde eine Anästhesie über einen Perfusor (Perfusor Secua®, Braun, Melsungen) mit 20mg/kg KG Fentanyl (Fentanyl-Janssen®, Janssen-Cilag, Neuss) verabreicht. Während der gesamten Operationsdauer wurde der Operationssaal mit einer Klimaanlage auf 30°C gehalten.

2.2. Präparation

Die Tiere wurden in Rückenlage fixiert und es folgte die Rasur des gesamten Operationsgebiets und die Anlage der Diaelektrode im Bereich der Außenseite des rechten Hinterlaufs. Dann erfolgt die sorgfältige Desinfektion des gesamten Operationsgebietes an der rechten Halsseite mit Cutasept® (Bodechemie, Hamburg) und im Anschluss das sterile Abdecken dieser Region.

Zunächst erfolgte die Präparation im Bereich der cervicalen rechten Gefäß-Nervenstraße. Hierzu wurde ein ca. 9 cm langer Hautschnitt vom Jugulum nach lateral-cranial gesetzt und anschließend die Muskulatur zur Darstellung und komplette Freilegung der drei großen Gefäße gespalten. Die Vv. Jugulares externa und interna und die Arteria carotis communis wurden präpariert und angeschlungen. Dann folgte die Einbringung des Sheldonkatheters (12 F Certofix Trio SB 1225, Braun, Melsungen) und des zentralen Venenkatheters (14 G. Cavafix Certo 335, Braun, Melsungen) in die Vena jugularis externa, die dazu seitlich mit einer Präparierschere eingeschnitten wurde. Die Katheter wurden in der Gefäßwand mit einer Naht fixiert und das Gefäß nach kranial mit einer Ligatur verschlossen. Der Sheldonkatheter dient der kontinuierlichen Zufuhr von Volumen zur Aufrechterhaltung der Isovolämie und der späteren Hämodilution und der Verabreichung von HBOC-301 und HES.

Als nächste wurde die Vena jugularis interna aufgesucht und wie oben präpariert. Dann erfolgte die Einbringung eines Pulmonalis-Einführungsbestecks mit Ventil (8 Fr. Dispomedia, Hamburg) ins Gefäßlumen zum späteren Einschwenken des Thermodilutionskatheters (7 F, 110 cm, 4 LG; Baxter Deutschland, München)

und Annahrt dieser sog. Schleuse am Gefäß. Auch hier erfolgte die Ligatur des kranialen Gefäßlumens.

Dann wurde die Arteria carotis communis aufgesucht, das kraniale Ende ligiert und das kaudale Ende angezügelt. Es erfolgte die Punktion der Arterie und das Einbringen des Arterienkatheters (Vygon Leader Cath 18G. 10cm, Braun, Melsungen) nach Seldinger Technik mit anschließender Ligatur des kaudalen Endes unter Einbeziehung des Katheter. Zusätzlich erfolgte die Annahrt des Katheters an der Haut und die Verbindung des Katheters mit einem Druckaufnehmersystem sowie Anschluss an einen Monitor (Solar 7000, Marquette, Milwaukee, USA). Der Arterienkatheter diente der kontinuierlichen invasiven Messung des arteriellen Drucks und der Abnahme der arteriellen Blutproben.

Dann wurde der Thermodilutionskatheter durch die Schleuse eingebracht und unter Monitorkontrolle in die A. pulmonalis eingeschwemmt und fixiert. Der Katheter dient der kontinuierlichen Messung des pulmonal-arteriellen Drucks (PAP). Zusätzlich wurde zu den Messzeitpunkten der pulmonal-kapilläre Verschlussdruck (Wedgedruck, PCWP), der zentralvenösen Druck (ZVD) und die Temperatur in der Arteria pulmonalis über diesen Katheter gemessen. Mit dem Pulmonalkatheter war es weiterhin möglich das Herzzeitvolumen zu messen und gemischt-venöses Blut abzunehmen.

Abschließend erfolgten eine Reinigung und das provisorische Verschließen dieses Wundgebietes. Die Tiere erhielten über die gesamte Länge des Versuchs kontinuierlich angewärmte Infusionen mit Ringer-Lösung (Böhringer, Ingelheim). Hierbei diente der pulmonal-kapilläre Verschlussdruck als Maß für den Stand der Hydratation und wurde zwischen 8 und 10mmHg konstant gehalten. Die Körpertemperatur von 38°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) wurden mit Wärmelampen und Wärmedecken aufrechterhalten.

2.3. Laparotomie

Im nächsten Schritt erfolgte die Laparotomie. Hierfür wurde die Bauchregion ebenfalls mit Cutasept® (Bodechemie, Hamburg) steril abgewaschen und abgedeckt und ein querer Oberbauchschnitt unterhalb des Rippenbogens gesetzt.

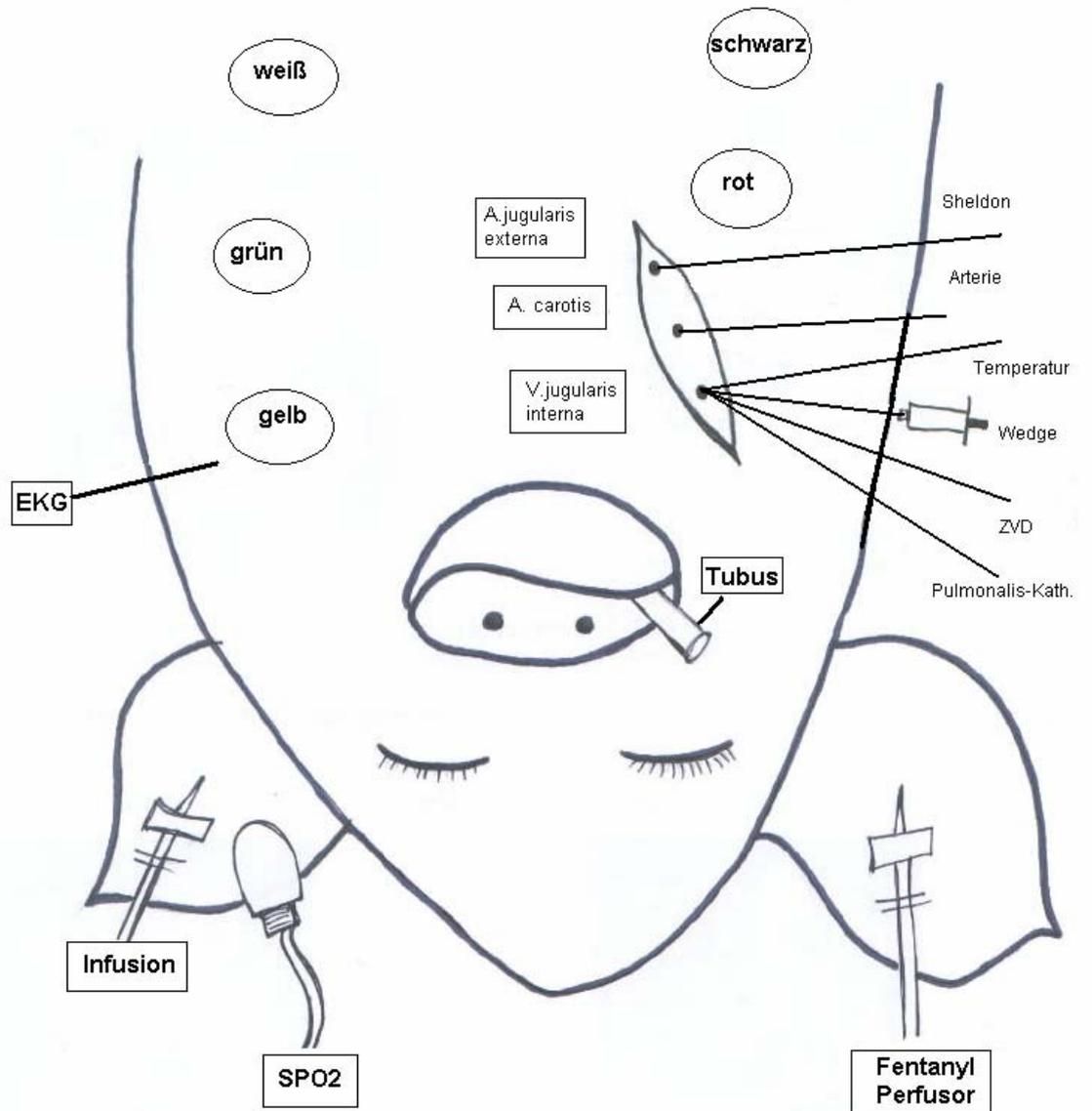
Vor Inspektion der Bauchhöhle wurde zunächst ein Abstrich entnommen. Dann wurde die Milz aufgesucht und mobilisiert. Die kurzen gastrischen Gefäße wurden dargestellt, ligiert und durchtrennt. Im Anschluss erfolgte die weitere Mobilisation und Darstellung mit anschließender Ligatur und Durchtrennung der Vasa lienalis. Dann wurde die Milz entnommen und eine sorgfältige Blutstillung durchgeführt.

Nun wurde der obere Pol der Blase aufgesucht, mit zwei Ellis-Klemmen gefasst und hervorgezogen. Dann erfolgte die Vorlage einer Tabaksbeutelnaht, die Eröffnung des Blasenlumens durch den Elektrokoagulator an der Blasenvorderwand und das Einbringen eines Blasenkatheter (16 Ch) und anschließende Verknotung der Tabaksbeutelnaht. Der Katheter wurde mit einem Urinbeutel konnektiert und geblockt.

Dann wurde der Pankreas im duodenalen C aufgesucht und im Bereich des Pankreaskopfes mobilisiert. Der Ductus pancreaticus wurde im Bereich der Mündungsstelle ins Duodenum aufgesucht und eine Venenverweilkanüle (Vasofix 0,8mm, Braun, Melsungen) in den Pankreasgang installiert.

Als nächster Schritt wurden zwei Temperatursonden frei in die Bauchhöhle gelegt und zwischen Leber und Zwerchfell platziert. Dann erfolgte die Einlage einer Licox tPO₂-Sonde (pO₂-Mikrosonde, GMS, Kiel) in den linken Leberlappen und einer weiteren Sonde in den Corpus des Pankreas. Das mobilisierte Duodenum wurde mit Enbucrilat Gewebekleber (Histoacryl®, Braun, Melsungen) auf einen Leberhaken horizontal fixiert. Auch dieses Operationsgebiet wurde provisorisch verschlossen. Dann folgte eine Äquilibrationsphase von 30 Minuten, woran sich der Messzeitpunkt 0 anschloss.

Abbildung1:



2.4. Pankreatitisinduktion

Über die Venenverweilkanüle im Pankreasgang wurde mittels Perfusor (Braun, Melsungen) gewichtsadaptiert 0,4ml/kg KG Glykodeoxycholsäure (G-DOC, 10mmol/l, pH 8, Sigma, Steinheim) über 10 Minuten bei maximalem Perfusionsdruck von 25mmHg verabreicht. Zeitgleich bekamen die Tiere systemisch über den Perfusor über 6 Stunden 5µg/kg KG Cerulein (Takus®, Pharmacia & Upjohn, Erlangen) verabreicht. Nach Abschluss der G-DOC-Gabe wurde die Zeituhr gestartet. Jetzt galt die Pankreatitis laut Pankreatitismodell [173, 131] als induziert.

Nun folgte eine Äquilibrationsphase von 15 Minuten worauf sich der Messzeitpunkt 1 anschloss. Nach weiteren 60 Minuten erfolgte Messzeitpunkt 2, nach dessen Abschluss die Venenverweilkanüle aus dem Pankreasgang entfernt, die Punktionsstelle verschlossen und die Tiere computergestützt randomisiert und hierbei auf drei Gruppen mit je 13 Tiere zugeteilt wurden (siehe Tabelle 1.).

2.5. Gruppeneinteilung (Tabelle 1.)

Gruppe	Therapie	Therapiezeitpunkt
Ringer	IHD mit Ringer	75 min. nach Induktion
HES	IHD mit HES	75 min. nach Induktion
HBOC-301	IHD mit HES & HBOC	75 min. nach Induktion

2.6. Therapie

Bei den Tieren in Gruppe 1 wurde unter Konstanthaltung des PCWP eine IHD vorgenommen, wobei durch den Sheldonkatheter 50 ml Blut im Verhältnis 1:3 bis 1:4 unter Konstanthaltung des PCWP als Maß für die Isovolumie durch Ringer ersetzt wurden, bis ein Ziel-Hämoglobin von 5 g/dl (entspricht einem Hämatokrit von 15%) erreicht war. Um die Menge des zu entnehmenden Blutes im Vorfeld zu berechnen, wurde im ersten Schritt das Blutvolumen der Versuchstiere mit der nachstehenden Formel ermittelt:

Blutvolumen = Körpergewicht in Kilogramm x 0,008

Die Blutmenge, die entnommen wurde, berechnete sich dann wie folgt:

Blutentnahme = Blutvolumen x ((Hbv-Hbz) x2) / (Hbv + Hbz)

Hbz = Ziel-Hämoglobinwert von (5 g dl⁻¹)

Hbv = Ausgangs-Hämoglobinwert

In Gruppe 2 wurde ebenso die IHD durchgeführt, indem solange 50 ml Blut durch HES im Verhältnis 0,8:1 bis 1:1 substituiert wurde, bis der Zielwert des Hämoglobins von 5 g/dl erreicht war. Bei der Gruppe 3 wurde die IHD wie in Gruppe 2 durchgeführt, dann gewichtsadaptiert HBOC-301 gegeben und ein Blutplasmaspiegel von freiem Hämoglobin zwischen 0,4 und 0,6 g/dl für die gesamte Dauer der Operation gehalten. Es folgten Messzeitpunkt 3-8 in stündlichen Abständen.

Unmittelbar nach Messzeitpunkt 8 erfolgte die Entfernung aller Sonden und Katheter mit Ausnahme des ZVK. Dann kam die Entnahme eines Abstriches aus der Bauchhöhle, danach folgte gründliches Spülen und anschließend wurde ein erneuter Abstrich genommen. Es erfolgte anschließend der Verschluss der Bauchhöhle mit einer fortlaufenden Allschichtnaht und fortlaufenden Hautnaht. Im Bereich des Halses erfolgte nach Entfernung der Katheter die Ligatur der entsprechenden Gefäße. Der ZVK wurde in die Nackenregion ausgeleitet, vernäht und mit Hyperfix verklebt. Der ZVK diente der postoperativen Blutentnahme. Der Halsschnitt wurde chirurgisch verschlossen. Beide Wundnähte wurden mit einem Pflastersprühverband versorgt. Es folgte die Gabe von 22 mg Piritramid (Dipidolor R, Janssen-Cilag, Neuss) zur postoperativen Analgesie. Zum Schluss wurde die Ausleitung der Narkose und Extubation vorgenommen. Die erwachten Tiere wurden in ihre erwärmten Einzelboxen gebracht.

2.7. Postoperative Phase, Sektion und histologische Aufarbeitung

Den Tieren wurde ab dem 1. postoperativen Tag Wasser und Standarddiät (Ferkel-Aufzuchtfutter, UNA-HAKRA, Hamburg) angeboten, sie wurden viermal täglich von dem Versuchsleiter und einmal täglich von einem Veterinär der Versuchstierhaltung des Universitäts-Klinikums Hamburg Eppendorf visitiert.

An den ersten sechs postoperativen Tagen wurden jeweils mittags die Messzeitpunkte 9 – 14 durchgeführt.

Alle Tiere erhielten im sechs-stündlichen Rhythmus und ggf. bei Bedarf 22 mg Piritramid (Dipidolor ®, Janssen-Cilag, Neuss) zur Analgesie.

Am sechsten postoperativen Tag erfolgte nach dem Messzeitpunkt 14 eine Narkotisierung mit 10mg/kg KG Ketamin (Ketanest®, Atarost GmbH, Twistringen), 4mg/kg KG Azaperon (Stresnil®, Janssen-Cilag, Neuss). Anschließend folgte die Sakrifizierung der Tiere durch eine tödliche Dosis T61 ad us.vet. (Intervet, Unterschleißheim).

Direkt im Anschluss wurde die Laparotomie und Entnahme des Pankreasgewebes zur histologischen Aufarbeitung vorgenommen.

2.8. Versuchsablauf (schematisch)

Prämedikation

Anästhesie

Präparation

(Halspräparation, Laparotomie, Milzentfernung, Blasenpunktion und Einlage eines Blasenkatheters, Mobilisation von Pankreas und Duodenum, Kanülierung des Pankreasganges)

Äquilibrierungsphase (30 Minuten)

Messzeitpunkt 0

Induktion der Pankreatitis

Messzeitpunkt 1; 15 Minuten nach Induktion der Pankreatitis

Messzeitpunkt 2; 1 Stunde 15 Minuten nach Induktion der Pankreatitis

Nach Messzeitpunkt 2: computergestützte Randomisierung der Versuchstiere und gruppenspezifische Therapie mit jeweils entweder IHD mit Ringer, IHD mit HES oder IHD mit HES und HBOC-301

Äquilibrierungsphase (30 Minuten)

Messzeitpunkt 3-8 in stündlichen Abständen

Ausleitung, Analgesie und Überwachung

Messzeitpunkt 9-14 am den post-OP-Tagen 1-6

Tötung und Gewebeentnahme für die Histologie am 6. post-OP-Tag direkt nach Messzeitpunkt 14

2.8.1. Zusammenfassung der gemessenen und errechneten Parameter

Hämodynamische Parameter:

Herzfrequenz (HF) (min⁻¹)

Mittlerer-arterieller Druck (MAP) (mmHg)

Pulmonal-arterieller Druck (PAP) (mmHg)

Pulmonal-kapillärer Verschlussdruck (PCWP) (mmHg)

Zentralvenöser Druck (ZVD) (mmHg)

Cardiac Output (CO) (l/min)

Temperatur (über den Pulmonalkatheter und im Pankreasgewebe)

Errechnete Werte:

Blutvolumen der Versuchstiere (BV) = Körpergewicht x 0,08

Körperoberfläche (KO) der Versuchstiere

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

Systemisch-venöser Gefäßwiderstand (SVR) = $\frac{MAP - ZVD}{CO} \times 80$ (dyn · s · cm⁻⁵)

5)

Pulmonal-venöser Gefäßwiderstand (PVR) = $\frac{PAP - PAOP}{CO} \times 80$ (dyn · s · cm⁻⁵)

Arterio-venöse Sauerstoffdifferenz (avDO₂) = CaO₂ – CvO₂ (ml · dl⁻¹)

Sauerstoffangebot (DO₂ ges) = CO x CaO₂ (ml · min⁻¹)

Sauerstoffverbrauch (VO₂ ges) = CO x AvDO₂ (ml · min⁻¹)

Sauerstoffextraktion (Extraktionsrate)(ERO₂) = VO₂/DO₂ (%)

Blutgasanalyse (BGA) arteriell und gemischt-venös:

pH-Wert

Freies Hämoglobin (HbF) nach 5 Minuten Zentrifugation im Serum

Gesamtes Hämoglobin (HbT)

Hämatokrit (arteriell im Plasma) nach 5 min Zentrifugation

Sauerstoffpartialdruck (pO₂)

Kohlendioxidpartialdruck (pCO₂)

Sauerstoffsättigung (SpO₂)

Arterieller Sauerstoffgehalt (CaO_2)
Gemischt-venöser Sauerstoffgehalt (Cv-O_2)
Basenüberschuss (BE), Standard-Bicarbonat (SB)
Elektrolyte: Natrium, Kalium, Calcium
Laktat, Glucose

Gewebsoxygenierung (tPO_2):

Messung mit der Licox tPO_2 Sonde im Pankreasgewebe

Rheologie:

Kolloid-osmotischer Druck (KOD)
Plasma-Viskosität (η)

2.9. Therapeutika

HES kam in einer 10% HES-Lösung (HES-steril Fresenius, Bad Homburg) mit einem Substitutionsgrad von 0,5 und einem mittlerem Molekulargewicht von 200.000 zur Anwendung. Halbwertszeit und rheologischen Eigenschaften sind mit denen des HBOC-301 vergleichbar. Die Ausscheidung erfolgt nach ca. 8 Stunden über Urin und Stuhl.

Ringerlösung wurde als handelsübliches Präparat in einer 0,9%igen Lösung verwendet.

HBOC-301 (Hemoglobin-Based-Oxygen-Carrier, Oxyglobin, Biopure®, USA) ist eine ultragereinigte, glutaraldehydpolymerisierte bovine Hämoglobininlösung. Die intravaskuläre Halbwertszeit beträgt ca. 16 Stunden und ist dosisabhängig. Die Herstellung von HBOC-301 erfolgt, indem bovine Erythrozyten lysiert, filtriert und chromatographisch aufgetrennt werden, und das Hämoglobin mit Glutaraldehyd polymerisiert wird. HBOC-301 ist steril und endotoxinfrei.

Zusammensetzung des HBOC-301:

Hämoglobin	$13,0 \pm 1,0 \text{ g} \cdot \text{dl}^{-1}$
Methämoglobin und Oxy-Hb	$< 5\%$
Osmolalität	$293\text{-}307 \text{ mOsm} \cdot \text{kg}^{-1}$
Viskosität	$1,3 \text{ mPa} \cdot \text{s}$
KOD	17 mmHg
pH	$7,6 - 7,9$
Na^+	$145 - 160 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$
K^+	$3,5 - 5,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$
Cl^-	$105 - 120 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$
Ca^{2+}	$0,5 - 1,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$
Endotoxin	$< 0,02 \text{ U} \cdot \text{ml}^{-1}$
P_{50}	38 mmHg
polymerisiertes Hb	$10\% \text{ (MG} > 500.000)$ $8\% \text{ (MG} < 32.000)$
Phospholipid	$< 3 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$

2.10. Datenerfassung

2.10.1. Hämodynamische Parameter

Es wurden die Herzfrequenz und ein EKG zur Überwachung kontinuierlich aufgezeichnet und auf einem Monitor (Marquette, USA) angezeigt.

Der Druck in der Arteria pulmonalis (PAP) wurde mit einem elektromagnetischen Druckaufnehmer (Transducer Cardionova, Medex, USA) verstärkt und auf dem Monitor (Marquette, USA) kontinuierlich angezeigt und aufgezeichnet. Ebenso wurden die Drücke im rechten Vorhof (zentralvenöser Druck: ZVD) und in der Arteria carotis communis (mittlerer-arterieller Druck: MAP) gemessen, angezeigt und aufgezeichnet. Die Temperatur wurde an einem Messfühler am Pulmonaliskatheter aufgenommen. Der pulmonal-kapillärer Wedge Druck (PCWP), auch pulmonal-kapillärer Verschlussdruck genannt, wurde ebenfalls über den Pulmonaliskatheter gemessen.

2.10.2. Herzzeitvolumen und Herzindices

Das Herzzeitvolumen auch Cardiac Output (CO (l/min)) wurde über den Pulmonaliskatheter nach der Thermodilutionsmethode (Oximetrix3 SO₂ Abott, Wiesbaden) gemessen, wobei jeweils mindestens drei Einzelmessungen stattfanden und das Arithmetische Mittel aus diesen Messungen verwendet wurde.

Der Cardiac Index (CI) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$CI = CO / KO \text{ (l/min/m}^2\text{)}$$

Pulmonaler und systemischer Gefäßwiderstand (PVR und SVR) wurden berechnet.

2.10.3. Blutgasanalyse und Sauerstofftransport

Es wurden zu jedem Messzeitpunkt gemischt-venöse Blutproben entnommen und mit dem ABL 725 (Radiometer, Kopenhagen) folgende Parameter bestimmt:

Hämatokrit, Hämoglobin und freies Hämoglobin (zur Überwachung der IHD und der kontrollierten Substitution von Ringerlösung, HES und HBOC-301 je nach zugeordneter Gruppe)

Sauerstoffsättigung, Sauerstoffpartialdruck und Kohlendioxidpartialdruck (zur Überwachung der balancierten Narkose und Anästhesie)

Arterieller Sauerstoffgehalt, als Maß für den spezifischen Sauerstoffgehalt, wurde vom ABL 725 errechnet.

Die arterio-venöse Sauerstoffdifferenz ($avDO_2$ ges) ergibt sich als Differenz von arteriellem und venösem Sauerstoffgehalt ($LexO_2$ art. – $LexO_2$ ven.).

Das Sauerstoffangebot DO_2 ist das Produkt aus Herzzeitvolumen (CO) und arteriellem Sauerstoffgehalt ($LexO_2$ art.).

Der Sauerstoffverbrauch (VO_2) ist das Produkt aus Herzzeitvolumen (CO) und der arterio-venösen Sauerstoffdifferenz ($avDO_2$).

Die Extraktionsrate (ERO_2) ergibt sich als Quotient aus Sauerstoffverbrauch (VO_2 ges) und Sauerstoffangebot (DO_2).

2.10.4. Elektrolyte und Laktat

Die Elektrolyte Natrium, Kalium und Calcium ebenso wie Laktat wurden in mmol/l vom Radiometer ABL 725 (Radiometer, Kopenhagen) bestimmt.

2.10.5. Gewebssauerstoffpartialdruck

Die Messungen des Sauerstoffpartialdruckes im Gewebe des Pankreas erfolgten mit einer polarografischen Messsonde Licox CMP (Licox Medical Systems, GMS, Kiel), indem ein Silikonkatheter über eine Strecke von ca. 2,5 cm oberflächlich in das Gewebe eingebracht wurde, ohne dass Gefäße dabei verletzt wurden. Es wurden dann jeweils 200 Einzelmessungen (über 10 Minuten) zu den Messzeitpunkten erfasst und auf einen angeschlossenen Rechner übertragen. Der Mittelwert dieser Einzelmessungen ging in die Berechnung der Messzeitpunkte ein.

2.10.6. Rheologie

Die Plasmaviskosität (η) wurde über ein Plasmaviskosimeter (mit Kapillarschlauch) Rheomat (Fresenius, Bad Homburg) bestimmt.

Die Viskosität ergab sich aus der Zeit, die ein Plasmabolus bei einem definierten Druck benötigt, um eine genaue Strecke zwischen zwei Messkapillaren zurückzulegen.

Über das Hagen-Poiseuille'sche-Gesetz wurde die dynamische Viskosität (η) (mmPa · s) aus dieser Messzeit bestimmt.

Der Kolloidosmotische Druck (KOD) wurde über das Onkometer BMT 921 (Thoma E Biberbach) im Plasma der arteriellen Blutprobe nach dem Prinzip der Gefrierpunktniedrigung bestimmt.

Das Messprinzip beruht auf der Tatsache, dass Lösungen, z.B. Blut, einen tieferen Gefrierpunkt haben als reine Lösungsmittel. Die Gefrierpunktniedrigung ist demnach proportional zu der Zahl der gelösten Teilchen in der Volumeneinheit.

2.11. Statistische Methoden

Die parametrischen Daten wurden beschrieben mit Hilfe von Mittelwert und Standardabweichung (SD), Ordinaldaten wurden angegeben als Median und Spannweite. Die Untersuchung der Normalverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov Test und Gruppenunterschiede mit dem Kruskal-Wallis Test durchgeführt. Grundlage der Berechnung der statistischen Signifikanz für nicht-normal verteilte Daten war der Mann-Whitney-U Test, die Berechnung der normal verteilte Daten geschah mit dem ungepaarten Student-t-Test. Gruppenunterschiede wurden bei wiederholten Messungen mit einer Varianzanalyse für wiederholte Messungen (ANOVA) untersucht. Bei Gruppen-Effekten, wenn sich keine Interaktion zwischen Zeit und Therapie (time-by-treatment-interaction test) fand, wurde ein paarweiser post-hoc Test (Tukey's HSD) angeschlossen, um Therapieunterschiede mittels Standardfehler (SE) und 95% Konfidenzintervall (KI) der Differenz zu beschreiben. Das Signifikanzniveau war auf $p < 0,05$ festgelegt. Gab es im Verlauf keine Gruppenunterschiede, so wurde, um Inter-Gruppeneffekte zu verschiedenen Zeitpunkten zu beschreiben, der Student-t-Test verwendet. Es wurde dabei kein Signifikanzniveau festgelegt. Gab es eine positive Interaktion zwischen Zeit und Therapie (time-by-treatment-interaction test) wurde zusätzlich die Area under the Curve („Fläche unter der Kurve“, im Folgenden nur noch AUC) berechnet und verglichen mit dem one-way ANOVA und post-hoc Test (Tukey's HSD). Das Signifikanzniveau war dabei wiederum auf $p < 0,05$ festgelegt. Die Berechnung der AUC begann zum Messzeitpunkt 2, direkt vor Therapiebeginn.

3. Resultate

3.1. Hämodynamik

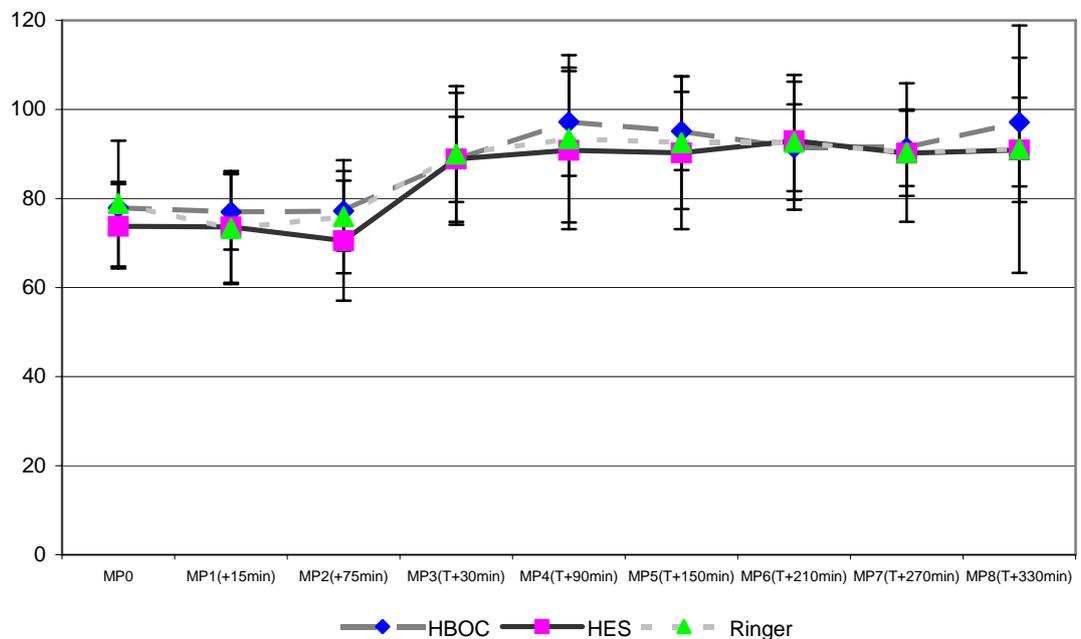
3.1.1. Herzfrequenz

Bei Messung der Herzfrequenz ergaben sich zwischen den einzelnen Gruppen über den Zeitraum der Beobachtung im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA).

Abbildung 2:

Herzfrequenz über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in min^{-1} .



3.1.2. Pulmonal-arterieller Mitteldruck (PAP)

Wiederholte Messungen und deren Varianzanalyse zeigten einen Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie-Interaktion ($p < 0,001$). Um die Veränderungen des PAP im zeitlichen Verlauf und in den drei Gruppen deutlich zu machen, wurde die AUC für die Veränderungen des PAP für jedes Tier einzeln berechnet und zwar mit dem Messzeitpunkt 2 beginnend (Zeitpunkt der computergestützten Randomisierung).

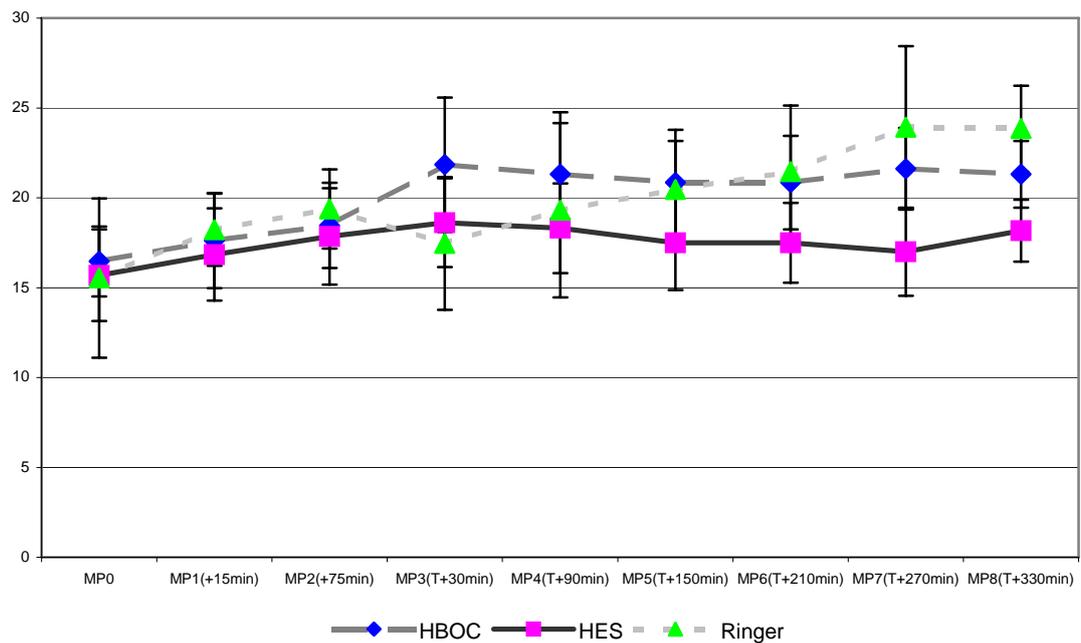
Es fanden sich hier signifikante Unterschiede der AUC zwischen den drei Gruppen von Tieren (ANOVA F-Test, $p=0,001$).

In der sich anschließenden post-hoc Analyse (Tukey's HSD) fanden sich ein erhöhter PAP in der Ringer-Gruppe im Vergleich zur HES-Gruppe (mittlere Differenz 17,3 (SE 5); $p=0,004$). Ebenso bestand ein erhöhter PAP in der HBOC-301-Gruppe in Vergleich zur HES-Gruppe (mittlere Differenz 19,4 (SE 5); one-way ANOVA $p=0,001$). Es ergaben sich allerdings keine signifikanten Unterschiede des PAP zwischen der HBOC-301-Gruppe und der Ringer-Gruppe.

Abbildung 3:

Pulmonal-arterieller Druck (PAP) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in mmHg.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 126,3 (SD 11,5) KI 119,4;133,3

HES-Gruppe: 107 (SD 12,2) KI 99,2;114,7

Ringer-Gruppe: 124,2 (SD 13,4) KI 116,1;132,3

3.1.3. Mittlerer-arterieller Druck (MAP)

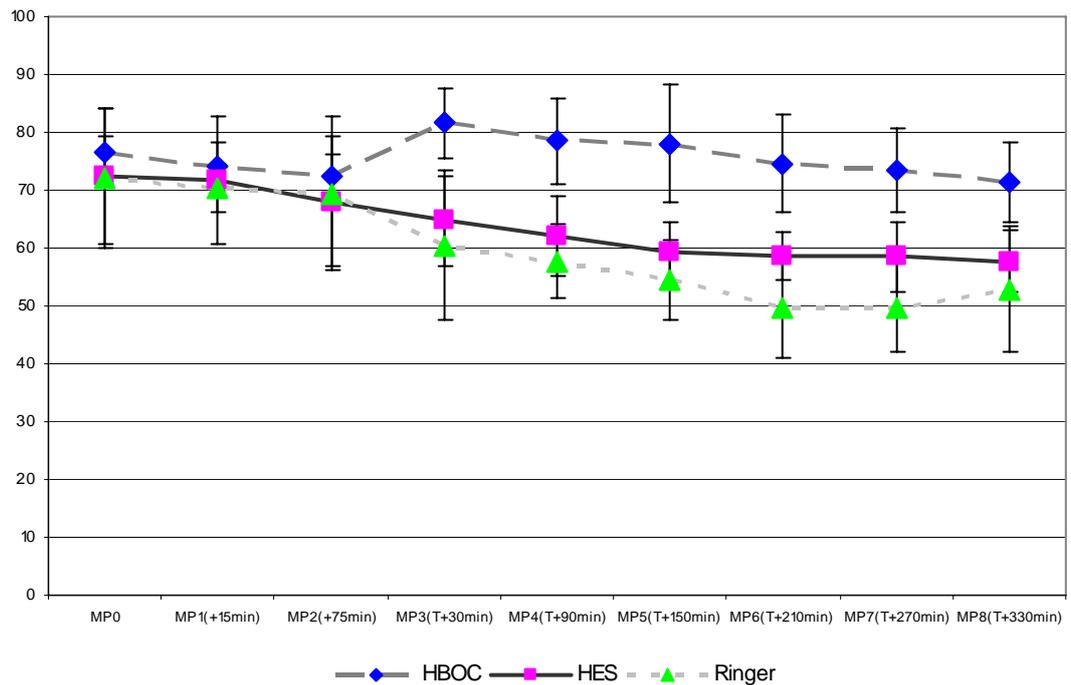
Wiederholte Messungen und deren Varianzanalyse zeigten einen Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie-Interaktion ($p < 0,001$). Um die Veränderungen des MAP im zeitlichen Verlauf und in den drei Gruppen deutlich zu machen, wurde die AUC für die Veränderungen des MAP für jedes Tier einzeln berechnet und zwar mit dem Messzeitpunkt 2 beginnend (Zeitpunkt der computergestützten Randomisierung). Es fanden sich hier signifikante Unterschiede der AUC zwischen den drei Gruppen von Tieren (ANOVA F-Test, $p < 0,001$).

In der sich anschließenden post-hoc Analyse (Tukey's HSD) fanden sich ein erhöhter MAP in der HBOC-301-Gruppe im Verhältnis zur HES-Gruppe (mittlere Differenz 89,4 (SE 16,3); $p < 0,001$) und auch zur Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 124,9 (SE 15,9); one-way ANOVA $p < 0,001$). Im Vergleich zwischen der Ringer-Gruppe und der HES-Gruppe fand sich kein signifikanter Unterschied.

Abbildung 4:

Mittlerer-arterieller Druck (MAP) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in mmHg.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 458 (SD 38,3) KI 434,8;481,2

HES-Gruppe: 368,6 (SD 34,8) KI 346,4;390,7

Ringer-Gruppe: 333,1 (SD 47,2) KI 304,5;361,6

3.1.4. Zentralvenöser Druck (ZVD)

Der zentralvenöse Druck (ZVD) galt ebenso als Maß für die Isovolämie und wurde bei 6-10 mmHg konstant gehalten.

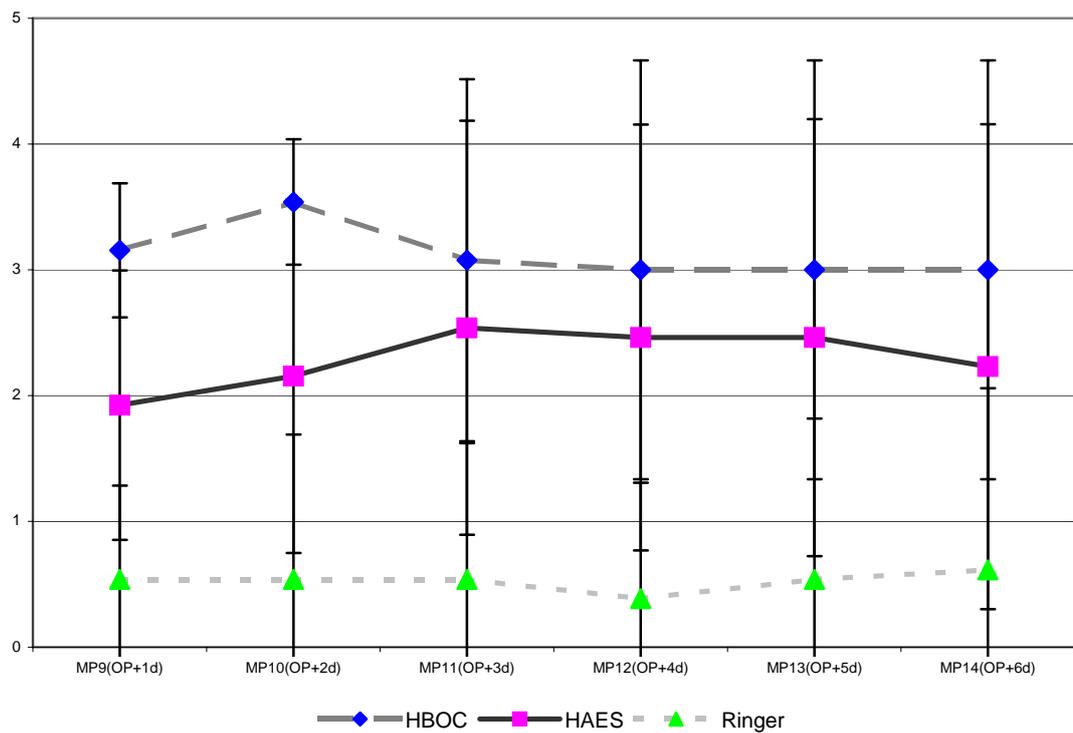
3.1.5. Cardiac Output (CO)

Bei Messung des Cardiac Output ergaben sich zwischen den einzelnen Gruppen über den Zeitraum der Beobachtung im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA).

Abbildung 5:

Cardiac Output (CO) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in $l \cdot \text{min}^{-1}$.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 26,1 (SD 2,6) KI 24,8; 27,4

HES-Gruppe: 30,8 (SD 6,7) KI 26,0; 34,5

Ringer-Gruppe: 26,1 (SD 5,6) KI 22,6; 29,6

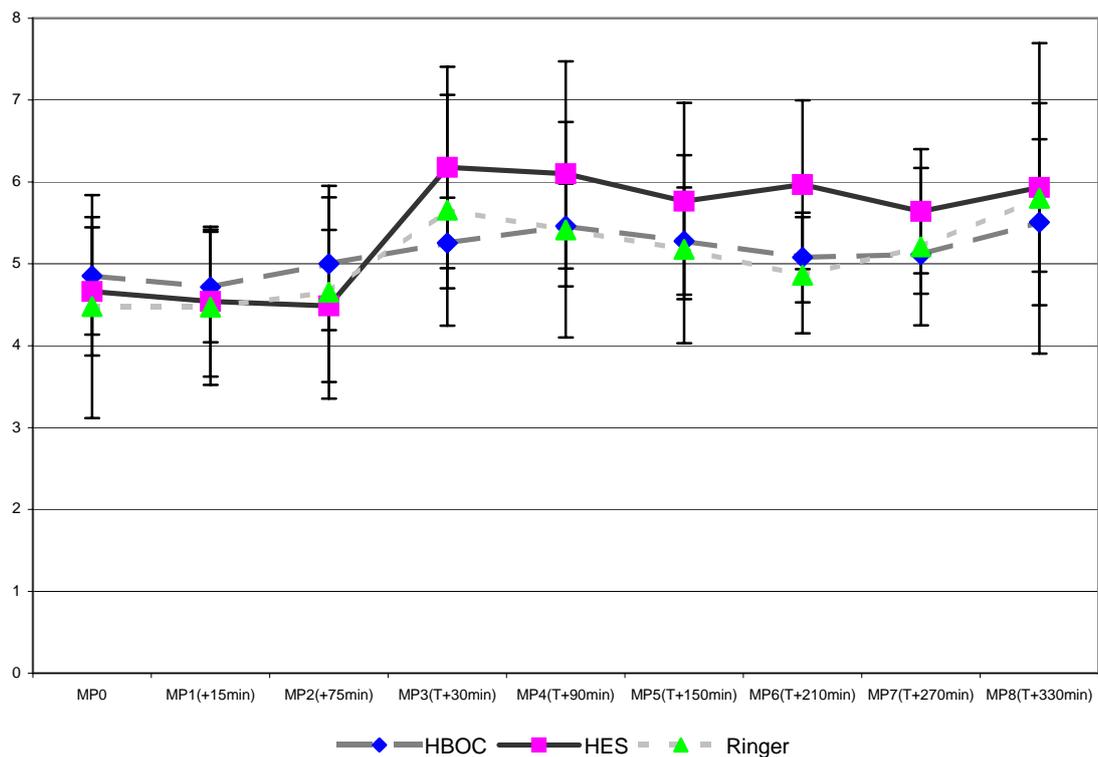
3.1.6. Cardiac Index (CI)

Bei Messungen des Cardiac Index ergaben sich zwischen den einzelnen Gruppen über den Zeitraum der Beobachtung im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA).

Abbildung 6:

Cardiac Index (CI) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in $l \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 31,4 (SD 2,3) KI 30,1; 32,8

HES-Gruppe: 39,6 (SD 18,9) KI 27,6; 51,6

Ringer-Gruppe: 31,5 (SD 5,7) KI 28,1; 35,0

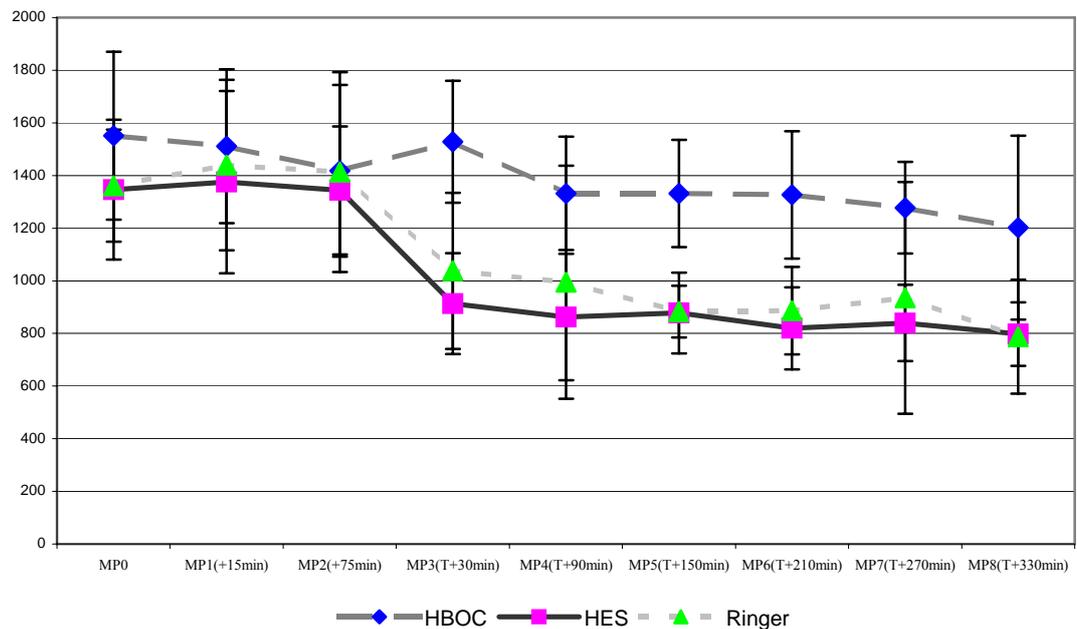
3.1.7. Systemischer Gefäßwiderstand (SVR)

Wiederholte Messungen und deren Varianzanalyse zeigten einen Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p = 0,001$). Um auch hier die Veränderungen des systemischen Gefäßwiderstands im zeitlichen Verlauf und in den drei Gruppen deutlich zu machen, wurde die AUC für die Veränderungen des SVR für jedes Tier einzeln berechnet, mit dem Messzeitpunkt 2 beginnend (Zeitpunkt der computergestützten Randomisierung). Es fanden sich hier signifikante Unterschiede der AUC zwischen den drei Gruppen von Tieren (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). In der sich anschließenden post-hoc Analyse (Tukey's HSD) fanden sich ein erhöhter SVR in der HBOC-301-Gruppe im Verhältnis zur HES-Gruppe (mittlere Differenz 2651,8 (SE 451,3); $p < 0,001$) und auch zur Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 2268,5 (SE 442,2); one-way ANOVA $p < 0,001$). Im Vergleich zwischen der Ringer-Gruppe und der HES-Gruppe fand sich kein signifikanter Unterschied.

Abbildung 7:

Systemischer Gefäßwiderstand (SVR) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in $\text{Dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5}$.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 8105,7 (SD 1047,9) KI 7472,5;8738,9

HES-Gruppe: 5454 (SD 912,2) KI 4874,4;6033,5

Ringer-Gruppe: 5837,2 (SD 1358,8) KI 5016,1;6658,4

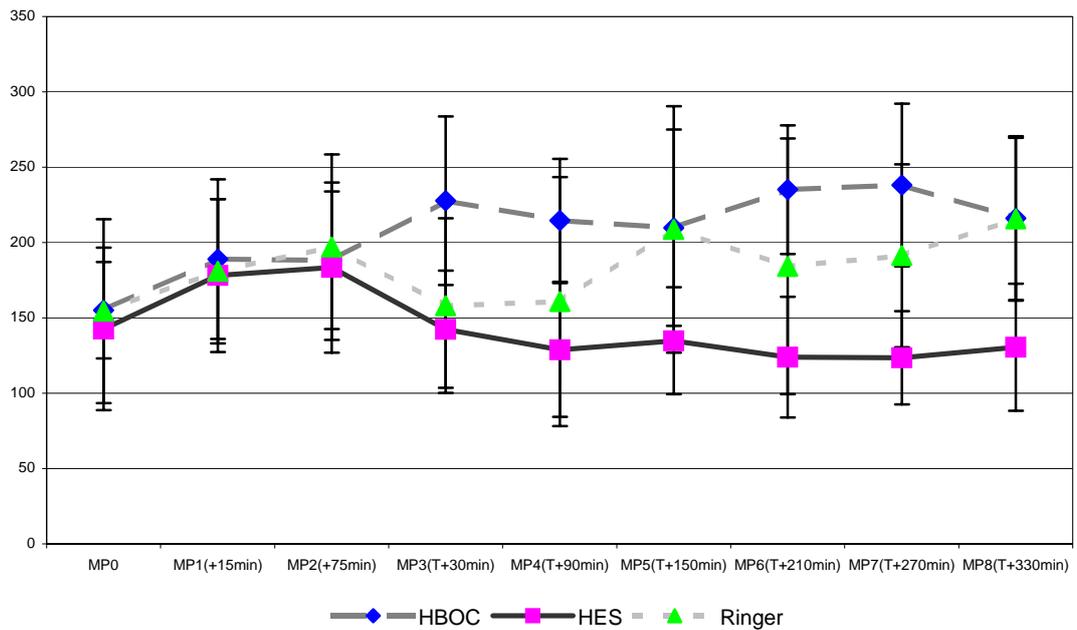
3.1.8. Pulmonaler Gefäßwiderstand (PVR)

Wiederholte Messungen und deren Varianzanalyse zeigten einen Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$). Um die Veränderungen des pulmonalen Gefäßwiderstands im zeitlichen Verlauf und in den drei Gruppen deutlich zu machen, wurde die AUC für die Veränderungen des PVR für jedes Tier einzeln berechnet, mit dem Messzeitpunkt 2 beginnend (Zeitpunkt der computergestützten Randomisierung). Es fanden sich hier signifikante Unterschiede der AUC zwischen den drei Gruppen von Tieren (ANOVA F-Test, $p = 0,001$). In der sich anschließenden post-hoc Analyse (Tukey's HSD) fanden sich ein erhöhter PVR in der HBOC-301-Gruppe im Verhältnis zur HES-Gruppe (mittlere Differenz 513 (SE 107); one-way ANOVA $p = 0,001$). In der Ringer-Gruppe fand sich im Vergleich mit der HES-Gruppe ein ebenso erhöhter PVR (mittlere Differenz 295 (SE 107); $p = 0,025$). Im Vergleich zwischen der HBOC-301-Gruppe und der Ringer-Gruppe fand sich kein signifikanter Unterschied.

Abbildung 8:

Pulmonaler Gefäßwiderstand (PVR) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in $\text{Dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5}$.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 1327,5 (SD 211,8) KI 1199,5; 1455,5

HES-Gruppe: 814,0 (SD 187,8) KI 694,7; 933,3

Ringer-Gruppe: 1109,5 (SD 366,1) KI 888 3; 1330,7

3.1.9. Sauerstofftransport

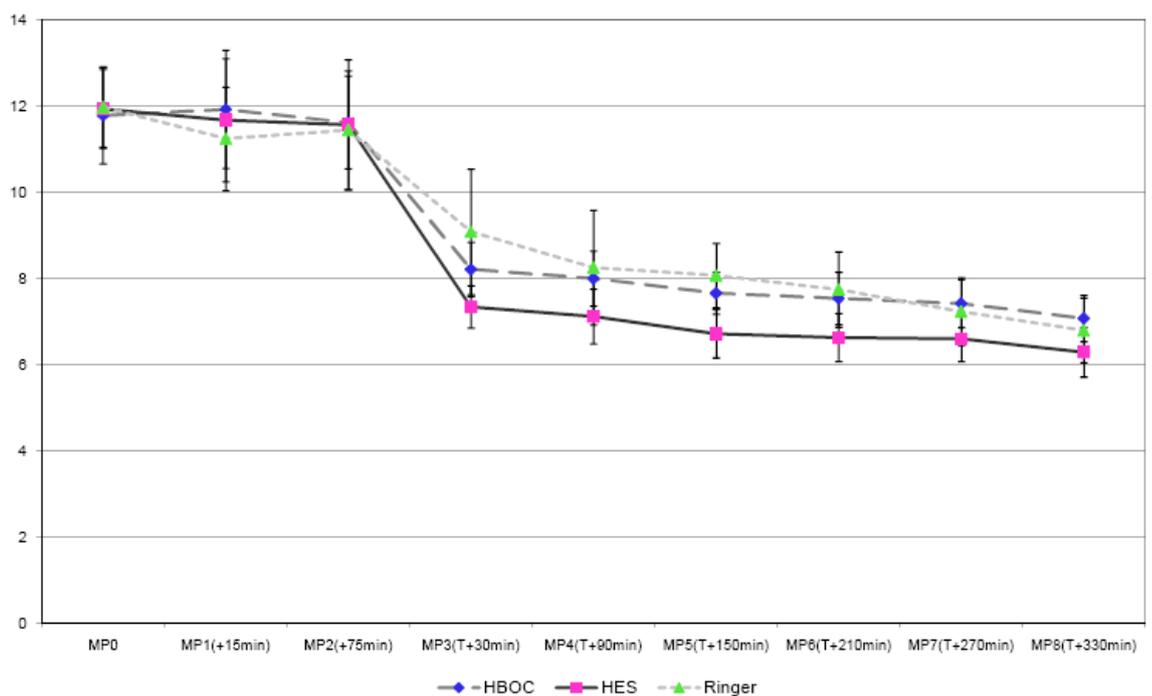
Arterieller Sauerstoffgehalt (CaO₂)

Bei Messungen des arteriellen Sauerstoffgehalts ergab sich zwischen den einzelnen Gruppen über den Zeitraum der Beobachtung im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA).

Abbildung 9:

Arterieller Sauerstoffgehalt (CaO₂) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in ml · dl⁻¹.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 48,1 (SD 3,7) KI 46,5; 50,1

HES-Gruppe: 43,6 (SD 2,5) KI 42,0; 45,2

Ringer-Gruppe: 49,5 (SD 4,8) KI 46,6; 52,4

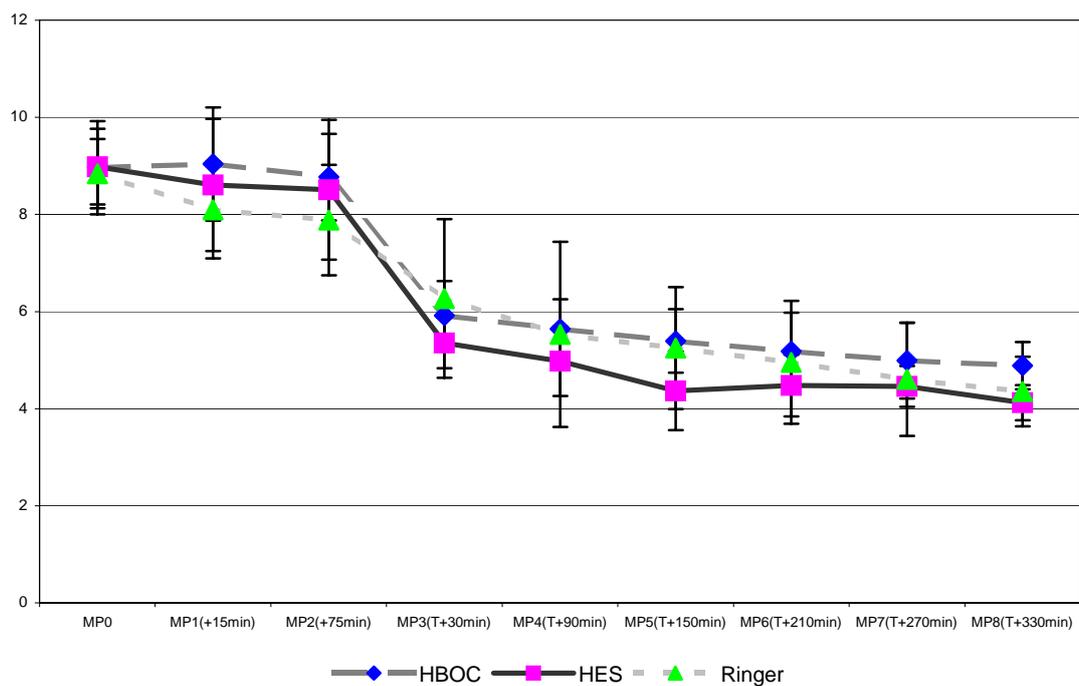
Gemischt-venöser Sauerstoffgehalt (CvO₂)

Bei Messungen des gemischt-venösen Sauerstoffgehalts ergab sich zwischen den einzelnen Gruppen über den Zeitraum der Beobachtung im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA).

Abbildung 10:

Gemischt-venöser Sauerstoffgehalt (CvO₂) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in ml · dl⁻¹.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 33,9 (SD 3,5) KI 31,9; 36,0

HES-Gruppe: 30,5 (SD 2,0) KI 29,2; 31,8

Ringer-Gruppe: 32,7 (SD 7,3) KI 28,3; 37,1

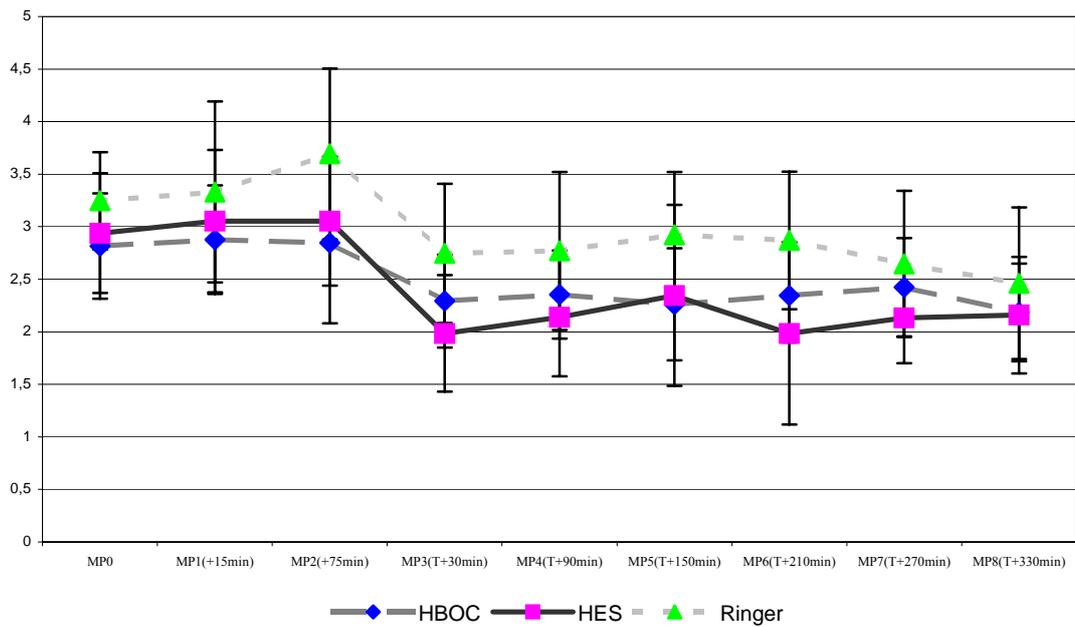
Arterio-venöse Sauerstoffdifferenz (avDO₂)

Durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen konnte für die avDO₂ ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$) aufgezeigt werden (Abb. 3.12.). Daher wurde für jedes Tier die Berechnung der Fläche unter der Kurve (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP2) beginnend) angeschlossen. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). Die folgende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte eine erhöhte avDO₂ in der Ringer-Gruppe im Verhältnis zur HBOC-301-Gruppe (mittlere Differenz 5,25 (SE 1,3)) und zur HES-Gruppe (mittlere Differenz 6,3 (SE 1,4); one-way ANOVA $p < 0,001$). Zwischen der HBOC-301- und der HES-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Abbildung 11:

Arterio-venöse Sauerstoffdifferenz (avDO₂) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in ml · dl⁻¹.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 14,2 (SD 1,9) KI 13,0; 15,4

HES-Gruppe: 13,1 (SD 3,0) KI 11,3; 15,1

Ringer-Gruppe: 17,0 (SD 3,4) KI 14,9; 19,1

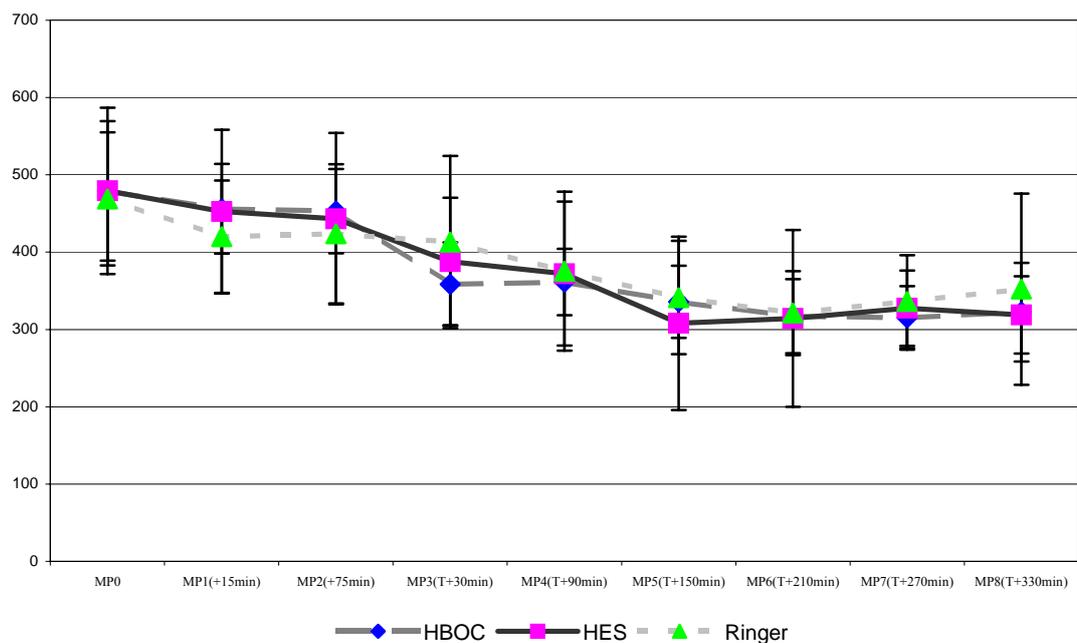
Sauerstoffangebot (DO₂)

Bei Messungen des Sauerstoffangebots ergab sich zwischen den einzelnen Gruppen über den Zeitraum der Beobachtung im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA).

Abbildung 12:

Sauerstoffangebot (DO₂) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in ml · min⁻¹.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 2075,5 (SD 220,9) KI 1941,9; 2209,1

HES-Gruppe: 2152,9 (SD 406,9) KI 1894,4; 2411,5

Ringer-Gruppe: 2174,7 (SD 424,0) KI 1918,5; 2430,9

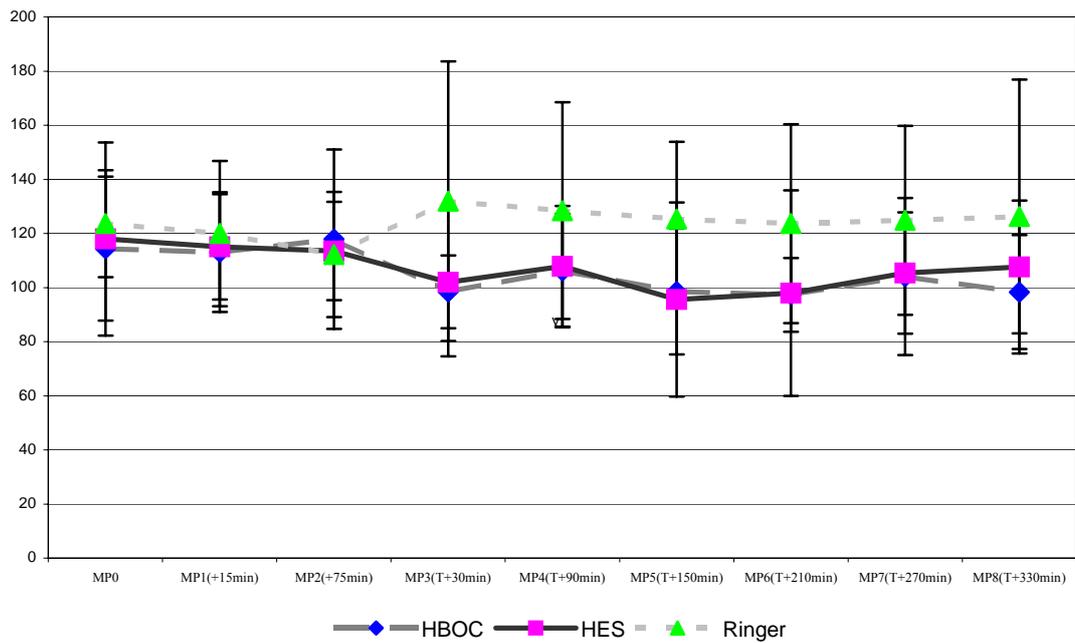
Sauerstoffverbrauch (VO₂)

Durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen konnte für die VO₂ ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,005$) aufgezeigt werden (Abb. 3.14.). Daher wurde für jedes Tier die Berechnung der Fläche unter der Kurve (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP2) beginnend) angeschlossen. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,05$). Die folgende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte eine erhöhte VO₂ in der Ringer-Gruppe im Verhältnis zur HBOC-301-Gruppe (mittlere Differenz 140 (SE 53,4) one-way ANOVA $p < 0,033$). Der Unterschied zwischen der Ringer- und der HES-Gruppe war ebenso wie zwischen der HBOC-301- und der HES-Gruppe nicht signifikant.

Abbildung 13:

Sauerstoffverbrauch (VO_2) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in $ml \cdot min^{-1}$.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 612,7 (SD 86,9) KI 560,2; 665,3

HES-Gruppe: 630,2 (SD 105,3) KI 563,3; 697,1

Ringer-Gruppe: 753,3 (SD 190,9) KI 637,9; 868,9

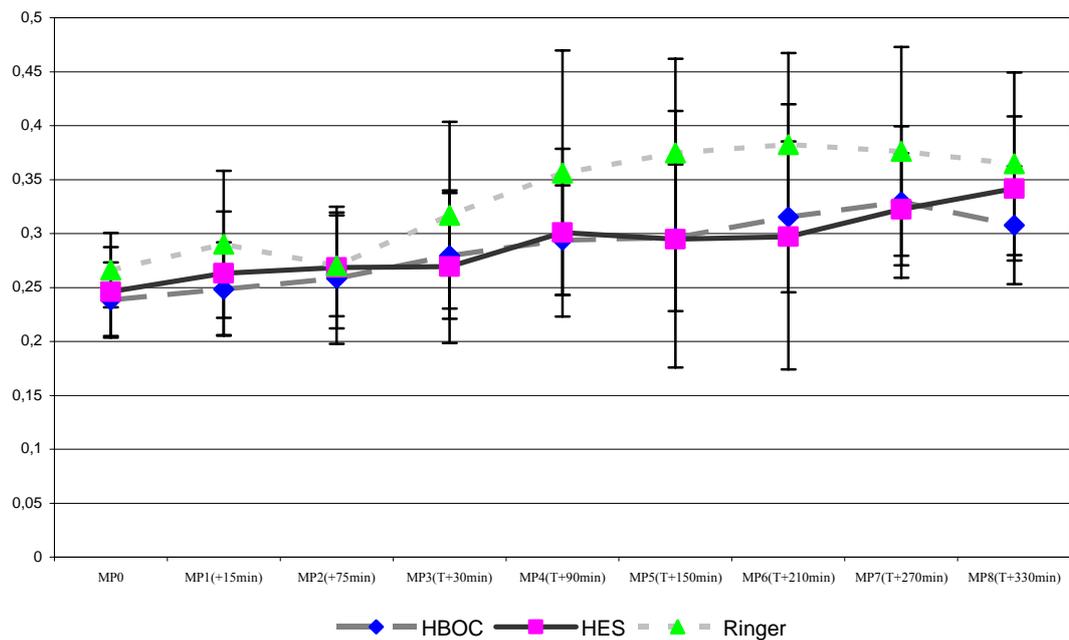
Sauerstoffextraktion (ERO₂)

Durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen konnte für die ERO₂ ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p=0,016$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p<0,05$) aufgezeigt werden (Abb. 3.15.). Daher wurde für jedes Tier die Berechnung der Fläche unter der Kurve (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP2) beginnend) angeschlossen. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p<0,05$). Die folgende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte eine erhöhte ERO₂ in der Ringer-Gruppe im Verhältnis zur HBOC-301-Gruppe und zur HES-Gruppe (one-way ANOVA $p=0,021$ bzw. $p=0,043$). Zwischen der HBOC-301- und der HES-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Abbildung 14:

Sauerstoffextraktion (ERO_2) über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben als Quotient.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 1,8 (SD 0,25) KI 1,6; 1,9

HES-Gruppe: 1,8 (SD 0,35) KI 1,5; 2,0

Ringer-Gruppe: 2,1 (SD 0,45) KI 1,8; 2,4

3.2. Elektrolyte und Laktat

Bei der Messung der Elektrolyte Natrium, Kalium und Calcium ergaben sich zwischen den einzelnen Gruppen über den Zeitraum der Beobachtung im Mittel keine signifikanten Unterschiede (repeated measurements ANOVA).

3.3. Gewebssauerstoffpartialdruck (tPO₂) des Pankreas

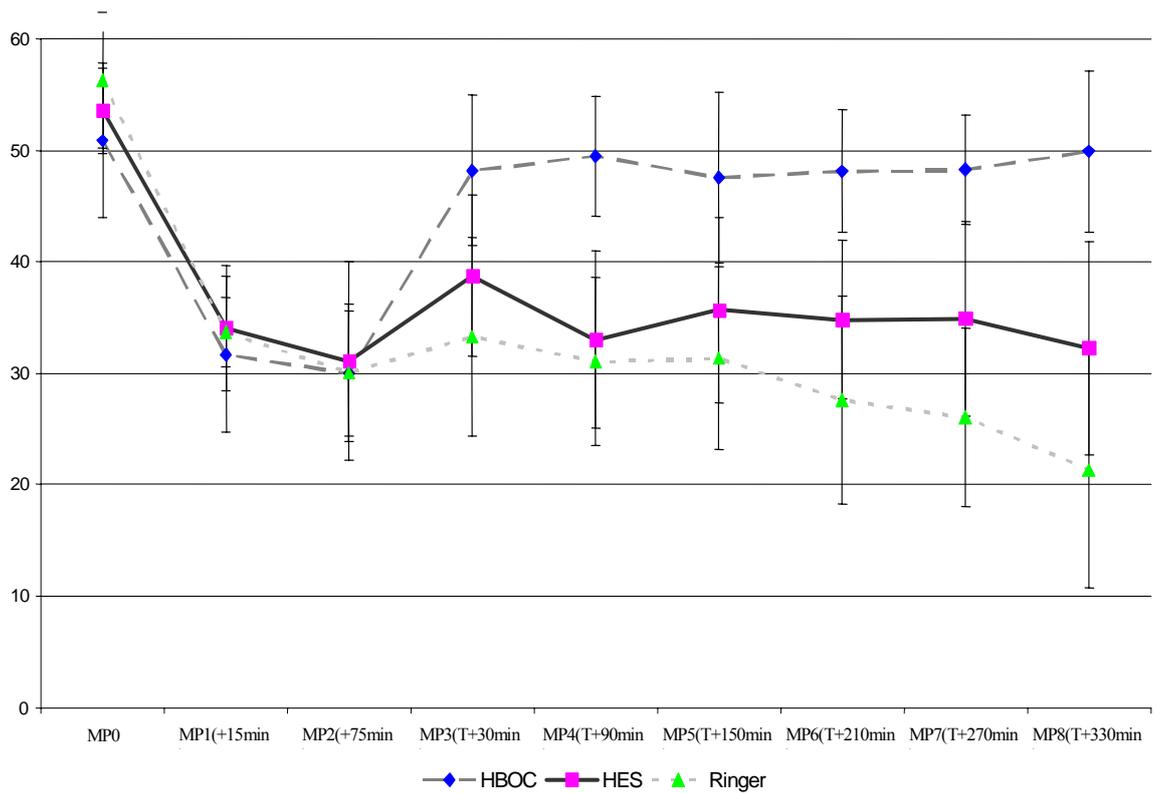
Wiederholte Messungen und deren Varianzanalyse zeigten bei der Messung des tPO₂ einen Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$). Um die Veränderungen des tPO₂ im zeitlichen Verlauf und in den drei Gruppen deutlich zu machen, wurde die AUC für die Veränderungen des tPO₂ für jedes Tier einzeln berechnet und zwar mit dem Messzeitpunkt 2 beginnend (Zeitpunkt der computergestützten Randomisierung).

Es fanden sich signifikante Unterschiede der AUC zwischen den drei Gruppen von Tieren (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). In der sich anschließenden post-hoc Analyse (Tukey's HSD) fand sich ein besserer tPO₂ in der HBOC-301-Gruppe im Vergleich zur HES-Gruppe (mittlere Differenz 76,7 (SE 15,9); $p < 0,001$). Ebenso bestand ein besserer tPO₂ in der HBOC-301-Gruppe in Vergleich zur Ringer-Gruppe (mittlere Differenz 102,6 (SE 16,4); one-way ANOVA $p < 0,001$). Es ergaben sich allerdings keine signifikanten Unterschiede des tPO₂ zwischen der HES-Gruppe und der Ringer-Gruppe.

Abbildung 15:

Gewebssauerstoffpartialdruck (tPO₂) des Pankreas über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in mmHg.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 281,7 (SD 29,2) KI 264;299,3

HES-Gruppe: 204,9 (SD 37,6) KI 179,7;230,2

Ringer-Gruppe: 179,1 (SD 50) KI 143,3;214,8

3.4. Rheologie

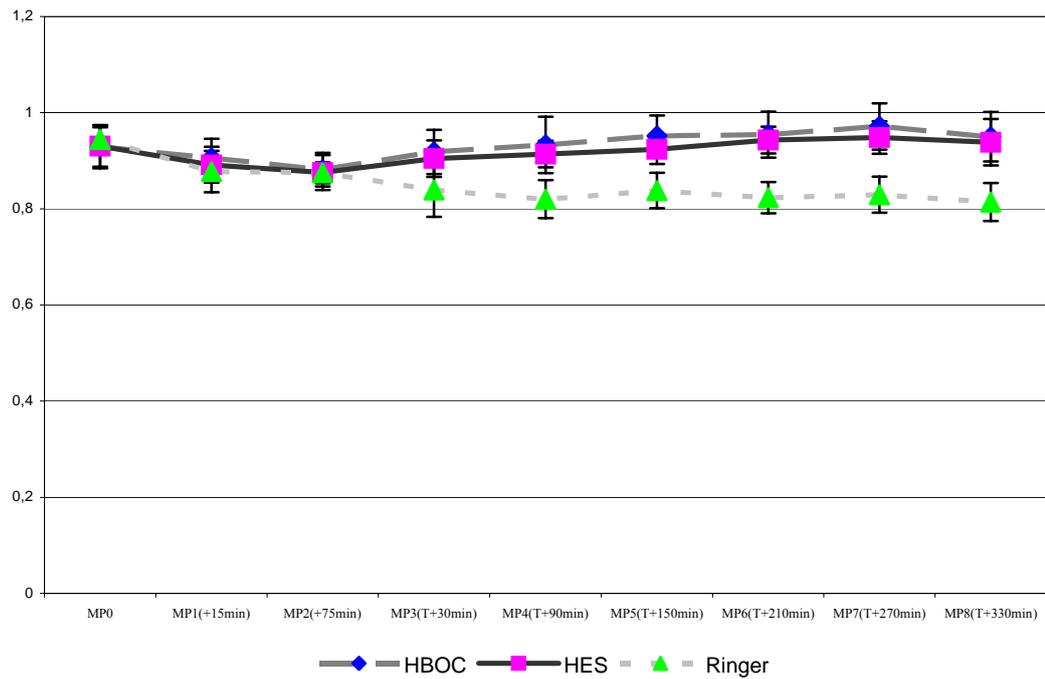
3.4.1. Plasmaviskosität

Durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen konnte für die Viskosität des Plasmas ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$) aufgezeigt werden (Abb. 3.17.). Daher wurde für jedes Tier die Berechnung der Fläche unter der Kurve (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP2) beginnend) angeschlossen. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). Die folgende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte eine erniedrigte Viskosität in der Ringer-Gruppe im Verhältnis zur HBOC-301- und HES-Gruppe (mittlere Differenz 0,65 (SE 0,08) bzw. 0,55 (SE 0,08); one-way ANOVA $p < 0,001$). Zwischen der HBOC-301- und HES-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Abbildung 16:

Viskosität über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in $\text{mmPa} \cdot \text{s}$.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 5,64 (SD 0,27) KI 5,4; 5,8

HES-Gruppe: 5,5 (SD 0,15) KI 5,4; 5,6

Ringer-Gruppe: 4,99 (SD 0,21) KI 4,8; 5,1

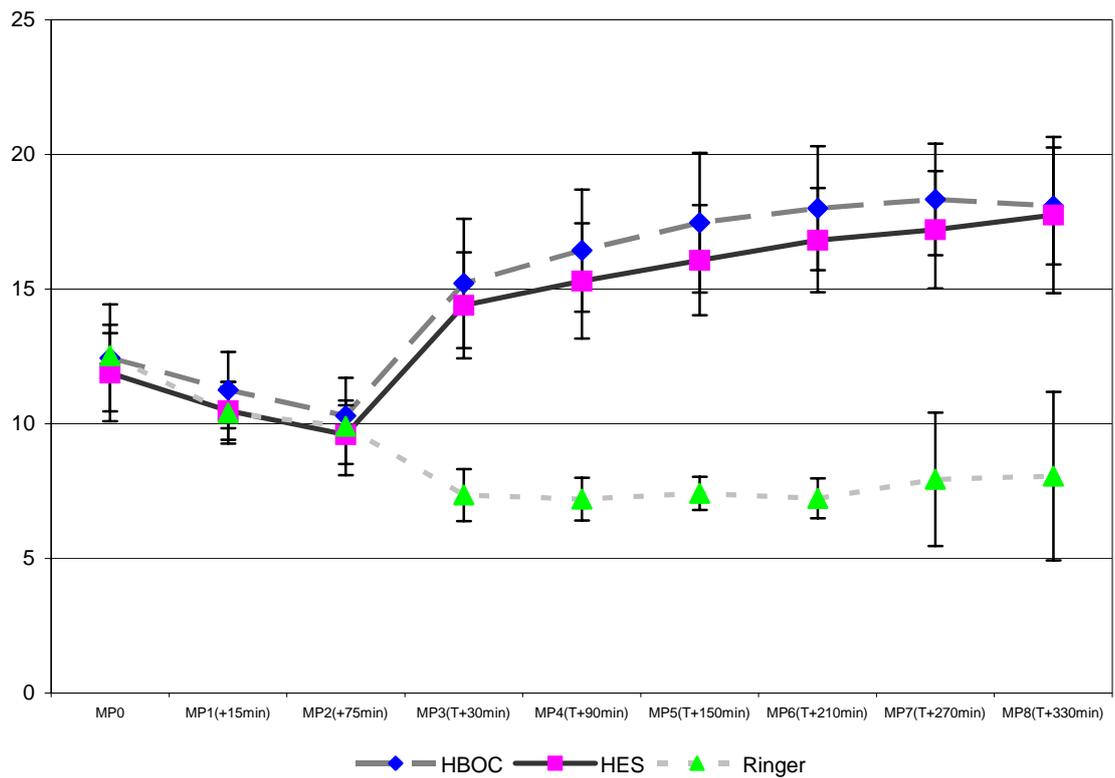
3.4.2. Kolloidosmotischer Druck (KOD)

Für den KOD konnte durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen ein Gruppeneffekt (repeated measurements ANOVA $p < 0,001$) und eine Zeit-Therapie Interaktion ($p < 0,001$) aufgezeigt werden (Abb. 3.18.). Daher wurde für jedes Tier die Berechnung der Fläche unter der Kurve (mit dem Zeitpunkt der Randomisierung (MP2) beginnend) angeschlossen. Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (ANOVA F-Test, $p < 0,001$). Die folgende post-hoc Analyse (Tukey's HSD) zeigte einen erniedrigten KOD in der Ringer-Gruppe im Verhältnis zur HBOC-301- und HES-Gruppe (mittlere Differenz 54,3 (SE 4) bzw. 48 (SE 4); one-way ANOVA $p < 0,001$). Zwischen der HBOC-301- und HES-Gruppe ergaben sich auch beim KOD keine signifikanten Unterschiede.

Abbildung 17:

Kolloidosmotischer Druck über den Beobachtungszeitraum.

MP0: vor Induktion der akuten Pankreatitis, MP1 und 2: nach Induktion der Pankreatitis, MP3-8: 30 Minuten bis 5 Stunden und 30 Minuten nach Therapie, Mittelwerte und SD, Angaben in mmHg.



Fläche unter der Kurve:

HBOC-301-Gruppe: 99,6 (SD 12,0) KI 92,3; 106,9

HES-Gruppe: 94,2 (SD 11,3) KI 87,0; 101,4

Ringer-Gruppe: 45,3 (SD 4,6) KI 42,3; 48,2

3.5. Überleben

In der Ringer-Gruppe überlebten lediglich 2 Tiere den gesamten Beobachtungszeitraum. 8 Tiere verstarben direkt während oder nach der Intervention am Operationstag. 2 Tiere verstarben am 1. postoperativen Tag während ein Tier bis zum 3. postoperativen Tag überlebte.

In der HES-Gruppe überlebten 8 Tiere den gesamten Beobachtungszeitraum. Es verstarben 2 Tiere noch am Versuchstag während jeweils 1 Tier an den Tagen 1, 3 und 5 nach der Intervention starb.

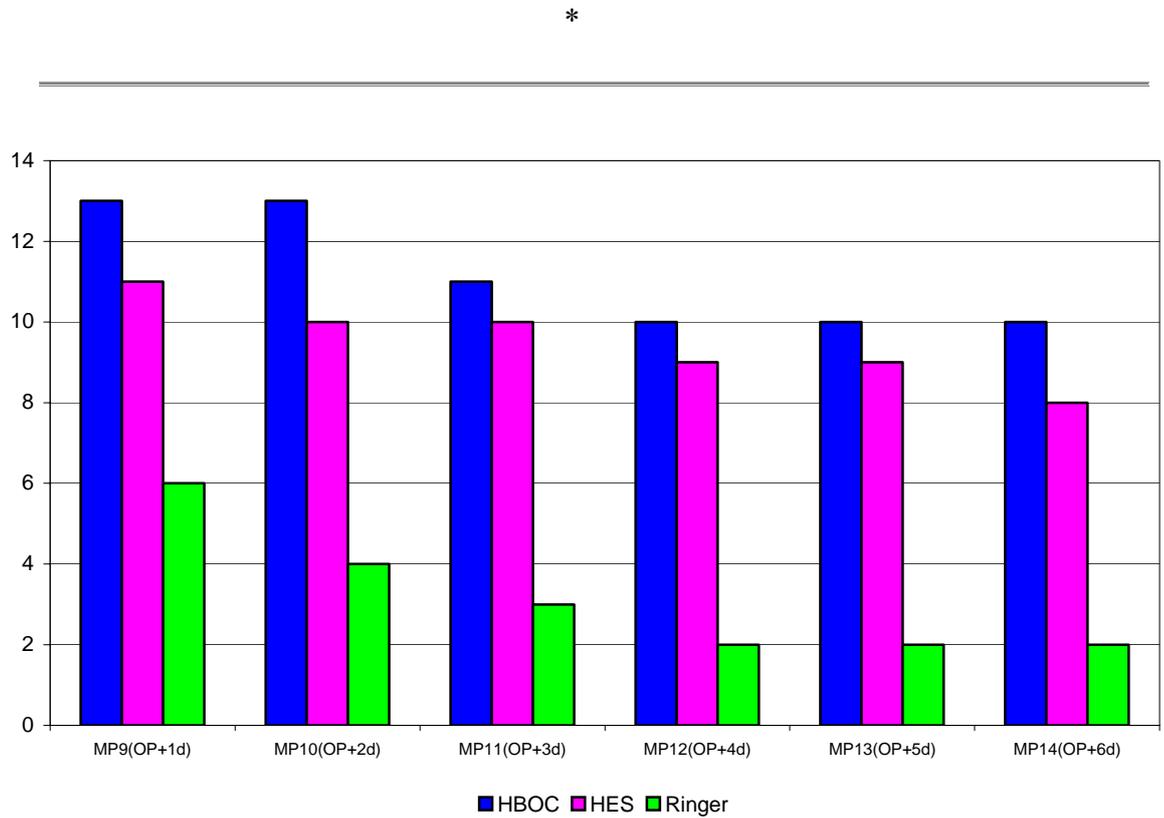
In der HBOC-301-Gruppe überlebten 10 Tiere den gesamten Beobachtungszeitraum. Es verstarben nur 3 Tiere am 3. postoperativen Tag.

Die Tiere der HBOC-301-Gruppe überlebten somit im Mittel 130 Stunden (SD 32; KI 110; 150) nach Induktion der Pankreatitis. Die Tiere der HES-Gruppe überlebten im Mittel 110 Stunden (SD 57; KI 75-144) während die Tiere der Ringer-Gruppe lediglich 45 Stunden im Mittel überlebten (SD 51; KI 14-76).

Die Unterschiede im Überleben zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen ($p < 0,001$; one-way ANOVA). Zwischen der HBOC-301- und der Ringer-Gruppe zeigte die anschließende post-hoc Analyse einen signifikanten mittleren Unterschied von 85 Stunden (SE 19; KI 39; 131; $p < 0,001$). Der Unterschied zwischen der HBOC-301-Gruppe und der HES-Gruppe war im Mittel bei 20 Stunden (SE 19; KI -25; 66; $p = 0,523$). Zwischen den Tieren der HES- und der Ringer-Gruppe fand sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied, der allerdings nicht ausgeprägt war. Hier betrug der Unterschied im Mittel 64 Stunden (SE 19; KI 19-110; $p = 0,004$).

Abbildung 18:

Überleben über den postoperativen Beobachtungszeitraum. MP9-14: Tag 1 bis 6 nach Induktion der Pankreatitis, Angaben in Anzahl der überlebenden Tiere.



* $p < 0,05$ signifikant für HES- und HBOC-301-Gruppe versus Ringer-Gruppe

4. Diskussion

Diese Versuchsreihen hatten das Ziel eine Verbesserung der pankreatischen Gewebssauerstoffversorgung und eine stabile Kreislaufelage der Versuchstiere zu erreichen, um letztendlich einen Überlebensvorteil zu sichern.

Der sogenannte Ranson-Score versucht die Schwere der Erkrankung einzuschätzen [100]. Fünf Kriterien, das Auftreten von blutigem Aszites und einem paralytischen Ileus, ein Hämatokrit unter 45%, ein Ranson-Score größer als 5 oder ein CT-Balthasar-Score größer 7 sind prognostisch ungünstige Zeichen bei der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis [157].

Randomisierte, klinische Studien durchzuführen scheitert oft an der doch geringen Inzidenz der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis. Um Therapiestrategien zu erforschen, wurden in den letzten Jahren zahlreiche Modelle an Tieren entwickelt, welche die Pathologie der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis beim Menschen nachahmen und so die forschende Tätigkeit erleichtern.

Bei Forschungsprojekten zur Behandlung der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis haben sich einige Arbeitsgruppen mit rheologischen Untersuchungen beschäftigt [74,79,129,145].

Die Rheologie des Blutes spielt bei der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis eine wichtige Rolle. Erst durch die schlechte Perfusion des Organs bei Hypovolämie oder bei der Mikrozirkulationsstörung im Rahmen einer Inflammation kann es zu einer ausgedehnten Nekrotisierung kommen, die in der Folge ein entscheidender Faktor für die Schwere der Erkrankung und die potentiell folgenden Komplikationen ist.

Die Arbeitsgruppe um Bassi folgerte, dass eine verbesserte Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes den Gewebeschaden im Pankreas begrenzen kann [15]. Ebenso konnte in eine klinische Phase 1-Studie gezeigt werden, dass die alkoholinduzierte Pankreatitis bei daran erkrankten Patienten durch die IHD

einen weniger schweren Verlauf nahm [73]. Es ist demnach belegt, dass die IHD eine zusätzlich positive Wirkung bei der akuten Pankreatitis hat [74,75].

Neben der Perfusion ist im entzündeten Gewebe allerdings auch die Sauerstoffversorgung erschwert. Eine unter diesem Aspekt interessante Substanzgruppe sind hämoglobinhaltige Lösungen, wie HBOC-301, die sowohl rheologische Eigenschaften haben, als auch Sauerstoff effektiver an erkranktes Gewebe abgeben können. Außerdem kommt es zu einer Verbesserung der pankreatischen Mikrozirkulation trotz bekannter vasokonstriktorischer Eigenschaften des bovinen Hämoglobins [61,148]. Das vom Gefäßendothel freigesetzte Stickstoffmonoxyd (NO), welches normalerweise gefäßerweiternd wirkt, kann von Hämoglobinlösungen über die Hämgruppe gebunden werden [3,4,159]. Das NO kann dann seine Wirkung nicht mehr entfalten und es kommt zu einer überschießenden Vasokonstriktion am Gefäß [108]. Weitere mögliche gefäßverengende Effekte von HBOC-Lösungen könnten eine Endothelinabgabe und Modulation von alpha-adrenergen Rezeptoren an den Gefäßmuskeln sein [136,142]. Die Mikrozirkulation wird dabei aber nicht beeinträchtigt [150], was wahrscheinlich die positive Wirkung der HBOC-Lösungen in den vorliegenden Versuchsreihen ausgemacht hat.

Dafür spricht auch eine Studie am Hamster von Sherman et al., die einen erhöhten systemischen Gefäßwiderstand nach Gabe von HBOC im Austausch gegen Blut, dabei aber eine normale Mikrozirkulation in der Leber, fanden [144]. Sielenkamper et al. konnten in einem Sepsismodell an Ratten die mukosale Mikroperfusion des Ileums durch HBOC (bzw. diaspirin cross-linked hemoglobin=DCLHb) verbessern [146]. In einem Tierexperiment mit Schafen konnten Bone et al. die Herzkreislaufleistung im septischen Schock stabilisieren, indem sie Hämoglobinlösungen infundierten [25,26]. In der klinischen Anwendung konnten Reah et al. bei 14 Patienten mit septischem Schock die Hämodynamik durch Verabreichung von 100-500 ml DCLHb stabilisieren. Ebenso gelang es dabei den Bedarf an Katecholaminen nach 1,5 Stunden auf die Hälfte bzw. auf ein Viertel nach 7,5 Stunden zu senken. Die Arbeitsgruppe folgerte, dass die Überproduktion von NO bei septischen Patienten durch die NO-bindene Wirkung der Hämoglobinlösung aufgefangen wurde [120]. Sharma et al. wiesen nach, dass DCLHb in einer Dosierung von 400 mg/kg KG i.v. bei

Ratten den systemischen Gefäßwiderstand erhöhte, aber den Gefäßwiderstand im Intestinum nicht ungünstig beeinflusste. Im Gegenteil erhöhte sich die Perfusion des Magen-Darmgebiets noch [142]. Ähnliches gelang Driessen et al., die bei Hunden die Perfusion im Magen-Darmgebiet auch im Schock aufrechterhalten konnten, obwohl der systemische Gefäßwiderstand anstieg [40].

4.1. Methodenkritik

4.1.1. Therapieverfahren und verwendete Substanzen

In dieser Versuchsreihe wurde die therapeutische Wirksamkeit der isolierten isovolämischen Hämodilution (IHD) in Kombination mit HBOC-301 mit der IHD in Kombination mit HES, sowie der Kombination IHD und Ringerlösung im Pankreatitismodell mit Schweinen verglichen.

Ziel des Versuches es war die Sauerstoffversorgung des Organs zu regulieren, zu optimieren und die Makrozirkulation sowie die Mikroperfusion im Pankreas aufrecht zu erhalten und somit das Überleben der Versuchstiere zu verbessern.

Die isovolämische Hämodilution (IHD) stellt dabei eine ausgezeichnete Methode dar die Viskosität des Blutes auf einen bestimmten Wert zu reduzieren, um die Flusseigenschaften zu verbessern [73,74]

Bei der IHD wurde der Hämatokrit auf 15% gebracht, was einer Reduktion um 45-50% entspricht. In diesem Verfahren wurde Blut in 50 ml Schritten über den implantierten Sheldon-Katheter entnommen und HES dann im gleichen Verhältnis substituiert. Als Maß für die Aufrechterhaltung des Volumens wurde der PCWP auf 8-10 mmHg konstant gehalten. Dies galt in den HBOC-301- und HES-Gruppen, in der Ringer-Gruppe wurde nach Blutentnahme Ringerlösung in drei- bis vierfacher Menge substituiert, auch hier bei konstantem PCWP von 8-10 mmHg. Die Tiere der HBOC-301-Gruppe erhielten nach Abschluss der IHD und Volumengabe Infusionen mit HBOC-301 bis zu einem Anstieg von freiem Hämoglobin im Plasma auf 0,6 g/dl über den gesamten Versuchszeitraum. Der Anstieg des freien Hämoglobins wurde in dreißigminütigen Abständen in

Blutgasanalysen kontrolliert. Nach einer dreißigminütigen Äquilibrationsphase schlossen sich die Messpunkte laut Versuchsprotokoll an.

Zur Verbesserung der Sauerstoffversorgung kam in diesem Versuch der bovine plasmatische Sauerstoffträger HBOC-301 zum Einsatz, weil dieser, bislang allerdings nur in Südafrika, als einziger eine Zulassung für den humanmedizinischen Bereich hat. In der sogenannten HES-Gruppe wurde das Kolloid HES 10% (Hydroxyethylstärke, 200.000 Dalton) mit langer intravasaler Halbwertszeit, ähnlich der des HBOC-301, verwandt. Die letzte Vergleichsgruppe wurde mit Ringerlösung substituiert.

Kolloide sind grundsätzlich in drei Substanzgruppen, als HES, Dextrane und Gelatine, erhältlich. In der vorliegenden Versuchsreihe waren die grundsätzlichen Eigenschaften und insbesondere die klinische Bedeutung dieser drei Gruppen ausschlaggebend für die Wahl des Kolloids.

HES besitzt in der Praxis die größte Bedeutung unter den Kolloiden aufgrund geringer unerwünschter Wirkungen. HES wird aus Wachsmaisstärke hergestellt und hat eine hohe Wasserbindungskapazität. Da es einen höheren kolloidosmotischen Druck als das Blutplasma besitzt, entzieht es dem Gewebe Wasser, welches dann einen intravasalen Volumeneffekt deutlich höher als die zugeführte Menge an HES hat. An Nebenwirkungen sind gelegentlicher Juckreiz [121], anaphylaktische Reaktionen und verstärkte postoperative Nachblutungen bekannt. Dextrane dagegen haben eine Reihe von unerwünschten Nebenwirkungen. Sie führen z.B. durch die unspezifische Verdünnung der plasmatischen und zellulären Gerinnungsfaktoren und auch durch Umhüllung der Thrombozyten und Endothelzellen zu einer verminderten Adhäsions- und Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten. Dies beeinträchtigt die Hämostase im Sinne einer verlängerten Thromboplastinzeit [1]. Daneben sind schwere anaphylaktische Reaktionen [88] beobachtet worden, die zwar durch Haptenprophylaxe verringert werden konnten aber immer noch zu tödlich verlaufenden Zwischenfällen führen [24]. Viele Arbeitsgruppen führten experimentelle Versuchsreihen mit Dextran als Therapeutikum bei akuter Pankreatitis durch [37,39,72,75,90129]. Werner et al. fanden durch einen

Dextran-spezifischen Effekt sogar einen Vorteil in der Anwendung von Dextran im Vergleich mit HES. Die Leukozytenadhärenz war durch Dextrane verringert und die Mikrozirkulation so verbessert [166].

Die schweren Unverträglichkeitsreaktionen und die negative Beeinflussung der plasmatischen und zellulären Gerinnung haben jedoch zu einem starken Rückgang in der generellen klinischen Anwendung der Dextrane geführt [24] und so kam bei dieser Versuchsreihe Dextran nicht zur Anwendung.

Die ersten Hämoglobinlösungen wurden zu Beginn des letzten Jahrhunderts am Menschen getestet [21,140,162]. Alle diese Versuche scheiterten.

Die Lösungen waren mit Phospholipiden und Endotoxinen verunreinigt, was zu Nierenversagen, hämodynamischer Instabilität und Leberschäden führte [11]. Außerdem war kein ausreichendes Verständnis über Hämolyse und aseptisches Arbeiten vorhanden. Erst 1940 entdeckten Landsteiner und Wiener den Rhesus-Faktor, drei Jahrzehnte zuvor waren erstmals das AB0-System und die Isoagglutinine nachgewiesen worden. Dieser Schritt in der Forschung war nötig um ein Verständnis für die Inkompatibilität zwischen verschiedenen Blutgruppen und Antikörpern bei Bluttransfusionen zu schaffen und so den ersten Schritt in Richtung einer modernen Transfusionsmedizin zu machen.

Amberson und Mulder wiesen erstmals 1933 die Wirksamkeit des freien Hämoglobins als Volumenersatz mit Sauerstofftransportfähigkeit nach [5,6,8]. Der erste erfolgreiche Einsatz von bovinem Hämoglobin im Tierexperiment gelang erstmals 1983 [47].

Verschiedenste Hämoglobinlösungen wurden im Verlauf der letzten Jahre im Tierexperiment untersucht [143,161]. Hierbei gab es Probleme mit der Veränderung des kolloidosmotischen Drucks, der Sauerstoffaffinität und Toxizität. Um dem entgegen zu wirken, wurde das Hämoglobin zu Makromolekülen polymerisiert, in Liposomen eingekapselt, oder mit anderen Molekülen konjugiert.

Moderne Hämoglobinlösungen wie die bovine Hämoglobinlösung HBOC-301 haben die Fähigkeit Sauerstoff, unabhängig von Blutgruppen des AB0-, Rhesus-

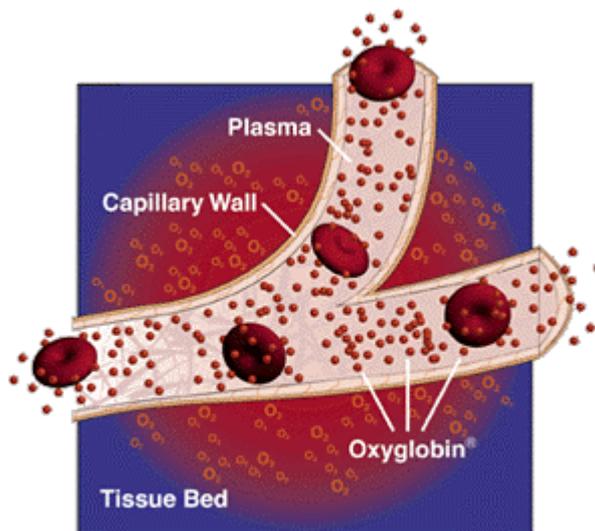
Systems und anderer Untergruppen, zu transportieren, da sie stromafrei sind und somit nahezu keine Blutgruppenantigenität besitzen. Stromafreie Hämoglobinlösungen wiesen in der Vergangenheit Komplikationen, wie eine zu hohe Sauerstoffaffinität, (Nephro-) Toxizität und eine zu kurze intravasale Halbwertszeit auf [7,27,47]. Diese sind mittlerweile durch verschiedene Verfahren, wie Polymerisation zu Makromolekülen, Reinigung und Bindung an z.B. Pyridoxalphosphat nahezu beseitigt.

Diese veränderten Hämoglobinlösungen wurden in heutiger Zeit schon im Tierexperiment mit Erfolg getestet [35,36,59]. Es konnten keine Organschäden festgestellt werden [11,20], allerdings war die Gerinnung beeinträchtigt. Ähnlich wie bei HES verlängerte es die PTT-Zeit.

Bovines Hämoglobin ist in seiner Struktur dem menschlichen sehr ähnlich. Unterschiede bestehen lediglich in der α -Kette, in der 17 Aminosäuren unterschiedlich sind, und in der β -Kette, in der sich 24 Aminosäuren unterscheiden. Auch die Absorptionskurven von humanem und bovinem Hämoglobin sind fast identisch. Hämoglobinlösungen sind z.B. im Gegensatz zu Blutkonserven weniger anspruchsvoll in der Lagerung und haben eine deutlich längere Haltbarkeit. Hämoglobinlösungen werden heutzutage gentechnisch in Bakterien oder transgenetisch in Tieren hergestellt. In der generellen Entwicklung stehen sich zurzeit bovine- und human-rekombinante Hämoglobinlösungen gegenüber.

Durch den plasmatischen Transport des chemisch gebundenen Sauerstoffs schaffen es Hämoglobinlösungen in schlecht perfundierten Bereichen, durch die geringere Größe im Gegensatz zum kompletten Erythrozyten und durch Diffusion, eine Gewebsoxygenierung aufrecht zu erhalten. Das HBOC-301 macht die Sauerstoffabgabe an das Gewebe außerdem durch einen Überbrückungseffekt auch in den von Plasma umspülten Erythrozyten sehr leicht. Hämoglobinlösungen ermöglichen eine geringere Diffusionsstrecke, da die Kapillaren mit dem Hämoglobin homogen ausgefüllt werden [45,91], und somit der Sauerstoff wie über einen Brückeneffekt an das Gewebe abgegeben werden kann [148] (siehe Abbildung 19).

Abbildung 19:



Oxyglobin®, Biopure, USA (= HBOC-301)

Das Hämoglobin in HBOC-301 hat eine polymere Form, humanes Hämoglobin dagegen eine tetramere Form. Messtechnische Probleme bei der Blutgasanalyse können deshalb zu falsch niedrigen Ergebnissen in der O₂-Sättigung führen. Gleichzeitig sind aber arterieller O₂-Gehalt und Partialdruck im Gewebe hoch und der Anteil von CO und Methämoglobin niedrig. Um den Messwert an den tatsächlichen Zustand anzupassen, muss für die klinische Anwendung ein Korrekturfaktor ermittelt werden. In diesen Versuchen konnte dieses bei der Blutgasanalyse berücksichtigt werden.

Die hier verwendete Lösung HBOC-301 verbessert überraschenderweise die Mikrozirkulation, obwohl Hämoglobinlösungen allgemein für eine Hyperaggreabilität und eine gegebenenfalls folgende Leukozytenaktivierung und -Adhärenz bekannt sind [101,102]. Möglicherweise kommt es nicht gleichzeitig zu einer Überexpression von Adhärenzrezeptoren, so dass dieser Effekt abgefangen wird [160].

In klinischen Studien am Menschen beim Einsatz von HBOC-301 konnten keine allergischen Reaktionen festgestellt werden [19]. Allerdings wurden eine Erhöhung des Gewebesauerstoffpartialdrucks und eine Steigerung der Extraktionsrate beobachtet. Das ist erklärbar durch die niedrige Sauerstoffaffinität des bovinen Hämoglobins (p_{50} von 36mmHg vs. 26mmHg) im Vergleich zu zellulärem humanem Hämoglobin.

Beim humanen Hämoglobin kommt es zu einer Affinitätsabnahme, also einer leichteren Abgabe von O_2 an das Gewebe durch eine Erhöhung der H^+ -Ionenkonzentration (also Abnahme des pH-Wertes), Steigerung des CO_2 Partialdrucks oder der Temperatur, oder durch Zunahme der Konzentration von 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG).

Bei bovinem Hämoglobin wird die O_2 -Affinität, anders als bei humanem Hämoglobin, insbesondere durch die Konzentration an Chloridionen reguliert und nur in geringem Umfang durch 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) [116].

Auch bei einer Anämie bzw. bei 2,3-DPG-Mangel ist somit die ausreichende Gewebsoxygenierung bei Gabe von bovinem HBOC-301 möglich, da Chloridionen immer vorhanden sind. Zusätzlich bewirkt HBOC-301 einen starken Haldane- und Bohr-Effekt im azidotischen Gewebe, so dass die Gewebeoxygenierung im Vergleich zum humanen Hämoglobin deutlich verbessert ist [150]. Die Sauerstoffdissoziationskurve des HBOC-301 ist im Gegensatz zu der menschlichen Hämoglobins nach rechts verschoben, was sich im entzündeten Gewebe als Vorteil herausstellt, da hierdurch leichter Sauerstoff an das Gewebe abgegeben werden kann. In einem Stenosemodell an Hunden konnte nachgewiesen werden, dass die Sauerstoffversorgung des minderdurchbluteten Gewebes am Skelettmuskel und am Herzmuskel durch IHD und zusätzlicher Gabe von bovinem Hämoglobin deutlich erhöht werden konnte [30].

Bei Patienten mit schwerer akuter Pankreatitis ist oft schon eine nach links versetzte Sauerstoffbindungskurve festzustellen, was die Abgabe von Sauerstoff an das Gewebe erschwert [60]. So ist die Therapie mit HBOC-301 durch dessen spezifische Eigenschaften in Kombination mit IHD ein interessanter Ansatz in der Behandlung dieses Defizits der Gewebsoxygenierung.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe rechtfertigen eine weitere Erforschung idealerweise in groß angelegten überregionalen Studien an Pankreatitispatienten.

4.1.2. Tiermodell

In dieser Versuchsreihe sollte die Wirkung der IHD in Kombination mit einem plasmatischen Sauerstoffträger bei akuter, schwerer, experimenteller Pankreatitis untersucht werden. Es stellte sich die Frage, welches Tier nun ein geeignet hohes Blutvolumen und eine Anatomie besitzt, um eine Übertragbarkeit auf den Menschen zu ermöglichen. Ebenso ergab sich die Frage des geeigneten Pankreatitismodells.

Das Hybridschwein ist ein Tier mit einer dem Menschen ähnlichen Anatomie. Außerdem sind zahlreiche Pankreatitismodelle am Schwein etabliert.

Ein Ansatz ist die Hyperstimulation des Pankreas mit Cerulein [23,105]. Hierbei stellt sich allerdings nur eine ödematöse Pankreatitis ein und die Tiere versterben selten an der Entzündung. Bei der intraduktalen Injektion von Na-Taurocholat [82,125] hingegen kommt die pankreatische Mikrozirkulation dosisabhängig sehr schnell und irreversibel zum Stillstand. Für unsere Fragestellung zur Mikrozirkulationsverbesserung zeigte sich dieses Modell also auch nicht als geeignet.

Es ist möglich eine akute Pankreatitis mittels Diät (z.B. Cholin defizientes Ethionin Supplement) zu induzieren [55,109]. Diese zeitintensive Methode hat allerdings den Nachteil, dass der Zeitpunkt der Intervention nur sehr ungenau abgeschätzt werden kann und dass dieses Modell bislang nur an Mäusen etabliert ist. Ähnliche Schwierigkeiten bei der Abschätzung des Zeitpunktes der Intervention bestehen bei dem Modell der Ingestion von Alkohol.

Das deshalb hier verwendete Modell imitiert die pathophysiologische Situation der Steinpassage. Der Pankreasgang wird ligiert [141]. Grundlage der Entzündung ist hier der Reflux von Gallenflüssigkeit, welcher das Gangepithel zerstört, sowie die gleichzeitige Pankreasüberstimulation mit Cerulein [128,131]. Es kann hierbei relativ genau die Entzündung in ihren Schweregraden induziert und der Zeitpunkt der therapeutischen Intervention vergleichbar gemacht

werden. Dieses Modell induziert eine hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis, ohne dass bei Therapiebeginn schon die Mikrozirkulation irreversibel geschädigt ist.

Wichtig zu beachten ist allerdings, dass es bei der Injektion der Gallensäuren in den Pankreasgang nicht zu einem zu starken Injektionsdruck kommt. Bei dieser Versuchsreihe wurde ein druckbegrenzter Perfusor zur Injektion verwendet, um den Injektionsdruck den Wert von 20-30 mmHg nicht überschreiten zu lassen. Es wäre sonst zu einer druckbedingten Schädigung der Pankreasgangepithelien und zum sofortigen Austritt der schädigenden Noxe gekommen [2]. Außerdem würde schon aufgrund des Drucktraumas unweigerlich eine sofortige Totalnekrose des betroffenen Bezirkes eintreten.

4.1.3. Messmethoden

Gewebssauerstoffpartialdruck

Die Organversorgung mit Sauerstoff unterliegt und wird wesentlich bestimmt vom Herzzeitvolumen, der lokalen Durchblutung bis in die kleinsten Kapillaren, dem Abstand zwischen den Kapillaren, der Sauerstoffkapazität des Blutes und vom individuellen Sauerstoffverbrauch des Gewebes inklusive dem Diffusionsgefälle von O₂-Molekülen aus dem Erythrozyten bis zum Mitochondrium einer Zelle. Nicht zuletzt sind zahlreiche humorale und nervöse Einflüsse wichtige Mechanismen, die die Organversorgung mitregeln.

Die physiologischen Sauerstoffpartialdrücke in den Zellen eines Gewebes pendeln sich zwischen dem Wert des arteriellen Blutes und einem Wert ein, der unter physiologischen Bedingungen in einzelnen Organbezirken weniger als 1 mmHg (133 Pa) betragen kann.

Damit eine Zelle ihren normalen oxidativen Stoffwechsel betreiben kann, ist ein sogenannter kritischer Sauerstoffpartialdruck der Mitochondrien von 0,1-1 mmHg (13,3-133,3 Pa) erforderlich. Darunter kann eine Zelle ihren Energiestoffwechsel nicht mehr aufrechterhalten, die intrazellulär reduzierte Cytochromoxidase könnte nicht mehr vollständig oxidiert werden, der

Elektronen- und Wasserstofftransport der Atmungskette nähme ab. Der zelluläre Sauerstoffpartialdruck ist demnach das wichtigste Kriterium für die Sauerstoffversorgung eines Organs [132].

Um diesen graphisch darzustellen, bestimmte man in dieser Versuchsreihe den Gewebssauerstoffpartialdruck (tPO_2).

Die Messung des Gewebssauerstoffpartialdruckes im Pankreas unserer Versuchstiere wurde mit einer polarographischen Sonde (Licox Medical System, GMS, Kiel) durchgeführt, wobei die 3mm dicke flexible Silikonsonde in das Gewebe eingebracht wurde und während des gesamten Versuches dort lag. Aus einem Bereich von 1,2 cm diffundierte der Sauerstoff aus dem Gewebe in das Lumen dieser Sonde. Eine Goldelektrode maß polarographisch den Sauerstoffpartialdruck. Hierbei sei angemerkt, dass im Einzugsbereich der Licox-Sonde Versorgungsgebiete mit verschiedenen Sauerstoffpartialdruckfeldern (arteriell oder venös) liegen. Der gemessene Sauerstoffpartialdruck kann deshalb sehr variabel sein, Einzelmesswerte haben eine geringe Aussagekraft. Zur Beurteilung und Interpretation des Gewebssauerstoffpartialdrucks dienen so eher die relativen Veränderungen der gemessenen tPO_2 -Werte im Vergleich zum Ausgangswert und den anderen Messpunkten.

Die Sauerstoffpartialdruckmessung nach Fleckenstein ist eine ähnliche Methode [48,49,50]. Im sogenannten Pilgerschrittverfahren (mit sehr langsamem und vorsichtigem Vorschieben) wird eine starre Sonde in das Gewebe eingebracht. Dann wird ein Gewebebereich von 2,5 cm 10 Minuten durchfahren, wobei 200 Einzelmessungen erfolgen.

In diesen Versuchsreihen konnte die Fleckensteinmethode allerdings nicht angewendet werden, weil es bei den Tieren unter der Durchfahrung zu Artefakten durch Atmung und Darmbeweglichkeit gekommen wäre.

Da bei der akuten Pankreatitis außerdem die Oberfläche des Organs ödematös verändert ist, hätten auch Oberflächenelektroden, die nur den Oberflächensauerstoffpartialdruck messen keine validen Ergebnisse erbracht [68,69,134]. Tieferliegende Gewebeschichten wären von den Messungen ausgenommen gewesen, ebenso hätte es Messungenauigkeiten durch mögliche

Temperaturschwankungen und lokale Blutungen durch das Präparieren der Organoberfläche gegeben.

Erste Feinnadelsonden mit polarographischem Messprinzip wurden um 1970 von Lübbers beschrieben und umfangreich getestet [93-97]. Das O₂-Versorgungsprinzip eines zylindrischen Gewebsareals wurde erstmalig von Krogh 1918 beschrieben [80,81]. Er untersuchte die Sauerstoffdiffusion im Skelettmuskel. Hierbei beschrieb er den Versorgungsbereich der Kapillare als Zylinder und die darin enthaltende Achse als versorgendes Gefäß. Diese vereinfachte Darstellung hatte natürlich die Voraussetzung, dass die Kapillaren in gleicher Richtung durchflossen werden, einen gleichen Abstand zueinander haben und parallel enden und beginnen. In diesem Modell sollten Sauerstoffaufnahme und der Sauerstofflöslichkeitskoeffizient gleich sein.

Wird die Kapillare vom Blutplasma durchflossen, nimmt der Sauerstoffpartialdruck entlang des Zylinders linear ab. Wird die Kapillare von Blut durchflossen, so stehen gemäß der Sauerstoff-Bindungskurve unterschiedliche Sauerstoffmengen, bedingt durch die chemische Bindung des O₂ an das Hämoglobinmolekül bei verschiedenen Sauerstoffpartialdrücken, zur Verfügung. Die Sauerstoffsättigung fällt demnach nicht linear ab, sondern gemäß der Hämoglobin-Sauerstoff-Bindungskurve.

Die Krogh-Erlang-Gleichung ermöglicht die Berechnung des Sauerstoffpartialdruckfeldes, wobei der Sauerstoffpartialdruckabfall zwischen Kapillare und Zylinderwand proportional zur ins Gewebe transportierten Menge an Sauerstoff ist.

Krogh-Gleichung

$$\Delta pO_2 = \frac{A \times R^2}{\alpha \times D}$$

ΔpO_2 = Sauerstoffpartialdruckdifferenz

A = Atmung ($\frac{\text{ml}}{100 \text{ g} \times \text{min}}$)

R^2 = Zylinderradius

α = Löslichkeitskoeffizient ($\frac{\text{ml O}_2}{\text{ml Atm}}$)

D = Diffusionskoeffizient

Die für den Transport der benötigten O₂-Menge erforderliche Sauerstoffpartialdruckdifferenz ΔpO_2 ist linear von der Gewebeatmung A. Bei einer Vergrößerung des Zylinderradius steigt der Sauerstoffpartialdruckabfall. Nach der Krogh-Erlang-Gleichung hieße also eine Verdopplung des Radius eine Vervierfachung der Sauerstoffpartialdruckdifferenz ΔpO_2 .

In diesem Modell von Krogh sind die tatsächliche Kapillaranordnung mit ihren zahllosen Varianten und die unterschiedliche Verteilung des Gewebesauerstoffdruckes nicht mitberücksichtigt. In vivo muss demnach von einer starken Schwankung des Sauerstoffpartialdrucks ausgegangen werden.

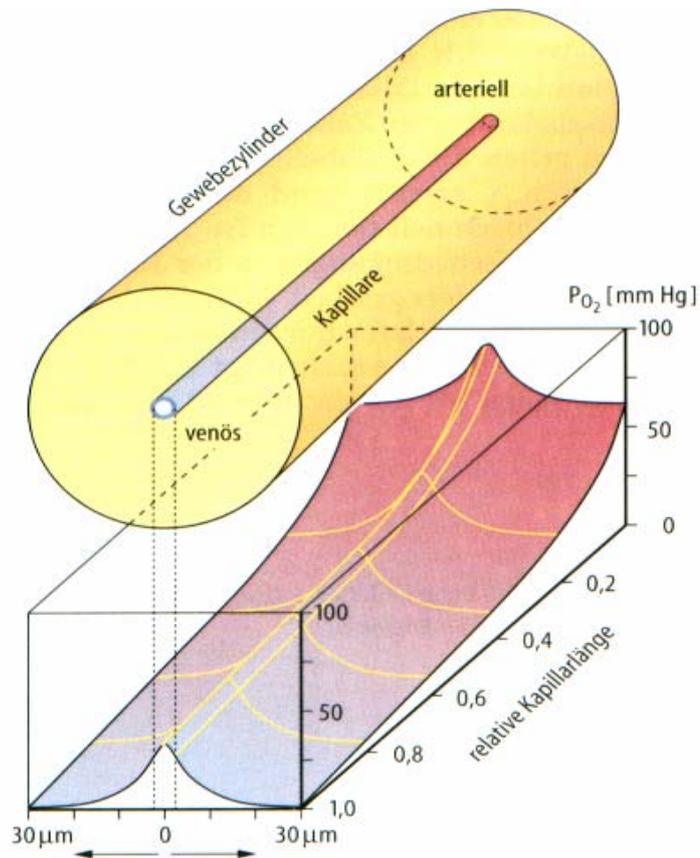


Abbildung 20: Schematische Darstellung eines Krogh'schen Zylinders aus Schmidt, Thewes: Physiologie des Menschen, Springer-Verlag.

Plasmaviskosität

Die Viskosität (η) ist ein Maß für die Zähflüssigkeit eines Fluids. Der Kehrwert der Viskosität ist die Fluidität, ein Maß für die Fließfähigkeit eines Fluids. Fluide sind dabei sowohl Gase als auch Flüssigkeiten, da sich ihre physikalischen Eigenschaften in der Regel nur quantitativ unterscheiden. Teilchen zäher Flüssigkeiten sind stärker aneinander gebunden und somit unbeweglicher. Man benutzt auch den Begriff innere Reibung zur Beschreibung der Viskosität. Gelegentlich wird Zähigkeit als Synonym für Viskosität verwendet.

Die in diesem Versuch verwendete Viskositätsmessung erfolgte mittels eines Kapillarviskosimeters. Die zu messende Flüssigkeit wurde durch einen dünnen Schlauch geleitet. Ein festgelegtes Flüssigkeitsvolumen lief bei gleich bleibendem Druck durch eine Kapillare einer bestimmten Länge und eines

bestimmten Radius. Die Zeit, die dazu nötig war, wurde gemessen. Wenn man die Zeit in Sekunden mit der Konstante der Kapillare multipliziert, kann die kinematische Viskosität (m²/sek) ermittelt werden, welche Ausdruck der inneren Reibung ist. Die kinematische Viskosität wird errechnet, indem man die dynamische Viskosität durch die Dichte einer Flüssigkeit teilt. Die dynamische Viskosität, auch absolute Viskosität genannt (Pa·s), ergibt sich dann aus dem Gesetz von Hagen-Poiseuille:

$$Q = \Delta P \cdot \frac{\pi}{8} \cdot \frac{1}{\eta} \cdot \frac{r^4}{l}$$

Q = Durchblutung

ΔP = Druckdifferenz

η = Viskosität (innere Reibung)

r⁴ = Gefäßradius

l = Länge des Gefäßabschnitts

Kolloidosmotischer Druck (KOD)

Der kolloidosmotische Druck (Synonym: onkotischer Druck) ist der osmotische Druck, der in einer kolloidalen Lösung herrscht. Die Anzahl der in der Lösung vorhandenen Makromoleküle bestimmt den kolloidosmotischen Druck.

Im Blutplasma wird der kolloidosmotische Druck in erster Linie durch Proteine wie z. B. das Albumin bestimmt.

4.1.4. Statistik

Gewebssauerstoffpartialdruck, Rheologie des Blutes, Mikro- und Makrozirkulation sind Messwerte, die im Verlauf des Versuchstages aufgenommen wurden. Um sie zu vergleichen, musste mit einer Varianzanalyse für wiederholte Messungen (ANOVA) gearbeitet werden. Nur Werte von p≤0,05 zwischen den Gruppen waren signifikant. Wo sich ein signifikanter

Gruppenunterschied fand, stellten sich in diesen Versuchsreihen oft ein Zeit-Therapie-Effekt ein (time by treatment interaction test, dieser Effekt tritt auf, wenn die einzelnen Gruppenverläufe nicht parallel zueinander sind). Der Verlauf der Parameter in den einzelnen Gruppen unterscheidet sich voneinander. Sie sind zwar ungefähr linear, allerdings mit unterschiedlichen Steigungen. Deshalb kam hier die Berechnung der AUC zur Anwendung. Kurvenverläufe und deren dynamische Steigung konnten so dargestellt und statistisch verglichen werden. So war es möglich, die Zweidimensionalität mit Ausprägung der Merkmale und den zeitlichen Verlauf auf eine Dimension zu bringen. Eine Ausnahme in der Anwendung der Berechnung der AUC besteht, wenn zwei Kurven genau gegensinnig zueinander verlaufen. Trotz Verlaufsunterschieden würde die Fläche unter der Kurve hierbei gleich bleiben. Während dieser Versuchsreihe trat dies allerdings nicht ein. Außerdem ist die AUC und deren Werte klinisch schwer interpretierbar. Die grafische Darstellung ist bei diesen experimentell erhobenen Daten anschaulicher und kam daher zur Anwendung.

4.2. Ergebnisdiskussion

4.2.1. Hämodynamik

In dieser Versuchsreihe zeigte sich, dass der pulmonal-arterielle Druck (PAP) unter Einfluss des HBOC-301 bei den erkrankten Tieren anstieg. Allerdings war das nicht von Nachteil für die Kreislauftsituation der Tiere, die eine IHD und zusätzlich HBOC-301 bekommen hatten. Im Gegenteil, der arterielle Mitteldruck war nicht beeinträchtigt, er stieg sogar an, so dass es zu einer Verbesserung der Kreislauftsituation kam. Caron et al. konnten diesen positiven Effekt des HBOC-301 auch schon bei Ratten nachweisen [31]. Bei den Tieren, die eine IHD mit Ringerlösung bekommen hatten, zeigte sich im Verlauf ein erhöhter PAP. Wahrscheinlich war das Ansteigen des PAP hier ein Zeichen für einen erhöhten Widerstand im Lungenkreislauf im Sinne eines möglicherweise beginnenden Lungenödems.

Nach Induktion der akuten Pankreatitis kam es durch die Applikation von HBOC zu einer Erhöhung des arteriellen Mitteldruckes und des systemischen Gefäßwiderstandes auf das Ausgangsniveau der Tiere, die HBOC-301 erhielten. Es ist seit langem bekannt, dass Hämoglobinlösungen den MAP und den SVR steigern können [31,67]. So konnten Caron et. al zeigen, dass Hämoglobinlösungen, die nach Hämodilution gegeben wurden, bei Hasen den SVR um 30%-90% steigern. In einer Untersuchung von Hess et al. im Schweinemodell (25 ml/kg KG Hämorrhagie) ergab sich eine Verdoppelung des SVR im Vergleich zur Kolloid- und Ringer Gruppe nach Applikation von humanem Hämoglobin. Sharma und Mitarbeiter untersuchten die Wirkung von 400mg/kg KG der Hämoglobinlösung DCLHb an Ratten und fanden eine Steigerung des SVR um 45% [31,67].

Die Nebenwirkungen der heute verfügbaren Hämoglobinlösungen umfassen im Wesentlichen die Steigerung des systemischen und pulmonalen Gefäßwiderstands ebenso den Abfall des Herzzeitvolumens. Die Nebenwirkungen in den Anfängen der Herstellung von Hämoglobinlösungen waren deutlich schwerwiegender, stellten sie doch eine große Gefahr für den Organismus dar. Es zeigten sich bei Gabe dieser „Erstgenerationshämoglobinlösungen“ eine ausgeprägte Nephrotoxizität durch in den Henleschen Schleifen der Nierentubuli präzipitierte Monomere und Dimere, Endotoxine und durch noch in der Lösung vorhandenes Reststroma der verarbeiteten Erythrozyten. Die zuletzt genannten führten darüber hinaus zu einer Koagulopathie in Gefäßbett und so zu massiven Störungen des Kreislaufs. Außerdem zeigten sich eine stark gesteigerte Bildung von Methämoglobin durch Oxydierung von zwei- zu dreiwertigem Eisen insbesondere durch das Fehlen der intraerythrozytären Reduktionsenzyme wie Gluthadionperoxidase, Superoxiddismutase, Katalase und Methämoglobinreduktase. Durch das vermehrte Anfallen von Methämoglobin erhöhte sich die Produktion von Sauerstoffradikalen (z.B. Wasserstoffperoxid). Die bereits oben erwähnte Vasokonstriktion durch Bindung von Stickstoffmonoxid (NO-scavanging) und die Erhöhung der Konzentration von vasokonstriktorisch wirksamen Endothelin-1 war dagegen von geringerer Bedeutung [63].

Später kamen chemisch intramolekular-vernetzte („diaspirin cross-linked hemoglobin“) und durch spezifische Anlagerung von Molekülen oder durch Polymerisation veränderte Hämoglobinmoleküle auf den Markt. Diese zu Makromolekülen vernetzte oder polymerisierten und durch Anlagerung von z.B. Wassermolekülen oder durch Einbettung in Liposomen konjugierten Hämoglobinmoleküle hatten bereits weniger Nebenwirkungen und verfügten auf Grund ihrer veränderten Größe über eine verhältnismäßig längere Halbwertszeit. Diese Modifikation ermöglichte so ein stabileres Produkt, welches langsamer dissoziierte, eine längere Verweildauer im Körper hatte und außerdem durch die veränderte Molekülgröße und -konfiguration eine deutlich verringerte Nephrotoxizität hatte. Ebenso war das bekannte Ansteigen des Gefäßwiderstands und damit des Drucks im Gefäßbett verringert. Durch die veränderte Molekülgröße und das damit verbundene verringerte Einwandern in die Gefäßmukosa war die Bindung an NO in der Gefäßmuskulatur eingeschränkt.

Im direkten Vergleich der heutigen Produkte haben polymerisierte Hämoglobinlösungen vor vernetzten und rekombinanten Hämoglobinlösungen das geringste Nebenwirkungsspektrum und erhielten auch als einziges Produkt die Zulassung 1999 erst auf dem veterinären Markt (Zulassung der Food and Drug Administration, USA, von Hemopur für die canine Anämie) und seit 2001 die Zulassung für perioperative Anämien beim Menschen in Südafrika [149].

4.2.2. Gewebssauerstoffpartialdruck des Pankreas

Der Gewebssauerstoffpartialdruck des Pankreas fiel nach Beginn der Induktion der Pankreatitis in allen drei Gruppen rapide ab. Nach Messzeitpunkt 2, also nach Beginn der Therapie, erholten sich die Werte des Gewebssauerstoffpartialdrucks der HBOC-301-Gruppe bis zum Messzeitpunkt 8 annähernd bis auf den Anfangswert. Die HES-Gruppe stabilisierte und verbesserte ihre Werte bis zum Messzeitpunkt 3, wobei dann wieder ein leichtes Absinken aber eine grundsätzliche Stabilisierung des Gewebssauerstoffpartialdrucks einsetzte. Die Ringer-Gruppe verzeichnete, bis auf eine minimale Erholung der Werte kurz nach Therapiebeginn, ein deutliches

Absinken der Werte des Gewebssauerstoffpartialdrucks, die sich bis zum Messzeitpunkt 8, und damit zum Ende der OP, nicht mehr erholten. Es sollte hier dargestellt werden, welchen Einfluss der künstlich hergestellte Sauerstoffträger HBOC-301 auf die Gewebsoxygenierung des Pankreas im Vergleich zu den nicht sauerstofftransportierenden Infusionslösungen HES und Ringerlösung hat. Es zeigte sich, dass die Gruppe mit HBOC-Substitution nach IHD einen höheren Gewebssauerstoffpartialdruck nach Pankreatitidsinduktion wiederherstellte, als die beiden Kontrollgruppen.

Die geringe Sauerstoffaffinität des bovinen HBOC-301 birgt den enormen Vorteil, dass die Sauerstoffabgabe gerade an entzündetes und somit minderperfundiertes Gewebe deutlich erleichtert ist, was den positiven Effekt in dieser Versuchsreihe erbracht hat. Da HBOC-301 ein nicht-korpuskulären Sauerstoffträger ist, können so auch Bereiche mit Sauerstoff versorgt werden, die von Erythrozyten nicht mehr durchflossen werden, das heißt alleine durch plasmatischen Transport. Die Sauerstoffabgabe ist bei den modernen Hämoglobinlösungen somit optimal, so dass dieser Benefit für minderversorgtes Gewebe nicht nur bei der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis denkbar wäre.

HES hat als Infusionslösung zwar den Effekt eines Plasmaexpanders aber keine spezifische sauerstofftransportierende Funktion. So zeigte sich durch die Senkung des Hämotokrits eine veränderte Viskosität und durch die verbesserte Rheologie ein insgesamt höheres Angebot an, und somit eine bessere Versorgung mit Sauerstoff, als bei alleiniger Ringersubstitution. Das Niveau des Gewebssauerstoffpartialdrucks über 45 mmHg, welches das HBOC-301 als Sauerstoffträger aufbauen konnte, war in der Gruppe mit HES-Substitution aber nicht gegeben.

Die Gruppe der Tiere, die eine Volumensubstitution mit Ringerlösung erhalten hatte, neigten unter Volumengabe zu peripheren Ödemen. Die Gewebssauerstoffpartialdrücke konnten sich bis zum Ende der Operation nicht mehr über 35 mmHg nachweisen lassen.

4.2.3. Rheologie

Die Konzentration des Blutes kann durch die IHD im Gegensatz zur reinen Infusionstherapie mit Ringer sicher und schnell auf einen optimalen Hämatokrit (15%) heruntergesenkt werden [103,111]. Ein zu rasches Absenken des Hämatokritwertes birgt die Gefahr eines Lungenödems, wenn nur allein Volumen substituiert würde. Und da bei Patienten mit einer schweren akuten Pankreatitis außerdem eine erhöhte Gefäßpermeabilität besteht, kommt die alleinige Volumengabe nicht in Frage [165]. Durch die IHD mit Kolloiden kommt es hingegen zu einer Verbesserung der Mikrozirkulation und zu einer Verringerung der Zellschäden im Pankreas. Besonders die an die Nekrose grenzenden Bezirke des Pankreas werden erhalten und so der Gesamtgewebsschaden verringert [74,75]. Ob ein hoher Hämatokritwert als früher Marker für Organversagen angesehen werden kann [126], oder ob er lediglich einen negativen Vorhersagewert besitzt [86], ist allerdings noch nicht abschließend geklärt.

4.2.4. Überleben

In der HBOC-301-Gruppe zeigte sich eine sehr viel längere Überlebenszeit als in der HES- und Ringer-Gruppe. Zu den jeweiligen Messzeitpunkten lebten in der HBOC-301-Gruppe mehr Tiere als in der HES-Gruppe. Und wiederum lebten zu den jeweiligen Messpunkten mehr Tiere der HES-Gruppe als Tiere der Ringer-Gruppe.

Überleben wurde dabei definiert als der Zeitpunkt in Stunden vom Ende der Anästhesie bis zur Sakrifizierung der Tiere, bei denjenigen, die den gesamten Beobachtungszeitraum überlebt hatten. Waren Tiere vorher gestorben, wurde der Todeszeitpunkt nach Körpertemperatur auf ca. zwei Stunden genau bestimmt. Bei Tieren im präfinalen Zustand wurde eine Tötung im Rahmen der regulären Visitierung vorgenommen. Da die postoperative Überwachung rund um die Uhr, in Abständen von 4 bis 6 Stunden erfolgte, waren größere Fehler bei der Berechnung des Todeszeitpunktes ausgeschlossen. Ebenso konnte ein

systematischer Fehler vermieden werden, da bei allen Tieren die vor der Sakrifizierung gestorben waren, jeweils gleich vorgegangen wurde.

4.3. Gegenüberstellung mit gängigen und experimentellen Therapiestrategien

Für die spezifische Behandlung der akuten Pankreatitis gibt es uneinheitliche Empfehlungen.

Die Basistherapie sollte im ersten Schritt grundsätzlich konservativ angegangen werden [14,156]. Die mild verlaufende ödematöse Pankreatitis, 80% der Fälle einer akuten Pankreatitis [156], heilt nach einigen Tagen folgenlos aus. Außer einer vorübergehenden Überwachung, parenteralen Volumen- und Elektrolytgabe, oraler Nahrungskarenz für drei bis fünf Tage und einer suffizienten Analgesie sind keine spezifischen therapeutischen Schritte nötig. Eine sonographische Kontrolle des abdominalen Status ist ausreichend [104] und muss ohne Anzeichen einer klinischen Verschlechterung nicht durch ein Abdomen-CT gestützt werden. Beim Nachweis einer biliären Genese ist eine elektive Cholezystektomie indiziert [107].

Anders ist es bei der hämorrhagisch nekrotisierenden Verlaufsform der Pankreatitis. Die engmaschige klinische Beobachtung des Patienten ist notwendig, ebenso wie die intensivmedizinische Betreuung bei Verdacht auf hämorrhagisch nekrotisierende Pankreatitis [92]. Es ist außerdem generell wichtig für eine ausreichende Flüssigkeitssubstitution zu sorgen. Das allerdings kann in der Praxis erhebliche Probleme bereiten, da, insbesondere bei der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis, die Volumenaufnahme manchmal mehr als 500ml pro Stunde betragen kann.

Schon hier stößt die Therapie bzw. Volumensubstitution mit Ringer an ihre Grenzen [38]. Ebenso ist die Gefahr der Entstehung eines Lungenödems bei massiven Kristalloidgaben erhöht. Für die Volumensubstitution bzw. im Austausch mit Vollblut sollte eine IHD mit Kolloiden zum Einsatz kommen [12,165], da Kolloide in dieser Anwendung nachweislich die Morbidität und Mortalität senken [133] und eine Aufrechterhaltung der Durchblutung des

erkrankten Organs sichern können. Die Anlage einer Magensonde sollte nur bei einer ausgeprägten Übelkeit mit Erbrechen eingesetzt werden. Die Idee, dass durch den kontinuierlichen Abfluss des Magensafts die Bauchspeicheldrüse vor Stimulation durch Magensäure und Gastrin geschützt werden kann, konnte bisher nicht nachgewiesen werden.

Enterale Ernährung ist im Gegensatz zu parenterale Ernährung bei der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis in den meisten Fällen nachweislich vorteilbringend. Nach einer initialen Nahrungskarenz von einigen Tagen stimuliert sie die Durchblutung des Darms und verhindert mukosale Atrophie [66,147,112]. Außerdem beugt sie das Risiko eines paralytischen Ileus vor [107]. Die enterale Ernährung bei akuter Pankreatitis hat sich in der Klinik jedoch bisher wenig durchsetzen können, obwohl zusätzlich nachgewiesen werden konnte, dass die enterale Ernährung die mucosale Integrität bewahrt und so die Translokation von Darmbakterien in das entzündete Gebiet massiv reduziert [34].

Die schwere Form der akuten Pankreatitis ist immer noch eine überwachungspflichtige Erkrankung mit Behandlung auf einer Intensivstation und konsequentem Monitoring [165]. Die ausreichende Analgesie und eine Volumengabe mit Kolloiden sind unabdingbar.

Die Abschätzung des tatsächlichen Schweregrads der Pankreatitis ist nach wie vor ein erhebliches Problem. Die regelmäßige klinische Untersuchung mit Beurteilung von Temperatur, abdominalen Beschwerden, Ikterus, Darmgeräuschen und Bauchdeckenspannung sind Grundlage der Behandlung und müssen ergänzt werden durch bildgebende Verfahren und Labordiagnostik [107]. In der Labordiagnostik gilt der CRP-Wert momentan als Goldstandard zur Vorhersage der Schwere der Pankreatitis [164].

Bei jedem Patienten sollte zum Ausschluss von Nekrosen eine Sonographie des Abdomens erfolgen. Bei Patienten, die sonographisch nicht beurteilbar sind, bei denen der sonographische Verdacht von Pankreasnekrosen besteht oder bei denen frühzeitig eine Organinsuffizienz auftritt, muss eine

kontrastmittelangereicherte CT durchgeführt werden [156]. Die Arbeitsgruppe um Lankisch stellte gar die Frage, ob nicht jeder Patient innerhalb der ersten 72 Stunden eine kontrastmittelangereicherte CT bekommen muss und beantworteten dies in ihrer Studie positiv [87].

Beim nachgewiesenen Vorliegen von Nekrosen sollten diese CT-gesteuert bzw. sonographiegesteuert feinnadelpunktiert und das Material sofort gefärbt und auf Bakterien untersucht werden. Wenn eine bakterielle Besiedlung besteht, müssen die Entstehung eines septischen Krankheitsbildes befürchtet und sofort intensivmedizinische Maßnahmen eingeleitet werden. Auch ist der Nachweis von Lufteinschlüssen ein Zeichen für infizierte Nekrosen, der, gestützt durch klinische Zeichen einer Infektion, zu weiteren Schritten führen muss.

Wird eine bakterielle Besiedlung gefunden, besteht diese mit höchster Wahrscheinlichkeit aus der normalen Flora des Darms. Einige Arbeitsgruppen konnten typische Keime des Darms wie *Escherichia coli* und andere gramnegative aber auch grampositive Keime in infizierten Pankreasnekrosen nachweisen und bestätigten damit die Hypothese, dass die Mikroorganismen, die zur Infektion der Nekrosen führen, fakultativ pathogene Keime des Darmes sind [18,99,124,122].

Der an hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis erkrankte Patient hat im Falle des Vorliegens infizierter Nekrosen durch die sich eingestellte Immunsuppression eine noch verstärkte Mukosabarrierestörung, die in der Folge ein massives Einschwemmen von pathogenen Keimen des Darms in die Blutbahn ermöglicht und so die zelluläre und humorale Immunabwehr in so hohem Maße anregt, dass der Patient in die Gefahr eines hypodynamen Schocks in Sinne eines SIRS gerät. In der Folge drohen ein irreversibles Multiorganversagen und Tod [122].

Eine CT-Aufnahme bietet da eine Möglichkeit das tatsächliche Vorliegen und das Ausmaß der Pankreasnekrosen sicher zu beurteilen. Beides sind wichtige Prognosefaktoren, die eng mit einem solchen Multiorganversagen bzw. mit einem eventuell tödlichen Verlauf korrelieren [29,64,77]. Das CT bietet außerdem Entscheidungshilfe für oder gegen die Operation im Sinne einer Nekrosektomie und Lavage. Diese sollten dann angestrebt werden, wenn sehr große nekrotische Areale vorliegen, die nachweislich infiziert sind oder wenn die

eingetretenen Komplikationen anders nicht mehr beherrschbar sind [17,29]. Einige Arbeitsgruppen betrachten die Notwendigkeit einer chirurgischen Intervention bei nachgewiesenen infizierten Nekrosen immer als gegeben, sogar unabhängig vom Ausmaß der Nekrosen und der Schwere des Krankheitsbildes [115].

Es fehlen allerdings konkrete klinische Studien zur chirurgischen Therapie bei akuter Pankreatitis [110]. Alternativ zu den offenen chirurgischen Verfahren wurden in einer erfolgreichen Langzeitstudie die perkutane Drainage infizierter Pankreasnekrosen erprobt [44]. Ebenso wurde die laparoskopische Drainage der Bauchhöhle, zum Teil mit Revision des retroperitonealen Kompartments oder Cholezystektomie [22,114] alternativ zur konventionellen Chirurgie bei komplizierten Verläufen der akuten Pankreatitis beforscht. Es konnte gezeigt werden, dass alle laparoskopisch therapierten Patienten überlebten. Die Mortalität aller chirurgisch therapierten Patienten (konservativ, konventionell-chirurgisch, laparoskopisch) lag dagegen über 3% [114]. Diese Entscheidungen sind nur sinnvoll durch interdisziplinäre Zusammenarbeit zu entscheiden.

Zur spezifischen medikamentösen Therapie gibt es ebenfalls viele Forschungsbereiche und z.T. gegensätzliche Empfehlungen.

Eine wirksame Therapie kann die prophylaktische Gabe von spezifischen Antibiotika sein. Da bei der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis die Darm-Mukosa-Barriere gestört ist und dadurch Keime des Darms in das betroffene Gebiet gelangen können [127,158,122], besteht die Gefahr einer endogenen Superinfektion der Pankreasnekrosen. Die prophylaktische Gabe von Antibiotika kann den Progress bzw. die mögliche Kontamination von vorneherein ausschalten und somit die schweren Komplikationen und ein Multiorganversagen verhindern [106,123]. Es konnte z.B. gezeigt werden, dass Imipenem, als Prophylaxe gegeben, die Inzidenz der pankreatogenen Sepsis bei hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis erheblich reduzierte [117]. Ebenso sind Cephalosporine der III. Generation und Gyrasehemmer ggf. in Kombination mit Metronidazol gut einsetzbar.

Intravenöse prophylaktische Gabe von Antibiotika sind durch große randomisierte Studien mittlerweile als deutlich wirksam ausgewiesen

[57,98,118,119,137,138]. Durch die vermehrte Gabe von antibiotisch wirksamen Medikamenten müssen aber auch Konsequenzen in Kauf genommen werden. Gloor et al. fanden durch den häufigeren Einsatz von prophylaktischer Antibiotikagabe eine Zunahme der Resistenzen gegen die eingesetzte Substanz und das häufigere Auftreten von Pilzinfektionen [56]. Eine parallel gegebene antifugale Therapie und alternativ die auf höchstens 10 Tage limitierte Gabe der prophylaktische Antibiose wurden daraufhin erwogen [89].

Greenberg et al. stellten 1999 eine Studie zur intravenösen Octreotidtherapie bei akuter experimenteller Pankreatitis bei Ratten vor. Sie beschrieben einen Überlebensvorteil und einen geringeren histologischen Gewebsschaden der mit Octreotidinfusion behandelten Tiere [58]. Insgesamt wurde die Hemmung der Pankreassekretion mit dem Somatostatinanalogon Octreotid oder Glukagon sowohl klinisch als auch experimentell stark beforscht [16,28,113,163]. Die bekannte Verabreichungsart des Octreotid ist ein subkutaner Bolus. In der oben genannten Studie von Greenberg wurde dieses Verfahren durch die intravenöse Gabe ersetzt. Hierdurch konnte eine bessere Anflutung der Substanz und ein höherer Wirkspiegel und der positive Effekt erreicht werden.

Ebenso konnten Arvantidis et al. zeigen, dass das Risiko einer Post-ERCP-Pankreatitis verringert war, wenn ein Somatostatin (wie Octreotid) kurz nach oder während der ERCP gegeben wurde [10]. Auch ist die präinterventionelle Gabe des Proteaseinhibitors Gabexat-Mesilat zur Vermeidung einer Post-ERCP-Pankreatitis beforscht worden. Zwar fanden Cavallini et al. in ihrer viel zitierten Studie eine niedrigere Serum-Amylasekonzentration in der mit Gabexat therapierten Patienten, ein Überlebensvorteil war in der 276 Patienten umfassenden Studie allerdings nicht nachzuweisen [32].

Auf dem Sektor der experimentellen Erprobung wurden viele verschiedene Strategien und Ansätze zur Verbesserung der medikamentösen Therapie der akuten Pankreatitis erforscht.

Viel Hoffnung wurde in die Wirkung des PAF-Antagonisten Lexipafant gelegt. PAF (Plättchenaktivierender Faktor) wirkt als Mediator der Entzündungsreaktion und ist ein Schlüsselmediator in der Genese des SIRS. PAF ist auf dem

pankreatischen Gefäßendothel lokalisiert [51]. Dessen Antagonist Lexipafant war in einer klinischen Studie zwar in der Lage eine niedrigere Rate an septischen Komplikationen bei der akuten Pankreatitis hervorzurufen, aber es konnten kein Überlebensvorteil gegenüber dem Placebopräparat verzeichnet und die Rate an neu aufgetretenen Multiorganversagen nicht verringert werden [65,70].

Über einen ähnlichen Mechanismus wie PAF wirkt das vasoaktive Peptid Endothelin-1. Es ist am Endothel von Gefäßwänden lokalisiert und vermittelt bei der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis die Entzündungsantwort. Foitzik et al. konnten zeigen, dass Endothelin A-Rezeptorblockade hinsichtlich der kapillären Integrität, der Leukozytenadhärenz und der Überlebenszeit im Rattenversuch sogar noch effektiver und besser wirkte als die PAF-Rezeptorblockade [52,53]. Allerdings galten diese positiven Ergebnisse lediglich für den Endothelin-Rezeptor A nicht den Endothelin-Rezeptor B wie Eibl et al. nachwiesen [42].

Eine andere Arbeitsgruppe beschäftigte sich mit der therapeutischen Option einer Hochdosis-Vitamin-C-Therapie bei der akuten Pankreatitis. Es konnte gezeigt werden, dass die antioxidativen Eigenschaften des Vitamin C und die dadurch verbesserte zelluläre Immunantwort einen therapeutischen Effekt hatten [41]. Yasar et al. wiesen außerdem nach, dass ebenso eine hyperbare Sauerstofftherapie durch Antioxidation einen positiven Effekt hatte [167].

4.4. Aussicht

Die experimentellen Untersuchungen zum HBOC sind bereits vielfältig und viel versprechend. Von der Anwendung am Menschen ist man in Europa jedoch weit entfernt. Unsere experimentellen Studien zeigen, dass die hämorrhagisch nekrotisierende Pankreatitis einen mildereren Verlauf nahm. Um weiter reichende Kenntnisse zu erlangen, und auch Vorurteile zu beseitigen, wären größere klinische Studien nötig, idealerweise als Multicenterstudie konzipiert. Bislang sind, bei geringer Inzidenz der Erkrankung, große Fallzahlen nicht zu erreichen. Anwendungserfahrungen an Tieren aus dem nicht europäischen Ausland sind ebenfalls zu erwarten. In der Idee der Verbesserung der Mikrozirkulation durch

erhöhte Sauerstoffabgabe und verbesserter Gewebsperfusion mit HBOC steckt Potential auch für andere Bereiche der Medizin. Beispielsweise als Reservesauerstoffträger im Fall einer akuten Blutkonservenknappheit.

5. Zusammenfassung des Versuchs

Der Begriff „akute Pankreatitis“ beschreibt die Entzündung der exokrinen Bauchspeicheldrüse. Diese Erkrankung ist trotz intensiver Forschung und großer medizinischer Fortschritte immer noch eine ernste und in einigen Fällen tödlich verlaufende Erkrankung. Es wird allgemein eine mildverlaufende, ödematöse von einer schwerverlaufenden, hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis unterschieden, wobei die schwere Form aus der leichtverlaufenden Form hervorgeht. Da gesichert ist, dass die Störung der Mikrozirkulation und der Zusammenbruch der Zellintegrität des Pankreas der entscheidende Schritt in diesem Progress ist, ist es nötig Wege zu finden die Mikro- und Makrozirkulation zu erhalten und die Versorgung des kranken Gewebes mit Sauerstoff zu optimieren.

In dieser Untersuchung sollte die Verbesserung der Mikro- und Makrozirkulation bei hämorrhagisch nekrotisierender Pankreatitis durch die therapeutische Wirkung von isovolämischer Hämodilution in Kombination mit dem plasmatischen Sauerstoffträger HBOC-301 im Tiermodell untersucht werden. Es sollte gezeigt werden, inwieweit der Progress der akuten Pankreatitis aufzuhalten sei, der Gewebsschaden durch die Entzündung verringert und das Überleben der Tiere gesichert werden kann.

Es fand sich eine verbesserte Mikro- und Makrozirkulation des Pankreas und eine bessere Kreislaufleistung der Tiere, die mit IHD und HBOC-301 behandelt wurden im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe mit IHD und Ringer und zu der Gruppe mit IHD und HES. Hinsichtlich der Oxygenierung des Pankreas fand sich ein verbesserter Gewebssauerstoffpartialdruck in der HBOC-301-Gruppe gegenüber der Ringer-Gruppe (102,6 mmHg (SE 16,4); $p < 0,001$) und gegenüber der HES-Gruppe (76,7 mmHg (SE 15,9); $p < 0,001$). In der HBOC-301-Gruppe überlebten 10 Tiere den Beobachtungszeitraum. Lediglich 2 Tiere der Ringer-Gruppe waren nach 6 Tagen noch am Leben ($p < 0,001$). In der HES-Gruppe überlebten 8 Tiere den Beobachtungszeitraum.

Man muss also feststellen, dass die Prognose der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis durch die isovolämische Hämodilution in Kombination mit plasmatischen Sauerstoffträgern verbessert werden kann.

6. Literaturverzeichnis

- 1 Adams HA, Piepenbrock S, Hempelmann G: Volumenersatzmittel-Pharmakologie und klinischer Einsatz. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 33, 2-17, 1998.
- 2 Aho HJ, Ahola RA, Tolvanen AM, Nevalainen TJ: Experimental pancreatitis in the rat. Changes in pulmonary phospholipids during sodium taurocholate-induced acute pancreatitis. *Res Exp Med (Berl)* 182, 79-84, 1983.
- 3 Alayash AI, Cashion RE: Reactions of nitric oxide and hydrogen peroxide with hemoglobin-based blood substitutes. *Ann N Y Acad Sci* 738, 378-381, 1994.
- 4 Alayash AI, Ryan BA, Fratantoni JC, Cashion RE: Redox reactivity of modified hemoglobins with hydrogen peroxide and nitric oxide: toxicological implications. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 22, 373-386, 1994.
- 5 Amberson WR: Blood substitutes. *Bio Rev Camb Philos Soc* 12, 48-86, 1937.
- 6 Amberson WR, Flexner J, Steggerda FR, Mulder AG, Tendler MJ, Pankratz DS, Laug EP: On the use of ringer-locke solutions containing hemoglobin as a substitute for normal blood in mammals. *J Cellular comp Physiol* 5, 359-382, 1934.
- 7 Amberson WR, Jennings JJ, Martin R: Clinical experience with hemoglobin-saline solutions. *J Appl Physiol* 1, 469-489, 1949.
- 8 Amberson WR, Mulder AG, Steggerda FR: Mammalian life without red blood corpuscles. *Science* 78, 2014-2015, 1933.
- 9 Appelros S, Borgstrom A: Incidence, aetiology and mortality rate of acute pancreatitis over 10 years in a defined urban population in Sweden. *Br J Surg* 86, 465-470, 1999.
- 10 Arvanitidis D, Anagnostopoulos GK, Giannopoulos D, Pantes A, Agaritsi R, Margantinis G, Tsiakos S, Sakorafas G, Kostopoulos P: Can somatostatin prevent post ERCP pancreatitis? Results of a randomized controlled trial. *Scand J Gastroenterol Suppl* 239, 111-116, 2003.
- 11 AuBuchon JP, Popovsky MA: The safety of the preoperative autologous blood donation in the non hospital setting. *Transfusion* 31, 513-517, 1991.
- 12 Baillargeon JD, Orav J, Ramagopal V, Scott AB, Tenner M, Banks PA: Hemoconcentration as an early risk factor for Necrotizing Pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 93, 2130-2134, 1998.
- 13 Bank S, Singh P, Pooran N, Stark B: Evaluation of factors that have reduced mortality from acute pancreatitis over the past 20 years. *J Clin Gastroenterol* 35, 50-60, 2002.

- 14 Banks PA: Acute pancreatitis: medical and surgical management. *Am J Gastroenterol* 89, S78-S85, 1994.
- 15 Bassi D, Kollias N, Fernandez-del Castillo C, Foitzik T, Warshaw AL, Rattner DW: Impairment of pancreatic microcirculation correlates with the severity of acute pancreatitis. *J Am Coll Surg* 179, 257-263, 1994.
- 16 Baxter JN, Jenkins SA, Day DW, Roberts NB, Cowell DC, Mackie CR, Shields R: Effects of somatostatin and a long-acting somatostatin analogue on the prevention and treatment of experimentally induced acute pancreatitis in the rat. *Br J Surg* 72, 382-385, 1985.
- 17 Beger HG, Rau B, Isenmann R: Nekrosektomie oder anatomiegerechte Resektion bei akuter Pankreatitis. *Chirurg* 71, 274-280, 2000.
- 18 Beger HG: Bacterial contamination of pancreatic necrosis. *Gastroenterology*, 91, 433-438, 1986.
- 19 Behrmann MJ, Keim HA: Perioperative red blood cell salvage in spine surgery. A prospective analysis. *Clin Orthop Rel Res* 278, 51-57, 1992.
- 20 Bell K, Stott K, Sinclair CJ: A controlled trial of intraoperative autologous transfusion in cardiothoracic surgery measuring effect on transfusion requirements and clinical outcome. *Transfusion Med* 2, 295-300, 1992.
- 21 Benczur D: Studien über den Hämoglobingehalt des menschlichen Blutes bei Chlorose und Anämie unter Hämoglobin- und Blutzufuhr. *Deutsches Archiv für klinische Medizin* 36, 365-397, 1885.
- 22 Bismar HA, Al Salamah SM: Outcome of laparoscopic cholecystectomy in acute biliary pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 50, 1159-1162, 2003.
- 23 Bloechle C, Kusterer K, Kuehn RM, Schneider C, Knoefel WT, Izbicki JR: Inhibition of bradykinin B2 receptor preserves microcirculation in experimental pancreatitis in rats. *Am J Physiol* 274, G42-G51, 1998.
- 24 Boldt J: Aktuelle Perspektiven in der Volumenersatztherapie, pp. 34-49, UNI-MED, 2002.
- 25 Bone HG, Schenarts PJ, Booke M, McGuire R, Harper D, Traber LD, Traber DL: Oxalated pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene conjugate normalizes the hyperdynamic circulation in septic sheep. *Crit Care Med* 25, 1010-1018, 1997.
- 26 Bone HG, Schenarts PJ, Fischer SR, McGuire R, Traber LD, Traber DL: Pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene conjugate reverses hyperdynamic circulation in septic sheep. *J Appl Physiol* 84, 1991-1999, 1998.
- 27 Bonhard K: Acute oxygen supply by infusion of hemoglobin solutions. *Fed Proc* 34, 1466-1467, 1975.

- 28 Buchler MW, Binder M, Friess H: Role of somatostatin and its analogues in the treatment of acute and chronic pancreatitis. *Gut* 35, S15-S19, 1994.
- 29 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* 232, 619-626, 2000
- 30 Burmeister MA, Standl T, Horn E-P, Bangert K, Strate T, Schulte am Esch J: Die Hämoglobinlösung HBOC-201 erhöht die O₂ Spannung in Leber und Muskel nach isovolämer Hämodilution im Tiermodell. *AINS* 35, 481, 2000.
- 31 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* 86, 541-548, 1999.
- 32 Cavallini G, Tittobello A, Frulloni L, Masci E, Mariana A, Di Francesco V: Gabexate for the prevention of pancreatic damage related to endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *N Engl J Med* 335, 919-923, 1996.
- 33 Corfield AP, Cooper MJ, Williamson RC: Acute pancreatitis: a lethal disease of increasing incidence. *Gut* 26, 724-729, 1985.
- 34 Dervenis C, Smailis D, Hatzitheoklitos E: Bacterial translocation and its prevention in acute pancreatitis. *Microvasc Res* 67 (1), 55-63, 2004.
- 35 DeVenuto F, Friedman HI, Mellick PW: Massive exchange transfusions with crystalline hemoglobin solution and subsequent replacement of hemoglobin and blood volume. *Surg Gynecol Obstet* 151, 361-365, 1980.
- 36 DeVenuto F, Zegna A: Blood exchange with pyridoxalated and polymerized hemoglobin solution. *Surg Gynecol Obstet* 155, 342-346, 1982.
- 37 Donaldson LA, Schenk WG Jr.: Experimental acute pancreatitis: the changes in pancreatic oxygen consumption and the effect of Dextran 40. *Ann Surg* 190, 728-731, 1979.
- 38 Donaldson LA, Schenk WG Jr.: The effect of Trasylol and vasopressin on experimental pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 150, 657-660, 1980.
- 39 Donaldson LA, Williams RW, Schenk WG: Experimental pancreatitis. Effect of plasma and dextran on pancreatic blood flow. *Surgery* 84, 313-321, 1978.
- 40 Driessen B, Jahr JS, Lurie F, Griffey SM, Gunther RA: Effects of haemoglobin-based oxygen carrier hemoglobin glutamer-200 (bovine) on intestinal perfusion and oxygenation in a canine hypovolaemia model. *Br J Anaesth* 86, 683-692, 2001.
- 41 Du WD, Yuan ZR, Sun J, Tang JX, Cheng AG, Shen DM, Huang CJ, Song XH, Yu XF, Zheng SB: Therapeutic efficiency of high-dose vitamin C on acute

pancreatitis and its potential mechanisms. *World J Gastroenterol* 9, 2513-2518, 2003.

42 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* 25, E15-E20, 2002.

43 Eland IA, Sturkenboom MJ, Wilson JH, Stricker BH: Incidence and mortality of acute pancreatitis between 1985 and 1995. *Scand J Gastroenterol* 35, 1110-1116, 2002.

44 Endlicher E, Volk M, Feuerbacher S, Scholmerich J, Schaffler A, Messmann H: Long-term follow up of patient with necrotizing pancreatitis treated by percutaneous necrosectomy. *Pancreatology* 3(6), 497-505, 2003.

45 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* 276, H766-H770, 1999.

46 Fayne SD, Barkin JS: Acute pancreatitis: update 1986. *Mt Sinai J Med* 53, 396-403, 1986.

47 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* 157, 399-408, 1983.

48 Fleckenstein W, Heinrich R, Grauer W, Schomerus H, Dolle W, Weiss C: Fast local regulations of muscle pO₂-fields in patients suffering from cirrhosis of the liver. *Adv Exp Med Biol* 180, 687-694, 1984.

49 Fleckenstein W, Reinhart K, Kersting T, Dennhardt R, Jasper A, Weiss C, Eyrich K: Dopamine effects on the oxygenation of human skeletal muscle. *Adv Exp Med Biol* 180, 609-622, 1984.

50 Fleckenstein W, Weiss C: A comparison of Po₂ histograms from rabbit hind-limb muscles obtained by simultaneous measurements with hypodermic needle electrodes and with surface electrodes. *Adv Exp Med Biol* 169, 447-455, 1984.

51 Flickinger BD, Olson MS: Localization of the platelet-activating factor receptor to rat pancreatic microvascular endothelial cells. *Am J Pathol* 154, 1353-1358, 1999.

52 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* 128, 399-407, 2000.

53 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* 3, 244-251, 1999.

54 Foulis AK: Histological evidence of initiating factors in acute necrotising pancreatitis in man. *J Clin Pathol* 33, 1125-1131, 1980.

55 Gilliland L, Steer ML: Effects of ethionine on digestive enzyme synthesis and discharge by mouse pancreas. *Am J Physiol* 239, G418-G426, 1980.

56 Gloor B, Muller CA, Worni M, Stahel PF, Redaelli C, Uhl W, Buechler MW: Pancreatic infection in severe pancreatitis: the role of fungus and multiresistant organisms. *Arch Surg* 136, 592-596, 2001.

57 Golub R, Siddiqi F, Pohl D: Role of antibiotics in acute pancreatitis: A meta-analysis. *J Gastrointest Surg* 2, 496-503, 1998.

58 Greenberg R, Haddad R, Kashtan H, Brazowski E, Graff E, Skornick Y, Kaplan O: Continuous Intravenous Octreotide Treatment for Acute Experimental Pancreatitis. *Digestion*, 60, 125-131, 1999.

59 Greenburg AG, Schooley M, Peskin GW: Improved retention of stroma-free hemoglobin solution by chemical modification. *J Trauma* 17, 501-504, 1977.

60 Greenburg AG, Terlizzi L, Peskin GW: Oxyhemoglobin affinity in acute pancreatitis. *J Surg Res* 22, 561-565, 1977.

61 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* 55, 827-837, 1994.

62 Halangk W, Lerch MM, Brandt-Nedelev B, Roth W, Ruthenbueger M, Reinheckel T, Domschke W, Lippert H, Peters C, Deussing J: Role of cathepsin B in intracellular trypsinogen activation and the onset of acute pancreatitis. *J Clin Invest* 106, 773-781, 2002.

63 Habler O, Pape A, Meier J, Zwißler B: Künstliche Sauerstoffträger als Alternative zur Bluttransfusion. *Anaesthesist* 54, 741-754, 2005.

64 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* 86, 1020-1024, 1999.

65 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* 48, 62-69, 2001.

66 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* 84, 1665-1669, 1997.

67 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 preoperative hemodilution for elective abdominal aortic surgery. *Anesth Analg* 83, 921-927, 1996.

68 Kessler M: Die Auswirkung hoher O₂-Drücke im zufließenden Medium auf die Sauerstoffversorgung des perfundierten Lebergewebes. *Pflugers Arch* 307, R48, 1969.

69 Kessler M, Grunewald W: Possibilities of measuring oxygen pressure fields in tissue by multiwire platinum electrodes. *Progr Resp Res* 3, 147-152, 1969.

70 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* 82, 1414-1420, 1995.

71 Klar E, Endrich B, Messmer K: Microcirculation of the pancreas. A quantitative study of physiology and changes in pancreatitis. *Int J Microcirc Clin Exp* 9, 85-101, 1990.

72 Klar E, Foitzik T, Buhr H, Messmer K, Herfarth C: Isovolemic hemodilution with Dextran 60 as treatment of pancreatic ischemia in acute pancreatitis. *Ann Surg* 217, 369-374, 1993.

73 Klar E, Foitzik T, Buhr H, Messmer K, Herfarth C: Isovolumämische Hämodilution mit Dextran 60 bei akuter Pankreatitis. *Z Gastroenterol* 9, A493, 1990.

74 Klar E, Herfarth C, Messmer K: Therapeutic effect of isovolemic hemodilution with Dextran 60 on the impairment of pancreatic microcirculation in acute biliary pancreatitis. *Ann Surg* 211, 346-353, 1990.

75 Klar E, Mall G, Messmer K, Herfarth C: Improvement of impaired pancreatic microcirculation by isovolemic hemodilution protects pancreatic morphology in acute biliary pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 176, 144-150, 1993.

76 Klar E, Schratt W, Foitzik T, Buhr H, Herfarth C, Messmer K: Impact of microcirculatory flow pattern changes on the development of acute edematous and necrotizing pancreatitis in rabbit pancreas. *Dig Dis Sci* 39, 2639-2644, 1994.

77 Klar E, Werner J: Neue pathophysiologische Kenntnisse der akuten Pankreatitis. *Chirurg* 71, 253-264, 2000.

78 Knoefel WT, Kollias N, Warshaw AL, Waldner H, Nishioka NS, Rattner DW: Pancreatic microcirculatory changes in experimental pancreatitis of graded severity in the rat. *Surgery* 116, 904-913, 1994.

- 79 Knol JA, Inman MG, Strodel WE, Eckhauser FE: Pancreatic response to crystalloid resuscitation in experimental pancreatitis. *J Surg Res* 43, 387-392, 1987.
- 80 Krogh A: The number and distribution of capillaries in muscle with calculation of the oxygen pressure head necessary for supplying the tissue. 1918; 52:409-415.
- 81 Krogh A: *Anatomie und Physiologie der Kapillaren*. Springer Berlin 1929.
- 82 Kusterer K, Enghofer M, Zender S, Bloechle C, Usadel KH: Microcirculatory changes in sodium taurocholate-induced pancreatitis in rats. *Am J Physiol* 260, G346-G351, 1991.
- 83 Lankisch PG, Assmus C, Lehnick D, Maisonneuve P, Lowenfels AB: Acute pancreatitis: does gender matter? *Dig Dis Sci* 46, 2470-2474, 2001.
- 84 Lankisch PG, Assmus C, Pflichthofer D: The calendar and acute pancreatitis. *Pancreas* 16, 465-467, 1998.
- 85 Lankisch PG, Burchard-Reckert S, Petersen M, Lehnick D, Schirren CA, Kohler H, Stockmann F, Peiper HJ, Creutzfeldt W: Morbidity and mortality in 602 patients with acute pancreatitis seen between the years 1980-1994. *Z Gastroenterol* 34, 371-377, 1996.
- 86 Lankisch PG, Mahlke R, Blum T, Bruns A, Bruns D, Maisonneuve P, Lowenfels AB: Hemoconcentration: an early marker of severe and/or necrotizing pancreatitis? A critical appraisal. *Am J Gastroenterol* 96, 2081-2085, 2001.
- 87 Lankisch PG, Struckmann K, Assmus C, Lehnick D, Maisonneuve P, Lowenfels AB: Do we need a computer tomography examination in all patients with acute pancreatitis within 72 h after admission to hospital for the detection of pancreatic necrosis? *Scand J Gastroenterol* 36, 432-436, 2001.
- 88 Laxenaire MC, Charpentier C, Feldman L: Reactions anaphylactoides aux substituts colloïdaux du plasma: incidence, facteurs de risque, mecanismes. Enquete prospective multicentrique francaise. *Ann Fr Anesth Reanim* 13, 301-310, 1994.
- 89 Laws HL, Kent RB: Acute pancreatitis: management of complicating infection. *Am Surg* 66, 145, 2000.
- 90 Lehtola A, Kivilaakso E, Puolakkainen P, Karonen S-L, Lempinen M, Schröder T: Effects of Dextran 70 versus cristalloids in the microcirculation of porcine hemorrhagic pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 162, 556-562, 1986.
- 91 Lipfert B, Standl T, Dullmann J, Helmchen U, Schulte am Esch J, Lorke DE: Histology and ultrastructure of liver and kidney following blood exchange with ultrapurified, polymerised bovine hemoglobin in comparison with hydroxyethyl starch. *Lab Invest* 79, 573-582, 1999.

- 92 Löser C, Fölsch UR: Akute nekrotisierende Pankreatitis. Internist 40,1257–1265, 1999.
- 93 Lübbers DW: Die Bedeutung des lokalen Gewebesauerstoffdruckes und des pO₂-Histogrammes für die Beurteilung der Sauerstoffversorgung eines Organes. Prakt Anästh 1977; 12:184-193.
- 94 Lübbers DW: Methods of measuring oxygen tensions of blood and organ surfaces. In Payne, J.P., Hill D. A Symposium on oxygen measurements and their significance. Churchill, London, 1966, pp. 103-127.
- 95 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.
- 96 Lübbers DW, Baumgärtl H, Fabel H, Huch A, Kunze K, Riedmann H, Seiler D, Schuchhardt S: Principle of construction and application of various platinum electrodes. Progr Resp Res, 3,136-146, 1969.
- 97 Lübbers DW, Wodick R: Sauerstofftransport im Warmblüterorganismus. Umschau, 13, 486-492, 1971.
- 98 Luiten EJ, Hop WC, Lange JF, Bruining HA: Controlled clinical trial of selective decontamination for the treatment of severe acute pancreatitis. Ann Surg 222, 57-65, 1995.
- 99 Lumsden A, et al: Secondary pancreatic infections: abscess, infected necrosis an infected pseudocyst. Surg Gynecol Obstet, 170, 459-467, 1990.
- 100 Mayerle J, Simon P, Kraft M, Meister T, Lerch MM: Konservative Behandlung der akuten Pankreatitis. Scand J Gastroenterol Suppl 239, 111-116, 2003.
- 101 Menu P, Caron A, Faivre-Fiorina B, Stoltz JF: Potential effect of hemoglobin solutions on blood components. Transfusion 39, 226-227, 1999.
- 102 Menu P, Longrois D, Faivre B, Donner M, Labrude P, Stoltz JF, Vigneron C: Rheological behaviour of red blood cells suspended in hemoglobin solutions. In vitro study comparing dextran-benzene-tetra-carboxylate hemoglobin, stroma free hemoglobin and plasma expanders. Transfus Sci 20, 5-16, 1999.
- 103 Messmer K: Hemodilution. Surg Clin North Am 55, 659-678, 1975.
- 104 Mitchell RMS, Byrne M F, Baillie J: Pancreatitis. Lancet 361 (9367) 1447-1455, 2003.

- 105 Mithoefer K, Del Castillo CF, Rattner D, Warshaw AL: Subcellular kinetics of early trypsinogen activation in acute rodent pancreatitis. *Am J Physiol* 274, G71-G79, 1998.
- 106 Moody FG, Haley-Russell D, Muncy DM: Intestinal transit and bacterial translocation in obstructive pancreatitis. *Dig Dis Sci* 40, 1798-1804, 1995.
- 107 Moessner J, Keim V: Therapie der akuten Pankreatitis. *Internist*, 44(12), 1508-1514, 2003.
- 108 Motterlini R, Vandegriff KD, Winslow RM: Hemoglobin-nitric oxide interaction and its implications. *Transfus Med Rev* 10, 77-84, 1996.
- 109 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* 24 Suppl 1, 40-54, 1992.
- 110 Nieuwenhuijs VB, Besselink MG, van Minnen LP, Gooszen HG: Surgical management of acute necrotizing pancreatitis: a 13-year experience and a systemic review. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 286(2), G189-196, 2004.
- 111 Nuutinen P, Kivisaari L, Standertskjold-Nordenstam CG, Lempinen M, Schroder T: Microangiography of the pancreas in experimental oedemic and haemorrhagic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 126, 12-17, 1986.
- 112 O'Keefe SJ, Broderick T, Turner M, Stevens S, O'Keefe JS: Nutrition in the management of necrotizing pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 1(4), 315-321, 2003.
- 113 Paran H, Mayo A, Paran D, Neufeld D, Shwartz I, Zissin R, Singer P, Kaplan O, Skornik Y, Freund U: Octreotide treatment in patients with severe acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 45, 2247-2251, 2000.
- 114 Pavars M, Irmejs A, Mauruns U, Gardovskis J: Schwere akute Pankreatitis: Rolle der laparoskopischen Chirurgie. *Med Klin* 98, 744-749, 2003.
- 115 Paye F, Rotman N, Radier C, Nouria R, Fagniez PL: Percutaneous aspiration for bacteriological studies in patients with necrotizing pancreatitis. *Br J Surg* 85, 755-759, 1998.
- 116 Paxian M: Künstliche Sauerstoffträger als Alternative zur Fremdbluttransfusion. *Anaesthesist* 50, Supplement 1, 43-49, 2001.
- 117 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* 176, 480-483, 1993.
- 118 Powell JJ, Miles R, Siriwardena AK: Antibiotic prophylaxis in the initial management of severe acute pancreatitis. *Br J Surg* 85, 582-587, 1998.

- 119 Raty S, Sand J, Pulkkinen M, Matikainen M, Nordback I: Post-ERCP pancreatitis: reduction by routine antibiotics. *J Gastrointest Surg* 5, 339-345, 2001.
- 120 Reah G, Bodenham AR, Mallick A, Daily EK, Przybelski RJ: Initial evaluation of diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb) as a vasopressor in critically ill patients. *Crit Care Med* 25, 1480-1488, 1997.
- 121 Reimann S, et al: Hydroxyethylstärke-Speicherung in der Haut unter besonderer Berücksichtigung des Hydroxyethylstärke-assoziierten Juckreizes. *Dtsch. Med. Wschr.* 125, 280-285, 2000.
- 122 Runkel NS: Pathogenese der pankreatogenen Sepsis. *Langenbecks Arch Chir Supplement II*, 1998.
- 123 Runkel NS, Moody FG, Smith GS, Rodriguez LF, LaRocco MT, Miller TA: The role of the gut in the development of sepsis in acute pancreatitis. *J Surg* 51, 18-23, 1991.
- 124 Runkel NS, et al :Mechanism of pancreatic infection in acute pancreatitis in opossum. *Curr Surg* 47, 460-462, 1990.
- 125 Ruud TE, Aasen AO, Kierulf P, Stadaas J, Aune S: Studies on the plasma kallikrein-kinin system in peritoneal exsudate and plasma during experimental acute pancreatitis in pigs. *Scand J Gastroenterol* 20, 877-882, 1985.
- 126 Ryan JW, Moffat JG, Thompson AG: Role of bradykinin system in acute hemorrhagic pancreatitis. *Arch Surg* 91, 14-24, 1965.
- 127 Samel S, Lanig S, Lux A, Keese M, Gretz N, Nichterlein T, Sturm J, Lohr M, Post S: The gut origin of bacterial pancreatic infection during acute experimental pancreatitis in rats. *Pancreatol* 2, 449-455, 2002.
- 128 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. *J Surg Res* 106, 335-341, 2002.
- 129 Schmidt J, Huch K, Mithofer K, Hotz HG, Sinn HP, Buhr HJ, Warshaw AL, Herfarth C, Klar E: Benefits of various dextrans after delayed therapy in necrotizing pancreatitis of the rat. *Intensive Care Med* 22, 1207-1213, 1996.
- 130 Schmidt J, Klar E: Ätiologie und Pathophysiologie der akuten Pankreatitis. *Therapeutische Umschau* Band 53, 322-329, 1996.
- 131 Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, Compton CC, Mandavilli U, Knoefel WT, Warshaw AL: A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann Surg* 215, 44-56, 1992.
- 132 Schmidt RF, Thews G: *Physiologie des Menschen*, 537-550, 1985.

- 133 Schmidt J, Werner J: Akute Pankreatitis: Gesichertes und Perspektiven der konservativen Therapie. *Langenbecks Arch Chir Suppl.*II, 434-437, 1998.
- 134 Schneider H, Hartel W, Kessler M, Lang H, Starlinger H, Thermann M: Die Sauerstoffversorgung der Hundeleber in situ im experimentellen Entblutungsschock. *Pflugers Arch* 312, R42, 1969.
- 135 Schoelmerich J: Akute Pankreatitis nach Schock, Ischämie, Reperfusion, Trauma und Sepsis. *Internist* 39, 453-458, 1998.
- 136 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* 122, 301-308, 1993.
- 137 Schwarz M, Isenmann R, Meyer H, Beger HG: Antibiotika bei nekrotisierender Pankreatitis. Ergebnisse einer kontrollierten Studie. *Dtsch Med Wochenschr* 122, 356-361, 1997.
- 138 Schwarz M, Isenmann R, Thomsen J, Gaus W, Beger HG: Efficacy of oral ofloxacin for single-dose perioperative prophylaxis in general surgery - a controlled randomized clinical study. *Langenbecks Arch Surg* 386, 397-401, 2001.
- 139 Secknus R, Mossner J: Incidenz- und Prävalenzveränderungen der akuten und chronischen Pankreatitis in Deutschland. *Chirurg* 71, 249-252, 2000.
- 140 Sellards AW, Minot GR: Injection of hemoglobin in man and its relation to blood destruction, with special reference to the anemias. *J Med Res* 34, 469-494, 1916.
- 141 Senninger N, Moody FG, Coelho JC, Van Buren DH: The role of biliary obstruction in the pathogenesis of acute pancreatitis in the opossum. *Surgery* 99, 688-693, 1986.
- 142 Sharma AC, Gulati A: Yohimbine modulates diaspirin crosslinked hemoglobin-induced systemic hemodynamics and regional circulatory effects. *Crit Care Med* 23, 874-884, 1995.
- 143 Sheffield CL, DeLoach JR: Preparation and in vivo evaluation of two bovine hemoglobin-based plasma expanders. *Biotechnol Appl Biochem* 12, 630-642, 1990.
- 144 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* 21, 537-551, 1993.
- 145 Shields CJ, Winter DC, Sookhai S, Ryan L, Kirwan WO, Redmond HP: Hypertonic saline attenuates end-organ damage in an experimental model of acute pancreatitis. *Br J Surg* 87, 1336-1340, 2000.

- 146 Sielenkamper AW, Eichelbronner O, Martin CM, Madorin SW, Chin-Yee IH, Sibbald WJ: Diaspirin cross-linked hemoglobin improves mucosal perfusion in the ileum of septic rats. *Crit Care Med* 28, 782-787, 2000.
- 147 Sigurdsson G: Enteral or parenteral nutrition? Pro-enteral. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 110, 143-147, 1997.
- 148 Standl T: Stellenwert von zellfreien Hämoglobin-Lösungen. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 36, Supplement 2, 168-172, 2001.
- 149 Standl T: Künstliche Sauerstoffträger: Hämoglobinlösungen-Stand 2004. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 40, 38-45, 2005.
- 150 Standl TG, Reeker W, Redmann G, Kochs E, Werner C, Schulte am Esch J: Hemodynamic changes in skeletal muscle oxygen tension during complete blood exchange with ultrapurified polymerized bovine hemoglobin. *Int Care Med* 23, 865-872, 1997.
- 151 Steer M L: Pathogenesis of Acute Pancreatitis. *Digestion* 58 Supplement 1, 46-49, 1997.
- 152 Strate T, Kleinhans H, Mann O, Schneider C, Standl T, Izbicki JR, Bloechle C: Therapy of microcirculatory dysfunction in acute pancreatitis with i.v. application of bovine hemoglobin in the rat. *Gastroenterol* 118, A302, 2000.
- 153 Strate T, Mann O, Kleinhans H, Schneider C, Knoefel WT, Yekebas E, Standl T, Bloechle C, Izbicki JR: Systemic Intravenous Infusion of Bovine Hemoglobin Significantly Reduces Microcirculatory Dysfunction in Experimentally Induced Pancreatitis in the Rat. *Ann Surg* 238,765-771, 2003
- 154 Strate T, Mann O, Standl T, Izbicki JR, Knoefel WT: The effect of HBOC in acute experimental pancreatitis. *AINS* 36 Supplement 2, 119-120, 2001.
- 155 Strate T, Rusani S, Kleinhans H, Mann O, Standl T, Kluth D, Izbicki JR, Bloechle C: Einfluss der verzögerten Intervention mit intravenöser Gabe von bovinem Hämoglobin auf die pankreatische Mikrozirkulation und den Verlauf der schweren akuten Pankreatitis der Ratte. *Chirurgisches Forum* 30, 235-427, 2001.
- 156 Sulkowski U, Lange V, Dinse P: Die akute Pankreatitis Klassifikation – Diagnostik – Therapie. *Anaesthesist* 47, 765-774, 1998.
- 157 Sun B, Li HL, Gao Y, Xu J, Jiang HC: Analysis and prevention of factors predisposing to infections associated with severe acute pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2(3), 458-262, 2003.
- 158 Tarpila E, Nystrom PO, Franzen L, Ihse I: Bacterial translocation during acute pancreatitis in rats. *Eur J Surg* 159, 109-113, 1993.

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* 77, 2348-2354, 1994.

160 Toussaint M, Latger-Cannard V, Caron A, Lecompte T, Stoltz JF, Vigneron C, Menu P: Effects of three Hb-based oxygen-carrying solutions on neutrophil activation in vitro: quantitative measurement of the expression of adherence receptors. *Transfusion* 41, 226-231, 2001.

161 Vlahakes GJ, Lee R, Jacobs EE, Austen WG: Efficacy of a new blood substitute based on ultra-pure polymerized bovine hemoglobin. A preliminary report. *Eur J Cardiothorac Surg* 3, 353-354, 1989.

162 von Stark G: Die Resorbierbarkeit des Hämatins und die Bedeutung der Hämoglobinpräparate. *Dtsch Med Wochenschr* 24, 805-808, 1898.

163 Wenger FA, Kilian M, Jacobi CA, Gregor JI, Guski H, Schimke I, Muller JM: Effects of octreotide on lipid peroxidation in pancreas and plasma in acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis in rats. *Pancreatol* 2, 211-216, 2002.

164 Werner J, Hartwig W, Uhl W, Mueller C, Buechler MW: Useful markers for predicting severity and monitoring progression of acute pancreatitis. *Surgery* 133, 257-262, 2003.

165 Werner J, Klar E: Therapeutische Beeinflussung des Schweregrades der akuten Pankreatitis. *Chir Gastroenterol* 15, 328-333, 1999.

166 Werner J, Schmidt J, Gebhard MM, Herfarth C, Klar E: Überlegenheit von Dextran gegenüber HAES und Kristalloiden in der Hemmung der Leukozyten-Endothel Interaktion bei experimenteller nekrotisierender Pankreatitis. *Langenbecks Arch Chir Suppl* I 337, 467-470, 1996.

167 Yasar M, Yildiz S, Mas R, Dundar K, Yildirim A, Korkmaz A, Akay C, Kaymakcioglu N, Ozisik T, Sen D: The effect of hyperbaric oxygen treatment on oxidative stress in experimental acute necrotizing pancreatitis. *Pancreas* 26, 122-129, 2003.

7. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Fixierung und Instrumentierung beim Versuchstier, exemplarisch

Abbildung 2: Darstellung der Herzfrequenz

Abbildung 3: Darstellung des PAP

Abbildung 4: Darstellung des MAP

Abbildung 5: Darstellung des CO

Abbildung 6: Darstellung des CI

Abbildung 7: Darstellung des systemischen Gefäßwiderstands

Abbildung 8: Darstellung des pulmonalen Gefäßwiderstands

Abbildung 9: Darstellung des CaO_2

Abbildung 10: Darstellung des CvO_2

Abbildung 11: Darstellung des avDO_2

Abbildung 12: Darstellung des DO_2

Abbildung 13: Darstellung des VO_2

Abbildung 14: Darstellung des ERO_2

Abbildung 15: Darstellung des tPO_2 des Pankreas

Abbildung 16: Darstellung der Plasmaviskosität

Abbildung 17: Darstellung des KOD

Abbildung 18: Histogramm zur Darstellung des Überlebens

Abbildung 19: Oxyglobin (=HBOC 301)

Abbildung 20: Krogh'scher Zylinder

Abbildung 21: Foto einiger Mitglieder der Versuchsgruppe

Tabelle 1: Gruppeneinteilung der Versuchstiere

8. Abkürzungsverzeichnis

AUC - Area under the Curve (Fläche unter der Kurve)

BGA - Blutgasanalyse

CI - Cardiac index (Herzindex)

CO - Cardiac output (Herzzeitvolumen)

DCLHb - Diasporin-cross-linked Hämoglobin

ERCP - Endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikographie

HES - Hydroxyethylstärke

HBOC - Hemoglobin based oxygen carrier (auf Hämoglobin basierender Sauerstoffträger)

IHD - Isovolumische Hämodilution

KI - Konfidenzintervall

MAP - Mean arterial pressure (Mittlerer-arterieller Druck)

NO - Stickstoffmonoxid

PAF - Platelet activating factor (Plättchenaktivierender Faktor)

PAP - Pulmonal arterial pressure (Pulmonal-arterieller Mitteldruck)

PCWP - Pulmonal capillary wedge pressure (Pulmonal-kapillärer Verschlussdruck)

SD - Standard deviation (Standardabweichung)

SIRS - Systemic inflammatory response syndrom (körpereigene entzündliche Abwehrreaktion des Gesamtorganismus)

ZVD - Zentralvenöser Druck

9. Lebenslauf

10. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens) Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um die Zulassung zur Promotion beworben habe.

Corinna Müller

11. Danksagung